

七个江南牡丹品种花瓣中类黄酮物质分析

张宝智¹, 胡永红^{2,3}, 韩继刚^{2,3}, 刘群录^{1,3,4,5}

(1. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240; 2. 上海植物园, 上海 200231; 3. 上海城市植物资源开发与应用工程技术研究中心, 上海 200231; 4. 农业部都市农业(南方)重点开放实验室, 上海 200240; 5. 上海交通大学 陆伯勋食品安全研究中心, 上海 200240)

摘要:以“凤尾”、“凤丹白”、“西施”、“粉莲”、“昌红”、“呼红”和“云芳”7个江南牡丹品种为试材, 利用 UPLC-PDA 和 UPLC-Q-TOF MS 技术对盛花期花瓣中类黄酮组分进行了定性和定量分析。结果表明: 江南牡丹花瓣中共检测到 15 种类黄酮组分, 其中花色苷 4 种: 矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷、矢车菊素-3-葡萄糖苷、芍药花素-3,5-二葡萄糖苷、芍药花素-3-葡萄糖苷; 黄酮 7 种: 木犀草素单糖苷(六碳糖)、木犀草素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖)、芹黄素单糖苷(六碳糖)、芹黄素二糖苷(五碳糖+六碳糖)、芹黄素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖)、金圣草黄素单糖苷(六碳糖)、金圣草黄素二糖苷(六碳糖+甲基五碳糖); 黄酮醇 4 种: 槲皮素单糖苷(六碳糖)、槲皮素二糖苷(六碳糖+六碳糖)、山奈酚二糖苷(六碳糖+六碳糖)、异鼠李素二糖苷(六碳糖+六碳糖); 江南牡丹花瓣中主要的花色苷为芍药花素-3,5-二葡萄糖苷和矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷, 主要的黄酮为芹黄素糖苷, 即芹黄素单糖苷(六碳糖)、芹黄素二糖苷(五碳糖+六碳糖)、芹黄素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖), 黄酮醇为山奈酚糖苷, 即山奈酚二糖苷(六碳糖+六碳糖)。

关键词:江南牡丹; 花色苷; 黄酮; 黄酮醇

中图分类号:S 687.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0061-05

江南牡丹品种群是由杨山牡丹与古代南移的中原牡丹相互间杂交, 形成适应当地气候条件的后代群体, 是一个较为耐湿热的优秀牡丹种群^[1]。传统的江南牡丹品种主要为白色、粉色和紫红色 3 个色系, 花色较为单一, 限制了其在园林中的应用。

类黄酮类物质是植物花色形成的物质基础, 包括花色苷、黄酮、黄酮醇和黄烷醇等。根据对牡丹部分野生种和其它栽培品种群花瓣中类黄酮物质的分析, 牡丹花瓣中含有 6 种花色苷, 以矢车菊素(Cyanidin, Cy)、芍药花素(Peonidin, Pn)、天竺葵素(Pelargonidin, Pg)的 3-葡萄糖苷和 3,5-二葡萄糖苷的形式存在^[2-4]; 黄酮苷主要为芹黄素(Apigenin, Ap)、木犀草素(Luteolin, Lu)、金圣草黄素(Chrysoeriol, Ch)的单糖苷和二糖苷, 糖基化的位置主要在 7 位, 以 7-葡萄糖苷、7-鼠李葡萄糖苷、7-新橙皮苷的形式存在; 黄酮醇苷主要为山奈黄素(Kaempferol, Km)、槲皮素(Quercetin, Qu)、异鼠李黄素(Isorhamnetin, Is)的单糖苷和二糖苷, 糖基化位置通常存在于 3 位和 7 位, 有时被没食子酸酰化, 以 3-葡萄糖

苷、3-阿拉伯糖苷、7-葡萄糖苷、7-鼠李糖苷、7-阿拉伯糖的形式存在^[5-7]。

花色素组成分析有利于阐明江南牡丹花色形成的机理, 也是进行花色育种的依据之一。目前关于江南牡丹品种群花瓣类黄酮物质组成的研究尚鲜见报道。现利用超高效液相色谱-光电二极管阵列检测技术(UPLC-PDA)及超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱技术(UPLC-Q-TOF MS), 分析“凤尾”、“凤丹白”、“西施”、“粉莲”、“昌红”、“呼红”、“云芳”7 个传统江南牡丹品种的花色素成分, 以期阐明江南牡丹花色形成的机理, 为筛选具有优良花色观赏性状的育种亲本提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以白色系(“凤尾”、“凤丹白”)、粉色系(“西施”、“粉莲”)和紫红色系(“昌红”、“呼红”、“云芳”)的 7 个传统江南牡丹品种为试材, 于 2011 年 4 月末自上海植物园分别采收处于盛花期的新鲜花瓣, 液氮速冻后置于 -80℃ 冰箱备用。以矢车菊素 3-O-葡萄糖苷(Cyanidin-3-O-glucoside, Cy3G)和芦丁(Quercetin-3-O-rutinoside, Rutin)为标准品, 购于中国标准物质网。液相色谱仪为美国 Waters 公司 Acquity UPLC 系统, 包括二元高压梯度泵、自动进样器、光电二极管阵列检测器(PDA)以及 MassLynx™ 4.1 色谱工作站。美国 Waters 公司 ACQUITY™ UPLC & Q-TOF MS Premier 型超高效液相色谱飞行时间质谱

第一作者简介:张宝智(1987-), 男, 硕士, 研究方向为园林植物与观赏园艺。E-mail: shllzbza@sjtu.edu.cn.

责任作者:刘群录(1970-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为园林植物育种。E-mail: liuql@sjtu.edu.cn.

基金项目:上海市重点科技攻关资助项目(10391901200; 11391901101)。

收稿日期:2012-10-09

联用仪。

1.2 试验方法

称取 0.25 g 新鲜花瓣,液氮磨碎,加入 5 mL 0.1% HCl-甲醇提取液,置于 4℃ 冰箱中避光浸提 24 h,每隔 12 h 振荡 1 次,上清液经 0.22 μm 滤膜过滤,浓缩 10 倍后用于花色素的 UPLC-PDA 及 UPLC-Q-TOF MS 分析。

1.2.1 高效液相色谱分析 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 反相硅胶柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)。流动相:A,0.5% 甲酸水溶液;B,0.5% 甲酸乙腈。洗脱梯度为:0 min,5%B;2.5 min,10%B;12 min,25%B;14 min,40%B;15.5 min,85%B;17 min,100%B;20 min,5%B。流速:0.4 mL/min;进样量:5 μL;柱温:45℃;检测波长:520 nm(花色苷),350 nm(黄酮和黄酮醇),200~800 nm 范围内全波长扫描吸收光谱。

1.2.2 质谱分析 利用型超高效液相色谱飞行时间质谱联用仪进行类黄酮物质的结构鉴定。液相色谱分析条件同上,检测波长为 520 nm。质谱条件:正离子扫描(ESI^+ , m/z 50~1 000),毛细管电压 3.0 kV;锥孔电压 30 V;提取锥电压 3 V;光电倍增电压 650 V;锥孔气流量 50 L/h;脱溶剂气流量 600 L/h;离子源温度 100℃;脱溶剂气温度 300℃;碰撞气氦气流速 0.30 mL/min;碰撞能量 25 eV。利用 Mass Lynx v 4.1 软件分析质谱结果。

1.3 项目测定

分别在花色苷最大吸收波长 520 nm 和黄酮/黄酮醇最大吸收波长 350 nm 处同时检测总花色苷 (Total anthocyanins, TA) 和总黄酮/黄酮醇 (Total flavonols, including flavonol and flavone glycosides, TF) 含量。采用峰面积归一化法^[4]计算花瓣中类黄酮的相对含量,其中黄酮糖苷和黄酮醇糖苷的含量以对应的苷元离子的相对含量表示^[3]。分别以矢车菊素 3-O-葡萄糖苷 (Cyanidin-3-O-glucoside, Cy3G) 和芦丁 (Quercetin-3-O-rutinoside, Rutin) 为标准品,利用外标法对花瓣中 TA 和 TF 进行半定量,以 1 g 新鲜花瓣中含有的 TA 和 TF 的量 (mg/g) 表示。

2 结果与分析

2.1 类黄酮定性分析

利用超高效液相色谱仪和超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱仪在 7 个江南牡丹品种花瓣中共检测出 4 种花色苷和 11 种黄酮/黄酮醇类物质(图 1)。通过对各个组分的紫外-可见吸收光谱图及质谱分子离子和特征离子的分析,4 种花色苷分别为:矢车菊素 3,5-二葡萄糖苷、矢车菊素-3-葡萄糖苷、芍药花素-3,5-二葡萄糖苷和芍药花素-3-葡萄糖苷;7 种黄酮:木犀草素单糖苷(六碳糖)、木犀草素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖)、芹黄素单糖苷(六碳糖)、芹黄素二糖苷(五碳糖+六碳糖)、芹黄素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖)、金圣草黄素单糖苷(六碳糖)、金圣草黄素二糖苷(六碳糖+甲基五碳糖);4

种黄酮醇:槲皮素单糖苷(六碳糖)、槲皮素二糖苷(六碳糖+六碳糖)、山奈酚二糖苷(六碳糖+六碳糖)和异鼠李素二糖苷(六碳糖+六碳糖)。由于某些成分的含量极微,故未进行结构推定。江南牡丹花瓣中类黄酮的紫外-可见吸收光谱特征及高分辨质谱数据见表 1。其中第 13 号峰为牡丹中新发现的黄酮糖苷,二级质谱碎片 m/z 301.0724 与苷元金圣草黄素 (Chrysoeriol, 简称 Ch) 一致, m/z 463.1244 的碎片离子为分子离子 m/z 609.1817 失去质量数为 142 的甲基五碳糖所得, m/z 301.0724 为 m/z 463.1244 失去一分子质量数为 162 六碳糖基所得,结合光谱数据推定其为金圣草黄素二糖苷(六碳糖+甲基五碳糖),具体结构仍需进一步鉴定。

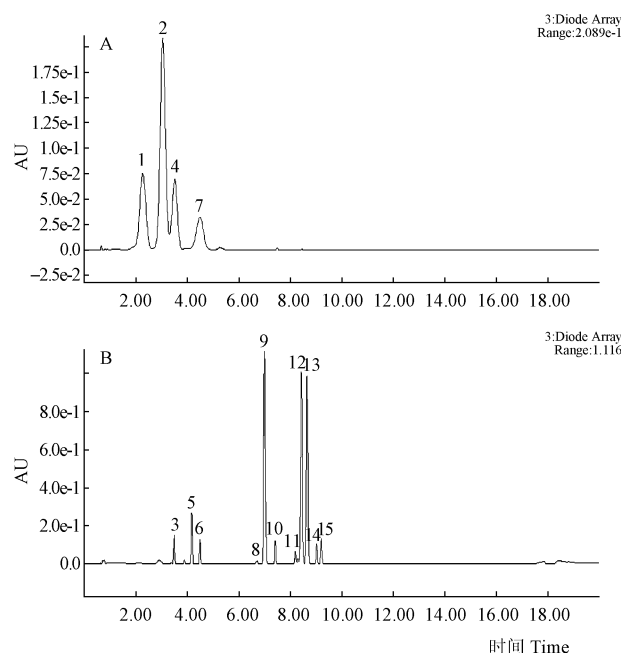


图 1 江南牡丹花色苷和黄酮/黄酮醇组成的 UPLC 图谱

注:A. 检测波长 520 nm;B. 检测波长 350 nm。

Fig. 1 UPLC chromatograms of anthocyanins, flavones and flavonols in flowers of Jiangnan tree peony

Note: A. Detected at 520 nm; B. Detected at 350 nm.

2.2 类黄酮定量分析

7 个江南牡丹品种花瓣中的各种花色苷的含量见表 2。白色系的“凤丹白”和“凤尾”花瓣中未检测到花色苷的存在;粉色系的“西施”和“粉莲”中检测到 Pn3G5G 和 Cy3G5G 2 种花色苷,其中 Pn3G5G 是粉色系牡丹的主要花色苷组分,平均相对含量为 93.33%;紫红色系的“昌红”、“呼红”和“云芳”中花色苷组成为 Cy3G5G、Pn3G5G、Cy3G 和 Pn3G,主要的花色苷为 Pn3G5G,平均相对含量为 59.63%,其次为 Cy3G5G、Cy3G 和 Pn3G。不同色系总花色苷含量(TA)随种质表现出明显的差异,相对含量为 0~0.240 mg/g,紫红色系牡丹花色苷的总量显著高于粉色系。

表 1 江南牡丹类黄酮组分的紫外-可见吸收光谱与质谱数据

Table 1 Chromatographic and spectral data of flavonoids from flowers of Jiangnan tree peony						
色谱峰 Peak No.	保留时间 Retention time/min	最大吸收波长 λ_{\max}/nm	分子离子/ ($[\text{M}]^+$ 或 $[\text{M}+\text{H}]^+$)	碎片离子 Fragments $[\text{Y}_0]^+$ 或 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+/\text{m}\cdot\text{z}^{-1}$	化合物的结构 Tentative identification	参考文献 References
1	2.27	277,512	611.1638($[\text{M}]^+$)	449.1104,287.0580 $[\text{Y}_0]^+$	矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷 Cyanidin 3,5-di-O-glucoside	[5,8]
2	3.03	278,513	625.1813($[\text{M}]^+$)	463.1255,301.0735 $[\text{Y}_0]^+$	芍药花素-3,5-二葡萄糖苷 Peonidin 3,5-di-O-glucoside	[5,8]
3	3.48	255,352	627.1538($[\text{M}+\text{H}]^+$)	465.1009,303.0489 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	槲皮素二糖苷(六碳糖+六碳糖) Quercetin di-hexoside	[5]
4	3.50	278,515	449.1106($[\text{M}]^+$)	287.0569 $[\text{Y}_0]^+$	矢车菊素-3-葡萄糖苷 Cyanidin 3-O-glucoside	[5,8]
5	4.17	265,345	611.1586($[\text{M}+\text{H}]^+$)	449.1077,287.0550 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	山奈酚二糖苷(六碳糖+六碳糖) Kaempferol di-hexoside	[5]
6	4.48	254,352	641.1683($[\text{M}+\text{H}]^+$)	479.1176,317.0642 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	异鼠李素二糖苷(六碳糖+六碳糖) Isorhamnetin di-hexoside	[5]
7	5.16	279,516	463.1237($[\text{M}]^+$)	301.0686 $[\text{Y}_0]^+$	芍药花素-3-葡萄糖苷 Peonidin 3-O-glucoside	[5,8]
8	6.72	254,323	465.1021($[\text{M}+\text{H}]^+$)	303.0511 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	槲皮素单糖苷(六碳糖) Quercetin hexoside	
9	6.98	254,265(sh)348	449.1077($[\text{M}+\text{H}]^+$)	287.0565 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	木犀草素单糖苷(六碳糖) Luteolin hexoside	[5]
10	7.42	255,265(sh)348	595.1668($[\text{M}+\text{H}]^+$)	449.1130,287.0564 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	木犀草素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖) Luteolin deoxyhexo-hexoside	[5]
11	8.18	261,336	565.1555($[\text{M}+\text{H}]^+$)	433.1198,271.0612 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	芹黄素二糖苷(五碳糖+六碳糖) Apigenin pento-hexoside	[5]
12	8.42	266,337	433.1136($[\text{M}+\text{H}]^+$)	271.0626 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	芹黄素单糖苷(六碳糖) Apigenin-hexoside	
13	8.65	265,338	579.1724($[\text{M}+\text{H}]^+$)	433.1114,271.0633 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	芹黄素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖) Apigenin deoxyheso-hexoside	[5]
14	9.02	253,267(sh),347	463.1251($[\text{M}+\text{H}]^+$)	301.0717 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	金圣草黄素单糖苷(六碳糖) Chrysoeriol hexoside	[5]
15	9.20	255,347	609.1817($[\text{M}+\text{H}]^+$)	463.1244,301.0724 $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$	金圣草黄素二糖苷(六碳糖+甲基五碳糖) Chrysoeriol deoxyhexo-hexoside	

注:M:糖苷分子; $[\text{M}]^+$:糖苷分子离子; $[\text{M}+\text{H}]^+$:糖苷分子加氢; Y_0 :苷元; $[\text{Y}_0]^+$:苷元分子离子; $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$:苷元分子加氢;sh:全波扫描质谱图谱肩峰。

Note:M;Glycoside molecular; $[\text{M}]^+$:Glycoside molecular ion; $[\text{M}+\text{H}]^+$:Glycoside molecular ion add hydrogen; Y_0 :Aglycone; $[\text{Y}_0]^+$:Aglycone molecular ion; $[\text{Y}_0+\text{H}]^+$:Aglycone molecular ion add hydrogen;sh:Shoulder in the spectrum.

表 2 江南牡丹花色苷组成及定量分析

Table 2 Pigment constitutions and relative quantity of anthocyanins in Jiangnan tree peony						
色系	品种名	花色苷组分 Anthocyanin components/%				总花色苷相对含量 TA relative contents /mg·g ⁻¹
		Cy3G5G	Pn3G5G	Cy3G	Pn3G	
白色系	“凤尾”	0.00	0.00	0.00	0.00	0
	“凤丹白”	0.00	0.00	0.00	0.00	0
粉色系	“西施”	5.31	94.69	0.00	0.00	0.025
	“粉莲”	8.03	91.97	0.00	0.00	0.037
紫红色系	“昌红”	23.06	53.64	12.13	11.17	0.180
	“呼红”	18.17	75.67	1.70	4.46	0.137
	“云芳”	18.67	49.59	18.75	12.99	0.240

注: Cy3G5G, Cyanidin 3,5-di-O-glucoside, 矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷; Pn3G5G, Peonidin 3,5-di-O-glucoside, 芍药花素-3,5-二葡萄糖苷; Cy3G, Cyanidin 3-O-glucoside, 矢车菊素-3-葡萄糖苷; Pn3G, Peonidin 3-O-glucoside, 芍药花素-3-葡萄糖苷; TA, Total anthocyanins in petals(mg·[1 g of fresh weight]⁻¹), 花色苷总量。

Note: Cy3G5G, Cyanidin 3,5-di-O-glucoside; Pn3G5G, Peonidin 3,5-di-O-glucoside; Cy3G, Cyanidin 3-O-glucoside; Pn3G, Peonidin 3-O-glucoside; TA, Total anthocyanins in petals(mg·[1 g of fresh weight]⁻¹).

由表 3 可知,检测到的黄酮分别为 Ap、Lu、Ch 的单糖苷和二糖苷;黄酮醇分别为 Km、Qu、Is 的单糖苷和二糖苷,其中 Ap、Km 为主要的黄酮/黄酮醇成分,平均相对含量分别达到了 62.56%和 14.14%;总黄酮醇的相对含量在 9.03~11.84 mg/g 范围内,粉色系牡丹“西施”、

表 3 江南牡丹黄酮/黄酮醇组成及定量分析

Table 3		Pigment constitutions and relative quantity of flavones/flavonols in Jiangnan tree peony						
色系	品种名	黄酮/黄酮醇苷元 Favone and flavonol aglycones/%						总黄酮相对含量 TF relative contents
		Km	Qu	Is	Ap	Lu	Ch	/mg·g ⁻¹
白色系	“凤尾”	32.76	0.04	0.22	66.08	0.25	0.00	9.52
	“凤丹白”	33.26	0.05	0.13	64.77	0.39	0.41	11.84
粉色系	“西施”	18.10	0.24	0.84	76.26	0.88	1.09	9.59
	“粉莲”	0.00	0.49	1.00	90.16	1.64	1.90	8.52
紫红色系	“昌红”	4.99	3.25	2.11	50.00	3.10	4.81	10.07
	“呼红”	3.13	1.72	1.73	49.53	2.81	6.12	10.51
	“云芳”	6.74	5.17	4.31	41.16	5.35	12.44	9.03

注: Km, Kaempferol, 山奈黄素二糖苷(六碳糖+六碳糖)苷元; Qu, Quercetin, 槲皮素二糖苷(六碳糖+六碳糖)苷元; Is, Isorhamnetin, 异鼠李素二糖苷(六碳糖+六碳糖)苷元; Ap, Apigenin, 芹黄素糖苷元,包括芹黄素二糖苷(五碳糖+六碳糖)、芹黄素单糖苷(六碳糖); Lu, Luteolin, 木犀草素糖苷元,包括木犀草素单糖苷(六碳糖)、木犀草素二糖苷(甲基五碳糖+六碳糖); Ch, Chrysoeriol, 金圣草黄素二糖苷(六碳糖+甲基五碳糖)苷元; TF, Total flavonols in petals (mg·[1 g of fresh weight]⁻¹), 黄酮/黄酮醇总量;数据用百分含量表示。

Note: Km, Kaempferol, aglycone of Kaempferol di-hexoside; Qu, Quercetin, aglycone of Quercetin di-hexoside; Is, Isorhamnetin, aglycone of Isorhamnetin di-hexoside; Ap, Apigenin, aglycones of Apigenin pento-hexoside and Apigenin-hexoside; Lu, Luteolin, aglycones of Luteolin hexoside and Luteolin deoxyhexo-hexoside; Ch, Chrysoeriol, aglycone of Chrysoeriol deoxyhexo-hexoside; TF, Total flavonols in fresh petals (mg·[1 g of fresh weight]⁻¹); Datas were expressed as percentage.

“粉莲”花瓣中黄酮醇总量 TF 低于其它色系。

3 讨论

3.1 江南牡丹与其它牡丹栽培品种群的花色素组成比较

除白色系外,江南牡丹其它 5 个品种的主要花色苷组成为 Pn3G5G 和 Cy3G5G,是形成粉色系和紫红色的主要色素成分,与中原牡丹品种群紫色花^[4-5]和西北牡丹粉色系和紫色系^[2]花色苷组成相近,但与红色系日本牡丹品种群种质^[4]和中原牡丹品种群种质^[9]相比普遍缺少 Pg 型色素。江南牡丹黄酮/黄酮醇组成与其它栽培品种群也相似,主要为 Ap、Km 的单糖苷和二糖苷,为牡丹花瓣中广泛存在的黄酮和黄酮醇^[2,5]。

3.2 江南牡丹新品种的选育策略

根据花色色素组成,江南牡丹花色育种可向红色调和蓝色调花色 2 个方向进行。芍药属牡丹组植物具有丰富的红色花种质资源,如中原牡丹品种群和日本牡丹品种群的红色种质,色素类型以 Cy 或 Pg 型色素为主^[4]。通过品种群间相互杂交有望获得理想的红色系新品种,可以考虑选用一些 Pg3G 含量高、助色系数低的日本牡丹品种或 Pg3G5G 含量高的中原牡丹作为育种亲本。在红色系新品种的分子育种中,可以利用反义 RNA 技术抑制花青苷元甲基化酶 OMT 基因的活性,抑制类黄酮生物合成途径中 Cy 向 Pn 的转化,促进 Cy 型色素的积累;也可以通过抑制粉色系“西施”、“粉莲”中 F3'5'H 基因和黄酮醇合成酶基因 FLS 的表达而产生 Pg 型色素、降低黄酮醇含量,创造鲜红色牡丹新品种。

蓝色杜鹃花杂交育种^[10]的经验表明,黄酮醇的存在使花色偏蓝,蓝色调江南牡丹新品种的育种,可以借鉴利用基因工程手段获得蓝色月季^[11]的经验,将 F3'5'H 基因和外源 DFR 基因导入黄酮醇含量高的白色系江南牡丹如“凤尾”、“凤丹白”中,同时下调内源 DFR 基因的表达,积累蓝色色素飞燕草素(Delphinidin, Dp)糖苷,与黄酮醇形成辅助着色效应,从而形成稳定的蓝色花。若导入的 F3'5'H 基因表达量过低,可以导入能增

强 F3'5'H 酶活性的 CYTb5 蛋白基因^[12]来达到创造蓝色江南牡丹新品种的目的。

参考文献

- [1] 王莲英. 中国牡丹品种图志[M]. 北京:中国林业出版社,1997.
- [2] Wang L S, Hashimoto F, Shiraishi A, et al. Chemical taxonomy of the Xibei tree peony from China by floral pigmentation [J]. Journal of Plant Research, 2004, 117(1): 47-55.
- [3] Wang L S, Hashimoto F, Shiraishi A, et al. Phenetics in tree peony species from China by flower pigment cluster analysis [J]. Journal of Plant Research, 2001, 114(3): 213-221.
- [4] Wang L S, Shiraishi A, Hashimoto F, et al. Analysis of petal anthocyanins to investigate flower coloration of Zhongyuan (Chinese) and Daikon Island (Japanese) tree peony cultivars [J]. Journal of Plant Research, 2001, 114(1): 33-43.
- [5] Fan J L, Zhu W X, Kang H B, et al. Flavonoid constituents and antioxidant capacity in flowers of different Zhongyuan tree peony cultivars [J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1): 147-157.
- [6] Li C, Du H, Wang L, et al. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia* Section Moutan) yellow flowers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(18): 8496-8503.
- [7] Wang X, Cheng C, Sun Q, et al. Isolation and purification of four flavonoid constituents from the flowers of *Paeonia suffruticosa* by high-speed counter-current chromatography [J]. Journal of Chromatography, 2005, 1075(1): 127-131.
- [8] 樊金玲, 朱文学, 沈军卫, 等. 高效液相色谱-电喷雾质谱法分析牡丹花中花色苷类化合物[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 367-371.
- [9] 樊金玲, 朱文学, 沈军卫, 等. 红色系中原牡丹品种花色苷和黄酮的含量分析[J]. 北方园艺, 2009(10): 191-194.
- [10] Heursel J. Diversity of flower colours in *Rhododendron simsii* Planch and prospects for breeding [J]. Euphytica, 1981, 30(1): 9-14.
- [11] Katsumoto Y, Masako F M, Yuko F, et al. Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin [J]. Plant and Cell Physiology, 2007, 48(11): 1589-1600.
- [12] De V N, Jeroen T H, Henk-Peter V S, et al. A cytochrome b5 is required for full activity of flavonoid 3', 5'-hydroxylase, a cytochrome P450 involved in the formation of blue flower colors[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1999, 96(2): 778-783.

(致谢:上海交通大学朱娜、冯雷两位老师对该试验提供帮助,谨此致谢。)

Study on Flavonoids in Petals of Seven Jiangnan Tree Peony Cultivars

ZHANG Bao-zhi¹, HU Yong-hong^{2,3}, HAN Ji-gang^{2,3}, LIU Qun-lu^{1,3,4,5}

(1. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240; 2. Shanghai Botanical Garden, Shanghai 200231; 3. Shanghai Engineering Research Center of Sustainable Plant Innovation, Shanghai 200231; 4. Key Laboratory of Urban Agriculture (South), Ministry of Agriculture, Shanghai 200240; 5. Bor. S. Luh Food Safety Research Center, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240)

Abstract: Utilizing 7 traditional cultivars of Jiangnan tree peony, 'Fengwei', 'Fengdanbai', 'Xishi', 'Fenlian', 'Changhong', 'Huhong', 'Yunfang' as materials, the flavonoids in the petals at full-bloom stage were analyzed and quantified through UPLC-PDA and UPLC-Q-TOF MS. The results showed the existence of 15 flavonoids in the petals, including 4 anthocyanins: peonidin 3,5-di-O-glucoside (Pn3G5G), cyanidin 3,5-di-O-glucoside (Cy3G5G), cyaniding 3-O-

几种处理对两种白头翁种子萌发的影响

王 非, 张 丽 梅, 张 丹, 于 晓 梅, 宋 红

(东北林业大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要:以白头翁和兴安白头翁种子为试材,研究了植物生长激素、温度、光照和浸种等处理方法对2种白头翁种子萌发的影响。结果表明:5 mg/L NAA和100 mg/L GA₃处理的白头翁种子萌发率显著高于对照($P < 0.05$);10和50 mg/L GA₃处理的兴安白头翁其发芽率和发芽势均显著高于对照($P < 0.05$)。2种白头翁种子的萌发率和发芽势均随着温度的升高而明显增高,适宜的发芽温度为25~30℃。延长光照和浸种时间处理可以明显促进2种白头翁种子的萌发率和发芽势。

关键词:白头翁;激素;温度;光照;浸种;萌发率

中图分类号:S 681.904⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0065-03

白头翁属植物的花为蓝紫色,且花期较早,果期羽毛状的花柱宿存,形如头状,极为别致。白头翁在园林中自然栽植,用于布置花坛、道路两旁,或点缀于林间空地,都是很好的绿化材料,且白头翁属植物的根可入药,具有清热解毒、凉血止痢、燥湿杀虫的功效^[1],并在临床上可用于治疗细菌性痢疾、阿米巴痢疾、湿热泻痢、温症寒热、腹痛、抵抗肿瘤等疾病^[2-6]。虽然近年来,白头翁属植物的野生驯化与栽培技术研究工作已经展开,但因其种子小,自然发芽率低且不整齐,发芽时易霉烂等原因,对后续的试验研究造成了一定困难。现以白头翁属的白头翁(*Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel)及兴安白头翁(*Pulsatilla dahurica* (Fisch) Spreng)种子为试材,研究了激素、温度、光照、浸种等处理对其萌发的影响,以期找到可以提高白头翁种子萌发的有效方法,并为其规模化、规范化种植提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验中所用的2种白头翁种子均在其成熟期采于

大庆草原上。带回实验室经鉴定为毛茛科植物白头翁(*Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel)和兴安白头翁(*Pulsatilla dahurica* (Fisch) Spreng)种子。

1.2 试验方法

1.2.1 千粒重测定 随机选取2种白头翁种子各1 000粒(保留羽毛状宿存花柱),分别用电子天平精确称重,3次重复。

1.2.2 吲哚乙酸(IAA)、萘乙酸(NAA)和赤霉素(GA₃) 3种激素处理对2种白头翁种子萌发的影响 参考李海燕等^[7]的方法并略有改进。从采集到的2种白头翁种子里各选取100粒饱满种子,将其在25℃下浸泡在不同浓度的IAA(1、5、10、15 mg/L)、NAA(1、5、10、15 mg/L)和GA₃(10、50、100、150 mg/L)溶液中24 h,之后再将浸泡过的种子用蒸馏水冲洗干净并转移到铺好2层滤纸的培养皿中催芽,每天观察种子萌发的数量。对照种子用清水。3次重复。

1.2.3 温度、光照和浸种时间对2种白头翁种子萌发的影响 从采集到的2种白头翁种子里各选取100粒饱满种子,将其浸泡到不同温度(10、15、20、25、30℃)和在25℃温度下不同光照时间(0、8、24 h)的清水中12 h,之后再将浸泡过的种子转移到培养皿中观察温度和光照对白头翁种子萌发的影响;同上述选取种子的方法,将选取的种子在25℃温度下浸泡不同时间(1、8、12、16、20、24 h),

第一作者简介:王非(1975-),女,博士,副教授,研究方向为园林植物种质资源。E-mail: wangfei197539@yahoo.com.cn.

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术指导资助项目(11533018)。

收稿日期:2012-10-17

glucoside (Cy3G), peonidin 3-O-glucoside (Pn3G), seven flavones: luteolin hexoside, luteolin deoxyhexo-hexoside, apigenin-hexoside, apigenin pento-hexoside, apigenin deoxyheso-hexoside, chrysoeriol hexoside, chrysoeriol deoxyhexo-hexoside and four flavonols: quercetin hexoside, quercetin di-hexoside, kaempferol di-hexoside, isorhamnetin di-hexoside. The main anthocyanins in the petals of Jiangnan tree peony were Pn3G5G and Cy3G5G, and the main flavones/flavonols were apigenin-hexoside, apigenin pento-hexoside, apigenin deoxyheso-hexoside and kaempferol di-hexoside respectively.

Key words: Jiangnan tree peony; anthocyanins; flavones; flavonols