

金桂及其芽变花色表型及色素成分分析

王艺光¹, 骆义波¹, 张超¹, 付建新¹, 胡绍庆², 赵宏波^{1,*}

(¹浙江农林大学风景园林与建筑学院, 浙江临安 311300; ²浙江理工大学建筑工程学院, 杭州 310018)

摘要: 以金桂及其芽变花为试验材料, 利用英国皇家园艺学会比色卡 (Royal Horticultural Society Color Chart, R.H.S.C.C.) 和色差仪测量两种花的颜色表型, 通过显色法和紫外—分光光度计初步确定了两种花的主要色素类型, 并且利用高效液相色谱—光电二极管阵列 (HPLC - DAD) 测定花瓣中类胡萝卜素和总黄酮含量, 利用高效液相色谱—大气压化学电离源—质谱联用技术 (HPLC - APCI - MS) 和标准品鉴定主要类胡萝卜素成分。结果发现, 芽变枝条上的花色由母本的黄色 (R.H.S.C.C. 12B ~ 13A) 变为橙红色, 且花瓣边缘和内部颜色不同 (内侧 R.H.S.C.C. 23B, 花瓣外缘 R.H.S.C.C. N25A); 两种花瓣中均含黄酮类化合物, 不含花青素苷, 且两者的类胡萝卜素含量存在一定差异; 从两种花瓣中分离鉴定出主要的类胡萝卜素成分为 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素, 这两种组分和类胡萝卜素总量在芽变花瓣中极显著高于母本, 而两种花瓣的总黄酮含量无显著性差异。因此, 最终可以确定引起芽变花色变化的主要色素成分为类胡萝卜素。

关键词: 金桂; 芽变; 花色; 色素成分; 类胡萝卜素

中图分类号: S 685.13

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 03-0528-09

Flower Color and Pigment Composition in the Petals of Bud Mutation and its Stock Plant of *Osmanthus fragrans* 'Jingui'

WANG Yiguang¹, LUO Yibo¹, ZHANG Chao¹, FU Jianxin¹, HU Shaoqing², and ZHAO Hongbo^{1,*}

(¹Department of Ornamental Horticulture, School of Landscape Architecture, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China; ²College of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The flowers from stock plant and bud mutational branches of *Osmanthus fragrans* 'Jingui' were used for this research. First, the Royal Horticultural Society Color Chart (R.H.S.C.C.) and colorimeter was used for the measurement of the phynotype parameters. The pigment types were preliminary identified with the method of color reaction and UV - Vis analysis. The HPLC - DAD was used to measure the contents of carotenoids and total flavonoids. The dominate carotenoid components were further identified by the HPLC - APCI - MS and standards. The results showed that the flower color of the mutational branches became into reddish orange (inside: R.H.S.C.C. 23B; outside: R.H.S.C.C. N25A), which was different from the yellow color (R.H.S.C.C. 12B - 13A) of the flowers from stock plant. Furthermore, it was confirmed that both of these two kind petals contained flavonoids, but without anthocyanins, and

收稿日期: 2016 - 12 - 19; **修回日期:** 2017 - 03 - 21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31501790, 31170656); 浙江省自然科学基金项目 (LQ15C160004); 浙江省农业新品种选育重大科技专项 (2016C02056-12)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhaohb@zafu.edu.cn)

different content of carotenoids. Finally, α -carotene and β -carotene were detected as the main carotenoid components in the petals of the two kind flowers. The content of α -carotene, β -carotene and total carotenoids in the petals of the mutational branches were significant higher than those in the petals of stock plant, whereas there was no significant difference between the total flavonoid content of two samples. Therefore, carotenoids were considered as the dominate pigments which led to the change of flower color of mutant.

Keywords: *Osmanthus fragrans* ‘Jingui’; bud mutation; flower color; pigments; carotenoids

桂花 (*Osmanthus fragrans* Lour.) 因其绝佳的观赏效果和怡人芳香一直以来深受人们的喜爱。花色是桂花最重要的观赏性状之一, 同时也是品种分类的主要依据 (尚富德等, 2012)。秋桂由于花色变异较大可分为银桂 (Albus group)、金桂 (Luteus group) 和丹桂 (Aurantiacus group) 品种群。其中, 银桂品种群花色较浅, 从银白到黄白色 (R.H.S.C.C. 1~8) 变化; 金桂品种群花色为以黄色系为主, 呈淡黄色、金黄色至深黄色 (R.H.S.C.C. 9~20); 丹桂品种群花色较深, 由浅橙黄色到深橙红色 (R.H.S.C.C. 21~30) 变化 (向其柏和刘玉莲, 2008)。

目前普遍认为桂花丰富的品种是在长期的栽培过程中通过人工选择和自然杂交等逐渐形成的 (杨康民, 2013)。其中芽变是桂花新品种形成的重要途径之一, 金桂芽变形成丹桂较为常见, 如历史上《广群芳谱》、《梦梁录》和《浙江通志》等均有记载, 现在在苏州、南京、桂林和福建等地均发现金桂上出现丹桂芽变枝条的现象 (向其柏和刘玉莲, 2008)。但关于桂花芽变的深入研究, 特别是花色变化的量化描述及其成分分析未见报道。

本研究中以调查发现的金桂芽变为研究对象, 从花瓣颜色表型到色素成分进行比较分析, 以期对桂花花色突变机理的研究提供方向和基础, 为桂花品种起源与演化提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 植物材料与样品采集

试验材料为普通金桂品种 (图 1), 其芽变枝的花瓣颜色由原本的黄色转变为橙红色。该植株树龄 10 年左右, 生长状态良好、无病虫害。于 2015 年 10 月桂花开花期分别采集带花的芽变枝条及其母本枝条, 在保湿状态下快速带回实验室测定花色表型, 同时采集两种枝条上处于盛开期的小花, 去除花梗并用硅胶干燥后于 -20 °C 条件下保存, 用于色素成分测定。

1.2 花色表型测定

每个品种取数朵盛开期的小花置于白色 A4 纸上, 在相同的光源条件下, 用英国皇家园艺学会比色卡 (Royal Horticultural Society Color Chart, R.H.S.C.C.) 进行比对并记录对应数值; 使用 CR-10 型便携式色差仪 (日本柯尼卡美能达公司) 将集光孔对准花瓣测量明度 L^* 值、色相 a^* 和 b^* 值, 计算彩度 C^* (Gonnet, 1998), 重复 5 次取平均值。

1.3 色素成分初步分析

1.3.1 显色反应

将干燥后的桂花花瓣研磨成粉末, 取 0.1 g 分别加入石油醚、10%盐酸和氨水各 5 mL, 震荡均

匀后过滤, 观察滤液颜色变化 (白新祥 等, 2006)。

1.3.2 紫外-可见光谱分析

取两种花瓣干粉各 0.1 g, 分别加入 5 mL 丙酮:石油醚 (9:1, 体积比)、丙酮:石油醚 (1:1, 体积比) 和盐酸:甲醇 (1:99, 体积比), 在 4 °C 条件下避光浸提 24 h。将不同提取液过滤后定容至 10 mL, 用 UV-3802 型紫外可见分光光度计分别在 400 ~ 700 nm、200 ~ 700 nm 和 220 ~ 600 nm 范围内扫描 (赵昶灵 等, 2004; 白新祥 等, 2006)。

1.4 类胡萝卜素定性定量分析

类胡萝卜素的提取参照 Delpino-Rius 等 (2014) 的方法。用甲醇超声浸提桂花干粉, 再加入等量的正己烷萃取类胡萝卜素, 利用浓度为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 NaCl 使溶液分层后离心。回收有机相并利用氮吹仪于室温条件下将有机溶剂吹干。将干燥残留物溶于 $0.06 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 KOH 甲醇溶液, 室温条件下反应 24 h。然后利用正己烷和二乙醚混合液 (3:1) 反萃取类胡萝卜素, 并用氮吹仪吹干后避光保存于 -80 °C 条件下。整个过程在昏暗条件下避免强光直射, 防止类胡萝卜素降解或者异构化。

将提取的类胡萝卜素干样重溶于甲基叔丁基醚溶液。利用高效液相色谱和质谱定性定量前, 待测溶液需经 $0.22 \mu\text{m}$ 针筒过滤器过滤。采用 Shimadzu HPLC 系统 (日本岛津公司) 进行类胡萝卜素提取混合液中各成分的分离和定量分析 (Zhang et al., 2016)。分离色谱柱采用 C30 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, 粒径 $5 \mu\text{m}$, 日本岛津 GL 公司)。流动相以甲醇 (methanol) 作为 A 相, 甲基叔丁基醚 (methyl tert-butyl ether, MTBE) 作为 B 相进行梯度洗脱: 0 min, 0% B; 18 min, 46% B; 35 min, 70% B; 37 min, 70% B; 40 min, 0% B; 47 min, 0% B; 柱温 25 °C, 检测波长 450 nm。以 β -阿朴-8'-类胡萝卜素醛 (β -apo-8'-carotenal) 作为内标进行定量分析 (Baldermann et al., 2010)。

类胡萝卜素成分的定性分析使用 Agilent-1200 HPLC 系统联合 6210 Time-of-Flight 质谱仪 (美国安捷伦科技公司)。质谱离子源采用大气压化学电离源 (APCI), 在正离子模式下进行全扫描, 扫描范围为 $100 \sim 1\,000 \text{ amu}$ 。色谱柱、流动相以及洗脱程序等色谱条件与定量分析一致。以高纯氮 (99.999%) 作为喷雾气体和干燥气体, 喷雾器压力 413.7 kPa, 氮气流速为 $6 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; 汽化温度和干燥温度分别是 450 °C 和 300 °C; 碰撞电压 175 V, 扫描电压 6 V, 毛细管电压 3.5 kV。

1.5 类黄酮化合物的定量分析

参照侯丹 (2014) 所述测定方法, 将芦丁稀释成不同浓度建立标准曲线计算总黄酮含量。

2 结果与分析

2.1 变异花色表型与母本的比较

根据目测, 母本枝条和变异枝条上的花色有明显的差别 (图 1)。将这两种花色的花瓣与比色卡对比, 发现母本的花色 R.H.S.C.C. 值为 12B ~ 13A, 呈现中黄色至黄色, 属于典型的金桂品种范围 (R.H.S.C.C. 9 ~ 20); 而变异枝条的花瓣内侧花色 R.H.S.C.C. 值上升到 23B, 花瓣外缘颜色更深, R.H.S.C.C. 值高达 N25A, 分别呈现橙黄色和浅橙红色, 属于丹桂花色范围 (R.H.S.C.C. 21 ~ 30)。

利用色差仪测定花瓣颜色, 发现变异枝条的花色明度 L^* 值、黄度 b^* 值和彩度 C^* 值有不同程度地降低; 相反, 其红度 a^* 值极显著高于母本花色 (图 2), 说明变异枝条上开的花颜色变深, 更加偏向红色。



图1 桂花芽变枝花色变化

黄色花来源母本, 橙红色花来源变异枝条。

Fig. 1 Color change of flower from mutational branches of *Osmanthus fragrans*

Yellow flowers were from stock plant, whereas orange flowers were from mutational branches.

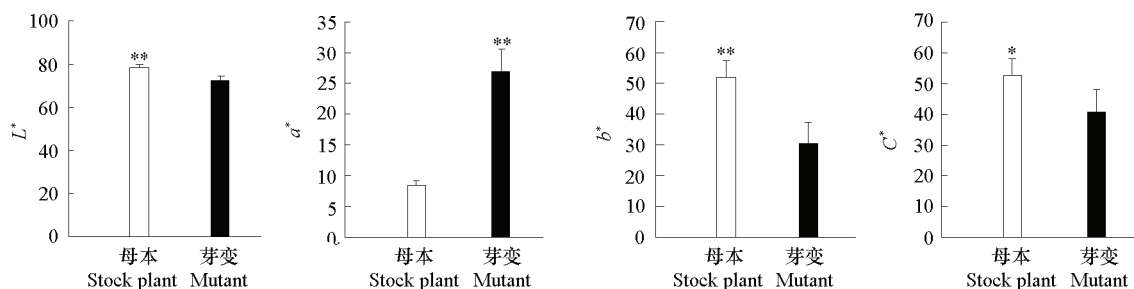


图2 桂花母本枝条与变异枝花的颜色表型参数对比

Fig. 2 Comparison of phenotypic parameters of stock plant and mutational branches

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$.

2.2 变异与母本花瓣中色素成分初步分析

图3为桂花花瓣在不同测试下的颜色反应。在石油醚测试中,母本枝条上的桂花样品呈极淡黄色,而变异枝条上的则呈现亮黄色,推测两份材料中具有不同含量的类胡萝卜素。盐酸测试中,两

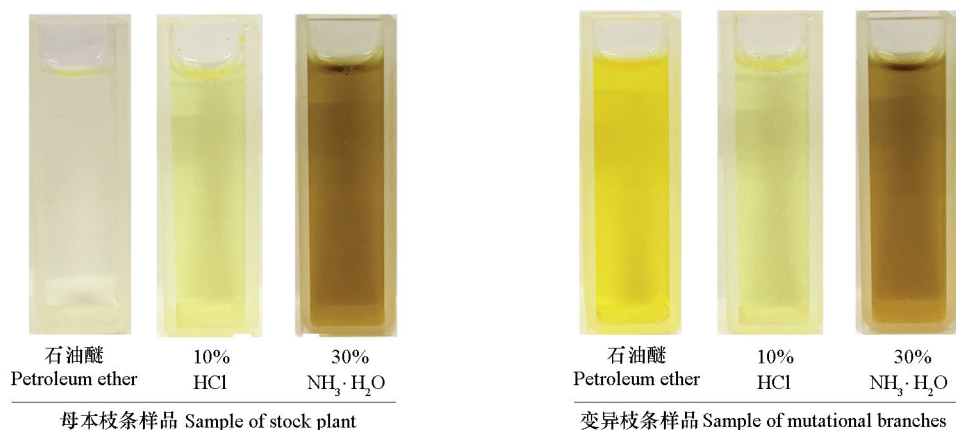


图3 桂花花瓣中色素类型测试的颜色反应

Fig. 3 Color reaction of pigments types in petals of *Osmanthus fragrans*

种桂花均表现浅黄色而非红色，证明两者都含有黄酮类化合物且不含花青素苷。两种花色的桂花在氨水测试中均呈现铁锈黄色，说明都含有大量的黄酮醇化合物。

为了进一步确定两种花色桂花花瓣中的色素类型，对其不同的提取液进行紫外可见光谱分析（图4）。两类颜色桂花的丙酮石油醚溶液（9:1）在644 nm和662 nm处均无吸收峰，说明花瓣中都不含叶绿素；母本枝条花瓣的丙酮石油醚溶液（1:1）在450 nm附近也无明显吸收峰，说明不含或仅含极微量的类胡萝卜素，相反，变异枝条有明显的类胡萝卜素特征吸收峰450 nm和478 nm。两个样品的盐酸甲醇溶液的特征吸收峰并无显著差异，均出现在360 nm附近，此为黄酮类化合物的特征吸收峰。

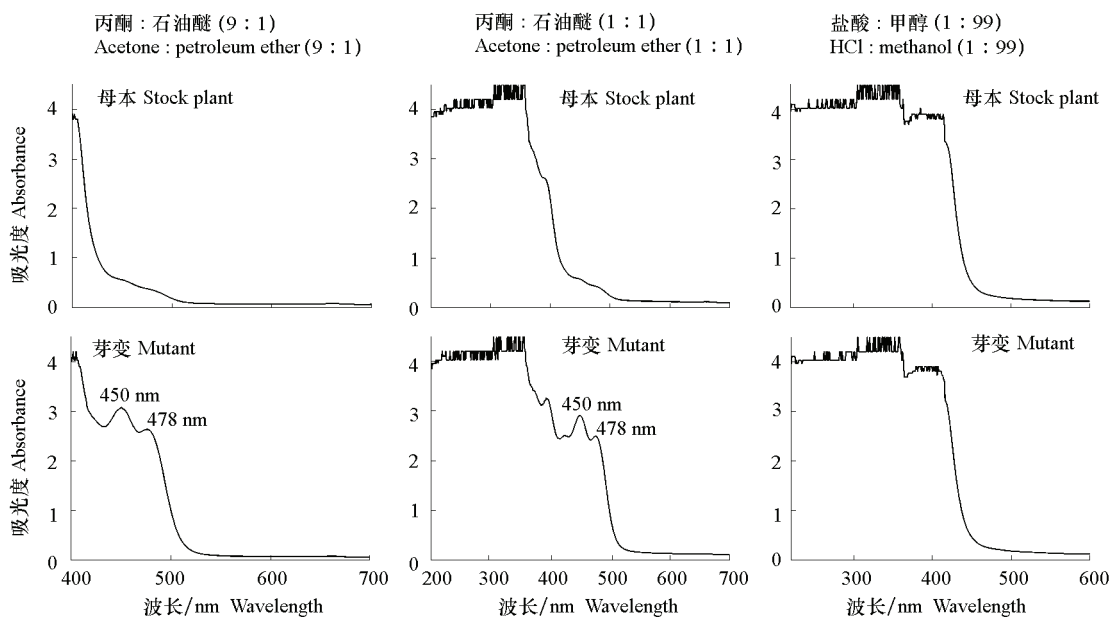


图4 桂花花瓣中色素成分的紫外—可见光谱分析
Fig. 4 UV - Vis analysis of pigments in petals of *Osmanthus fragrans*

2.3 变异枝条与母本花瓣中类胡萝卜素成分、含量及类黄酮总量的比较

利用高效液相色谱—大气压化学电离源—质谱联用技术（HPLC - APCI - MS）从母本枝条和变异枝条花瓣类胡萝卜素提取液中分离出两种含量变化最大的组分（图5，P2和P3）。

在正离子模式下获得两个组分的母离子均为 m/z 537.4 $[M + H]^+$ ，失去80 u后得到 m/z 457.4 $[M + H - C_6H_8]^+$ 。

结合紫外特征吸收峰（P2为445和472 nm，P3为451和476 nm）对比相关文献（Breemen et al., 2012; Delpino-Rius et al., 2014; Li et al., 2014），并与标准品（Sigma-Aldrich, USA）在相同色谱条件下的保留时间和紫外特征吸收峰进行比对，最终确定这两个组分分别为 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素。

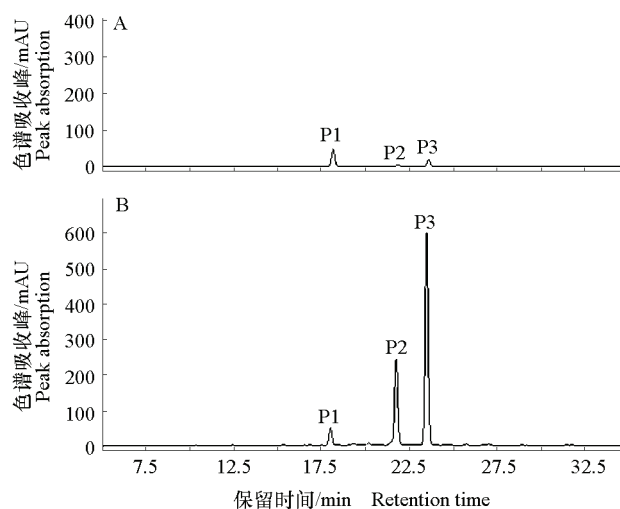


图5 母本枝条 (A) 与变异枝条 (B) 花瓣类胡萝卜素色谱图

P1 为 β -阿朴-8'-类胡萝卜素醛 (内标), P2 为 α -胡萝卜素, P3 为 β -胡萝卜素。

Fig. 5 HPLC chromatogram of carotenoids in the petals of stock plant and mutational branches

P1 represents β -apo-8'-carotenal (internal standard), P2 represents α -carotene, P3 represents β -carotene.

以 β -阿朴-8'-类胡萝卜素醛为内标, 对各类胡萝卜素组分进行定量分析, 类胡萝卜素总量为各组分含量之和。通过比较母本枝条和变异枝条桂花花瓣中类胡萝卜素的含量 (表 1) 可知, 变异枝条花瓣中 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量都极显著高于母本枝条。其中 α -胡萝卜素在母本枝条的花瓣中的含量仅为 $(15.15 \pm 0.52) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$, 而在变异枝条花瓣中的积累量高达 $(741.81 \pm 0.67) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$; 相比 α -胡萝卜素的含量, 两者 β -胡萝卜素的含量更高且差异更大, 前者为 $(64.30 \pm 4.34) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$, 后者为 $(1700.59 \pm 7.84) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 。由于两种组分含量的显著差异, 变异枝条花瓣中类胡萝卜素总量远高于母本枝条。相反, 两种花色的桂花花瓣中类黄酮总量并无显著性差异, 母本枝条为 $(115298.79 \pm 4076.27) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$, 芽变枝条为 $(108477.67 \pm 6242.79) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 。由此说明引起两者花色差异的色素成分为类胡萝卜素。

表1 母本枝条与变异枝条花瓣类胡萝卜素成分和总黄酮含量比较

Table 1 Comparison of carotenoids and flavonoids content in petals of stock plant and mutational branches $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$				
材料	α -胡萝卜素	β -胡萝卜素	总类胡萝卜素	总类黄酮
Material	α -carotene	β -carotene	Total carotenoids	Total flavonoids
母本 Stock plant	$15.15 \pm 0.52^{**}$	$64.30 \pm 4.34^{**}$	$90.95 \pm 5.57^{**}$	115298.79 ± 4076.27
芽变 Mutant	741.81 ± 0.67	1700.59 ± 7.84	2504.23 ± 8.30	108477.67 ± 6242.79

注: **表示 t 检验在 $P \leq 0.01$ 水平上差异极显著。

Note: ** indicates significant difference at $P \leq 0.01$ level by t test.

3 讨论

栽培植物中常会出现芽变现象, 而芽变育种是月季 (伏成 等, 2013)、菊花 (田赟 等, 2008)、杜鹃 (苏家乐 等, 2012) 等重要花卉培育新品种的重要方法之一。根据对桂花芽变及其母本花瓣色素成分的分析发现, 引起花色表型变化的关键色素是类胡萝卜素而不是类黄酮化合物。两者类胡萝

胡萝卜素种类相同（主要是 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素），但含量差异极其显著，这两种组分在芽变材料中的含量和比例与其他丹桂品种如‘橙红丹桂’（Han et al., 2014）和‘堰虹桂’（Zhang et al., 2016）中相似。

类胡萝卜素是叶绿体进行光合作用时的辅助色素，起到保护叶绿素免受强光破坏的作用（Bartley & Scolnik, 1995）。当类胡萝卜素大量积累于果实和花瓣中时，能使其呈现嫩黄、橙色、橙红、红色，从而吸引动物传粉或者散播种子（Ronen et al., 1999）。柚芽变新品种的果实也能积累大量的类胡萝卜素，果肉从原本的白色或浅黄色变为橙黄色甚至红色（卢新坤等, 2013; 郭秀珠等, 2014）。桃子黄肉突变体中类胡萝卜素含量显著高于白色果肉的母本，且母本的类胡萝卜素裂解酶基因 *CCD4* 转录水平比突变体高得多（朱运钦等, 2015）。Han 等（2014）研究了类胡萝卜素代谢途径中主要基因在‘籽银桂’、‘金桂’和‘橙红丹桂’花瓣中的表达模式发现，类胡萝卜素合成下游基因 *OjHYB* 和 *OjZEP* 以及降解基因 *OjCCD1* 和 *OjCCD4* 在丹桂中的相对表达量显著低于银桂和金桂，从而导致了其花瓣中类胡萝卜素大量积累。母洪娜等（2015）比较‘早银桂’和‘橙红丹桂’初花期花部组织中类胡萝卜素代谢相关基因的表达差异，同样发现‘橙红丹桂’花组织中的 *OjCCD4* 下调表达，而 *OjCYP450*、*OjLCYe*、*OjISPS*、*OjZEP*、*OjGES*、*OjPPO*、*OjMAT* 和 *OjLOX* 等基因出现上调表达的现象。因此，本研究中的丹桂突变体花瓣中 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素含量显著上升，可能是由于下游通路阻断而导致上游产物大量积累。造成此变异的原因可能是碱基缺失、碱基插入引起的基因突变，也可能源于转座元件活动或 DNA 甲基化等（Hao & Deng, 2005; Trainin et al., 2005）。

秋桂 3 个品种群之间花色存在明显的差别，前人关于不同品种群的起源也有较多的研究，却没有统一的定论。藏德奎等（2006）通过比较形态学研究推测秋桂类 3 个品种群是从银桂进化到金桂再颜色变深演化成丹桂，认为颜色较深的金桂和丹桂是在栽培过程中才出现。赵宏波等（2015）通过在湖南浏阳和浙江建德千岛湖等地对野生桂花种群的调查中却发现同时存在银桂、金桂和丹桂表型的个体，认为 3 个秋桂品种群存在平行演化趋势。利用不同标记对不同品种群亲缘关系的研究在大多数报道中有相似地结论。陈建业等（1995）利用同工酶分析不同桂花品种，认为金桂和丹桂有较近的亲缘关系，这与朱长山等（1992）对桂花品种的分类相近；利用 ISSR（胡绍庆等, 2004; 李梅等, 2009a）、AFLP（韩远记等, 2008）、SRAP（李梅等, 2009b）和 SSR（邬帅, 2015）等技术分析不同桂花品种亲缘关系，也往往能将颜色较深的金桂和丹桂聚为一类，证明二者有较近的遗传距离。此次在金桂植株上出现丹桂表型芽变的现象可能与最初丹桂品种的来源相似，为研究二者之间的联系提供了材料。

References

- Bai Xin-xiang, Hu Ke, Dai Si-lan, Wang Liang-sheng. 2006. Components of flower pigments in the petals of different color *Chrysanthemum morifolium* Ramat. cultivars. *Journal of Beijing Forestry University*, 28 (5): 84 - 89. (in Chinese)
- 白新祥, 胡可, 戴思兰, 王亮生. 2006. 不同花色菊花品种花色素成分的初步分析. *北京林业大学学报*, 28 (5): 84 - 89.
- Baldermann S, Kato M, Kurosawa M, Kurobayashi Y, Fujita A, Fleischmann P, Watanabel N. 2010. Functional characterization of a carotenoid cleavage dioxygenase I and its relation to the carotenoid accumulation and volatile emission during the floral development of *Osmanthus fragrans* Lour. *Journal of Experimental Botany*, 61 (11): 2967 - 2977.
- Bartley G E, Scolnik P A. 1995. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *Plant Cell*, 7 (7): 1027 - 1038.
- Breemen V R B, Dong L, Pajkovic N D. 2012. Atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry of carotenoids. *International Journal of Mass Spectrometry*, 312 (2): 163 - 172.

- Chen Jian-ye, Ning Yu-xia, Zhao Cui-hua, Ning Yu-ting, Li Zhen-qing. 1995. Studies on the peroxidase, isozyme of *Osmanthus fragrans* varieties in Henan. *Acta Horticulturae Sinica*, 22 (2): 176 - 180. (in Chinese)
陈建业, 宁玉霞, 赵翠花, 宁玉婷, 李振卿. 1995. 河南桂花品种过氧化物酶同工酶研究. *园艺学报*, 22 (2): 176 - 180.
- Delpino-Rius A, Eras J, Marsol-Vall A, Vilaró F, Balcells M, Canela-Garayoa R. 2014. Ultra performance liquid chromatography analysis to study the changes in the carotenoid profile of commercial monovarietal fruit juices. *Journal of Chromatography A*, 1331: 90 - 99.
- Fu Cheng, Yang Can-jun, Pannekeet N, Wang Qi-gang. 2013. A new rose cultivar 'Candy Avalanche'. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (2): 403 - 404. (in Chinese)
伏成, 杨灿军, Pannekeet N, 王其刚. 2013. 月季新品种 '糖果雪山'. *园艺学报*, 40 (2): 403 - 404.
- Gonnet J F. 1998. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1. A colorimetric definition using the CIELAB scale. *Food Chemistry*, 63 (3): 409 - 415.
- Guo Xiu-zhu, Chen Wei, Pan Xiao-qiang, Huang Pin-hu, Lin Jian-bo, Xu Wen-rong, Lin Shao-sheng. 2014. A new pummelo variety 'Hongroujijyou'. *Journal of Fruit Science*, 31 (6): 1178 - 1180. (in Chinese)
郭秀珠, 陈巍, 潘孝强, 黄品湖, 林建波, 徐文荣, 林绍生. 2014. 柚类新品种——红肉四季柚的选育. *果树学报*, 31 (6): 1178 - 1180.
- Han Yuan-ji, Dong Mei-fang, Yuan Wang-jun, Li Jin, Han Jie, Shang Fu-de. 2008. Studies on the genetic diversity of some *Osmanthus fragrans* cultivars based on AFLP markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (1): 137 - 142. (in Chinese)
韩远记, 董美芳, 袁王俊, 李瑾, 韩洁, 尚富德. 2008. 部分桂花栽培品种的 AFLP 分析. *园艺学报*, 35 (1): 137 - 142.
- Han Y, Wang X, Chen W, Dong M, Yuan W, Liu X, Shang F. 2014. Differential expression of carotenoid-related genes determines diversified carotenoid coloration in flower petal of *Osmanthus fragrans*. *Tree Genetics & Genomes*, 10 (2): 329 - 338.
- Hao Y J, Deng X X. 2005. Cytological and molecular evaluation of strawberry plants recovered from *in vitro* conservation by slow-growth. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 80 (5): 588 - 592.
- Hou Dan. 2014. Analysis of floral scent and pigment constituents and the reflectance to temperature fluctuation in *Osmanthus fragrans* Lour. [M. D. Dissertation]. Lin'an: Zhejiang Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
侯丹. 2014. 桂花主要品种花香和花色及其对温度变化的响应[硕士论文]. 临安: 浙江农林大学.
- Hu Shao-qing, Qiu Ying-xiong, Wu You-hong, Xuan Zi-can. 2004. A ISSR-PCR analyze of the *Osmanthus fragrans* cultivars. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 28 (Supplement): 71 - 75. (in Chinese)
胡绍庆, 邱英雄, 吴尤洪, 宣子灿. 2004. 桂花品种的 ISSR-PCR 分析. *南京林业大学学报 (自然科学版)*, 28 (增刊): 71 - 75.
- Li Mei, Hou Xi-lin, Hao Ri-ming. 2009b. Analysis of genetic relationship of *Osmanthus fragrans* based on SRAP markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (11): 1667 - 1675. (in Chinese)
李梅, 侯喜林, 郝日明. 2009b. 基于 SRAP 分子标记的桂花品种亲缘关系研究. *园艺学报*, 36 (11): 1667 - 1675.
- Li Mei, Hou Xi-lin, Shan Xiao-zheng, Hao Ri-ming. 2009a. Genetic relationship and specific markers of some *Osmanthus fragrans* cultivars based on ISSR. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29 (4): 674 - 682. (in Chinese)
李梅, 侯喜林, 单晓政, 郝日明. 2009a. 部分桂花品种亲缘关系及特有标记的 ISSR 分析. *西北植物学报*, 29 (4): 674 - 682.
- Li X, Lu M, Tang D, Shi Y. 2014. Composition of carotenoids and flavonoids in narcissus cultivars and their relationship with flower color. *PLoS One*, 10 (11): e0142074.
- Lu Xin-kun, Lin Qi-hua, Lin Yan-jin, Zhang Jin-tao, Zhang Sheng-min, Li Cun-sheng. 2013. 'Huangjinmiyou', a new orange-yellow fleshed pomelo cultivar. *Journal of Fruit Science*, 30 (5): 900 - 902. (in Chinese)
卢新坤, 林旗华, 林燕金, 张金桃, 张胜民, 李春生. 2013. 优特柚类新品种——'黄金蜜柚'的选育. *果树学报*, 30 (5): 900 - 902.
- Mu Hong-na, Sun Tao-ze, Yang Xiu-lian, Wang Liang-gui. 2015. Differential expression of flower color related genes of *Osmanthus fragrans* Lour. 'Chenghongdangui' and 'Zaoyingui'. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 39 (3): 183 - 186. (in Chinese)
母洪娜, 孙陶泽, 杨秀莲, 王良桂. 2015. 两个桂花品种花色色素相关基因的差异表达. *南京林业大学学报 (自然科学版)*, 39 (3): 183 - 186.
- Ronen G M, Zamir D, Hirschberg J. 1999. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for

- lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant Delta. *Plant Journal*, 17 (4): 341 - 351.
- Shang Fu-de, Han Yan-ji, Yuan Wang-jun, Dong Mei-fang. 2012. Review on classification of *Osmanthus* and *Osmanthus fragrans* cultivars. *Journal of Henan University (Natural Science)*, 42 (5): 608 - 612. (in Chinese)
- 尚富德, 韩远记, 袁王俊, 董美芳. 2012. 木犀属及桂花品种分类研究进展. *河南大学学报 (自然科学版)*, 42 (5): 608 - 612.
- Su Jia-le, Liu Xiao-qing, Li Chang, He Li-si, Chen Lu. 2012. A new *Rhododendron* cultivar 'Yanzhi Mi'. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (12): 2555 - 2556. (in Chinese)
- 苏家乐, 刘晓青, 李畅, 何丽斯, 陈璐. 2012. 杜鹃花新品种 '胭脂蜜'. *园艺学报*, 39 (12): 2555 - 2556.
- Tian Yun, Luo Xin-yan, Dai Si-lan. 2008. RAPD analysis of sporting and similar cultivars in *Chrysanthemum*. *Molecular Plant Breeding*, 6 (6): 1223 - 1232. (in Chinese)
- 田贇, 雒新艳, 戴思兰. 2008. 菊花芽变和相似品种的 RAPD 分析. *分子植物育种*, 6 (6): 1223 - 1232.
- Trainin T, Lipsky A, Levy A A, Holland D. 2005. Prolonged somatic transposition in *Citrus*: the autonomous Ac transposable element remains active in the *Citrus* genome for several years. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130 (1): 95 - 101.
- Wu Shuai. 2015. Genetic diversity of natural populations and origin of cultivation in *Osmanthus fragrans* based on SSR markers [M. D. Dissertation]. Lin'an: Zhejiang Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
- 邬帅. 2015. 基于 SSR 标记的桂花自然居群遗传多样性和栽培起源研究 [硕士论文]. 临安: 浙江农林大学.
- Xiang Qi-bai, Liu Yu-lian. 2008. An illustrated monograph of the sweet osmanthus variety in China. Hangzhou: Zhejiang Science & Technology Press. (in Chinese)
- 向其柏, 刘玉莲. 2008. 中国桂花品种图志. 杭州: 浙江科学技术出版社.
- Yang Kang-min. 2013. Chinese *Osmanthus*. Beijing: China Forestry Publishing House. (in Chinese)
- 杨康民. 2013. 中国桂花. 北京: 中国林业出版社.
- Zang De-kui, Xiang Qi-bai, Liu Yu-lian. 2006. Notes on cultivar classification in *Osmanthus*. *Scientia Silvae Sinicae*, 42 (5): 17 - 21. (in Chinese)
- 臧德奎, 向其柏, 刘玉莲. 2006. 木犀属品种分类研究. *林业科学*, 42 (5): 17 - 21.
- Zhang C, Wang Y, Fu J, Bao Z, Zhao H. 2016. Transcriptomic analysis and carotenogenic gene expression related to petal coloration in *Osmanthus fragrans* 'Yanhong Gui'. *Trees*. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00468-016-1359-8>
- Zhao Chang-ling, Guo Wei-ming, Chen Jun-yu. 2004. Preliminary study on the categories and contents of the flower color pigments of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. *Journal of Beijing Forestry University*, 26 (2): 68 - 73. (in Chinese)
- 赵昶灵, 郭维明, 陈俊瑜. 2004. 梅花花色色素种类和含量的初步研究. *北京林业大学学报*, 26 (2): 68 - 73.
- Zhao Hong-bo, Hao Ri-ming, Hu Shao-qing. 2015. Geographic distribution and population characteristics of *Osmanthus fragrans*. *Acta Horticulturae Sinica*, 42 (9): 1760 - 1770. (in Chinese)
- 赵宏波, 郝日明, 胡绍庆. 2015. 中国野生桂花的地理分布和种群特征. *园艺学报*, 42 (9): 1760 - 1770.
- Zhu Chang-shan, Li Rui-fu, Yuan Jian-du, Chen Jian-ye, Liu Chang-gui, Liao Wan, Chen Zhong-yu. 1992. Investigation on the classification of *Osmanthus fragrans* Lour. cultivars in Henan. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis*, 26 (2): 194 - 201. (in Chinese)
- 朱长山, 李瑞符, 袁建都, 陈建业, 刘长贵, 燎万, 陈中玉. 1992. 河南桂花品种的分类研究. *河南农业大学学报*, 26 (2): 194 - 201.
- Zhu Yun-qin, Zeng Wen-fang, Lu Zheng-hua, Niu Liang, Cui Guo-chao, Wang Zhi-qiang. 2015. Carotenoid metabolism and gene expression analysis of 'CN9' nectarine and its yellow flesh mutant 'CN9Y'. *Acta Horticulturae Sinica*, 42 (4): 623 - 632. (in Chinese)
- 朱运钦, 曾文芳, 鲁振华, 牛良, 崔国朝, 王志强. 2015. '中油桃 9 号' 及其黄肉芽变的类胡萝卜素代谢和基因表达分析. *园艺学报*, 42 (4): 623 - 632.