

DOI:10.11937/bfyy.201709014

不同花色百合色素种类和含量分析

智雅静, 王文和, 冷平生, 张克中

(北京农学院 园林学院, 北京林果业生态环境功能提升协同创新中心, 城乡生态环境北京实验室, 北京 102206)

摘要:以4个杂种系共20种不同花色的百合品种为试材,采用花色描述、显色反应和紫外可见光谱分析法,研究了不同花色中色素种类的差异;采用GB/12291-90法、pH示差法、 $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$ 比色法,研究了不同花色中类胡萝卜素、花青素和类黄酮含量的差异,以期百合花色色素的分离鉴定和培育新花色百合新品种提供参考。结果表明:不同色系的花色素种类差异明显,黄色系和橙色系主要含有类胡萝卜素和类黄酮类化合物;红色系主要含花青素和类黄酮类化合物,但部分品种仅含有类胡萝卜素;白色系中仅含有类黄酮类化合物。相同色系间花色素含量存在差异,“热辣”(‘Batistero’)中花青素含量最高,“黑人蒙特”(‘Monte Negro’)中类胡萝卜素含量最高,“白天堂”(‘White Heaven’)中类黄酮含量最高。

关键词:百合;色素;种类;含量

中图分类号:S 682.2⁺65 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)09-0062-08

百合(*Lilium* spp.)属单子叶百合科百合属多年生草本球根植物。百合花色丰富,花型多样,是重要的商业切花和世界三大球根花卉之一,其庭院、切花、盆栽品种深受人们喜爱^[1],其常见的花色有白色、红色、粉色、黄色、橙色以及一些复色品种。

植物色素主要由类黄酮、类胡萝卜素、甜菜碱三类色素组成,其中类黄酮中的花青素是构成植物红色、紫色、蓝色的主要物质,其它类黄酮呈不同程度的黄色^[2];并且尚未发现同一种植物中同时存在花青素和甜菜碱2种色素^[3]。已有研究表明,百合花瓣中主要含有的色素为类胡萝卜素、花青素以及花青素之外的其它类黄酮^[4]。

由于育种学家培育出的新品种日益增多,英国皇家园艺学会和北美百合学会把百合的各栽培品种和其原始亲缘种杂交的遗传衍生关系分为9种,分

别为亚洲百合杂种(‘Asiatic hybrids’)、星叶百合杂种(‘Martagon hybrids’)、白花百合杂种(‘Euro-Caucasian hybrids’)、美洲百合杂种(‘American hybrids’)、麝香百合杂种(‘Longiflorum hybrids’)、喇叭形杂种和奥列莲杂种(‘Trumpet hybrids and Aurelian hybrids’)、东方百合杂种(‘Oriental hybrids’)、其它杂种(‘Other hybrids’)、百合原种系(‘Species and cultivars of species’)^[5]。该试验的供试材料主要为4类杂种系不同花色的20个百合品种。通过对不同品种色素成分的分离、测定和含量计算,研究不同杂种系间花色素种类的差异及不同杂种系相同色系间含量的差异,以期研究花色素的合成途径和百合花色育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试百合品种于2015—2016年陆续采自北京农学院园林植物试验基地(表1)。这些栽培品种分别隶属于亚洲百合杂种系(‘Asiatic hybrids’)、麝香百合杂种系(‘Longiflorum hybrids’)、LA百合杂种系(亚洲百合和麝香百合的杂交品种)、东方百合杂种系(‘Oriental hybrids’)。

1.2 试验方法

在盛花期,于晴天上午摘取刚盛开的花瓣,剪掉花斑,一部分由锡箔纸包裹置于-80℃冷冻保存,剩下的部分先在-80℃冰箱中过夜,然后放在真空冷冻干燥器中烘干24h,研磨成粉末,称质量并置于若干2mL离

第一作者简介:智雅静(1990-),女,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向为园林植物资源与育种。E-mail:564336573@qq.com.

责任作者:王文和(1964-),男,内蒙古丰镇人,博士,教授,研究方向为园林植物资源与育种。E-mail:wwhals@163.com.

基金项目:北京市科技提升计划资助项目(PXM2016-014207-000015);北京市科技计划资助项目(D161100001916003);北京市属高等学校创新团队建设与教师职业发展计划资助项目(IDHT20150503);科技创新服务能力建设-协同创新中心-林果业生态环境功能提升协同创新中心资助项目(PXM2017_014207_000043)。

收稿日期:2016-12-13

表 1 试验材料及花色

Table 1 Experiment material and color description

| 色系 Color group | 品种名称 Species | 品系 String | 比色卡代码 RHSCC |
|---------------------|---------------------------|--------------|-------------------|
| 白色系 White group | “婚纱”(‘Annemarie’s Dream’) | A | White NNI55D |
| | “亮钻”(‘Bright Diamond’) | LA | White NNI55D |
| | “白天堂”(‘White Heaven’) | L | White NNI55D |
| | “曼德拉”(‘Mandaro’) | O | White NNI55D |
| 黄色系 Yellow group | “黄小鸟”(‘Yellow Cocotte’) | A | Yellow 12A |
| | “小布里吉特”(‘Petit Brigitte’) | A | Yellow 12A |
| | “赛拉达”(‘Serrada’) | LA | Yellow-Orange 14B |
| | “才气”(‘Esprit’) | LA | Yellow-Orange 14B |
| 橙色系 Orange group | “阳光城市”(‘Sun City’) | A | Orange 24C |
| | “丰收”(‘Tiny Double’) | A | Orange N25B |
| | “欢腾”(‘Victory Joy’) | A | Orange 28A |
| | “香精”(‘Wine Flavour’) | A | Orange-Red N30B |
| | “王室三人组”(‘Royal Trinity’) | LA | Orange 24A |
| | “晚安”(‘Bonsoir’) | LA | Orange N25B |
| | “美人”(‘Nettuno’) | LA | Orange-Red N30C |
| | “黑人蒙特”(‘Monte Negro’) | A | Red 46A |
| 红色系 Red group | “小火箭”(‘Tiny Rocket’) | A | Red 46A |
| | “街边”(‘Bourbon Street’) | LA | Red-Purple 63A |
| | “红色风暴”(‘Red Alert’) | LA | Red 46A |
| | “热辣”(‘Batistero’) | LA | Red-Purple 60B |

注:品系指百合品种所属的杂种系,其中 A 表示亚洲百合杂种系,L 指麝香百合杂种系,LA 指亚洲百合杂种系和麝香百合杂种系的杂交品种,O 指东方百合杂种系。下同。

Note:String refers to lily hybrids,in which A for ‘Asiatic hybrids’,L refers to ‘Longiflorum hybrids’,LA refers to the hybrid progeny of ‘Longiflorum hybrids×Asiatic hybrids’,O refers to ‘Oriental hybrids’.The same below.

心管中,于-20℃冰箱中干燥冷存储备用^[6-7]。

1.2.1 百合花色描述 分别取 20 个品种的新鲜花瓣,置于光线良好的室内,避免日光直射,将花瓣的中上部与英国皇家园艺学比色卡(royal horticultural society color chart,RHSCC)进行对比,描述花色。重复 10 次,取出现频率最高的结果。

1.2.2 色素类型的显色反应 百合色素类型的特征颜色反应:取不同花色的冷冻花瓣,液氮研磨后各取 0.100 g 于 10 mL 离心管中,分别加入石油醚、10.0%盐酸溶液、30.0%氨水约 5 mL,观察颜色变化并进行记录^[8]。类黄酮的显色反应:分别取干燥花瓣 0.100 g,用盐酸化的甲醇溶液 V(HCl):V(MeOH)=1:99 提取 15 h,过滤,定容至 25 mL,各取 2 mL 提取液,进行下列显色反应^[9-10]。1)浓盐酸—锌粉反应:加入少量锌粉,并加入浓盐酸 10 滴,摇匀,静置 1 h,观察颜色变化。2)浓盐酸—镁粉反应:加入少量镁粉,并加入浓盐酸 5 滴,摇匀,静置 1 h,观察颜色变化。3)三氯化铁反应:加入 5.0% FeCl₃·6H₂O 溶液 2 mL,观察颜色变化。4)三氯化铝反应:加入 1.0% AlCl₃·6H₂O 溶液 2 mL,观察颜色变化。5)氨性氯化锶反应:取甲醇溶液 10 mL,加入氨水定容至 25 mL,配制成被氨水饱和的甲醇溶

液。向提取液中加入 0.01 mol·L⁻¹ SrCl₂·6H₂O 甲醇溶液 10 滴,再加被氨水饱和的甲醇溶液 10 滴,摇匀,静置 1 h,观察有无沉淀^[10]。6)硼酸反应:加入 1.0% H₂O₂C₄·2H₂O 溶液 10 滴,再加入 2.0% H₃BO₃ 溶液 3 mL,摇匀,观察颜色变化。7)浓硫酸反应:缓慢滴入浓 H₂SO₄ 1.5 mL,摇匀,再置沸水浴 5 min,观察颜色变化。8)碱性试剂反应:加入 5% NaCO₃ 溶液 3 mL,摇匀,密闭静置 30 min,然后通空气 10 min,观察颜色变化。9)硼氢化钠反应:加入 NaBH₄ 粉末 8 mg,再加入 1.0% 盐酸 2 mL,摇匀,静置 2 h,观察颜色变化。

1.2.3 紫外—可见光谱分析 花瓣中叶绿素的检测:取干燥花瓣粉末 0.020 g,加入 V(丙酮):V(乙醇)=9:1 溶液于 4℃冰箱中避光提取 24 h,过滤并定容至 10 mL。用岛津公司生产的 UV-1700 型紫外可见分光光度计在 400~700 nm 扫描,比色皿光径为 1 cm,扫描间隔为 1 nm。叶绿素的特征吸收峰出现在 662,644 nm 附近^[4,11]。花瓣中类胡萝卜素的检测:取干燥花瓣粉末 0.020 g,加入 V(石油醚):V(丙酮)=1:1 溶液于 4℃冰箱中避光提取 24 h,过滤并定容至 10 mL。在 200~700 nm 扫描,比色皿光径为 1 cm,扫描间隔为 1 nm。类胡萝卜素的特征吸收峰出现在 440,470 nm 附近^[12-13]。花瓣中花青素的检测:取干燥花瓣粉末 0.020 g,加入 V(浓硫酸):V(甲醇)=3:97 溶液于 4℃冰箱中避光提取 24 h,过滤并定容至 10 mL。在 400~700 nm 扫描,比色皿光径为 1 cm,扫描间隔为 1 nm。花青素的特征吸收峰出现在 530 nm 附近^[14]。花瓣中其它类黄酮的检测:取干燥花瓣粉末 0.020 g,加入甲醇溶液于 4℃冰箱中避光提取 24 h,过滤并定容至 10 mL。在 200~700 nm 扫描,比色皿光径为 1 cm,扫描间隔为 5 nm。类黄酮类化合物一般有 2 个吸收带,分别是 240~285 nm 和 300~550 nm^[15]。

1.3 项目测定

1.3.1 类胡萝卜素含量的测定 提取液在 440 nm 和 470 nm 下的吸光度,参照 GB/12291-90“水果、蔬菜汁类胡萝卜素全量的测定”方法^[16],并略加改进,求得百合中类胡萝卜素含量,其计算公式为: $X = (OD \cdot V \cdot 10^3) / (2500 \cdot M)$ 。式中:X 为花瓣中类胡萝卜素含量(mg·kg⁻¹),OD 为在测定波长处的吸光度值,V 为提取类胡萝卜素溶液的体积(mL),2500 为胡萝卜素分子比消光系数,M 为百合花瓣质量(g)。

1.3.2 花色素苷含量测定 参照 LEE 等^[17]的花色素苷的测定方法(pH 示差法),并做略加改进,计算花色素(苷)含量。取 2 mL 样液,分别用 pH 1.0 的

KCl-HCl 缓冲液、pH 4.5 的乙酸钠-盐酸缓冲液,稀释至 10 mL,混匀后用蒸馏水作对照,用分光光度计于 510 nm 下测光密度值,计算花色素苷含量。花色素苷含量($\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$) = $(A \times MW \times DF \times V \times 100) / (\epsilon \times L \times m)$ 。式中: A 为吸光度差($A_{\text{pH}4.5} - A_{\text{pH}7.0}$), MW 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子量(449.2), DF 为稀释因子, V 为提取液体积(L), ϵ 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的消光系数(26 900), L 为光程(1 cm), m 为被测百合花瓣质量(g)。

1.3.3 类黄酮含量测定 参照张志良^[18]亚硝酸钠-硝酸铝比色法,并做适当改进,测定百合中总类黄酮的含量。将标准芦丁(rutin, $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15} \cdot \text{H}_2\text{O}$,购自坛墨质检公司)于 105 °C 烘至恒重将芦丁溶液用甲醇稀释成 0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,将 1 mL 的样液置于 10 mL 离心管中,加入 5%亚硝酸钠(NaNO_2)溶液 0.3 mL,摇匀后静置 6 min;加入 10%硝酸铝 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL,摇匀后静置 6 min;再加入 4%氢氧化钠溶液 4 mL,摇匀;最后用蒸馏水稀释至刻度,静置 10 min,后于分光光度计波长 510 nm 处测定 OD 值。根据芦丁的浓度和吸光度绘制质量浓度—OD 值芦丁标准曲线。吸取样品溶液 1 mL,按上述同样的步骤和方法测定 OD 值,从标准曲线查得样品总黄酮(以芦丁表示)的含量($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),然后根据下列公式计算 1 g 百合花瓣中总黄酮的含量(μg):干叶中总黄酮含量($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) = $(V \times \rho) / 1\,000$ 。式中: V 为 1 g 干叶制

得的提取液体积,单位是 mL; ρ 为提取液中测得的总黄酮含量,单位是 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 百合花色的确定

根据 RHSCC 比色将 4 个杂种系的不同花色的百合分成 4 个色系,分别为白色系、黄色系、橙色系和红色系,每个品种对应的色系和比色卡代码见表 1。

2.2 花色素的特征颜色反应

在石油醚反应中,若提取剂出现黄色,说明花色素中可能有类胡萝卜素。该试验中白色系的 4 个品种和红色系的“街边”(‘Bourbon Street’),“热辣”(‘Batistero’)都表现无色,说明不含类胡萝卜素;黄色系、橙色系以及红色系的“黑人蒙特”(‘Monte Negro’),“小火箭”(‘Tiny Rocket’),“红色风暴”(‘Red Alert’)表现不同程度的黄色,说明这些色系对应的品种中含有类胡萝卜素(表 2)。

在 10% 的盐酸测试中,若提取剂出现红色,说明花色素中可能有花青素。该试验中提取液表现无色、黄色和红色 3 类颜色。其中橙色系的“欢腾”(‘Victory Joy’),“香精”(‘Wine Flavour’)出现粉红色和淡红色,说明花青素含量较低,橙色系的“美人”(‘Nettuno’)和红色系的 5 个品种都表现出红色,说明花青素含量较高;其它品种表现为黄色或无色,说明不含花青素或花青素的含量极低。

表 2 百合色素类型测试的颜色反应

Table 2 Color reaction of pigments of *Lilium* species

| 色系 | 品种名称 | 品系 | 石油醚测试 | 10%盐酸测试 | 氨水测试 | 色素类型 Flower pigments | | |
|---------------------|---------|--------|-----------------|-----------------------|---------------|----------------------|------------------|----------------|
| Color group | Species | String | Petroleum ether | 10% Hydrochloric acid | Ammonia water | 类胡萝卜素 Carotenoids | 花青素 Anthocyanins | 类黄酮 Flavonoids |
| 白色系 White group | “婚纱” | A | 无色 | 极淡黄色 | 黄色 | — | — | + |
| | “亮钻” | LA | 无色 | 无色 | 亮黄色 | — | — | + |
| | “白天堂” | L | 无色 | 无色 | 亮黄色 | — | — | + |
| | “曼德拉” | O | 无色 | 无色 | 深黄色 | — | — | + |
| 黄色系 Yellow group | “黄小鸟” | A | 淡黄色 | 淡黄色 | 铁锈黄 | + | — | + |
| | “小布里吉特” | A | 黄色 | 淡黄色 | 深黄色 | + | — | + |
| | “赛拉达” | LA | 亮黄色 | 亮黄色 | 亮黄色 | + | — | + |
| | “才气” | LA | 亮黄色 | 淡黄色 | 亮黄色 | + | — | + |
| 橙色系 Orange group | “阳光城市” | A | 淡黄色 | 无色 | 深黄色 | + | — | + |
| | “丰收” | A | 淡黄色 | 无色 | 淡黄色 | + | — | + |
| | “欢腾” | A | 亮黄色 | 粉红色 | 粉红色 | + | + | + |
| | “香精” | A | 亮黄色 | 淡红色 | 黄色 | + | + | + |
| | “王室三人组” | LA | 浅黄色 | 浅黄色 | 黄色 | + | — | + |
| | “晚安” | LA | 黄色 | 黄色 | 橙红色 | + | — | + |
| | “美人” | LA | 黄色 | 红色 | 黄绿色 | + | + | + |
| | “黑人蒙特” | A | 黄色 | 红色 | 黄绿色 | + | + | + |
| 红色系 Red group | “小火箭” | A | 黄色 | 红色 | 黄褐色 | + | + | + |
| | “街边” | LA | 无色 | 红色 | 黄色 | — | + | + |
| | “红色风暴” | LA | 淡黄色 | 红色 | 黄绿色 | + | + | + |
| | “热辣” | LA | 无色 | 红色 | 黄绿色 | — | + | + |

注:“+”指花色素中存在该物质;“—”指花色素中不存在该物质。

Note: ‘+’ means the material is in the flower pigment; ‘—’ means the material is not in the flower pigment.

在氨水测试中,橙色系的“美人”(‘*Nettuno*’)和红色系的“黑人蒙特”(‘*Monte Negro*’),“红色风暴”(‘*Red Alert*’),“热辣”(‘*Batistero*’)呈现黄绿色,黄绿色是由花青素呈现的蓝色和类黄酮呈现的黄色混合而成的,说明这些品种同时含有花青素和类黄酮^[19]。其它品种表现不同程度的黄色和红色说明含有类黄酮。

2.3 类黄酮的定性测定

2.3.1 浓盐酸—锌粉反应 由表3可知,白色系的“白天堂”(‘*White Heaven*’)和红色系的5个品种都表现不同程度的红色或粉红色,说明可能含有黄酮、黄酮醇、二氢黄酮或花青素苷类化合物;黄色系的“小布里吉特”(‘*Petit Brigitte*’)出现浅蓝灰色,说明可能含有二氢黄酮;橙色系的“欢腾”(‘*Victory Joy*’),“香精”(‘*Wine Flavour*’)出现浅黄色或黄色,说明含有黄酮。其它品种为无色,可能含有异黄酮、查耳酮、噢哢^[10,20]。

2.3.2 浓盐酸—镁粉反应 “丰收”(‘*Tiny Double*’),“美人”(‘*Nettuno*’)和红色系的5个品种出现不同程度的粉红色或红色,说明可能含有黄酮、黄酮醇、二氢黄酮或花青素苷类化合物;黄色系的“小布里吉特”(‘*Petit Brigitte*’)和“才气”(‘*Esprit*’)出现浅蓝灰色或蓝色,说明可能含有二氢黄酮;其它品种均

为无色或黄色(表3)。

2.3.3 三氯化铁反应 从表3可以看出,橙色系的“欢腾”(‘*Victory Joy*’),“香精”(‘*Wine Flavour*’),“美人”(‘*Nettuno*’)和红色系的所有品种出现黄色或黄褐色,说明不含酚羟基,其它品种均为绿色,说明所含的类黄酮中含有酚羟基。

2.3.4 三氯化铝反应 黄色系的“才气”(‘*Esprit*’),橙色系的“阳光城市”(‘*Sun City*’),“欢腾”(‘*Victory Joy*’),“王室三人组”(‘*Royal Trinity*’),“晚安”(‘*Bonsoir*’)出现黄色或浅黄色,说明可能含有黄酮(表3)。

2.3.5 氨性氯化锶反应 由表3可知,白色系的“婚纱”(‘*Annemarie's Dream*’),“白天堂”(‘*White Heaven*’),“曼德拉”(‘*Mandaro*’),黄色系的“赛拉达”(‘*Serrada*’),“才气”(‘*Esprit*’),橙色系的“阳光城市”(‘*Sun City*’)无沉淀,说明不含邻二酚羟基结构的黄酮类化合物,其它品种均出现沉淀,说明含有邻二酚羟基结构的黄酮类化合物。

2.3.6 硼酸反应 黄色系的“才气”(‘*Esprit*’),橙色系的“欢腾”(‘*Victory Joy*’),“王室三人组”(‘*Royal Trinity*’),“晚安”(‘*Bonsoir*’)出现亮黄色、黄色或浅黄色,说明可能含有C₆-OH结构,其它品种中不含C₆-OH结构(表3)。

表3 百合类黄酮的显色反应

Table 3 Color reaction of flavonoids in different *Lilium* species

| 色系 Color group | 品种名称 Species | 浓盐酸-锌粉 Hydrochloric acid-zinc | 浓盐酸-镁粉 Hydrochloric acid-magnesium | FeCl ₃ 反应 Ferric chloride | AlCl ₃ 反应 Aluminium chloride | 氨性氯化锶 Ammoniacal strontium chloride | 硼酸 Boric acid | 浓硫酸 Concentrated sulfuric | 碱性试剂 Alkaline reagent | 硼氢化钠 Sodium borohydride |
|---------------------|-----------------|----------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| 白色系 White group | “婚纱” | 无色 | 无色 | 绿色 | 无色 | 无 | 无色 | 深黄色 | 浅黄色 | 无色 |
| | “亮钻” | 无色 | 无色 | 绿色 | 无色 | 沉淀 | 无色 | 深黄色 | 无色 | 无色 |
| | “白天堂” | 浅红色 | 无色 | 绿 | 无色 | 无 | 无色 | 深黄色 | 浅黄色 | 无色 |
| | “曼德拉” | 无色 | 无色 | 绿 | 无色 | 无 | 无色 | 深黄色 | 黄色 | 无色 |
| 黄色系 Yellow group | “黄小鸟” | 无色 | 无色 | 绿色 | 浅蓝色 | 沉淀 | 无色 | 深黄色 | 黄色 | 极浅绿色 |
| | “小布里吉特” | 浅蓝灰色 | 浅蓝灰色 | 绿色 | 浅蓝色 | 沉淀 | 无色 | 褐色 | 黄色 | 浅绿深色 |
| | “赛拉达” | 无色 | 无色 | 绿色 | 浅蓝色 | 无 | 无色 | 深黄色 | 黄色 | 极浅绿色 |
| | “才气” | 无色 | 蓝色 | 绿色 | 浅黄色 | 无 | 亮黄色 | 灰褐色 | 橙红色 | 粉红色 |
| 橙色系 Orange group | “阳光城市” | 无色 | 无色 | 绿色 | 极浅黄色 | 无 | 无色 | 褐色 | 黄色 | 无色 |
| | “丰收” | 无色 | 浅粉红色 | 绿色 | 浅粉红色 | 沉淀 | 粉红色 | 褐色 | 橙黄色 | 粉红色 |
| | “欢腾” | 浅黄色 | 黄色 | 黄色 | 黄色 | 沉淀 | 黄色 | 深黄色 | 橙黄色 | 橙黄色 |
| | “香精” | 黄色 | 黄色 | 黄色 | 橙黄色 | 沉淀 | 橙黄色 | 深黄色 | 橙黄色 | 橙红色 |
| | “王室三人组” | 无色 | 浅黄色 | 绿色 | 浅黄色 | 沉淀 | 浅黄色 | 深黄色 | 黄色 | 浅橙黄色 |
| | “晚安” | 无色 | 浅黄色 | 绿色 | 黄色 | 沉淀 | 黄色 | 褐色 | 黄色 | 橙黄色 |
| | “美人” | 无色 | 粉红色 | 黄色 | 橙红色 | 沉淀 | 橙红色 | 灰褐色 | 橙红色 | 粉红色 |
| 红色系 Red group | “黑人蒙特” | 红色 | 红色 | 黄褐色 | 红色 | 沉淀 | 红色 | 红褐色 | 深褐色>红褐色 | 红色 |
| | “小火箭” | 粉红色 | 红色 | 黄色 | 红色 | 沉淀 | 红色 | 酒红色 | 红褐色 | 红色 |
| | “街边” | 红色 | 红色 | 黄色 | 红色 | 沉淀 | 红色 | 酒红色 | 紫褐色 | 粉红色 |
| | “红色风暴” | 红色 | 红色 | 黄褐色 | 红色 | 沉淀 | 红色 | 红褐色 | 深褐色 | 红色 |
| | “热辣” | 红色 | 红色 | 黄色 | 粉红色 | 沉淀 | 粉红色 | 酒红色 | 浅紫褐色 | 浅粉红色 |

2.3.7 浓硫酸反应 红色系的“黑人蒙特”(‘*Monte Negro*’),“小火箭”(‘*Tiny Rocket*’),“街边”(‘*Bourbon Street*’),“红色风暴”(‘*Red Alert*’),“热辣”(‘*Batistero*’)出现不同程度的红色,可能含有花青素

(苷)(表3)。

2.3.8 碱性试剂反应 红色系的5个品种出现不同程度的深褐色、红褐色或紫褐色,且“黑人蒙特”(‘*Monte Negro*’)在通气后变为红褐色,说明这些品种

的花色素可能有邻二酚羟基或 3,4-二羟基取代的黄酮类化合物,易被氧化,如红花苷。其它品种除“亮钻”(‘Bright Diamond’),“美人”(‘Nettuno’)外,均出现不同程度的黄色或橙黄色,且通气后颜色没有变化,说明这些品种中可能含有二氢黄酮或二氢黄酮醇(表 3)。

2.3.9 硼氢化钠反应 由表 3 可知,黄色系的“才气”(‘Esprit’),橙色系的“丰收”(‘Tiny Double’),“香精”(‘Wine Flavour’),“美人”(‘Nettuno’)和红色系的 5 个品种出现不同程度的红色、粉红色或橙红色,可能含有二氢黄酮。

2.4 百合花色素成分的测定

紫外—可见光谱分析显示,百合的丙酮/乙醇萃取液在 663、645 nm 附近无吸收峰,说明这些百合中无叶绿素;V(石油醚)/V(丙酮)=1:1 提取液中黄色系、橙色系和红色系的“黑人蒙特”(‘Monte

Negro’),“小火箭”(‘Tiny Rocket’),“红色风暴”(‘Red Alert’)在 470、440 nm 附近有吸收峰,说明这些品种中含有类胡萝卜素;V(甲醇)/V(浓盐酸)=97:3 提取液中“黑人蒙特”(‘Monte Negro’),“街边”(‘Bourbon Street’),“热辣”(‘Batistero’)在 530 nm (矢车菊色素特征吸收峰)处有吸收峰,说明存在矢车菊糖苷类物质;甲醇提取液中,这些百合品种在黄酮类化合物的吸收带(240~285 nm,300~550 nm)均有吸收峰,说明均有黄酮类化合物(表 4)。

由表 4 可知,白色系百合中仅含有类黄酮,黄色系和橙色系百合中均含有类胡萝卜素;大多数红色系百合是由于花青素的积累而成,但是部分红色系百合中仅含有类胡萝卜素,如“小火箭”(‘Tiny Rocket’)。白色系的 4 个品种在甲醇提取液中的吸收峰存在差异,类黄酮的种类有差别。

表 4 百合花色素成分

Table 4 Color reaction of pigment types in different *Lilium* species

| 色系 Color group | 品种名称 Species | 品系 String | V(丙酮)/V(乙醇)=9:1 V(acetone)/V(ethyl alcohol) =9:1 | V(石油醚)/V(丙酮)=1:1 V(petroleum ether)/V(acetone) =1:1 | V(甲醇)/V(浓盐酸)=97:3 V(methyl alcohol)/V(hydrochloric) =97:3 | 甲醇 Methyl alcohol |
|---------------------|-----------------|--------------|--|---|---|-------------------------|
| 白色系 White group | “婚纱” | A | 无 | 无 | 无 | 215;325 |
| | “亮钻” | LA | 无 | 无 | 无 | 205;320 |
| | “白天堂” | L | 无 | 无 | 无 | 215;285;320 |
| | “曼德拉” | O | 无 | 无 | 无 | 230;315;350 |
| 黄色系 Yellow group | “黄小鸟” | A | 无 | 440;467 | 无 | 220;325;340;435;465 |
| | “小布里吉特” | A | 无 | 440;468 | 无 | 215;325;345;440;465 |
| | “赛拉达” | LA | 无 | 440;468 | 无 | 210;325 |
| | “才气” | LA | 无 | 441;468 | 无 | 215;330;435;465 |
| 橙色系 Orange group | “阳光城市” | A | 无 | 452 | 无 | 210;290;325;445 |
| | “丰收” | A | 无 | 467 | 无 | 210;280;310;470 |
| | “欢腾” | A | 无 | 466 | 无 | 210;330;340;465 |
| | “香精” | A | 无 | 469 | 无 | 210;345;470 |
| | “王室三人组” | LA | 无 | 467 | 无 | 210;330 |
| | “晚安” | LA | 无 | 443;467 | 无 | 210;330;440;465 |
| | “美人” | LA | 无 | 469 | 无 | 215;330 |
| | “黑人蒙特” | A | 无 | 469 | 530 | 210;225;285;325;345;470 |
| 红色系 Red group | “小火箭” | A | 无 | 468 | 无 | 210;470 |
| | “街边” | LA | 无 | 无 | 530 | 220;285;330 |
| | “红色风暴” | LA | 无 | 466 | 530 | 230;285;330;465 |
| | “热辣” | LA | 无 | 无 | 530 | 210;280;325 |

2.5 百合花瓣中的类胡萝卜素、花青素和类黄酮含量

芦丁标准曲线方程为 $C=845.6A-10.20$, $R^2=0.976$ (其中, C 为芦丁的浓度,单位 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; A 为溶液在 510 nm 处的吸光度),根据 1.3 中的测定方法,求得百合中类胡萝卜素、花青素和类黄酮的含量。

由表 5 可知,不同品种的百合中类胡萝卜素、花青素、类黄酮含量总体存在差异。类胡萝卜素含量以红色系的“黑人蒙特”(‘Monte Negro’),橙色系的“欢腾”(‘Victory Joy’),“香精”(‘Wine Flavour’)较高,橙色系的“阳光城市”(‘Sun City’),“丰收”(‘Tiny Double’),“王室三人组”(‘Royal Trinity’)较低,其中

“黑人蒙特”(‘Monte Negro’)的含量高达 $201.467 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,是含量最低的“阳光城市”(‘Sun City’)的 8 倍多。红色系的“热辣”(‘Batistero’)花青素含量最高($70.414 \pm 0.241 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$),红色系的“红色风暴”(‘Red Alert’)花青素的含量最低($54.689 \pm 0.417 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$)。百合中的类黄酮含量差异明显,其中白色系的“白天堂”(‘White Heaven’)中类黄酮含量最高,是含量最低的“曼德拉”(‘Mandaro’)中类黄酮含量的 200 倍。类黄酮中只有花青素(苷)直接影响花色,其它的类黄酮为辅助色素,不直接影响花色变化,肉眼无法粗略地辨别含量差异。

表 5

百合含量测定结果

| Table 5 Contents of pigment types in different <i>Lilium</i> species | | | | | |
|--|-----------------|--------------|--|---|---|
| 色系 Color group | 品种名称 Species | 品系 String | 类胡萝卜素含量 Carotenoid content/(mg·kg ⁻¹) | 花青素含量 Anthocyanin content/(mg·(100g) ⁻¹) | 类黄酮含量 Flavonoids content/(g·kg ⁻¹) |
| 白色系 White group | “婚纱” | A | ND | ND | 21.677±0.880cd |
| | “亮钻” | LA | ND | ND | 5.611±1.064b |
| | “白天堂” | L | ND | ND | 113.425±2.772a |
| | “曼德拉” | O | ND | ND | 0.537±0.244l |
| 黄色系 Yellow group | “黄小鸟” | A | 82.133±8.488c | ND | 47.139±1.634i |
| | “小布里吉特” | A | 150.533±7.128f | ND | 69.924±4.124k |
| | “赛拉达” | LA | 112.200±4.716e | ND | 28.865±0.646efg |
| | “才气” | LA | 159.667±1.155g | ND | 23.603±0.325cde |
| 橙色系 Orange group | “阳光城市” | A | 24.600±1.114a | ND | 26.234±4.184def |
| | “丰收” | A | 41.133±1.901b | ND | 10.685±1.485b |
| | “欢腾” | A | 184.667±4.518i | ND | 34.408±3.522gh |
| | “香精” | A | 192.000±10.800i | ND | 11.671±0.488b |
| | “王室三人组” | LA | 39.000±2.800b | ND | 31.120±6.960fgh |
| | “晚安” | LA | 95.000±3.000d | ND | 28.677±4.738efg |
| | “美人” | LA | 175.133±5.829h | ND | 35.489±1.691h |
| | “黑人蒙特” | A | 201.467±3.062j | 66.656±1.205b | 18.013±1.709j |
| 红色系 Red group | “小火箭” | A | 82.533±2.901c | ND | 58.743±1.691c |
| | “街边” | LA | ND | 67.213±0.723b | 44.931±3.117i |
| | “红色风暴” | LA | 80.933±5.637c | 54.689±0.417a | 50.334±2.690i |
| | “热辣” | LA | ND | 70.414±0.241c | 9.275±0.244b |

注:差异显著分析使用 LSD 法,显著性水平为 $P<0.05$,不同的小写字母表示同列数据的差异性。ND 指百合花瓣中无该物质。

Note: Significant difference analysis by LSD, significant level $P<0.05$, different lowercase letters indicate the differences within the same column. ND excludes the material in the flower pigment.

3 讨论

花色是观赏植物的重要特征,花色的形成受花色素的影响。现有研究表明,植物中的花色素主要有类胡萝卜素、类黄酮(花青素和其它类黄酮)、甜菜碱和叶绿素^[21-22]。该试验结果表明,这些百合品种花瓣中无叶绿素,均含有类黄酮;黄色系和橙色系百合中均含有类胡萝卜素,白色系品种中仅含有类黄酮,大部分红色系品种中含有花青素(苷)。BAN-BA^[23-24]和郭鸿飞等^[25]对亚洲百合(A)和东方百合(L)的栽培品种的研究表明,红色系百合中主要含有花青素,橙色系和黄色系百合是由于类胡萝卜素的积累。可见,相同花色的不同百合中色素的种类相同,这与 NORBAEK 等^[26]的研究结果一致。

类胡萝卜素作为脂溶性的有色色素,对花色产生直接的影响。前人已对百合中的色素进行分析,VALADON 等^[27]报道橙红色的朝鲜百合(*L. amabile*)中的主要化合物为反式辣椒红素、顺式花药黄质、反式辣椒玉红素、反式隐黄质、顺反式紫黄质,而橙红色的兰州百合(*L. davidii* var. *willmottiae*)中没有顺式花药黄质和反式隐黄质,存在反式花药黄质和反式玉米黄质;JEKNIC 等^[28]报道橙红色的山丹(*L. pumilum*)中主要化合物为辣椒玉红素;DELI 等^[29]报道橙红色的卷丹(*L. tigrinum*)中主要化合物

为(9Z)-花药黄质、辣椒红素;YAMAGISHI 等^[30]报道红色的亚洲百合(‘Sajia’)中的主要化合物为辣椒红素和花药黄质。而这些化合物均为类胡萝卜素,这与试验结果中橙色系百合中均有类胡萝卜素、部分红色系百合中存在类胡萝卜素无花青素的结论一致。

自然界中存在着丰富的花青素或花青素苷,常见的花青素主要有 6 种,分别为矢车菊素、天竺葵素、飞燕草素、芍药花素、牵牛花素和锦葵素^[31]。由于花青素不稳定,需要和糖苷类物质构成花青苷,如矢车菊葡萄糖苷。NORBAEK 等^[26]报道紫红色的亚洲百合(‘Holean’)中主要化合物为矢车菊 3-O-β-芸香糖苷和矢车菊 3-O-β-芸香糖苷-7-O-β-葡萄糖苷,而另外一种紫红色的亚洲百合(‘Monte Negro’)中主要化合物为矢车菊 3-O-β-芸香糖苷。YAMAGISHI 等^[32]报道深红色的亚洲百合(‘Blackout’)中主要化合物为矢车菊 3-O-β-芸香糖苷,此外其它红色系亚洲百合中的主要化合物也是矢车菊 3-O-β-芸香糖苷^[32-33]。可见,大多数红色系百合中含有花青素,而且该花青素主要为矢车菊 3-O-β-芸香糖苷。

类黄酮中除花青素外都为辅助色素,如黄酮醇、二氢黄酮醇、黄烷醇以及酚酸类物质。这些色素不同于花青素和类胡萝卜素,其种类和含量的变化不易被察觉。该试验的紫外-可见光谱分析表明白色系中 4 类百合中均存在类黄酮,但是东方百合中的

类黄酮含量极低,并且 YAMAGISHI 等^[32]在对白色系的 2 种百合(‘Nanova’和‘Silver Stone’)的研究中未发现类黄酮。因此,白色品种中是否存在类黄酮,需要进行更加深入地研究。

影响百合花色的原因复杂,除了该试验研究的色素种类的差异外,还受金属离子、细胞中的 pH、生物碱、有机酸、光照、温度的影响。另外,该试验材料有限,而且颜色反应和紫外-可见光谱分析只能对花色的成分和含量做初步分析,为了准确测定百合花色还需要应用高效液相色谱-质谱联用技术作更加深入的研究。

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.
- [2] 程金水, 刘青林. 园林植物育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2010: 64-75.
- [3] 刘志祥, 洪亚辉, 莫爱华, 等. 观赏植物花色分子遗传学及基因工程研究进展[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(6): 531-534.
- [4] 王秀刚. 百合种质资源的花色评价及形成分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [5] MATTHEWS V. The International lily register & checklist (2007) (Fourth Supplement)[M]. London: The Royal Horticultural Society, 2014: 2-3.
- [6] 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): 84-89.
- [7] 白新祥, 胡可, 戴思兰, 等. 不同花色菊花品种花色成分的初步分析[J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(5): 68-73.
- [8] 安田齐. 花色的生理生物化学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 15-54.
- [9] 夏婷, 耿兴敏, 罗凤霞. 不同花色野生百合色素成分分析[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(5): 108-165.
- [10] 高锦明. 植物化学[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 165-169.
- [11] 孙中武. 植物化学[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2000: 302-316.
- [12] 谭仁祥. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 112-133.
- [13] 波钦诺克 X H. 植物生物化学分析方法[M]. 邢家海, 丁钟荣, 译. 北京: 科学出版社, 1981: 229-261.
- [14] 林文华, 郭红辉. 植物花色苷[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 87-99.
- [15] 马卡姆 K R. 黄酮类化合物结构鉴定技术[M]. 张宝琛, 唐崇实, 译. 北京: 科学出版社, 1990: 43-45.
- [16] 蔬菜汁类胡萝卜素全量的测定: GB/12291-90 水果[S]. 1990.
- [17] LEE J, DURST R, WROLSTAD R E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study[J]. Journal of AOAC International, 2005, 88(5): 1269-1277.
- [18] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009: 135-137.
- [19] 葛雨萱, 王亮生, 徐彦军. 腊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.
- [20] 张剑亮. 观赏向日葵花色形成的机理研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [21] 何小玲, 王金发. 观赏花卉的品质基因及其基因工程问题[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(6): 462-466.
- [22] TANAKA Y, TSUDA S, KUSUMI T. Metabolic engineering to modify flower color[J]. Plant Cell Physiol, 1998, 39(11): 1119-1126.
- [23] BANBA H. Pigments of lily flower: I [Survey of anthocyanin][J]. Jpn Sci Hort Sci, 1967, 36(4): 433-437.
- [24] BANBA H. Pigments of lily flower: II [Survey of carotenoid][J]. Jpn Sci Hort Sci, 1968, 37(4): 72-82. (in Japanese).
- [25] 郭鸿飞, 张延龙, 牛立新, 等. 8 种中国野生百合花色成分分析[J]. 西北农林大学学报, 2015, 43(3): 98-104.
- [26] NORBAEK R, KONDO T. Anthocyanins from flowers of *Lilium* ‘Liliaceae’[J]. Phytochemistry, 1999, 50(9): 1181-1184.
- [27] VALADON L R G, MUMMERY R S. Carotenoids of lilies and of red pepper: Biogenesis of capsanthin and capsorubin[J]. Z. Pflanzenphysiol(Bd), 1977, 82(5): 407-416.
- [28] JEKNIC Z, MORRE J T, JEVREMOVIC S, et al. Cloning and functional characterization of a gene for capsanthin synthase from tiger lily (*Lilium lancifolium* Thunb. ‘Splendens’)[J]. Plant and Cell Physiology, 2012, 53(11): 1899-1912.
- [29] DELI J, MOLNDR P, MATUSZ, et al. Isolation and characterization of 3,5,6-trihydroxy-carotenoids from petal of *Lilium trigrinum*[J]. Chromatographia, 1998, 48(1): 27-31.
- [30] 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, 2010a, 129(1): 100-107.
- [31] 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.
- [32] 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(2): 913-925.
- [33] ABEH, NAKANOM, NAKATSUKAA, et al. Genetic analysis of floral anthocyanin pigmentation traits in Asiatic hybrid lily using molecular linkage maps[J]. Theor Appl Genet, 2002, 105: 1175-1182.

Components and Content of Flower Pigments in the Petals of Different Color *Lilium* Species

ZHI Yajing, WANG Wenhe, LENG Pingsheng, ZHANG Kezhong

(College of Landscape Architecture, Beijing University of Agriculture/Beijing Collaborative Innovation Center for Eco-environmental Improvement With Forestry and Fruit Trees/Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, Beijing 102206)

哈尔滨金河湾湿地植物园标高对木本植物生存的影响

岳桦, 鲁奕含, 胡尚春

(东北林业大学 园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:哈尔滨金河湾湿地植物园具有水位不稳定的漫滩特征,不同标高下木本植物生长状况存在差异。该研究以竣工图标高为依据,将全园划分为3个区域,以20 m×20 m样方为调查单元,采集其植物种类、生长状况等,比较2011年与2016年植物种类及空间构成差异,研究了湿地漫滩生境不同标高下对木本植物的适宜种类选择的影响,以期为今后木本植物的合理配置提供科学参考。结果表明:2016年现阶段园内木本植物种类共29种,分属11科,其中乔木16种,灌木13种。水生境下(标高115.17~116.00 m),只有灌木柳、旱柳存活,长势较好;阶段性水陆生境(标高116.00~119.49 m),除杨柳科其它植物生长状况较差,与2011年竣工图相比,种类消失率高达52.4%,木本植物存活率排序:灌木柳(88.7%)>旱柳(80.3%)>银中杨(78.5%)>家榆(76.3%)>白桦(72.8%),均在该标高下对当地的环境有较好的适应能力。不受水淹胁迫,陆地生境下(标高为119.49~125.68 m),木本植物存活率排序为旱柳(97.6%)>银中杨(93.5%)>家榆(90.7%)>胡桃楸(89.6%)>榆叶梅(88.5%),均在该标高下对当地的环境有较好的适应能力。

关键词:哈尔滨;金河湾湿地植物园;标高;木本植物

中图分类号:TU 986.5⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)09-0069-06

哈尔滨金河湾湿地植物园(北纬45°46′35.2″~45°46′58.9″,东经126°29′07.7″~126°29′45.1″)位于哈尔滨市松北区四环路和拟建的松花江三环路桥之间

第一作者简介:岳桦(1962-),女,硕士,教授,现主要从事园林植物应用教学与科研等工作。E-mail:1157646129@qq.com.

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(31600576);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2572015BX06);东北林业大学双一流专项资助项目(41114245)。

收稿日期:2017-01-05

的滩地,园区内微地形标高多样,鬃岗、沙丘地貌特征明显,平均标高117.16 m^[1-2](1985国家标高基准,下同)。2013年哈尔滨市降水量较大,受水淹胁迫影响,5月公园被迫关闭,不同标高下木本植物存活状况受到不同程度的影响,有些甚至死亡。该研究以建园竣工时木本植物种植状况为基础,通过样地取样法,动态采集2014—2016年园内木本植物种类、配置形式及生长状况的相关数据,分析建园后植物生存情况的变化,同时根据近几年植物死亡情况、残存

Abstract: The petals of 20 *Lilium* cultivars belonging to four strains were used as tested materials. The color description, chromogenic reaction and UV-visible spectra of flower pigments were performed to research the impurity of pigment types in different *Lilium* species. The contents of carotenoids, anthocyanins and flavonoids were determined by GB/12291-90 method, pH-differential spectrophotometry and NaNO₂-AlCl₃ method. All of those were studied in order to provide a theoretical reference for the separation and identification of lily pigments and the cultivation of new varieties of lily. The results showed that there were significant differences in the pigments types of lily flower. The pigments of yellow and orange petals were carotenoids and flavonoids; the pigments of red petals were anthocyanins and flavonoids, some species only contained carotenoids. There was only flavonoids in the pigments of white petals. There were significant differences in contents of the flower pigments in the same color. 'Batistero' was the highest content of anthocyanins, the content of carotenoids in 'Monte Negro' was the highest, and the content of flavonoids in 'White Heaven' was the highest.

Keywords: *Lilium brownie*; flower pigments; component; content