

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201612020

引文格式: 宋洋, 雷霆, 金雪花, 等. 蓝亚麻花瓣中类黄酮化合物及代谢途径分析 [J]. 广西植物, 2017, 37(11):1368-1377
SONG Y, LEI T, JIN XH, et al. Flavonoid related compounds and their biosynthesis pathways in *Linum perenne* [J]. *Guihaia*, 2017, 37(11):1368-1377

蓝亚麻花瓣中类黄酮化合物及代谢途径分析

宋 洋², 雷 霆², 金雪花^{1*}, 付灯祥¹

(1. 昆明理工大学 建筑与城市规划学院, 昆明 650500; 2. 昆明理工大学 现代农业工程学院, 昆明 650500)

摘 要: 花色是观赏植物重要的观赏性状之一, 而类黄酮是其主要的呈色物质。该研究以蓝亚麻花瓣为研究对象, 将蓝亚麻开花过程分为 5 个阶段, 并用高效液相色谱—光电二极管阵列检测技术 (HPLC-PAD) 和高效液相色谱—电喷雾离子化—质谱联用技术 (HPLC-ESI-MS) 分析不同开花阶段花瓣中类黄酮化合物的成分和含量。结果表明: 蓝亚麻花瓣中积累飞燕草素苷、矢车菊素苷和锦葵素苷, 未检测到天竺葵素苷, 其中以酰基化的飞燕草素苷为主要呈色物质; 而总花青素苷含量在第 2 阶段达到最高。根据花青素苷终产物和类黄酮中间代谢产物推定了蓝亚麻花瓣中类黄酮代谢途径, 其中以 F3'5'H 所引导的分支途径占优势, 其主要原因可能是 F3'5'H 酶活高于 F3'H。

关键词: 蓝亚麻, 花青素苷, 类黄酮, 花色, 代谢途径

中图分类号: Q946.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)11-1368-10

Flavonoid related compounds and their biosynthesis pathways in *Linum perenne*

SONG Yang², LEI Ting², JIN Xue-Hua^{1*}, FU Deng-Xiang¹

(1. Faculty of Architecture and City Planning, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2. Faculty of Modern Agricultural Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Flower colour is one of the most ornamental quality in ornamental plant, and flavonoid is the main pigment. In this study, the flowering stages of *Linum perenne* was divided into five stages. We used high performance liquid chromatography with a photodiode array detector (HPLC-PAD) and HPLC-electrospray ionization-mass spectrometry (HPLC-ESI-MS) method for qualitative and quantitative analyses of anthocyanins and the key flavonoid intermediate product in the different flower development stages. The results were as follows: *L. perenne* petals contained delphinidin, cyanidin and malvidin, but pelargonidin was no detected, and the main color substance was acylation of delphinidin; The highest total contents of the anthocyanins was at Stage 2. According to the end product and the intermediate product, we speculate the

收稿日期: 2017-03-29 修回日期: 2017-04-28

基金项目: 国家自然科学基金 (31560568), 云南省人才培养基金 (KKS201323131) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31560568); Program Training Talents in Yunnan Province(KKS201323131)]。

作者简介: 宋洋 (1990-), 女, 硕士研究生, 黑龙江伊春人, 主要研究方向为花色生理及遗传育种, (E-mail)290270569@qq.com。

* 通信作者: 金雪花, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事园林植物遗传育种研究, (E-mail)xh_kimlian@126.com。

flavonoid biosynthesis pathways in *L. perenne*, in which F3'5'H leading branch pathway is dominant, and the main reason for that is F3'5'H enzyme activity is higher than that of F3'H.

Key words: *Linum perenne*, anthocyanin, flavonoid, flower colour, biosynthesis pathways

花色是观赏植物重要的观赏性状,决定花色的色素成分分为三类:类黄酮、类胡萝卜素和甜菜色素。其中,类黄酮中的花青素苷可使花色呈现橙黄、红色到紫色和蓝色,而黄酮和黄酮醇使花色呈黄色至白色。不同物种合成有限的类黄酮物质,使花瓣呈现有限的颜色。菊花、玫瑰、香石竹、百合等因不能积累飞燕草素苷所以花瓣不能呈现蓝色(戴思兰和洪艳,2016),而大花蕙兰、矮牵牛等不能积累天竺葵素苷,故不能开出砖红色的花(Johnson et al, 1999; Leonard et al, 2008)。

分析呈色物质,解析呈色物质的代谢途径是研究花色的重要手段。迄今,已在多种植物中通过检测花青素苷的终产物和中间产物,研究花青素苷的代谢途径,解析花色的形成机理。如通过分析不同花色瓜叶菊花瓣中的花青素苷和中间代谢产物(Jin et al, 2016)、对蓝色和白色风信子花瓣中类黄酮代谢物质(Lou et al, 2014)、对蓝色和紫色六倍利(*Lobelia erinus*)进行色素物质比较(Hsu et al, 2016)、不同花色耐寒睡莲花瓣花青素苷成分(朱满兰等,2012)以及蓝色睡莲色素物质成分(Wu et al, 2016),研究了观赏植物花瓣中的类黄酮代谢途径,解析其呈色机理。

当前花青素苷分析的重要方法为 HPLC-MS (液相色谱-质谱联用)法,该方法分析速度快、灵敏度高(De et al, 2006),已广泛应用于类黄酮物质的分离和鉴定(Lou et al, 2014; Jin et al, 2016)。

蓝色花具有独特的观赏性,可形成园林景观中罕见的蓝色色调,因此是花色遗传育种学家研究的重要材料。蓝亚麻(*Linum perenne*)又名亚麻花,是亚麻科,亚麻属二年生草本花卉,株高 60~70 cm,花呈素雅的蓝色,是为数不多的蓝色地被植物,是目前国际流行的组合盆栽花材,也是研究蓝色花形成机理的好材料。而目前对蓝亚麻的研究仅限于栽培和园林应用(孙慧杰等,2009;叶剑秋等,2007;张明丽等,2006),未见对其花色呈色

物质的研究报告。

本研究以蓝亚麻花瓣为研究对象,分析蓝亚麻花瓣中花青素苷、黄酮和黄酮醇的成分和含量,以及花青素苷在不同开花阶段花瓣中的变化规律,推定类黄酮的代谢途径,为探讨蓝亚麻蓝色花呈色机理、为蓝色花遗传育种提供参考。

1 材料与方 法

1.1 植物材料

以蓝亚麻为植物材料,采自昆明理工大学实验田,选择花色一致、长势均一的花瓣,采集不同开花阶段的花瓣进行呈色物质的分析。按形态特征,将蓝亚麻开花过程分为 5 个阶段(表 1)。

表 1 蓝亚麻不同开花阶段形态特征
Table 1 Phenotype features of *Linum perenne* at different flowering stages

开花阶段 Flowering stages	分级依据 Classification basis
第 1 阶段 Stage 1	花苞长约 2 mm,未露色 Length of flower bud was 2 mm, not revealed color
第 2 阶段 Stage 2	花瓣伸出花苞 2 mm Petals stuck flower bud out 2 mm
第 3 阶段 Stage 3	花瓣伸长为约 8 mm,并微开可见部分雄蕊 Length of petals was 8 mm, and a few open could saw some stamen
第 4 阶段 Stage 4	花瓣长约 10~12 mm,花瓣展开 45 度,雌雄蕊完全可见 Length of petals were 10~12 mm, petals opening 45 degree
第 5 阶段 Stage 5	花完全舒展开放,花瓣长约 15 mm Flowers completely open, lengths of petals were 15 mm

1.2 黄酮、黄酮醇和花青素苷的提取

摘取 5 个开花阶段的蓝亚麻花瓣,用液氮研磨至粉末状。液氮挥发后,用花青苷提取液:甲醇:水:甲酸:三氟醋酸=70:27:2:1 提取,每 250 mg 鲜重加 1 mL 提取液。黄酮和黄酮醇的样品处

理方法与花青素苷相同,提取液为甲醇,每 100 mg 鲜重加 1 mL 甲醇提取。将两种提取液均置于 4 ℃ 处放置,浸提 24 h,每隔 12 h 震荡一次(Yoshitama, 1981; Jia et al, 2008)、(张剑亮等, 2009), 提取液经 0.2 μm 的过滤器过滤,得到待测样品。

1.3 花青素苷、黄酮和黄酮醇含量测定

采用高效液相色谱法(HPLC-PAD)来分析蓝亚麻花青素苷、代谢途径的中间产物(黄酮和黄酮醇)的含量(李崇晖等, 2008)。花青素苷测定仪器使用 Agilent 高效液相色谱仪,色谱柱为 Agilent 公司的 ZORBAX 型 SB-Aq (4.6 mm × 250 mm)。HPLC 测定条件:检测波长 530 nm,流动相为 A、B 两相。A 相为水:甲酸:三氟醋酸 = 97.9:2:0.1; B 相为水:乙腈:甲酸:三氟醋酸 = 62.9:35:2:0.1。进样量为 10 μL,柱温 25 ℃,流速 0.8 mL · min⁻¹。流动相 B 的洗脱梯度为 0~20 min, 30%~53%; 20~40 min, 53%~53%; 40~45 min, 53%~30%; 45~50 min, 30%~30%。配制不同浓度的氯化矢车菊素(Cyanidin),根据浓度和峰面积绘制标准曲线,计算花青素苷含量。

黄酮和黄酮醇的测定使用戴安公司生产的高效液相色谱仪(Ultimate 3000-API 3200 Q TRAP)。色谱柱型号为 MSLab HP-C18 (150 * 4.6 mm 5 μm), HPLC 测定条件:流动相为 A(水)、B(乙腈)两相。进样量为 10 μL,柱温 50 ℃,流速 1 mL · min⁻¹。流动相 B 的洗脱梯度为 0~1.5 min, 90%; 1.5~7 min, 70%; 7~8 min, 40%; 8~10 min, 5%; 10~15 min, 90%。配制不同浓度的标准品,根据浓度和峰面积绘制标准曲线,计算黄酮和黄酮醇含量。

采用高效液质联用仪(HPLC-ESI-MS)分析样本的花青素苷成分。高效液质联用法分析条件:采用 Agilent 6540Q-TOT 液质联用仪进行 HPLC-ESI-MS 分析。液相色谱的分析条件与上文相同。质谱分析条件:ESI 正离子扫描,扫描范围(m/z):100~1 600;干燥气为氮气,干燥温度 350 ℃,流速 6.0 L · min⁻¹,毛细管电压 3 500 V,喷雾器压力 200 kPa,毛细管出口电压 100 V。用 MZmine 软件分析质谱结果。

本研究所用标准品为氯化矢车菊素

(Cyanidin)、柚皮素(Naringenin)、芹菜色素(Apigenin)、木犀草素(Luteolin)、二氢杨梅素(Dihydromyricetin)、二氢山奈酚(Dihydrokaempferol)、二氢槲皮素(Dihydroquercetin)、杨梅素(Myricetin)、山奈酚(Kaempferol)和槲皮素(Quercetin),均购于上海源叶生物科技有限公司。

2 结果与分析

2.1 不同开花阶段蓝亚麻花瓣中花青素苷组成的特征

采用高效液相色谱法分析蓝亚麻花瓣花青素苷的含量,在检测波长 530 nm 处出现 4 个峰(图 1),按保留时间顺序分别定义为 A1、A2、A3、A4。花青素苷的紫外光谱吸收峰表明, A1~A4 均在紫外光区有两个吸收峰,可见光区有一个吸收峰(图 2)。经过酰基化修饰的花青素苷在紫外光区有 2 个吸收峰,可见光区 485~550 nm 之间有 1 个吸收峰(安田奇, 1989)。

花青素苷的质谱中分子离子常带一个氢离子,以 [M+H]⁺ 的形式存在,花青素苷的类型依据质谱中苷元离子 [Y₀]⁺ 质荷比推定(Beatriz et al, 2009; Stobiecki, 2000; Cuyckens & Claeys, 2004)。

本研究对 4 种花青素苷进行质谱分析,花青素苷的类型可根据质谱图中的花青素苷碎片特征推定(图 3,表 2,表 3)。从 4 个质谱图中推定各花青素苷的碎片离子,花青素苷 A1,经过一级质谱得到分子离子 773 ([M+H]⁺),释放出飞燕草苷元 ([Y₀]⁺) 特征碎片离子 m/z 303 ([Y₀]⁺),释放出碎片离子 m/z 470 ([Glu+Caf+Glu]⁺) 为分子离子减去 2 个葡萄糖和 1 个咖啡酰基的结果。花青素苷 A2,经过一级质谱得到分子离子 757 ([M+H]⁺),释放出飞燕草苷元 ([Y₀]⁺) 特征碎片离子 m/z 303 ([Y₀]⁺),释放出碎片离子 m/z 454 ([Rha+Cou+Glu]⁺) 为分子离子减去 1 个鼠李糖、1 个香豆酰基和 1 个葡萄糖的结果。花青素苷 A3,经过一级质谱得到分子离子 757 ([M+H]⁺),释放出矢车菊苷元 ([Y₀]⁺) 特征碎片离子 m/z 287 ([Y₀]⁺),释放出碎片离子 m/z 470 ([Glu+Caf+Rha]⁺) 为分子离子减去 1 个葡萄糖、1 个咖啡酰基和 1 个鼠李糖

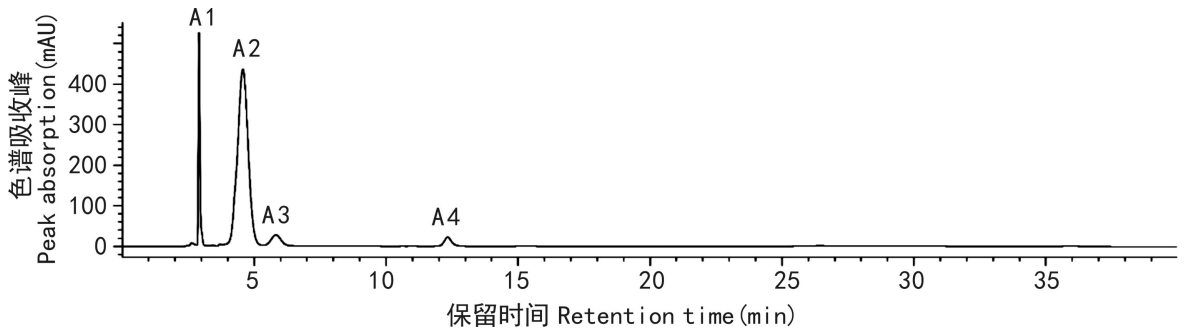


图 1 蓝亚麻主要花青素苷含量

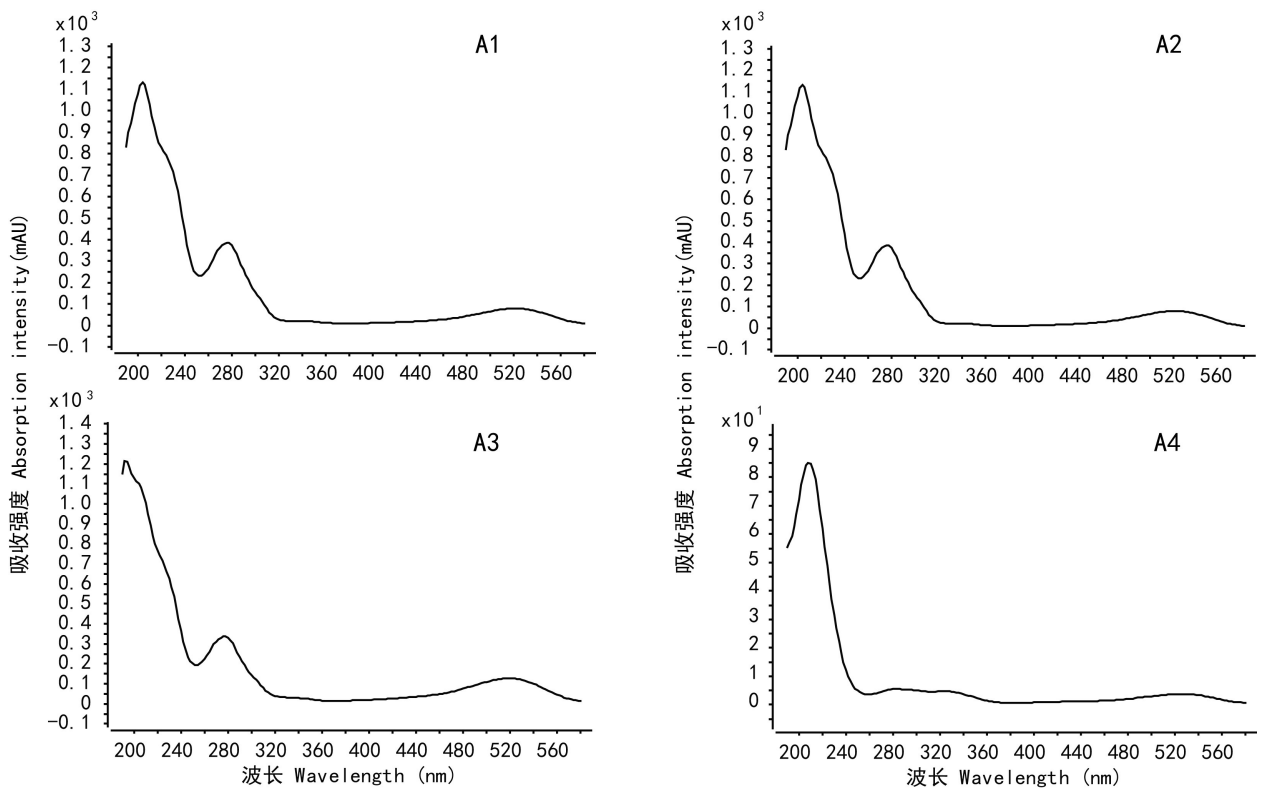
Fig. 1 Amounts of major anthocyanins in blue flowers of *Linum perenne*

图 2 蓝亚麻 4 种主要成分可见光与紫外光吸收波长

Fig. 2 Absorption peaks of light and ultraviolet light of four major anthocyanins in *Linum perenne*

的结果。花青素苷 A4, 经过一级质谱得到分子离子 669 ($[M+H]^+$), 释放出锦葵素苷元 ($[Y_0]^+$) 特征碎片离子 m/z 331 ($[Y_0]^+$), 释放出碎片离子 m/z 338 ($[Glu+Fer]^+$) 为分子离子减去 1 个葡萄糖和 1 个阿魏酰基的结果。综上所述, A1、A2 为

飞燕草素苷, A3 为矢车菊素苷, A4 为锦葵素苷。

2.2 蓝亚麻不同开花阶段花瓣中花青素苷含量及变化规律

对 5 个开花阶段蓝亚麻花瓣中花青素苷进行定量分析(表 4), 得知 A1、A2 含量除第一阶段外,

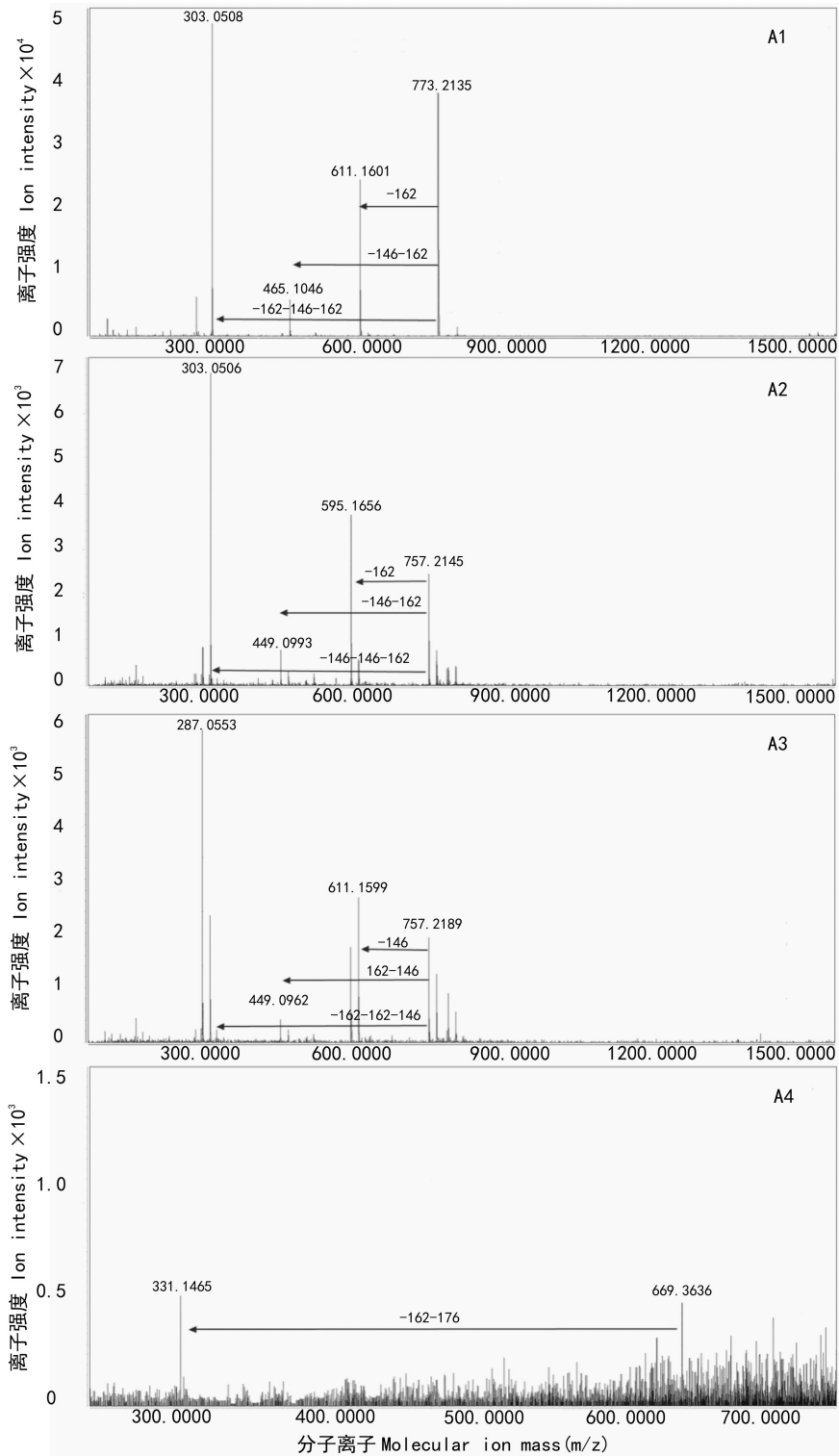


图3 花青素苷 A1、A2、A3、A4 的质谱和结构图

Fig. 3 Mass spectra and structure of anthocyanin in A1, A2, A3 and A4

均占总花青素苷含量在 60% 以上, 即飞燕草素苷在花朵开放过程中为主要的呈色物质。

对蓝亚麻花青素苷 A1、A2、A3、A4 含量在花朵开放过程中的变化来看, A1、A2、A3 在第 2 阶段

表 2 蓝亚麻主要花青素苷的 HPLC-PAD、HPLC-ESI-MS 分析

Table 2 HPLC-PAD and HPLC-ESI-MS analyses of the anthocyanins in *Linum perenne*

组分 Component	保留时间 Retention time (min)	分子离子质荷比 Molecular ion mass-to-charge ratio (m/z)	碎片离子质荷比 Fragment ion mass-to-charge ratio (m/z)	参考文献 Reference
A1	2.920	773.213 5	611.160 1, 465.104 6, 303.050 8	Yoshitama, 1981
A2	4.653	757.214 5	595.165 6, 449.099 3, 303.050 6	
A3	5.926	757.218 9	611.159 9, 449.096 2, 287.055 3	
A4	12.496	669.363 6	331.146 5	

表 3 蓝亚麻主要花青素苷组成

Table 3 Composition of anthocyanins in flowers of *Linum perenne*

碎片类型 Fragment type	A1 特征碎片 A1 characteristic fragment (m/z)	A2 特征碎片 A2 characteristic fragment (m/z)	A3 特征碎片 A3 characteristic fragment (m/z)	A4 特征碎片 A4 characteristic fragment (m/z)
分子离子 Quasimolecular ions	773	757	757	669
花青素苷元 Anthocyanin	303	303	287	331
糖基 Glycosyl	324	308	308	162
咖啡酰基 Caffeoyl	146	146	—	—
香豆酰基 Coumaroyl	—	—	162	—
阿魏酰基 Feruloyl	—	—	—	176

表 4 不同开花阶段的总花青素苷和主要花青素苷变化和累计规律

Table 4 Variation and accumulation of anthocyanins at different flowering stages in *Linum perenne*

发育阶段 Developmental stage	总花青素苷平均含量 Total anthocyanin average content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	A1 平均含量 A1 average content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	A2 平均含量 A2 average content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	A3 平均含量 A3 average content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	A4 平均含量 A4 average content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	A1、A2 占全部 花青素苷百分率 Percentage of A1 and A2 in total anthocyanins (%)
1	1 348.68	305.69	464.97	289.05	288.98	57.14
2	1 715.76	346.71	791.81	294.38	282.87	66.36
3	1 398.97	306.26	543.01	278.35	271.36	60.71
4	1 402.14	307.28	547.55	277.14	270.17	60.97
5	1 437.76	308.51	580.12	278.62	270.52	61.81

含量最高,其他 4 个阶段无显著差异。而 A4 含量在第 1 阶段最高,然后呈现逐渐下降趋势。各花青素苷合成高峰均在早期。

2.3 蓝亚麻黄酮和黄酮醇组成

为了进一步解析蓝亚麻花色呈色物质基础,解析其花瓣中类黄酮的代谢途径,本研究对处

于花朵开放第 5 阶段的花瓣片,进行关键中间代谢产物的检测(表 5)。结果三种二氢黄酮醇均检测到,其中二氢槲皮素含量最高,然后是二氢山奈酚,二氢杨梅素最少。同时检测到杨梅素和山奈酚,但未检测到槲皮素。

表 5 蓝亚麻黄酮和黄酮醇含量

Table 5 Content of flavonoid in *Linum perenne*

黄酮和黄酮醇 Flavonoid	含量 Content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
柚皮素 Naringenin	1 840.00
芹菜色素 Apigenin	0
木犀草素 Luteolin	2.90
二氢杨梅素 Dihydromyricetin	252.33
二氢山奈酚 Dihydrokaempferol	316.00
二氢槲皮素 Dihydroquercetin	1 900.00
杨梅素 Myricetin	179.33
山奈酚 Kaempferol	3.27
槲皮素 Quercetin	0

3 讨论

3.1 蓝亚麻花瓣呈色物质种类及其含量的动态变化

决定花色的主要色素物质为花青素苷,花青素苷主要合成于细胞质,积累于液泡中,使花色呈现橙、粉、红、紫和蓝色。其中天竺葵素苷使花色呈现红色到砖红色,矢车菊素苷使花色呈现红色、深红色,而飞燕草素苷可使花色呈现蓝色,锦葵素苷使花瓣呈现蓝紫色(Tanaka et al,2008)。

本研究在蓝亚麻花瓣中检测到 4 种花青素苷:飞燕草素苷(A1 和 A2)、矢车菊素苷(A3)以及锦葵素苷(A4)。其中飞燕草素苷含量除第 1 阶段外,其余阶段均占花青素苷总量的 60%以上。同时发现这些花青素苷都得到了芳香酰基化修饰。因此,认为芳香酰基化飞燕草素苷是蓝亚麻花瓣呈蓝色的主要原因。智利蓝番红花(*Tecophilaea cyanocrocus*)和蓝色银莲花(*Anemone coronaria*)中,使其呈蓝色的呈色物质也为酰基化飞燕草素苷(Mori et al,2014;Saito et al,2002)。酰基化(Acy-

lation)是花青素苷重要的修饰方式之一,其中芳香酰基化修饰,可使最大吸收波长蓝移有效产生蓝色的同时,通过分子间的堆叠使蓝色更稳定(Honda & Saito,2002;Luo et al,2007;Sasaki & Nakayama, 2015)。

在蓝亚麻中花青素苷的积累,前 2 个阶段最高,即在未完全开放前达到最高值,之后花青素苷含量下降,这可能是因为开花过程中花瓣面积的增加速度大于花青素苷合成的速度。也有人认为随着花瓣的展开,受光的面积增大,光照引起花青素苷的降解或氧化,引起花青素苷含量的降低(张玲等,2015)。也有些植物为了防止紫外线对细胞的毒害,在完全开放前就完成了花青素苷的合成,草原龙胆就有类似的现象(Uddin et al,2002)。

3.2 蓝亚麻类黄酮合成途径竞争关系

我们根据终产物花青素苷和中间产物黄酮、黄酮醇,推定了类黄酮的代谢途径(图 4),即在蓝亚麻花瓣中,类黄酮合成途径,在柚皮素处,由 F3'H、F3H 和 F3'5'H 催化发生了三个分支,分别生成圣草酚、二氢山奈酚(DHK)和五羟黄酮。圣草酚在 F3H 和 FNS 的作用下分别生成二氢槲皮素(DHQ)和木犀草素。DHK 在 F3'H、FLS 和 F3'5'H 作用下分别生成 DHQ、山奈酚和二氢杨梅素(DHM)。DHQ 接着在 DFR、ANS、GT、AT 的催化下生成了酰基化的矢车菊素苷。而 DHM 一部分在 FLS 的作用下生成杨梅素,一部分在 DFR、ANS 催化下生成了飞燕草素。而飞燕草素分为两个分支,一个是甲基化合成锦葵素,锦葵素在 GT、AT 作用下进一步生成酰基化锦葵素苷;而大部分飞燕草素在 GT、AT 作用下生成 2 种酰基化飞燕草素苷。从而最终生成 4 种花青素苷。

F3'5'H 所引导的分支产物飞燕草素苷(A1 和 A2)和锦葵素苷(A4)含量占花青素苷总量的 80.62%,F3'H 所引导的分支产物矢车菊苷(A3)仅占 19.38%。这说明 F3'5'H 的酶活远高于 F3'H,使代谢流流向飞燕草素分支方向,从而使花色呈蓝色。下一步可以检测两个酶所编码的基因转录表达水平及酶活,进行比较鉴定,并分析 F3'5'H 基因序列。F3'5'H 和 F3'H 决定飞燕草素和矢车菊素的分支流(戴思兰和洪艳,2016),在瓜叶菊中 F3'5'H

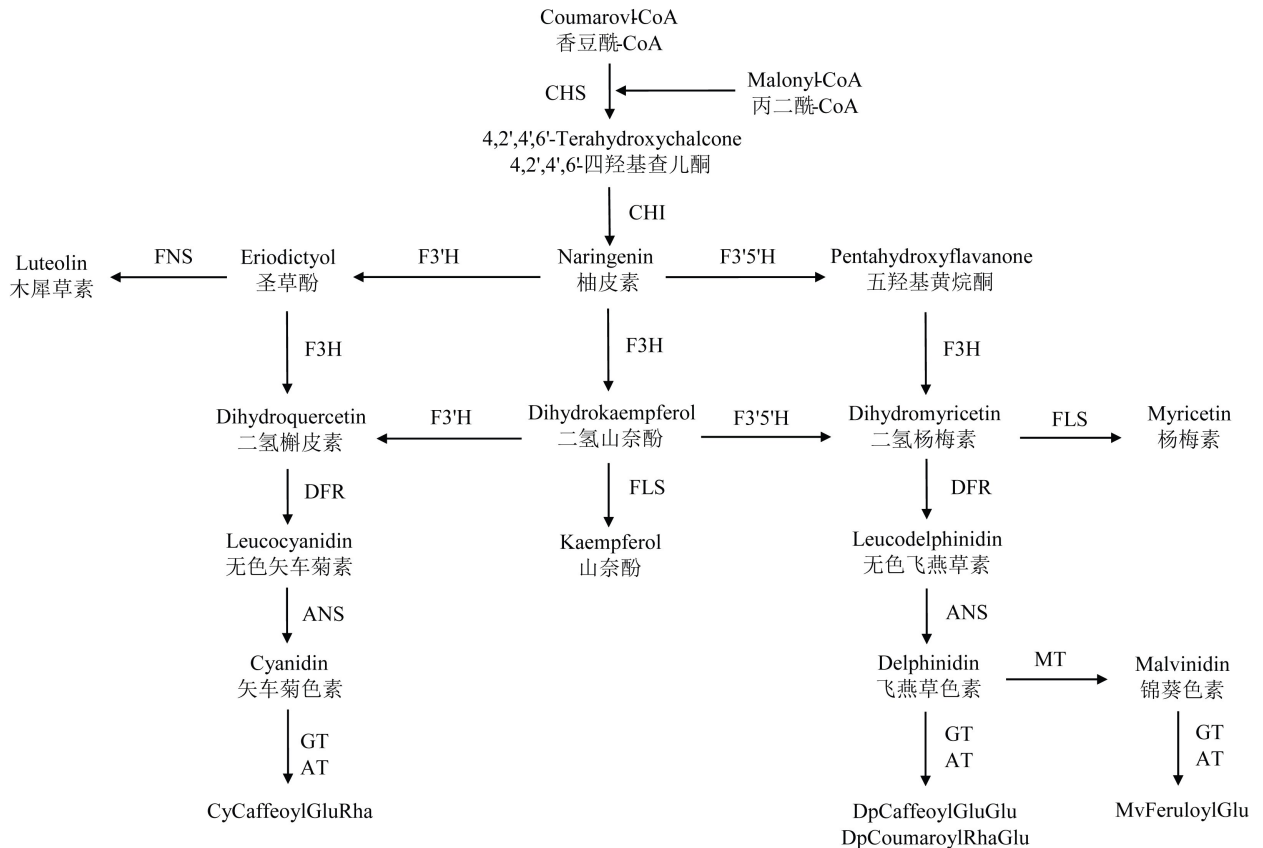


图 4 蓝亚麻花瓣中推定的类黄酮代谢途径

Fig. 4 Tentative biosynthesis pathway of flavonoid in *Linum perenne* petals

与 $F3'H$ 表达量的比率决定了 DHK 处的代谢流走向 (Jin et al, 2016), 在枸杞中, $F3'H$ 和 $F3'5'H$ 的酶活特性决定产生矢车菊素或飞燕草素代谢流 (Zeng et al, 2014)。

在蓝亚麻花瓣中我们并未检测到天竺葵素苷 (表 4)。这可能因为 $F3'H$ 、FLS 和 $F3'5'H$ 活性高于 DFR, 且其 DFR 可能具有底物特异性, 所以二氢山奈酚 (DHK) 没有进一步被 DFR 催化生成无色天竺葵素, 也就不能生成天竺葵素苷。前人研究认为抑制 $F3'5'H$ 和/或 $F3'H$ 基因的表达可改变花青素的分支途径合成天竺葵素 (Tanaka & Brugliera, 2013)。在烟草 (Forkjran & Ruhnau, 1987)、大花蕙兰、大花牵牛等植物中由于 DFR 具有底物特异性, 不能有效还原 DHK, 导致天竺葵素的缺乏 (Johnson et al, 1999; Leonard et al, 2008)。另外, 阻断花青素的积累会增强黄酮和黄酮醇的

代谢流, 反过来阻断黄酮和黄酮醇的合成, 将会促进花青素苷的积累, 如通过下调黄酮醇合成酶 (FLS) 的表达, 阻断黄酮醇的合成, 增加了花青素苷合成代谢流 (Davies et al, 2003), 而干扰黄酮合成酶 (FNS), 阻断黄酮的合成, 促使大量花青素苷的积累, 如大丽花 (Deguchi et al, 2013; Deguchi et al, 2015)。

综上所述, 在蓝亚麻花瓣中不同花青素苷分支途径、黄酮和黄酮醇合成途径之间存在竞争关系。其中, 之所以大量积累 $F3'5'H$ 所诱导的分支产物, 可能是因为 $F3'5'H$ 的酶活远高于 $F3'H$, 故蓝亚麻 $F3'5'H$ 可能是培育蓝色花的有效基因资源。本研究在蓝亚麻花瓣中所检测到的花青素苷均酰基化修饰, 故认为蓝亚麻是挖掘酰基修饰基因的有效种质资源。这些结果将为进一步解析蓝亚麻呈色机理提供依据, 为花色研究提供方法。

致谢 感谢昆明理工大学建筑与城市规划学院的本科生:顾希婧、夏俊红、王阿娟、李瑞林和母其杰5位同学在本研究实验材料处理中给予的帮助。

参考文献:

- BEATRIZ AG, BERRUETA LA, SERGIO GL, et al, 2009. 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]. *J Chromatogr A*, 1216(28):5398-5415.
- CUYCKENS F, CLAEYS M, 2004. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids [J]. *J Mass Spectrom*, 39(1):1-15.
- DAVIES KM, SCHWINN KE, DEROLES SC, et al, 2003. Enhancing anthocyanin production by altering competition for substrate between flavonol synthase and dihydroflavonol 4-reductase [J]. *Euphytica*, 131(3):259-268.
- DERIKE E, OUT P, NIESSEN WM, et al, 2006. Analytical separation and detection methods for flavonoids [J]. *J Chromatogr A*, 1112(1-2):31-63.
- DEGUCHI A, OHNP S, HOSOKAWA M, et al, 2013. Endogenous post-transcriptional gene silencing of flavone synthase resulting in high accumulation of anthocyanins in black dahlia cultivars [J]. *Planta*, 237(5):1325-35.
- DEGUCHI A, TATSUZAWA F, HOSOKAWA M, et al, 2015. Tobacco streak virus (*Strain dahlia*) suppresses post-transcriptional gene silencing of flavone synthase II in black dahlia cultivars and causes a drastic flower color change. [J]. *Planta*, 242(3):663-675.
- DAI SL, HONG Y, 2016. Molecular breeding for flower colors modification on ornamental plants based on the mechanism of anthocyanins biosynthesis and coloration [J]. *Sci Agric Sin*, 49(3):529-542. [戴思兰, 洪艳, 2016. 基于花青素苷合成和呈色机理的观赏植物花色改良分子育种 [J]. *中国农业科学*, 49(3):529-542.]
- FORKMANN G, RUHNAU B, 1987. Distinct substrate specificity of dihydroflavonol 4-reductase from flowers of *petunia hybrida* [J]. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 42(9-10):1146-1148.
- HONDA T, SAITO N, 2002. Recent progress in the chemistry of polyacylated anthocyanins as flower colour pigment [J]. *Heterocycles*, 56(1-2):633-692.
- HSU Y H, TAGAMI T, MATSUNAGA K, et al, 2016. Functional characterization of UDP-rhamnose-dependent rhamnosyltransferase involved in anthocyanin modification, a key enzyme determining blue coloration in *Lobelia erinus* [J]. *Plant J Cell Mol Biol*, 89(2):325-337.
- JOHNSON E, YI H, SHIN B, et al, 1999. Cymbidium hybrid-adihydroflavonol 4-reductase does not efficiently reduce dihydrokaempferol to produce orange pelargonidin-type anthocyanins [J]. *Plant J*, 19(1):81-85.
- JIA N, SHU QY, WANG LS, et al, 2008. Analysis of petal anthocyanins to investigate coloration mechanism in herbaceous peony cultivars [J]. *Sci Hort-Amsterdam*, 117(2):167-173.
- JIN XH, HUANG HE, WANG LU, et al, 2016. Transcriptomics and metabolite analysis reveals the molecular mechanism of anthocyanin biosynthesis branch pathway in different *Senecio-cruentus* cultivars [J]. *Front Plant Sci*, 7(1307):1-14.
- LUO J, NISHIYAMA Y, TAGUCHI G, et al, 2007. Convergent evolution in the BAHD family of acyl transferases; identification and characterization of anthocyanin acyl transferases from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 50(4):678-695.
- LEONARD E, YAN Y, CHEMLER J, et al, 2008. Characterization of dihydroflavonol 4-reductases for recombinant plant pigment biosynthesis applications [J]. *Biocatalys Biotrans*, 26(3):243-251.
- LI CH, WANG LS, SHU QY, et al, 2008. Pigments composition of petals and floral color change during the blooming period in *Rhododendron mucronulatum* [J]. *Acta Horti Sin*, 35(7):1023-1030. [李崇晖, 王亮生, 舒庆艳, 等, 2008. 迎红杜鹃花色色素组成及花色在开花过程中的变化 [J]. *园艺学报*, 35(7):1023-1030.]
- LOU Q, LIU Y, QI Y, et al, 2014. Transcriptome sequencing and metabolite analysis reveals the role of delphinidin metabolism in flower colour in grape hyacinth [J]. *J Exp Bot*, 65:3157-3164.
- MORI M, MIKI N, ITO D, et al, 2014. Structure of tecophilin, a tri-caffeoylanthocyanin from the blue petals of *Tecophilaea cyanocrocus*, and the mechanism of blue color development [J]. *Tetrahedron*, 70(45):8657-8664.
- STOBIECKIM, 2000. Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides [J]. *Phytochemistry*, 54(3):237-256.
- SAITO N, TOKI K, MORIYAMA H, et al, 2002. Acylated anthocyanins from the blue-violet flowers of *Anemone coronaria* [J]. *Phytochemistry*, 60(4):365-373.
- SUN HJ, WANG JB, WU LX, 2009. *Linum perenne* introduction cultivation and application [J]. *Yuan Lin Ke Ji*, 112(2):13-14. [孙慧杰, 王景波, 吴立侠. 2009. 蓝亚麻引种栽培及应用 [J]. *园林科技*, 112(2):13-14.]
- SASAKI N, NAKAYAMA T, 2015. Achievements and perspectives in biochemistry concerning anthocyanin modification for blue flower coloration [J]. *Plant Cell Physiol*, 56(1):28-40.
- TANAKA Y, SASAKI N, OHMIYA A, 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids [J]. *Plant J*, 54(4):733-7499.
- TANK Y, BRUGLIERA F, 2013. Flower colour and cytochromes P450 [J]. *Phytochem Rev*, 368(2):1-14.

- UDDIN AFMJ, HASHIMOTO F, SHINICHI NISHIMOTO SI, et al, 2002. Flower growth, coloration and petal pigmentation in four lisianthus cultivars [J]. J Kans Entomol Soc, 71 (1):40-47.
- WU Q, WU J, LI SS, et al, 2016. Transcriptome sequencing and metabolite analysis for revealing the blue flower formation in waterlily [J]. BMC Genomics, 17(1):897.
- YOSHITAMA K, 1981, Caffeic acid 4- β -glucoside as the acyl moiety of the *Seneciocruentus anthocyanin* [J]. Phytochemistry, 20(1): 186-187.
- YASUDA QI, 1989. Physiology and biochemistry of flower pigment [M]. FU YL, Trans. Beijing: China Forestry Publishing House: 9-15. [安田奇, 1989. 花色的生理生物化学 [M]. 傅玉兰, 译. 北京:中国林业出版社: 9-15.]
- YE JQ, 2007. International popular flower series combination of potted flower series linumperne [J]. Gaden, (6):25. [叶剑秋, 2007, 国际流行花卉系列组合盆栽花材系列蓝亚麻 [J]. 园林, (6):25.]
- ZHANG ML, HU YH, QIN J, 2006. Analysis on noise reduction effect of urban plant community [J]. J Plant Res Environ, 15(2):25-28. [张明丽, 胡永红, 秦俊, 2006. 城市植物群落的减噪效果分析 [J]. 植物资源与环境学报, 15(2):25-28.]
- ZHANG JL, PAN DR, ZHOU YF, et al, 2009. Cloning and expression of genes involved in anthocyanins synthesis in ornamental sunflower [J]. Acta Hort Sin, 36(1):73-80. [张剑亮, 潘大仁, 周以飞, 等, 2009. 观赏向日葵花青素苷合成途径同源基因的克隆与表达 [J]. 园艺学报, 36(1):73-80.]
- ZHU ML, WANG LS, ZHANG HJ, et al, 2012. Relationship between the composition of anthocyanins and flower color variation in hardy water lily (*Nymphaea* spp.) cultivars [J]. Bull Bot, 47(5):437-453. [朱满兰, 王亮生, 张会金, 等, 2012. 耐寒睡莲花瓣中花青素苷组成及其与花色的关系 [J]. 植物学报, 47(5):437-453.]
- ZENG S, WU M, ZOU C, et al, 2014. Comparative analysis of anthocyanin biosynthesis during fruit development in two *Lycium* species [J]. Physiol Plant, 150(4):505-516.
- ZHANG L, XU ZD, TANG TF, et al, 2015. Analysis of anthocyanins related compounds and their biosynthesis pathways in *Rosa rugosa* 'Zizhi' at blooming stages [J]. Sci Agric Sin, 48(13): 2600-2611. [张玲, 徐宗大, 汤腾飞, 等, 2015. '紫枝'玫瑰(*Rosa rugosa* 'Zizhi')开花过程花青素相关化合物及代谢途径分析 [J]. 中国农业科学, 48(13): 2600-2611.]