

石蒜属种质资源花色多样性与花色苷相关性分析

廖望仪¹, 沈芳杰², 周洋丽², 薛惠敏², 郑正权², 高燕会^{2,*}

¹浙江物产长乐创龄生物科技有限公司, 杭州311123

²浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州311300

*通信作者(gaoyanhui408@126.com)

摘要: 石蒜属植物花型花色丰富, 花色苷是影响石蒜属植物花色多样性的重要因素之一, 以石蒜属种质资源为研究对象, 利用RHSCC比色卡和色差仪、HPLC分析了石蒜属植物花色种类及花色苷成分。结果表明, 83份石蒜属植物可分为8个色系, 花瓣呈色的主要成分为矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷, 飞燕草素葡萄糖苷次之, 天竺葵素双葡萄糖苷最少。CIE *Lab*参数和花色苷含量的皮尔逊相关性分析将石蒜属植物种质资源分为浅色系和深色系两大类群, 浅色系总花色苷含量(TA)和矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷与测色参数无显著相关性; 飞燕草素葡萄糖苷与黄度值(b^*)和彩色值(C^*)呈显著负相关; 天竺葵素双葡萄糖苷与亮度值(L^*)和红度值(a^*)呈极显著负相关。深色系总花色苷含量(TA)较高, 与 L^* 极显著负相关, 与 a^* 呈显著相关性, 与 b^* 和 C^* 呈极显著正相关; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷与 L^* 极显著负相关, 与 a^* 呈显著相关性, 与 b^* 和 C^* 呈极显著正相关。研究结果可为研究石蒜属植物花色多样性形成机理和花色形成机制奠定基础。

关键词: 石蒜属; 花色多样性; 花色苷; 相关性

Correlation analysis of flower color diversity and anthocyanins in *Lycoris* germplasm resources

LIAO Wangyi¹, SHEN Fangjie², ZHOU Yangli², XUE Huimin², ZHENG Zhengquan², GAO Yanhui^{2,*}

¹Zhejiang Products Changle Chuangling Biotechnology Co., Ltd, Hangzhou 311300, China

²State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

*Corresponding author (gaoyanhui408@126.com)

Abstract: *Lycoris* genus is rich in flower types and colors, and anthocyanins are one of the important factors affecting the flower color diversity of *Lycoris*. In this study, RHSCC colorimetric card and color difference meter were used to classify the flower color of *Lycoris* plants, and HPLC was used to study the components and species of anthocyanins, so as to further analyze the relationship between flower color diversity and anthocyanins of *Lycoris* plants. The results showed that the RHSCC and CIE LAB color measurement system could divide 83 *Lycoris* accessions 8 color respectively. Cyanidin-3-*O*-glucoside and delphinidin glucoside was the main component of petals of *Lycoris* accessions, the second was delphinidin glucoside, and the last was pelargonidin diglucoside. *Lycoris* germplasm resources were divided into two groups light color series and dark series by CIE Pearson correlation analysis of lab parameters and anthocyanins content. The first group light color series, whose total anthocyanin content (TA) and cyanidin-3-*O*-glucoside had no significant correlation with color measurement parameters; and delphinidin glucoside had a significant neg-

收稿 2021-01-15 修定 2021-07-15

资助 浙江省“十四五”科技计划(2021C02071-6)、浙江省“十三五”科技计划(2016C02056-13)、国家级大学生创新创业训练计划(201810341005)和国家自然科学基金(31670696)。

ative correlation with b^* and C^* . Pelargonidin diglucoside had a very significant negative correlation with L^* and a^* , and the significant correlation between L^* and C^* . In the second group dark series group, TA content was negatively correlated with L^* , significantly correlated with a^* and positively correlated with b^* and C^* ; cyanidin-3-*O*-glucoside was negatively correlated with L^* , significantly correlated with a^* , and positively correlated with b^* and C^* . The results can lay a foundation for the study on the formation mechanism of flower color diversity and flower color formation mechanism of *Lycoris* genus.

Key words: *Lycoris* genus; flower color diversity; anthocyanin; correlation

石蒜属(*Lycoris* Herb)为石蒜科(Amaryllidaceae)多年生球宿根类植物,为东亚特有属,全世界约有20种(孟盼盼2009),在我国有15个种和1个变种,形态美丽、花色多样,且便于栽培,已被广泛用作园林绿化或林下地被花卉、花境丛植或山石间自然式栽植的观赏植物,冬赏叶,秋赏花。此外,由于石蒜属植物种球含有丰富的次生代谢物质,具解毒、祛痰、利尿、催吐等功效,可作药用植物治疗多种疾病(赵天容等2008)。

石蒜属植物花色丰富多彩,有红色系、黄色系和白色系,还有各色相间的复色系,且通过种间和种内杂交形成了更多紫红色或红黄复色的品系,大大丰富了石蒜属植物种质资源的观赏性。然而,关于石蒜属植物花色相关的报道仅对其中石蒜和换锦花的花色形成相关结构基因和调控基因的初步研究(黄春红等2013; 蒋婷婷等2015; 许振渊2014; 侯朔等2019),但对花色花型丰富多彩的石蒜属植物花瓣的呈色与花色苷的相关性并未进行深入研究探讨。

花色是观赏植物重要性状之一,多年来常用英国皇家园艺学会比色卡(RHSCC)和分光色差体系(CIE Lab)对多种观赏植物花瓣的花色性状进行精细分类,并对花瓣的光吸收模式分析和研究,能够对观赏植物的花色多样性进行评价。随着液相色谱技术的发展和扩展应用,高效液相色谱技术(HPLC)和质谱技术(MS)应用于多种观赏植物花色苷种类及含量的研究,进一步解析了花色呈色的化学机理,发现花色多样性和花色素的种类和含量相关性极大;如月季种质资源呈色花色苷主要是矢车菊-3,5-双葡萄糖苷和天竺葵-3,5-双葡萄糖苷;花青苷种类和含量和花瓣颜色的深浅呈正相关(王峰等2017);决定贴梗海棠花色多样性的主要

花色苷为矢车菊素-3-*O*-半乳糖苷、天竺葵素-3-*O*-半乳糖葡萄糖苷和矢车菊-3-*O*-琥珀酸-阿拉伯糖苷,且随着这三种花色苷含量的增加,贴梗海棠的花色显著变红(张洁等2011);葡萄糖苷元、鼠李糖苷元和或阿拉伯糖苷的矢车菊素是红色观赏向日葵花瓣显示红色的化学基础(张圆圆等2008)。此外对牡丹(杨琴等2015; 华梅等2017)、风信子(李霞等2020)和耐寒睡莲(朱满兰等2012)等观赏植物的花色呈色的结果为研究植物花色素代谢途径特性及花色苷的分布特点奠定了理论和技术基础。为了进一步探讨石蒜属植物花色多样性的化学基础,本研究采用RHSCC比色卡、色差仪对石蒜属植物花色表型进行分类,并利用HPLC技术进一步研究其花色苷成分和种类,解析石蒜属植物花色多样性和花色变异的花色苷的相关性,可为石蒜属植物花瓣呈色的分子机制和花色的分子育种研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 花瓣采集与处理

试验材料种植于浙江农林大学石蒜属植物种质资源圃,于2018年7-9月石蒜属植物盛花期,选择生长健康的植株,拍照记录石蒜属植物花形态和颜色,采集盛花期石蒜属植物花瓣试验材料83份(表1),每份3~5朵花瓣保存于保鲜袋,记录样品花色与编号,于-80℃冰箱保存备用。

1.2 比色和测色方法

使用英国皇家园艺学会比色卡(Royal Horticultural Society Colour Chart, RHSCC)对石蒜属植物花瓣颜色初步测量。在自然光照条件下,将花瓣正面中间部位与RHSCC卡对比,根据比色卡的范围值,用比色卡上最接近花色的代码表示花瓣的

表1 83份石蒜属种质资源信息
Table 1 Information of 83 *Lycoris* germplasm resources

编号	品种	花色	RHSCC	编号	品种	花色	RHSCC
1	乳白石蒜-1 (<i>L. albiflora</i> Koidz. -1)	白色	155B	43	长筒石蒜(<i>L. longituba</i>)	紫红色	69A
2	乳白石蒜-2 (<i>L. albiflora</i> -2)	白色	155B	44	长筒石蒜(<i>L. longituba</i>)	黄橙色	14D
3	乳白石蒜-3 (<i>L. albiflora</i> -3)	白色	155A	45	J-13 (<i>L. ohsumi</i>)	黄橙色	17A
4	乳白石蒜-4 (<i>L. albiflora</i> -4)	白色	155A	46	白花石蒜 (<i>L. radiata</i>)	白色	155B
5	乳白石蒜-5 (<i>L. albiflora</i> -5)	白色	155C	47	白花石蒜(<i>L. radiata</i>)	白色	NN155A
6	乳白石蒜-6 (<i>L. albiflora</i> -6)	白色	N155B	48	白花石蒜 (<i>L. radiata</i>)	白色	N155C
7	乳白石蒜-7 (<i>L. albiflora</i> -7)	白色	N155C	49	石蒜[<i>L. radiata</i> (L'Her.) Herb.]	红色	50D
8	乳白石蒜-8 (<i>L. albiflora</i> -8)	白色	NN155D	50	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	44B
9	乳白石蒜-9 (<i>L. albiflora</i> -9)	白色	N155D	51	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	45C
10	品种1 (<i>L. hayspernigo</i>)	白色	155A	52	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	49A
11	品种1 (<i>L. hayspernigo</i>)	白色	N155D	53	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	43C
12	乳白-11 (<i>L. albiflora</i> -11)	白色	155A	54	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	44D
13	乳白-17 (<i>L. albiflora</i> -17)	白色	155A	55	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	42B
14	乳白-18 (<i>L. albiflora</i> -18)	白色	NN155A	56	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	51A
15	乳白-16 (<i>L. albiflora</i> -16)	白色	NN155A	57	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	39A
16	乳白(<i>L. albiflora</i>)	黄色	8B	58	石蒜(<i>L. radiata</i>)	红色	45A
17	乳白5-5 (<i>L. albiflora</i> 5-5)	黄色	5D	59	石蒜(昌化) [<i>L. radiata</i> (Changhua)]	红色	45B
18	乳白2-3 (<i>L. albiflora</i> 2-3)	黄色	5C	60	石蒜(早花) [<i>L. radiata</i> (early flower)]	红色	44B
19	乳白2-1 (<i>L. albiflora</i> 2-1)	黄色	5D	61	石蒜1-5 (<i>L. radiata</i> 1-5)	红色	52D
20	乳白石蒜(<i>L. albiflora</i>)	黄色	2D	62	石蒜×换锦花 (<i>L. radiata</i> × <i>L. sprengeri</i> Comes ex Baker)	红色	54A
21	乳白2-1 (<i>L. albiflora</i> 2-1)	黄色	6D	63	换锦花sp5-1 (<i>L. sprengeri</i> sp5-1)	白色	155C
22	乳白(<i>L. albiflora</i>)	黄橙色	20B	64	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	红色	38B
23	乳白石蒜(<i>L. albiflora</i>)	灰黄色	160D	65	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	红色	38B
24	乳白石蒜1-4 (<i>L. albiflora</i> 1-4)	白色	NN155C	66	换锦花(江苏) [<i>L. sprengeri</i> (Jiangsu)]	红色	38A
25	忽地笑[<i>L. aurea</i> (L'Her. Herb.)]	黄色	4B	67	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	65A
26	忽地笑(<i>L. aurea</i>)	黄色	4C	68	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	65B
27	忽地笑(<i>L. aurea</i>)	黄橙色	17A	69	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	73D
28	忽地笑(<i>L. aurea</i>)	黄橙色	15A	70	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	68A
29	忽地笑(<i>L. aurea</i>)	橙色	25D	71	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	68B
30	中国石蒜(<i>L. chinensis</i> Traub)	紫红色	58C	72	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	70D
31	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄色	5D	73	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	65A
32	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄色	5D	74	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	63C
33	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄橙色	21C	75	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	紫红色	69B
34	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄色	17B	76	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄橙色	17A
35	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄橙色	17A	77	换锦花(<i>L. sprengeri</i>)	灰紫色	186B
36	中国石蒜(<i>L. chinensis</i>)	黄橙色	21A	78	换锦花-1 (<i>L. sprengeri</i> -1)	灰紫色	186C
37	中国石蒜×石蒜(<i>L. chinensis</i> × <i>L. radiata</i>)	橙色	29C	79	换锦花×石蒜(<i>L. sprengeri</i> × <i>L. radiata</i>)	紫红色	N66D
38	乳白石蒜(<i>L. hayspernigo</i>)	白色	N155D	80	夏水仙(<i>L. squamigera</i> Maxin)	白色	N155B
39	品种3 (<i>L. hayspernigo</i>)	白色	155A	81	夏水仙(<i>L. squamigera</i>)	紫红色	65B
40	香石蒜(<i>L. incanata</i> Comes ex C. Sprenger)	紫红色	62A	82	红蓝石蒜(<i>L. haywardii</i>)	红色	50B
41	长筒石蒜 (<i>L. longituba</i> Y. Xu et G. J. Fan)	黄色	56D	83	矮小石蒜(<i>L. radiata</i> var. <i>pumila</i>)	紫红色	58C

RHSCC值, 确定其所属色系范围和编号(Voss 1992; Wang等2004)。

采用分光色差仪(NF333, Nippon Denshoku Industries Co. Ltd., Japan, 光源C/2°), 按CIE表色系统测定盛花期花瓣颜色。每个单株选取3朵花, 每朵取新鲜典型花瓣5个, 将花瓣正面朝上, 平放于干净的白纸上, 将集光口对准花瓣长宽十字交叉的位置(非色斑部分)进行测量, 最终取测量的平均值代表花的颜色。记录亮度(L^*)、红度(a^*)和黄度(b^*)值, 并根据 a^* 和 b^* 值, 计算彩度(C^*)和色相角(h°)。 $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$; $h^\circ=\arctan(b^*/a^*)$ 。花色 L^* 、 a^* 和 b^* 数据重复测定5次, 取平均值(王峰等2017)。

1.3 总花色苷含量测定

按照色系和资源类别兼顾的原则, 从83份石蒜属植物种质资源中随机筛选覆盖8个色系的21份样品进行总花色苷(total anthocyanins, TA)提取(霍琳琳等2005)。入选种质资源的花瓣样品在液氮条件下迅速研磨后称量(约0.2 g)。加入1.8 mL提取液(甲醇:浓盐酸=99:1), 每个样品做3个重复; 用封口膜封口后20°C超声30 min; 于6 037.2×g条件下, 离心15 min, 取上清; 每个样品分别取0.5 mL提取液于2个2 mL离心管中, 分别加入pH=1.0的KCl-HCl缓冲液和pH=4.5的乙酸钠-冰乙酸缓冲液0.5 mL, 充分摇匀, pH=1.0的样品室温避光静置50 min, pH=4.5的样品室温避光静置80 min。在酶标板中每孔加样200 μ L, 每个样品加3个孔, 以提取液(甲醇:浓盐酸=99:1)作空白对照, 于510和700 nm波长条件下检测其吸光度值。

花色苷含量计算公式:

$$A=(A_{510}-A_{700})_{\text{pH } 1}-(A_{510}-A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$C(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})=A\times MW\times D_F/(\epsilon\times l)$$

$$\text{花色苷质量分数}(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})=C\times V\times 1\,000\cdot m^{-1}$$

式中: A 为吸光度值, C 为花色苷浓度, MW 为矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷分子量(449.2 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), D_F 为稀释倍数(2), ϵ 为矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷摩尔消光系数(29 600 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$), l 为光程(cm), V 为花色苷提取液体积(L), m 为样品质量。

1.4 花色苷种类与含量的HPLC测定

上述样品的花色苷提取液, 使用Agilent 1200高效液相色谱系统(美国Agilent公司, 四元梯度泵,

自动进样器, 柱温箱, 二极管阵列检测器)在波长为510和280 nm处记录峰面积, 进行花色苷含量计算, 3次生物学重复取平均值(陈曦等2013)。分析条件: 色谱柱为Ultimate LP-C18, 4.6 mm×250 mm, 5 μ m。流动相A为甲醇溶液, 流动相B为1%甲酸(A:B=5%:95%)。柱温为30°C, 流速: 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量:10.00 μ L。37 min回到初始条件。采用标准品半定量法计算新鲜花瓣花青苷含量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)。

标准品矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷、天竺葵素双葡萄糖苷和飞燕草素-3-*O*-葡萄糖苷购于中国标准物质网。

1.5 数据分析

应用Microsoft Office Excel 2007及Origin 9.0进行数据整理及作图。利用PASW Statistics 18软件, 对测色参数 L^* 、 a^* 和 b^* 值进行标准化处理后, 采用Ward法进行聚类判别分析。对不同色系和不同类群的测色参数及花色苷成分进行方差分析, 并对两类数据进行皮尔逊(Pearson)相关性分析(王峰等2017)。

2 实验结果

2.1 石蒜属植物种质资源花色多样性

对83份石蒜属植物种质资源进行观察发现石蒜属植物的多样性表现在花色和花型上, 尤其表现在花色上。肉眼直接观察, 石蒜属植物的花色多样性表现为花瓣颜色的多样性, 有乳白色、橙黄色、红色、粉色、橙黄色等单色花, 也有红蓝、紫红、红白、紫红和紫罗蓝形成的复色花。

依据RHSCC比色卡测定花色结果(表1和2)可将83个石蒜属植物花色分为白色(23)>红色(19)>紫红色(16)>黄色(10)=橙黄色(10)>淡紫色(2)=橙色(2)>乳黄色(1) 8个色系, 其中白色系23个, 约占全部种质资源的1/4(表2)。

利用CIE Lab测色体系, 将石蒜属植物种质资源的测色参数 L^* 、 a^* 和 b^* 值标准化处理后聚类分析, 可将花瓣颜色分成8类, 即白色、粉色、乳白色、白偏粉、紫色、灰紫色、黄橙和红色(表3)。进一步多重比较分析发现, 8个色系之间的CIE Lab参数均存在显著差异($P<0.05$, 表3)。其中, 乳白色、白色和白偏粉等浅色系 L^* 值(亮度值)显著高于紫

表2 基于RSHCC比色卡测定的石蒜属植物
种质资源花色分类
Table 2 Flower color classification of *Lycoris*
germplasm resources based on RSHCC

色系	RSHCC	品种数量/个
白色	155A-NN155D	23
乳黄色	160D	1
橙色	25D-29C	2
黄色	2D-11C	10
橙黄色	14D-21C	10
红色	38A -56D	19
紫红色	58C-73D	16
淡紫色	186B-186C	2
总计		83

色、灰紫色、黄橙色、红色和粉色等深色色系,白色系的亮度最高,红色系的亮度最低;对于 a^* 值(红度值)而言,红色、黄橙色和紫色显著高于其他色系,而白色系最低;粉色、灰紫色和紫色的 b^* 值(黄度值)最低,黄橙色系的 b^* 值最高;黄橙色系的 C^* 值(彩度值)最大,其次为红色、紫色和乳白色,最小的是粉色、灰紫色和白色。这说明RHSCC比色卡和CIE *Lab*测色体系的测量结果可能会有差异。

2.2 石蒜属植物种质资源的花色表型多样性分析

在 a^* 和 b^* 二维象限图上(图1-A),石蒜属种质资源的花色主要集中分布在I、II、IV象限,在第III象限没有分布。集中在第I象限的数量最多,主要是乳白色、白偏粉、红色和黄橙色以及部分紫色和灰紫色系6个色系59个样品;5个白色色系样品

主要分布在第II象限;而部分灰紫、全部粉色和少量紫色共16个样品分布在第IV象限;接近原点位置主要分布的是白色和白偏粉2个色系。 a^* 和 L^* 呈负相关,即随着红度的增加,亮度逐渐减小(图1-B)。在 b^* 和 L^* 二维坐标图中(图1-C),所有色系的黄度和亮度之间并不存在明显的相关。不同色系的彩度值 C^* 与亮度值 L^* 之间存在相关性(图1-D)。根据 C^* 和 L^* 在二维坐标图的分布,可将其分为2个类群:第1类群 L^* 值随 C^* 值增大而变小,但斜率较小,包括白色、白偏粉、白偏黄和黄橙4个色系,拟合线性方程①: $L^* = -0.17C^* + 83.22$ ($R^2 = 0.26$);第2类群的趋势类似于第1类群,但 C^* 和 L^* 呈显著负相关关系,且斜率更大,包括粉色、紫色、灰紫色和红色4个色系,拟合线性方程②: $L^* = -0.61C^* + 74.34$ ($R^2 = 0.68$)。

2.3 石蒜属植物种质资源花色苷种类与含量分析

根据聚类分析结果,筛选有代表性的21份石蒜属植物样品进行花色苷种类和含量分析(表4)。其中含量最高的花色苷是矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷,而飞燕草素葡萄糖苷和天竺葵素双葡萄糖苷含量较低。在白色、白偏粉、紫色、紫偏粉、黄橙和红色系的石蒜属植物中均检测到3种花青苷成分,而乳白色和粉色等浅色系的花色苷含量极低,仅含有矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷和飞燕草素葡萄糖苷2种花色苷。在各色系石蒜属种质资源中花色苷总含量(TA)依次为:红色>紫色>白偏粉>白色>黄橙>粉色>灰紫色>乳白色,其中深红色系TA高达1 668.09 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW),而乳白色系花色苷总含量仅为5.48 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)。矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷

表3 基于CIE *Lab*参数聚类分析的石蒜属种质资源花色分布情况
Table 3 Flower color distribution of *Lycoris* germplasm resources based on CIE *Lab* parameter cluster analysis

色系	数量	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
乳白色	23	82.88±1.19 ^a	4.17±0.63 ^{ef}	33.12±1.81 ^b	33.46±1.84 ^c	83.12±0.88 ^a
白色	5	84.15±4.20 ^a	-0.63±0.25 ^f	9.40±1.80 ^d	9.45±1.79 ^c	-85.26±2.40 ^f
白偏粉色	15	77.98±1.89 ^a	9.49±1.98 ^c	13.95±1.51 ^d	17.50±2.16 ^d	60.26±4.25 ^b
紫色	5	46.99±3.13 ^d	39.53±3.00 ^b	-1.58±2.21 ^e	39.85±2.88 ^c	-2.81±3.53 ^d
灰紫色	13	65.25±2.26 ^{bc}	17.42±1.84 ^d	-4.28±1.49 ^c	18.48±1.98 ^d	-12.34±3.97 ^d
黄橙色	9	70.62±1.59 ^b	29.19±2.02 ^c	65.90±1.64 ^a	72.17±2.26 ^a	66.35±1.04 ^b
红色	11	44.51±1.90 ^d	45.65±1.47 ^a	20.18±1.36 ^c	49.96±1.87 ^b	23.60±0.82 ^c
粉色	4	60.34±3.23 ^c	8.93±1.84 ^c	-12.70±1.73 ^f	15.74±2.06 ^{de}	-55.37±5.77 ^c

表中数据为平均值±标准误。同列不同小写字母代表多重比较Duncan's检验在0.05显著性水平下的差异显著。表4同此。

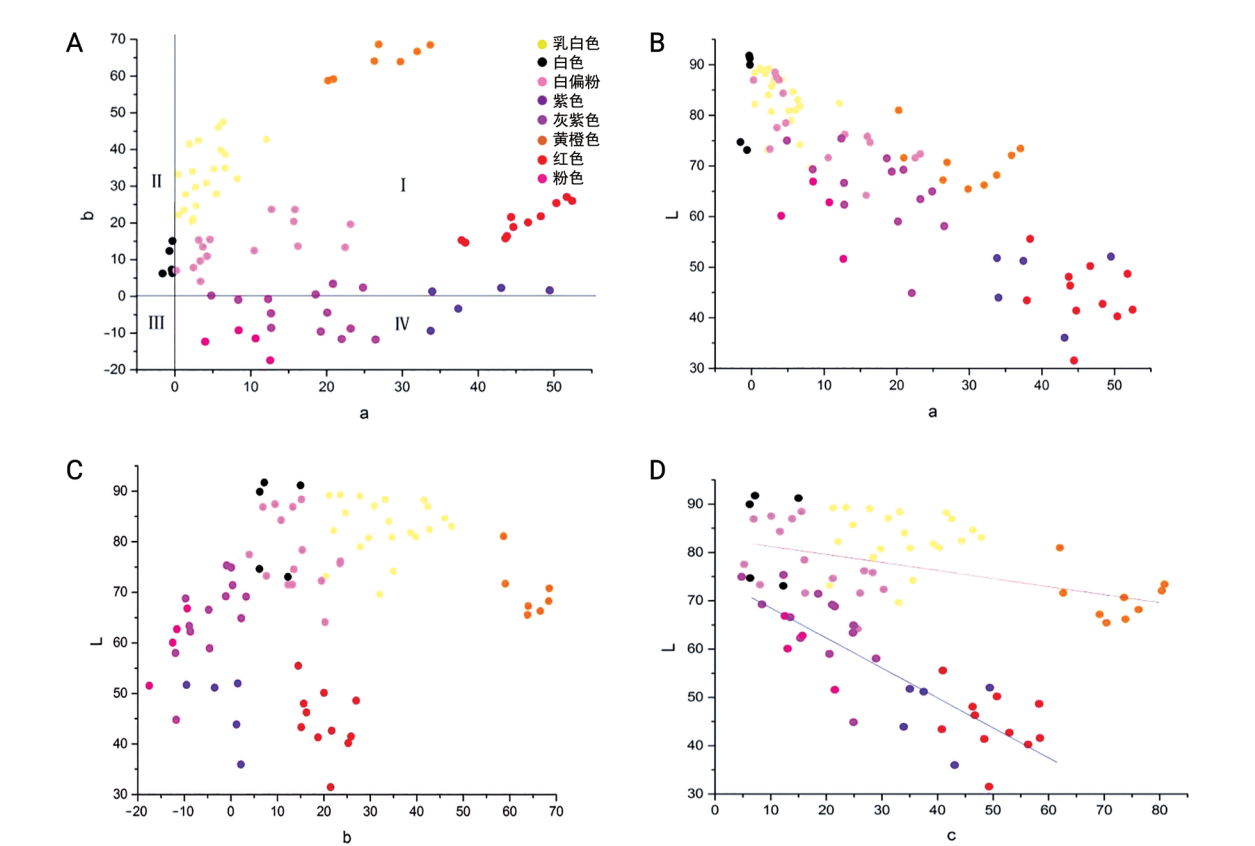


图1 石蒜属植物种质资源花色表型分布
Fig. 1 Flower color phenotype distribution of *Lycoris* germplasm resources

表4 基于CIE Lab参数的石蒜属种质资源花色苷组分
Table 4 Anthocyanin components of *Lycoris* germplasm resources based on CIE LAB parameters

色系	品种编号	总花色苷(TA)含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	矢车菊素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	飞燕草素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	天竺葵素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)
乳白色	5、11、20、45	5.48±1.12 ^b	1.83±0.81 ^b	3.56±1.52 ^b	0 ^c
白色	10、24、47	93.22±2.70 ^b	80.85±2.68 ^b	8.28±0.53 ^{ab}	4.09±0.22 ^b
白偏粉色	41、72	198.46±42.44 ^b	181.26±41.48 ^b	12.56±0.73 ^a	4.64±0.24 ^b
紫色	40、73	318.22±241.49 ^b	303.26±239.36 ^b	12.78±3.88 ^a	2.18±1.86 ^{bc}
灰紫色	21、60、69、78	26.47±3.89 ^b	21.50±3.66 ^b	4.85±0.60 ^b	0.12±0.12 ^c
黄橙色	50、79	73.82±12.96 ^b	50.96±11.78 ^b	4.93±0.51 ^b	17.93±1.70 ^a
红色	50、83	1 668.09±570.86 ^a	1 658.22±573.79 ^a	6.12±0.83 ^b	3.76±3.76 ^{bc}
粉色	18、38	30.76±6.44 ^b	22.20±6.14 ^b	8.55±0.30 ^{ab}	0 ^c

表中数据为平均值±标准误。同列不同小写字母代表多重比较Duncan's检验在 $P<0.05$ 的差异显著。

含量依次为: 红色>紫色>白偏粉>白色>黄橙>粉色>灰紫色>乳白色, 其中红色系含量平均值高达 $1\,658.22\,\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 显著高于其他色系。

2.4 石蒜属植物种质资源CIE Lab参数与花色苷的关系
通过对石蒜属种质资源CIE Lab参数与花色苷

的皮尔逊(Pearson)相关性进行分析, 可以将石蒜属植物种质资源分为两大类群(表5)。第一类群中总花色苷TA与测色参数没有显著相关性, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷与测色参数也没有显著相关性; 飞燕草素葡萄糖苷与 b^* 和 C^* 呈显著负相关; 天竺葵素双葡萄糖苷与 L^* 呈极显著负相关, 与 a^* 呈极显著正相关, 而与 C^* 显著相关。第二类群中总花色苷TA与 L^* 极显著负相关, 与 a^* 呈显著正相关性, 与 b^* 和 C^* 呈极显著正相关; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷与 L^* 极显著负相关, 与 a^* 呈显著正相关性, 与 b^* 和 C^* 呈极显著正相关; 飞燕草素葡萄糖苷和天竺葵素双葡萄糖苷与测色参数没有显著相关性。

3 讨论

花色是观赏植物品种分类的重要依据之一, CIE *Lab*测色体系是目前植物花色测定较为常用的方法(Hashimoto 2000)。本研究中对83个石蒜属植物种质资源的 L^* 、 a^* 、 b^* 测色参数进行聚类分析, 可将种质资源分为白偏粉、白色、白偏黄、紫色、灰紫色、黄橙色、红色和粉色等八大类色系。测色参数结果还表明石蒜花瓣的彩色度与亮度之间存在明显的规律性, 根据83个石蒜种质资源在彩度(C^*)与亮度(L^*)在二维图中的分布特点, 可以进一步把8个色系分为两大类群, 2个类群的花瓣亮度均随着彩色程度的加深而减弱, 其中第一类群为白色、乳白色、白偏粉和黄橙色系种质资源, 第二类群为粉色、灰紫色、紫色和红色系种质资源。

花色与花瓣中花青素的组成、理化性质、液泡内pH值及花瓣表皮细胞形状与组织结构等多种因素有关, 而花青素是最重要的影响因素, 花青素的成分及含量的多少使花瓣呈现由红、紫红到蓝等不同颜色(朱满兰等2012; 李崇晖等2008; 高燕会等2012; 戴思兰和洪艳2016)。研究表明矢车菊素-3-*O*- β -半乳糖苷、矢车菊素-3-*O*- β -葡萄糖苷和矢车菊素-3-*O*-[6-*O*-(*E*)-*p*-香豆酰]- β -半乳糖苷是决定山茶花色芽变的主要花青苷成分, 相关成分含量的积累增加花瓣的红色程度(李辛雷2019a, b), 通过对大量石蒜种质资源的花色苷测定分析发现, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷是石蒜花瓣呈色的主要物质, 各色系中总花青苷含量的高低主要由矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷决定, 本研究中还发现, 两大类群的花色苷种类、含量及其与测色参数 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C^* 之间的相关性存在很大的差异。第一类群由于是浅色系资源为主, 花色苷含量较少, 只有天竺葵素双葡萄糖苷和飞燕草素葡萄糖苷与测色参数有相关性。第二类群种质资源的花色苷含量较高, 与亮度值 L^* 有极显著的负相关性, 与 a^* 、 b^* 和 C^* 均有显著相关性, 其中 b^* 和 C^* 的显著性水平达到极显著; 说明3种花色苷中影响花瓣的亮度和红度主要是矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷, 石蒜属植物花瓣的亮度随着矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的升高极显著下降, 花瓣的彩色度(C^*)随着矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的升高极显著升高, 与山茶花色芽变品种、月季、观赏向日葵等观赏植物花色与花色苷的相关性的研究结果相一致, 可为石蒜属植物品种选育和花

表5 石蒜属植物种质资源CIE *Lab*参数与花色苷的皮尔逊相关性分析
Table 5 Pearson correlation analysis of CIE *Lab* parameters and anthocyanins in *Lycoris*

类群	测色参数	总花色苷	矢车菊素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	飞燕草素葡萄糖苷	天竺葵素双葡萄糖苷
第一类群	L^*	-0.399	-0.343	-0.119	-0.795**
	a^*	0.105	-0.034	-0.165	0.904**
	b^*	-0.413	-0.470	-0.623*	0.651
	C^*	-0.341	-0.401	-0.566*	0.703*
第二类群	L^*	-0.844**	-0.841**	0.439	-0.319
	a^*	0.712*	0.710*	0.274	0.301
	b^*	0.820**	0.823**	-0.372	0.242
	C^*	0.776**	0.773**	0.285	0.311

*表示两者相关关系达到显著水平($P<0.05$), **表示两者相关关系达到极显著水平($P<0.01$)。

色苷形成的代谢途径的研究以及花色分子育种奠定基础。

综上所述, 石蒜属植物花色丰富, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷为石蒜属植物花瓣呈色的主要成分, 其次为飞燕草葡萄糖苷, CIE *Lab*参数与花色苷含量的皮尔逊相关性分析将石蒜属植物种质资源分为两大类, 第一大类群为浅色系, 花色苷含量较少, 总花色苷含量(TA)和矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷与测色参数无显著相关性; 飞燕草素葡萄糖苷和天竺葵素双葡萄糖苷测色参数有相关性。第二大类群总花色苷和矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷含量较高, CIE测色参数呈显著极显著相关性, 飞燕草素葡萄糖苷和天竺葵素双葡萄糖苷与测色参数无显著相关性。研究结果可为研究石蒜属植物花色多样性和花色形成机制奠定基础, 为石蒜属植物新品种选育提供理论依据。

参考文献(References)

- Chen X, Zhou XP, Han SY, et al (2013). Determination of anthocyanin in grape and wine by HPLC. *Chin J Spect Lab*, 30 (4): 1704–1709 (in Chinese with English abstract) [陈曦, 周小平, 韩舜愈等(2013). HPLC测定葡萄和葡萄酒中花色苷. 光谱实验室, 30 (4): 1704–1709]
- Dai SL, Hong Y (2016). Molecular breeding for flower colors modification on ornamental plants based on the mechanism of anthocyanins biosynthesis and coloration. *Sci Agric Sin*, 49 (3): 529–542 (in Chinese with English abstract) [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. 中国农业科学, 49 (3): 529–542]
- Gao YH, Huang CH, Zhu YQ, et al (2012). Progress on plant anthocyanin biosynthesis and regulation. *Chin Biotech*, 32 (8): 94–99 (in Chinese with English abstract) [高燕会, 黄春红, 朱玉球等(2012). 植物花青素苷生物合成及调控的研究进展. 中国生物工程杂志, 32 (8): 94–99]
- Hashimoto F, Tanaka M, Maeda H, et al (2000). Characterization of cyanic flower color of *Delphinium* cultivars. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 69 (4): 428–434
- Hou S, Gao YH, Tong ZK (2019). Cloning and expression analysis of *LsMYB5* gene in *Lycoris sprengeri*. *J Agric Biotech*, 27 (12): 2164–2174 (in Chinese with English abstract) [侯朔, 高燕会, 童再康(2019). 换锦花*LsMYB5*基因的克隆与表达分析. 农业生物技术学报, 27 (12): 2164–2174]
- Hua M, YUan XL, Yang W, et al (2017). Analysis of anthocyanins and flavonols in six different colors of petals of *Paeonia delavayi* by high performance liquid chromatography. *J West Chin Silv Sci*, 46 (6): 44–49 (in Chinese with English abstract) [华梅, 原晓龙, 杨卫等(2017). HPLC分析6种不同花色滇牡丹花瓣中花青素和黄酮. 西部林业科学, 46 (6): 44–49]
- Huang CH, Gao YH, Zhu YQ, et al (2013). Cloning and expression analysis of flavanone 3-hydroxylase gene *LrF3H* from *Lycoris radiata*. *Acta Horti Sin*, 40 (5): 960–970 (in Chinese with English abstract) [黄春红, 高燕会, 朱玉球等(2013). 石蒜黄酮3-羟化酶基因*LrF3H*的克隆及表达分析. 园艺学报, 40 (5): 960–970]
- Huo LL, Su P, Lv YH(2005). Measurement of total anthocyanins in mulberry by UV-visible spectroscopy. *Liquor Making*. 32 (4): 88–89 (in Chinese with English abstract) [霍琳琳, 苏平, 吕英华(2005). 分光光度法测定桑葚总花色苷含量的研究. 酿酒, 32 (4): 88–89]
- Jiang TT, Gao YH, Tong ZK (2015). Selection of reference genes for quantitative real-time PCR in *Lycoris*. *Acta Horti Sin*, 42 (6): 1129–1138 (in Chinese with English abstract) [蒋婷婷, 高燕会, 童再康(2015). 石蒜属植物实时荧光定量PCR内参基因的选择. 园艺学报, 42 (6): 1129–1138]
- Li CH, Wang LS, Shu QY, et al (2008). Pigments composition of petals and floral color change during the blooming period in *Rhododendron mucronulatum*. *Acta Horti Sin*, 35 (7): 93–100 (in Chinese with English abstract) [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. 园艺学报, 35 (7): 93–100]
- Li X, Wu YY, Feng Y (2020). Analysis of anthocyanin content and related gene expression in different varieties of *Hymenocallis orientalis*. *Molec Plant Breeding*, 18 (14): 4562–4571 (in Chinese with English abstract) [李霞, 吴钰滢, 封晔(2020). 风信子不同花色品种花青素苷含量及相关基因表达分析. 分子植物育种, 18 (14): 4562–4571]
- Li XL, Yin HF, Fan ZQ, et al (2019a). The relationship between anthocyanins and flower colors of bud mutation in *Camellia japonica*. *Sci Agric Sin*, 52 (11): 1961–1969 (in Chinese with English abstract) [李辛雷, 殷恒福, 范正琪等(2019a). 山茶芽变花色与花青苷的关系. 中国农业科学, 52 (11): 1961–1969]
- Li XL, Wang J, Yin HF, et al (2019b). Variation of flower colors and their relationships with anthocyanins in cultivars of *Camellia japonica*. *J Ecol Rural Environ*, 35 (10): 1307–1313 (in Chinese with English abstract) [李辛雷, 王洁, 殷恒福等(2019b). 山茶品种花色变异与花青苷的关系. 生态与农村环境学报, 35 (10): 1307–1313]
- Meng PP (2009). Advance in Chinese genus *Lycoris* Herb. *J Taishan Univ*, 31 (3): 95–98 (in Chinese with English abstract) [孟盼盼(2009). 中国石蒜属植物的研究进展. 泰

- 山学院学报, 31 (3): 95–98]
- Voss DH (1992). Relating colourimeter measurement of plant colour to the *royal horticulural society colour chart*. Hort Sci, 27 (12): 1256–1260
- Wang F, Yang SH, Liu XY, et al (2017). The diversity of petal colors and its relation to anthocyanins in *Rose* germplasms. Acta Hort Sin, 44 (6): 1125–1134 (in Chinese with English abstract) [王峰, 杨树华, 刘新艳等(2017). 月季种质资源花色多样性及其与花青苷的关系. 园艺学报, 44 (6): 1125–1134]
- Wang LS, Hashimoto F, Shiraishi A, et al (2004). Chemical taxonomy of the Xibei tree peony from China by floral pigmentation. J Plant Res, 117 (1): 47–55
- Xu ZY (2014). Cloning and expression analysis of F3'H & MYB4 genes in *Lycoris sprengeri* (dissertation). Hangzhou: Zhejiang Agricultural and Forestry University (in Chinese with English abstract) [许振渊(2014). 换锦花 F3'H和MYB4同源基因的克隆与表达分析(学位论文). 杭州: 浙江农林大学]
- Yang Q, Yuan T, Sun XB (2015). Preliminary studies on the changes of flower color during the flowering period in two tree *Peony* cultivars. Acta Hort Sin, 42 (5): 930–938 (in Chinese with English abstract) [杨琴, 袁涛, 孙湘滨(2015). 两个牡丹品种开花过程中花色变化的研究. 园艺学报, 42 (5): 930–938]
- Zhang J, Wang LS, Gao JM, et al (2011). Identification of anthocyanins involving in petal coloration in *Chaenomeles speciosa* cultivars. Acta Hort Sin, 38 (3): 527–534 (in Chinese with English abstract) [张洁, 王亮生, 高锦明等(2011). 贴梗海棠花青苷组成及其与花色的关系. 园艺学报, 38 (3): 527–534]
- Zhang YY, Qi DM, Liu H, et al (2008). The diversity of flower color of the ornamental sunflower and the relation to anthocyanin. Acta Hort Sin, 35 (6): 88–93 (in Chinese with English abstract) [张圆圆, 齐冬梅, 刘辉等(2008). 观赏向日葵的花色多样性及其与花青苷的关系. 园艺学报, 35 (6): 88–93]
- Zhao TR, Shi YT, Cai JG, et al (2008). The headway of research in *Lycoris*. Nor Hort, 4: 65–69 (in Chinese with English abstract) [赵天容, 施永泰, 蔡建岗等(2008). 石蒜属植物的研究进展. 北方园艺, 4: 65–69]
- 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. Bull Bot, 47 (5): 437–453 (in Chinese with English abstract) [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. 植物学报, 47 (5): 437–453]