

DOI:10.12403/j.1001-1498.20220537

不同花色类型蜡梅花被片靶向类黄酮代谢组学分析

沈植国^{1,2*}, 程建明^{2,3}, 武方方³, 丁鑫^{1,2}

(1. 河南省林业科学研究院, 河南 郑州 450008; 2. 蜡梅国家创新联盟, 河南 郑州 450008;

3. 河南卡乐夫园艺有限公司, 河南 郑州 450000)

摘要: [目的] 以初花期的红花蜡梅、红心蜡梅、素心蜡梅的中、内花被片为材料, 开展靶向类黄酮代谢组检测与分析, 为进一步解析不同花色类型蜡梅花被片的呈色物质及类黄酮代谢途径提供参考。[方法] 对蜡梅 3 个品种的中、内花被片进行 UPLC-MS/MS 检测, 并进行代谢物定性定量分析、样本质控分析、PCA 分析、HCA 分析、OPLS-DA 分析及差异代谢物 KEGG 功能注释与富集分析, 探究不同花色类型花被片间类黄酮代谢物差异。[结果] 在蜡梅花被片中共检测到 82 种代谢物, 包括查耳酮、二氢黄酮、黄酮、异黄酮、二氢黄酮醇、黄酮醇、花青苷、黄烷醇等化合物; 蜡梅红色花被片类黄酮物质除花青苷类外, 还包括黄酮醇类化合物, 其在红、黄花被片中未显示出规律性变化; 花青素代谢通路富集程度在蜡梅红、黄花被片 5 个比较组中均表现为最大且最显著。[结论] 蜡梅花被片类黄酮生物合成途径中除主要的黄酮醇支路和花青素支路外, 还可能包括黄酮支路、异黄酮支路和黄烷醇支路; 在蜡梅花被片类黄酮生物合成途径中, 花青素支路和黄酮醇支路可能不是对共同底物的竞争关系; 矢车菊苷是蜡梅花被片呈红色的特征代谢物, 包括矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-芸香糖苷和矢车菊素-3-O-半乳糖苷。

关键词: 蜡梅; 花被片; 类黄酮; 代谢物

中图分类号: S718.43

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2023)04-0082-08

类黄酮 (flavonoids) 是植物一类重要的次生代谢产物, 在植物器官中普遍存在^[1]。许多类黄酮物质具有清除自由基、抗氧化、预防冠心病、保肝、抗炎、抗癌等活性, 部分类黄酮还具有潜在的抗病毒活性。在植物中, 类黄酮不仅可以改变花色, 在植物的抗逆境反应上有着重要功能, 还可以在抑制昆虫取食和植物与微生物的相互作用中发挥作用^[2]。此外, 类黄酮有助于对抗氧化应激, 并作为生长调节剂促进植物生长^[3]。大多数花、水果和种子着色的色素是类黄酮化合物^[4-5]。类黄酮通过

苯丙氨酸途径合成, 苯丙氨酸转化为 4-香豆素辅酶 A, 进入类黄酮生物合成途径^[6], 首先合成的前体物质二氢黄酮通过不同的分支代谢途径, 可分别生成黄酮 (flavones)、异黄酮 (isoflavones)、黄酮醇 (flavonols)、花色苷 (anthocyanins) 和黄烷醇 (flavanols) 等代谢物。

蜡梅花被片中的类黄酮物质主要为黄酮醇和花青苷类化合物^[7-9], 但现有研究中, 关于蜡梅花被片类黄酮物质检测的种类较少, 花被片类黄酮代谢途径的中间产物及其他支路代谢物也鲜见报道。蜡

收稿日期: 2022-11-10 修回日期: 2023-02-17

基金项目: 河南省重点研发专项 (项目编号: 221111110700); 河南省农业科学院科技创新团队“特色花木种质创新与利用”项目 (项目编号: 2023TD35); 河南省科技兴林项目 (文件号: 豫财环资 [2022]28 号); 河南省基本业务费项目 (项目编号: 2021JB01001、2022JB02001)

* 通讯作者: 沈植国, 博士, 正高级工程师。主要研究方向: 特色花木与经济林遗传育种及高效培育。电话: 0371-632103129。Email: 93611621@qq.com

梅以内花被片颜色分为素心品种群 (Concolor Group)、晕心品种群 (Intermedius Group) 以及红心品种群 (Patens Group)^[10], 同时, 红花蜡梅新品种‘鸿运’中花被片大多数为紫红色, 伴有极少数红黄色中花被片, 系首次发现的中花被片为红色的蜡梅品种^[11], 作为新花色类型, 其嫩梢挥发性成分已开展过相关研究^[12], 而花被片类黄酮代谢成分与传统品种的差异尚不清楚。

本研究以分别代表不同花色类型的红花蜡梅、红心蜡梅、素心蜡梅 3 个栽培品种‘鸿运’蜡梅 (*C. praecox* ‘Hongyun’)、‘豫香’蜡梅 (*C. praecox* ‘Yuxiang’)、‘鄢陵素心’蜡梅 (*C. praecox* ‘Yanlingsuxin’) 初花期花朵为材料, 将中、内花被片分开取样, 基于超高效液相色谱串联质谱 (UPLC-MS/MS) 技术, 开展靶向类黄酮检测, 分析不同花色类型花被片类黄酮物质差异, 并进行功能注释与代谢通路分析, 为解析不同花色类型蜡梅花被片呈色物质及类黄酮代谢途径提供参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

采集红花蜡梅 (中、内花被片均为红色)、红心蜡梅 (中花被片黄色、内花被片红色)、素心蜡梅 (中、内花被片均为黄色) 3 个品种初花期花朵 (图 1), 及时将中、内花被片分开取样, 液氮处理后放入 -80 °C 冰箱保存。3 个品种 6 个处理, 每个处理 3 个重复, 共计 18 个样。样品信息见表 1。

1.2 样品提取

将真空冷冻干燥的花被片研磨至粉末状 (研磨仪型号: MM400, Retsch, 参数: 30 Hz, 1.5 min); 称取 100 mg 粉末溶解于 1.0 mL 70% 的甲醇水溶液中, 置于 4 °C 条件下过夜; 离心取上

表 1 样品编号信息

Table 1 Sample number information

花色类型 Flower color types	组织部位 Tissue	样本名称 Sample name
红花蜡梅 (RW)	中花被片	RWM-1、2、3
	内花被片	RWI-1、2、3
红心蜡梅 (PW)	中花被片	PWM-1、2、3
	内花被片	PWI-1、2、3
素心蜡梅 (CW)	中花被片	CWM-1、2、3
	内花被片	CWI-1、2、3

清 (转速 10 000 g, 10 min), 微孔滤膜过滤 (孔径 0.22 μm), 用于后续分析。

1.3 色谱质谱采集条件

按照高渐飞等检测黑老虎果实营养成分的条件^[13]。

1.4 代谢物定性与定量

利用质谱的一级谱和二级谱, 基于相关代谢物数据库进行定性分析^[14]。利用三重四级杆的质谱多反应监测 (MRM) 进行定量分析, 首先筛选目标物质的母离子, 经碰撞室诱导电离后形成碎片离子, 由三重四级杆过滤出特征碎片离子, 获得不同样本的代谢物质谱峰, 并对同一代谢物在不同样本中的质谱峰进行峰面积积分校正^[15]。

1.5 信息分析流程

包括数据前处理、统计分析及功能分析。其中数据前处理包括代谢物定性定量分析、样本质控分析、主成分分析 (PCA) 和层次聚类分析 (HCA); 数据合格后进行统计分析, 包括正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)、差异倍数分析 (Fold Change) 等; 筛选出差异代谢物后进行差异代谢物功能注释和代谢通路分析。

2 结果与分析

2.1 代谢物定性定量分析

经分析, 本实验中共检测到 82 种代谢物, 包括 2 种查耳酮、7 种二氢黄酮、14 种黄酮、2 种异黄酮、6 种二氢黄酮醇、41 种黄酮醇、7 种花青苷、3 种黄烷醇, 其中主要成分为槲皮素类的黄酮醇及黄酮化合物。按照植物类黄酮主要合成途径, 花被片代谢物中的芦丁等黄酮醇类化合物属黄酮醇支路; 矢车菊素 3-O-葡萄糖苷等花青苷类化合物属花青素支路; 表儿茶素等黄烷醇类物质属黄烷醇支路; 五羟黄酮等黄酮类物质属黄酮支路; 异黄酮



图 1 红花蜡梅、红心蜡梅、素心蜡梅初花期及盛花期表型
Fig. 1 Phenotype of flowers of Rubrum, Patens, and Concolor wintersweet (RW, PW, and CW) at the early and full flowering stage

类化合物属异黄酮支路。其中查耳酮、二氢黄酮和二氢黄酮醇是植物类黄酮生物合成途径的中间产物。根据代谢物种类,表明蜡梅花被片类黄酮合成途径中几种主要支路可能均含有。

2.2 样本质控分析

在仪器分析的过程中,每 10 个检测样本中插

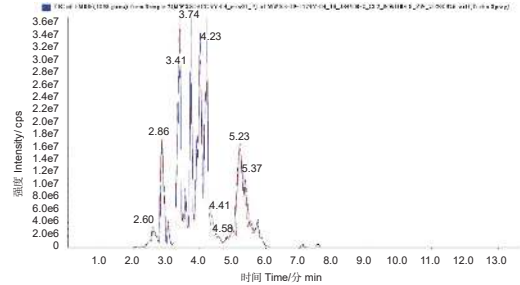
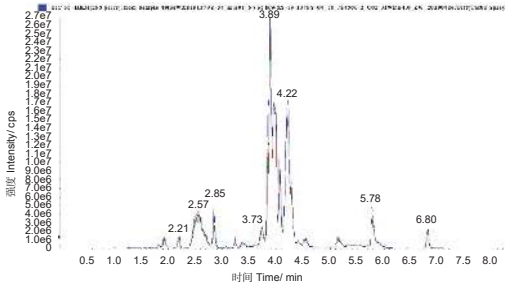


图 2 QC 样本检测 TIC 的叠加图 (正、负离子模式)

Fig. 2 TIC superposition diagram of QC samples detected (positive and negative ion mode)

2.3 样品主成分分析与聚类分析

PCA 分析可显示各组分离趋势及组间是否存在差异^[16], 样品 PCA 见图 3。R 软件 (www.r-project.org/) 对不同样本的 HCA 见图 4。PCA 和 HCA 可初步了解组间的差异和组内的变异度大小, 图中 18 个样本被清晰地分为 6 组, 同组内 3 个样品被聚到一起, 表明样品重复性好, 组内具有一致性, 相距较近; 组间具有差异性, 相距较远。

2.4 差异代谢物分组正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)

为深入研究红、黄花被片代谢物差异, 将 6 个

处理分为 5 个比较组, 分别为 PWM vs PWI、PWM vs RWM、CWI vs PWI、CWI vs RWI、CWM vs RWM。根据 OPLS-DA 模型进一步展示各分组间代谢物差异^[17]。5 个比较组的 OPLS-DA 得分见图 5。依据变量投影重要度 (Variable Importance in the projection, VIP 值, 即差异代谢物在样本分类判别中的影响强度) 可对差异代谢物进行分析和筛选。

2.5 差异代谢物筛选

不同处理间的差异代谢物可基于 OPLS-DA 获得的 VIP 值进行初步筛选, 同时结合单变量分析

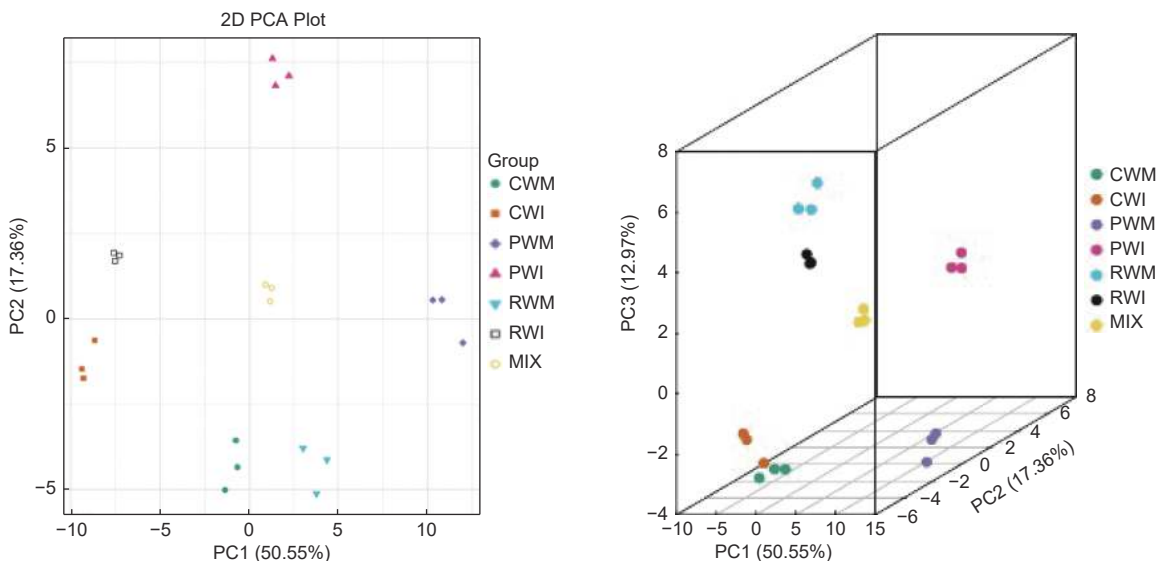


图 3 样品质谱数据的 PCA 得分图 (MIX 为质控样本)

Fig. 3 PCA score of samples mass spectrometry data (MIX are the quality control samples)

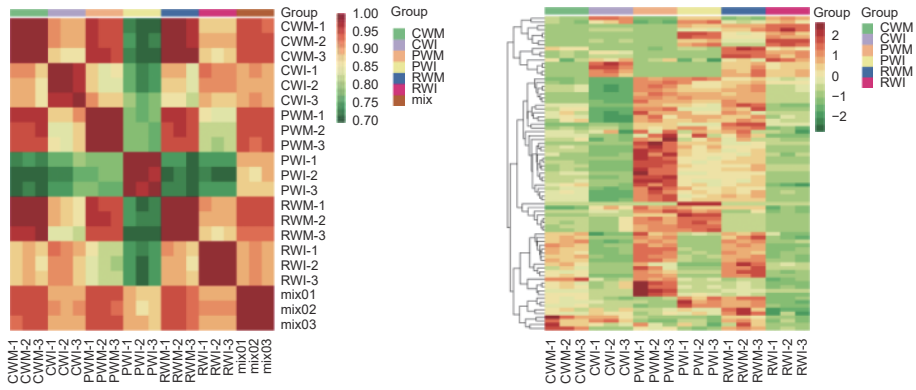


图 4 样品间相关性图和 HCA 图

Fig. 4 Samples correlation diagram and HCA diagram

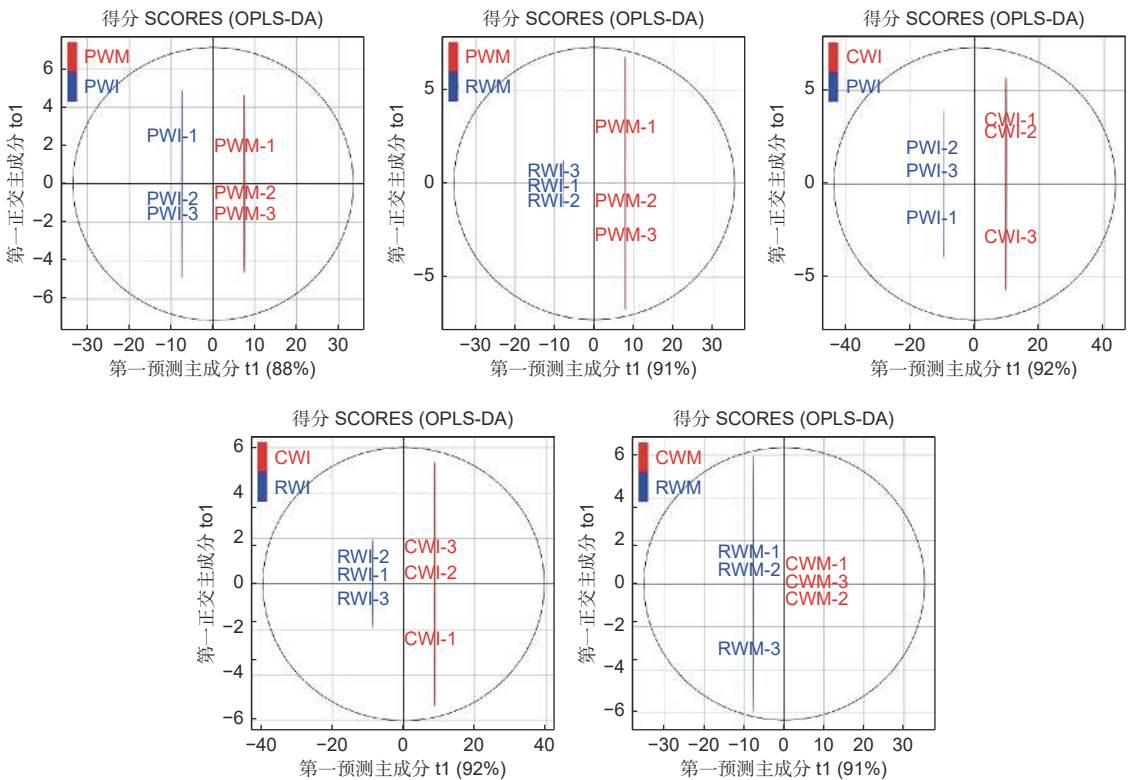


图 5 5 个比较组 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score chart of 5 comparison groups

的差异倍数或 P 值进一步筛选。筛选标准为: 差异倍数 ≥ 2 及 ≤ 0.5 的代谢物; 对生物学重复样品在上述差异倍数基础上, 选取 $VIP \geq 1$ 的代谢物。统计各分组差异代谢物数量 (表 2), 通过维恩图可展示各组差异代谢物之间的关系 (图 6)。

根据差异代谢物筛选结果, 以上 5 组共有差异代谢物分别为: 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-半乳糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖醛酸苷 (2 \rightarrow 1)-葡萄糖醛酸苷 4 种, 均表现为在红色花被片中含量高。4 种物种

中 3 种为花青素类矢车菊苷, 而矢车菊苷为显红色的代谢物, 说明蜡梅红、黄花被片主要差异代谢物为矢车菊苷。

2.6 差异代谢物 KEGG 功能注释与富集分析

KEGG (<https://www.genome.jp/kegg>) 是系统分析基因产物功能及其代谢途径的综合性数据库^[18]。对不同分组差异显著代谢物进行 KEGG 注释和 KEGG 通路富集, 5 个比较组差异代谢物 KEGG 富集图见图 7, 图中点的大小表示富集到的差异显著代谢物的个数, 富集因子 (Rich factor)

表 2 5 个比较组中差异代谢物数量

Table 2 Number of differential metabolites in 5 comparison groups

5 个比较组 5 comparison groups	差异显著代谢物数量 Number of differential metabolites	下调数量 Down-regulation quantity	上调数量 Up-regulation quantity
PWM vs PWI	19	10	9
PWM vs RWM	22	9	13
CWI vs PWI	27	6	21
CWI vs RWI	19	2	17
CWM vs RWM	18	0	18

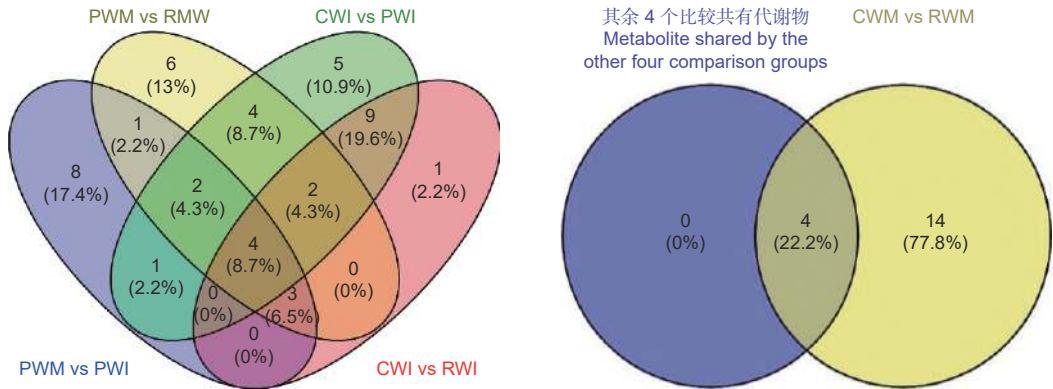


图 6 5 个比较组中差异代谢物维恩图

Fig. 6 Venn diagrams of differential metabolites in 5 comparison groups

越大富集程度越大, P 值越接近于 0 富集越显著。

由图 7 可知: 矢车菊苷所在的花青素代谢通路富集程度在 5 个比较组中均表现为最大且最显著。结合维恩图及各分组花青素类差异代谢物, 表明矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-芸香糖苷和矢车菊素-3-O-半乳糖苷 3 种矢车菊苷是蜡梅红、黄花被片颜色差异的特征代谢物; 而蜡梅花被片中含量较高的黄酮醇类化合物, 并非红、黄花被片的差异代谢物, 红色花被片同样含有较高的黄酮醇类化合物; 红色花被片中, 因矢车菊苷的贡献, 呈现为红色, 黄色花被片中因黄酮醇类化合物的贡献呈现为黄色。根据类黄酮生物合成途径, 表明在蜡梅花被片中花青素支路和黄酮醇支路可能并非对共同底物二氢黄酮醇的竞争关系。

3 讨论

关于蜡梅花被片类黄酮化合物成分研究, 葛雨萱等^[7]、余莉^[8]、Yang 等^[9]在蜡梅红色内瓣中检测到了槲皮素-3-O-芸香糖苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷和槲皮素苷元 3 种黄酮醇和矢车菊素-3-O-葡萄糖苷和矢车菊素-3-O-芸香糖苷 2 种花青苷; 在黄色外瓣中检测到了相同的 3 种黄酮醇。Li 等^[19]从蜡

梅花中分离出 8 个化合物, 包括槲皮素、山奈酚、芦丁 3 个类黄酮化合物和 3,4-dihydroxy benzoic acid、原儿茶醛 (protocatechualdehyde)、对-香豆酸 (*p*-coumaric acid)、对-羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde)、4-hydroxycinnamic aldehyde 5 个苯丙素类 (phenylpropanoids) 化合物。Tsukasa 等^[20]在蜡梅花中鉴定出了 3 种花青苷 (矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、酰化矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素糖苷) 和 5 种黄酮醇 (槲皮素-3-O-芸香糖苷 (芦丁)、槲皮素-3-O-葡萄糖苷 (异槲皮苷)、山奈酚-3-O-芸香糖苷 (烟花苷)、槲皮素-3-O-芸香糖苷-7-O-葡萄糖苷和槲皮素)。周明芹等^[21]通过颜色反应和紫外-可见光谱认为, 蜡梅花被片类黄酮化合物包括橙酮或/和查耳酮、二氢黄酮或/和二氢黄酮醇, 内花被片还含有花色苷及其苷类。本研究共检测到 82 种化合物, 除了之前报道的黄酮醇支路和花青素支路外^[9], 其他代谢产物表明蜡梅花被片类黄酮代谢途径中, 还可能包括黄酮支路、异黄酮支路和黄烷醇支路。

植物的类黄酮合成途径中, 首先合成二氢黄酮类的柚皮素或松属素, 而后进一步通过不同分支途径合成黄酮、异黄酮、黄酮醇、花青素和黄烷醇

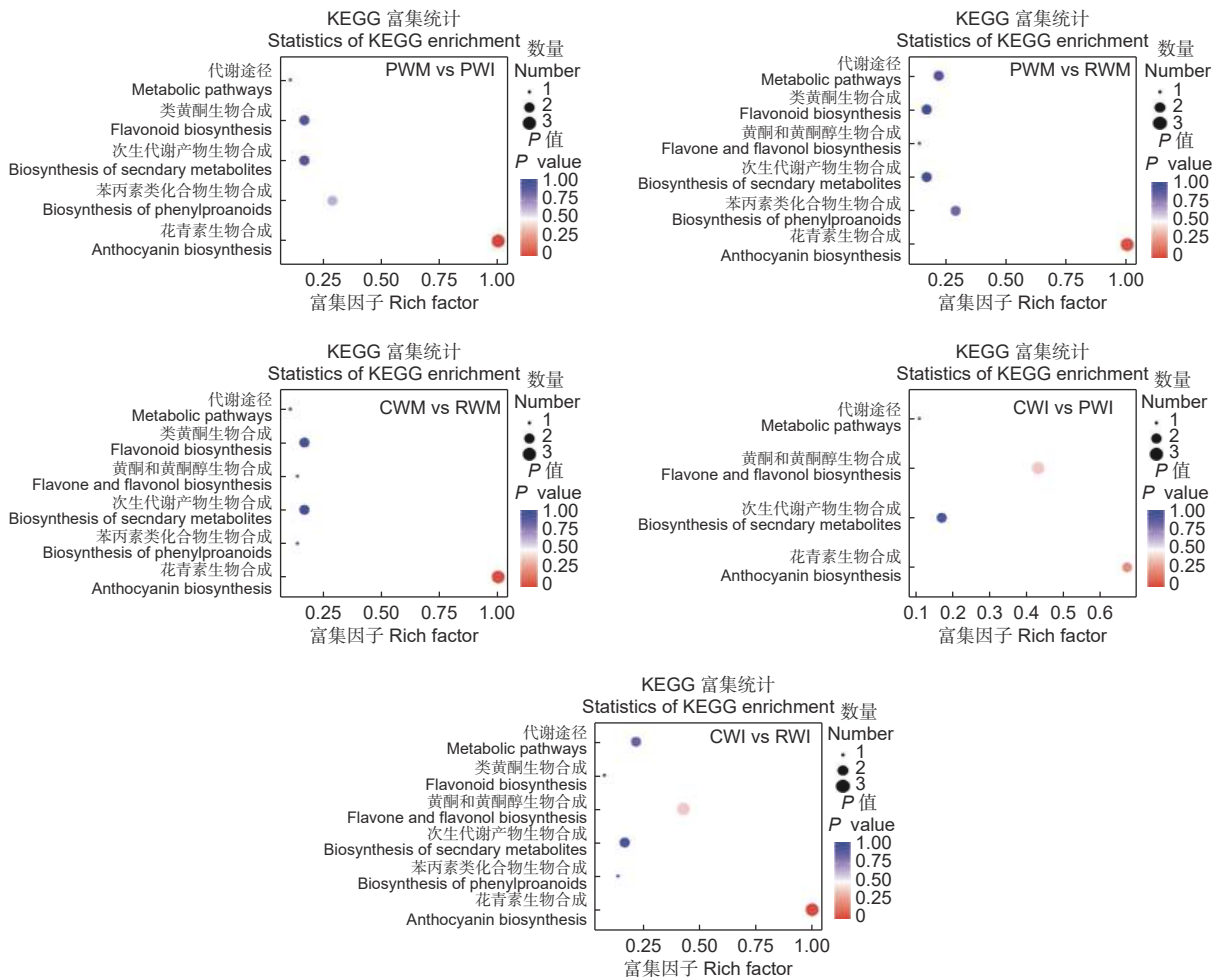


图 7 5 个比较组中差异代谢物 KEGG 富集图

Fig. 7 KEGG enrichment diagram of differential metabolites in 5 comparison groups

等^[22]。代谢组学证实, 蜡梅红色花被片特征代谢物为矢车菊苷。花青素合成途径在主要模式植物中已经很清楚^[23], 花青素合成途径和黄酮醇合成途径是类黄酮途径中的 2 条支路, 二者共用相同的底物二氢黄酮醇。本研究表明, 蜡梅红色花被片类黄酮物质除了花青苷类外, 还包括黄酮醇类化合物, 黄酮醇类化合物在红、黄花被片中未显示出规律性变化, 表明在蜡梅花被片类黄酮生物合成途径中花青素支路和黄酮醇支路可能不是对共同底物二氢黄酮醇的竞争关系, 这和 Yang 等^[9]的研究结论一致。

类黄酮化合物中, 查耳酮类、橙酮和黄酮醇类是一类黄色色素, 在一些植物中已见报道^[5]。花青苷是一类水溶性的类黄酮化合物, 广泛存在于植物的各种器官中, 使这些器官呈现出红、蓝、紫等不同的颜色^[24]。本研究对 6 组样的花青素相对含量进行分析, 表明红色花被片 (红花蜡梅中、内花被片

及红心蜡梅内花被片) 中矢车菊素 3-O-半乳糖苷、矢车菊素 3-O-葡萄糖糖苷、矢车菊素 3-O-芸香糖苷 3 种矢车菊苷含量显著高于黄色花被片。除矢车菊苷外, 7 种花青苷中还包括芍药花素苷、飞燕草素苷、矮牵牛素苷等, 但在红、黄花被片中无显著差异, 这些物质在以往蜡梅花色物质研究中未见报道。结合本实验类黄酮化合物检测结果及已有研究报道, 进一步证实了蜡梅黄色花被片呈色物质主要为黄酮醇类化合物, 红色花被片呈色物质主要为矢车菊苷。与以往研究相比, 本研究中红色花被片特征代谢物矢车菊苷还可能包括之前未报道过的矢车菊素 3-O-半乳糖苷, 与新检测到的芍药花素、飞燕草素类化合物等可能是检测方法不同所造成, 但均表明矢车菊苷是蜡梅花被片呈红色的特征代谢物, 下一步可通过高效液相色谱 (HPLC) 等方法测定 3 种矢车菊苷及飞燕草素类化合物等的绝对含量。

4 结 论

本研究选取的 3 个花色品种代表了蜡梅不同的花色类型, 靶向类黄酮代谢组检测与分析表明, 蜡梅花被片类黄酮生物途径除已报道的黄酮醇支路和花青素支路外, 还可能包括黄酮支路、异黄酮支路和萜烷醇支路; 在蜡梅花被片类黄酮生物合成途径中, 花青素支路和黄酮醇支路可能不是对共同底物的竞争关系; 矢车菊苷是蜡梅花被片呈红色的特征代谢物, 包括矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-芸香糖苷和矢车菊素-3-O-半乳糖苷。研究结果为进一步解析不同花色类型蜡梅花被片呈色物质及类黄酮代谢途径提供了参考。

参 考 文 献:

[1] 唐 毓, 李 丽, 周平和, 等. 天然植物中黄酮类化合物的研究进展[J]. 现代畜牧兽医, 2016 (5): 45-50.

[2] 冯 欢, 易姝利, 左佳琦, 等. 基因工程及花色素合成途径在花色改良中的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2014, 33 (2): 445-451.

[3] KUMAR S, PANDEY A K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview[J]. Scientific World Journal, 2013, 2013: 162750.

[4] FALCONE FERREYRA M L, RIUS S P, CASATI P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications[J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 3: 222.

[5] TSUKASA I. Contribution to flower colors of flavonoids including anthocyanins: a review[J]. Natural Product Communications, 2015, 10(3): 529-544.

[6] WINKEL-SHIRLEY B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology[J]. Plant Physiology, 2001, 126(2): 485-493.

[7] 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.

[8] 余 莉. 蜡梅花挥发性组分与花色色素分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.

[9] YANG N, ZHAO K, LI X, et al. Comprehensive analysis of wintersweet flower reveals key structural genes involved in flavonoid biosynthetic pathway[J]. Gene, 2018, 676: 279-289.

[10] 陈龙清. 蜡梅科植物研究进展[J]. 中国园林, 2012, 28 (8): 49-53.

[11] 沈植国, 张 琳, 袁德义, 等. 蜡梅花色及其红花新资源研究进展[J]. 园艺学报, 2022, 49 (4): 924-934.

[12] 沈植国, 孙 萌, 袁德义, 等. 蜡梅科6种植物嫩梢挥发性成分的HS-SPME-GC-MS分析[J]. 园艺学报, 2020, 47 (12): 2349-2361.

[13] 高渐飞, 周 玮, 熊康宁, 等. 基于代谢组学分析黑老虎果实营养成分及不同部位富集差异[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48 (11): 268-275.

[14] WISHART D S, JEWISON T, GUO A C, et al. HMDB 3.0-The Human Metabolome Database in 2013[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(D1): D801-807.

[15] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, et al. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics[J]. Anal Chem, 2010, 82(10): 4165-4173.

[16] CHEN Y H, ZHANG R P, SONG Y M, et al. RRLC-MS/MS-based metabolomics combined with in-depth analysis of metabolic correlation network: finding potential biomarkers for breast cancer[J]. The Analyst, 2009, 134(10): 2003-2011.

[17] THÉVENOT E A, ROUX A, XU Y, et al. Analysis of the Human Adult Urinary Metabolome Variations with Age, Body Mass Index, and Gender by Implementing a Comprehensive Workflow for Univariate and OPLS Statistical Analyses[J]. Journal of proteome research, 2015, 14(8): 3322-3335.

[18] Kanehisa M, Araki M, Goto S, et al. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36(Database issue): D480-484.

[19] LI H Z, ZHANG Y Q, LIU Q, et al. Preparative separation of phenolic compounds from *Chimonanthus praecox* flowers by high-speed counter-current chromatography using a stepwise elution mode[J]. Molecules, 2016, 21(8): 1016.

[20] TSUKASA I, FUMIHIRO K, JUNICHI K. Anthocyanins and flavonols of *Chimonanthus praecox* (Calycanthaceae) as flower pigments[J]. Journal of Japanese Botany, 2001, 76(3): 166-172.

[21] 周明芹, 陈龙清. 蜡梅花色素种类的初步分析[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29 (1): 107-110.

[22] 邹丽秋, 王彩霞, 匡雪君, 等. 黄酮类化合物合成途径及合成生物学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41 (22): 4124-4128.

[23] 高燕会, 黄春红, 朱玉球, 等. 植物花青素苷生物合成及调控的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2012, 32 (8): 94-99.

[24] 庄维兵, 刘天宇, 束晓春, 等. 植物体内花青素苷生物合成及呈色的分子调控机制[J]. 植物生理学报, 2018, 54 (11): 1630-1644.

Metabonomic Analysis of Targeted Flavonoids for Tepals of Different Flower Color Types of Wintersweet

SHEN Zhi-guo^{1,2}, CHENG Jian-ming^{2,3}, WU Fang-fang³, DING Xin^{1,2}

(1. Henan Academy of Forestry, Zhengzhou 450008, Henan, China; 2. National Innovation Alliance of Wintersweet, Zhengzhou 450008, Henan, China; 3. Henan Colorful Horticulture Co., Ltd, Zhengzhou 450000, Henan, China)

Abstract: [Objective] Targeted flavonoid metabolome detection and analysis were carried out to provide reference for further analysis of color substances and flavonoid metabolism pathway in the tepals of different flower color types of wintersweet using the middle and inner tepals of three cultivars of Rubrum wintersweet, Patens wintersweet, and Concolor wintersweet at early flowering stage. [Methods] UPLC-MS/MS was used to detect the middle and inner tepals of three wintersweet cultivars, and the qualitative and quantitative analysis of metabolites, sample quality control analysis, PCA, HCA, OPLS-DA, KEGG functional annotation and enrichment analysis of differential metabolites were used to explore the differences of flavonoid metabolites in the tepals of different flower color types. [Results] A total of 82 metabolites were detected in wintersweet tepals, including chalcone, dihydroflavone, flavone, isoflavone, dihydroflavonol, xanthone alcohol, anthocyanin, flavanol; In addition to anthocyanins, the flavonoids in the red tepal of wintersweet also included flavonol compounds, which did not show regular changes in the red and yellow tepals; In the five comparison groups of wintersweet red tepals and yellow tepals, the enrichment of anthocyanin metabolic pathway was the largest and most significant. [Conclusion] Besides the main flavonol branch and anthocyanin branch, the flavone branch, isoflavone branch, and procyanidin branch may also be included in the flavonoid biosynthesis pathway of wintersweet tepals; The anthocyanin branch and flavonol branch may not compete for the common substrate in the flavonoid biosynthesis pathway of the red tepals of wintersweet; Cyanidin glycosides are the characteristic metabolites of the red tepals in wintersweet, including cyanidin 3-O-glucoside, cyanidin 3-O-rutinoside, and cyanidin 3-O-galactoside.

Keywords: wintersweet; tepal; flavonoids; metabolite

(责任编辑: 张 研)