

刘 红, 魏晓羽, 马 辉, 等. 几种兰属地生种花瓣花色素组成分析[J]. 江苏农业学报, 2022, 38( 6 ): 1657-1677.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.06.025

## 几种兰属地生种花瓣花色素组成分析

刘 红<sup>1</sup>, 魏晓羽<sup>1</sup>, 马 辉<sup>1</sup>, 瞿 辉<sup>2</sup>, 孙 叶<sup>1</sup>

(1. 江苏里下河地区农业科学研究所, 江苏 扬州 225007; 2. 江苏省农业技术推广总站, 江苏 南京 210019)

**摘要:** 为研究兰属植物花瓣色素的组成特点及其与花色的关系, 以 24 种不同花色的兰属地生种植物花为材料, 采用英国皇家园艺学会比色卡(RHSCC)比色法、分光测色仪(CS-580A)测定花色表型, 用高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS)对花中的类黄酮组成与含量进行测定, 用紫外-可见分光光度计法测定花中类胡萝卜素、叶绿素含量。结果表明, 用英国皇家园艺学会比色卡评价, 24 份材料的花色可分为 6 个色系, 分别为 1 份棕色系、2 份紫色系、10 份红紫色系、1 份灰橙色系、8 份黄绿色系和 2 份黄色系; 共推测出 66 种类黄酮物质, 包括 6 种花青素、47 种黄酮醇、7 种黄酮和 6 种黄烷酮; 有 16 份材料中检测出花青素成分, 包括矢车菊素、芍药色素 2 种苷元, 均以矢车菊素为主要类型, 表明花色的形成涉及 ABP 途径中的矢车菊素合成分支; 在 24 份材料中均检测到黄酮醇、黄酮, 在 20 份材料中检测出黄烷酮, 均以黄酮醇含量最高, 其中槲皮素、山柰酚和异鼠李素为普遍存在的苷元, 以槲皮素为主要类型。此外, 检测到的类黄酮中有 40 种为首次在兰科植物中发现, 其中有 28 种为新发现的物质, 并且首次在兰属植物花瓣中发现杨梅素、丁香亭和柚皮素苷元, 丰富了人们对兰属植物花中花色素组成物质的认知。所有样品中均检出类胡萝卜素、叶绿素, 兰花外瓣中的类胡萝卜素含量普遍表现为黄绿色系高于红色系, 绿色系花瓣中叶绿素含量较高。相关性分析结果表明, 花色表型参数明度( $L^*$ )、黄蓝度( $b^*$ )、饱和度( $C$ )与总花青素含量呈极显著负相关, 红绿度( $a^*$ )与叶绿素含量呈显著负相关。推测花青素、叶绿素为兰属花瓣的主要呈色物质, 鉴定其组分、分析不同花色系的色素组成特点可为解析兰属植物花瓣呈色分子机制提供基础, 为色花新品种选育提供理论依据。

**关键词:** 兰属; 类黄酮; 花青素; 类胡萝卜素; 叶绿素; 花色

**中图分类号:** S682.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)06-1657-21

## Analysis on pigment composition of petals of several native *Cymbidium* Sw. species

LIU Hong<sup>1</sup>, WEI Xiao-yu<sup>1</sup>, MA Hui<sup>1</sup>, QU Hui<sup>2</sup>, SUN Ye<sup>1</sup>

(1. Institute of Agricultural Sciences of the Lixiahe District in Jiangsu Province, Yangzhou 225007, China; 2. Jiangsu Agricultural Technical Extension Station, Nanjing 210019, China)

**Abstract:** In order to study the pigment composition characteristics of orchid petals and the relationship with flower color, 24 orchid species with different flower colors were used as the materials. RHSCC colorimetric method and colorimeter (CS-580A) were used to measure the flower color phenotype, high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) was used to

收稿日期: 2022-08-05

**基金项目:** 江苏现代农业产业技术体系建设专项基金项目[JATS (2022)266]; 江苏里下河地区农业科学研究所科研专项基金项目[SJ(21)302]; 江苏省农业种质资源保护与利用平台项目(JSGB2018-1); 2021 年省级农业科技创新与推广补助项目[扬农(2022)29 号]

**作者简介:** 刘 红(1986-), 女, 黑龙江伊春人, 硕士, 助理研究员, 主要从事花卉遗传育种与产业化生产关键技术研究。  
(E-mail) liuhong\_ivy@126.com

**通讯作者:** 孙 叶, (E-mail) sunye9999@126.com

measure the flavonoids composition and content, and ultraviolet-visible spectrophotometer was used to determine the contents of carotenoids and chlorophyll. The results showed that the 24 materials could be divided into six color series by RHSCC, including one brown, two purple, ten red-purple, one gray-orange, eight yellow-green and two yellow. A total of 66 flavonoids were identified, including six anthocyanins, 47 flavonols, seven flavonoids and six flavanones. Anthocyanins were detected in 16 materials, including cyanidin and peonidin, and

cyanidin was the main type, which suggested that the formation of flower color was involved in the branch of cyanidin synthesis in ABP pathway. Flavonols and flavone were detected in 24 materials, the flavanone was detected in 20 materials, flavonol content was the highest of all, quercetin, kaempferol and isorhamnetin were widely existed, and quercetin was the main type. In addition, 40 flavonoids detected in this study were first reported in orchids, and 28 of them were newly discovered. Myricetin, syringetin and naringin were found in orchid petals for the first time in this study, which enriched our understanding of the components of pigment in orchid flowers. Carotenoid and chlorophyll were detected in all the samples. The carotenoid levels in the outer petals of the yellow-green series were generally higher than those in the red series, and the chlorophyll content in the green petals was higher. Correlation analysis showed that lightness ( $L^*$ ), blue-yellowness ( $b^*$ ) and saturation ( $C$ ) were significantly negatively correlated with anthocyanin content, and red-greenness ( $a^*$ ) was significantly negatively correlated with chlorophyll content. It is speculated that the color of *Cymbidium* Sw. petals is mainly determined by anthocyanin and chlorophyll. Identification of its components and analysis of the pigment composition characteristics in different flower color series can provide a basis for analyzing the molecular mechanism of pigment of orchid petals, and provide a theoretical basis for the breeding of new varieties.

**Key words:** *Cymbidium* Sw.; flavonoid; anthocyanidin; carotenoid; chlorophyll; flower color

兰属 (*Cymbidium* Sw.) 是兰科 (Orchidaceae) 下的一个属, 兰属植物多为附生或地生草本, 罕见腐生, 多分布于中国、日本、马来西亚、印度北部、菲律宾与婆罗洲, 以及澳洲北部等亚热带、热带地区。全属约有 48 个种, 中国分布有 29 种, 其中地生兰种类如春兰 (*Cymbidium georingii*)、蕙兰 (*Cymbidium faberi*)、建兰 (*Cymbidium ensifolium*)、墨兰 (*Cymbidium sinense*)、寒兰 (*Cymbidium kanran*)、春剑 (*Cymbidium longibracteatum*) 和莲瓣兰 (*Cymbidium lianpan*) 等被称为中国兰花, 简称国兰, 在中国有数千年栽培鉴赏的历史。传统国兰优良品种是从野生资源中筛选出的极少数符合中国兰花“瓣型理论”标准的自然变异种<sup>[1]</sup>, 是中国特有的珍稀兰花种质资源<sup>[2]</sup>, 但是传统国兰优良品种的花色以绿色为主色, 色花瓣型品种十分稀有。随着人们兰花鉴赏观的演变, 色花类型越来越受到推崇。大花蕙兰 (*Cymbidium hybridum*) 是以兰属中一些大花型附生型品种为亲本, 经过多代杂交选择培育出来的花型大、色彩鲜艳、生长强健的优良品种, 目前已经发展成为全球五大重要的兰花商品盆花和切花之一, 但是大花蕙兰具有无香味、叶型散乱等缺点, 并且在中国南方地区不易开花<sup>[3]</sup>。近年来, 通过国兰与大花蕙兰种间杂交, 选育兼具二者优点的新品种, 已经成为国内兰花人工育种的热点之一。

花色作为观赏植物最重要的性状, 主要受到花色素组成及含量的影响<sup>[4]</sup>。植物花色素主要包括类黄酮、类胡萝卜素、叶绿素和生物碱四大类。其中类胡萝卜素可使花呈现黄色或橙色, 叶绿素可使花呈现绿色, 甜菜色素可使花呈现红色或黄色。类黄

酮是形成花色的重要色素, 可分为花青素、花黄素 2 类。花青素又称花色素, 可使花呈现红色或紫红色, 主要的花青素包括矢车菊素、天竺葵素、飞燕草素、芍药色素、锦葵色素和矮牵牛素 6 大类, 其中矢车菊素主要呈品红色至红色, 芍药色素主要呈紫红色至红色<sup>[5]</sup>。花青素的甲基化、酰基化及糖基化都能引起花色的变化, 花青素的甲基化、糖基化可使红色加深<sup>[6]</sup>。花黄素主要由黄酮醇、黄酮、黄烷酮、查尔酮等组成, 除查尔酮为深黄色外, 其他为淡黄色或无色<sup>[7]</sup>, 花黄素可能通过与花青素共色素化而参与花的呈色过程<sup>[8]</sup>。

近年来, 国内外对兰科植物花色素的研究逐渐加深, 尤其是对类黄酮代谢物组成与结构的鉴定取得了一定进展, 在蝴蝶石斛兰、卡特兰、文心兰、大花蕙兰、金钗石斛兰、独蒜兰等兰科植物上已经开展了相关研究<sup>[9-14]</sup>, 而关于春兰、墨兰和莲瓣兰等兰属植物花色素组成的研究尚未见报道。本研究拟通过液-质谱联用技术对 24 种不同色系的中国兰、大花蕙兰及相关杂交种等兰属植物花色素成分进行分析, 以期对兰属植物花色形成机理研究奠定基础, 为兰花新品种选育提供重要的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及采集

参试的 24 份材料 (表 1、图 1) 取自江苏里下河地区农业科学研究所花卉课题组兰花种质资源圃, 包括 8 份春兰材料 (A~H)、4 个墨兰品种 (I~L)、4 个莲瓣兰品种 (M~P)、4 个大花蕙兰品种 (Q~T) 及 4 个春兰与大花蕙兰杂交种 (U~X)。

表 1 24 份兰属参试材料  
Table 1 24 cultivars of *Cymbidium* Sw.

样品	品种名	种名	取样	颜色
A	凝香紫	春兰	外瓣	紫红色
B	大富贵	春兰	苞片	紫红色
C	大富贵	春兰	舌瓣	白底红斑
D	扬红荷	春兰	外瓣	浅红色
E	大富贵	春兰	外瓣	深绿色
F	金蕊蝶	春兰	外瓣	浅黄色
G	苍岩素	春兰	外瓣	中绿色
H	瑞梅	春兰	外瓣	中绿色
I	黑墨	墨兰	外瓣	黑紫色
J	樱姬爪	墨兰	外瓣	浅红色
K	金公主	墨兰	外瓣	浅黄色
L	白墨	墨兰	外瓣	浅绿色
M	玉兔	莲瓣兰	捧瓣	紫红色
N	滇梅	莲瓣兰	外瓣	浅红色
O	甸阳金荷	莲瓣兰	外瓣	浅红色
P	莲瓣素	莲瓣兰	外瓣	浅绿色
Q	韩国小姐	大花蕙兰	外瓣	紫红色
R	红霞	大花蕙兰	外瓣	浅红色
S	黄金小神童	大花蕙兰	外瓣	深黄色
T	翠玉	大花蕙兰	外瓣	浅绿色
U	FH-16	春兰与大花蕙兰杂交种	外瓣	红色
V	FH-15	春兰与大花蕙兰杂交种	外瓣	浅红色
W	FH-19	春兰与大花蕙兰杂交种	外瓣	浅红色
X	FH-10	春兰与大花蕙兰杂交种	外瓣	浅黄色

除春兰大富贵分别选取花蕾期苞片和盛开期舌瓣、外瓣,玉兔选取盛花期捧瓣外,其他材料均选取盛开期花朵外瓣进行色素成分测定,根据《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 春兰》(NY/T 2437-2013)描述花朵待测部位颜色。取样时选取生长势一致、花色一致的 3 个单株为 3 次生物学重复。将每个单株的花朵全部取下,按照不同部位取样,加液氮研磨成粉末后存于-80 ℃冰箱中备用。

1.2 试剂与仪器设备

色谱级甲酸,购自上海安谱实验科技股份有限公司;色谱级甲醇,购自上海泰坦科技股份有限公司;色谱级乙腈,购自上海沪试实验室器材股份有限公司;叶绿素检测试剂盒(比色法),购自上海禾午生物科技有限公司;矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷标准品,购自上海西格玛奥德里奇有限公司,纯度达 95%以上;芸香苷标准品,购自北京盛世康普化工技术研究院,纯度达 96%以上;类胡萝卜素标准品,购自上海西格玛奥德里奇有限公司,纯度达 95%以上。

CS-580A 分光测色仪,购自杭州彩谱科技有限公司;Sartorius 分析天平(型号:BSA124S),购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;TGL-16M 冷冻离心机,购自上海卢湘仪离心机仪器有限公司;UV-6000 紫外-可见分光光度计,购自上海元析仪器有限公司;Agilent 1200-6460 QQQ,购自美国安捷伦科技有限公司;LCQ Deca XP MAX 液质联用色谱仪,购自美国赛默飞科技有限公司。



材料 A~X 见表 1。  
图 1 24 份参试兰属材料  
Fig.1 24 cultivars of *Cymbidium* Sw.



### 1.3 兰花花瓣花色表型的鉴定

对供试材料(除大富贵)盛花期花瓣、大富贵花蕾期苞片的颜色进行描述,以进行花瓣花色表型的鉴定。参照朱佳意等<sup>[15]</sup>的方法,利用 RHCSS(英国皇家园艺学会比色卡)和 CIE  $L^*a^*b^*$  颜色系统对花色进行定性、数字化描述。 $L^*$  表示明暗变化程度从 0(黑色)到 100(白色); $a^*$ 、 $b^*$  为正值时,代表红色、黄色, $a^*$ 、 $b^*$  为负值时,代表绿色、蓝色; $C$  表示色彩的饱和度,色相角( $h$ )表示色调。

### 1.4 类黄酮的检测

花瓣中类黄酮的提取参照李崇晖等<sup>[16]</sup>的方法进行,具体步骤:称取 0.1 g 冷冻花瓣粉末置于 2 ml 离心管内,加 1.5 ml 含有 0.1% 甲酸的甲醇溶液振荡,在 4 ℃ 冰箱内浸提 24 h,每隔 6 h 振荡 1 次,提取结束后于 1 000 r/min 离心 10 min,取上清并过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜,得到待测液,每个提取试验进行 3 次重复。

类黄酮的定性分析利用 LCQ Deca XP MAX 液质联用色谱仪(HPLC-ESI-MS<sup>+</sup>)进行,色谱柱为 TSK gel ODS-80Ts QA (250.0 mm×4.6 mm, Tosoh, 日本)。质谱条件:采用电喷雾离子化(ESI)方法,三重四极杆离子阱分析器,全离子扫描范围为 50~2 000  $m/z$ ;花青素苷、黄酮醇苷分析采用正、负离子(NI)检测模式。毛细管电压为 4 000 V,喷雾器压力为 35 Pa,干燥气体( $\text{N}_2$ )温度为 300 ℃,流速为 10 L/min。

类黄酮的定量分析利用 Agilent 1200-6460 QQQ 的高效液相色谱-二极管阵列检测法(HPLC-DAD)进行,包括柱温箱(TCC-1260)及光电二极管阵列检测器(DDA-1260)。液相色谱条件:流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)、乙腈(B)。洗脱程序见表 2。色谱柱为 Agilent Edipse plus  $\text{C}_{18}$  (150.0 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 美国),柱温为 35 ℃,进样量为 10  $\mu\text{l}$ ,流速为 0.8 ml/min,检测波长为 515 nm(花青素苷)、350 nm(黄酮醇苷),在波长为 200~800 nm 时对每个吸收峰进行全波长扫描。

花瓣中各类黄酮组分的定量分析采用外标法,将矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷、芸香苷标准品分别溶于含有 0.1% 甲酸的甲醇中,最终生成质量浓度 0.05~100.00  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的标准品工作溶液,分别以在 515 nm 和 350 nm 处测定的吸光度为横坐标( $x$ )、以质量浓度为纵坐标( $Y$ ),得到矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷相关

的标准曲线方程: $Y = 0.1033x + 3.0610$ ,  $R^2 = 0.9993$ ,芸香苷相关的标准曲线方程: $Y = 0.4028x + 0.0994$ ,  $R^2 = 0.9995$ 。计算样品中各花青素苷含量(相对于矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的含量)、花黄素含量(相对于芸香苷的含量),鲜样的含量单位为  $\mu\text{g}/\text{g}$ ,重复 3 次。

表 2 流动相的洗脱程序

Table 2 Elution procedure of mobile phase

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	93	7
50	80	20
60	93	7

### 1.5 类胡萝卜素及叶绿素含量的测定

参照黄昕蕾<sup>[17]</sup>的方法进行类胡萝卜素的提取,采用紫外-可见分光光度计测定类胡萝卜素含量,测定波长为 450 nm,重复 3 次。参照叶绿素试剂盒方法进行总叶绿素含量的测定,重复 3 次。

### 1.6 数据分析

用 MassHunter Workstation Software (Version B.06.00) 和 Chemdraw Ultra 软件对花色成分进行分析,用 Excel 2016 进行数据整理,用 IBM SPSS Statistics 22 软件、Duncan's 法进行花色素含量的差异显著性分析,用 Origin 2021 软件绘制花色的二维、三维散点图,进行主成分分析,用 GraphPad Prism 6 绘制柱形图。

## 2 结果与分析

### 2.1 花色表型分析

兰属植物花色丰富,为了解兰属植物不同色系的着色差异,分别用 RHCSS、CIE  $L^*a^*b^*$  颜色系统对兰属植物的花色进行定性与数字化描述,详见表 3。根据 RHCSS 评价指标,参试兰花可划分为 6 种色系,分别为棕色系、紫色系、红紫色系、灰橙色系、黄色系和黄绿色系。

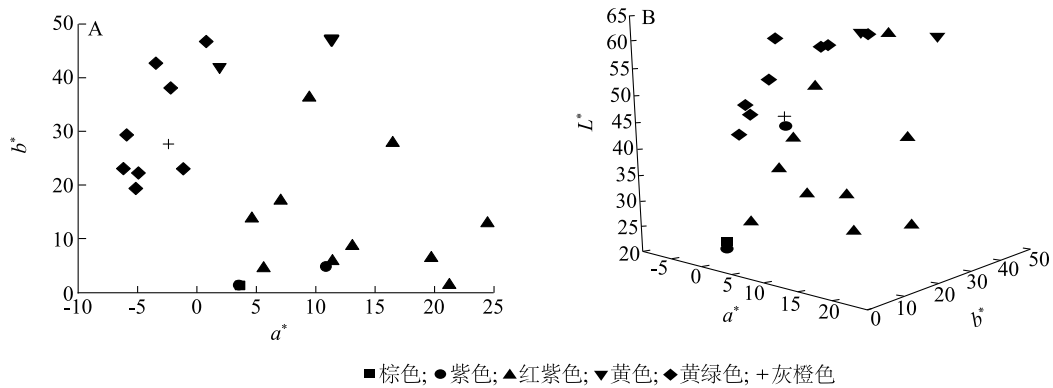
用 CIE  $L^*a^*b^*$  评价体系量化兰花花色的各项指标,分别以  $b^*$ 、 $L^*$  为纵坐标,绘制不同色系兰花品种花瓣、花色的二维、三维分布结果,可以看出,灰橙色、黄色和黄绿色主要集中在二维、三维图的上部,棕色、紫色和红紫色主要集中在二维、三维图的下部(图 2)。

表 3 24 份兰属样品的花色表型参数

Table 3 Color parameters of 24 *Cymbidium* Sw. samples

样品	色系	比色卡代码	CIE $L^* a^* b^*$				
			$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C$	$h(^{\circ})$
A	紫色	N79	24.27	3.53	1.32	3.77	0.14
B	紫色	N77B	47.88	10.87	4.77	11.88	0.19
C	红紫	72A	37.39	4.63	13.71	16.83	1.47
D	红紫	58A	29.27	5.61	4.44	7.17	0.58
E	黄绿	146A	41.04	-5.15	19.35	20.03	1.50
F	黄绿	151A	58.47	0.79	46.76	46.77	1.57
G	黄绿	144A	46.11	-6.20	23.06	23.88	1.50
H	黄绿	146C	50.41	-5.92	29.32	29.92	1.53
I	棕色	200A	25.60	3.63	1.26	3.85	0.13
J	红紫	68B	54.68	13.08	8.60	15.67	0.41
K	黄绿	151A	44.48	-4.92	22.24	22.79	1.52
L	黄绿	N144A	56.54	-2.20	38.11	38.18	1.57
M	红紫	61A	45.69	11.40	5.77	12.79	0.25
N	红紫	73C	32.59	7.05	17.04	18.45	1.39
O	灰橙	163B	43.99	-2.40	27.64	27.74	1.56
P	黄绿	146C	59.59	-1.15	23.00	23.04	1.57
Q	红紫	59A	31.01	19.73	6.34	20.75	0.11
R	红紫	70B	38.82	21.25	1.30	21.33	0.01
S	黄色	11A	59.36	11.33	47.23	48.58	1.51
T	黄绿	151A	56.19	-3.45	42.70	42.84	1.57
U	红紫	63A	32.19	24.46	12.82	27.68	0.27
V	红紫	63C	43.49	16.47	27.81	32.42	1.23
W	红紫	62C	60.68	9.45	36.25	37.48	1.50
X	黄色	3B	59.34	1.91	42.02	42.08	1.57

样品编号见表 1。 $L^*$  值表示明暗变化程度,范围为 0(黑色)~100(白色);当  $a^*$ 、 $b^*$  为正值时,分别代表红色、黄色;当  $a^*$ 、 $b^*$  为负值时,分别代表绿色、蓝色; $C$ :色彩饱和度; $h$ :色相角,用于表示色调。



A:  $a^*$ 、 $b^*$  的二维分布图; B:  $a^*$ 、 $b^*$  和  $L^*$  的三维分布图。

图 2 24 份兰属材料花色指标的二维、三维分布结果(色系由 RHSCC 值确定)

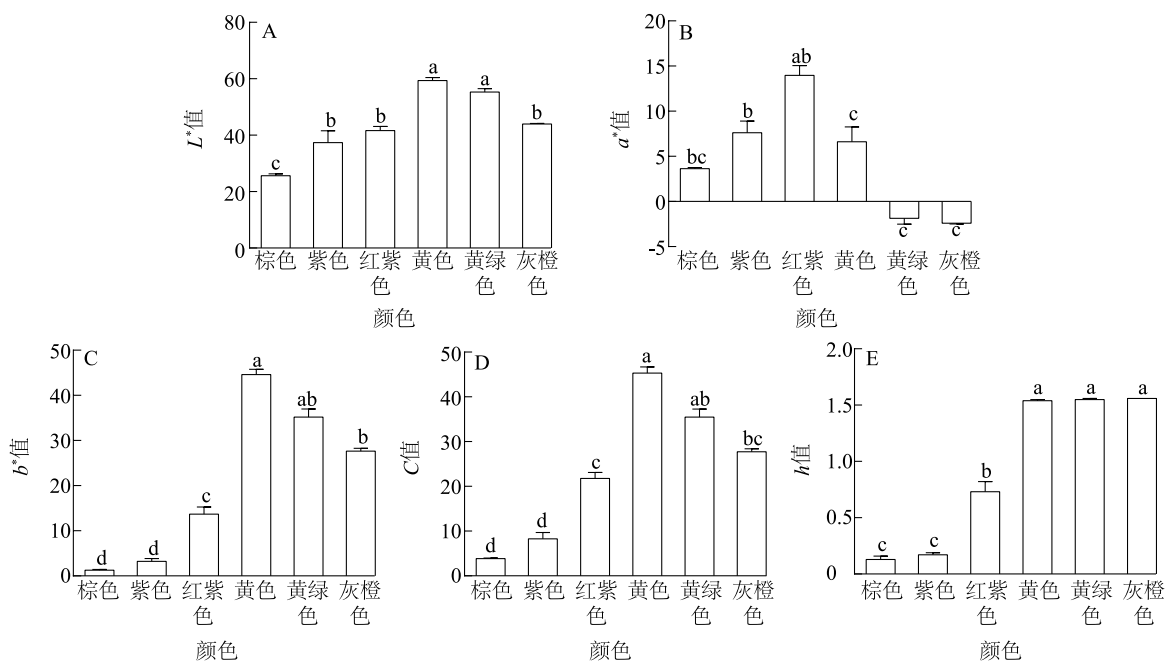
Fig.2 Flower color distribution of 24 *Cymbidium* Sw. cultivars in coordinate systems of bivariate and trivariate, respectively (The flower colors were identified by the RHSCC value)

如图 3 所示,黄色系兰属植物的平均  $L^*$  最高,达 59.35,显著高于其他色系兰花 ( $P < 0.05$ );其次为黄绿色系兰花,平均  $L^*$  为 55.30;  $L^*$  最低的为棕色系兰花,仅为 25.60,与其他色系兰花间差异显著

( $P < 0.05$ );紫色系和红紫色系兰花的  $L^*$  差别不大,且存在重复区域。红紫色系兰花的平均  $a^*$  为 13.96,显著高于其他色系兰花 ( $P < 0.05$ );其次为紫色系兰花,而黄绿色系、灰橙色系兰花的平均  $a^*$  分

别为-1.87、-2.40,表明它们呈现一定程度的绿色。黄色系兰花的  $b^*$  最高,达 44.62,  $b^*$  最低的为棕色系兰花,仅为 1.26,各色系兰花的  $b^*$  均为正值,代表不同程度的黄色。 $C$  与  $b^*$  呈现同样的规律,色相角 ( $h$ ) 也表现为黄绿色系、黄色系及灰橙色系兰花高

于棕色系、紫色系和红紫色系兰花。上述结果表明:紫色、红紫色、棕色和黄色兰花在 CIE  $L^*a^*b^*$  空间中处于由红色向黄色过渡的区域,而黄绿色系和灰橙色系花处于由绿色向黄色过渡的区域。



A:  $L^*$  值; B:  $a^*$  值; C:  $b^*$  值; D:  $C$  值; E:  $h$  值。

图 3 不同色系兰属植物花色表型的 CIE  $L^*a^*b^*$  值

Fig.3 CIE  $L^*a^*b^*$  values in flowers of *Cymbidium* Sw.

## 2.2 类黄酮组成成分分析

类黄酮的鉴定基于保留时间、紫外可见吸收光谱 ( $\lambda_{\max}$ )、特征质荷比、分子离子峰和前人研究中报道的信息,详见表 4。在 520 nm 波长下共检测到 6 种花青素苷,图 4A 为花青素苷种类最丰富的品种大富贵苞片在 520 nm 下的色谱结果。在 350 nm 下共检测到 47 种黄酮醇苷、7 种黄酮苷、6 种黄烷酮苷及 4 种未确定的成分,图 4B 显示了具有代表性的黑墨外瓣的类黄酮色谱结果。

**2.2.1 花青素苷** 本研究共检测到 2 种花青素苷元,其中峰 a1、a2、a3 和 a5 均产生质荷比 ( $m/z$ ) 为 287 的碎片离子,为矢车菊素苷元 (Cyanidin, Cy) 的特征碎片离子 (表 4)。通常情况下,单糖优先连接在花青素苷元的第 3 位羟基上,2 个或 2 个以上的糖可同时连接在第 3 位羟基或分别连接在第 3 位、第 5 位羟基上<sup>[18]</sup>。峰 a1 处分子离子 ( $[M+H]^+$ ) 的  $m/z$  为 449,由矢车菊素苷元离子结合 1 分子葡萄糖基 (相对分子质量为 162) 得到,与矢车菊素 3-*O*-葡萄糖苷标准品一致,因此将峰 a1 鉴

定为矢车菊素 3-*O*-葡萄糖苷 (Cyanidin 3-*O*-glucoside)<sup>[8,19]</sup>。峰 a2 Cy 苷元 ( $m/z$  为 287) 上连接了 2 个糖基 (相对分子质量分别为 162、146),  $MS^2$  质谱中只能观察到  $m/z$  为 449 的碎片离子 ( $[M+H-146]^+$ ),而没有观察到  $m/z$  为 433 的碎片离子 ( $[M+H-162]^+$ ),表明 Cy 是被 1 种双糖糖苷化的<sup>[20]</sup>, 308 为芸香糖苷的特征质荷比,因此将峰 a2 鉴定为矢车菊素 3-*O*-芸香糖苷 (Cyanidin 3-*O*-rutinoside)<sup>[10,12]</sup>。峰 a3 分子离子的  $m/z$  约为 757,根据文献<sup>[13]</sup>将峰 a3 鉴定为矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷-5-*O*-葡萄糖苷 (Cyanidin 3-*O*-rutinoside-5-*O*-glucoside)。峰 a5  $[M+H]^+$  对应的  $m/z$  为 535,较峰 a1 增加 86 (为丙二酰基),因而将其鉴定为矢车菊素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷 (Cyanidin 3-*O*-malonylglucoside)<sup>[12,15]</sup>。峰 a4、a6 处均产生碎片离子,  $m/z$  为 301,为芍药花素苷元 (Peonidin, Pn) 的特征碎片离子,根据前人的报道,分别将峰 a4、a6 鉴定为芍药花素 3-*O*-芸香糖苷 (Peonidin 3-*O*-rutinoside)、芍药花素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷 (Peonidin 3-*O*-malonylglucoside)<sup>[12]</sup>。

表 4 24 份兰属样品花中类黄酮的 HPLC-MS 分析及结构解析

Table 4 HPLC-MS analysis and structure elucidation of flavonoids in flowers of 24 *Cymbidium* Sw. samples

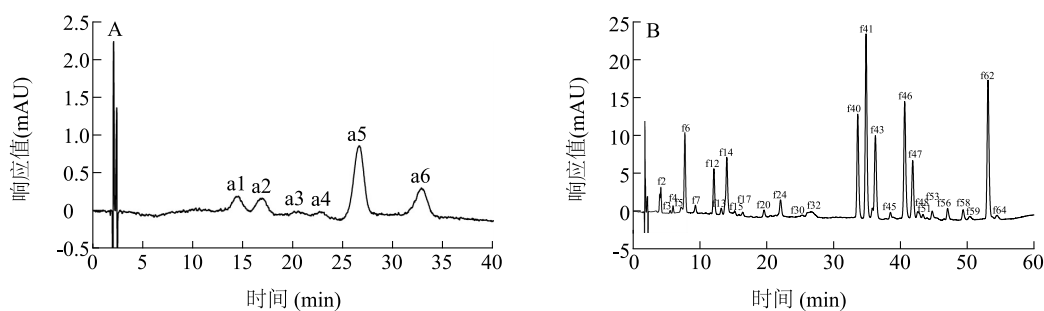
峰号	鉴定物质	保留时间 (min)	紫外可 见光吸 收光谱 (nm)	分子 [M+H] <sup>+</sup> 的质荷比 (m/z)	碎片离子(MS <sup>2</sup> ) 的质荷比 (m/z)	参考依据	检出样品编号
a1	矢车菊素 3-O-葡萄糖苷	14.40	282,515	449	287	标准品与文献[8]、[19]	A,B,C,D,E,I,J,M,N,O,Q、 U,V,W
a2	矢车菊素 3-O-芸香糖苷	16.80	275,520	595	449,287	文献[10]、[12]	A,B,C,D,E,H,I,J,M,N、 O,Q,R,U,V,W
a3	矢车菊素 3-O-芸香糖苷-5-O-葡萄糖苷	21.00	288,515	757	611,449,287	文献[13]	B,E,I,J
a4	芍药花素 3-O-芸香糖苷	22.80	295,520	609	463,301	文献[12]	A,B,E,U,W
a5	矢车菊素 3-O-丙二酰葡萄糖苷	26.50	281,518	535	287	文献[12]、[16]	A,B,C,D,E,H,I,J,M,N、 O,Q,R,U,V,W
a6	芍药花素 3-O-丙二酰葡萄糖苷	32.80	295,520	549	301	文献[12]	A,B,E,J,U
f1	丁香亭 3-O-丙二酰葡萄糖苷	4.08	218,310	595	347		C,D,F
f2	丁香亭 3-O-琥珀酰阿拉伯糖苷	4.25	232,310	579	347		A,C,D,F,I,J,L,M,N,O,P、 Q,R,S,T,U,V,W,X
f3	金圣草黄素 7-O-芸香糖苷	5.65	275,320	609	301	文献[32]	C,D,F,I,J,L,M,N,O,P,Q、 R,S,T,U,V,W,X
f4	二氢丁香亭 3-O-葡萄糖苷	6.10	220,300	511	349		A,F,I,J,L,M,N,O,P,Q,R、 S,T,U,V,W,X
f5	二氢丁香亭 3-O-桑布双糖	7.25	226,300	643	349		A,D,E,F,G,I,M,N,O,P、 Q,R,S,T,U,V,W,X
f6	柚皮素 7-O-葡萄糖苷	7.80	268,330	435	273	Massbank 数据库(登记 号:PR306370)	C,E,F,G,H,I,J,K,L,M,N、 P,Q
f7	柚皮素 7-O-芸香糖苷	9.30	270,340	581	273	Massbank 数据库(登记 号:PR302552)	I,J,L
f8	杨梅素 3-O-丙二酰半乳糖苷	10.17	240,315	567	319		N,O,Q,R,S,T,U,V,W,X
f9	杨梅素 3-O-丙二酰葡萄糖苷	10.78	235,315	567	319		O,Q,T,U
f10	金圣草黄素 7-O-阿魏酰葡萄糖苷	11.05	270,350	639	301		F,N
f11	二氢丁香亭衍生物	11.55	225,285		349		I,P,T
f12	二氢丁香亭衍生物	12.03	268,340		349		F,H,I,J,L,Q,S,U,V,X
f13	山柰酚 3-O-桑布双糖	13.17	285,350	581	449,287	文献[27]	N
f14	山柰酚 3-O-半乳糖苷	14.01	270,335	449	287	文献[25]	I,J,K,L,Q,S,U,V,X
f15	山柰酚 3-O-葡萄糖苷	15.20	270,345	449	287	文献[10]、[19]、[25]	B,C,E,F,G,H,I,J,L,Q,S、 T,U,V
f16	杨梅素 3-O-芸香糖苷	15.74	270,350	627	319		F,I,J,L
f17	杨梅素 3-O-琥珀酰葡萄糖醛酸苷	16.40	270,345	595	419,319		A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K、 L,M,N,P,Q,U,V,X
f18	杨梅素 3-O-鼠李糖-7-O-鼠李糖苷	17.51	270,350	611	465,319		I,J,L
f19	槲皮素 3-O-葡萄糖-7-O-丙二酰葡萄糖 苷	18.40	270,350	713	551,465,303		C,E,F,G,I,P,U,V,W,X
f20	杨梅素衍生物	19.52	265,350	629	319		C,F,I,J,L,O,P,Q,R,W,X
f21	杨梅素 3-O-琥珀酰半乳糖苷	20.41	270,350	581	319		A,F,I,J,K,L,N,P,Q,U,V、 W,X
f22	山柰酚 3-O-芸香糖-7-O-葡萄糖苷	21.30	265,355	757	611,449,287	文献[9]	E,F,G,H,I,M,N,Q,U,V,X
f23	柚皮素 7-O-阿魏酰鼠李糖苷	21.56	270,350	595	419,273		B,D,E,F,H,I,J,K,L,P,T
f24	芹菜素 7-O-丙二酰葡萄糖苷	22.01	232,310	519	271	Massbank 数据库(登记 号:PN000048)	I,J,L,N,S,V
f25	杨梅素衍生物	22.84	270,360	694	319		V
f26	杨梅素 3-O-没食子酰半乳糖苷	23.55	270,310	633	319	文献[18]	D,M,P,V
f27	杨梅素 3-O-没食子酰葡萄糖苷	23.83	270,350	633	319		G
f28	柚皮素 7-O-鼠李糖苷	24.21	270,310	418	273		N,Q,T

续表4 Continued4

峰号	鉴定物质	保留时间 (min)	紫外可 见光吸 收光谱 (nm)	分子 [M+H] <sup>+</sup> 的质荷比 (m/z)	碎片离子(MS <sup>2</sup> ) 的质荷比 (m/z)	参考依据	检出样品编号
f29	杨梅素衍生物	24.57	270,350	647	535,319		B,V
f30	杨梅素 3-O-半乳糖-7-O-葡萄糖苷	25.25	270,340	643	481,319		B,F,I,J,K,L,P,V
f31	山柰酚 3-O-葡萄糖-7-O-葡萄糖苷	25.99	268,355	611	449,287	文献[9]、[29]	A,F,G,L,P,V,X
f32	槲皮素 3-O-半乳糖-7-O-葡萄糖苷	26.70	270,355	627	303	文献[29]	A,F,G,I,P,U,W,X
f33	未知成分	27.39	270,340	532	499,379		B,L
f34	槲皮素 3-O-葡萄糖-7-O-葡萄糖苷	27.80	270,340	627	303	文献[9]、[29]	N,O,Q,R,S,T,U,V,W,X
f35	槲皮素 3-O-没食子酰葡萄糖苷	28.76	245,310	617	303	文献[27]	O,Q,R,S,T,U
f36	柚皮素 7-O-阿魏酰葡萄糖苷	29.98	246,305	611	435,273		A,B,F,P,V,X
f37	槲皮素 3-O-刺槐双糖	31.85	260,350	612	303		B
f38	金圣草黄素衍生物	32.35	265,355	611	449,301		L,Q,R,T
f39	杨梅素 3-O-葡萄糖-7-O-葡萄糖苷	33.03	270,350	644	319		K,L,N
f40	槲皮素 3-O-新橙皮糖苷	33.47	258,355	611	465,303		A,B,D,E,F,G,H,I,J,M,N, O,P,Q,R,S,T,U,V,W,X
f41	芸香苷(槲皮素 3-O-芸香糖苷)	34.72	257,355	611	303	标准品	A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K, L,O,P,Q,R,S,T,U,V,W,X
f42	芹菜素 7-O-槐糖苷	35.66	270,310	595	433,271		C,I,M,N,P,V
f43	山柰酚 3-O-刺槐双糖	36.06	265,370	595	287	文献[12]、[29]	B,D,E,I,J,O,Q,R,S,T,U, V,W
f44	杨梅素衍生物	36.51	240,290	631	595,319		R
f45	山柰酚 3-O-芸香糖苷	38.36	268,350	595	449,287	文献[12]、[29]	A,B,D,E,F,G,H,I,J,K,L, M,N,O,P,Q,R,S,U,V,W, X
f46	槲皮素 3-O-丙二酰葡萄糖苷	40.51	268,355	551	303	文献[16]	A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K, L,M,O,P,Q,R,S,U,V,W, X
f47	金圣草黄素 7-O-桑布双糖	41.76	265,350	595	433,301		A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K, L,M,O,P,R,T,V,W,X
f48	金圣草黄素 7-O-槐糖苷	42.47	265,350	625	433,301	Massbank 数据库(登记 号:PN000073)	A,B,C,I,L,O,T,U,W,X
f49	杨梅素 3-O-半乳糖苷	42.71	270,350	481	319		J
f50	异鼠李素 3-O-刺槐双糖	43.01	260,350	626	317	文献[12]	B,Q
f51	杨梅素 3-O-葡萄糖苷	43.25	265,350	481	319	文献[25]	I,J,K,L,O,Q,R,U,V,W,X
f52	异鼠李素 3-O-芸香糖苷	43.90	260,355	625	317	文献[10]、[12]、[16]	A,B,D,F,G,I,L,O,P,Q,R, S,T,U,V,W,X
f53	杨梅素 3-O-己糖苷	44.66	255,355	481	319		C,I,J,L,N
f54	未知成分	45.37	270,360	777	541,477		S,X
f55	杨梅素衍生物	46.53	270,350	543	439,319		I,J,K,L,Q
f56	杨梅素衍生物	46.80	270,385	525	319		I,L,Q,U,X
f57	杨梅素衍生物	48.79	270,310	702	571,319		O,R,U,X
f58	异鼠李素 3-O-丙二酰葡萄糖苷	49.26	268,350	566	479,317	文献[16]	A,B,D,F,G,I,J,K,L,M,N, R,V,W
f59	柚皮素 7-O-槐糖苷	50.30	268,340	597	273		C,I,J,L,P,Q,R,V
f60	杨梅素 3-O-琥珀酰葡萄糖苷	51.42	270,350	581	319		B
f61	杨梅素 3-O-桑布双糖	51.93	270,360	613	481,319		A,B,J,L,X
f62	未知成分	53.01	270,380	595	475,433		I
f63	杨梅素 3-O-琥珀酰己糖苷	53.72	270,355	581	319		T
f64	未知成分	54.30		603	475,425		Q

样品 A~X 见表 1。





A:大富贵苞片 515 nm 处花青素苷的高效液相色谱结果;B:黑墨 350 nm 处类黄酮的高效液相色谱结果。a1~a6 分别为矢车菊素 3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素 3-*O*-芸香糖苷、矢车菊素 3-*O*-芸香糖苷-5-*O*-葡萄糖苷、芍药花素 3-*O*-芸香糖苷、矢车菊素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷、芍药花素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷;f1~f64 分别为检出的花黄素,见表 4。

图 4 在 515 nm 和 350 nm 处检测到的兰属样品花中类黄酮化合物的液相色谱结果

Fig.4 HPLC results of flavonoids in flowers of *Cymbidium* Sw. samples detected at 515 nm and 350 nm

2.2.2 黄酮醇 质谱分析结果显示,共有 6 种黄酮醇苷元离子,在正离子模式下分别是  $m/z$  为 287 的山柰酚 (Kaempferol, Km)、 $m/z$  为 303 的槲皮素 (Quercetin, Qu)、 $m/z$  为 317 的异鼠李素 (Isorhamnetin, Is)、 $m/z$  为 319 的杨梅黄素 (Myricetin, My)、 $m/z$  为 347 的丁香亭 (Syringetin, Sy)、 $m/z$  为 349 的二氢丁香亭 (Dihydrosyringetin, DHS)。

分子离子峰 f1、f8、f9、f46 和 f58 均连续丢失 86、162 的相对分子质量,产生  $m/z$  为 347、319、319、303 和 317 的碎片苷元离子。86 是丙二酰的特征质荷比,162 的相对分子质量大小对应 1 分子六碳糖,根据 Abad-García 等<sup>[21]</sup>的报道,葡萄糖是最常见的单糖,其次为半乳糖、鼠李糖、木糖、阿拉伯糖和葡萄糖醛酸,而甘露糖、果糖和半乳糖醛酸最少见。因此推测峰 f1 为丁香亭 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷 (Syringetin 3-*O*-malonylglucoside);峰 f8 和 f9 的质谱信息相同,互为同分异构体,由于当相同苷元连接不同的糖基时,半乳糖苷先于葡萄糖苷洗脱<sup>[22-23]</sup>,因此推测峰 f8、f9 分别为杨梅素 3-*O*-丙二酰半乳糖苷 (Myricetin 3-*O*-malonylgalactoside)、杨梅素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷 (Myricetin 3-*O*-malonylglucoside)。结合质谱信息及文献报道,推测峰 f46、f58 分别为槲皮素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷 (Quercetin 3-*O*-malonylglucoside)、异鼠李素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷 (Isorhamnetin 3-*O*-malonylglucoside)<sup>[16]</sup>。

峰 f2  $[M+H]^+$  在  $m/z$  为 579 处丢失 232 的相对分子质量,产生  $m/z$  为 347 的碎片苷元离子,232 为琥珀酰阿拉伯糖苷的特征质荷比 (琥珀酰的特征质荷比为 100,阿拉伯糖苷的特征质荷比为 132),因此推测峰 f2 为丁香亭 3-*O*-琥珀酰阿拉伯糖苷 (Syringetin 3-*O*-succinylarabinoside)。峰 f21、f60、f63 与

f2 的质谱行为相似,且质谱信息相同,峰 f21、f60、f63 互为同分异构体,皆丢失 262 的相对分子质量,即丢失 1 分子琥珀酰 (相对分子质量为 100) 和 1 分子六糖苷 (相对分子质量为 162),产生  $m/z$  为 319 的碎片苷元离子。根据上述分析结果,推测峰 f21、f60、f63 分别为杨梅素 3-*O*-琥珀酰半乳糖苷 (Myricetin 3-*O*-succinylgalactoside)、杨梅素 3-*O*-琥珀酰葡萄糖苷 (Myricetin 3-*O*-succinylglucoside)、杨梅素 3-*O*-琥珀酰己糖苷 (Myricetin 3-*O*-succinylhexose)。

峰 f4 分子离子 ( $[M+H]^+$ ) 的  $m/z$  为 511,丢失 162 的相对分子质量,产生  $m/z$  为 349 的碎片苷元离子,349 为 Sy 的特征质荷比,根据前人报道,349 为二氢丁香亭的  $m/z$ <sup>[24]</sup>,因此将峰 f4 暂定为二氢丁香亭 3-*O*-葡萄糖苷 (Dihydrosyringetin 3-*O*-glucoside)。峰 f14、f15 互为同分异构体,峰 f49、f51 和 f53 互为同分异构体,其质谱行为与峰 f4 相似,均丢失了 1 分子六碳糖 (相对分子质量为 162),结合相关参考文献,推测峰 f14、f15 分别为山柰酚 3-*O*-半乳糖苷 (Kaempferol 3-*O*-galactoside)<sup>[25]</sup>、山柰酚 3-*O*-葡萄糖苷 (Kaempferol 3-*O*-glucoside)<sup>[10,15-16]</sup>,峰 f49、f51 和 f53 分别为杨梅素 3-*O*-半乳糖苷 (Myricetin 3-*O*-galactoside)<sup>[26]</sup>、杨梅素 3-*O*-葡萄糖苷 (Myricetin 3-*O*-glucoside)<sup>[25]</sup> 和杨梅素 3-*O*-己糖苷 (Myricetin 3-*O*-hexose)。

峰 f5、f13 和 f61 分别是  $m/z$  为 349、287、319 的苷元离子结合相对分子质量为 294 的双糖 (294 是桑布双糖特征质荷比<sup>[27]</sup>),推测峰 f5、f13 和 f61 分别为二氢丁香亭 3-*O*-桑布双糖 (Dihydrosyringetin 3-*O*-sambubioside)、山柰酚 3-*O*-桑布双糖 (Kaempferol 3-*O*-sambubioside) 和杨梅素 3-*O*-桑布双糖 (Myricetin 3-*O*-sambubioside)。峰 f11、f12 中只检测到质荷

比为 349 的碎片苷元离子,因此推测其为二氢丁香衍生物(Dihydrosyringetin derivative)。

峰 f41 的液相色谱保留时间及质谱特征与标准品芸香苷相同,则推测峰 f41 为芸香苷(Rutin)<sup>[10,12,19]</sup>。由峰 f37、f40 的质谱信息看出,它们与已知组分峰 f41 为同分异构体。峰 f40 苷元的 Qu 上连接了 2 个糖基,分别为 1 分子鼠李糖(相对分子质量为 146)和 1 分子己糖(相对分子质量为 162),在 MS<sup>2</sup> 质谱信息中,只能观察到  $m/z$  为 465 的碎片离子( $[M+H-146]^+$ ),而没有观察到  $m/z$  为 449 的碎片离子( $[M+H-162]^+$ ),表明 Qu 被 1 种双糖糖苷化。由于  $m/z$  为 465 的碎片( $[M+H-146]^+$ )的丰度小于  $m/z$  为 303 的碎片( $[Y_{0+}, M+H-(146+162)]$ ),因此判断该双糖是通过 1→2 糖苷键连接的<sup>[20]</sup>,进而推测其为槲皮素-3-鼠李糖-(1→2)-葡萄糖[Quercetin 3-*O*-rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside],即槲皮素 3-*O*-新橙皮糖苷(Quercetin 3-*O*-neohesperidoside)。刺槐双糖(Robinoside)[Rhamnopyranosyl-(1→6)-galactopyranoside]与芸香糖苷[Rhamnopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside]亦为同分异构体,且当它们连接相同苷元时,刺槐双糖的出峰时间较芸香糖早,根据已知组分峰 f43 与峰 f45<sup>[12,25]</sup>、f50 与 f52<sup>[10,12,16]</sup>,可以推测峰 f37 为槲皮素 3-*O*-刺槐双糖(Quercetin 3-*O*-robinoside)。峰 f16 的质谱信息与上述成分相似,但无同分异构体,推测其为杨梅素 3-*O*-芸香糖苷(Myricetin 3-*O*-rutinoside)。

峰 f17 分子离子( $[M+H]^+$ )的  $m/z$  约为 595,丢失了 1 分子葡萄糖醛酸(相对分子质量为 176)和 1 分子琥珀酰(相对分子质量为 100),产生  $m/z$  为 319 的碎片苷元离子,推测其为杨梅素 3-*O*-琥珀酰葡萄糖醛酸苷(Myricetin 3-*O*-succinylglucuronide)。

峰 f18、f30、f31、f32、f34 和 f39 的质谱行为类似,均为分子离子连续丢失 2 分子糖苷后产生苷元离子。不同化合物中的糖苷化位置不同,如花青素通常发生在 3 碳位、5 碳位,黄酮醇、黄烷-3-醇通常发生在 3 碳位、7 碳位,黄酮、黄烷酮通常发生在 7 碳位<sup>[28]</sup>。峰 f18 连续丢失 2 分子鼠李糖苷(相对分子质量为 146)后产生  $m/z$  为 319 的碎片苷元离子,推测其为杨梅素 3-*O*-鼠李糖-7-*O*-鼠李糖苷(Myricetin 3-*O*-rhamnoside-7-*O*-rhamnoside)。根据已有研究结果,推测峰 f31、f32 与峰 f34 分别为山柰酚 3-*O*-葡萄糖-7-*O*-葡萄糖苷(Kaempferol 3-*O*-glucoside-7-*O*-

glucoside)、槲皮素 3-*O*-半乳糖-7-*O*-葡萄糖苷(Quercetin 3-*O*-galactoside-7-*O*-glucoside)和槲皮素 3-*O*-葡萄糖-7-*O*-葡萄糖苷(Quercetin 3-*O*-glucoside-7-*O*-glucoside)<sup>[9,29]</sup>。峰 f30 与峰 f39 的质谱行为一致,互为同分异构体,且与峰 f32、f34 相似,推测峰 f30 与峰 f39 分别为杨梅素 3-*O*-半乳糖-7-*O*-葡萄糖苷(Myricetin 3-*O*-galactoside-7-*O*-glucoside)和杨梅素 3-*O*-葡萄糖-7-*O*-葡萄糖苷(Myricetin 3-*O*-glucoside-7-*O*-glucoside)。

峰 f19 和峰 f22 的质谱行为类似,都为分子离子连续丢失糖苷或酰基化糖苷后产生的苷元离子。峰 f22 与山柰酚 3-*O*-芸香糖-7-*O*-葡萄糖苷(Kaempferol 3-*O*-rutinoside-7-*O*-glucoside)的质谱信息一致<sup>[9]</sup>。同理,推测峰 f19 为槲皮素 3-*O*-葡萄糖-7-*O*-丙二酰葡萄糖苷(Quercetin 3-*O*-glucoside-7-*O*-malonylglucoside)。

峰 f26 与峰 f27 的质谱信息相同,根据已有研究结果,峰 f26 与杨梅素 3-*O*-没食子酰半乳糖苷(Myricetin 3-*O*-galloylgalactoside)的结构一致<sup>[18]</sup>,因此推测峰 f27 为杨梅素 3-*O*-没食子酰葡萄糖苷(Myricetin 3-*O*-galloylglucoside)。同理,f35 与已报道的槲皮素 3-*O*-没食子酰葡萄糖苷(Quercetin 3-*O*-galloylglucoside)结构一致<sup>[27]</sup>。

从峰 f20、f25、f29、f44、f55、f56、f57 中均检测到质荷比为 319 的碎片苷元离子,但是根据分子离子信息,无法推测具体化合物,均暂认为它们是杨梅素衍生物(Myricetin derivative)。

2.2.3 黄酮 根据质谱数据,在波长为 350 nm 的条件下共检测到 7 种黄酮苷,包括 2 种黄酮苷元离子,在正离子模式下分别为  $m/z$  为 271 的芹菜素(Apigenin, Ap)<sup>[30]</sup>、 $m/z$  约为 301 的金圣草黄素(Chrysoeriol, Ch)<sup>[31]</sup>。峰 f3 分子离子( $[M+H]^+$ )的  $m/z$  为 609,丢失 1 分子芸香糖苷(相对分子质量为 308)后,产生  $m/z$  为 301 的碎片苷元离子。通常情况下,黄酮、黄烷酮类糖元优先连接在苷元的 7 位羟基上,因此推测峰 f3 为金圣草黄素 7-*O*-芸香糖苷(Chrysoeriol 7-*O*-rutinoside)<sup>[32]</sup>。峰 f10 分子离子丢失 1 分子阿魏酰葡萄糖苷(相对分子质量为 338),推定为金圣草黄素 7-*O*-阿魏酰葡萄糖苷(Chrysoeriol 7-*O*-feruloylglucoside)。峰 f38 中检测到 Ch 苷元,但根据分子离子的  $m/z$  无法推测其结构组成,因而暂将其推测为金圣草黄素衍生物(Chrysoeriol derivative)。

峰 f47 分子离子丢失 1 分子葡萄糖苷(相对分子质量为 162)和 1 分子木糖苷(相对分子质量为 132),推测其为金圣草黄素 7-*O*-桑布双糖(Chrysoeriol 7-*O*-sambubioside)。峰 f48 分子离子丢失了 2 分子葡萄糖苷,经 MassBank 查询,与金圣草黄素 7-*O*-槐糖苷(Chrysoeriol 7-*O*-sophoroside)一致(登记号:PN000073)。峰 f24、f42 均为芹菜素类衍生物,峰 f24 的质谱信息与 MassBank 中芹菜素 7-*O*-丙二酰葡萄糖苷(Apigenin 7-*O*-malonylglucoside)相符(登记号:PN000048)。峰 f42 的质谱行为与峰 f48 相似,均为分子离子丢失 2 分子葡萄糖苷,因此推测峰 f42 为芹菜素 7-*O*-槐糖苷(Apigenin 7-*O*-sophoroside)。

**2.2.4 黄烷酮** 从峰 f6、f7、f23、f28、f36、f59 中均检测到  $m/z$  为 273 的碎片柚皮素(Na)苷元<sup>[30]</sup>,经 MassBank 查询,峰 f6 为柚皮素 7-*O*-葡萄糖苷(Naringenin 7-*O*-glucoside)(登记号:PR306370),峰 f7 为柚皮素 7-*O*-芸香糖苷(Naringenin 7-*O*-rutinoside)(登记号:PR302552)。峰 f23 分子离子丢失了 1 分子阿魏酰(相对分子质量为 176)和 1 分子鼠李糖苷(相对分子质量为 146),推定其为柚皮素 7-*O*-阿魏酰鼠李糖苷(Naringenin 7-*O*-ferulylrhamnoside)。峰 f28 分子离子丢失了 1 分子鼠李糖苷(相对分子质量为 146),推测其为柚皮素 7-*O*-鼠李糖苷(Naringenin 7-*O*-rhamnoside)。峰 f36 分子离子丢失了 1 分子阿魏酰(相对分子质量为 176)、1 分子葡萄糖苷(相对分子质量为 162),推测其为柚皮素 7-*O*-阿魏酰葡萄糖苷(Naringenin 7-*O*-feruloylglucoside)。峰 f59 的质谱行为与峰 f48 相似,因而推测其为柚皮素 7-*O*-槐糖苷(Naringenin 7-*O*-sophoroside)。

## 2.3 花色组成与定量分析

由于兰花外瓣、捧瓣和舌瓣有不同的着色模式,通常外瓣、捧瓣以同样的方式着色,但是对于蝶花,其花瓣着色模式发生了变化,与舌瓣类似,是经过修饰的,在颜色、形状上都不同。本研究选取不同色系兰花的不同组织部位进行类黄酮、类胡萝卜素和叶绿素含量的测定,可以较全面地分析兰花色素分布特点。研究发现,24 份兰属植物花组织中均含有类黄酮、类胡萝卜素和叶绿素(表 5)。

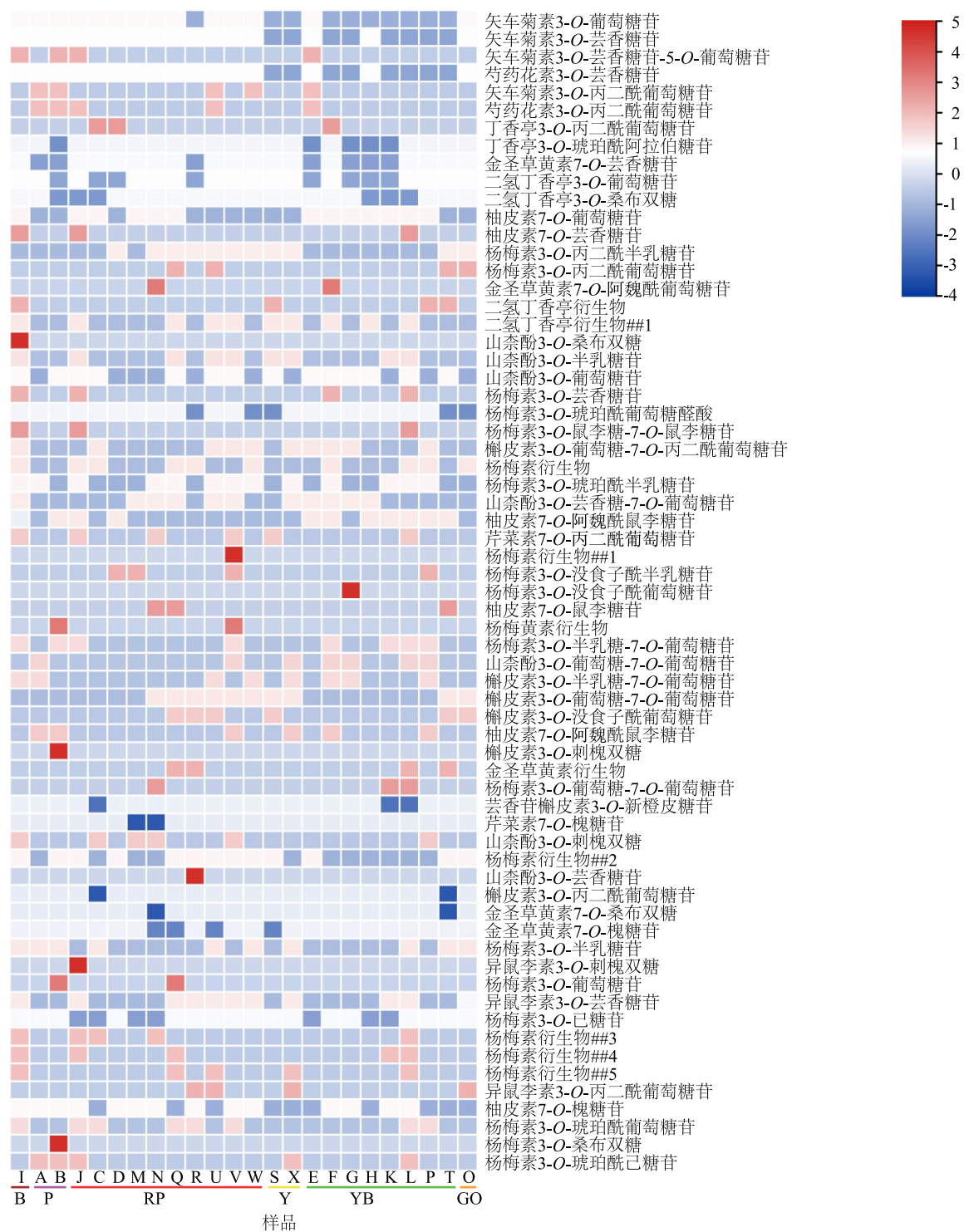
**2.3.1 类黄酮代谢物成分及含量** 在 24 个样品中共检测到 70 种类黄酮代谢物,包括 6 种花青素苷类物质、47 种黄酮醇苷类物质、7 种黄酮苷类物质、6 种黄烷酮苷类物质和 4 种未确定的代谢物。棕色系花瓣中共包

含 42 种类黄酮代谢物,紫色系花瓣中共包含 31 种类黄酮代谢物,红紫色系花瓣中共包含 61 种类黄酮代谢物,黄色系花瓣中共包含 34 种类黄酮代谢物,黄绿色系花瓣中共包含 56 种类黄酮代谢物,灰橙色系花瓣中共包含 23 种类黄酮代谢物。对每种类黄酮代谢物的相对含量进行横向归一化处理,由图 5 可以看出,棕色系、紫色系、红紫色系和灰橙色系花的类黄酮代谢物与黄色系、黄绿色系花的类黄酮代谢物具有明显差异。

**2.3.1.1 花青素苷** 在参试的兰属植物花朵中,有 16 份中检测出花青素苷,包含 4 种矢车菊素、2 种芍药色素(图 6),其中只有大富贵苞片中检出 6 种花青素苷,其余材料中检测出 1~5 种花青素苷。兰属植物不同色系花朵所含花青素类别与含量差异较大,总花青素苷(TAC)含量整体表现为棕色系>紫色系>红紫色系>灰橙色系>黄绿色系>黄色系,分别为 1 656.92  $\mu\text{g/g}$ 、430.62  $\mu\text{g/g}$ 、277.61  $\mu\text{g/g}$ 、142.88  $\mu\text{g/g}$ 、85.20  $\mu\text{g/g}$  和 0  $\mu\text{g/g}$ (图 7)。从棕色系花中检出 4 种花青素苷,包括矢车菊素 3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素 3-*O*-芸香糖苷、矢车菊素 3-*O*-芸香糖苷-5-*O*-葡萄糖苷和芍药花素 3-*O*-芸香糖苷,其中矢车菊素 3-*O*-葡萄糖苷、芍药花素 3-*O*-芸香糖苷的相对含量明显高于其他色系;紫色系花中均含有花青素苷,共检出 6.0 种花青素苷,平均每个材料检出 5.5 种花青素苷,且均含有矢车菊素、芍药花素;红紫色系花中均含有花青素苷,共检出 6.0 种花青素苷,每个材料中的花青素苷数量平均为 3.4 种,其中有 7 份样品中只含有矢车菊素,3 份样品中同时检出矢车菊素、芍药花素;灰橙色系花中有 3 种花青素苷,均为矢车菊素;在黄绿色系花中,只有 2 个材料中检出花青素苷,其中从大富贵外瓣中检出 1 种花青素,从瑞梅外瓣中检出 2 种花青素苷,均为矢车菊素,在检出花青素苷的样品中,TAC 含量处于最低水平;黄色系花的外瓣不含有花青素。此外,春兰大富贵花朵不同部位含有的花青素苷种类和 TAC 含量不同,其苞片含有 4 种 Cy、2 种 Pn,舌瓣含有 3 种 Cy,外瓣只含有 1 种 Cy;不同部位的 TAC 含量表现为苞片>舌瓣>外瓣,分别为 520.74  $\mu\text{g/g}$ 、275.52  $\mu\text{g/g}$  和 52.87  $\mu\text{g/g}$ ,差异显著( $P<0.05$ )。

在所有检出花青素苷的样品中,矢车菊素含量均高于芍药花素含量,为主要的花青素类型,并且除 F-19 中的花青素苷含量以矢车菊素 3-*O*-葡萄糖苷为主外,有 8 个材料中的花青素苷含量以矢车菊素 3-*O*-芸香糖苷为主,10 个材料中的花青素苷含量以矢车菊素 3-*O*-丙二酰葡萄糖苷为主。





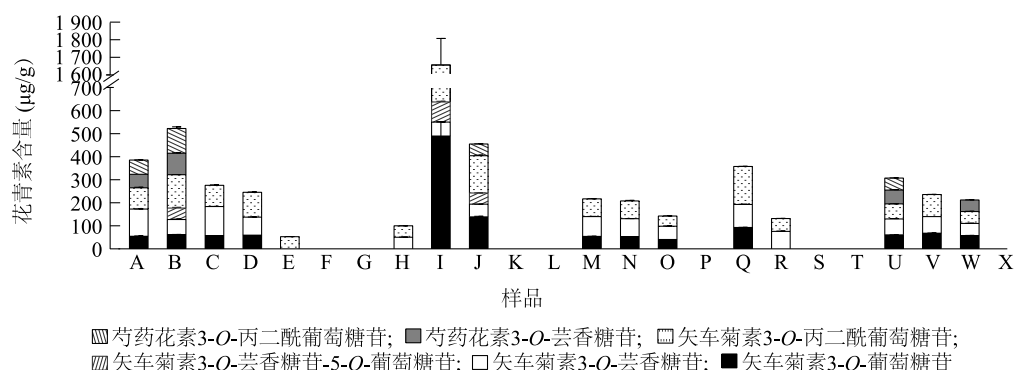
样品 A~X 见表 1。B:棕色系;P:紫色系;RP:红紫色系;Y:黄色系;YB:黄绿色系;GO:灰橙色系。代谢物相对含量采用归一化处理,图中的颜色取决于兰属花朵的浓度,蓝色代表浓度较低,红色代表浓度较高;##1、##2、##3、##4、##5 表示未命名。

图 5 24 份兰属样品花中类黄酮物质相对含量热图  
Fig.5 A heat map of relative content of flavonoids in the flowers of 24 *Cymbidium Sw.* samples

2.3.1.2 花黄素 除花青素苷外,在参试材料中共检出 64 种花黄素,包括黄酮醇、黄酮和黄烷酮等。黄酮醇苷元有 6 种,分别为 Km、Qu、Is、My、Sy 和 DHS,其

中 Km、Qu 和 My 型苷元存在于所有样品中,而少数样品中未检出 Is、Sy 或 DHS 苷元;黄酮苷元有 2 种,分别为 Ap 和 Ch,其中 Ch 在所有样品中都存在,而





样品 A~X 见表 1。

图 6 24 份兰属样品花中的花青素苷组成及含量

Fig.6 The composition and content of anthocyanin in flowers of 24 *Cymbidium* Sw. samples

Ap 仅存在于 9 个样品中;黄烷酮苷元为 Na,在 4 份样品(O、S、U 和 W)中未检出(表 6)。由图 5 可以看出,从不同色系的材料中检出 11~36 个组分,峰 f40、f41、f45、f46、f47 为普遍存在的花黄素,其中峰 f40 仅 C、K 和 L 中未检出,峰 f41 仅 M、N 中未检出,峰 f45 仅 C、T 中未检出,峰 f46 仅 N、T 中未检出,而峰 f47 仅 N、Q、S 和 U 中未检出;峰 f13、f25、f27、f44、f49、f62、f63、f64 分别为样品 N、V、G、R、J、I、T 和 Q 所特有的,峰 f37、f60 为样品 B 所特有的;峰 f7、f18 仅存在于墨兰(I、J 和 L)中,具有一定的种属特异性。

由表 4 可以看出,在所有检出的 64 种花黄素成分中,只有峰 f15、f22、f31、f32、f34、f41、f43、f45、f46、f50、f52 等 11 种曾在兰科植物中报道过,峰 f3、f6、f7、f13、f14、f24、f26、f35、f48、f51 等 10 种在其他物种研究或数据库中报道过,其余除峰 f11、f12、f20、f25、f29、f33、f38、f44、f54、f55、f56、f57、f62、f64 等 14 种没有得到准确鉴定外,有 28 种黄花素为首次报道,分别为丁香亭 3-O-丙二酰葡萄糖苷(峰 f1)、丁香亭 3-O-琥珀酰阿拉伯糖苷(峰 f2)、二氢丁香亭 3-O-葡萄糖苷(峰 f4)、二氢丁香亭 3-O-桑布双糖(峰 f5)、杨梅素 3-O-丙二酰半乳糖苷(峰 f8)、杨梅素 3-O-丙二酰葡萄糖苷(峰 f9)、金圣草黄素 7-O-阿魏酰葡萄糖苷(峰 f10)、杨梅素 3-O-芸香糖苷(峰 f16)、杨梅素 3-O-琥珀酰葡萄糖醛酸苷(峰 f17)、杨梅素 3-O-鼠李糖-7-O-鼠李糖苷(峰 f18)、槲皮素 3-O-葡萄糖-7-O-丙二酰葡萄糖苷(峰 f19)、杨梅素 3-O-琥珀酰半乳糖苷(峰 f21)、柚皮素 7-O-阿魏酰鼠李糖苷(峰 f23)、杨梅素 3-O-没食子酰葡萄糖苷(峰 f27)、柚皮素 7-O-鼠李糖苷(峰 f28)、杨梅素 3-O-半乳糖-7-O-

葡萄糖苷(峰 f30)、柚皮素 7-O-阿魏酰葡萄糖苷(峰 f36)、槲皮素 3-O-刺槐双糖(峰 f37)、杨梅素 3-O-葡萄糖-7-O-葡萄糖苷(峰 f39)、槲皮素 3-O-新橙皮糖苷(峰 f40)、芹菜素 7-O-槐糖苷(峰 f42)、金圣草黄素 7-O-桑布双糖(峰 f47)、杨梅素 3-O-半乳糖苷(峰 f49)、杨梅素 3-O-己糖苷(峰 f53)、柚皮素 7-O-槐糖苷(峰 f59)、杨梅素 3-O-琥珀酰葡萄糖苷(峰 f60)、杨梅素 3-O-桑布双糖(峰 f61)和杨梅素 3-O-琥珀酰己糖苷(峰 f63)。同时,本研究检出的杨梅素、丁香亭和柚皮素类衍生物为首次在兰科植物中发现。

由图 7 可以看出,不同色系兰属植物花中的类黄酮含量存在一定差异,总类黄酮(TFC)、总黄酮醇、总黄酮和总黄酮含量最高的均为棕色系,分别为 12 817.74 µg/g、10 504.35 µg/g、1 296.60 µg/g 和 1 016.80 µg/g,远高于其他色系,且差异显著( $P < 0.05$ ),而其他色系之间的总类黄酮含量无显著差异;紫色系的 TFC、总黄酮醇和总黄酮含量均最低,灰橙色系的总黄酮含量最低。棕色系花瓣中的黄酮醇类物质主要以山柰酚、槲皮素、丁香亭和二氢丁香亭为苷元,黄酮类物质以芹菜素、金圣草黄素为苷元,其中金圣草黄素 7-O-桑布双糖含量显著高于其他色系;黄烷酮以柚皮素为苷元,其中柚皮素 7-O-葡萄糖苷、柚皮素 7-O-芸香糖苷含量明显高于其他色系。黑墨、樱姬爪和白墨为墨兰,其 TFC、总黄酮醇、总黄酮含量在所有样品中分别位列第 1、2、4 位,可见墨兰的 TFC、总黄酮醇和总黄酮含量相对较高,具有一定的种属特异性,详见图 5、表 5 和表 6。

除大富贵舌瓣、玉兔捧瓣外,所有样品中的黄酮醇在总类黄酮中均占最高比例,为 53.01%~97.93%,其中占比最高的为韩国小姐;大富贵舌瓣

中的黄酮醇、黄酮占比接近;玉兔捧瓣中的黄酮醇占比仅为 32.02%,而黄酮占比为 67.02%;各样品中的黄烷酮占比比较低,为 0~14.01%。由此可见,黄酮醇为兰属植物花的主要花黄素类型(表 5)。由表 6 可以看出,有 18 个样品中 Qu 含量在总黄酮醇含量中的占比达 33.92%~75.81%,为主要的黄酮醇类型;而滇梅中的 Km 占比达 55.44%,为主要的黄酮

醇类型;金公主外瓣中以 My 为主要的黄酮醇类型,占比为 30.87%;玉兔、FH-16、FH-19 和大富贵舌瓣中以 Ch 为主要的黄酮醇类型,占比分别为 39.12%、43.91%、46.99% 和 29.95%。除玉兔、白墨、金公主、FH-16、FH-19、大富贵舌瓣和瑞梅外,有 21 份样品中的槲皮素 3-O-芸香糖苷(芸香苷)含量最高,为主要的黄酮醇类物质。

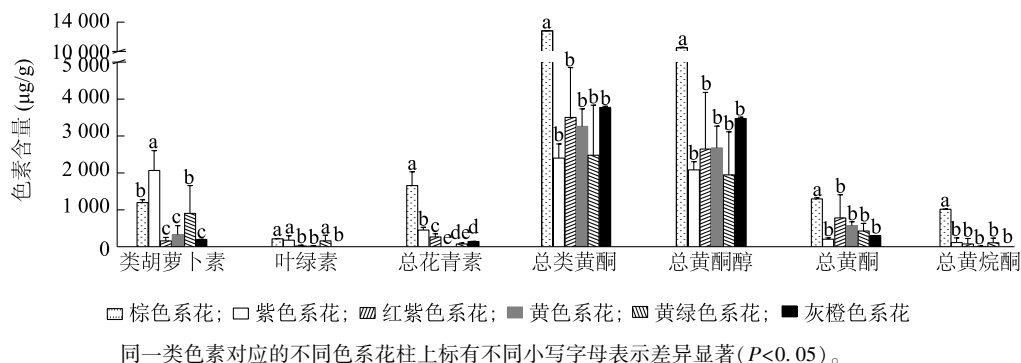


图 7 不同色系兰属植物花中色素含量

Fig.7 Anthocyanin content in flowers of *Cymbidium* Sw. samples with different colors

**2.3.2 类黄酮的主成分分析** 以不同色系的 24 种兰花为样本,以类黄酮组成及含量作为变量,用 Origin 2021 进行主成分分析。如图 8 所示,共提取出特征值大于 1 的 2 个主成分,不同材料分布在不同象限中,其中第 1 主成分的特征值为 7.339,贡献率为 66.716%,第 2 主成分的特征值为 2.012,贡献率为 18.290%,2 个主成分的累计贡献率达到 85.006%,表明前 2 个主成分基本可以代表 24 种兰花含有的 85% 的类黄酮信息。变量山柰酚 3-O-半乳糖苷、山柰酚 3-O-刺槐双糖、槲皮素 3-O-新橙皮糖苷、槲皮素 3-O-芸香糖苷、槲皮素 3-O-丙二酰葡萄糖苷、柚皮素 7-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-芸香糖苷-5-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-丙二酰葡萄糖苷含量在第 1 主成分的正方向有较高的载荷系数,即与第 1 主成分表现为正相关,主要为槲皮素、山柰酚和矢车菊素类物质,表明槲皮素、山柰酚为兰花植物花中的主要黄酮醇,矢车菊素为主要的花青素;变量芍药花素 3-O-芸香糖苷、芍药花素 3-O-丙二酰葡萄糖苷含量在第 2 主成分的正方向有较高的载荷系数,表明与第 2 主成分呈正相关,为芍药花素类花青素苷。

从得分结果可以看出,黑墨(I)、樱姬爪(J)、大富贵苞片(B)、白墨(L)、韩国小姐(Q)沿第 1 主成分正向分布,并且黑墨与峰 f14、f43、f40、f41、f46、f6、

a1、a3、a6 靠近,表明这些成分在黑墨花瓣中的含量占有较高比例;凝香紫(A)、大富贵苞片(B)、樱姬爪(J)、FH-19W、FH-16U 沿第 2 主成分正向分布,表明这几个材料都含有芍药花素,其中大富贵苞片向峰 a4、a6 靠近,表明其中芍药花素占有较高比例。其余材料包括红紫色、黄色、黄绿色和灰橙色系,均分布于第 1 主成分、第 2 主成分的负方向,且具有较低的载荷系数,表明它们与第 1、第 2 主成分呈弱负相关。上述结果表明,主成分分析能够反映不同兰花材料的类黄酮组成及含量差异。

**2.3.3 类胡萝卜素定量分析** 由图 7 可知,不同色系兰属植物花中类胡萝卜素含量为 158.75~2 067.56 µg/g,其中紫色系含量最高,红紫色系含量最低。所有样品中都含有类胡萝卜素,含量为 50.92~2 532.13 µg/g,含量最高的为大富贵苞片,其次是苍岩素(2 173.34 µg/g),红霞中的含量最低(表 5)。黄色系黄金小神童、FH-10 中的类胡萝卜素含量分别为 551.53 µg/g、105.66 µg/g。大富贵不同部位的类胡萝卜素含量表现为苞片(2 532.13 µg/g) > 外瓣(1 576.77 µg/g) > 舌瓣(145.64 µg/g),差异显著( $P < 0.05$ )。

从不同种群花中的类胡萝卜素含量来看,春兰类的类胡萝卜素含量较高,除大富贵舌瓣、扬红荷外瓣外,其他部分的类胡萝卜素含量均达到 1 000.00 µg/g 以上,而其他兰属植物除黑墨以外,类胡萝卜素含量均

在1 000.00  $\mu\text{g/g}$ 以下,尤其是莲瓣兰品种、春兰与大花蕙兰杂交种的整体类胡萝卜素含量水平较低,平均含量分别为137.28  $\mu\text{g/g}$ 、123.35  $\mu\text{g/g}$ 。

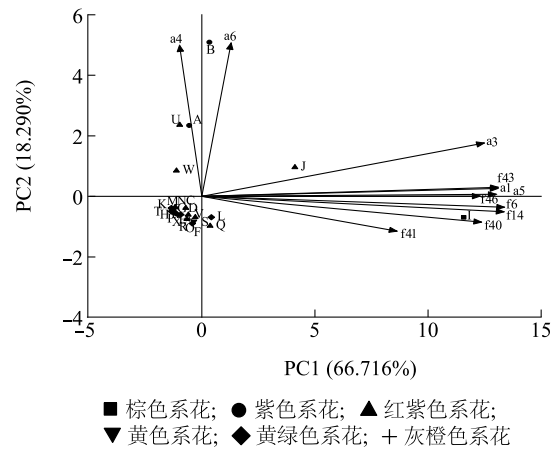
**2.3.4 总叶绿素含量的定量分析** 由图7可以看出,不同色系兰属植物花中叶绿素含量排序为棕色系>紫色系>黄绿色系>红紫色系>黄色系>灰橙色系,含量分别为214.94  $\mu\text{g/g}$ 、180.01  $\mu\text{g/g}$ 、159.76  $\mu\text{g/g}$ 、22.39  $\mu\text{g/g}$ 、19.74  $\mu\text{g/g}$ 和1.97  $\mu\text{g/g}$ ,前3名与后3名间存在显著差异( $P<0.05$ )。由表5可以看出,所有样品中都含有叶绿素,含量为1.97~419.92  $\mu\text{g/g}$ ,总叶绿素含量最高的为苍岩素外瓣,其次是大富贵外瓣,为316.23  $\mu\text{g/g}$ ,瑞梅外瓣的叶绿素含量也较高,达179.70  $\mu\text{g/g}$ ,在所有样品中位列第5位,这些均为春兰绿花品种,且与其他品种间差异明显;大富贵花中不同部位的叶绿素含量排序为外瓣(316.23  $\mu\text{g/g}$ )>苞片(73.73  $\mu\text{g/g}$ )>舌瓣(8.71  $\mu\text{g/g}$ ),差异显著( $P<0.05$ )。

表5 24份兰属样品花中花色色素组成及含量

Table 5 Composition and contents of pigments in flowers of 24 *Cymbidium* Sw. samples

样品	类胡萝卜素 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)	叶绿素 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)	总黄酮 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)	总黄酮醇 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)	总黄酮 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)	总黄酮 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)	总花青素 ( $\mu\text{g/g}$ ,鲜质量)
A	1 603.00 $\pm$ 20.52abc	286.28 $\pm$ 7.11c	2 121.13 $\pm$ 11.31o	1 921.76 $\pm$ 9.75n	176.41 $\pm$ 3.55q	22.96 $\pm$ 1.76klm	385.20 $\pm$ 4.14bcd
B	2 532.13 $\pm$ 2 639.31a	73.73 $\pm$ 6.18f	2 821.75 $\pm$ 21.60lm	2 326.73 $\pm$ 28.49k	243.58 $\pm$ 6.36o	251.44 $\pm$ 0.54e	520.74 $\pm$ 1.82b
C	145.64 $\pm$ 15.63d	8.71 $\pm$ 1.07jk	3 625.19 $\pm$ 17.97i	1 763.69 $\pm$ 12.22o	1 777.96 $\pm$ 9.43a	83.54 $\pm$ 3.49g	275.52 $\pm$ 2.87defg
D	365.03 $\pm$ 36.02cd	61.72 $\pm$ 6.49f	1 807.93 $\pm$ 7.61p	1 556.55 $\pm$ 7.09p	223.91 $\pm$ 3.00p	27.47 $\pm$ 2.37k	245.37 $\pm$ 1.16defgh
E	1 576.77 $\pm$ 30.99abc	316.23 $\pm$ 10.06b	2 810.27 $\pm$ 15.47lm	2 270.40 $\pm$ 8.09l	504.50 $\pm$ 2.67i	35.38 $\pm$ 5.66j	52.87 $\pm$ 0.61ij
F	1 085.28 $\pm$ 12.77bcd	31.24 $\pm$ 2.15ghi	3 908.35 $\pm$ 17.66f	3 336.30 $\pm$ 16.89f	480.81 $\pm$ 3.54j	91.24 $\pm$ 2.66f	0 $\pm$ 0j
G	2 173.34 $\pm$ 37.86ab	419.92 $\pm$ 13.44a	1 619.49 $\pm$ 12.19r	1 298.43 $\pm$ 6.99r	311.88 $\pm$ 5.71m	9.17 $\pm$ 0.41o	0 $\pm$ 0j
H	1 611.13 $\pm$ 16.53abc	179.70 $\pm$ 1.40e	836.95 $\pm$ 8.58t	543.47 $\pm$ 6.77t	274.99 $\pm$ 1.31n	18.49 $\pm$ 0.59mn	99.95 $\pm$ 0.28hij
I	1 197.23 $\pm$ 63.30bcd	214.94 $\pm$ 6.64d	12 817.74 $\pm$ 24.84a	10 504.34 $\pm$ 49.35a	1 296.60 $\pm$ 20.35c	1 016.80 $\pm$ 4.16a	1 656.92 $\pm$ 216.47a
J	103.36 $\pm$ 8.23d	12.35 $\pm$ 0.39jk	6 129.23 $\pm$ 64.53b	5 388.09 $\pm$ 62.81b	237.24 $\pm$ 1.75o	503.90 $\pm$ 2.21b	454.83 $\pm$ 3.42bc
K	200.50 $\pm$ 17.18d	30.45 $\pm$ 2.52ghi	1 719.65 $\pm$ 28.88q	1 342.31 $\pm$ 25.01qr	336.57 $\pm$ 2.96l	40.77 $\pm$ 2.14i	0 $\pm$ 0j
L	337.79 $\pm$ 7.56cd	73.81 $\pm$ 2.75f	5 117.02 $\pm$ 44.18d	4 149.81 $\pm$ 37.41d	656.77 $\pm$ 5.64h	310.43 $\pm$ 1.48d	0 $\pm$ 0j
M	113.75 $\pm$ 5.47d	16.24 $\pm$ 3.96ijk	1 743.54 $\pm$ 11.28q	558.23 $\pm$ 5.78t	1 168.53 $\pm$ 6.35e	16.78 $\pm$ 1.46n	217.01 $\pm$ 0.36defghi
N	163.28 $\pm$ 9.37d	31.37 $\pm$ 0.38ghi	2 770.14 $\pm$ 6.58m	2 632.55 $\pm$ 6.20j	93.85 $\pm$ 2.79r	43.75 $\pm$ 2.01i	208.23 $\pm$ 2.53efghi
O	199.10 $\pm$ 0.80d	1.97 $\pm$ 0.87k	3 773.34 $\pm$ 27.28g	3 473.34 $\pm$ 28.77e	299.99 $\pm$ 1.96m	0 $\pm$ 0p	142.88 $\pm$ 1.22fghij
P	72.99 $\pm$ 5.88d	11.87 $\pm$ 1.04jk	2 316.52 $\pm$ 14.20n	1 237.75 $\pm$ 10.21s	751.96 $\pm$ 6.78g	326.81 $\pm$ 2.90c	0 $\pm$ 0j
Q	257.77 $\pm$ 5.00d	41.29 $\pm$ 2.23g	5 349.78 $\pm$ 33.39c	5 239.22 $\pm$ 36.14c	42.00 $\pm$ 2.07s	68.56 $\pm$ 1.67h	357.59 $\pm$ 1.54cde
R	50.92 $\pm$ 9.29d	7.48 $\pm$ 0.19k	3 506.55 $\pm$ 38.91j	3 109.96 $\pm$ 35.26h	388.93 $\pm$ 5.13k	7.66 $\pm$ 1.13o	131.91 $\pm$ 0.43ghij
S	551.53 $\pm$ 9.27cd	24.20 $\pm$ 6.41hij	3 693.75 $\pm$ 21.93h	3 215.24 $\pm$ 23.12g	478.51 $\pm$ 1.67j	0 $\pm$ 0p	0 $\pm$ 0j
T	396.20 $\pm$ 11.83cd	39.50 $\pm$ 0.9h	1 506.39 $\pm$ 44.38s	1 391.24 $\pm$ 43.36q	90.00 $\pm$ 1.42r	25.15 $\pm$ 1.23kl	0 $\pm$ 0j
U	228.42 $\pm$ 6.88d	16.53 $\pm$ 5.13ijk	2 848.95 $\pm$ 20.36l	1 597.98 $\pm$ 13.27p	1 250.96 $\pm$ 10.10d	0 $\pm$ 0p	307.38 $\pm$ 1.63cdef
V	76.44 $\pm$ 5.94d	3.56 $\pm$ 0.0k	4 026.66 $\pm$ 15.07e	2 889.13 $\pm$ 11.06i	1 117.44 $\pm$ 5.89f	20.09 $\pm$ 2.17mn	236.11 $\pm$ 0.71defgh
W	82.89 $\pm$ 5.11d	8.85 $\pm$ 0.0jk	3 238.43 $\pm$ 16.61k	1 716.77 $\pm$ 6.51o	1 521.66 $\pm$ 13.17b	0 $\pm$ 0p	212.30 $\pm$ 1.73efghi
X	105.66 $\pm$ 13.37d	13.06 $\pm$ 1.08jk	2 832.70 $\pm$ 16.86l	2 142.13 $\pm$ 13.30m	669.81 $\pm$ 4.37h	20.76 $\pm$ 1.57lmn	0 $\pm$ 0j

样品A~X见表1。同列数据后标有不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。



PC1:主成分1;PC2:主成分2;a1~a6:分别为矢车菊素 3-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-芸香糖苷、矢车菊素 3-O-芸香糖苷-5-O-葡萄糖苷、芍药花素 3-O-芸香糖苷、矢车菊素 3-O-丙二酰葡萄糖苷、芍药花素 3-O-丙二酰葡萄糖苷;f1~f64:检出的花黄酮,详见表4。

图8 24份兰属样品花中类黄酮含量的主成分分析

Fig. 8 Principal component analysis of the contents of flavonoids in flowers of 24 *Cymbidium* Sw. samples

表 6 24 份兰属样品花中花黄素组成及含量

Table 6 Composition and contents of anthoxanthins in flowers of 24 *Cymbidium* Sw. samples

样品	总黄酮醇 ( $\mu\text{g/g}$ , 鲜质量)						总黄酮 ( $\mu\text{g/g}$ , 鲜质量)		总黄酮醇 ( $\mu\text{g/g}$ , 鲜质量)
	山柰酚	槲皮素	异鼠李素	杨梅素	丁香亭	二氢丁香亭	芹菜素	金圣草黄素	柚皮素
A	175.99±5.20m	1 460.86±4.89j	139.33±0.98hi	111.75±3.38n	16.91±0.55m	16.93±1.05m	0±0i	176.41±3.55s	22.96±1.76klm
B	341.29±0.08h	1 401.70±26.08k	208.44±147.48gh	271.07±3.74j	0±0o	0±0o	0±0i	243.58±6.36p	251.44±0.54e
C	84.41±0.56q	785.22±6.47o	0±0k	757.38±8.42c	136.69±0.31d	0±0o	692.33±5.34a	1 085.63±4.41d	83.54±3.49g
D	101.81±1.57p	1 184.47±5.54l	42.85±2.24jk	70.38±1.82o	63.21±0.81h	93.83±2.01f	0±0i	223.91±3.00q	27.47±2.37k
E	296.22±6.07j	1 029.16±6.98m	0±0k	932.96±6.23b	0±0o	12.06±2.86mn	0±0i	504.50±2.67j	35.38±5.66j
F	592.55±3.07l	2 246.07±13.48f	89.25±4.85ij	299.03±4.65i	24.68±1.73k	84.73±1.78gh	0±0i	480.81±3.54k	91.24±2.66f
G	265.09±5.49k	825.35±7.63n	40.89±2.71jk	159.62±1.52lm	0±0o	7.48±0.58n	0±0i	311.88±5.71n	9.17±0.41o
H	146.67±4.10n	353.87±2.23r	0±0k	33.81±0.94p	0±0o	9.11±0.42n	0±0i	274.99±1.31o	18.49±0.59mn
I	2 253.04±16.99a	6 375.36±24.25a	311.49±112.15def	585.28±8.78f	304.82±2.23a	674.36±15.02a	260.92±0.89d	1 035.68±21.24e	1 016.80±4.16a
J	1 463.98±13.75b	2 556.49±41.30e	383.29±7.09cd	614.64±10.83e	122.18±3.74e	247.52±1.26b	35.13±0.58f	202.11±1.19r	503.90±2.21b
K	266.11±6.80k	179.71±3.78s	365.62±8.87cde	530.87±12.21h	0±0o	0±0o	0±0i	336.57±2.96m	40.77±2.14i
L	411.60±3.95g	1 824.17±25.25h	265.86±5.51fg	1 394.76±5.35a	95.82±1.99f	157.59±1.08c	40.68±1.17e	616.09±6.15i	310.43±1.48d
M	194.30±4.13l	58.04±3.85t	23.01±1.39jk	31.40±2.71p	164.04±2.59c	87.44±1.87fg	485.87±3.33b	682.66±3.50g	16.78±1.46n
N	1 459.44±2.26b	54.44±1.78t	83.21±1.45ijk	654.69±6.26d	249.99±3.57b	130.78±1.77e	30.56±1.65g	63.29±1.26u	43.75±2.01i
O	73.66±1.17q	2 596.15±17.17d	582.13±7.51a	173.59±4.15l	17.08±0.95m	30.73±0.78l	0±0i	299.99±1.96n	0±0p
P	135.29±2.48o	785.85±10.52o	39.72±2.67jk	111.75±3.48n	76.33±0.45g	88.80±1.99fg	16.95±2.25h	735.01±4.92f	326.81±2.90c
Q	659.54±3.18d	3 495.01±23.70b	412.59±1.92c	554.95±9.48g	38.18±1.33j	78.95±0.37hi	0±0i	42.00±2.07v	68.56±1.67h
R	191.44±3.29l	2 658.16±35.11c	103.08±0.39ij	75.07±1.58o	17.43±0.73m	64.76±1.87j	0±0i	388.93±5.13l	7.66±1.13o
S	316.51±4.25i	2 152.82±19.71g	497.73±4.40b	165.31±2.20lm	5.21±0.78n	77.66±2.99i	469.73±1.99c	8.78±0.49w	0±0p
T	29.78±2.09r	662.06±4.88p	319.80±4.76def	176.31±35.34l	49.04±1.35i	154.23±2.97c	0±0i	90.00±1.42t	25.15±1.23kl
U	299.39±2.05j	837.20±9.27n	194.78±2.03gh	212.63±4.93k	14.15±1.97m	39.84±1.25k	0±0i	1 250.96±10.10b	0±0p
V	617.30±8.00e	1 602.54±6.75i	294.19±4.95ef	152.16±6.63m	79.62±1.32g	143.32±0.25d	14.75±1.57h	1 102.69±5.15c	20.09±2.17mn
W	731.49±4.88c	490.17±1.53q	320.98±3.10def	124.22±2.71n	21.06±3.75l	28.85±4.21l	0±0i	1 521.66±13.17a	0±0p
X	335.06±0.78h	1 035.50±7.49m	490.10±4.83b	165.07±3.56lm	24.93±0.72k	91.47±1.30fg	0±0i	669.81±4.37h	20.76±1.57lmn

样品 A~X 见表 1。同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

## 2.4 花色表型与花色素含量的相关性分析

为了分析参试兰属植物花瓣的颜色与花色素含量的关系,对花色 CIE  $L^*a^*b^*$  参数与胡萝卜素、叶绿素、类黄酮、花青素苷物质及类黄酮主成分含量进行相关性分析。如表 7、表 8 所示,明度 ( $L^*$ ) 与 TAC、Cy 含量呈极显著负相关 ( $P<0.01$ ),相关系数分别为 -0.557、-0.533,与  $a_1$ 、 $a_5$  含量呈显著负相关 ( $P<0.05$ ),相关系数分别为 -0.460、-0.472;红绿程度 ( $a^*$ ) 与叶绿素含量呈显著负相关,相关系数为 -0.463 ( $P<0.05$ );黄蓝程度 ( $b^*$ ) 与 TAC 含量呈极显著负相关 ( $P<0.01$ ),相关系数为 -0.528,与 Cy、 $a_1$ 、 $a_3$ 、 $a_5$  和  $a_6$  含量呈显著负相关,相关系数分别为 -0.496、-0.455、-0.405、-0.448 和 -0.411 ( $P<0.05$ );饱和度 ( $C$ ) 与 TAC、Cy 含量呈极显著负相关,相关系数分别为 -0.558 和 -0.532 ( $P<0.01$ ),与

$a_1$ 、 $a_3$  和  $a_5$  含量呈显著负相关,相关系数分别为 -0.497、-0.448 和 -0.494 ( $P<0.05$ ),且与 Sy 含量呈显著负相关,相关系数为 -0.405 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 24 份兰属样品花中类黄酮组成概况

本研究利用 HPLC-MS 方法分析了 24 个兰属样品花中的类黄酮成分,共检测出 6 种花青素,包括 4 种矢车菊素、2 种芍药花素;另外检测到 64 种黄酮醇、黄酮、黄酮醇类物质,包括山柰酚、槲皮素、异鼠李素、杨梅黄素、丁香亭、芹菜素、金圣草黄素和柚皮素类物质,其中山柰酚、槲皮素、杨梅黄素和金圣草黄素为所有样品共有的。对现有兰科植物花中黄酮组成进行研究,发现其中都检测出了矢车菊素、槲皮素、山柰酚和异鼠李素,但是不同研究中检测出的花



青素、花黄色素种类和数量差别较大,本研究检出的花黄色素种类、数量高于以往的研究。张艺祎<sup>[14]</sup>在四川独蒜兰花瓣中检测到4种矢车菊素、飞燕草素;宋小蒙<sup>[13]</sup>在金钗石斛兰花中鉴定出13种矢车菊素、飞燕草素衍生物;Wang等<sup>[12]</sup>在不同色系大花蕙兰中检测出6种矢车菊素、芍药色素糖苷,6种槲皮素、山柰酚和异鼠李素糖苷;李文建等<sup>[29]</sup>在建兰花瓣中检测到8种矢车菊素、飞燕草素、天竺葵素、芍药花素,12种槲皮素、山柰酚和异鼠李素;王紫珊<sup>[10]</sup>在卡特兰 Pink Lady 花瓣中共发现9种矢车菊素、芍药花素和矮牵牛素衍生物,18种槲皮素、山柰

酚和异鼠李素糖苷;李崇晖等<sup>[9]</sup>从不同颜色蝴蝶石斛兰品种花中共检测出28种矢车菊素糖苷与19种槲皮素、山柰酚和异鼠李素糖苷;李崇辉等<sup>[16]</sup>在文心兰唇瓣中检测到5种矢车菊素、芍药花素糖苷和23种黄酮、黄酮醇苷(苷元有木樨草素、金圣草黄素、槲皮素、山柰酚和异鼠李素);Griesbach<sup>[33]</sup>在大花蕙兰中检测到黄酮芹菜素糖苷。本研究检出的杨梅素、丁香亭和柚皮素类衍生物均为首次在兰科植物中发现,类黄酮种类多样性的增加丰富了对兰科植物花中类黄酮生物合成途径的认识。

表7 24份兰属样品花色表型参数与花色素含量的相关性

Table 7 Correlation between color parameters and pigment content of 24 *Cymbidium* Sw. samples

CIE $L^*a^*b^*$	皮尔逊相关系数																
	类胡萝卜素含量	叶绿素含量	总花青素含量	总黄酮含量	总黄酮醇含量	总黄酮含量	总黄酮含量	总黄酮含量	矢车菊素含量	芍药素含量	山柰酚含量	槲皮素含量	异鼠李素含量	杨梅素含量	丁香亭含量	芹菜素含量	金圣草黄素含量
$L^*$	-0.120	-0.299	-0.557**	-0.283	-0.264	0.018	-0.114	-0.533**	-0.169	-0.220	-0.291	0.243	-0.068	-0.328	-0.049	0.043	-0.114
$a^*$	-0.352	-0.463*	0.205	0.211	0.182	0.221	-0.042	0.173	0.104	0.187	0.217	0.158	-0.187	0.089	0.111	0.210	-0.042
$b^*$	-0.134	-0.187	-0.528**	-0.270	-0.220	0.002	-0.292	-0.496*	-0.303	-0.223	-0.251	0.299	0.006	-0.322	-0.073	0.036	-0.292
$C$	-0.237	-0.322	-0.558**	-0.265	-0.203	0.014	-0.368	-0.532**	-0.300	-0.255	-0.196	0.346	-0.049	-0.405*	-0.099	0.061	-0.368

\*表示显著相关( $P<0.05$ ), \*\*表示极显著相关( $P<0.01$ )。

表8 24份兰属样品花色表型参数与类黄酮类物质主要成分含量的相关性

Table 8 Correlation between color parameters and the contents of main flavonoids in 24 *Cymbidium* Sw. samples

CIE $L^* a^* b^*$	皮尔逊相关系数										
	a1 含量	a3 含量	a4 含量	a5 含量	a6 含量	f6 含量	f14 含量	f43 含量	f40 含量	f41 含量	f46 含量
$L^*$	-0.460 <sup>*</sup>	-0.184	-0.133	-0.472 <sup>*</sup>	-0.153	-0.186	-0.188	-0.169	-0.262	-0.268	-0.128
$a^*$	0.180	0.100	0.317	0.106	0.314	-0.010	0.009	0.133	0.036	0.246	-0.027
$b^*$	-0.455 <sup>*</sup>	-0.405 <sup>*</sup>	-0.261	-0.448 <sup>*</sup>	-0.411 <sup>*</sup>	-0.270	-0.221	-0.332	-0.188	-0.141	-0.235
$C$	-0.497 <sup>*</sup>	-0.448 <sup>*</sup>	-0.212	-0.494 <sup>*</sup>	-0.365	-0.330	-0.269	-0.362	-0.222	-0.066	-0.297

\*表示显著相关( $P<0.05$ )。a1~a6、f6、f14、f43、f40、f41、f46 同表4。

通过主成分分析发现,参试兰花花中主要的类黄酮成分为黄酮醇、黄烷酮、花青素,其中主要黄酮醇为槲皮素、山柰酚,主要黄烷酮为柚皮素,主要花青素为矢车菊素,与本研究中式黄酮定量分析结果相互印证。从类黄酮定量分析结果看出,共有16份材料含有花青素,不同色系兰花材料的TAC含量表现为棕色系>紫色系>红紫色系>灰橙色系>黄绿色系>黄色系,在红紫色、紫色和棕色系花瓣中含有大量花青素,而灰橙色系花瓣中TAC含量较低,黄绿色系外瓣不含TAC或含量极低,黄色系外瓣中无花青素。在检出花青素的16份样品中,花青素类型均以矢车菊素为主,其中有8个样品以矢车菊素 3-O-芸香糖苷为主,7个样品以矢车菊

素 3-O-丙二酰葡萄糖苷为主。所有样品中均检出花黄素,其中黄酮醇占比最大,且以槲皮素为主,槲皮素 3-O-芸香糖苷含量最高,这与前人的研究结果相似。Wang等<sup>[12]</sup>研究发现,矢车菊素 3-O-芸香糖苷、芍药花素 3-O-芸香糖苷为大花蕙兰的主要花青素苷,在黄色、绿色和白色系大花蕙兰外瓣中没有花青素。庄于彦<sup>[11]</sup>在研究有红色斑点的文心兰花色素成分时检出矢车菊素、芍药花素2种苷元,并认为紫花品种具有较高的花青素含量,且以矢车菊素为主,绿色系、白色系蝴蝶石斛兰花中不含花青素<sup>[9]</sup>。以上研究结果表明,矢车菊素是兰属植物花中主要的花青素,其次为芍药花素,以矢车菊素 3-O-芸香糖苷为主要成分;槲皮素、山柰酚和

异鼠李素为普遍存在的黄酮醇类物质,并且以槲皮素为主,槲皮素-3-*O*-芸香糖苷为主要成分。

### 3.2 24 份兰属样品花色素对花色的影响

为了探究花色素对花色表型的影响,本研究统计了花青素、花黄素、类胡萝卜素、叶绿素及类黄酮主成分与花色的相关性。前人研究发现,文心兰、蝴蝶兰的总花青素苷含量与花色的明度( $L^*$ )、色相( $b^*$ )呈显著负相关<sup>[9,16]</sup>。本研究结果与之相似,由不同色系的花色表型与花色素含量之间的相关性分析结果可知, $L^*$ 与TAC、Cy含量呈极显著负相关,说明总花青素及矢车菊素含量是影响 $L^*$ 的重要因素,随着TAC或Cy含量的增加,可使花色变暗,反之可使明度提高; $L^*$ 与a1和a5含量呈显著负相关,说明矢车菊素3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素3-*O*-丙二酰葡萄糖苷是影响 $L^*$ 的主要花色素。红绿程度( $a^*$ )与叶绿素含量呈显著负相关,表明当 $a^*>0$ 时,随着叶绿素的积累,花瓣的红色程度会减弱;当 $a^*<0$ 时,花瓣的绿色程度会加深,说明叶绿素是影响花色红绿程度的重要因素。 $b^*$ 与TAC含量呈极显著负相关,与Cy、a1、a3、a5和a6含量呈显著负相关,说明总花青素、矢车菊素及矢车菊素3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素3-*O*-芸香糖苷-5-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素3-*O*-丙二酰葡萄糖苷、芍药花素3-*O*-丙二酰葡萄糖苷含量是影响 $b^*$ 的重要花色素,并且随着TAC、Cy、a1、a3、a5和a6含量的增加,当 $b^*>0$ 时,花瓣的黄色程度会随之下降;当 $b^*<0$ 时,花瓣的蓝色程度会随之增加,花色向红紫色和紫色方向变化;随着TAC、Cy、a1、a3、a5和a6含量的降低, $b^*$ 发生相反变化。饱和度( $C$ )与TAC、Cy含量呈极显著负相关,与a1、a3和a5含量呈显著负相关,说明总花青素、矢车菊素以及矢车菊素3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素3-*O*-芸香糖苷-5-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素3-*O*-丙二酰葡萄糖苷为影响花色饱和度的主要色素,并且随着TAC、Cy、a1、a3、a5的积累,花瓣的色彩饱和度会随之下降。而除Sy含量与 $C$ 呈显著负相关外,花黄素含量与花色表型没有显著的相关性,说明花黄素不是颜色参数的主要影响因素,与Li等<sup>[34]</sup>的研究结果一致,但可作为辅助色素,影响花青素色素的颜色,有研究表明,花黄素与糖苷发生的共色作用可以使花青素更加稳定<sup>[35]</sup>。

有研究者认为,兰花红色部分(暗红色和暗紫红色)的花色主要取决于花青素苷元比例,芍药花素含量越高,花色越偏向红色;矢车菊素含量越高,

花色越偏向紫色;类胡萝卜素可以使花呈现黄色、橙色<sup>[11]</sup>。本研究中所有检出花青素的样品均以矢车菊素为主,并且花色呈现红紫色至紫色。

本研究对春兰大富贵花朵不同部位花色素进行了检测,结果表明,TAC含量表现为苞片>舌瓣>外瓣,类胡萝卜素含量表现为苞片>外瓣>舌瓣,叶绿素含量表现为外瓣>苞片>舌瓣,均存在显著差异。大富贵苞片呈现紫色,其花青素、类胡萝卜素和叶绿素含量均具有较高水平,由于具有较高含量的花青素,使花色向红紫色、紫色方向变化,明度降低,而较高含量的叶绿素使花色绿色程度加深,同时由于类胡萝卜素与花青素协同作用,可使花色呈现出单一类花色素无法呈现的橘红色至红色、青铜色至棕色的变化<sup>[36]</sup>,在上述3种花色素的综合作用下,大富贵苞片颜色向紫色方向变化。同理,黑墨花中含有极高含量的花青素(为大富贵苞片的3.14倍),使其花色较暗,在与较高含量的类胡萝卜素、叶绿素协同作用下呈现出棕色。大富贵舌瓣呈白底红斑,其类胡萝卜素、叶绿素含量较低,而花青素含量较高,前人研究发现,大花蕙兰绿色、白色花的舌瓣红斑明显则表明花青素含量较高,红斑浅淡则表明只含有微量花青素<sup>[12]</sup>。此外,在文心兰舌瓣为黄色、绿色的材料中也未检出花青素<sup>[16]</sup>。以上研究结果表明,参试兰属植物花舌瓣红斑部分主要由花青素决定,舌瓣底色主要受类胡萝卜素、叶绿素影响;大富贵外瓣为绿色并有1条红筋,其叶绿素、类胡萝卜素含量较高,TAC含量较低,推测其瓣绿色主要受叶绿素影响,而瓣红筋部分由花青素产生。

在所有参试材料中都检测到了类胡萝卜素、叶绿素,黄色系和黄绿色系花瓣中类胡萝卜素水平与红紫色系没有明显差异,但黄色系不含有花青素,黄绿色系含有低含量或不含有花青素,表明使参试兰属植物花色呈黄色的主要花色素是类胡萝卜素。与本研究结果相似的是,Hieber等<sup>[37]</sup>发现切花文心兰Onc. Gower Ramsey系列的黄色唇瓣中的主要黄色色素是几种类胡萝卜素。与粉红色、红色系月季相比,黄色月季花瓣中的花青素苷含量很低,总黄酮醇含量适中,类胡萝卜素含量最高<sup>[8]</sup>。

根据RHCSS评价指标,本研究有8份材料被判断为黄绿色系,但目测又可将其分为绿色、黄绿色,绿色包括大富贵外瓣以及苍岩素、瑞梅、白墨、莲瓣素、翠玉外瓣,其中白墨、莲瓣素和翠玉外瓣叶绿素

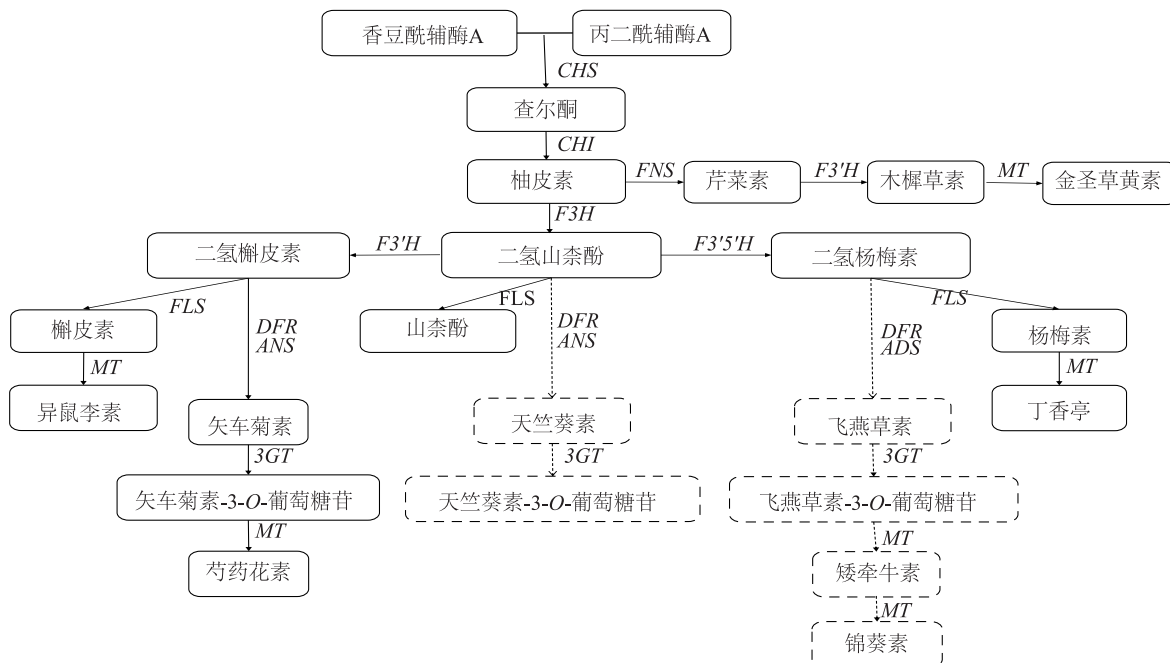
含量较低,为11.87~110.64  $\mu\text{g/g}$ ,类胡萝卜素含量也较低,为72.99~513.38  $\mu\text{g/g}$ ,且不含花青素,叶绿素为这3个材料的主要花色素;苍岩素、大富贵和瑞梅外瓣叶绿素含量水平较高,为154.6~316.23  $\mu\text{g/g}$ ,虽然类胡萝卜素含量均为黄色系材料的2~5倍,达799.60~1 611.13  $\mu\text{g/g}$ ,且大富贵、瑞梅外瓣含有少量的花青素,含量为52.87~99.95  $\mu\text{g/g}$ ,但可能由于叶绿素水平较高因而呈现绿色,表明叶绿素对兰属植物花色呈现绿色有重要影响。此外,凝香紫、黑墨与韩国小姐外瓣的叶绿素含量在种群内也处于较高水平,但其外瓣分别呈现紫色、棕色及红紫色,可能与其同时含有高含量的花青素有关。

综上,推测花青素、叶绿素是本研究中参试兰属植物花呈色的关键色素,类胡萝卜素是黄色花的主要色素。

### 3.3 24份兰属材料花中类黄酮代谢途径推测

根据花中代谢物的相对含量,结合前人的研究结果<sup>[12,29]</sup>,推测兰属植物花瓣中类黄酮代谢途径如下:香豆酰-CoA和丙二酰-CoA依次在查耳酮合成酶(*CHS*)、查耳酮异构酶(*CHI*)的催化下生成柚皮

素(是合成所有类黄酮所必需的)。柚皮素在黄酮合酶(*FNS*)催化下生成芹菜素,进而在*F3'H*催化下生成木樨草素,在甲基转移酶(*MT*)催化下生成金圣草黄素<sup>[38-39]</sup>,这是黄酮合成的关键分支步骤。柚皮素受黄烷酮-3-羟化酶(*F3H*)的催化,生成二氢山柰酚(*DHK*),*DHK*分别受类黄酮-3'-羟化酶(*F3'H*)、类黄酮-3'-5'-羟化酶(*F3'5'H*)的作用,合成二氢槲皮素(*DHQ*)和二氢杨梅素(*DHM*)。*DHK*、*DHQ*和*DHM*在黄酮醇合成酶(*FLS*)作用下分别生成山柰酚、槲皮素和杨梅素,这是黄酮醇合成的关键分步骤<sup>[40]</sup>。槲皮素、杨梅素进而在甲基转移酶*MT*作用下分别生成异鼠李素、丁香亭。另外,*DHK*、*DHQ*和*DHM*在二氢黄酮醇还原酶(*DFR*)和花青素苷元合成酶(*ANS*)的催化下分别产生着色的花青素如天竺葵素、矢车菊素和飞燕草素<sup>[36]</sup>,其中矢车菊素受到*MT*的催化而合成芍药花素,飞燕草素接连受到*MT*的催化,分别合成矮牵牛素和锦葵素(图9)。综合分析可知,本研究参试兰属花组织中检测到矢车菊素和芍药色素的衍生物,表明花青素的形成涉及ABP通路中的矢车菊素合成分支。



虚线框表示本研究未涉及的代谢途径;*CHS*:查耳酮合成酶;*CHI*:查耳酮异构酶;*FNS*:黄酮合酶;*F3H*:黄烷酮-3-羟化酶;*F3'H*:类黄酮-3-羟化酶;*F3'5'H*:类黄酮 3'5'-羟化酶;*FLS*:黄酮醇合成酶;*DFR*:二氢黄酮醇还原酶;*ANS*:花青素合成酶;*3GT*:类黄酮 3-O-葡萄糖基转移酶;*MT*:转甲基酶。

图9 24份兰属材料花中类黄酮代谢途径

Fig.9 Metabolic pathways of flavonoids in flowers of 24 *Cymbidium* Sw. samples

## 参考文献:

- [1] 刘清涌.江浙兰蕙[M].中国香港:香港百川文化出版社,1998.
- [2] 陈心启,吉占和.中国兰花全书[M].北京:中国林业出版社,1997.
- [3] 朱根发,杨凤玺,吕复兵,等.兰花育种及产业化技术研究进展[J].广东农业科学,2020,47(11):218-225.
- [4] HSIAO Y Y, PAN Z J, HSU C C, et al. Research on orchid biology and biotechnology[J]. Plant and Cell Physiology, 2011, 52(9): 1467-1486.
- [5] HARBORNE J B, WILLIAMS C A. Advances in flavonoid research since 1992[J]. Phytochemistry, 2000, 55(6): 481-504.
- [6] BROCKINGTON S F, WALKER R H, GLOVER B J, et al. Complex pigment evolution in the Caryophyllales[J]. New Phytologist, 2011, 190(4): 854-864.
- [7] CHMIEL E, SÜTFELD R, WIERMANN R. Conversion of phloroglucinol-type chalcones by purified chalcone isomerase from tulip anthers and from *Cosmos* petals[J]. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1983, 178: 139-146.
- [8] WAN H H, YU C, HAN Y, et al. Determination of flavonoids and carotenoids and their contributions to various colors of rose cultivars (*Rosa* spp.)[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10(5): 1-14.
- [9] 李崇晖,黄少华,黄明忠,等.文心兰唇瓣花色表型及类黄酮色素组成[J]. 热带作物学报, 2013, 34(6): 1133-1138.
- [10] 王紫珊.卡特兰花色基因克隆、表达分析及花色素成分分析[D].北京:中国林业科学研究院,2015.
- [11] 庄于彦.文心兰花色与色素组成之研究[D].屏东:屏东科技大学,2005.
- [12] WANG L, ALBERT N W, ZHANG H B, et al. Temporal and spatial regulation of anthocyanin biosynthesis provide diverse flower colour intensities and patterning in *Cymbidium* orchid[J]. Planta, 2014, 240(5): 983-1002.
- [13] 宋小蒙.金钗石斛花青素苷和精油的纯化、产物分析及其活性研究[D].无锡:江南大学,2017.
- [14] 张艺伟.四川独蒜兰居群花色数量分布模式及调控基因研究[D].福州:福建农林大学,2019.
- [15] 朱佳意,唐东芹,李欣.小苍兰花瓣黄色素组成和含量分析[J].热带作物学报, 2021, 42(4): 1136-1144.
- [16] 李崇晖,任羽,黄素荣,等.蝴蝶石斛兰花色表型及类黄酮成分分析[J].园艺学报, 2013, 40(1): 107-116.
- [17] 黄昕蕾.基于转录组测序的鼓槌石斛花色素形成分子调控机理研究[D].北京:中国林业科学研究院,2018.
- [18] 朱满兰.睡莲花瓣类黄酮成分分析及其花色形成的化学机制[D].南京:南京农业大学,2012.
- [19] YANG R Z, WEI X L, GAO F F, et al. Simultaneous analysis of anthocyanins and flavonols in petals of lotus (*Nelumbo*) cultivars by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/ electrospray ionization mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(1): 106-112.
- [20] MA Y L, CUYCKENS F, VAN DEN HEUVEL H, et al. Mass spectrometric methods for the characterization and differentiation of isomeric *O*-diglycosyl flavonoids[J]. Phytochem Anal, 2001, 12(3): 159-165.
- [21] ABAD-GARCÍA B, BERRUETA L A, GARMÓN-LOBATO S, et al. A general analytical strategy for the characterization of phenolic compounds in fruit juices by high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(28): 5398-5415.
- [22] WU X L, PRIOR R L. Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: vegetables, nuts and grains[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(8): 3101-3113.
- [23] ABLAJAN K, ABLIZ Z, SHANG X Y, et al. Structural characterization of flavonol 3, 7-di-*O*-glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2006, 41(3): 352-360.
- [24] PARDHASARADHI M, SIDHU G S. Obtusifolioside, syringetin and dihydrosyringetin from *Soymida febrifuga* [J]. Pergamon, 1972, 11(4): 1520-1522.
- [25] PÉREZ-NAVARRO J, IZQUIERDO-CAÑAS P M, MENA-MORALES A, et al. Phenolic compounds profile of different berry parts from novel *Vitis vinifera* L. red grape genotypes and Tempranillo using HPLC-DAD-ESI-MS/MS: a varietal differentiation tool[J]. Food Chemistry, 2019, 295(5): 350-360.
- [26] MEMON A A, MEMON N, BHANGER M I, et al. Assay of phenolic compounds from four species of ber (*Ziziphus mauritiana* L.) fruits: comparison of three base hydrolysis procedure for quantification of total phenolic acids[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1/2/3/4): 496-502.
- [27] LI C H, DU H, WANG L S, 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.
- [28] 李珊珊,吴倩,袁茹玉,等.莲属植物类黄酮代谢产物的研究进展[J].植物学报, 2014, 49(6): 738-750.
- [29] 李文建,沈永宝,史锋厚,等.建兰花色形成的成分检测[J].南京林业大学学报(自然科学版), 2019, 43(4): 57-62.
- [30] HATICE T, EKREM K, ÖMER K, et al. RP-HPLC/MS/MS analysis of the phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia* L. species[J]. Antioxidants, 2016, 5(4): 38.
- [31] ZHONG L J, YUAN Z Y, RONG L, et al. An optimized method for extraction and characterization of phenolic compounds in *Dendranthema indicum* var. *aromaticum* flower [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 7745.
- [32] PLAZONIC A, BUCAR F, MALEŠ Ž, et al. Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley



- (*Caucalis platycarpus* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Molecules*, 2009, 14(7): 2466-2490.
- [33] GRIESBACH R J. Flavonoid copigments and anthocyanin of *Phalaenopsis schilleriana*[J]. *Lindleyana*, 1990, 5: 231-234.
- [34] LI X, LU M, TANG D, et al. Composition of carotenoids and flavonoids in narcissus cultivars and their relationship with flower color[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e142074.
- [35] GORDILLO B, RODRÍGUEZ-PULIDO F J, GONZÁLEZ-MIRET M L, et al. Application of differential colorimetry to evaluate anthocyanin-flavonol-flavanol ternary copigmentation interactions in model solutions[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(35): 7645-7653.
- [36] TANAKA Y, SASAKI N, OHMIYA A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids [J]. *Plant J*, 2008, 54(4): 733-749.
- [37] HIEBER A D, MUDALIGE-JAYAWICKRAMA R G, KUEHNLE A R. Color genes in the orchid *Oncidium Gower Ramsey*: identification, expression, and potential genetic instability in an interspecific cross[J]. *Planta*, 2006, 223(3): 521-531.
- [38] GEBHARDT Y H, WITTE S, STEUBER H, et al. Evolution of flavone synthase I from parsley flavanone 3 $\beta$ -hydroxylase by site-directed mutagenesis[J]. *Plant Physiol*, 2007, 144(3): 1442.
- [39] REA KEVIN A, CASARETTO PÉREZ-NAVARRO A, AL-ABDULWAHID M S, et al. Biosynthesis of cannflavins A and B from *Cannabis sativa* L.[J]. *Phytochemistry*, 2019, 164(5): 162-171.
- [40] ALBERT N W, LEWIS D H, ZHANG H, et al. Light-induced vegetative anthocyanin pigmentation in *Petunia*[J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(7): 2191-2202.

(责任编辑:徐 艳)