

不同柿种质雄花表型、活性成分及体外抗氧化活性

韩卫娟^{1,2} 孙鹏^{1,2} 刁松锋^{1,2} 索玉静^{1,2} 张悦^{1,2} 傅建敏^{1,2*}

(1. 国家林业局 泡桐研究开发中心, 郑州 450003;

2. 中国林业科学研究院 经济林研究开发中心, 郑州 450003)

摘要 为了解柿雄花表型、活性成分、抗氧化活性及其相关性,以8份不同柿种质雄花为材料,采用分光光度法和高效液相色谱法进行测定。结果表明:表型性状存在丰富的变异,平均变异系数为33.50%,变化幅度为0%~61.37%;黄酮、总酚、单宁和维生素C含量存在显著性差异,变异系数分别为51.65%、40.19%、18.87%和109.10%;清除自由基能力(DPPH·和ABTS⁺·)、还原能力(Fe³⁺和Cu²⁺)及络合能力(Fe²⁺)显著,与活性成分呈显著的相关关系,与表型相关性不显著;雄花表型间、雄花与维生素C含量正相关关系显著。主成分分析和聚类分析结果表明:20个性状可以缩减为3个主成分,累积方差贡献率达到78.90%,8份资源可聚为4类,在开发利用中可按照具体目标进行选择。

关键词 柿; 雄花; 活性成分; 抗氧化活性; 相关性; 主成分分析

中图分类号 R151.3;S713

文章编号 1007-4333(2018)04-0024-10

文献标志码 A

Phenotypic characteristics, active components and antioxidant activities of the male flowers of different *Diospyros* materials

HAN WeiJuan^{1,2}, SUN Peng^{1,2}, DIAO Songfeng^{1,2}, SUO Yujing, ZHANG Yue^{1,2}, FU Jianmin^{1,2*}

(1. Non-timber Forestry Research & Development Center, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, China;

2. Paulownia Research & Development Center of China, State Forestry Administration, Zhengzhou 450003, China)

Abstract In order to systematically evaluate the phenotypic characteristics, active components contents, and antioxidant activities of male flowers of different *Diospyros materials*, 8 kinds of materials were measured by spectrophotometric and HPLC methods. The results showed that high degree and great range existed in phenotypic characteristics, with the coefficient of variation ranging from 0% to 61.37%, with 54.95% on average. There were significant differences in flavonoids, polyphenols, tannin and vitamin C contents, with the coefficient of 51.65%, 40.19%, 18.87% and 109.10%, respectively. The antioxidant activities including DPPH·, ABTS+· scavenging ability, Fe³⁺ and Cu²⁺ reducing ability, the chelating ability of Fe²⁺ and Cu²⁺ was excellent, and they were significantly correlated with active components and no significant correlation with phenotypic characteristics. According to principal component and cluster analysis, three principal components with the cumulative contribution rates reaching 78.900% were obtained from twenty tested indexes. In addition, the eight materials were divided into four groups and selections should be made according to different targets for development and utilization in the further.

Keywords male flower; *Diospyros*; active components; antioxidant activities; correlation; principal component analysis

柿(*Diospyros kaki* Thunb.)广泛分布在热带、亚热带和温带地区,我国栽培面积和产量均居世界第一位^[1-2]。柿果实色泽艳丽、味甜多汁、营养丰富,

不仅能鲜食,还能加工成柿饼、柿醋、柿酒等产品;柿叶富含维生素C及酚类物质,是传统的中药材,柿蒂、柿根等也均可入药^[3],以柿为原料开发的食品、

收稿日期:2017-06-12

基金项目:中国林业科学研究院重点项目与任务(CAFYBB2017ZA004-3);中国林业科学研究院青年项目配套类(CAFYBB2016QB017)

第一作者:韩卫娟,助理研究员,主要从事化学工艺与林材产品分析研究,E-mail:hanweiJuan2013@163.com

通讯作者:傅建敏,副研究员,主要从事经济林育种与栽培研究,E-mail:fim371@163.com

药品和化妆品等受到广大消费者的青睐^[4]。

柿花有雌花、雄花、完全花3种,大部分品种只开雌花,少数为雌雄同株,个别品种雌花、雄花和完全花混生,只开雄花的非常罕见^[5]。雌花或雄花都是在系统发育过程由完全花演变而来,雄花的大小约为雌花的1/5~1/3,属小型花,通常在结果枝的叶腋由一朵中心花和2朵侧花组成伞状花序,中心花稍大,侧花小,花期一般在5月上、中旬,雄花花期可达10~12 d^[6-7]。

中国林科院经济林研究开发中心连续多年在全国范围内展开柿野生种质资源调查,在湖北、广西、江苏等地发现野生雄性种质资源共计90余份,并采集接穗、种子,通过嫁接、实生繁育保存资源。作为柿树的重要组成部分,目前柿的雄花研究主要集中在分类学地位和育种学价值方面^[6-9],关于其表型、成分及活性研究方面尚未见到文献报道。

本研究选取8份具有代表性的资源,包括油柿、美洲柿、浙江柿、君迁子、禅寺丸、西村早生、面黄蛋、木兰14,对花筒直径、花筒高、雄蕊长(最长和最短)、雄蕊宽、萼片长、萼片宽、花托高、花托宽、花柄长和花柄粗等表型性状进行了测定,采用AlCl₃-(HAc-NaAc)、Folin-Ciocalteu法、高效液相色谱法对黄酮、总酚、单宁和维生素C含量进行分析,通过DPPH·、ABTS⁺·、还原能力(Fe²⁺和Cu²⁺)、络合能力(Fe³⁺)5种方法对其体外抗氧化作用进行研究,首次系统的研究不同柿种质雄花资源的表型、活性成分及抗氧化活性并分析其相关性,以期柿雄性种质资源的高效利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试材、试剂与仪器

试材:以油柿、美洲柿、浙江柿、君迁子、禅寺丸、西村早生、面黄蛋、木兰14等共8份资源的雄花为供试样品。其中,油柿、美洲柿、浙江柿、君迁子为柿的近缘种,油柿为雌雄同株,美洲柿、浙江柿和君迁子为纯雄株;禅寺丸、西村早生为雌雄同株,是日本著名的不完全甜柿品种,禅寺丸常作为授粉树;面黄蛋为我国北方地区罕见的能开雄花的涩柿资源,木兰14为大别山区的纯雄性资源。试样均采自中国林业科学研究院经济林研究开发中心原阳试验基地,样品采集后低温冷藏带回实验室备用。

试剂: DPPH、Trolox、ABTS、Ferrozine、neocuproine、murexide、Folin-ciocalteu试剂购自美

国Sigma公司,其他试剂均为国产分析纯。没食子酸标准品(HPLC≥98%,上海源叶生物科技有限公司)。

仪器:紫外可见分光光度计(Agilent CARY300);高效液相色谱仪(Waters 1525泵、2998PAD检测器、2707自动进样器);HT-300BQ型数控超声波清洗器(济宁恒通超声电子设备有限公司);AL204电子天平(海特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 表型测定

游标卡尺测定花筒直径、花筒高、雄蕊长(最长和最短)、雄蕊宽、萼片长、萼片宽、花托高、花托宽、花柄长、花柄粗等性状,精密度0.01 mm,每份样品设25次重复。

1.2.2 样品制备

柿雄花于-80℃速冻后,真空冷冻干燥至恒重,粉碎后过60目筛。精密称取样品2.000 g,100 mL开水浸提5 min,弃去固体后10 000 r/min离心10 min,上清液-20℃保存备用。

1.2.3 雄花黄酮、总酚、单宁、维生素C含量及抗氧化活性测定

总黄酮含量的测定采用AlCl₃-(HAc-NaAc)显色法^[10],以芦丁为标准品,400 nm处测定其吸光度,样品中的总黄酮含量以芦丁的含量表示,mg/g(DW)。

总酚含量的测定采用Folin-Ciocalteu法^[11],以没食子酸为标准品,765 nm处测定其吸光度,样品中总酚含量以没食子酸计,mg/g(DW)。

单宁含量测定采用Folin-Ciocalteu法^[12],并进行优化,765 nm处测定其吸光度,含量以没食子酸计,mg/g(DW)。

维生素C含量测定按照张嘉嘉等^[13]的方法测定,采用30 g/L偏磷酸以及体积分数为8%的冰醋酸研磨提取,0.22 μm微孔滤膜抽滤后进行色谱分析。

抗氧化活性采用DPPH·、ABTS⁺·、还原能力(Fe³⁺和Cu²⁺)、金属络合能力(Fe²⁺)等体外活性指标进行测定,其中DPPH·和ABTS⁺·自由基清除能力试验参考韩卫娟^[14]的方法,还原能力(Fe³⁺和Cu²⁺)试验参考Weijuan Han等^[15]的方法,Fe²⁺-络合能力参考Xican Li等^[16]的方法。

1.3 数据统计与分析

利用Excel软件计算平均值、标准偏差和变异

系数等指标,其中变异系数计算公式为 $CV = \sigma/\mu$, σ 为标准差, μ 为均值;利用 SPSS 20.0 进行方差分析、Duncan 多重比较 ($P < 0.05$ 水平)、Pearson 相关性分析、主成分分析。

2 结果与分析

2.1 不同柿种质雄花数量表型性状多样性分析

柿雄花表型性状均值、多重比较和变异系数如表 1 所示。花筒直径、花筒高、雄蕊长(最长和最短)、雄蕊宽、萼片长、萼片宽、花托高、花托宽、花柄长、花柄粗等 13 个数量性状具有丰富的多样性,变异系数在 0%~61.37%,最小的是萼片数量,最大的是花柄长,分别是 0%和 61.37%。除萼片数量、雄蕊数和花柄粗外,其他指标 $> 30\%$,说明数量性状变异程度很高。雄蕊长_{最长}、雄蕊长_{最短}、萼片长和花柄长变异系相对较高,分别为 41.46%、41.63%、43.00% 和 61.37%,可能对柿雄花的鉴定方面具有一定的意义。

2.2 不同柿种质雄花黄酮、总酚、单宁与维生素 C 含量比较

不同柿种质雄花中黄酮、总酚、单宁、维生素 C 含量见表 2。黄酮、总酚和维生素 C 变异程度较高,变异系数分别为 51.65%、40.19%和 109.10%,具有丰富的多样性。黄酮含量变异系数较大,在 8.39~33.95 mg/g 变动,美洲柿黄酮含量最高,油柿次之,君迁子含量最低,分别为 33.95±0.10、20.68±0.48 和 8.39±0.44 mg/g;总酚含量变异系数为 40.19%,浙江柿和美洲柿总酚含量较高,分别为 74.86±1.14 和 68.29±5.81 mg/g,油柿含量最低,为 20.84±1.94 mg/g;单宁含量变异系数较小,为 18.87%,浙江柿单宁含量最高,君迁子含量最低,分别为 15.09±0.50 和 7.20±0.07 mg/g;维生素 C 含量变异系数高达 109.10%,面黄蛋含量较高,美洲柿含量最低,分别为 1 217.00±2.77 mg/100 g 和 179.42±0.40 mg/g。综上所述,浙江柿、美洲柿是高含黄酮、总酚、单宁的雄花资源,且雄花量大,面黄蛋与西村早生维生素 C 含量极高,开发利用价值巨大。

2.3 不同(品)种柿雄花抗氧化活性研究

如表 3 所示,柿雄花具有很强的自由基清除能力,8 种雄花均具有较高的 DPPH·自由基清除能力,且存在显著性差异,面黄蛋、美洲柿、木兰 14、西村早生清除 DPPH·自由基能力较强且无显著性差

异,分别为 67.54±0.67、66.97±2.44、63.61±2.33 和 63.24±1.48 mg/g(eq. Trolox),君迁子清除能力较弱,仅为 27.79±0.95 mg/g(eq. Trolox),清除能力由高到低的顺序为:面黄蛋>美洲柿>木兰 14>西村早生>禅寺丸>油柿>浙江柿>君迁子;8 种雄花清除 ABTS⁺·自由基能力存在显著性差异,面黄蛋清除能力最强,西村早生最弱,分别为 644.26±26.11 和 18.73±2.73 mg/g(eq. Trolox),清除能力由高到低的顺序依次为:面黄蛋>油柿>浙江柿>禅寺丸>美洲柿>木兰 14>君迁子>西村早生。

由表 3 可知,柿雄花能够有效的还原 Fe³⁺ 和 Cu²⁺,美洲柿 Fe³⁺ 还原能力最强,为 230.25±1.58 mg/g(eq. Trolox),约为油柿和君迁子的 4 倍左右(61.20±0.64 和 62.89±6.51),Fe³⁺ 还原能力由高到低的顺序为:美洲柿>浙江柿>面黄蛋>木兰 14>禅寺丸>西村早生>君迁子>油柿;8 种雄花 Cu²⁺ 还原能力差异性显著,浙江柿和美洲柿还原能力最强,分别为 192.36±4.04、185.52±24.49 mg/g(eq. Trolox),约为油柿(35.75±5.64 mg/g(eq. Trolox))的 5~6 倍,Cu²⁺ 还原能力由高到低的顺序依次为:浙江柿>美洲柿>面黄蛋>禅寺丸>西村早生>君迁子>木兰 14>油柿。

不同柿种质雄花均具有显著的络合 Fe²⁺ 的能力,如表 3 所示,禅寺丸和君迁子最强,分别为 5 809.85±131.28 和 5 696.28±53.53 mg/g(eq. sodium citrate),面黄蛋络合 Fe²⁺ 的能力较弱,为 3 062.97±36.52 mg/g(eq. Trolox),由高到低的顺序依次为:禅寺丸>君迁子>油柿>浙江柿>西村早生>美洲柿>木兰 14>面黄蛋。

2.4 Pearson 相关性分析

柿雄花数量性状、活性成分与抗氧化活性 Pearson 相关性分析如表 4 所示。花筒直径与花筒高、雄蕊长、雄蕊宽呈极显著的正相关关系;花筒高与雄蕊长、雄蕊宽呈极显著的正相关关系,与萼片长呈显著的相关关系;雄蕊长与雄蕊宽呈极显著的正相关关系,说明雄蕊宽度随长度增加而增加;萼片宽与花托高、花托宽,花托高与花托宽均呈极显著正相关关系。

由表 4 可知,维生素 C 含量与花筒直径、花筒高、雄蕊长、雄蕊宽、花托高呈极显著的正相关关系,即花筒越宽越高,雄蕊越长越宽、花托越宽则维生素 C 含量越高。清除 ABTS⁺·自由基能力与

表 1 不同(品)种柿雄花数量性状
Table 1 Quantitative characteristics of male flowers among different *Diospyros*.

性状 Characters	油柿 <i>D. oleifera</i>	美洲柿 <i>D. virginiana</i>	浙江柿 <i>D. glaucifolia</i>	君迁子 <i>D. lotus</i>	禅寺丸 <i>D. kaki</i> Zenjamaru	西村早生 <i>D. kaki</i> Nishimurawase	面黄蛋 <i>D. kaki</i> Mianhuangdan	木兰 14 <i>D. kaki</i> Mulan 14	变异 系数/% CV
花筒直径/mm	4.01±0.72 a	2.40±0.22 b	3.22±0.14 ab	2.88±0.34 b	4.12±1.66 a	5.61±1.22 c	7.52±1.09 d	5.32±0.34 c	40.23
花筒高/mm	5.50±1.26 a	5.14±0.42 a	4.80±0.44 a	5.05±0.73 a	5.62±2.32 a	10.79±1.42 c	9.79±1.58 bc	8.95±0.53 b	34.96
雄蕊数/mm	22.40±2.19 a	15.60±0.89 b	16.00±0.00 b	20.00±1.41 c	18.67±1.75 c	16.00±1.22 b	15.70±0.67 b	15.10±1.20 b	15.40
雄蕊长 _{最短} /mm	2.11±0.20 a	2.57±0.27 ab	2.40±0.44 ab	2.51±0.32 ab	2.97±1.25 bc	4.93±0.73 d	5.99±0.83 e	3.73±0.26 c	41.46
雄蕊长 _{最长} /mm	3.06±0.24 a	3.65±0.56 ab	3.82±0.54 ab	3.74±0.59 ab	4.24±1.63 b	8.30±0.29 d	9.08±0.58 d	6.00±0.39 c	41.63
雄蕊宽/mm	0.54±0.09 a	0.47±0.12 a	0.60±0.05 a	0.56±0.03 a	0.62±0.12 a	0.84±0.06 b	1.09±0.24 c	0.86±0.11 b	33.65
萼片长/mm	4.00±0.68 ac	3.58±0.58 ac	1.82±0.17 b	3.14±1.19 ab	4.33±2.20 ac	7.60±2.36 d	3.69±0.50 ac	4.77±0.60 c	43.00
萼片宽/mm	4.03±0.24 ab	1.90±0.23 d	3.11±0.27 c	2.71±0.74 cd	3.36±1.51 bc	4.70±1.15 a	3.31±0.37 bc	2.70±0.32 cd	31.47
萼片数量	4	4	4	4	4	4	4	4	0
花托高/mm	2.79±0.38 ab	1.24±0.10 d	1.80±0.17 c	1.59±0.40 cd	1.99±0.73 c	2.68±0.15 b	3.22±0.23 a	1.30±0.18 d	38.14
花托宽/mm	4.19±0.55 a	1.97±0.24 c	3.09±0.43 b	2.62±0.37 bc	2.92±1.08 b	4.05±0.58 a	4.71±1.16 a	1.97±0.21 c	36.82
花柄长/mm	14.81±2.93 a	2.87±0.49 cd	2.82±0.79 cd	2.07±0.24 d	9.36±2.98 b	8.19±0.95 b	4.79±0.90 c	7.84±1.58 b	61.37
花柄粗/mm	0.73±0.15 ab	0.72±0.07 ab	0.89±0.08 c	0.88±0.08 c	0.62±0.17 a	0.71±0.10 ab	0.82±0.13 bc	0.80±0.10 bc	17.36

注：所有数据均平行测定 25 次，Duncan 多重比较，同行不同字母表示在 5%水平上差异显著，相同字母表示差异不显著。

Note: Different small letters (a-d) represent significant difference at $P < 0.05$ according to Duncan's test.

表2 不同(品)种柿雄花黄酮、总酚、单宁及维生素C含量比较

Table 2 Comparison in flavonoid, polyphenol, tannin and vitamin C contents of male flowers among different *Diospyros*.

材料 Material	黄酮/ (mg/g) Flavonoids	总酚/ (mg/g) Polyphenols	单宁/ (mg/g) Tannins	维生素C/ (mg/100 g) Vitamin C
油柿 <i>D. oleifera</i>	20.68±0.48 a	20.84±1.94 a	13.74±0.24 c	529.23±2.06 a
美洲柿 <i>D. virginiana</i>	33.95±0.10 b	68.29±5.81 e	12.10±0.09 b	179.42±0.40 b
浙江柿 <i>D. glaucifolia</i>	17.37±0.71 c	74.86±1.14 e	15.09±0.50 d	326.08±0.55 c
君迁子 <i>D. lotus</i>	8.39±0.44 f	29.55±1.11 b	14.24±0.42 cd	190.09±0.56 d
禅寺丸 <i>D. kaki Zenjimarū</i>	11.19±0.71 d	45.81±0.83 cd	14.48±0.17 cd	395.21±0.39 e
西村早生 <i>D. kaki Nishimurawase</i>	13.53±0.53 e	31.17±0.60 b	14.43±0.27 cd	984.37±3.17 f
面黄蛋 <i>D. kaki Mianhuangdan</i>	9.13±0.75 f	50.38±3.68 d	7.20±0.07 a	1 217.00±2.77 g
木兰 14 <i>D. kaki Mulan 14</i>	11.34±1.21 d	41.14±3.46 c	14.54±0.64 cd	388.26±0.39 h
变异系数/%	51.65	40.19	18.87	109.10

注:所有数据均平行测定3次,Duncan多重比较,同行不同字母表示在5%水平上差异显著,相同字母表示差异不显著。

Note: Different small letters (a-d) represent significant differences at $P < 0.05$ according to Duncan's test.

表3 不同(品)种柿雄花抗氧化活性

Table 3 Antioxidant activities of the flowers of different *Diospyros*

mg/g (eq. Trolox)

材料 Material	DPPH ·	ABTS ⁺ ·	Fe ³⁺ 还原	Cu ²⁺ 还原	Fe ²⁺ 络合*
油柿 <i>D. oleifera</i>	61.16±0.35 a	411.33±47.35 a	61.20±0.64 a	35.75±5.64 a	5 517.36±30.12 de
美洲柿 <i>D. virginiana</i>	66.97±2.44 b	145.92±18.90 d	230.25±1.58 f	185.52±24.49 d	4 628.50±94.88 b
浙江柿 <i>D. glaucifolia</i>	44.47±0.65 c	270.63±13.06 c	196.83±2.30 e	192.36±4.04 d	5 394.28±79.90 cd
君迁子 <i>D. lotus</i>	27.79±0.95 d	42.64±0.81 e	62.89±6.51 a	65.32±14.02 abc	5 696.28±53.53 ef
禅寺丸 <i>D. kaki Zenjimarū</i>	61.51±2.55 a	244.00±33.52 c	103.62±3.92 b	76.78±6.42 bc	5 809.85±131.28 f
西村早生 <i>D. kaki Nishimurawase</i>	63.24±1.48 ab	18.73±2.73 e	96.73±2.50 b	73.71±13.64 abc	5 217.52±57.78 c
面黄蛋 <i>D. kaki Mianhuangdan</i>	67.54±0.67 b	644.26±26.11 b	156.05±7.27 d	102.93±11.37 c	3 062.97±21.23 a
木兰 14 <i>D. kaki Mulan 14</i>	63.61±2.33 ab	49.65±5.95 e	139.24±3.53 c	61.63±16.44 ab	4 592.23±36.52 b

注:所有数据均平行测定3次并进行了方差分析和Tukey HSD^a多重比较,同行中a~e表示在5%多重比较结果,同样的字母表示差异不显著;*标准物质用柠檬酸钠代替Trolox。Note: All values were mean±SD ($n=3$). Results were analyzed by ANOVA and Tukey HSD^a. Value with a~e, represent significantly different at $P < 0.05$; * means the standard was sodium citrate, instead of Trolox.

单宁含量呈显著的负相关关系,Fe²⁺离子络合能力与单宁呈极显著正相关关系,单宁含量越低,清除ABTS⁺·自由基能力越强,Fe²⁺离子络合能力

越弱;Fe³⁺还原能力、Cu²⁺还原能力与总酚含量呈极显著的正相关关系,总酚含量越高则还原能力越强。

表 4 Pearson 相关性分析

Table 4 Pearson correlation coefficients analysis

指标 Index	花筒直径 Cylinder diameter	花筒高 Cylinder height	雄蕊数 Stamen number	雄蕊长 _{最短} Stamen length(min)	雄蕊长 _{最长} Stamen length(max)	雄蕊宽 Stamen width	萼片长 Sepal length	萼片宽 Sepal width	花托高 Receptacle height	花托宽 Receptacle width	花柄长 Flower stalk length
花筒直径	1										
花筒高	0.872**	1									
雄蕊数	-0.325	-0.495	1								
雄蕊长 _{最短}	0.917**	0.909**	-0.536	1							
雄蕊长 _{最长}	0.904**	0.945**	-0.558	0.991**	1						
雄蕊宽	0.967**	0.881**	-0.486	0.941**	0.936**	1					
萼片长	0.443	0.738*	-0.140	0.502	0.563	0.371	1				
萼片宽	0.471	0.483	0.278	0.346	0.404	0.324	0.616	1			
花托高	0.510	0.377	0.397	0.367	0.375	0.325	0.406	0.902**	1		
花托宽	0.400	0.288	0.420	0.268	0.290	0.229	0.338	0.908**	0.983**	1	
花柄长	0.239	0.152	0.535	-0.065	-0.053	0.014	0.434	0.623	0.615	0.553	1
花柄粗	-0.047	-0.105	-0.124	-0.033	-0.010	0.123	-0.556	-0.281	-0.257	-0.159	-0.557
总酚	-0.235	-0.273	-0.645	-0.071	-0.096	-0.112	-0.529	-0.561	-0.508	-0.464	-0.634
维生素 C	0.909**	0.819*	-0.232	0.896**	0.889**	0.841**	0.491	0.639	0.729*	0.651	0.222
DPPH •	0.506	0.502	-0.359	0.461	0.433	0.389	0.459	0.165	0.246	0.116	0.449
ABTS ⁺ •	0.471	0.039	0.135	0.307	0.217	0.362	-0.365	0.132	0.491	0.432	0.188
Fe ³⁺ 还原	-0.128	-0.093	-0.747*	0.050	0.028	-0.015	-0.365	-0.588	-0.512	-0.501	-0.564 ⁺
Cu ²⁺ 还原	-0.368	-0.332	-0.559	-0.150	-0.161	-0.250	-0.502	-0.512	-0.442	-0.367	-0.676
Fe ²⁺ 络合	-0.692	-0.57	0.570	-0.747*	-0.691	-0.740*	0.005	0.181	-0.035	0.067	0.241

表 4(续)

指标 Index	花柄粗 Flower stalk diameter	黄酮 Flavonoids	总酚 Polyphenols	单宁 Tannins	维生素 C Vitamin C	DPPH·	ABTS ⁺ ·	Fe ³⁺ 还原 Reducing power (Fe ³⁺)	Cu ²⁺ 还原 Reducing power (Cu ²⁺)	Fe ²⁺ 络合 Chelating Fe ²⁺
花筒直径										
花筒高										
雄蕊数										
雄蕊长 _{最短}										
雄蕊长 _{最长}										
雄蕊宽										
萼片长										
萼片宽										
花托高										
花托宽										
花柄长										
花柄粗	1									
黄酮	-0.260	1								
总酚	0.187	0.425	1							
单宁	-0.074	0.021	-0.152	1						
维生素 C	-0.104	-0.382	-0.223	-0.624	1					
DPPH·	-0.650	0.321	0.086	-0.412	0.479	1				
ABTS ⁺ ·	0.042	-0.058	0.127	-0.739*	0.521	0.325	1			
Fe ³⁺ 还原	0.125	0.570	0.935**	-0.279	-0.130	0.311	0.110	1		
Cu ²⁺ 还原	0.232	0.566	0.953**	-0.115	-0.250	-0.009	0.055	0.906**	1	
Fe ²⁺ 络合	-0.189	0.033	-0.264	0.890**	-0.619	-0.515	-0.554	-0.456	-0.183	1

注:**在 0.01 水平上显著相关,*在 0.05 水平上显著相关。

Note:** means significant correlation at 0.01 level and * means significant correlation at 0.05 level.

2.5 表型、活性成分及抗氧化活性主成分分析

对8个(品)种柿雄花的12个表型数量性状、4种活性成分含量指标、5个抗氧化能力指标进行主成分分析,前3个主成分的累积贡献率已达到78.900%,因此选取前3个主成分。旋转后的成分矩阵显示,主成分1主要代表雄蕊长、雄蕊宽、花筒直径、花筒高、维生素C、 Fe^{2+} 离子络合能力与单宁,主成分2主要代表 Fe^{3+} 离子还原能力、总酚、 Cu^{2+} 离子还原能力、萼片宽、花柄长、花托高、花托宽与雄蕊数,主成分3主要代表DPPH·、花柄粗与黄酮。

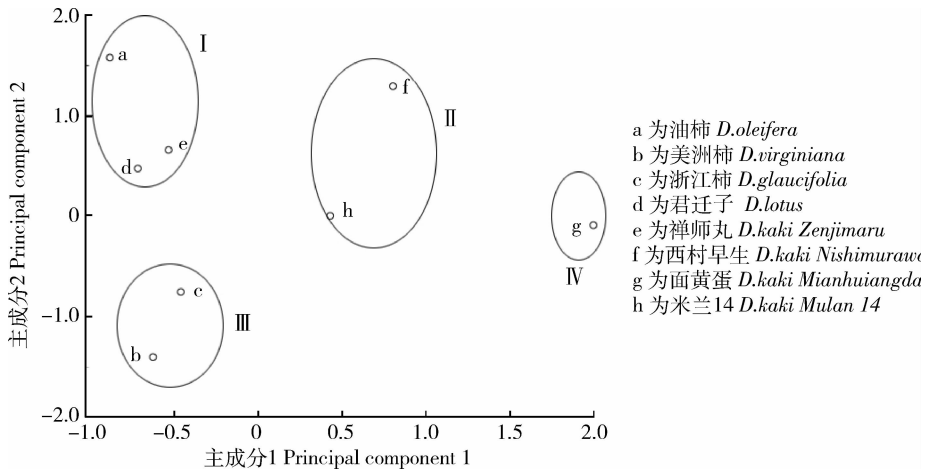


图1 以主成分1和2为坐标的散点分布图

Fig.1 Scatterplot drawn with principal component 1 and 2 as coordinates

3 讨论

表型性状是基因与环境共同作用的外在表现形式,直观展现了生物各种形态特征,是物种鉴别和新品种选育的基本依据^[17],表型的多样性可以反映物种的遗传变异程度^[18]。本研究发现柿雄花资源存在着丰富的多样性,13个数量性状变异幅度为变异系数为0%~61.37%,体现了较高等度的遗传变异。植物表型和基因型之间存在着基因表达、个体发育、调控等复杂的中间环节,本研究的结果将为柿雄花表型与基因型的关联分析、核心种质库构建及种质资源利用奠定良好的基础^[19]。在柿雄花表型的测定过程中,本研究发现关于柿雄花的报道仅限于分类学和育种学方面,表型测定方面尚未见到报道,测定时没有统一标准,因此在今后应在加强雄性资源收集的基础上,统一标注细化指标,建立柿属植物雄花资源图鉴和描述规范、数据标准,以便后续研

究人员能够更准确的对柿雄性资源进行描述与鉴定。研究表明,黄酮、总酚、单宁及维生素C等物质是植物中广泛存在的次生代谢产物^[20-21],具有抗氧化、抗衰老、降三高、提高免疫力等多重医疗保健作用^[22],柿叶及果实中含有丰富的黄酮、总酚、单宁及维生素C,叶片中维生素C含量是一般植物叶片的几倍到几十倍^[3,21]。通过对不同(品)种柿雄花活性成分的评价,表明柿雄花中黄酮、总酚、单宁、维生素C含量丰富,且雄花量大,具有巨大的开发利用潜力,并为柿种质资源评价提供基础数据。

DPPH·和ABTS⁺·是非常稳定的人工合成自由基,可稳定的存在于甲醇和乙醇中,分别在519和734nm特征显色,吸光度变小的程度与自由基被清除的程度呈定量关系,可测得样品对自由基的清除能力^[23]。抗氧化剂和具有抗氧化活性的物质可以通过自身的还原作用,给出电子而清除自由基,

还原能力越强,抗氧化性越强,样品所提供的电子可以使 Fe^{3+} (Cu^{2+}) 还原为 Fe^{2+} (Cu^{+}),从而使体系溶液颜色改变,即反映出体系中氧化还原状态的改变,吸光值越大,还原力越强,抗氧化效果越佳^[24]。与金属离子的络合能力是评价抗氧化活性的另一个重要指标,金属离子可通过与过氧化物等活性氧反应生成毒性更大的羟基自由基,引发生物膜发生脂质过氧化反应^[25]。8种雄花均有较强的体外抗氧化能力,不仅能有效清除 DPPH· 和 ABTS· 自由基,可显著的还原氧化过程中的中间氧化产物 Fe^{3+} 和 Cu^{2+} 离子,还可以作为抗氧化剂与金属离子发生络合反应,降低介质中金属离子的有效浓度,从而减轻自由基对生物膜的氧化损伤作用,因此,柿雄花的抗氧化能力主要通过清除自由基、络合过渡金属离子这2种途径实现。

柿雄花作为柿树的重要组成部分,其研究主要集中在分类学地位和育种学价值方面,关于其表型、活性成分及抗氧化活性的研究尚未见到文献报道,本研究对8个类型柿雄花表型、成分及抗氧化活性进行了系统研究,为柿雄花资源的进一步开发利用提供了理论基础。我国是世界上拥有柿品种资源最丰富的国家,目前现存柿属植物60余种,但雄性资源的收集评价工作还处于起步阶段,因此加强柿雄性资源的收集工作,在此基础上进行综合评价,建立雄性资源评价标准对柿产业发展具有重要意义。

参考文献 References

- [1] Taira S. *Astringency in Persimmon* [M]. Linskens H F, Jackson J F. eds. Berlin: Springer, 1995: 97-110
- [2] 孙鹏,傅建敏,周道顺,梁玉琴,张嘉嘉. 柿属植物种子表型多样性及其萌发与幼苗生长研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(11): 19-25
Sun P, Fu J M, Zhou D S, Liang Y Q, Zhang J J. Seed phenotypic diversity and germination growth of *Diospyros* plants[J]. *Journal of Central South University of Forestry and Technology*, 2013, 33(11): 19-25 (in Chinese)
- [3] 梁玉琴. 河南省柿种质资源遗传多样性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2015
Liang Y Q. Study on the genetic diversity of persimmon germplasms in Henan Province[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2015 (in Chinese)
- [4] 韩卫娟,李加茹,李华威,梁玉琴,孙鹏,傅建敏. 不同(品)种柿叶总酚与总黄酮含量年动态变化研究[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(2): 31-40
Han W J, Li J R, Li H W, Liang Y Q, Sun P, Fu J M. Annual

- variation of total polyphenol and flavonoid contents in leaves of different species (varieties) of *Diospyros*[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2016, 21(2): 31-40 (in Chinese)
- [5] 李加茹,孙鹏,韩卫娟,李芳东,傅建敏,刁松峰. 不完全甜柿‘禅寺丸’花性别分化形态学关键时期的研究[J]. 园艺学报, 2016, 43(3): 451-461
Li J R, Sun P, Han W J, Li F D, Fu J M, Diao S F. Morphological key period study on floral sex differentiation in pollination-constant and Non-astringent Persimmon ‘Zenjimarū’[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(3): 451-461 (in Chinese)
 - [6] 徐莉清. 部分中国原产柿属雄性种质的生物学特性及其新种质创制的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008
Xu L Q. Studies on the biological characters and new germplasm creation of some staminate germplasm in *Diospyros* Lnative to China [D]. Wuhan: Huangzhong Agricultural University, 2008 (in Chinese)
 - [7] 黄瑜芳. 完全雄性柿种质的分类学地位及其作为花粉供体的应用潜力研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013
Huang Y F. The Analysis of taxonomic status and application value as pollen donor of some androecious genotypes native to China[D]. Wuhan: Huangzhong Agricultural University, 2013 (in Chinese)
 - [8] 刘佳. 部分完全雄性种质作为柿专用授粉种质的评价研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015
Liu J. Evaluation of some androecious germplasm for professional pollinizer in persimmon[D]. Wuhan: Huangzhong Agricultural University, 2015 (in Chinese)
 - [9] 汪江华. 基于完全雄性种质的中国甜柿遗传改良技术的优化[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014
Wang J H. Optimization of genetic improvement technology based on androecious in Chinese PCNA persimmon [D]. Wuhan: Huangzhong Agricultural University, 2014 (in Chinese)
 - [10] 范杰平. 柿叶中有效成分的提取与分离研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006
Fan J P. Study on the extraction and separation of the active components in the leaves of *Diospyros kaki*[D]. Hangzhou: Zhengjiang University, 2006 (in Chinese)
 - [11] 韩卫娟,梁玉琴,孙鹏,李加茹,傅建敏. 柿属植物叶片多酚 Folin-ciocalteu 测定法的优化及部分种(品种)叶片多酚含量测定分析[J]. 计算机与应用化学, 2015, 32(7): 787-792
Han W J, Liang Y Q, Sun P, Li J R, Fu J M. Optimizing of Folin-ciocalteu method for the determination of total polyphenol content in leaves of *Diospyros* and the determination of leaf total polyphenol of some species (varieties) [J]. *Computers and Applied Chemistry*, 2015, 32(7): 787-792 (in Chinese)
 - [12] Magda A T, Ricardo A K, Beatriz A G. The accumulation of tannins during the development of ‘Giombo’ and ‘Fuyu’ persimmon fruits[J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 172: 292-299

- [13] 张嘉嘉,孙鹏,周道顺,张悦,傅建敏. 高效测定柿叶中维生素C的反相液相色谱法[J]. 计算机与应用化学, 2013, 33(11): 1379-1382
Zhang J J, Sun P, Zhou D S, Zhang Y, Fu J M. High efficiency deter. High efficiency determination of vitamin C in persimmon leaf by reversed phase liquid chromatography[J]. *Computers and Applied Chemistry*, 2013, 30(11): 1379-1382
- [14] 韩卫娟. 沉香茶保护DNA氧化损伤的活性及其机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013
Han W J. Protective effect and mechanism of aloeswood tea against hydroxyl radical-induced DNA damage[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2013 (in Chinese)
- [15] Han W J, Li X C. Antioxidant activity of aloeswood tea *in vitro* [J]. *Spatula DD*, 2012, 2(1): 43-50
- [16] Li X C, Han W J, Mai W Q, Wang L. Antioxidant activity and mechanism of tetrahydroamentoflavone *in vitro* [J]. *Natural Product Communications*, 2013, 8(6): 787-789 (in Chinese)
- [17] 宋杰,李世峰,刘丽娜,李树发,谢玮佳. 云南含笑天然居群的表型多样性分析[J]. 西北植物学报, 2013, 33(2): 272-279.
Song J, Li S F, Liu L N, Li S F, Xie W J. Phenotypic diversity of natural populations of *Michelia yunnanensis* [J]. *Acta Botanica Boreall-Occidentalia Sinica*, 2013, 33(2): 272-279 (in Chinese)
- [18] 黄勇,谢一青,李志真,王开良,林萍,姚小华. 小果油茶表型多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 270-278
Huang Y, Xie Y Q, Li Z Z, Wang K L, Lin P, Yao X H. Analysis of camellia meiocarpa phenotype diversity [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(2): 270-278 (in Chinese)
- [19] 江锡兵,龚榜初,刘庆忠,陈新,吴开云,邓全恩. 中国板栗地方品种重要农艺性状的表型多样性[J]. 园艺学报, 2014, 41(4): 641-652
Jiang X B, Gong B C, Liu Q Z, Chen X, Wu K Y, Deng Q N. Phenotypic diversity of important agronomic traits of local cultivars of Chinese Chestnut [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(4): 641-652 (in Chinese)
- [20] 王燕,王儒彬,孙磊,王本华,丁月新,许丽琴. 不同采摘期连翘叶中总黄酮、总酚酸含量与DPPH自由基清除能力的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 109-112
Wang Y, Wang R B, Sun L, Wang B H, Ding Y X, Xu L Q. Relationship between total flavonoids, total phenolics and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activities during growth of forsythia suspensa leaves [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2011, 17(16): 109-112 (in Chinese)
- [21] 张嘉嘉. 柿资源叶片中主要有效成分的多样性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014
Zhang J J. Study on main effective components diversity in leaves of persimmon germplasm [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2014 (in Chinese)
- [22] 韩卫娟,梁玉琴,张嘉嘉,傅建敏. 柿叶多酚及黄酮类定量分析方法的综述[J]. 中国农学通报, 2014, 30(31): 52-56
Han W J, Liang Y Q, Zhang J J, Fu J M. Review on quantitative analysis methods of polyphenols and flavonoids in the leaf persimmon [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(31): 52-56 (in Chinese)
- [23] 凌关庭. 抗氧化食品与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 4: 52-60
Ling G T. *Antioxidant food and health* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004. 52-60 (in Chinese)
- [24] 韩卫娟,张嘉嘉,杜改改,孙鹏,刁松锋,傅建敏. 柿叶茶、杜仲雄花茶、绿茶和红茶体外抗氧化活性比较研究[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(3): 144-148
Han W J, Zhang J J, Du G G, Sun P, Diao S F, Fu J M. Comparative studies on the antioxidant activities of persimmon leaf tea, eucommia ulmoides male flower tea, green tea and black tea *in vitro* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2017, 32(3): 144-148 (in Chinese)
- [25] Li X C, Wang X Z, Chen D F, Chen S Z. Antioxidant activity and mechanism of protocatechuic acid *in vitro* [J]. *Functional Foods in Health and Disease*, 2011(7): 232-244

责任编辑: 王燕华