

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2022.004.006

杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代 花青苷变异特征

杨美英^{1,2}, 李建宾¹, 张莹², 李辛雷^{2*}, 刘信凯³, 钟乃盛³, 黎艳玲³

(1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 3. 广州棕科园艺开发有限公司, 广东 广州 511316)

摘要: [目的] 研究杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其杂交后代花瓣中花青苷成分与含量,揭示其主要花青苷成分与含量的变异特征,为高花青苷含量山茶花新品种选育及其开发利用提供科学依据。[方法] 应用高效液相色谱-光电二极管阵列检测 (HPLC-DAD) 和超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术 (UPLC-Q-TOF-MS) 定性定量分析杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其 35 个杂交后代花瓣中花青苷成分与含量。[结果] 杜鹃红山茶及其杂交后代花瓣中共检测到 14 种花青苷,其中含量较高的主要花青苷有 8 种,包括矢车菊素-3-O-(2-O-β-木糖基)-β-半乳糖苷 (Cy3GaX)、矢车菊素-3-O-β-半乳糖苷 (Cy3Ga)、矢车菊素-3-O-(2-O-β-木糖基)-β-葡萄糖苷 (Cy3GX)、矢车菊素-3-O-β-葡萄糖苷 (Cy3G)、矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-p-香豆酰]-β-半乳糖苷 (Cy3GaEpC)、矢车菊素-3-O-[2-O-β-木糖基-6-O-(E)-p-香豆酰]-β-半乳糖苷 (Cy3GaEpCX)、矢车菊素-3-O-[2-O-β-木糖基-6-O-(E)-p-香豆酰]-β-葡萄糖苷 (Cy3GEpCX) 和矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-p-香豆酰]-β-葡萄糖苷 (Cy3GEpC)。杜鹃红山茶主要花青苷总量高于山茶‘媚丽’,杂交后代花青苷总量存在较大的变异;杂交后代中 Cy3GX、Cy3GaX 含量均低于杜鹃红山茶, Cy3GEpCX、Cy3GaEpCX 含量总体上高于杜鹃红山茶, Cy3G、Cy3Ga、Cy3GEpC 和 Cy3GaEpC 含量基本上介于双亲之间。[结论] 杜鹃红山茶及其杂交后代中含 2-O-β-木糖基的花青苷含量高于相应不含 2-O-β-木糖基的花青苷,含葡萄糖苷的花青苷高于相应含半乳糖苷的花青苷。杜鹃红山茶主要花青苷为 Cy3GX 和 Cy3GaX, 山茶‘媚丽’为 Cy3GEpC 和 Cy3G, 杂交后代主要为 Cy3GX 和 Cy3GEpCX, 其次为 Cy3G 和 Cy3GEpC; 杂交后代中含 2-O-β-木糖基的花青苷来源于杜鹃红山茶,其所占比例高于相应不含 2-O-β-木糖基的花青苷,表明含 2-O-β-木糖基的花青苷具有较强的遗传能力。

关键词: 杜鹃红山茶; 杂交; 花青苷; 变异; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱

中图分类号: S718.43

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2022)04-0054-09

山茶花 (Camellias) 是我国传统名花, 花色为其重要观赏性状^[1]。花青苷为山茶花花色形成的物质基础, 总花青苷及主要花青苷含量决定其花色^[2-4]。研究还表明, 花青苷具有抑制肿瘤^[5-6]、降血糖^[7] 和抗氧化^[8-9] 等作用, 可用于医药、保健和化妆等产品的开发。Li 等^[10-11] 利用核磁共振、质谱和紫外可见光谱等技术研究了山茶花花青苷, 分别在滇山茶 (*Camellia reticulata* Lindl.) 中鉴定

出 5 种含 2-O-β-木糖基及其相应不含 2-O-β-木糖基的花青苷, 滇山茶园品种‘大理茶’中鉴定出 10 种含 2-O-β-木糖基花青苷。李辛雷等^[2,4] 应用高效液相色谱-光电二极管阵列检测和超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术, 从山茶 (*C. japonica* L.) 不同花色品种中鉴定了出 7 种花青苷, 且其花色随总花青苷及主要花青苷含量增加而加深。

杜鹃红山茶 (*C. azalea* Wei) 四季开花, 是

收稿日期: 2021-11-26 修回日期: 2022-01-24

基金项目: 浙江省基础公益研究计划 (LGN20C160006); 国家重点研发计划 (2020YFD1000500)

* 通讯作者: 李辛雷, 副研究员, 研究方向: 观赏植物遗传育种与应用。E-mail: lixinlei2020@163.com

培育四季茶花的优良亲本^[12],广州棕科园艺开发有限公司通过杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交,已培育出新品种50余个^[13]。已有杜鹃红山茶研究主要集中于种群结构^[14]、生理特性^[15]、生物学特性^[16]和繁殖^[17-18]等方面,李辛雷等^[19]对其色素成分进行了初步研究,但其花青苷从亲本到杂交后代的变异特征尚不清楚。鉴于此,本试验应用高效液相色谱-光电二极管阵列检测(HPLC-DAD)和超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术(UPLC-Q-TOF-MS),对杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其杂交后代花青苷成分与含量进行研究,明确其花青苷变异特征,以期为高花青苷含量山茶花新品种选育提供科学依据,进一步为其花青苷功能产品的开发利用提供物质基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其35个杂交F₁代。杜鹃红山茶和山茶‘媚丽’分别标记为D和M,以山茶‘媚丽’为母本,杜鹃红山茶为父本的27个杂交后代标记为MD系列,以杜鹃红山茶为母本,山茶‘媚丽’为父本的8个杂交后代标记为DM系列。杜鹃红山茶花色为鲜红色,单瓣型,山茶‘媚丽’花色为玫瑰红色,花瓣边缘带有白边,半重瓣型至牡丹型。杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代花色深红至浅红不等,花型有单瓣型、半重瓣型和托桂型等(图1)。所有材料采自广州棕科园艺开发有限公司。选取生长环境相同,长势一致的植株5株,对盛开期的花朵进行随机采样,每个植株采3朵,装入密封袋后置于有保鲜冰袋的保鲜箱中保存。样品带回实验室后,-80℃冰箱中保存。

1.2 试验方法

1.2.1 花青苷定性分析 使用液氮研磨花瓣,称取2g倒入试管中,加入5mL提取液(三氟醋酸:

甲酸:水:甲醇,体积比1:2:27:70),摇匀,封口膜封口,常温下浸提24h。浸提结束后,经脱脂棉和0.22μm的滤膜依次过滤,滤液倒入2mL棕色进样瓶中密封保存,最后置于-20℃冰箱中备用^[20-21]。

应用Waters(Waters Alliance 2695, USA)的高效液相色谱-光电二极管阵列检测(HPLC-DAD)分析系统进行色素分析。色谱柱为TSK gel ODS-100Z(150mm×4.6mm,柱内直径为5μm, Tosoh, Japan)。分析条件:柱温40℃,流速1mL·min⁻¹,进样量20μL,检测波长525nm。流动相A为水:磷酸(体积比98.5:1.5);流动相B为水:乙腈:甲酸:四氢呋喃:磷酸(体积比48.5:25:20:5:1.5),配制的溶液在减压条件下用0.22μm的微孔滤膜过滤,超声脱气后备用。梯度洗脱程序:0~15min, B液浓度从22%上升至28%;15~35min, B液从28%上升至68%^[22]。

利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术(UPLC-Q-TOF-MS),结合混合标准品Cy3Ga和Cy3G共洗脱试验,进行花青苷结构鉴定。设备为ACQUITY™ UPLC I-Class超高效液相色谱系统(Waters Corporation, Milford, MA, USA), Xevo G2-XS QToF MS质谱系统(Waters Corporation, Manchester, UK), UNIFI 1.8软件系统。色谱条件与上述色素定性分析条件一致。质谱分析条件:电喷雾电离离子源(ESI),正离子模式,全离子扫描,扫描范围(*m/z*):50~1200u。脱溶剂气体为高纯度氮气,温度450℃,流速600L·h⁻¹,毛细管电压为1kV,锥孔电压为40V。低能量扫描电压为6eV,高能量扫描电压为20~45eV。

1.2.2 花青苷定量分析 标准品矢车菊素-3-O-β-葡萄糖苷(Cy3G)和矢车菊素-3-O-β-半乳糖苷(Cy3Ga)购于上海源叶生物科技有限公司(纯



图1 杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’及代表性杂交后代

Fig. 1 *C. azalea*, *C. japonica* 'Meili' and their representative hybrids

度 $\geq 98\%$)。根据朱满兰等^[23]方法,采用标准品半定量法计算各样品每克新鲜花瓣中含有的相对于标准品的花青苷含量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代花素青苷鉴定

根据 UPLC-Q-TOF-MS 图谱,对杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其杂交后代花瓣中花青苷成分进行鉴定,共检测到 14 种花青苷(图 2),其紫外-可见光谱及质谱数据见表 1。根据 Cy 糖苷在 513~520 nm 有特征吸收峰及碎片离子 m/z 287,推定 14 种花青苷均为 Cy 型花青苷^[24];花青苷在 440 nm 与 $\lambda_{\text{vis-max}}$ 两处吸收值之比 $A_{440}/A_{\text{vis-max}}$ 变化范围为 32%~34%,确定 14 种花青苷均为 3-O-糖苷类型^[25-26]。根据 290~340 nm 波长下肩峰的出现推定化合物被芳香酸酰化^[27],峰 P5~P14 在 310~

316 nm 波长下肩峰的出现推定其花青苷被芳香酸酰化。

峰 P2 和 P4 质谱数据为分子离子 m/z 449,碎片离子 m/z 287,其中, m/z 287 为 Cy 苷元特

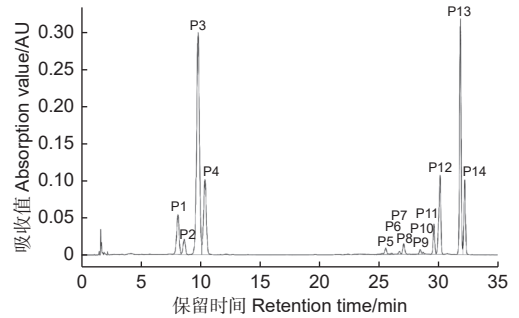


图 2 杜鹃红山茶与‘媚丽’杂交品种花青苷成分的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatogram of anthocyanin components in hybrids of *C. azalea* and *C. japonica* 'Meili'

表 1 杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代花青苷的紫外-可见吸收光谱与质谱数据

Table 1 Chromatographic and spectral data of anthocyanins in hybrids of *C. azalea* and *C. japonica* 'Meili'

色谱峰 PeakNo.	保留时间 Retention time/min	吸收波长 $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	$A_{440}/$ $A_{\text{vis-max}}/\%$	分子离子 Molecular ions(m/z)	碎片离子 Fragment ions(m/z)	推定结果 Tentative identification	参考文献 Reference
P1	8.25	281, 516	32	581	449, 287	Cy3GaX	[10-11]
P2	8.78	282, 516	32	449	287	Cy3Ga	[2-4]
P3	9.98	282, 516	33	581	449, 287	Cy3GX	[10-11]
P4	10.54	282, 514	32	449	287	Cy3G	[2-4]
P5	25.64	281, 315, 516	33	611	449, 287	Cy3GaECaf	[2-4]
P6	25.89	282, 315, 517	33	743	611, 449, 287	Cy3GaECafX	[10-11]
P7	26.76	284, 311, 515	34	727	595, 449, 287	Gy3GaZpCX	[10-11]
P8	27.19	285, 310, 516	34	595	449, 287	Gy3GaZpC	[10-11]
P9	28.52	283, 315, 515	33	743	611, 449, 287	Cy3GECafX	[10-11]
P10	28.77	283, 316, 515	33	611	449, 287	Cy3GECaf	[2-4]
P11	29.68	283, 313, 516	34	595	449, 287	Cy3GaEpC	[2-4]
P12	30.07	282, 312, 516	33	727	595, 449, 287	Cy3GaEpCX	[10-11]
P13	31.89	284, 314, 514	34	727	595, 449, 287	Cy3GEPcX	[10-11]
P14	32.24	283, 313, 515	34	595	449, 287	Cy3GEPc	[2-4]

注: Cy3GaX: 矢车菊素-3-O-(2-O- β -木糖基)- β -半乳糖苷; Cy3Ga: 矢车菊素-3-O- β -半乳糖苷; Cy3GX: 矢车菊素-3-O-(2-O- β -木糖基)- β -葡萄糖苷; Cy3G: 矢车菊素-3-O- β -葡萄糖苷; Cy3GaECaf: 矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-咖啡酰]- β -半乳糖苷; Cy3GaECafX: 矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(E)-咖啡酰]- β -半乳糖苷; Cy3GaZpCX: 矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(Z)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷; Cy3GaZpC: 矢车菊素-3-O-[6-O-(Z)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷; Cy3GECafX: 矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(E)-咖啡酰]- β -葡萄糖苷; Cy3GECaf: 矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-咖啡酰]- β -葡萄糖苷; Cy3GaEpC: 矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷; Cy3GaEpCX: 矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷; Cy3GEPcX: 矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -葡萄糖苷; Cy3GEPc: 矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -葡萄糖苷。下同。

Notes: Cy3GaX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl)- β -galactoside; Cy3Ga: Cyanidin-3-O- β -galactoside; Cy3GX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl)- β -glucoside; Cy3G: Cyanidin-3-O- β -glucoside; Cy3GaECaf: Cyanidin-3-O-(6-O-(E)-caffeoyl)- β -galactoside; Cy3GaECafX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(E)-caffeoyl)- β -galactoside; Cy3GaZpCX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(Z)-*p*-coumaroyl)- β -galactoside; Cy3GaZpC: Cyanidin-3-O-(6-O-(Z)-*p*-coumaroyl)- β -galactoside; Cy3GECafX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(E)-caffeoyl)- β -glucoside; Cy3GECaf: Cyanidin-3-O-(6-O-(E)-caffeoyl)- β -glucoside; Cy3GaEpC: Cyanidin-3-O-(6-O-(E)-*p*-coumaroyl)- β -galactoside; Cy3GaEpCX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(E)-*p*-coumaroyl)- β -galactoside; Cy3GEPcX: Cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(E)-*p*-coumaroyl)- β -glucoside; Cy3GEPc: Cyanidin-3-O-(6-O-(E)-*p*-coumaroyl)- β -glucoside. The same as below.

征质荷比,其裂解释放 162 u 对应一分子己糖;根据峰 P2 和峰 P4 与标准品 Cy3Ga 和 Cy3G 共洗脱特性以及花青素半乳糖洗脱时间小于花青素葡萄糖苷特性^[24],确定峰 P2 为矢车菊素-3-O- β -半乳糖苷,峰 P4 为矢车菊素-3-O- β -葡萄糖苷^[28-29]。峰 P1 和 P3 质谱数据为分子离子 m/z 581, 碎片离子 m/z 449、287, m/z 581 到 m/z 449 丢失 132 u, m/z 449 到 m/z 287 丢失 162 u, 参考 Li 等^[10-11]文献,推定其分别为矢车菊素-3-O-(2-O- β -木糖基)- β -半乳糖苷 (Cy3GaX)、矢车菊素-3-O-(2-O- β -木糖基)- β -葡萄糖苷 (Cy3GX)。

峰 P5 和 P10 质谱数据为分子离子 m/z 611, 碎片离子 m/z 449、287, m/z 611 到 m/z 449 丢失 162 u, m/z 449 到 m/z 287 丢失 162 u, 判定其为矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-咖啡酰]- β -半乳糖苷 (Cy3GaECaf) 和矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-咖啡酰]- β -葡萄糖苷 (Cy3GECaf)^[2-4]。峰 P6 和 P9 质谱数据为分子离子 m/z 743, 碎片离子 m/z 611、449、287, m/z 743 到 m/z 611 丢失 132 u, m/z 611 到 m/z 449 丢失 162 u, m/z 449 到 m/z 287 丢失 162 u, 推定其为矢车菊素-3-O-(2-O- β -木糖基-6-O-(E)-咖啡酰)- β -半乳糖苷 (Cy3GaECafX) 和矢车菊素-3-O-(2-O- β -木糖基-6-O-(E)-咖啡酰)- β -葡萄糖苷 (Cy3GECafX)。

峰 P8、P11 和 P14 质谱数据为分子离子 m/z 595, 碎片离子 m/z 449、287, m/z 595 到 m/z 449 丢失 146 u, m/z 449 到 m/z 287 丢失 162 u; 根据其 $A_{440}/A_{\text{vis-max}}$ (34%) 及在 310、313 nm 波长下肩峰的出现,推定其为 Cy-3-O-芳香酸酰化型糖苷而排除鼠李糖苷^[30]; 根据顺式花青苷洗脱时间小于反式花青苷^[31-32] 及花青素半乳糖苷洗脱时间小于花青素葡萄糖苷的特性,判定峰 P8、P11 和 P14 分别为矢车菊素-3-O-[6-O-(Z)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷 (Cy3GaZpC)、矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷 (Cy3GaEpC) 和矢车菊素-3-O-[6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -葡萄糖苷 (Cy3GepC)。

峰 P7、P12 和 P13 质谱数据为分子离子 m/z 727, 碎片离子 m/z 595、449、287, m/z 727 到 m/z 595 丢失 132 u, m/z 595 到 m/z 449 丢失 146 u, m/z 449 到 m/z 287 丢失 162 u, 推定其分别为矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(Z)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷 (Cy3GaZpCX)、矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷

(Cy3GaEpCX) 和矢车菊素-3-O-[2-O- β -木糖基-6-O-(E)-*p*-香豆酰]- β -葡萄糖苷 (Cy3GepCX)^[10-11]。

2.2 杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代主要花青苷变异特征

杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其 35 个杂交后代中,‘媚丽’检测到 7 种花青苷,其中 Cy3G、Cy3Ga、Cy3GepC 和 Cy3GaEpC 含量较高, Cy3GaECaf、Cy3GaZpC 和 Cy3GECaf 含量均低于 $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。杜鹃红山茶中检测到 14 种花青苷,除与山茶‘媚丽’相同的 7 种外,还包括其相应的含 2-O- β -木糖基的花青苷;含量较高的花青苷有 8 种 (表 2),分别为 Cy3G、Cy3Ga、Cy3GepC 和 Cy3GaEpC 以及相应的含 2-O- β -木糖基的 Cy3GX、Cy3GaX、Cy3GepCX 和 Cy3GaEpCX,其余成分均低于 $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’35 个杂交后代除 MD78 外,均检测到 8 种主要相关花青苷,其余成分含量均较低或未检测到。

杜鹃红山茶主要花青苷含量为 $735.81 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,山茶‘媚丽’主要花青苷含量为 $526.61 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,杜鹃红山茶主要花青苷含量为‘媚丽’的 1.40 倍;杂交后代中主要花青苷含量高于杜鹃红山茶的占 11.43%,低于山茶‘媚丽’的占 37.14%,双亲之间的占 51.43%。杂交后代中 Cy3GX、Cy3GaX、Cy3GepCX 和 Cy3GaEpCX 均来源于杜鹃红山茶,其中 Cy3GX、Cy3GaX 含量低于杜鹃红山茶,而 Cy3GepCX、Cy3GaEpCX 含量大部分高于杜鹃红山茶; Cy3G、Cy3Ga、Cy3GepC 和 Cy3GaEpC 主要来源于山茶‘媚丽’,含量大部分介于双亲之间。山茶‘媚丽’中含葡萄糖苷的花青苷含量远高于相应含半乳糖苷的花青苷;杜鹃红山茶及杂交后代中含 2-O- β -木糖基的花青苷含量基本上高于相应不含 2-O- β -木糖基的花青苷,含葡萄糖苷的花青苷 (除个别杂交后代外)含量也高于相应含半乳糖苷的花青苷。

2.3 杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代主要花青苷比例的遗传变异

杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代主要花青苷比例见表 3。杜鹃红山茶花瓣中主要花青苷 Cy3GX、Cy3GaX 分别占 63.14%、19.17%,合计 82.30%;其次为 Cy3G、Cy3GepCX 和 Cy3GaEpCX,分别占 6.08%、5.42% 和 3.17%。山茶‘媚丽’主要成分 Cy3GepC、Cy3G 分别占 44.76%、40.26%,合计 85.02%;其次为

表2 杜鹃红山茶与山茶‘媚丽’杂交后代主要花青苷含量

Table 2 Content of main anthocyanins in hybrids of *C. azalea* and *C. japonica* 'Meili' $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

样品 Samples	Cy3GaX	Cy3Ga	Cy3GX	Cy3G	Cy3GaEpCX	Cy3GaEpC	Cy3GEpCX	Cy3GEpC	合计 Total
M	—	28.23±2.15	—	215.43±15.70	—	43.75±2.55	—	239.21±12.68	526.61±30.67
D	141.54±0.47	5.75±0.00	466.23±1.57	44.88±0.16	23.38±0.07	2.07±0.01	40.05±0.12	11.90±0.03	735.81±2.43
MD2	8.38±0.43	1.70±0.02	120.51±0.78	25.76±0.20	24.35±0.74	21.04±0.52	125.89±4.31	34.18±1.42	361.80±7.28
MD4	5.56±0.46	6.81±0.33	85.48±4.70	163.12±9.15	57.52±2.64	10.50±0.47	108.55±5.92	293.89±17.35	731.42±40.29
MD6	17.82±0.10	29.37±0.96	189.85±4.36	561.41±16.24	78.56±2.88	6.62±0.34	136.90±4.33	385.62±11.67	1406.15±40.60
MD10	29.25±0.58	2.54±0.06	392.53±10.24	29.80±0.96	32.91±1.01	20.20±0.52	171.04±5.41	34.88±0.64	713.15±18.34
MD11	35.13±0.80	10.78±0.50	366.20±10.17	105.87±3.84	31.48±1.00	10.96±0.28	115.86±3.46	31.16±0.93	707.45±20.81
MD13	47.85±1.37	6.99±0.30	200.59±6.58	31.68±1.06	47.06±1.92	6.54±0.19	63.09±2.22	21.28±1.20	425.08±14.58
MD14	5.89±0.23	3.81±0.20	61.03±1.81	46.92±28.29	39.04±1.90	6.72±0.25	63.89±2.29	137.81±7.90	365.11±17.43
MD16	27.63±0.67	9.84±0.39	141.62±3.56	64.23±1.86	88.17±3.66	14.15±0.47	132.94±4.70	75.58±2.29	554.15±17.33
MD17	4.53±0.19	3.20±0.20	44.43±0.93	45.16±1.94	46.88±2.01	10.22±0.65	55.05±2.13	151.13±5.51	360.60±10.59
MD19	11.26±0.19	3.78±0.08	213.63±5.02	82.64±2.20	25.56±0.84	19.46±0.58	119.21±4.19	59.73±2.04	535.26±14.87
MD25	71.58±1.22	25.06±0.85	296.79±7.71	144.74±4.26	53.97±1.86	9.52±0.26	62.47±1.88	40.19±1.41	704.32±19.41
MD26	15.67±0.42	5.16±0.21	121.23±2.96	90.56±2.84	26.51±1.04	4.87±0.12	60.60±1.87	76.01±3.90	400.62±12.73
MD28	16.92±0.33	26.95±0.93	117.73±2.28	404.54±11.30	42.36±1.23	5.75±0.17	52.93±1.31	134.92±3.63	802.10±20.82
MD29	75.06±2.68	10.31±0.56	247.46±9.47	52.06±2.27	50.62±2.05	11.12±0.37	79.52±3.00	18.59±0.60	544.74±20.75
MD36	25.58±0.02	5.11±0.13	297.94±5.12	61.06±1.57	51.02±1.07	17.45±0.29	245.78±5.83	42.02±0.62	745.96±13.88
MD51	32.13±0.12	11.11±0.42	202.10±4.49	65.13±2.00	49.53±1.67	14.86±0.39	115.04±3.31	36.94±1.19	526.84±13.49
MD52	20.28±0.86	6.24±0.42	64.94±2.97	30.45±1.95	19.40±0.98	6.73±0.17	38.10±1.64	19.35±1.75	205.49±10.60
MD55	12.72±0.18	8.59±0.38	147.86±4.38	159.45±6.94	33.86±1.43	9.44±0.34	63.87±2.05	91.74±5.41	527.53±20.67
MD58	5.43±0.43	1.38±0.12	148.40±6.29	48.22±2.32	25.57±0.62	5.40±0.18	231.67±6.20	133.23±4.19	599.30±19.03
MD61	13.01±0.48	4.40±0.05	183.65±2.61	64.41±0.41	40.28±0.67	17.82±0.38	139.72±2.68	66.94±0.29	530.23±6.65
MD71	7.69±0.20	0.54±0.06	151.50±5.97	12.13±0.49	12.81±0.32	13.42±0.22	99.70±3.21	11.99±0.53	309.78±10.13
MD72	20.99±0.42	2.50±0.09	403.17±8.23	72.35±1.94	17.82±0.50	17.10±0.30	107.89±2.82	22.98±0.70	664.79±14.82
MD73	8.58±0.33	7.46±0.12	83.90±0.49	122.28±0.99	66.67±1.25	12.96±0.33	113.60±1.51	198.84±2.32	614.28±4.71
MD75	18.34±0.35	16.63±0.73	166.68±4.85	250.27±8.99	42.84±1.63	9.11±0.30	71.60±2.35	126.47±4.01	701.94±23.12
MD76	3.06±0.15	1.62±0.10	66.26±1.13	71.27±1.55	27.10±0.21	7.80±0.05	79.77±0.78	123.34±0.76	380.23±4.41
MD77	122.71±2.05	7.85±0.04	409.23±8.97	42.62±0.62	78.89±2.43	11.22±0.30	97.25±2.64	17.84±0.32	787.61±17.30
MD78	1.29±0.01	—	38.99±0.15	7.36±0.05	6.85±0.03	11.03±0.05	51.73±0.09	17.07±0.03	134.32±0.31
DM3	15.95±0.59	5.24±0.25	196.31±4.31	87.41±2.76	36.88±1.39	17.38±0.56	215.33±7.68	77.81±2.09	652.32±18.26
DM4	7.20±0.11	2.39±0.03	85.17±0.28	28.77±0.06	33.49±1.10	21.63±0.57	149.18±4.98	64.55±1.45	392.38±8.30
DM5	12.10±0.33	3.06±0.12	198.38±6.15	67.83±3.02	32.01±1.47	14.22±0.58	217.57±11.09	61.49±3.53	606.66±25.62
DM7	15.40±0.27	3.66±0.18	174.09±6.82	43.46±2.21	31.28±1.54	11.85±0.48	160.62±7.20	27.73±0.89	468.08±18.76
DM8	14.56±0.25	3.84±0.17	193.72±6.54	56.72±2.41	32.83±1.66	11.03±0.48	197.11±9.37	46.40±1.57	556.21±22.35
DM9	22.60±0.65	33.44±0.95	72.24±1.98	270.50±8.07	49.54±1.07	5.49±0.07	36.62±0.86	123.99±3.08	614.41±16.57
DM10	9.06±0.20	2.09±0.06	134.33±8.01	38.70±2.11	22.95±1.02	12.46±0.65	155.33±8.08	37.94±1.81	412.86±21.63
DM11	12.67±0.51	2.55±0.13	177.88±4.03	40.91±1.00	28.88±0.96	11.49±0.29	182.83±6.24	35.34±0.81	492.54±13.81

注：“—”表示未鉴定出。下同。

Notes: “—”: Not identified. The same below.

表3 杜鹃红山茶与山茶'媚丽'杂交后代主要花青苷比例

Table 3 Proportion of main anthocyanins in hybrids of *C. azalea* and *C. japonica* 'Meili'

%

样品Samples	Cy3GaX	Cy3Ga	Cy3GX	Cy3G	Cy3GaEpC	Cy3GaEpCX	Cy3GEpCX	Cy3GEpC
M	—	5.27	—	40.26	8.18	—	—	44.76
D	19.17	0.78	63.14	6.08	0.28	3.17	5.42	1.61
MD2	2.24	0.45	32.12	6.87	5.61	6.49	33.53	9.10
MD4	0.75	0.92	11.56	22.06	1.42	7.78	14.68	39.73
MD6	1.25	2.06	13.35	39.47	0.47	5.52	9.62	27.11
MD10	4.00	0.35	53.64	4.07	2.76	4.50	23.37	4.77
MD11	4.90	1.50	51.12	14.77	1.53	4.39	16.17	4.35
MD13	10.98	1.60	46.05	7.27	1.50	10.80	14.48	4.88
MD14	1.54	0.99	15.93	11.95	1.76	10.20	16.68	35.98
MD16	4.86	1.73	24.89	11.29	2.49	15.49	23.36	13.28
MD17	1.21	0.86	11.90	12.11	2.73	12.55	14.74	40.47
MD19	2.05	0.69	38.79	15.00	3.53	4.64	21.64	10.84
MD25	9.92	3.47	41.11	20.04	1.32	7.47	8.65	5.56
MD26	3.85	1.27	29.82	22.27	1.20	6.52	14.90	18.68
MD28	2.08	3.31	14.48	49.74	0.71	5.21	6.51	16.59
MD29	13.46	1.85	44.36	9.33	1.99	9.07	14.26	3.33
MD36	3.32	0.66	38.69	7.93	2.27	6.62	31.91	5.46
MD51	5.91	2.04	37.17	11.98	2.73	9.11	21.16	6.79
MD52	9.44	2.90	30.21	14.15	3.13	9.02	17.72	8.98
MD55	2.37	1.60	27.49	29.62	1.75	6.29	11.87	17.03
MD58	0.88	0.22	24.14	7.84	0.88	4.16	37.72	21.69
MD61	2.38	0.80	33.53	11.76	3.25	7.36	25.51	12.22
MD71	2.43	0.17	47.88	3.83	4.25	4.05	31.52	3.79
MD72	3.11	0.37	59.82	10.73	2.54	2.64	16.01	3.41
MD73	1.36	1.18	13.30	19.38	2.05	10.56	18.00	31.51
MD75	2.56	2.32	23.23	34.87	1.27	5.97	9.98	17.62
MD76	0.79	0.42	17.09	18.38	2.01	6.99	20.57	31.81
MD77	15.33	0.98	51.13	5.33	1.40	9.85	12.15	2.23
MD78	0.94	—	28.29	5.34	8.00	4.97	37.54	12.39
DM3	2.41	0.79	29.63	13.19	2.62	5.56	32.49	11.75
DM4	1.77	0.59	20.91	7.06	5.31	8.22	36.60	15.84
DM5	1.96	0.50	32.18	11.00	2.31	5.19	35.26	9.97
DM7	3.24	0.77	36.62	9.14	2.49	6.58	33.78	5.83
DM8	2.57	0.68	34.19	10.01	1.95	5.79	34.77	8.19
DM9	3.59	5.31	11.47	42.95	0.87	7.87	5.82	19.69
DM10	2.15	0.50	31.83	9.17	2.95	5.44	36.82	8.99
DM11	2.53	0.51	35.53	8.17	2.29	5.77	36.50	7.06

Cy3GaEpC、Cy3Ga, 分别占 8.18%、5.27%。杂交后代中, Cy3GX、Cy3GaX 所占比例均低于杜

鹃红山茶, 而 Cy3GaEpCX (除 MD72 外) 所占比例均高于杜鹃红山茶; Cy3G、Cy3Ga、

Cy3GEpC 和 Cy3GaEpC 所占比例大部分介于双亲之间, 其中, Cy3GX、Cy3GEpCX 平均比例分别为 31.24%、22.18%, 合计 53.42%; Cy3G、Cy3GEpC 平均比例分别为 15.37% 和 14.20%, 合计 29.57%。可见, 杜鹃红山茶花青苷主要成分为 Cy3GX 和 Cy3GaX, 山茶‘媚丽’为 Cy3GEpC 和 Cy3G, 杂交后代主要成分为 Cy3GX 和 Cy3GEpCX, 其次为 Cy3G 和 Cy3GEpC。

3 讨论

植物花色是多种因子协同作用的结果, 细胞内特定色素的存在是根本内因^[33-35]。山茶花的花瓣中色素主要为类黄酮, 其中, 黄色系山茶花主要为黄酮醇类^[36-37]; 红色系山茶花主要为矢车菊素类^[2]。本试验应用高效液相色谱-光电二极管阵列检测器和超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术, 从杜鹃红山茶及其杂交后代中鉴定出 14 种花青苷, 7 种不含 2-O- β -木糖基的花青苷与山茶花研究结果相符^[2-4], 7 种含 2-O- β -木糖基的花青苷与滇山茶品种‘大理茶’研究一致^[11]; 8 种组分含量较高, 即 Cy3GX、Cy3GaX、Cy3GEpCX 和 Cy3GaEpCX 以及相应不含 2-O- β -木糖基的 Cy3G、Cy3Ga、Cy3GEpC 和 Cy3GaEpC; 山茶‘媚丽’中未检测到含 2-O- β -木糖基花青苷, 表明杂交后代中含 2-O- β -木糖基花青苷主要遗传自杜鹃红山茶。

本试验中杜鹃红山茶 8 种主要花青苷总量高于山茶‘媚丽’, 杂交后代主要花青苷总量大部分介于双亲之间, 少量高于杜鹃红山茶或低于山茶‘媚丽’, 表明其杂交后代花青苷总量存在较大的变异。杂交后代中 Cy3GX、Cy3GaX 含量均低于杜鹃红山茶, Cy3G、Cy3Ga、Cy3GEpC 和 Cy3GaEpC 含量基本上介于双亲之间; 但 Cy3GEpCX、Cy3GaEpCX 含量基本上高于杜鹃红山茶, 这可能由于存在杂种优势, 具体原因有待于进一步研究。杜鹃红山茶及其杂交后代中, 含葡萄糖苷花青苷高于相应含半乳糖苷花青苷, 相关结果与已有山茶花青苷研究一致^[2-4]; 含 2-O- β -木糖基花青苷含量高于相应不含 2-O- β -木糖基花青苷, 与滇山茶品种研究结果相符^[11,38], 表明含 2-O- β -木糖基花青苷遗传能力大于相应不含 2-O- β -木糖基花青苷。

杜鹃红山茶主要花青苷为 Cy3GX 和 Cy3GaX, 二者合计占其花青苷总量的 82% 以上; 山茶‘媚丽’主要为 Cy3GEpC 和 Cy3G, 合计

占 85% 以上; 杂交后代中主要花青苷 Cy3GX 和 Cy3GEpCX 占 50% 以上, 其次是 Cy3G 和 Cy3GEpC 约占 30%, 含 2-O- β -木糖基的花青苷所占比例远高于相应不含 2-O- β -木糖基的花青苷, 也表明含 2-O- β -木糖基的花青苷具较强的遗传能力。杂交后代中 Cy3GX、Cy3GaX 比例降低, Cy3GEpCX、Cy3GaEpCX 比例升高, 具体原因有待于进一步研究。林艳等^[39]对仙客来 (*Cyclamen persicum* Mill)、李晓丽等^[40]对月季 (*Rosa chinensis* Jacq.) 和陈和明等^[41]对秋石斛兰 (*Dendrobium* spp.) 的研究结果表明, 白色花与红色花杂交后得到的绝大部分是红色花, 红色的花色遗传能力强于白色; 本试验中杜鹃红山茶鲜红色, 山茶‘媚丽’玫瑰红色带白边, 其杂交后代大部分花色为红色, 少量带白边或零星白斑, 也表明其红色遗传能力强于白色。李辛雷等^[2-4]研究表明, 山茶花的花青苷成分含量与比例均影响其花色, 本试验中杜鹃红山茶杂交后代花青苷成分含量与比例对花色的影响不明显, 具体原因有待于进一步研究。

本试验中 11.43% 的杂交后代主要花青苷总量高于杜鹃红山茶, 最高为其近 2 倍 (1 406.15 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), 表现出明显的杂种优势, 其花瓣中花青苷具有开发利用价值。通过利用花青苷含量高的杂交后代与杜鹃红山茶回交, 有望增加其花青苷的积累, 进一步选育出高花青苷含量的新品种。此外, 杜鹃红山茶杂交后代具有四季开花的特性, 为其花青苷利用提供了稳定的材料, 具有良好的开发前景。

4 结论

本试验应用高效液相色谱-光电二极管阵列检测器和超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术, 对杜鹃红山茶、山茶‘媚丽’及其杂交后代中花青苷进行分析, 从杜鹃红山茶及其杂交后代中鉴定出 14 种花青苷, 7 种含 2-O- β -木糖基的花青苷来源于杜鹃红山茶。杜鹃红山茶主要花青苷总量高于山茶‘媚丽’, 杂交后代花青苷总量存在较大的变异, Cy3GX、Cy3GaX 含量均低于杜鹃红山茶, Cy3GEpCX、Cy3GaEpCX 含量总体上高于杜鹃红山茶, Cy3G、Cy3Ga、Cy3GEpC 和 Cy3GaEpC 含量基本上介于双亲之间。杜鹃红山茶及其杂交后代中含 2-O- β -木糖基的花青苷含量高于相应不含 2-O- β -木糖基花青苷, 含葡萄糖苷花青苷高于相应含半乳糖苷花青苷。杜鹃红山茶主要花青苷为

Cy3GX 和 Cy3GaX, 山茶‘媚丽’为 Cy3GEpC 和 Cy3G, 杂交后代主要为 Cy3GX 和 Cy3GEpCX, 其次为 Cy3G 和 Cy3GEpC, 含 2-O- β -木糖基的花青苷所占比例高于相应不含 2-O- β -木糖基的花青苷, 表明含 2-O- β -木糖基的花青苷具有较强的遗传能力。

参考文献:

- [1] 高继银, 陈邵云, 徐碧玉. 世界名贵茶花[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1999: 177.
- [2] 李辛雷, 王佳童, 孙振元, 等. 山茶‘赤丹’及其芽变品种花瓣中花青苷成分与花色的关系[J]. 林业科学, 2019, 55(10): 19-26.
- [3] 李辛雷, 王洁, 殷恒福, 等. 山茶品种变异与花青苷关系[J]. 生态与农村环境学报, 2019, 35(10): 1307-1313.
- [4] 李辛雷, 殷恒福, 范正琪, 等. 山茶芽变花色与花青苷的关系[J]. 中国农业科学, 2019, 52(11): 1961-1969.
- [5] Bomser J, Madhavi D L, Singletary K, et al. *In vitro* anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species[J]. *Planta Medica*, 1996, 62(3): 212-216.
- [6] Zu X Y, Zhang Z Y, Zhang X W. Anthocyanins extracted from Chinese blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.) and its anticancer effects on DLD-1 and COLO205 cells[J]. *Chinese Medical Journal*, 2010, 123(19): 2714-2719.
- [7] Jang H H, Kim H W, Kim S Y, et al. *In vitro* and *in vivo* hypoglycemic effects of cyanidin 3-caffeoyl-hydroxybenzoyl-sophoroside-5-glucoside, an anthocyanin isolarom purple-fleshed sweet potato[J]. *Food Chemistry*, 2019, 272: 688-693.
- [8] 方仕, 罗小琴, 吴晓滨, 等. 矢车菊素-3-葡萄糖苷通过降低 STAT3活化抑制TNF- α 诱导的小鼠血管平滑肌细胞增殖[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2012, 33(6): 716-722.
- [9] Pratheeshkumar P, Son Y O, Wang X, et al. Cyanidin-3-Glucoside inhibits UVB induced oxidative damage and inflammation by regulating MAP kinase and NF- κ B signalling pathways in SKH-1 hairless mice skin[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2014, 280(1): 127-137.
- [10] Li J B, Hashimoto F, Shimizu K, et al. Anthocyanins from red flowers of *Camellia reticulata* L.[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2007, 71(11): 2833-2836.
- [11] Li J B, Hashimoto F, Shimizu K, et al. Anthocyanins from red flowers of *Camellia* cultivar ‘Dalicha’[J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(18): 3166-3171.
- [12] 高继银, Parks C R, 杜跃强. 山茶属植物主要原种彩色图集[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2005: 34-35.
- [13] 高继银, 刘信凯, 赵强民. 四季茶花杂交新品种彩色图集[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2016: 67-393.
- [14] 李辛雷, 孙振元, 李纪元, 等. 濒危植物杜鹃红山茶种群结构和动态变化[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(2): 17-23.
- [15] 赵鸿杰, 薛克娜, 张学平, 等. 不同肥力基质条件下张氏红山茶扦插苗的生长和光合生理特性[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(9): 40-41.
- [16] 罗晓莹, 唐光大, 莫罗坚, 等. 杜鹃红山茶的传粉生物学[J]. 生态学杂志, 2011, 30(3): 552-557.
- [17] 李先民, 李春牛, 卜朝阳, 等. 基质、促根剂及插穗对杜鹃红山茶扦插生根的影响[J]. 西南农业学报, 2017, 30(2): 426-431.
- [18] 李先民, 卜朝阳, 李春牛, 等. 杜鹃红山茶愈伤组织诱导条件的优化[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(23): 61-65.
- [19] 李辛雷, 李纪元, 范正琪. 杜鹃红山茶花色色素提取及其性质[J]. 林业科学, 2011, 47(1): 79-84.
- [20] Hashimoto F, Tanaka M, Maeda H, et al. Characterization of cyanic flower color of *Delphinium* cultivars[J]. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 2000, 69(4): 428-434.
- [21] 葛雨萱, 王亮生, 徐彦军, 等. 蜡梅的花色和花色素组成及其在开花过程中的变化[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1331-1338.
- [22] Li J B, Hashimoto F, Shimizu K, et al. A new acylated anthocyanin inform the red flowers of *Camellia hongkongensis* and characterization of anthocyanins in the Section *Camellia* species[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2009, 51(6): 545-552.
- [23] 朱满兰, 王亮生, 张会金, 等. 耐寒睡莲花瓣中花青苷组成及其与花色的关系[J]. 植物学报, 2012, 47(5): 437-453.
- [24] Lopes-da-Silva F, Escribano-Bailón M T, Pérez-Alonso J J, et al. Anthocyanin pigments in strawberry[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2007, 40(2): 374-382.
- [25] 张洁, 王亮生, 高锦明, 等. 贴梗海棠花青苷组成及其与花色的关系[J]. 园艺学报, 2011, 38(3): 527-534.
- [26] Harborne J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins[J]. *Biochemical Journal*, 1958, 70(1): 22-28.
- [27] Fossen T, Andersen M. Cyanidin 3-O-(6'-succinyl-glucoside) and other anthocyanins from *Phragmites australis*[J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(1): 1065-1068.
- [28] Vinha A F, Ferreres F, Silva B M, et al. Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin[J]. *Food Chemistry*, 2005, 89(4): 561-568.
- [29] Dueñas M, Pérez-Alonso J J, Santos-Buelga C, et al. Anthocyanin composition in fig (*Ficus carica* L.)[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, 21(2): 107-115.
- [30] 张洁, 李崇晖, 王亮生, 等. 植物花青苷液质联用方法的分析鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(3): 760-768.
- [31] Downey M, Rochfort S. Simultaneous separation by reversed-phase high-performance liquid chromatography and mass spectral identification of anthocyanins and flavonols in Shiraz grape skin[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1201(1): 43-47.
- [32] Zhang J, Wang L S, Gao J M, et al. Rapid separation and identification of anthocyanins from flowers of *Viola yedoensis* and *V. prionantha* by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray ionisation mass spectrometry[J]. *Phytochemical Analysis*, 2012, 23(1): 16-22.
- [33] 赵云鹏, 陈发棣, 郭维明. 观赏植物花色基因工程研究进展[J]. 植物学通报, 2003, 20(1): 52-58.
- [34] Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 761-780.
- [35] Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids[J]. *The Plant Journal*, 2008, 54(4): 733-749.
- [36] He D Y, Li X Y, Xuan S, et al. *Camellia nitidissima* C. W. Chi: A

review of botany, chemistry and pharmacology[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2018, 17: 327-349.

- [37] 李辛雷, 王佳童, 孙振元, 等. 金花茶和白色山茶及其3个杂交品种类黄酮成分与花色的关系[J]. *园艺学报*, 2019, 46 (6): 1145-1154.
- [38] 希从芳, 郑 丽, 字淑慧, 等. 不同遮阴处理对滇山茶花瓣花青苷构成的影响[J]. *园艺学报*, 2013, 40 (10): 2006-2014.

- [39] 林 艳, 郭伟珍. 仙客来花色遗传规律研究[J]. *林业科技开发*, 2011, 25 (5): 25-28.
- [40] 李晓丽, 庄得凤, 马 策, 等. 月季杂交后代花色遗传特性初探[J]. *北方园艺*, 2017 (14): 96-98.
- [41] 陈和明, 吕复兵, 李 佐, 等. 秋石斛兰F₁代主要观赏性状的遗传表现[J]. *热带作物学报*, 2016, 37 (9): 1664-1669.

Variation Characteristics of Anthocyanin in Hybrids between *Camellia azalea* and *Camellia japonica* 'Meili'

YANG Mei-ying^{1,2}, LI Jian-bin¹, ZHANG Ying², LI Xin-lei²,
LIU Xin-ka³, ZHONG Nai-sheng³, LI Yan-ling³

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China; 2. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China; 3. Guangzhou Zongke Horticulture Development Limited Company, Guangzhou 511316, Guangdong, China)

Abstract: [Objective] The object of this study was to determine anthocyanin components and contents in petals from *Camellia azalea*, *C. japonica* 'Meili' and their hybrids, and reveal variation regulation of main anthocyanin components and content, that will provide the scientific basis for breeding and utilization of *camellias* with high anthocyanin content. [Method] Anthocyanin components and contents of *C. azalea*, *C. japonica* 'Meili' and thirty-five hybrids were measured by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection (HPLC-DAD) and ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). [Result] Fourteen anthocyanin components were detected in *C. azalea* and the hybrids, eight of which were main anthocyanin components with high content, including cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl)- β -galactoside (Cy3GaX), cyanidin-3-O- β -galactoside (Cy3Ga), cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl)- β -glucoside (Cy3GX), cyanidin-3-O- β -glucoside (Cy3G), cyanidin-3-O-(6-O-(E)-p-coumaroyl)- β -galactoside (Cy3GaEpC), cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(E)-p-coumaroyl)- β -galactoside (Cy3GaEpCX), cyanidin-3-O-(2-O- β -xylosyl-6-O-(E)-p-coumaroyl)- β -glucoside (Cy3GEpCX) and cyanidin-3-O-(6-O-(E)-p-coumaroyl)- β -glucoside (Cy3GEpC). The total amount of eight main anthocyanin of *C. azalea* was higher than that of *C. japonica* 'Meili', and that of hybrids have larger variation. The contents of Cy3GX and Cy3GaX in hybrids were lower than that of *C. azalea*, and contents of Cy3GEpCX and Cy3GaEpCX in hybrids were higher than that of *C. azalea*. The contents of Cy3G, Cy3Ga, Cy3GEpC and Cy3GaEpC in hybrids were basically in the middle of the parents. [Conclusion] The contents of anthocyanins with 2-O- β -xylosyl is higher than that of corresponding anthocyanins without 2-O- β -xylosyl, and the contents of anthocyanins with glucoside is higher than that of corresponding anthocyanins with galactoside. The main anthocyanin components of *C. azalea* are Cy3GX and Cy3GaX, and those of *C. japonica* 'Meili' are Cy3GEpC and Cy3G. The main components of hybrids are Cy3GX and Cy3GEpCX, followed by Cy3G and Cy3GEpC. Anthocyanins with 2-O- β -xylosyl in hybrids originate from *C. azalea*, and the proportion of anthocyanins with 2-O- β -xylosyl is higher than that of corresponding anthocyanins without 2-O- β -xylosyl, that indicates anthocyanins with 2-O- β -xylosyl has stronger genetic ability.

Keywords: *Camellia azalea*; hybridization; anthocyanin; variation; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry