

梅花花色与黄酮类成分相关性及 ISSR 种质资源遗传多样性分析

唐志康¹, 钟秀美^{1#}, 杨 雯¹, 戴明月¹, 潘开东¹, 何三健², 舒晓燕¹, 张 文¹, 侯大斌¹, 陈 平^{1*}

1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010

2. 达州市达川区茶果站 四川 达川 635000

摘要:目的 研究梅 *Prunus mume* 的花色及花中黄酮类成分特征, 揭示其遗传多样性及亲缘关系, 为梅种质资源鉴定和新品种培育提供依据。方法 以 52 份梅花样品为材料, 分别采用红绿蓝 (red green blue, RGB) 色值法和化学法调查花色特征, 采用高效液相色谱法 (HPLC) 评估梅花的 6 种黄酮类成分特征, 利用 ISSR 分子标记技术探究梅的遗传多样性。结果 RGB 色值和亮度指数表明“乌梅帝”花色最暗, 种质资源圃花色最亮。“乌梅帝”植株和“乌梅后”植株花均含有 6 种黄酮, 部分“乌梅帝”和“乌梅后”区域梅花则未检测出金丝桃苷、山柰酚及异鼠李素。尽管主成分及相关分析结果表明梅花色与其黄酮的含量无内在关系, 但其成分间存在相关性, 梅花的异槲皮素与芦丁和金丝桃苷含量呈显著正相关, 异槲皮素与槲皮素呈显著正相关。槲皮素与山柰酚和异鼠李素呈显著正相关, 山柰酚与异鼠李素呈显著正相关。ISSR 标记结果表明 3 个调查区域间存在着亲缘关系, 资源圃部分植株可能源自“乌梅帝”和“乌梅后”区, “乌梅后”和“乌梅帝”区存在相互移栽的情况。结论 基于 RGB 色值法和化学法预测梅花黄酮含量仍有待优化, 但进化树可将“乌梅帝”及“乌梅后”准确聚类。ISSR 分子标记结果证实“乌梅帝”“乌梅后”及资源圃植株的亲缘关系, 梅在群体水平上遗传多样性较高, 且各调查区域间存在频繁遗传交流。

关键词: 梅; 花色; 黄酮; 遗传多样性; 种质资源; ISSR; 金丝桃苷; 山柰酚; 异鼠李素

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)10-3457-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.10.023

Analysis of correlation between flower color and flavonoids and ISSR germplasm resources genetic diversity of *Prunus mume*

TANG Zhikang¹, ZHONG Xiumei¹, YANG Wen¹, DAI Mingyue¹, PAN Kaidong¹, HE Sanjian², SHU Xiaoyan¹, ZHANG Wen¹, HOU Dabin¹, CHEN Ping¹

1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China

2. Chaguo Station of Dachuan, Dachuan 635000, China

Abstract: Objective The characteristics of flower color and flower flavonoids of *Prunus mume* were studied to reveal its genetic diversity and genetic relationship, which provided a basis for identifying *P. mume* germplasm resources and breeding new varieties. **Methods** Based on 52 samples of *P. mume*, the flower color characteristics were investigated by quantifying red green blue (RGB) and chemical measurement. Similarly, characteristics of six kinds of flavonoids of the *P. mume* were evaluated by high-performance liquid chromatography (HPLC), and ISSR molecular marker technique was used to determine the genetic diversity. **Results** The RGB value and brightness index (BI) indicated that flower color was darker in “Wumeidi” and peaked in the germplasm resource garden. All six flavonoids were detected in the “Wumeidi” and “Wumeihou” plants, but the hyperin, kaempferol, and isorhamnetin were not detected in some *P. mume* in the “Wumeidi” and “Wumeihou” regions. Although the principal component and correlation analysis results didn’t reveal the inherent relationship the flower’s color and its flavonoids, the correlations between its flavonoids were observed. The flower flavonoids contents showed that isoquercetin was positively correlated with rutin and hyperin content, and isoquercetin was positively correlated with quercetin. Quercetin was positively correlated with kaempferol and isorhamnetin, and kaempferol was positively correlated with isorhamnetin. Results of ISSR markers indicated a genetic

收稿日期: 2023-11-02

基金项目: 果梅产业发展调研报告项目 (21sh0042); 达川乌梅种质资源保护与乌梅林下中药材种植模式研究项目 (23zd3158)

作者简介: 唐志康, 副研究员, 从事中药材栽培及育种研究。E-mail: 248306296@qq.com

#共同第一作者: 钟秀美, 学士, 从事中药材栽培研究。E-mail: 3526573687@qq.com

*通信作者: 陈 平, 讲师, 博士, 从事中药材栽培及育种研究。E-mail: pingchen@swust.edu.cn

relationship among the three investigated regions. Some plants in the resource garden were probably transplanted from the “Wumedi” and “Wumeihou” regions, and the “Wumedi” and “Wumeihou” regions were transplanted into each other. **Conclusion** The prediction of flavonoids contents in *P. mume* based on RGB values and chemical method still needs to be optimized, but the evolutionary tree can accurately cluster “Wumei Di” and “Wumei Hou”. The genetic relationship between “Wumeidi” and “Wumeihou” and resource garden plants was confirmed by ISSR molecular markers. *P. mume* had high genetic diversity at the population level and there was frequent genetic exchanges among the investigated regions.

Key words: *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc.; flower color; flavonoid; genetic diversity; germplasm resources; ISSR; hyperin; kaempferol; isorhamnetin

梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. 蔷薇科植物, 俗名为青梅, 原产于我国南方, 有着 3 千多年的栽培史^[1], 其既有观赏价值又有药用价值。中药材“乌梅”和“梅花”分别为梅的近成熟果实和干燥花蕾^[2]。《神农本草经》最早记载梅的药用价值, 果部药物——中品“梅实”: “味酸, 平, 无毒。主下气, 除热烦满, 安心……”^[3]。据《齐名要术》记载, 不同的加工工艺可将梅子制成白梅和乌梅^[4]。乌梅作为药食同源的中药材^[5], 乌梅果脯、饮品、中药饮片等畅销国内外市场^[6]。梅花 *Mume Flos* 别名白梅花^[7], 具有疏肝中和与化痰散结的效用^[2]。

梅花具有丰富的药理作用, 其提取物 *prunose* I 和 *prunose* II 具有抑制血小板凝聚的作用^[8], *prunose* III 则具有清除氧自由基的作用^[9]。此外, 梅花还有改善便秘^[10], 对高尿酸血症及肾病有一定防治效果^[11]。梅花的药理作用主要源自其黄酮类化合物^[8,11-12], 其黄酮类化合物主要包括苯甲酸、异鼠李素、槲皮素、山柰酚、异槲皮苷、金丝桃苷和芦丁^[13]。植物的花色表现的化学基础是花色素, 花色素包括了类黄酮、类胡萝卜素和生物碱^[14]。黄酮作为类黄酮成分的一个类别, 表现为无色或黄色, 且其酸性越强黄色越浅^[14]。梅花花色属于黄酮类化合物^[15], 通常采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定样品的黄酮含量, 但其检测成本较高且流程较为复杂。植物的花色可使用红绿蓝 (red green blue, RGB) 值进行快速评估^[16-17]; 例如, 通过 RGB 值量化油菜花色差异辅助育种^[18], 非洲菊的花色 RGB 值与其黄酮含量可能存在联系^[19]。虽然对乌梅药材的研究较多, 但对梅花的研究相对匮乏, 少有基于花色 RGB 值评估其黄酮含量的报告。

种质资源及遗传多样性的调查评估有助于梅资源的保护, 通常利用分子标记法从 DNA 层面阐释植物的遗传变异。简单重复序列间扩增多态 (ISSR) 适用于评估基因组信息匮乏的物种^[20]。四川省达州市达川区作为“中国乌梅之乡”, 其乌梅基原纯正, 获“国家地理产品标志保护”认证, 是乌梅 GAP 标

准制标品种^[21-22]。达川区现有梅种植面积 6 700 hm², 其中 1 500 余株树龄达百年以上, 2 株树龄超过 600 年 (“乌梅帝”和“乌梅后”)^[21,23]。梅产业具有巨大的发展潜力及研究意义, 但目前国内对梅种质资源的整体研究与利用不足。本研究期望通过调查梅花花色及其黄酮含量测定探究其内在联系, 同时通过 ISSR 方法评估梅种质资源遗传多样性, 为利用和保护梅资源提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

2022 年 1 月在达州市乌梅山省级现代农业 (中药材) 园区的核心区取样调查梅花色, 样品信息如表 1 所示, 经西南科技大学生命科学与工程学院侯大斌教授鉴定为梅 *P. mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc.。梅资源保护核心区 (乌梅山村 3 组与 4 组) 的梅种质资源主要源自 2 株树龄 600 余年的梅古树——“乌梅帝”与“乌梅后”^[21], 2 株乌梅古树相距 3 km 左右。故根据梅种质资源分布特征, 调查分别对 3 个区域布局采样点, 包括资源圃 (A) 区、“乌梅帝” (B) 区、“乌梅后” (C) 区。“乌梅帝”区域: “乌梅帝” (S29) 树龄 600 年左右, 高 20 m 左右, 胸径 1.5 m。“乌梅后”区域: “乌梅后” (S41) 树龄 600 年左右, 高 18 m 左右。资源圃区域内乌梅多为村民栽种, 位于“乌梅帝”与“乌梅后”之间, 植株高 5~10 m。梅花调查时, 分别对区域内胸径最大的植株取样, 同时以其中心半径 100 m 向外辐射, 对胸径 20~50 cm 植株随机取样。梅花取样时, 每株采集枝条中部花瓣全展开但未凋谢的花 20 朵, 装入做好标记的塑封袋, 立即放入冰盒中, 带回实验室测定相关指标。梅花生物学特征见图 1。

对照品芦丁 (B20771)、金丝桃苷 (B20631)、异槲皮苷 (B21529)、槲皮素 (B20527)、山柰酚 (B21126)、异鼠李素 (B21554) 购于上海源叶生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%; 使用试剂中甲醇和乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯。

表 1 梅样品信息
Table 1 Information of *P. mume* samples

编号	采样区	产地	编号	采样区	产地	编号	采样区	产地
S1	A	四川达州	S19	A	四川达州	S37	B	四川达州
S2	A	四川达州	S20	A	四川达州	S38	B	四川达州
S3	A	四川达州	S21	A	四川达州	S39	B	四川达州
S4	A	四川达州	S22	A	四川达州	S40	B	四川达州
S5	A	四川达州	S23	A	四川达州	S41	C	四川达州
S6	A	四川达州	S24	A	四川达州	S42	C	四川达州
S7	A	四川达州	S25	A	四川达州	S43	C	四川达州
S8	A	四川达州	S26	A	四川达州	S44	C	四川达州
S9	A	四川达州	S27	A	广东普宁（引种）	S45	C	四川达州
S10	A	四川达州	S28	A	山西洪洞（引种）	S46	C	四川达州
S11	A	四川达州	S29	B	四川达州	S47	C	四川达州
S12	A	四川达州	S30	B	四川达州	S48	C	四川达州
S13	A	四川达州	S31	B	四川达州	S49	C	四川达州
S14	A	四川达州	S32	B	四川达州	S50	C	四川达州
S15	A	四川达州	S33	B	四川达州	S51	C	四川达州
S16	A	四川达州	S34	B	四川达州	S52	C	四川达州
S17	A	四川达州	S35	B	四川达州			
S18	A	四川达州	S36	B	四川达州			

1.2 仪器

1260 安捷伦液相色谱仪（安捷伦有限公司）；
V-T3 型分光光度计（上海屹谱公司）。

2 方法

2.1 梅花色调查

通过 RGB 扫描法和化学法调查梅花色，对盛开的花（图 1-c 和 1-g），使用扫描仪拍照。参照田露申^[18]的方法，随机提取 3 次花瓣（图 1-f）的 RBG 值并求均值作为花色数据。基于花色 RGB 数据计算了红绿差值（R_G）、红蓝差值（R_B）、绿蓝差值（G_B），公式（1）～（3）中，R、G、B 分别为红、

绿、蓝值。

$$R_G=R-G \tag{1}$$

$$R_B=R-B \tag{2}$$

$$G_B=G-B \tag{3}$$

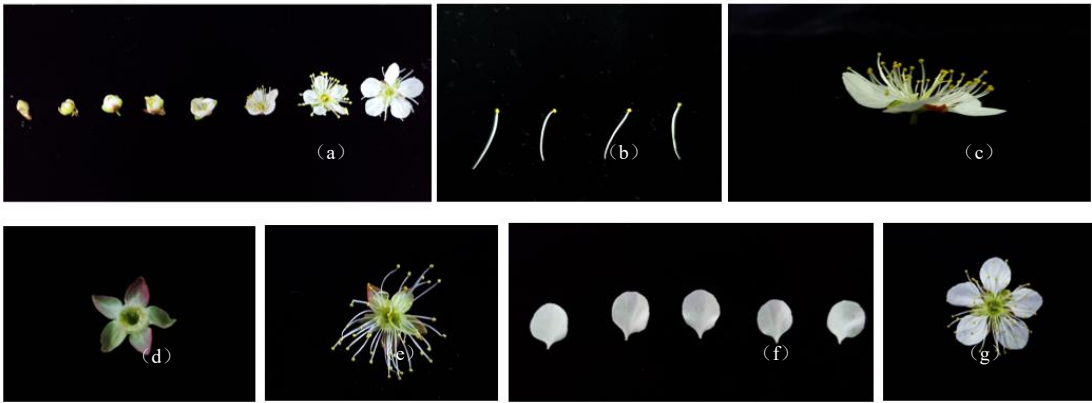
同时，基于 RGB 值计算了花瓣的绿度指数（greenness index, GI）^[24]，具体计算公式如下。

$$pre_GIa=(255\times 3-|G-100|-R-B)/255\times 3 \tag{4}$$

$$pre_GIb=(255\times 3-|G-165|-|R-37.5|-|B37.5|)/25\times 3 \tag{5}$$

$$pre_GIc=pre_GIb/(1-pre_GIb) \tag{6}$$

$$GI=pre_GIc/12 \tag{7}$$



a-乌梅梅花开花过程；b 和 e-雌蕊；c 和 g-完整的花；d-花萼；f-花瓣。
a-Dachuan *P. mume* flowering process; b and e-pistil; c and g-intact flower; d-calyx; f-petals.

图 1 梅花朵生物学特征
Fig. 1 Flower biological characteristics of Dachuan *P. mume*

红度指数 (redness index, RI)^[25]、亮度指数 (brightness index, BI)^[26]、归一化的红度指数 (normalized redness index, NRI)^[27], 具体公式如下。

$$RI = R^2/B \times G^3 \quad (8)$$

$$BI = \sqrt{(R^2 + G^2 + B^2)/3} \quad (9)$$

$$NRI = R/(R + G + B) \quad (10)$$

类似于归一化红度指数, 计算了归一化的绿度指数 (normalized greenness index, NGI) 和归一化的蓝度指数 (normalized blueness index, NBI), 计算公式如下:

$$NGI = G/(R + G + B) \quad (11)$$

$$NBI = B/(R + G + B) \quad (12)$$

化学法测定流程参考田露申^[18]的方法: 取鲜样 0.10 g, 放入离心管中, 加入 10 mL 无水乙醇浸泡 4 h; 然后 5 000 r/min 室温离心 5 min 取上清液待用。每个调查区域选用 2 份典型花色的花瓣 (共计 6 份), 使用分光光度计, 在波长 400~500 nm 内进行扫描获取吸光度 (*A*) 值, 确定化学法色素的吸收高峰为 410 nm (图 2)。

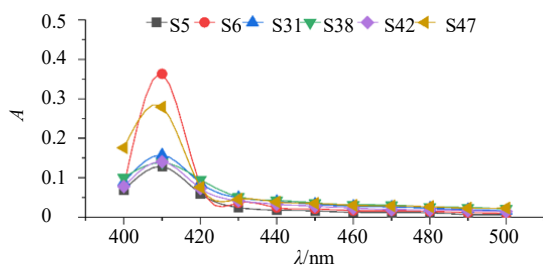


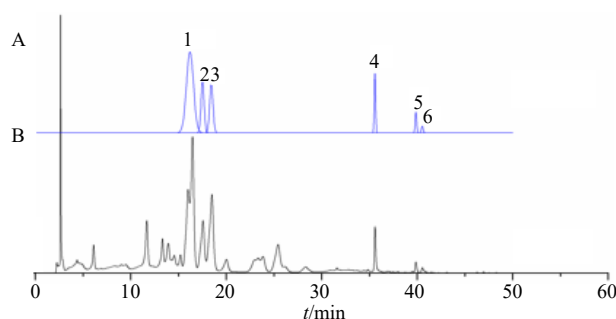
图 2 400~500 nm 下提取色素的 *A* 值

Fig. 2 Absorbance value of flowers pigment under 400—500 nm

2.2 梅花中黄酮成分的测定^[28]

2.2.1 色谱条件 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 色谱条件: 流动相乙腈 (A)-水 (含 0.2% 乙酸, B), 梯度洗脱 (0~10 min, 12%~17% A; 10~15 min, 17% A; 15~20 min, 17%~17.5% A; 20~25 min, 17.5%~18% A; 25~30 min, 18%~30% A; 30~40 min, 30%~40% A; 40~45 min, 40%~45% A; 45~47 min, 45%~12% A; 47~50 min, 12% A); 检测波长 370 nm; 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL; 混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图如图 3 所示。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 以 60% 乙醇为溶剂, 将芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山奈



1-芦丁; 2-金丝桃苷; 3-异槲皮苷; 4-槲皮素; 5-山奈酚; 6-异鼠李素。

1-rutin; 2-hypericin; 3-isoquercitrin; 4-quercetin; 5-kaempferol; 6-isorhamnetin.

图 3 混合对照品 (A) 和样品 (B) 溶液的 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A) and sample (B) solution

酚和异鼠李素分别制成质量浓度分别为 1.2、0.21、0.6、0.21、0.198、0.168 mg/mL 的对照品溶液, 各取适量于 20 mL 棕色量瓶中, 加入 60% 乙醇至刻度线, 将样品摇匀, 即得混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精确称取梅花样品粉末 (过 3 号筛) 1.0 g, 置于具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 60% 乙醇, 密封后超声 (40 kHz) 提取 40 min, 室温冷却后滤过, 滤液过微孔滤膜得到供试品溶液。

2.2.4 线性方程的绘制 分别取混合标品溶液 1、2、4、6、8、10 mL, 以 60% 乙醇定容至 10 mL 并摇匀。以横坐标 (*X*) 表示对照品的质量浓度、纵坐标 (*Y*) 表示峰面积进行线性回归。线性回归结果如表 2 所示。

表 2 6 种类黄酮成分线性关系

Table 2 Linear relationship of six flavonoids

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
芦丁	$Y = 24\,502.56 X + 96.26$	0.998 2	10.84~270.97
金丝桃苷	$Y = 38\,778.81 X + 24.28$	0.998 4	2.71~67.74
异槲皮苷	$Y = 32\,096.27 X + 41.51$	0.999 3	7.73~193.23
槲皮素	$Y = 24\,908.07 X + 36.13$	0.981 3	0.54~13.55
山奈酚	$Y = 98\,273.48 X + 6.11$	0.999 1	0.26~6.39
异鼠李素	$Y = 37\,980.83 X + 8.11$	0.998 7	0.22~5.42

2.2.5 方法学考察 在“2.2.1”项液相色谱条件下连续进样测定, 本实验精密度的 RSD 为 1.9%~2.3%, 稳定性的 RSD 为 1.9%~2.4%, 重复性的 RSD 为 2.1%~2.3%; 平均加样回收率和 RSD 分别为芦丁 (98.50% 和 0.33%)、金丝桃苷 (99.70% 和 0.66%)、异槲皮苷 (99.97% 和 0.30%)、槲皮素 (99.48% 和

1.07%)、山柰酚 (99.74%和 1.21%)、异鼠李素 (95.12%和 2.55%)。表明仪器精密度高, 供试品在 24 h 内的稳定性良好, 测定方法重复性良好。

2.3 ISSR 分子标记

2.3.1 梅基因组 DNA 提取及检测 取正常梅嫩叶, 参照 CTAB 法提取乌梅 DNA, 以双蒸水 (ddH₂O) 标零, 通过微量分光光度计测定 DNA 溶液在 260 nm 和 280 nm 的 *A* 值, 检测 DNA 的浓度及纯度, 最后通过琼脂糖凝胶电泳确定 DNA 的提取品质。

2.3.2 ISSR 引物筛选及检测 参照哥伦比亚大学公布的 UBC801~900 序列, 随机合成 19 条引物以供筛选, 从制备的 49 份梅 DNA 中随机抽选 1 份, 进行引物初筛。初选引物经 15 份梅 DNA 样品复筛, 选出具有清晰扩增条带和多态性丰富的引物 9 条 (表 3)。复筛引物经过浓度梯度 (0.16、0.24、0.32、0.40、0.50 μmol/L) 筛选, 确定各自适宜浓度, 最后将所有样品进行 PCR 扩增。PCR 反应体系 (20 μL) 包括 Mix 酶 (10 μL)、引物 (1 μL)、DNA 模板 (1 μL)、ddH₂O (8 μL); 扩增程序: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 30 s, 退火 30 s (47~53 °C 不同引物的退火温度不同), 72 °C 延伸 15 s, 循环 32 次; 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。

表 3 ISSR 引物
Table 3 ISSR primer information

引物	序列 (5'-3')
N12	(AG) ₈ GCT
N23	(GA) ₈ CTT
N26	(GT) ₈ CTA
N28	(GT) ₈ AGA
N34	(AC) ₈ AGA
N36	(GC) ₈ CTG
N40	(GACA) ₄
UBC842	(GA) ₈ CTG
AF77139	GGGT(GGGGT) ₂ G

2.4 统计分析

梅花色和黄酮含量数据经 Excel 整理, R 语言 (v. 4.3.2) 的 *factoextra* 包^[29]进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及非加权组平均法聚类分析 (unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA) 的可视化, *corrplot* 包^[30]进行相关性分析, *vegan* 包^[31]进行主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA)。ISSR 分子标记数据采用人工核验记录, 按照条带有 (1)、无

(0) 记录数据, 统计引物扩增总条带数、多态性条带数及多态位点的百分率 (percentage of polymorphic loci, PPB), 利用 popgene32 软件评估等位基因数 (number of alleles, *N_a*)、有效等位基因数 (number of effective alleles, *N_e*)、Nei's 基因多样性指数 (Nei's diversity index, *H*)、Shannon's 多态性信息指数 (Shannon's index, *I*) 和遗传距离。ISSR 数据使用 *vegan* 包的 *vegdist* 函数, 设置 jaccard 方法转化, 使用 UPGMA 聚类分析。

3 结果与分析

3.1 梅花色及其黄酮含量特征

3.1.1 梅花色特征 梅花 RGB 花色结果表明, 资源圃区域花色 RGB 均值 (R: 176.3, G: 176.3, B: 175.4) 最高, “乌梅后”区域花色均值 (R: 174.1, G: 175.3, B: 174.0) 次之, “乌梅帝”区域花色均值 (R: 170.3, G: 170.8, B: 170.1) 最低 (表 4)。

R_B 在资源圃区最小, “乌梅帝”区次之, “乌梅后”区最大, 而 R_G 则与红蓝色差值规律相反 (表 4)。R_G 在 “乌梅后”区最大, 资源圃区次之, “乌梅帝”区最小。基于梅花 RGB 计算的花色 GI、RI、NRI、NGI、NBI 指数变化幅度较小; RGB 色值和亮度指数表明 “乌梅帝”花色最暗、“乌梅后”花色次之、种质资源圃花色最亮。花瓣色素 *A* 值在 “乌梅后”区最高, 资源圃次之, “乌梅帝”区最低。

3.1.2 梅黄酮含量特征 梅黄酮含量结果表明, 所有样品均检出槲皮素 (表 5)。除资源圃的 3 号样本外其余样品均检出芦丁和异槲皮苷, 7 个样本未检出金丝桃苷, 10 个样本未检出山柰酚, 30 个样本未检出异鼠李素。检测的 6 种黄酮含量存在较大的变异, 3 个调查区域的芦丁、金丝桃苷、异槲皮素、槲皮素、山柰酚和异鼠李素的变异系数分别为 39.58%~56.61%、60.07%~96.68%、54.77%~62.83%、61.43%~77.20%、41.12%~79.93%和 25.64%~42.27%。资源圃、“乌梅帝”和 “乌梅后”区样本的芦丁含量检出量为 0~11.142 mg/g, 资源圃样本金丝桃苷 (1.008)、异槲皮素 (2.572)、槲皮素 (0.364) 检出均值最高, “乌梅帝”和 “乌梅后”区的金丝桃苷 (0.606 和 0.686) 检出均值则相近, 而各区域的异鼠李素检出均值在 0.039~0.049 mg/g。此外, “乌梅帝”植株和 “乌梅后”植株梅花均含有 6 种黄酮, 部分 “乌梅帝”和 “乌梅后”区域梅花则发现金丝桃苷、山柰酚及异鼠李素未检测出的梅花。资源圃则发现芦丁、金丝桃苷、异槲皮

表 4 梅花色参数

Table 4 Flower color parameters of *P. mume*

区域	样品	R	G	B	R B	R G	G B	$A_{410\text{ nm}}$	GI	RI	BI	NRI	NGI	NBI
A	S1	168.7	171.0	169.3	-2.33	-0.67	1.67	0.256	0.15	3.4×10^{-5}	169.7	0.33	0.34	0.33
A	S2	194.7	191.3	189.3	3.33	5.33	2.00	0.279	0.11	2.9×10^{-5}	191.8	0.34	0.33	0.33
A	S3	184.0	185.3	183.0	-1.33	1.00	2.33	0.196	0.12	2.9×10^{-5}	184.1	0.33	0.34	0.33
A	S4	195.3	193.7	191.3	1.67	4.00	2.33	0.250	0.10	2.7×10^{-5}	193.5	0.34	0.33	0.33
A	S5	170.3	170.7	170.0	-0.33	0.33	0.67	0.217	0.15	3.4×10^{-5}	170.3	0.33	0.33	0.33
A	S6	165.0	168.7	168.7	-3.67	-3.67	0.00	0.217	0.16	3.4×10^{-5}	167.5	0.33	0.34	0.34
A	S7	157.0	160.0	157.7	-3.00	-0.67	2.33	0.176	0.18	3.8×10^{-5}	158.2	0.33	0.34	0.33
A	S8	167.0	169.7	167.7	-2.67	-0.67	2.00	0.156	0.16	3.4×10^{-5}	168.1	0.33	0.34	0.33
A	S9	190.7	188.3	182.3	2.33	8.33	6.00	0.129	0.12	3.0×10^{-5}	187.1	0.34	0.34	0.32
A	S10	171.7	171.7	171.3	0.00	0.33	0.33	0.280	0.15	3.4×10^{-5}	171.6	0.33	0.33	0.33
A	S11	164.6	166.0	165.4	-1.40	-0.80	0.60	0.195	0.17	3.6×10^{-5}	165.3	0.33	0.33	0.33
A	S12	162.8	165.8	164.4	-3.00	-1.60	1.40	0.159	0.17	3.5×10^{-5}	164.3	0.33	0.34	0.33
A	S13	178.0	180.3	180.3	-2.33	-2.33	0.00	0.240	0.13	3.0×10^{-5}	179.6	0.33	0.33	0.33
A	S14	170.3	171.0	169.7	-0.67	0.67	1.33	0.176	0.15	3.4×10^{-5}	170.3	0.33	0.33	0.33
A	S15	174.3	176.0	175.3	-1.67	-1.00	0.67	0.252	0.14	3.2×10^{-5}	175.2	0.33	0.33	0.33
A	S16	177.7	180.7	178.7	-3.00	-1.00	2.00	0.223	0.13	3.0×10^{-5}	179.0	0.33	0.34	0.33
A	S17	175.0	176.3	174.3	-1.33	0.67	2.00	0.208	0.14	3.2×10^{-5}	175.2	0.33	0.34	0.33
A	S18	178.0	178.0	177.0	0.00	1.00	1.00	0.181	0.13	3.2×10^{-5}	177.7	0.33	0.33	0.33
A	S19	183.0	184.7	185.0	-1.67	-2.00	-0.33	0.216	0.12	2.9×10^{-5}	184.2	0.33	0.33	0.33
A	S20	174.0	174.3	175.7	-0.33	-1.67	-1.33	0.159	0.14	3.3×10^{-5}	174.7	0.33	0.33	0.34
A	S21	166.3	162.0	165.7	4.33	0.67	-3.67	0.363	0.16	3.9×10^{-5}	164.7	0.34	0.33	0.34
A	S22	168.7	172.0	171.7	-3.33	-3.00	0.33	0.166	0.15	3.3×10^{-5}	170.8	0.33	0.34	0.34
A	S23	190.3	187.0	185.0	3.33	5.33	2.00	0.204	0.11	3.0×10^{-5}	187.5	0.34	0.33	0.33
A	S24	187.7	185.0	183.3	2.67	4.33	1.67	0.195	0.12	3.0×10^{-5}	185.3	0.34	0.33	0.33
A	S25	187.3	178.0	184.3	9.33	3.00	-6.33	0.252	0.12	3.4×10^{-5}	183.3	0.34	0.32	0.34
A	S26	185.0	176.0	178.3	9.00	6.67	-2.33	0.258	0.13	3.5×10^{-5}	179.8	0.34	0.33	0.33
A	S27	177.0	179.0	177.7	-2.00	-0.67	1.33	0.119	0.13	3.1×10^{-5}	177.9	0.33	0.34	0.33
A	S28	173.3	174.3	170.0	-1.00	3.33	4.33	0.113	0.15	3.3×10^{-5}	172.6	0.33	0.34	0.33
B	S29	183.3	179.7	177.3	3.67	6.00	2.33	0.176	0.13	3.3×10^{-5}	180.1	0.34	0.33	0.33
B	S30	173.0	175.3	174.2	-2.33	-1.17	1.17	0.179	0.14	3.2×10^{-5}	174.2	0.33	0.34	0.33
B	S31	161.8	164.2	162.8	-2.33	-1.00	1.33	0.255	0.17	3.6×10^{-5}	162.9	0.33	0.34	0.33
B	S32	161.8	165.0	164.4	-3.20	-2.60	0.60	0.241	0.17	3.5×10^{-5}	163.7	0.33	0.34	0.33
B	S33	155.8	158.7	158.3	-2.83	-2.50	0.33	0.142	0.18	3.8×10^{-5}	157.6	0.33	0.34	0.33
B	S34	171.7	174.5	173.3	-2.83	-1.67	1.17	0.150	0.14	3.2×10^{-5}	173.2	0.33	0.34	0.33
B	S35	161.0	163.1	162.1	-2.14	-1.14	1.00	0.131	0.17	3.7×10^{-5}	162.1	0.33	0.34	0.33
B	S36	169.3	172.3	171.7	-3.00	-2.33	0.67	0.193	0.15	3.3×10^{-5}	171.1	0.33	0.34	0.33
B	S37	155.7	158.3	158.3	-2.67	-2.67	0.00	0.136	0.18	3.9×10^{-5}	157.4	0.33	0.34	0.34
B	S38	167.0	169.0	168.3	-2.00	-1.33	0.67	0.152	0.16	3.4×10^{-5}	168.1	0.33	0.34	0.33
B	S39	191.3	185.7	185.7	5.67	5.67	0.00	0.202	0.11	3.1×10^{-5}	187.6	0.34	0.33	0.33
B	S40	191.7	184.0	185.0	7.67	6.67	-1.00	0.203	0.12	3.2×10^{-5}	186.9	0.34	0.33	0.33
C	S41	183.7	181.7	179.7	2.00	4.00	2.00	0.215	0.13	3.1×10^{-5}	181.7	0.34	0.33	0.33
C	S42	174.0	176.3	175.3	-2.33	-1.33	1.00	0.257	0.14	3.1×10^{-5}	175.2	0.33	0.34	0.33
C	S43	160.3	163.7	163.3	-3.33	-3.00	0.33	0.309	0.17	3.6×10^{-5}	162.5	0.33	0.34	0.34
C	S44	168.7	170.7	169.3	-2.00	-0.67	1.33	0.145	0.15	3.4×10^{-5}	169.6	0.33	0.34	0.33
C	S45	168.0	171.3	172.3	-3.33	-4.33	-1.00	0.097	0.15	3.3×10^{-5}	170.6	0.33	0.33	0.34
C	S46	160.3	163.0	162.3	-2.67	-2.00	0.67	0.199	0.17	3.7×10^{-5}	161.9	0.33	0.34	0.33
C	S47	170.0	171.3	169.0	-1.33	1.00	2.33	0.220	0.15	3.4×10^{-5}	170.1	0.33	0.34	0.33
C	S48	171.3	173.7	173.7	-2.33	-2.33	0.00	0.226	0.15	3.2×10^{-5}	172.9	0.33	0.33	0.33
C	S49	168.7	169.7	170.3	-1.00	-1.67	-0.67	0.209	0.15	3.4×10^{-5}	169.6	0.33	0.33	0.33
C	S50	186.3	185.7	183.7	0.67	2.67	2.00	0.278	0.12	3.0×10^{-5}	185.2	0.34	0.33	0.33
C	S51	189.5	189.0	184.5	0.50	5.00	4.50	0.247	0.11	2.9×10^{-5}	187.7	0.34	0.34	0.33
C	S52	188.7	188.0	184.7	0.67	4.00	3.33	0.224	0.12	2.9×10^{-5}	187.1	0.34	0.33	0.33
A	平均值	176.3	176.3	175.4	0.03	0.90	0.87	0.208	0.14	3.2×10^{-5}	176.0	0.33	0.33	0.33
	方差	10.1	8.6	8.2	3.39	3.03	2.31	0.055	0.02	2.9×10^{-6}	8.9	0.00	0.00	0.00
B	平均值	170.3	170.8	170.1	-0.53	0.16	0.69	0.180	0.15	3.4×10^{-5}	170.4	0.33	0.33	0.33
	方差	12.6	9.3	9.4	3.85	3.64	0.83	0.040	0.02	2.7×10^{-6}	10.4	0.00	0.00	0.00
C	平均值	174.1	175.3	174.0	-1.21	0.11	1.32	0.219	0.14	3.2×10^{-5}	174.5	0.33	0.33	0.33
	方差	10.4	8.9	7.8	1.77	3.12	1.61	0.056	0.02	2.6×10^{-6}	9.0	0.00	0.00	0.00

苷、山柰酚、异鼠李素未检测出的梅花。各调查区域间的梅花黄酮含量差异暗示乌梅植株种内变异大及种质资源的丰富度高。

3.1.3 梅花色与黄酮含量的关系 主成分分析结果

表明,资源圃、“乌梅帝”和“乌梅后”区域的 95% 置信区间相互重叠,即 3 个调查区域并不相互独立(图 4)。梅花色参数、黄酮含量及样本对各主轴贡献如图 4 所示。主轴 1(PC1) 方差解释率为 43.4%,

表 5 梅花的 6 种黄酮成分含量
Table 5 Content of six flavonoids of *P. mume*

区域	样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
		芦丁	金丝桃苷	异槲皮苷	槲皮素	山柰酚	异鼠李素
A	S1	4.443	1.198	2.565	0.730	0.048	0.072
A	S2	8.294	1.109	3.349	0.164	—	—
A	S3	—	1.805	—	0.124	—	—
A	S4	7.916	0.700	3.076	0.141	0.020	—
A	S5	3.145	1.469	1.911	0.950	0.093	0.068
A	S6	7.437	1.052	1.997	0.327	0.010	0.034
A	S7	1.648	0.376	1.255	0.462	0.035	0.024
A	S8	6.256	1.018	1.776	0.260	0.018	0.044
A	S9	7.439	0.898	3.157	0.201	0.012	—
A	S10	2.454	1.049	2.484	0.293	0.018	—
A	S11	10.000	0.017	5.142	0.688	0.021	0.056
A	S12	4.021	0.402	1.375	0.140	0.012	—
A	S13	9.644	0.419	2.773	0.117	0.008	—
A	S14	1.763	0.790	1.818	0.377	0.010	0.043
A	S15	5.733	0.830	2.684	0.410	0.017	—
A	S16	2.915	1.239	3.462	0.500	0.019	—
A	S17	7.594	2.862	7.790	1.279	0.062	0.091
A	S18	6.185	0.409	1.540	0.132	0.013	0.037
A	S19	7.228	—	1.069	0.229	0.016	0.018
A	S20	6.204	1.286	3.497	0.608	0.022	—
A	S21	5.477	1.416	1.646	0.144	0.021	—
A	S22	5.646	0.536	1.922	0.059	0.009	—
A	S23	5.145	0.452	1.474	0.313	0.026	—
A	S24	5.893	—	0.906	0.220	0.012	—
A	S25	8.472	1.062	2.979	0.357	0.021	—
A	S26	6.042	—	2.290	0.420	0.021	0.058
A	S27	5.905	—	2.113	0.092	0.013	—
A	S28	2.885	1.799	3.396	0.464	0.033	0.048
B	S29	2.092	0.062	0.508	0.526	0.028	0.047
B	S30	8.048	—	1.912	0.330	0.009	—
B	S31	7.386	1.651	3.778	0.182	0.013	—
B	S32	3.349	0.630	1.285	0.123	—	—
B	S33	5.860	0.727	2.519	0.044	0.017	—
B	S34	9.032	0.250	1.776	0.365	0.036	—
B	S35	1.286	0.072	0.352	0.258	0.015	0.030
B	S36	6.582	0.182	1.110	0.433	0.020	—
B	S37	4.414	0.534	1.490	0.065	—	0.035
B	S38	0.712	1.383	0.299	0.203	—	—
B	S39	5.680	0.342	2.515	0.595	0.029	0.055
B	S40	9.940	0.833	2.535	0.503	0.023	0.030
C	S41	2.646	0.116	0.623	0.352	0.034	0.041
C	S42	7.341	2.086	4.760	0.182	0.014	—
C	S43	11.142	—	3.188	0.165	—	0.048
C	S44	3.055	0.264	1.607	0.516	0.032	0.050
C	S45	4.330	0.068	0.764	0.092	—	—
C	S46	8.998	0.408	1.938	0.166	—	0.024
C	S47	8.042	—	2.226	0.157	—	—
C	S48	2.799	0.736	1.908	0.077	—	—
C	S49	4.415	1.626	2.575	0.365	0.012	—
C	S50	3.526	0.500	1.093	0.523	0.021	0.038
C	S51	4.894	0.715	1.987	0.215	0.015	—
C	S52	6.762	0.343	1.639	0.122	0.011	—
A	含量变化	0~10.000	0~2.862	0~7.790	0.059~0.950	0~0.093	0~0.091
	平均值	5.77	1.008	2.572	0.364	0.023	0.049
	RSD/%	39.58	60.07	54.77	77.20	79.93	42.27
B	含量变化	0.712~9.94	0~1.615	0.299~3.778	0.044~0.595	0~0.036	0~0.055
	平均值	5.365	0.606	1.673	0.302	0.021	0.039
	RSD/%	56.61	86.14	62.83	61.43	41.12	28.30
C	含量变化	2.646~11.142	0~2.086	0.623~4.760	0.077~0.523	0~0.032	0~0.050
	平均值	5.663	0.686	2.026	0.244	0.020	0.040
	RSD/%	48.63	96.68	55.59	63.95	48.08	25.64

解释花色的变化，如 RGB 值与花色红度与绿度。主
轴 2 (PC2) 方差解释率为 15.7%，解释梅花黄酮含量
变化；主轴 3 (PC3) 方差解释率为 13.6%，解释乌梅
黄酮含量、归一化蓝度指数和蓝绿色差 (图 5-A)。

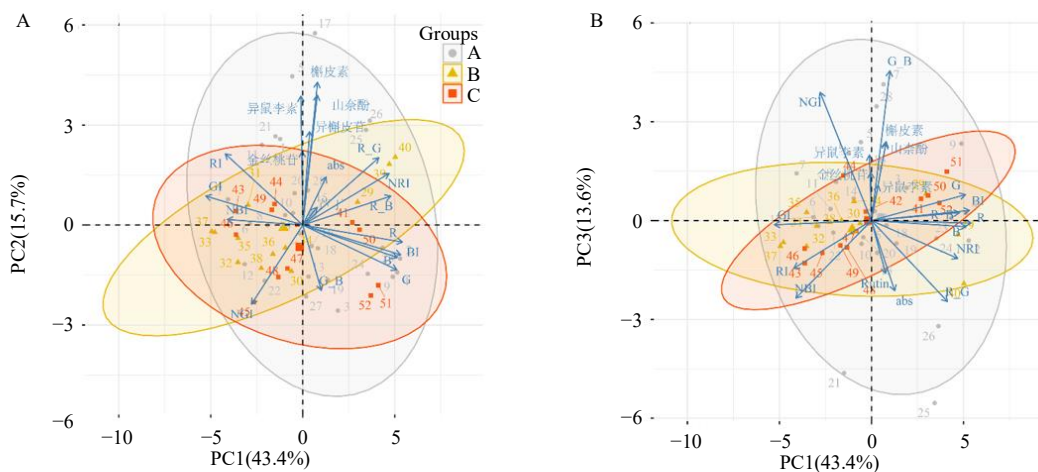
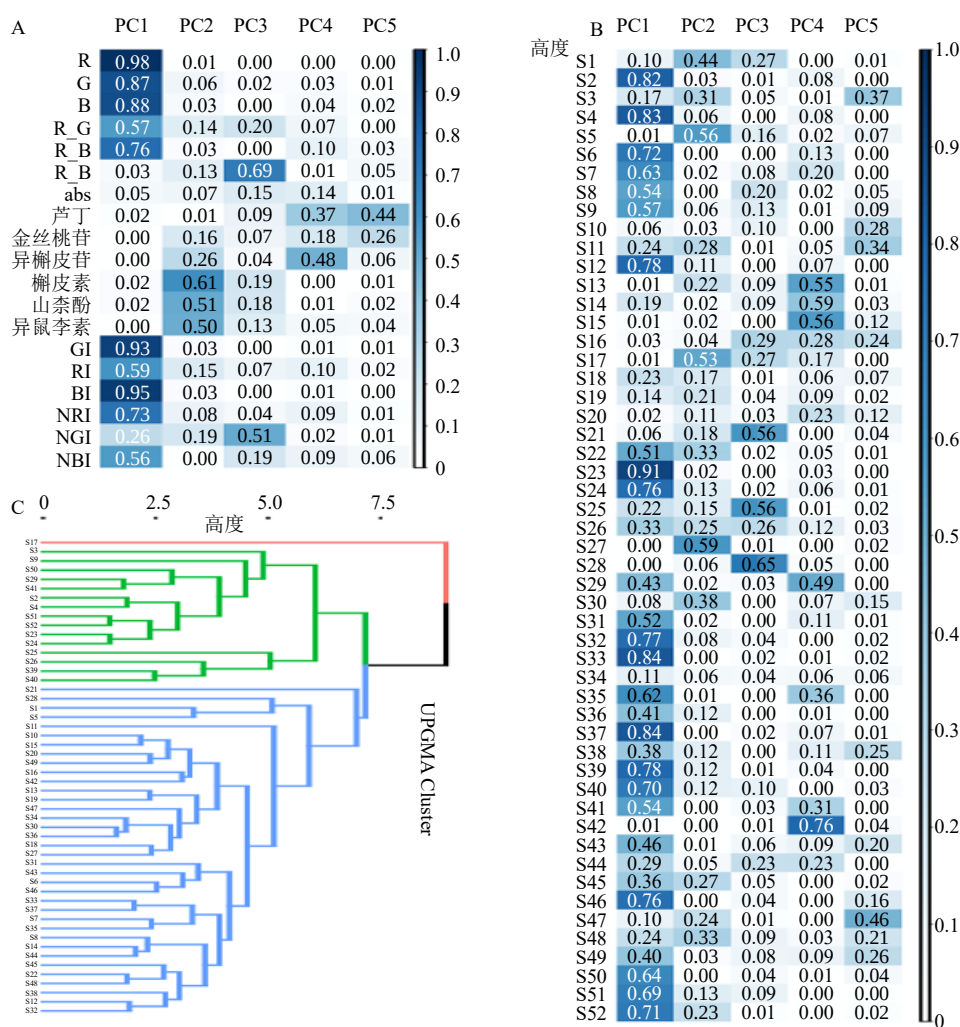


图 4 梅花的颜色 (A) 及黄酮含量 (B) 的 PCA

Fig. 4 PCA of *P. mume* color (A) and flavonoids content (B)

A-花色指标和黄酮对主成分轴的贡献；B-各个样本对主成分各轴的贡献；C-花色指标及其黄酮含量的聚类图。

A-flower color index and contribution of flavonoids to principal component axis; B-contribution of each sample to each axis of principal component; C-cluster diagram of flower color index and flavonoid content.

图 5 梅花色及黄酮的主成分的贡献及聚类

Fig. 5 Principal component contribution and cluster of flower color and flavonoids of *P. mume*

聚类分析将样本分为 3 类(图 5-C): 第 1 类只有 S17 号, 其 6 种黄酮含量之和最高(19.676 mg/g); 第 2 类包含 S2、S3、S4、S9、S23、S24、S25、S26、S29、S39、S40、S41、S50、S51、S52 号, 群体 RGB 均值较高(R: 182.2, G: 181.1, B: 179.9), 且色差为正, 金丝桃苷质量分数均值较高(4.98 mg/g)和芦丁含量均值较低(0.93 mg/g); 剩余第 3 类, 花色 RGB 均值较低(R 值: 171.5, G 值: 172.4, B 值: 171.6), 金丝桃苷均值较高(5.70 mg/g)和芦丁均值较低(0.59 mg/g)。样本对主轴贡献度结果表明, 对 PC1 贡献较高样品, 如 S2、S4、S6、S46 等总黄酮含量较高(12.9、11.9、11.9、11.5), S12、S23、S24、S32、S33 则总黄酮含量较低(图 5-B)。PC2 主要解释黄酮变化, S17 号样品总黄酮含量最高且对 PC2 贡献高。

相关性分析结果表明, 梅花的花色参数与梅花的黄酮含量无显著相关关系(图 6)。梅花的异槲皮素与芦丁和金丝桃苷含量呈显著正相关, 异槲皮素与槲皮素呈显著正相关。槲皮素与山柰酚和异鼠李素呈显著正相关, 山柰酚与异鼠李素呈显著正相关。

3.2 ISSR 扩增结果及遗传多样性分析

3.2.1 ISSR 引物筛选及扩增 本实验参照 UBC801~900 序列随机合成的 19 条引物, 经初筛和复筛后确定了 9 条适宜引物。选出的 9 条引物经 PCR 扩增总计得到 59 条条带, 平均扩增 6.55 条条带; 多态性条带共计 58 条, 平均 6.44 条多态性条带, 多态位点百分率(PPB)为 98.3%。除 N23 引物的 PPB 为 75%外, 其余引物均为 100%(表 6)。

3.2.2 ISSR 种质遗传多样性分析 ISSR 种质遗传多样性分析结果表明(表 7), 49 个样品在群体水平上有较多的 N_a (1.983 1)、 N_e (1.481 0)、 H (0.293 0) 和 I (0.449 4)。“乌梅帝”区域的 N_e (1.423 9) 和 H (0.260 6) 最低, 资源圃区的 N_e (1.479 2)、 H (0.292 5) 和 PPB (94.92%) 最高。3 个调查区域的遗传距离为 0.006 5~0.017 0, 资源圃和“乌梅后”区域的遗传距离最小(0.006 5), 说明其亲缘关系较近。

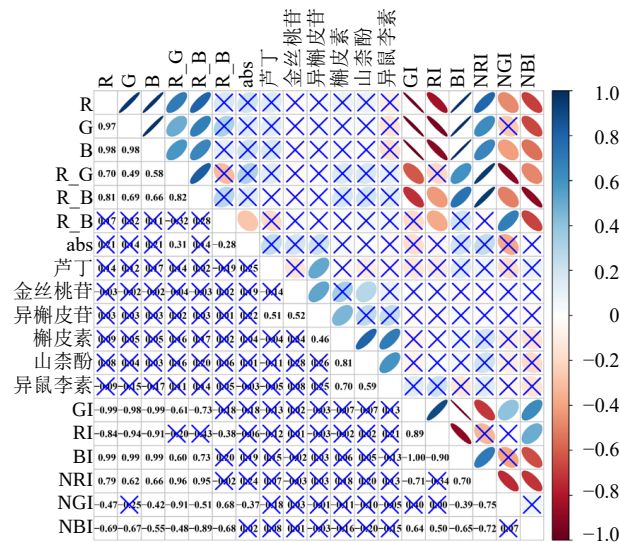
此外, 资源圃和“乌梅后”区域的遗传一致性最高(0.993 5), “乌梅帝”区与资源圃区(0.988 5)及“乌梅后”区(0.983 2)的一致性则较低。此外, 基于 ISSR 的 PCoA 结果表明, 3 个调查区域内的种

质资源混杂(图 7); 尤其“乌梅帝”区域的种质变异程度高, 资源圃区和“乌梅后”区存在较高的同质性。49 份乌梅种质资源的 ISSR 标记聚类分析结果表明, 若将其分为 3 类: 第 1 类包括 S1、S10、S30、S32、S40 样品, 第 2 类仅包括样品 S47, 剩余样品为第 3 类。结合种质资源调查的表 1, 推测资源圃中的 S1 和 S10 植株可能源于“乌梅帝”区, “乌梅帝”和“乌梅后”区的植株均存在混杂, 两区域间可能存在相互移栽的情况, 致使难以分开。聚类分析则证实资源圃的 S1 和 S10 样品与“乌梅帝”区域的样品可聚为一类; 且“乌梅帝”和“乌梅后”区样品存在聚为一类的情况(图 8)。“乌梅后”(S41)与“乌梅帝”(S29)属于同一进化分枝, 同时分枝内还包含了资源圃及“乌梅帝”和“乌梅后”区域内的其他植株(图 8)。这进一步表明“乌梅帝”与“乌梅后”植株的亲缘关系, 及 3 个调查区域内植株的亲缘关系。

4 讨论

本研究通过 RGB 色值和色素吸光度法量化研究了梅花花色特征。梅花 RGB 色值和亮度指数表明 3 个调查区域存在差异, “乌梅帝”花色最暗、“乌梅后”花色次之、种质资源圃花色最亮。同时, 梅花黄酮含量结果表明, “乌梅帝”和“乌梅后”植株的花均含有 6 种黄酮, 而相应区域内的部分梅花未检出金丝桃苷、山柰酚及异鼠李素。这表明乌梅保护区内的梅植株存在较大的种内变异及较高的种质资源的丰富度。尽管调查区域间的梅花有着各自的 RGB、 A 值和黄酮含量特征, PCA 分析、相关分析和聚类分析结果表明, 以花色 RGB 值和色素吸光度预测梅花黄酮含量不可行。此外, 本课题组还尝试了基于梅花特征的随机森林模型预测梅花黄酮含量, 但不能准确预测。前人研究表明, 通过 RGB 色值评估不同成熟度桑葚^[32]的类黄酮、总酚、糖含量和柴胡的挥发性油、柴胡皂苷是可行的, 这可能与研究对象的成熟度不同相关。本研究中, 调查的梅花不存在生长阶段的差异, 同时花色均为淡白色, 使得 RGB 变化幅度小。黄酮类物质表现为无色或黄色, 且其酸性越强黄色越浅^[14], 故可以考虑将花色与 pH 结合^[33], 探究种质资源间黄酮与 pH 的关系, 以建立简单快速的黄酮含量鉴定体系。

此外, PCA、相关性分析及聚类分析结果暗示了梅花黄酮含量间存在联系, 但由于个体间变异



下三角为 Pearson 相关系数，蓝色叉号表示相关性不显著 ($P > 0.05$)。
The lower triangle is the Pearson correlation coefficient, and the blue cross indicated that the correlation is insignificant ($P > 0.05$).

图 6 梅花的颜色及黄酮含量的相关性分析
Fig. 6 Correlation analysis of *P. mume* flower color and flavonoid content

表 6 ISSR 引物及其扩增结果
Table 6 Primer information and amplification results of ISSR

引物	序列 (5'-3')	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	扩增条带数	多态性条带数	PPB/%
N12	(AG) ₈ GCT	0.16	7	7	100
N23	(GA) ₈ CTT	0.16	4	3	75
N26	(GT) ₈ CTA	0.16	5	5	100
N28	(GT) ₈ AGA	0.24	9	9	100
N34	(AC) ₈ AGA	0.40	6	6	100
N36	(GC) ₈ CTG	0.16	5	5	100
N40	(GACA) ₄	0.40	5	5	100
UBC842	(GA) ₈ CTG	0.16	12	12	100
AF77139	GGGT(GGGGT) ₂ G	0.50	6	6	100
平均值			6.55	6.44	98.3
总计			59	58	

表 7 乌梅遗传多样性参数
Table 7 Genetic diversity parameters of *P. mume*

采样区域	N_a	N_e	H	I	PPB/%	Nei's 遗传遗传距离		
						A 区	B 区	C 区
A	1.949 2	1.479 2	0.292 5	0.447 6	94.92		0.988 5	0.993 5
B	1.847 5	1.423 9	0.260 6	0.400 7	84.75	0.011 5		0.983 2
C	1.813 6	1.476 1	0.282 6	0.424 6	81.36	0.006 5	0.017 0	
群体	1.983 1	1.481 0	0.293 0	0.449 4	87.01			

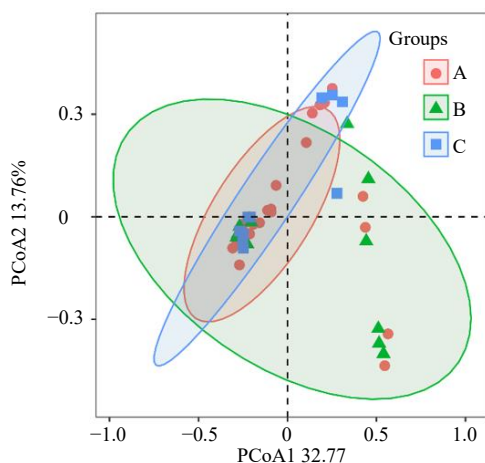


图 7 ISSR 的 PCoA

Fig. 7 PCoA of ISSR

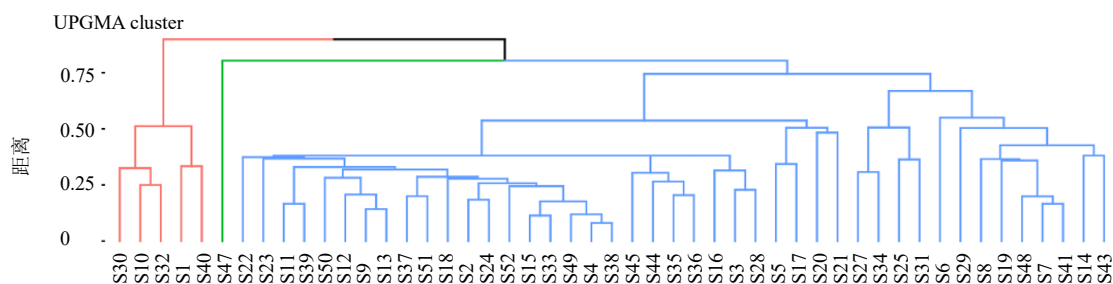


图 8 ISSR 标记的聚类分析

Fig. 8 Cluster analysis map of ISSR

活动的影响，如自然选择、人工选育及种苗移栽。为保护乌梅的种质资源及产业的长远发展，有必要保护生境，开展种质资源的原生境保护和非原生境保护工作。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 38 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1986: 36.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 81, 324.
- [3] 陶弘景. 本草经集注 卷第七 果菜米穀有名無实 [M]. 人民卫生出版社, 1994: 467
- [4] 石声汉, 石定栳, 谭光万. 中华经典名著全本全注全译丛书 [M]. 北京: 科学出版社, 2015: 36.
- [5] 罗建勋. 云杉天然群体遗传多样性研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2004.
- [6] 谢洲, 付亮, 黄娟, 等. 达州市乌梅优质高产栽培技术 [J]. 现代农业科技, 2017(3): 77-78.
- [7] 严辉, 蓝锦珊, 濮宗进, 等. 梅花化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(11): 3453-3461.
- [8] Yoshikawa M, Murakami T, Ishiwada T, et al. New flavonol oligoglycosides and polyacylated sucroses with

大使得相关性大多不显著。基于花色特征和黄酮含量的进化树聚类分析表明，“乌梅帝”(S29)和“乌梅后”(S41)聚为一类。同时，“乌梅帝”“乌梅后”及资源圃的其他个体植株存在聚为一类的结果，表明梅资源的变异性较大。植物存在天然变异情况，同时由于异花授粉，可能潜在的造成梅资源的多样性。故本研究进一步通过 ISSR 分子标记，探究了其基因多样性。

本研究筛选到 9 条 ISSR 引物并扩增 59 条条带，包含 58 条多态性条带，PPB 为 98.3%。资源圃有较高的 *H* 和 *I* 值，而“乌梅帝”最低，这也佐证了“乌梅帝”区与“乌梅后”和资源圃区的亲缘特征。此外 PCoA 结果表明 3 个调查区域间存在大量重叠，表明各区域内的种质资源混杂，导致丰富的遗传多样性。物种的遗传多样性受环境因子及人为

inhibitory effects on aldose reductase and platelet aggregation from the flowers of *Prunus mume* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(8): 1151-1155.

- [9] Matsuda H, Morikawa T, Ishiwada T, et al. Medicinal flowers. VIII. radical scavenging constituents from the flowers of *Prunus mume*: Structure of prunose III [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(4): 440-443.
- [10] Na J R, Oh K N, Park S U, et al. The laxative effects of Maesil (*Prunus mume* Siebold & Zucc.) on constipation induced by a low-fibre diet in a rat model [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2013, 64(3): 333-345.
- [11] 夏道宗. 青梅有效部位防治高尿酸血症和痛风的作用及机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [12] 魏梅, 朱德全, 陈向东, 等. 梅花配方颗粒中 4 种黄酮类成分含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(14): 49-51.
- [13] 张清华, 张玲, 尚立霞, 等. 白梅花的化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(11): 1666-1668.
- [14] 赵昶灵, 郭维明, 陈俊愉. 植物花色形成及其调控机理 [J]. 植物学通报, 2005, 40(1): 70-81.
- [15] 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): 68-73.

- [16] Trunschke J, Lunau K, Pyke G H, *et al.* Flower color evolution and the evidence of pollinator-mediated selection [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 617851.
- [17] Athira K, Jaishanker R N, Rajan S C, *et al.* Remote sensing of flowers [J]. *Ecol Inform*, 2023, 78: 102369.
- [18] 田露申. 甘蓝型油菜异源白花性状的遗传及相关基因的克隆与分析 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- [19] Singh S, Dhyani D, Yadav A, *et al.* Flower colour variations in *Gerbera* (*Gerbera jamesonii*) population using image analysis [J]. *Indian J Agric Sci*, 2011, 81(12): 1130-1136.
- [20] 黄锦春, 万思琦, 陈扬, 等. 利用 ISSR 与 SRAP 分子标记分析金线莲种质资源遗传多样性 [J]. 浙江农林大学学报, 2023, 40(1): 22-29.
- [21] 黄海. 四川达州市达川区乌梅产业发展存在的问题及对策 [J]. 中国园艺文摘, 2015, 31(11): 91-92.
- [22] 张帆, 李晓华, 杨勇, 等. 用特色林业提高县域经济实力—达州市达川区发展乌梅产业的对策 [J]. 当代县域经济, 2015(10): 46-47.
- [23] 邓俊琳, 杨星, 赵佳俊, 等. 四川青梅产业现状和发展前景 [J]. 四川农业科技, 2022(4): 79-81.
- [24] Signorelli S, Casaretto E, Millar A H. Green Index: A widely accessible method to quantify greenness of photosynthetic organisms [J]. *Bio Rxiv*, 2023, DOI: 10.1101/2023.08.23.554481.
- [25] Roskin J, Blumberg D G, Porat N, *et al.* Do dune sands redden with age? The case of the northwestern Negev dunefield, Israel [J]. *Aeolian Res*, 2012, 5: 63-75.
- [26] Khuimphukhio I, Marconi T, Enciso J, *et al.* The use of UAS-based high throughput phenotyping (HTP) to assess sugarcane yield [J]. *J Agric Food Res*, 2023, 11: 100501.
- [27] Lu J S, Cheng D L, Geng C M, *et al.* Combining plant height, canopy coverage and vegetation index from UAV-based RGB images to estimate leaf nitrogen concentration of summer maize [J]. *Biosyst Eng*, 2021, 202: 42-54.
- [28] 郑毓珍, 卢静华, 孙玉琦. HPLC 法同时测定白梅花中 6 种黄酮类成分 [J]. 中成药, 2018, 40(9): 2007-2010.
- [29] Taschen E, Amenc L, Tournier E, *et al.* Cereallegume intercropping modifies the dynamics of the active rhizospheric bacterial community [J]. *Rhizosphere*, 2017, 3: 191-195.
- [30] Chen P, Du Q, Zheng B, *et al.* Coordinated responses of leaf and nodule traits contributed to the N accumulation of relay intercropped soybean [J]. *J Integr Agric*, 2023, 23: 26.
- [31] Cuartero J, Pascual J A, Vivo J M, *et al.* Melon/cowpea intercropping pattern influenced the N and C soil cycling and the abundance of soil rare bacterial taxa [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 1004593.
- [32] 胡亚. 桑葚发育过程中品质的无损监测及采后分类、加工技术的研究 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2013.
- [33] 何娜, 杨伟凡, 江皓, 等. 观赏海棠花色与花瓣 pH、表皮细胞形态特征的关系 [J]. 福建农业学报, 2021, 36(9): 1025-1032.

[责任编辑 时圣明]