

蜡梅花色色素种类的初步分析

周明芹^{1,2} 陈龙清^{2* * *}

1. 长江大学园艺园林学院, 荆州 434023; 2. 华中农业大学园艺园林学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070

摘要 通过颜色反应和紫外-可见光谱初步研究了 15 种颜色表现有代表性的蜡梅中、内被片的色素组成, 并将颜色反应结果进行数量转化, 采用类平均的方法进行 Q 型聚类分析。结果表明: 蜡梅花色色素主要属黄酮类化合物, 包括橙酮、查耳酮、二氢黄酮、二氢黄酮醇等; 乔种和红心类蜡梅的内被片还含有花色素及其苷类。15 个样品按照内被片有紫纹(乔种)、满布紫纹(红心), 中被片白黄色、金黄色及其它被聚成了 5 类, 这与实际颜色的表现基本一致。

关键词 蜡梅; 花色色素; 颜色反应; 数量分类; 聚类分析

中图法分类号 S 685.171 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)01-0107-04

蜡梅 [*Chimonanthus praecox* (L.) Link.] 又名腊梅、寒梅、黄梅, 系蜡梅科蜡梅属植物, 是我国特有的传统香花树种, 有着悠久的栽培历史和丰富的文化内涵。它不仅是重要的冬季观花灌木, 而且是宝贵的药用植物, 还是制作盆景和鲜切花以及提取香精的材料, 应用十分广泛。

近年来, 学者们对蜡梅进行了广泛的研究, 但是, 关于蜡梅花色色素的研究报道很少。蜡梅的花瓣与花萼不分化, 中轮花被片为黄色系, 有杏黄色、金黄色、土黄色、黄绿色和白黄色 5 类, 且杏黄色为蜡梅的正宗色彩, 内被片根据紫斑纹的多少分为素心(内轮花被片呈黄色)、乔种(内轮花被片在黄色底板上具有红色或紫色条纹)、红心 3 种(内轮花被片呈红色或紫红色)^[1]。

笔者选取 10 个在中被片或内被片颜色表现上具有明显差异的单株, 分别提取中、内被片的花色素, 通过色素的紫外-可见光谱分析和特征颜色反应, 初步确定蜡梅的花色色素种类, 以期研究蜡梅的花色机理及花色育种提供参考。

材料与方法

试验材料

根据 1990 年冯菊恩^[1]提出的对蜡梅按花的中、内被片颜色的分类标准, 从华中农业大学校园内选取 10 个在中被片或内被片颜色表现上具有明显差异的

单株, 采集处于盛开状态的花朵, 迅速剥离其花被片, 且中被片和内被片分开取样, 总共选取 15 个样。考虑到素心类蜡梅中、内被片的颜色完全一致, 取样时只取了中被片(表 1), 最后将样品于 - 80 保存。

试验方法

1) 色素的提取。参照 Lee 等^[2]以及金波和东惠茹^[3]的方法并略有改动, 取剥离的花被片 1.0 g, 于液氮中迅速研磨成粉末, 加入 40 mL 1% 盐酸甲醇 4 下避光提取 2 h, 然后将提取液立即转入 10 mL 离心管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃沉淀, 取上清液, 并将上清液于 - 20 保存以待进行特征颜色反应及紫外-可见光光度计的扫描分析。

2) 色素的石油醚、盐酸和氨水测试。各取 0.5 g 花被片, 于液氮中迅速研磨成粉末, 然后转入 10 mL 离心管中, 分别加入 7 mL 的石油醚、10% 盐酸以及 30% 氨水, 混匀, 室温静置 30 min 后, 4 000 r/min 离心 10 min^[4]。观察上清液的颜色并拍照。

3) 色素的紫外-可见光谱扫描。以 1% 盐酸甲醇为空白, 利用紫外-可见光光度计进行扫描, 测定花色色素在 200 ~ 600 nm 范围内的最大吸收波长^[3-5]。

4) 色素化学成分的特征颜色反应。取适量 1% 盐酸甲醇的色素提取液, 分别与浓盐酸-镁粉、浓盐酸-锌粉、醋酸镁、硼酸、碳酸钠、氯化铝、浓硫酸、氯化铁、醋酸铅以及氯化锶的氨饱和的甲醇溶液反应^[6-8]。

收稿日期: 2009-03-20; 修回日期: 2009-07-18

* 国家自然科学基金项目(30571310)资助

* * 通讯作者。E-mail: chenlq0206@163.com

周明芹, 女, 1978 年生, 博士, 讲师。研究方向: 园林植物种质资源的利用及分子生物学。E-mail: zhouchmqzds@126.com

表 1 试验材料

Table 1 The characters of the samples included in this study were listed

样品编号 ¹⁾ Code of samples	中被片的颜色 Color of medium tepals	内被片的颜色 Color of inner tepals	取样部位 Sampling parts
2中 2 _M	杏黄色 Apricot	杏黄色 Apricot	中被片 Medium tepals
7中 7 _M	金黄色 Golden	金黄色 Golden	中被片 Medium tepals
13中 13 _M	金黄色 Golden	金黄色 Golden	中被片 Medium tepals
29中、29内 29 _M 、29 _I	土黄色 Khaki	红心(紫红色) Sprinkled with mauve blotches	中被片、内被片分开取样 Samples from both medium tepals and inner tepals
37中、37内 37 _M 、37 _I	黄绿色 Yellow green	乔种 Sprinkled with a few red blotches	中被片、内被片分开取样 Samples from both medium tepals and inner tepals
38中、38内 38 _M 、38 _I	黄绿色 Yellow green	乔种 Sprinkled with a few red blotches	中被片、内被片分开取样 Samples from both medium tepals and inner tepals
83中、83内 83 _M 、83 _I	白黄色 White yellow	红心(红色) Sprinkled with red blotches	中被片、内被片分开取样 Samples from both medium tepals and inner tepals
92中 92 _M	白黄色 White yellow	乔种 Sprinkled with a few red blotches	中被片 Medium tepals
98中 98 _M	白黄色 White yellow	乔种 Sprinkled with a few red blotches	中被片 Medium tepals
102中、102内 102 _M 、102 _I	土黄色 Khaki	红心(红色) Sprinkled with red blotches	中被片、内被片分开取样 Samples from both medium tepals and inner tepals

1) M:中被片 Medium tepals; I:内被片 Inner tepals; 下同 The same as below.

5) 特征颜色反应结果处理。将所选取的 15 个样品的颜色反应的结果进行数量化转换(表 2), 并采用 SAS 数据分析软件进行 Q 型聚类分析。具体如下: (1) 石油醚反应: 微黄 1, 浅黄 2, 黄 3, 无色 4; (2) 盐酸反应: 浅黄 1, 黄 2, 黄绿 3, 浅粉 4, 粉红 5, 红 6; (3) 氨水反应: 黄 1, 橙黄 2, 棕红 3, 紫褐色 4, 黑紫色 5; (4) 浓盐酸-镁粉反应: 浅粉 1, 粉红 2, 红 3; (5) 浓盐酸-锌粉反应: 微黄 1, 微红 2, 浅粉 3, 浅红 4; (6) 醋酸镁反应: 浅黄 1, 浅粉 2, 粉红 3, 红 4; (7) 硼酸反应: 黄 1, 浅粉 2, 粉红 3, 红 4; (8) 碳酸钠反应: 黄 1, 黄褐色 2, 褐色 3; (9) 浓硫酸反应: 棕红色 1, 红棕色 2; (10) 氯化铝反应: 黄绿 1, 橙黄 2, 橙红 3, 红 4; (11) 氯化铁反应: 浅绿 1, 绿 2, 黄绿 3, 墨绿 4; (12) 氯化锶的氨饱和的甲醇溶液反应: 橙黄色沉淀 1, 棕色沉淀 2, 黑色沉淀 3。

结果与分析

色素的石油醚、盐酸和氨水测试

在石油醚测试中,所有的内被片都呈无色,中被片为不同程度的黄色。在 10% 盐酸测试中,内被片呈红色系、红或粉红;除了 92 号的中被片呈浅粉色外,其余的中被片为黄色或黄绿色。在 30% 氨水测试中,内被片呈现的颜色比较深,为黑紫色或紫褐色;2 号、7 号和 13 号的中被片呈紫褐色,而 83 号中被片的颜色最淡,呈黄色,其余的中被片为橙黄色或棕红色(表 2)。3 种测试的结果表明:蜡梅的花色素属于黄酮类化合物,并且含有橙酮或/和查耳酮,

内被片还含有花色素及其苷类。

色素的紫外-可见光谱特征

所有样品的 1% 盐酸甲醇溶液在 220 ~ 400 nm 范围内均有多个吸收峰,仅有内被片的 1% 盐酸甲醇溶液在 500.00 nm 以上还有吸收峰。29 号样品的内被片颜色为紫红色(表 1),其在可见光区 541.50 nm、502.50 nm、499.00 nm 处,都出现峰值;83 号和 102 号的内被片的颜色相近,为红色(表 1),在可见光区,二者均只有 1 个吸收峰,分别是 531.00 nm、530.00 nm。37 号与 38 号的内被片颜色相近,为乔种,均只在可见光区的 530.00 nm 处有吸收峰。根据黄酮类化合物的紫外-可见光谱的带 I 和带 II 范围^[7],不论是蜡梅的中被片还是内被片,一定含有橙酮或/和查耳酮、二氢黄酮或/和二氢黄酮醇。内被片(包括乔种和红心)中一定含有花色素及其苷类;内被片的红色程度不一样,对应的花色素苷的种类和含量也不一样,颜色越深,含量越高,种类越多。

色素的特征颜色反应

所有的中被片与氯化铝反应均呈黄绿色,与醋酸镁及硼酸反应均呈浅黄色;而内被片与氯化铝反应表现出由橙黄色到红色的颜色变化,与醋酸镁及硼酸反应呈粉色或红色(表 2)。这再次证实蜡梅花色素属于黄酮类,内被片的色素中含有花色素及其苷类,且其色素成分中一定含有 C₅-OH 黄酮类或/和 C₂-OH 查耳酮类。

在与浓硫酸反应时,除了 29 号的内被片为红棕

色外,其余的样品均呈棕红色(表 2),表明蜡梅的中、内被片的花色色素成分中均含有二氢黄酮类或/和查耳酮或/和橙酮,所表现的红棕色或棕红色,可能是由二氢黄酮类产生的橙-橙红色与查耳酮或橙酮产生的红色混合所致。此外,所有的样品均能与

金属(镁粉、锌粉),碳酸钠、氯化铁、醋酸铅的水溶液,以及氯化锶的氨饱和的甲醇溶液反应发生相应的颜色反应(表 2),表明蜡梅花被片的色素成分中一定含有黄酮醇或/和二氢黄酮醇或/和二者的C₃-O-糖甙^[6-8]。

表 2 蜡梅花色色素的特征颜色反应¹⁾

Table 2 Color reactions of the flower color pigments of the inner and medium tepals of *C. praecox*

化学反应 Reactions	2中	7中	13中	29中	29内	37中	37内	38中	38内	83中	83内	92中	98中	102中	102内
石油醚 Petroleum ether	浅黄 LY	黄 Y	黄 Y	微黄 YI	无色 CL	浅黄 LY	无色 YI	浅黄 LY	无色 CL	微黄 YI	无色 CL	微黄 YI	浅黄 LY	浅黄 LY	无色 CL
盐酸 Hydrochloric acid	黄绿 YG	浅黄 LY	浅黄 LY	黄绿 YG	红 R	黄绿 YG	粉红 P	黄绿 YG	浅粉 LP	浅黄 LY	粉红 P	浅粉 LP	黄 Y	黄 Y	粉红 P
氨水 Ammonia water	紫褐 PB	紫褐 PB	紫褐 PB	棕红 BR	黑紫 DR	棕红 BR	紫褐 PB	橙黄 OY	紫褐 PB	黄 Y	黑紫 DR	橙黄 OY	橙黄 OY	紫褐 PB	黑紫 DR
浓盐酸-镁粉 Concentrated HCl-Mg	红 R	粉红 P	粉红 P	红 R	红 R	红 R	粉红 P	红 R	粉红 P	浅粉 LP	粉红 P	粉红 P	粉红 P	红 R	粉红 P
浓盐酸-锌粉 Concentrated HCl-Zn	浅红 LR	微红 RI	浅粉 LP	微红 RI	浅粉 LP	浅红 LR	浅粉 LP	浅红 LR	浅粉 LP	微黄 YI	微红 RI	微红 RI	微红 RI	浅红 LR	浅红 LR
醋酸镁 Magnesium acetate	浅黄 LY	浅黄 LY	浅黄 LY	浅黄 LY	红 R	浅黄 LY	浅粉 LP	浅黄 LY	浅粉 LP	浅黄 LY	粉红 P	浅黄 LY	浅黄 LY	浅黄 LY	粉红 P
硼酸 Boric acid	黄 Y	黄 Y	黄 Y	黄 Y	红 R	黄 Y	浅粉 LP	黄 Y	浅粉 LP	黄 Y	粉红 P	黄 Y	黄 Y	黄 Y	黄 Y
碳酸钠 Sodium carbonate	黄褐 YB	黄褐 YB	黄褐 YB	黄褐 YB	褐 B	黄褐 YB	褐 B	黄褐 YB	黄褐 YB	黄 Y	褐 B	黄 Y	黄 Y	黄褐 YB	褐 B
浓硫酸 Concentrated sulfuric acid	棕红 BR	棕红 BR	棕红 BR	棕红 BR	红棕 RB	棕红 BR									
氯化铝 Aluminium chloride	黄绿 YG	黄绿 YG	黄绿 YG	黄绿 YG	红 R	黄绿 YG	橙黄 OY	黄绿 YG	橙黄 OY	黄绿 YG	橙红 OY	黄绿 YG	黄绿 YG	黄绿 YG	橙红 OR
氯化铁 Ferric chloride	墨绿 DG	绿 G	绿 G	墨绿 DG	墨绿 DG	墨绿 DG	浅绿 LG	墨绿 DG	浅绿 LG	黄绿 YG	黄绿 YG	黄绿 YG	黄绿 YG	黄绿 YG	绿 G
醋酸铅 Lead acetate	白色 WP														
氯化锶 Strontium chloride	棕色 BP	棕色 BP	棕色 BP	棕色 BP	黑色 PP	棕色 BP	棕色 BP	橙黄 OP	棕色 BP	棕色 BP	黑色 PP	橙黄 OP	橙黄 OP	棕色 BP	黑色 PP

1) 表示沉淀 Stands for precipitates; B:褐色 Brown; BR:棕红色 Brown red; CL:无色 Colourless; DR:黑紫色 Dark brown; DG:墨绿色 Dark green; G:绿色 Green; LG:浅绿色 Light green; LP:浅粉红色 Light pink; LR:浅红色 Light red; LY:浅黄色 Light yellow; OR:橙红色 Orange red; OY:橙黄色 Orange yellow; R:红色 Red; RB:红棕色 Red brown; RI:微红色 Reddish; P:粉红色 Pink; PB:紫褐色 Purple brown; Y:黄色 Yellow; YB:黄褐色 Yellow brown; YG:黄绿色 Yellow green; YI:微黄色 Yellowish; BP:棕色沉淀 Brown precipitate; WP:白色沉淀 White precipitate; PP:黑色沉淀 Black precipitate; OP:橙黄色沉淀 Orange yellow precipitate.

色素颜色反应结果的数量分类特征

图 1 中,以 L1 为分界线,15 个样明显地聚为两大类,即中被片和内被片各自聚成 1 类。L2 分界线将 15 个样分成了 5 类,即内被片 2 类,中被片 3 类,表明中、内被片的色素成分有很大的差别。其中 2 号、29 号、37 号、38 号和 102 号的中被片聚成 1 类,肉眼观察发现,颜色分别为黄(2 号)、土黄(29 号、102 号)、黄绿(37 号、38 号),它们所含的色素成分基本相同;7 号和 13 号的中被片聚为 1 类,其颜色为金黄色;83 号、92 号及 98 号的中被片聚为 1 类,其呈白黄色。37 号和 38 号属于乔种类,其内被片单独聚为 1 类;29 号、83 号和 102 号属于红心类,其

内被片聚成另一类,这再次表明红心类蜡梅内被片含有的色素种类与乔种类蜡梅内被片含有的色素种类间存在着差异。

讨论

花色是决定观赏植物观赏价值的重要因素之一。蜡梅是中国传统名花,大多数蜡梅品种的中、内被片颜色均为黄色系列;少数品种中被片呈黄色,内被片则为红色或紫红色,因此,总的来说,蜡梅的花色过于单一。培育其它颜色的品种一直是生产者与研究者追求的目标。然而,由于蜡梅自身的特性,不论是利用传统的杂交育种、自然选择育种,还是利用

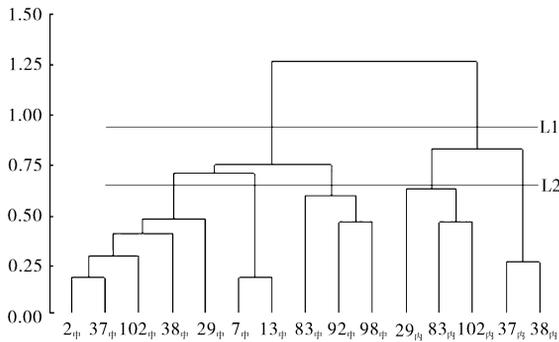


图 1 色素颜色反应结果类平均法的 Q 型聚类分析树系图

Fig. 1 Dendrogram of Q cluster analysis from color reactions of the flower color pigments using UPGMA

辐射诱变育种,甚至是借助基因工程的手段和技术,都存在一些困难,难以实现对蜡梅花色的改良。

本研究选取 10 个在中被片或内被片颜色表现上具有明显差异的单株,分别提取中被片、内被片的花色素,进行了色素的紫外-可见光谱分析和特征颜色反应。其结果表明:蜡梅花色的色素成分比较丰富,但主要是黄酮类,而且含有橙酮或/和查耳酮、二氢黄酮或/和二氢黄酮醇,内被片还含有花色素及其苷类。根据颜色反应的 Q 型聚类图(图 1),本研究所选取的在颜色上具有代表性的 15 个样按照内被片有紫纹(乔种)、满布紫纹(红心),中被片的白黄色、金黄色及其它,被划分成了 5 类,这与实际颜色的表现性状基本一致。本研究还发现,37 号、38 号、

92 号和 98 号的中被片均被检测到在可见光区 518.50 nm 处有特征吸收峰(37 号中被片为 519.50 nm),37 号和 38 号的中被片颜色均为黄绿色,92 号和 98 号的中被片颜色均为白黄色,而这 2 种颜色均为蜡梅品种中比较珍稀的色彩,将来可应用柱层析或高效液相色谱等方法分离并收集该波峰的色素,借助红外光谱、核磁共振、质谱等先进技术进一步对其进行结构分析,最终确定该色素的种类,从而与其表型性状相比较。

参 考 文 献

- [1] 冯菊恩. 蜡梅 [C]// 梅花与蜡梅. 北京: 中国梅花蜡梅协会, 1990: 79-89.
- [2] LEE H S, WICKER L. Anthocyanin pigments in the skin of lychee fruit [J]. Journal of Food Science, 1991, 56(2): 466-483.
- [3] 金波, 东惠茹. 一品红花色的探讨 [J]. 园艺学报, 1994, 21(1): 87-90.
- [4] 赵昶灵, 郭维明, 陈俊愉. 梅花花色色素种类和含量的初步研究 [J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(2): 68-73.
- [5] 庞学群, 张昭其, 段学武, 等. pH 值和温度对荔枝果皮花色素苷稳定性的影响 [J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 25-30.
- [6] 安银岭. 植物化学 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1996: 178-188.
- [7] 高锦明. 植物化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 167-177.
- [8] 孙中武. 植物化学 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2001: 96-98.

Preliminary Analysis of the Flower Pigments of *Chimonanthus praecox*

ZHOU Ming-Qin^{1,2} CHEN Long-Qing¹

1. College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou 434023, China;

2. Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education/ College of Horticulture and Forestry Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract 15 samples from the inner and medium tepals of *Chimonanthus praecox* were selected for their representative phenotype in color to study the flower pigments. With the analysis of several color reactions and UV-visible spectra (200 ~ 600 nm), results were as follows: the main flower color pigments are attributed to flavonoids, including aurones, chalcones, flavonols and flavanones. Furthermore, anthocyanins and their anthocyanidins were contained in the red inner tepals or the ones with red speckles. In addition, the Q cluster analysis with average method based on the color reactions separated the 15 samples into 5 groups, consistent with the phenotypic color.

Key words *Chimonanthus praecox*; flower pigments; color reactions; numerical classification; cluster analysis

(责任编辑: 陆文昌)