网络出版时间:2015-01-19 09:19

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.03.005

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150119.0919.005.html>

8 种中国野生百合花色素成分分析

郭鸿飞,张延龙,牛立新,罗建让

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**对 8 种野生百合花瓣的色素成分进行研究,为百合花色的遗传育种提供理论依据。**【方法】**以 8 种野生百合花瓣(花瓣橙色 3 种和白色 5 种)为试验材料,采用特征颜色反应和紫外-可见光谱扫描对其色素进行定性分析,采用 $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$ 法和比色法测定花瓣中的叶绿素、类胡萝卜素、总黄酮含量,采用高效液相色谱(HPLC)技术检测 8 种野生百合花瓣中的单体酚组成及其含量。**【结果】**白色系和橙色系百合花瓣之间叶绿素 a、类胡萝卜素、总黄酮的含量有差异,其中,类胡萝卜素和总黄酮含量均表现为橙色系百合显著高于白色系百合。矢车菊素-3-芸香糖苷及矢车菊素是百合花瓣中主要的花青苷(素),除此之外,还从 8 种百合花瓣中鉴定出 9 种其他酚类物质:3 种酚酸(没食子酸、绿原酸、对香豆酸)、2 种黄酮醇(儿茶素、表儿茶素)、2 种二氢黄酮醇(二氢槲皮素、二氢杨梅素)和 2 种黄酮醇(芦丁、山奈酚)。**【结论】**百合花瓣的橙色来源于类胡萝卜素的积累,花瓣上的紫黑色斑点是由花青苷(素)富集引起的。叶绿素 a 和其他多酚类物质对花色的形成可能也有重要影响。

[关键词] 百合;色素;花青苷;类胡萝卜素

[中图分类号] S682.2⁺65.01

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2015)03-0098-07

Petal pigments of eight wild *Lilium* species native to China

GUO Hong-fei, ZHANG Yan-long, NIU Li-xin, LUO Jian-rang

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** This study explored pigment composition in petals of eight wild *Lilium* species to provide theoretical basis for *Lilium* breeding. **【Method】** Qualitative analysis on petal pigments of eight wild *Lilium* species (3 with orange petals and 5 with white petals) was conducted using specific color reaction and UV-visible spectrum. The contents of chlorophyll, carotenoid and flavonoid were determined by $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$ method and colorimetric method and composition and contents of phenolic constituents were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). **【Result】** There were significant differences in contents of chlorophyll, carotenoid and flavonoid among orange and white petals. The contents of carotenoids in orange petals were higher than those in white petals. Cyanidin-3-rutinoside and cyanidin were the major anthocyanins in petals. Nine other phenolic compounds including three phenolic acids (gallic acid, p-coumaric acid and chlorogenic acid), two flavonols (rutin and kaempferol), two monomeric flavanols ((+)-catechin and (-)-epicatechin), and two dihydroflavonols (dihydromyricetin and dihydroquercetin) were identified as well. **【Conclusion】** There were significant differences in pigment contents between white and orange petals. The orange petals had carotenoid pigmentation and the pigments in tepal spots were anthocyanins. Chlorophyll a and other polyphenols maybe also have influence on petal color.

[收稿日期] 2013-11-13

[基金项目] 陕西省林业厅项目(陕林计字[2011]70号)

[作者简介] 郭鸿飞(1988—),女,河北沧州人,在读硕士,主要从事百合栽培育种研究。

[通信作者] 张延龙(1964—),女,陕西延安人,教授,硕士生导师,主要从事园林植物资源与育种研究。

E-mail: zhangyanlong@nwsuaf.edu.cn

Key words: *Lilium*; pigment; anthocyanin; carotenoid

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium* L.)多年生草本球根植物,其花朵硕大芳香,花姿优美,因此受到世界花卉市场的青睐,是重要的观赏花卉之一^[1]。原产于中国的野生百合有55个种^[2],花色极为丰富。花色是决定花卉观赏价值的一个重要因素,色素则是花色形成的物质基础^[3],因此分析花瓣中色素的组成,对于探讨花色形成机理具有重要的意义,同时可以为花色的分子育种提供理论依据。

大多数亚洲杂种百合的黄色和橙色花瓣中主要含类胡萝卜素,而粉色花瓣及花瓣上的花斑是由花青素积累形成的^[4-5],对亚洲百合和东方百合的研究结果表明,矢车菊素及其衍生物是百合花瓣中的主要花青苷(素)^[6-8]。近年来,对百合花色的分子遗传机理和基因调控研究有大量报道,这些研究认为,*LhMYB12*基因对亚洲百合花瓣中花青素的合成有调控作用,花瓣与花斑中花青苷的合成是独立遗传的,而类胡萝卜素的合成则受到多个基因的控制^[9-12]。

中国是百合属植物的自然分布中心,百合资源非常丰富,占世界野生百合资源的半数以上^[13]。但对中国野生百合花色色素成分的鉴定还少有报道。因此,本研究以中国野生百合中的8个种为材料,对其花瓣中的色素进行定性与定量分析,确定百合花瓣中的主要色素,以期阐明百合花色形成机理提供科学依据,也为百合利用及花色育种奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试百合种球于2011-08收集自陕西、云南和四川,共8个种,分别为百合组的野百合(*Lilium brownii*)、岷江百合(*L. regale*)、宜昌百合(*L. leucanthum*)、淡黄花百合(*L. sulphureum*)、通江百合(*L. sargentiae*)和卷瓣组的卷丹(*L. lancifolium*)、川百合(*L. davidii*)、山丹(*L. pumilum*)。百合组5个种均为白色花瓣,卷瓣组3个种均为橙色花瓣,其中卷丹和川百合的花瓣带有紫黑色斑点。将所有百合种植于西北农林科技大学百合资源圃,于2012-05-07百合盛花期,在晴天的上午09:00剪取各个种开放2d的花瓣,流水冲洗去除灰尘后用吸水纸吸干表面水渍,装入自封袋内,置于-80℃冰箱保存。预冻24h后,使用真空冷冻干燥机干燥处理24h,研磨成粉末,保存于-20℃冰箱中备用。

1.2 色素萃取

1.2.1 甲醇盐酸萃取液 取花瓣干粉1g,加入体积分数1%甲醇盐酸(97 mL 甲醇,3 mL 质量分数36%的盐酸)40 mL,4℃下静置萃取48h后,取上清液用滤纸粗滤,经微孔滤膜(0.45 μm)过滤及旋转蒸发后,用体积分数1%甲醇盐酸定容至25 mL,供花青苷(素)检测使用。

1.2.2 甲醇萃取液 取花瓣干粉1g,加入纯甲醇40 mL,4℃下静置萃取48h,取上清液用滤纸粗滤,经微孔滤膜(0.45 μm)过滤及旋转蒸发后,用甲醇定容至25 mL,供其他类黄酮检测使用。

1.2.3 丙酮萃取液 取花瓣干粉1g,加入体积分数80%丙酮40 mL,4℃下静置萃取48h,取上清液用滤纸粗滤,经微孔滤膜(0.45 μm)过滤及旋转蒸发后,用体积分数80%丙酮定容至25 mL,供叶绿素、类胡萝卜素检测使用。

1.3 花瓣色素的定性和定量分析

1.3.1 色素的特征颜色反应 参照安田齐^[14]的方法进行试验。取各种花瓣干粉0.1g,分别加石油醚、体积分数10%盐酸和体积分数30%氨水各5 mL,迅速研磨成匀浆,用滤纸过滤,观察滤液颜色。

1.3.2 色素的紫外-可见光谱分析 以相应的萃取介质为空白对照,分别取1.2中的3种萃取液各1 mL,稀释20倍,利用紫外-可见分光光度计进行扫描,在200~700 nm下检测吸收峰。

1.3.3 总黄酮含量的测定 总黄酮含量采用NaNO₂-AlCl₃法^[15]测定。取甲醇萃取液1 mL,加入4 mL体积分数60%乙醇溶液和0.3 mL质量分数5% NaNO₂溶液,静置5 min;再加入0.3 mL质量分数10% AlNO₃溶液,静置6 min;最后加入4 mL质量分数4% NaOH溶液后用蒸馏水定容至10 mL,于510 nm处测定吸光度(OD₅₁₀)。结果以每千克花瓣中所含有的芦丁质量(mg)表示。

1.3.4 叶绿素、类胡萝卜素含量的测定 参照高俊凤^[16]的方法,取体积分数80%丙酮萃取液3 mL,使用紫外-可见分光光度计在663,646,470 nm处测定萃取液的OD值。

$$C_a = 12.21 \times OD_{663} - 2.81 \times OD_{646},$$

$$C_b = 20.13 \times OD_{646} - 5.03 \times OD_{663},$$

$$C_c = (1\ 000 \times OD_{470} - 3.27 \times C_a - 104 \times C_b) / 229.$$

$$\text{叶绿素/类胡萝卜素含量(mg/kg)} = C \times V / M.$$

式中: C 为相应色素的质量浓度(mg/L),类胡萝卜素取 C_c ,叶绿素取 $C_a + C_b$; V 为萃取液总量(mL); M 为样品质量(g)。

1.3.5 色素成分的高效液相色谱法(HPLC)检测

取甲醇盐酸萃取液、甲醇萃取液各 1 mL,分别经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,用日立 L-2000 高效液相色谱仪检测,检测器为 L-2455 型二极管阵列检测器,检测波长 200~700 nm, C_{18} 柱(Hitachi, Japan, 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μL ,流速 0.5 mL/min。流动相参数:A 为体积分数 0.04% 甲酸水溶液,B 为色谱级乙腈。采用梯度洗脱,洗脱程序为:0~40 min, A 为 95%~0, B 为 5%~100%;40~60 min, A 为 0, B 为 100%^[17]。与标准品(标准品包括没食子酸、矢车菊素-3-芸香糖苷、矢车菊素、儿茶素、绿原酸、表儿茶素、二氢杨梅素、芦丁、对香豆酸、二氢槲皮素、山奈酚,均购自 Sigma-Aldrich 公司)进行比对,绘制标准曲线并计算各单体酚含量,结果以每千克花瓣干粉中所含的

各单体酚质量(mg)表示。

2 结果与分析

2.1 8 种野生百合花色素的特征颜色反应

由表 1 可见,石油醚测试中,橙色系川百合、卷丹、山丹花瓣的特征颜色反应均呈现黄色,表明其花瓣中含有类胡萝卜素;白色系 5 种百合花瓣的特征颜色反应均呈现黄绿色,表明其花瓣中同时含有叶绿素和类胡萝卜素。氨水测试中,川百合、卷丹花瓣的特征颜色反应呈现黄绿色,黄绿色由花青苷(素)呈现的蓝色和类黄酮呈现的黄色混合而成^[18],这表明川百合和卷丹的花瓣中同时含有花青苷(素)和类黄酮;其他 6 种花瓣特征颜色反应均呈现黄色,说明其花瓣中只含有类黄酮。盐酸测试中,川百合和卷丹花瓣的特征颜色反应呈现深红色,说明其花瓣中含有大量的花青苷(素);其他 6 种花瓣的特征颜色反应均呈现无色,这表明其花瓣中不含花青苷(素)或花青苷(素)含量较少。

表 1 8 种野生百合花瓣色素的特征颜色反应

Table 1 Color reaction of petal pigments of eight *Lilium* species

色系分组 Color group	种类 Species	石油醚 Petroleum ether	体积分数 30% 氨水 30% ammonia water	体积分数 10% 盐酸 10% hydrochloric acid
橙色系 Orange group	川百合 <i>Lilium davidii</i>	黄 Yellow	黄绿 Kelly	深红 Dark red
	卷丹 <i>L. lancifolium</i>	黄 Yellow	黄绿 Kelly	深红 Dark red
	山丹 <i>L. pumilum</i>	黄 Yellow	黄 Yellow	无色 Colorless
白色系 White group	淡黄花百合 <i>L. sulphureum</i>	黄绿 Kelly	黄 Yellow	无色 Colorless
	通江百合 <i>L. sargentiae</i>	黄绿 Kelly	黄 Yellow	无色 Colorless
	野百合 <i>L. brownii</i>	黄绿 Kelly	黄 Yellow	无色 Colorless
	宜昌百合 <i>L. leucanthum</i>	黄绿 Kelly	黄 Yellow	无色 Colorless
	岷江百合 <i>L. regale</i>	黄绿 Kelly	黄 Yellow	无色 Colorless

2.2 8 种野生百合花色素的紫外-可见光谱分析

由表 2 可见,川百合和卷丹在 528 nm 左右有特征吸收峰,位于矢车菊素糖苷类的特征吸收波峰范围(523~528 nm)内,说明川百合和卷丹花瓣中含

有矢车菊素糖苷类物质。本试验对甲醇萃取液的紫外-可见光谱检测结果表明,在甜菜色素的特征吸收峰(535 nm)处未检测到吸收峰,说明百合花瓣不含甜菜色素。

表 2 8 种野生百合花瓣中花色素成分的紫外-可见光谱测定结果

Table 2 UV-visible spectra of petal pigments of eight *Lilium* species

色系分组 Color group	种类 Species	特征波长/nm Characteristic absorption peak		
		甲醇盐酸 Acidified methanol	甲醇 Methanol	体积分数 80% 丙酮 80% acetone
橙色系 Orange group	川百合 <i>Lilium davidii</i>	528,322,283,205	417,328,203	664,472
	卷丹 <i>L. lancifolium</i>	529,320,282,205	417,322,299,203	663,472
	山丹 <i>L. pumilum</i>	543,320,282,205	475,327,204	663,475,470
白色系 White group	淡黄花百合 <i>L. sulphureum</i>	543,313,281,211	314,208	664,433
	通江百合 <i>L. sargentiae</i>	541,310,281,207	308,204	663,432
	野百合 <i>L. brownii</i>	555,322,276,210	324,267,206	663,453,432
	宜昌百合 <i>L. leucanthum</i>	555,418,309,282,216	311,204	664,433,411
	岷江百合 <i>L. regale</i>	543,314,282,205	314,209	664,465

由表 2 可见,8 种百合花瓣的丙酮萃取液在 400~500 nm 处均有吸收峰,位于类胡萝卜素的典

型吸收峰区,表明所有供试种百合花瓣中均含有类胡萝卜素。同时所有供试种百合花瓣的丙酮萃取液

在 663 nm 左右均有吸收峰,与叶绿素 a 的典型吸收峰(663 nm)基本一致,表明 8 种百合花瓣中均有叶绿素的存在,且应该是以叶绿素 a 为主^[16]。

2.3 8 种野生百合花瓣中的叶绿素、类胡萝卜素和总黄酮含量

由表 3 可见,不同种百合叶绿素、类胡萝卜素、总黄酮含量总体存在差异。叶绿素含量在橙色系和白色系百合之间没有明显规律。叶绿素含量以野百合、宜昌百合、川百合和淡黄花百合花瓣较高,岷江百合和山丹中含量较低,其中野百合的含量高达 194.72 mg/kg,是含量最低的山丹的 6 倍多。叶绿素含量差异可能与叶绿素为辅助色素及花瓣脊基部绿色部分不同有关。

橙色系百合花瓣中类胡萝卜素平均含量高达

表 3 8 种野生百合花瓣中的叶绿素、类胡萝卜素和总黄酮含量

Table 3 Contents of chlorophyll, carotenoid and flavonoid in petals of eight *Lilium* species mg/kg

色系分组 Group by colour	种类 Species	叶绿素 Chlorophyll	类胡萝卜素 Carotenoid	总黄酮 Flavonoid
橙色系 Orange group	川百合 <i>Lilium davidii</i>	140.01±9.32 c	346.97±1.43 a	42 704.61±32.64 a
	卷丹 <i>L. lancifolium</i>	69.51±2.09 e	286.53±4.97 c	38 200.71±28.83 ab
	山丹 <i>L. pumilum</i>	31.51±0.94 g	303.86±1.46 b	36 077.24±22.83 bc
白色系 White group	淡黄花百合 <i>L. sulphureum</i>	131.01±3.34 c	79.91±2.65 e	20 499.63±57.13 d
	通江百合 <i>L. sargentiae</i>	99.10±4.33 d	32.86±0.73 g	14 259.19±25.40 e
	野百合 <i>L. brownii</i>	194.72±5.00 a	97.40±3.63 d	16 102.99±19.55 de
	宜昌百合 <i>L. leucanthum</i>	182.69±7.11 b	53.44±2.93 f	14 386.35±16.64 e
	岷江百合 <i>L. regale</i>	43.51±1.63 f	96.16±1.81 d	19 814.37±13.24 d

注:差异显著分析使用 LSD 法,同列数据后标不同小写字母表示显著性水平为 $P < 0.05$,表 4 同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at $P < 0.05$ level based on LSD method. The same for Table 4.

2.4 8 种野生百合花瓣中色素组成的高效液相色谱检测

花青苷(素)是类黄酮中主要的呈色物质,而无色的类黄酮和多酚类物质是高等植物中最常见的辅助色素^[20-21]。本试验通过高效液相色谱检测,从 8 种百合花瓣中鉴定出了 11 种单体酚,包括 3 种酚酸(没食子酸、绿原酸、对香豆酸)、2 种黄烷醇(儿茶素、表儿茶素)、2 种二氢黄酮醇(二氢槲皮素、二氢杨梅素)、2 种黄酮醇(芦丁、山奈酚)、矢车菊素及矢车菊素-3-芸香糖苷(表 4)。

通过 HPLC 鉴定发现,矢车菊素-3-芸香糖苷是所有供试百合花瓣中的主要花青苷,矢车菊素是川百合、卷丹及山丹花瓣中的主要花青素。由表 4 可见,矢车菊素-3-芸香糖苷在花瓣带有紫黑色斑点的川百合和卷丹中含量较高,平均含量高达 778.99 mg/kg,是其他 6 个种平均含量的 67 倍;其他 6 种百合花瓣中矢车菊素-3-芸香糖苷含量较低,其中岷江百合中的含量为 30.37 mg/kg,显著高于另外 5 种百合。矢车菊素仅在川百合、卷丹和山丹中被检

312.45 mg/kg,为白色系类胡萝卜素平均含量(71.95 mg/kg)的 4 倍多,说明百合花瓣橙色的形成可能与类胡萝卜素的积累有关。橙色系中以川百合的类胡萝卜素含量最高,白色系中野百合和岷江百合的类胡萝卜素含量显著高于其他 3 种。

橙色系百合花瓣中总黄酮含量均高于白色系,平均含量约为白色系的 2 倍。总体来看,川百合、山丹、卷丹、淡黄花百合及岷江百合花瓣中类黄酮含量较高,野百合、宜昌百合和通江百合的较低;川百合花瓣中总黄酮含量(42 704.61 mg/kg)最高,约为含量最低的通江百合(14 259.19 mg/kg)的 3 倍。类黄酮中主要的呈色物质是花青苷(素),其他无色类黄酮多为辅助色素,对花色并无直接影响^[19]。

测出;与矢车菊素-3-芸香糖苷相似,矢车菊素在川百合和卷丹中的含量也较高,平均为 90.95 mg/kg,是山丹中矢车菊素含量的 26 倍。

由表 4 可见,绿原酸、表儿茶素、芦丁和二氢槲皮素是供试百合花瓣中主要的酚类物质,卷丹、山丹、川百合和岷江百合中绿原酸含量较高;卷丹中表儿茶素的含量为 7 117.3 mg/kg,远高于其他 7 种百合($P < 0.05$),是其他 7 种百合平均含量的 7 倍。白色系百合花瓣中芦丁和二氢槲皮素含量高于橙色系百合花瓣,且淡黄花百合和岷江百合中 2 种单体酚含量均较高。

3 讨论

植物色素主要有叶绿素、类胡萝卜素、类黄酮以及甜菜色素^[22],其中甜菜色素主要存在于植物的果实和根茎中,在含花青苷的植物中尚未发现^[23-25]。本试验中 8 种百合花瓣的甲醇萃取液也均未在甜菜色素特征吸收峰处检测到吸收峰,说明百合花瓣中不含甜菜色素。

表 4 8 种野生百合花瓣中色素组成的 HPLC 检测
Table 4 HPLC detection of petal pigments of eight *Lilium* species

色系分组 Color group	种类 Species	没食子酸 Gallic acid	矢车菊素-3-芸香糖苷 Cyanidin-3-rutinoside	矢车菊素 Cyanidin	儿茶素 (+)-catechin	绿原酸 Chlorogenic acid	表儿茶素 (-)-epicatechin	mg/kg
橙色系 Orange group	川百合 <i>Lilium davidii</i>	ND	681.71±0.59 b	111.09±0.31 a	192.16±1.24 d	5 349.45±31.32 c	2 356.48±24.79 b	
	卷丹 <i>L. lancifolium</i>	ND	876.26±0.24 a	70.80±0.02 b	81.57±2.55 e	9 248.20±52.78 a	7 117.30±34.36 a	
	山丹 <i>L. pumilum</i>	ND	11.16±2.54 d	3.50±0.20 c	89.92±4.23 e	8 164.18±35.77 b	1 694.96±12.24 c	
白色系 White group	淡黄花百合 <i>L. sulphureum</i>	734.77±2.44 a	9.46±6.77 d	ND	832.79±5.67 c	2 589.30±37.83 e	1 337.93±26.92 e	
	通江百合 <i>L. sargentiae</i>	73.04±0.87 d	8.91±1.18 d	ND	4 143.47±24.28 a	2 589.95±55.77 e	1 512.41±24.27 d	
	野百合 <i>L. brownii</i>	0.32±2.60 e	4.46±6.77 d	ND	39.84±3.51 f	1 378.50±17.62 f	0.39±0.01 g	
	宜昌百合 <i>L. leucanthum</i>	102.07±0.58 c	5.04±2.08 d	ND	1 199.10±35.73 b	990.44±8.82 g	0.18±0.04 g	
	岷江百合 <i>L. regale</i>	112.06±12.32 b	30.37±3.08 c	ND	0.53±0.03 g	5 233.73±25.33 d	107.65±9.01 f	
色系分组 Color group	种类 Species	二氢杨梅素 Dihydromyricetin	芦丁 Rutin	对香豆酸 p-Coumaric acid	二氢槲皮素 Dihydroquercetin	山奈酚 Kaempferol		
橙色系 Orange group	川百合 <i>Lilium davidii</i>	29.33±7.20 ef	456.17±9.55 h	213.53±3.62 f	129.00±4.28 g	59.72±0.32 ab		
	卷丹 <i>L. lancifolium</i>	39.03±1.23 e	3 413.10±26.69 f	978.42±5.72 a	296.91±3.54 f	60.67±6.38 ab		
	山丹 <i>L. pumilum</i>	62.67±3.39 d	1 099.23±18.66 g	232.00±3.76 e	64.47±6.23 h	63.09±1.89 ab		
白色系 White group	淡黄花百合 <i>L. sulphureum</i>	23.16±0.59 fg	5 885.19±17.92 a	445.02±4.29 c	4 574.84±25.72 b	70.55±5.88 a		
	通江百合 <i>L. sargentiae</i>	12.67±2.30 g	3 724.27±18.41 e	469.20±3.99 b	3 880.92±22.39 c	64.90±0.74 ab		
	野百合 <i>L. brownii</i>	950.91±1.27 b	3 849.78±26.58 d	21.82±1.83 g	370.37±0.57 e	57.74±3.24 ab		
	宜昌百合 <i>L. leucanthum</i>	543.93±4.10 c	4 109.27±46.52 c	27.92±3.51 g	1 614.63±13.90 d	60.40±1.45 ab		
	岷江百合 <i>L. regale</i>	3 760.45±26.11 a	5 403.70±35.63 b	333.98±10.45 d	7 447.08±56.97 a	56.03±8.95 b		

注:ND. 未检出。

Note:ND. Not detected.

植物类胡萝卜素是叶绿体和有色体膜中所含有的脂溶性色素,除八氢番茄红素、六氢番茄红素等几种类胡萝卜素无色外,绝大多数类胡萝卜素呈黄色、橙色或红色^[26]。自然界广泛存在的花青素共有 6 种,分别为天竺葵素、矢车菊素、飞燕草素、芍药花素、矮牵牛素和锦葵素^[27],其中矢车菊素及其衍生物表现为紫红色^[28]。本试验结果表明,矢车菊素及矢车菊素-3-芸香糖苷在花瓣带有紫黑色斑点的川百合和卷丹花瓣中含量较高,橙色系的山丹、川百合和卷丹中类胡萝卜素含量均较高,说明百合花瓣上的紫黑色斑点是由花青苷(素)富集引起的,百合花瓣的橙色是由类胡萝卜素积累决定的。Banba^[4-5]对亚洲系和东方系百合栽培品种的花色研究也认为,红色品种的百合以及百合花瓣上的斑点是由花青苷(素)引起的,花瓣的橙色或黄色是由类胡萝卜素积累决定的。本试验中的 HPLC 检测结果表明,矢车菊素及其衍生物是百合中的主要花青苷(素),这与前人的研究结果^[6-8]一致,说明具有相同花色的不同百合种或品种之间,色素种类一致。由色素含量测定结果可知,所有百合花瓣中均含有叶绿素 a,野百合、宜昌百合、川百合和淡黄花百合花瓣的叶绿素含量较高,岷江百合和山丹花瓣中含量较低。叶绿素的绿色与矢车菊素的红色为互补色,二者相互作用可能也是百合花瓣上斑点颜色加深呈现紫黑色的原

因之一。但在显色反应中,橙色系百合花瓣石油醚检测没有呈现黄绿色,这是由橙色系花瓣中类胡萝卜素含量过高导致的。

无色的类黄酮和多酚类物质作为辅助色素对花色也有影响,可形成共色作用。共色作用是指类黄酮及其他有关化合物与花青苷结合在一起而呈现增色效应及红移的现象^[28]。这种现象在对鸭跖草苷等的结构分析中^[29-30]已得到证实。本试验在百合花瓣中,除矢车菊素和矢车菊素-3-芸香糖苷 2 种花青苷(素)外,还检测出 9 种酚类物质,其中绿原酸、表儿茶素、芦丁和二氢槲皮素是供试种百合花瓣中主要的酚类物质,且在不同种之间含量差异显著。前人研究发现,在映山红杂交后代中,出现了独特的蓝色调的花色,这是由于黄酮醇的存在产生了花色偏蓝的效果^[31]。本试验在供试种百合花瓣中检测到的芦丁和山奈酚属于黄酮醇,二氢槲皮素和二氢杨梅素是花青苷(素)合成过程中的中间产物。因此,筛选合适的亲本进行杂交,调节后代中花青苷(素)和黄酮醇含量的比例,增强辅助色素效应,有助于扩大花色的变异;或者通过基因工程技术,利用原有的二氢黄酮醇,促使其合成特定的花青素,从而得到新的花色。在月季花色分子育种中,已得到飞燕草素含量高达 95% 的蓝色花^[32],其结果可供百合花的分子育种借鉴。

植物花色形成的原因很复杂,花色除受到叶绿素、类胡萝卜素、花青苷(素)、类黄酮、多酚类物质的影响外,还受到生物碱、氨基酸、有机酸、液泡中的金属离子以及细胞液 pH 值的影响^[33]。另外,光照、温度也是影响花色的因素^[34]。所以,百合花色的形成原因还需进一步研究。

本试验在百合花瓣中检测出绿原酸、芦丁等药用成分,从综合利用角度来看,除园林应用外,百合花瓣还具有一定的药用开发价值,这有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 陈俊愉. 中国花卉品种分类学 [M]. 北京:中国林业出版社, 2001:248-252.
Chen J Y. Chinese flowers species taxonomy [M]. Beijing: China Forestry Press, 2001:248-252. (in Chinese)
- [2] 梁松筠. 中国高等植物 [M]. 青岛:青岛出版社, 2002:118-133.
Liang S J. Chinese higher plant [M]. Qingdao: Qingdao Press, 2002:118-133. (in Chinese)
- [3] Tanaka Y, Katsumoto Y, Brugliera F, et al. Genetic engineering in floriculture [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2005, 80(1):1-24.
- [4] Banba H. Pigments of lily flowers: I. Survey of anthocyanin [J]. Jpn Sci Hort Sci, 1967, 36(4):433-437. (in Japanese)
- [5] Banba H. Pigments of lily flowers: II. Survey of carotenoid [J]. Jpn Sci Hort Sci, 1968, 37(4):72-82. (in Japanese)
- [6] Nørbæk R, Kondo T. Anthocyanins from flowers of *Lilium* "Liliaceae" [J]. Phytochemistry, 1999, 50(9):1181-1184.
- [7] Lai Y S, Shimoyamada Y, Nakayama M, et al. Pigment accumulation and transcription of LhMYB12 and anthocyanin biosynthesis genes during flower development in the asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.) [J]. Plant Science, 2012, 194(16):136-147.
- [8] Yamagishi M. Oriental hybrid lily Sorbonne homologue of LhMYB12 regulates anthocyanin biosyntheses in flower tepals and tepal spots [J]. Molecular Breeding, 2011, 28:381-389.
- [9] Abe H, Nakano M, Nakatsuka A, et al. Genetic analysis of floral anthocyanin pigmentation traits in Asiatic hybrid lily using molecular linkage maps [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105:1175-1182.
- [10] Yamagishi M, Yoshida Y, Nakayama M. The transcription factor LhMYB12 determines anthocyanin pigmentation in the tepals of Asiatic hybrid lilies (*Lilium* spp.) and regulates pigment quantity [J]. Molecular Breeding, 2012, 30:913-925.
- [11] Nakano M, Nakatsuka A, Nakayama M, et al. Mapping of quantitative trait loci for carotenoid pigmentation in flower tepals of Asiatic hybrid lily [J]. Scientia Horticulturae, 2005, 104:57-64.
- [12] Yamagishi M, Kishimoto S, Nakayama M. Carotenoid composition and changes in expression of carotenoid biosynthetic genes in tepals of Asiatic hybrid lily [J]. Plant Breeding, 2010, 129:100-107.
- [13] 赵祥云, 王树栋, 陈新露, 等. 百合 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000:1.
Zhao X Y, Wang S D, Chen X L, et al. Lily [M]. Beijing: Beijing Agriculture Press, 2000:1. (in Chinese)
- [14] 安田齐. 花色之谜 [M]. 张承志, 佟丽, 译. 北京:中国林业出版社, 1989:137-149.
Yasuda S. The mystery of flower color [M]. Zhang C Z, Tong L, translated. Beijing: China Forestry Press, 1989:137-149. (in Chinese)
- [15] Chang C C, Yang M H, Wen H M, et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods [M]. Journal of Food and Drug Analysis, 2002, 10:178-182.
- [16] 高俊凤. 植物生理学实验技术 [M]. 西安:世界图书出版公司, 2000:101-103.
Gao J F. Plant physiology experiment technology [M]. Xi'an: The World Book Publishing Company, 2000:101-103. (in Chinese)
- [17] Li H H. Metabolic engineering of flavonoid biosynthesis in apple by genetic transformation [D]. Hannover: Gottfried Wilhelm Leibniz University Hannover, 2008:51-54.
- [18] 葛雨莹, 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.
Ge Y X, Wang L S, Xu Y J, et al. Flower color, pigment composition and their changes during flowering in *Chimonanthus praecox* link [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(9):1331-1338. (in Chinese)
- [19] Eseribano-Bailón M T, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo J C. Anthocyanins in cereals [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1054:129-141.
- [20] Hoshino T, Matsumoto U, Goto T. Self-association of some anthocyanins in neutral aqueous solution [J]. Phytochemistry, 1981, 20(8):1971-1976.
- [21] Mazza G, Brouillard R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions [J]. Phytochemistry, 1990, 29(4):1097-1102.
- [22] 张洁. 紫薇花青素成分分析及其成色机理研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学, 2007:5.
Zhang J. Determination of anthocyanins and exploration of relationship between their composition and petal coloration in crapemyrtle (*Lagerstroemia hybrid*) [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2007:5. (in Chinese)
- [23] 刘石泉, 余庆波, 李小军, 等. 观赏植物花色基因工程的研究进展 [J]. 贵州林业科技, 2004, 32(2):13-18.
Liu S Q, Yu Q B, Li X J, et al. The review of genetic engineering of flower color [J]. Guizhou Forestry Science and Technology, 2004, 32(2):13-18. (in Chinese)
- [24] 李义龙, 肇涛澜, 陈立超, 等. 花色素苷生物合成及花色的调控 [J]. 生命科学, 2008, 20(1):147-152.
Li Y L, Zhao T L, Chen L C, et al. Regulation in pigment biosynthesis and color variation of flowers [J]. Chinese Bulletin

- of Life Sciences, 2008, 20(1):147-152. (in Chinese)
- [25] 鲁仪增, 廖校丽, 李纪元, 等. 山茶属红山茶组植物花瓣色素及其应用的研究进展 [J]. 上海农业科学, 2007, 23(2): 114-118.
Lu Y Z, Liao X L, Li J Y, et al. Pigments and application of petal from *Camellia* [J]. Acta Agriculture Shanghai, 2007, 23(2): 114-118. (in Chinese)
- [26] Bartley G E, Scolnik P A. Plant carotenoids: Pigments for photoprotection, visual attraction, and human health [J]. The Plant Cell, 1995, 7(7): 1027-1038.
- [27] Forkmann G. Flavonoids as flower pigments: The formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering [J]. Plant Breeding, 1991, 106: 1-26.
- [28] 于晓南, 张启翔. 观赏植物的花色素苷与花色 [J]. 林业科学, 2002, 38(3): 147-153.
Yu X N, Zhang Q X. Anthocyanin in ornamental plant and color express [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2002, 38(3): 147-153. (in Chinese)
- [29] Jurd L, Asen S. The formation of metal and co-pigment complexes of cyanidin 3-glucoiside [J]. Phytochemistry, 1966, 5(4): 1273-1281.
- [30] Hondo T, Yoshida K, Nakagawa A, et al. Structural basis of blue-colour development in flower petals from *Commelina communis* [J]. Nature, 1992, 358: 515-518.
- [31] Heursel J. Diversity of flower colours in *Rhododendron simsii* Planch. and prospects for breeding [J]. Euphytica, 1981, 30: 9-14.
- [32] Katsumoto Y, Fukuchi-Mizutani M, Fukui Y, et al. Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin [J]. Plant and Cell Physiology, 2007, 48(11): 1589-1600.
- [33] 张圆圆, 齐冬梅, 刘 辉, 等. 观赏向日葵的花色多样性及其与花青苷的关系 [J]. 园艺学报, 2008, 35(6): 863-868.
Zhang Y Y, Qi D M, Liu H, et al. The diversity of flower color of the ornamental sun flower and the relation to anthocyanins [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(6): 863-868. (in Chinese)
- [34] Lai Y S, Yamagishi M, Suzuki T. Elevated temperature inhibits anthocyanin biosynthesis in the tepals of an oriental hybrid lily via the suppression of LhMYB12 transcription [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 132: 59-65.

(上接第 97 页)

- [13] 柯永培, 石海春, 牛应泽, 等. 玉米营养品质性状的遗传与配合力分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2006, 43(5): 1146-1153.
Ke Y P, Shi H C, Niu Y Z, et al. Genetic and combining ability analysis of nutritional quality traits in maize [J]. Journal of Sichuan University: Natural Science, 2006, 43(5): 1146-1153. (in Chinese)
- [14] 祁 新, 赵颖君, 梁 军, 等. 玉米氨基酸含量的杂种优势分析 [J]. 吉林农业大学学报, 2001, 23(2): 17-20.
Qi X, Zhao Y J, Liang J, et al. Analysis of heterosis on amino acids of maize [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2001, 23(2): 17-20. (in Chinese)
- [15] 刘 萍, 陆卫平, 陆大雷. 鲜食糯玉米品质差异及品质评价理化指标的筛选 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2009, 30(3): 16-21.
Liu P, Lu W P, Lu D L. Quality differences and physicochemical index screening for quality evaluation in waxy corn [J]. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition, 2009, 30(3): 16-21. (in Chinese)