植物研究　2026，46（4）：764～776
Bulletin of Botanical Research

研究论文Original Paper

紫斑牡丹色斑形成过程中表皮细胞变化及花青苷积累规律

李文珺　罗　莎　史倩倩*

（西北农林科技大学风景园林艺术学院，杨凌　712100）

摘　要　紫斑牡丹（*Paeonia rockii*）花瓣基部色斑是我国牡丹品种色斑性状的主要遗传来源。为明确色斑的时序发生、扩展模式及其与色素积累的关系，本研究系统观察了10个紫斑牡丹品种花瓣基部色斑在7个时期的形成情况。结果显示：S2时期花瓣基部出现单个色素细胞，并逐步形成以深色中心细胞为核心、浅色外围细胞环绕的色素细胞团。色斑以色素细胞团为基本结构单位进行扩展，其轮廓于S3时期初步形成，早于花瓣花色显现，且S6~S7时期仍存在色素细胞分裂高峰。S2~S3时期，色斑区*L**（明度）和*b**（黄蓝度）显著下降，*a**（红绿度）显著升高。S2时期色斑区即可检测到花青苷，其中矢车菊素-3，5-*O*-二葡萄糖苷（Cy3G5G）和芍药花素-3，5-*O*-二葡萄糖苷（Pn3G5G）含量最高。线性回归分析表明，Pn3G5G含量对色斑*L**、*a**、*b**变化具有较强解释力，是形成紫红色色斑的关键花青苷；天竺葵素-3，5-*O*-二葡萄糖苷（Pg3G5G）可能参与黑色色斑的形成。综上，紫斑牡丹色斑的形成是以色素细胞团扩展为结构基础、花青苷时空特异性积累为物质基础的动态发育过程。

关键词　紫斑牡丹；色斑；表皮细胞；花青苷

中图分类号：S685. 11　　**文献标志码**：A　　**doi**：10. 7525/j. issn. 1673-5102. 2026. 04. 016

Epidermal Cell Changes and Anthocyanin Accumulation Patterns during *Paeonia rockii* Blotch Formation

LI Wenjun　LUO Sha　SHI Qianqian*

（College of Landscape Architecture and Arts，Northwest A&F University，Yangling　712100）

Abstract　The basal petal blotch of *Paeonia rockii* is the primary genetic source of blotch traits in cultivated tree peonies. To clarify the timing of blotch initiation，its expansion pattern，and the relationship between blotch development and pigment accumulation，basal blotch formation at seven developmental stages were systematically examined in ten *P. rockii* cultivars. At stage S2，single pigmented cells first appeared and gradually developed into pigment cell clusters，consisting of a deeply pigmented central cell surrounded by lightly pigmented peripheral cells. Blotch expansion occurred through the proliferation and enlargement of these pigment cell clusters. The blotch outline was initially established at stage S3，preceding the visible coloration of the petal background，and a second peak of pigment cell proliferation was observed at stages S6–S7. During S2–S3，significant decreases in *L** and *b** values and an increase in *a** value were recorded in the blotch region. Anthocyanins were detectable in the blotch as early as S2，with cyanidin-3，5-di-*O*-glucoside（Cy3G5G）and peonidin-3，5-di-*O*-glucoside（Pn3G5G）as the predominant components. Linear regression analysis indicated that Pn3G5G had strong explanatory power for changes in *L**，*a**，and *b** values and was the key anthocyanin contributing to the formation of purple-red blotches. Pelargonidin-3，5-di-*O*-glucoside（Pg3G5G）may be involved in the formation of black blotches. In summary，blotch formation in *P. rockii* is a dynamic developmental process characterized structurally by the expansion of pigment cell clusters and biochemically by the spatiotemporally specific accumulation of anthocyanins.

Key words　*Paeonia rockii*；blotch；epidermal cell；anthocyanins

基金项目：国家自然科学基金青年科学基金项目（31800599）；陕西省自然科学基金面上项目（2023-JC-YB-147）。
第一作者简介：李文珺（2005—），女，本科生，主要从事紫斑牡丹色斑研究。
*　通信作者：E-mail：shiqianqian2005@163.com。
收稿日期：2026年2月1日。

植物花部色斑是指存在于花瓣或花萼上，形状、大小及位置相对固定的彩色斑块[1]。植物通过精确调控色素的合成与积累，使色素局限于表皮特定区域的点状或圆形细胞中，从而在花瓣上形成稳定的点状或斑块状图案[2]。牡丹是中国传统名花，其栽培品种按地理分布可分为西北、西南、江南和中原4个品种群。其中，西北品种群的大多数品种花瓣基部具有紫色、红色或褐色色斑，这些品种多为紫斑牡丹（*Paeonia rockii*）的后代[3]。紫斑牡丹花瓣基部色斑的形状、大小及颜色多样，具有极高的观赏价值。成仿云[4]在《中国紫斑牡丹》中将其按形状分为菱形、圆形、卵圆形和椭圆形，按颜色分为黑色、紫红色、棕红色和红色。因此，紫斑牡丹不仅在品种分类与遗传改良中具有重要意义，也为研究牡丹花瓣色斑形成过程中的细胞变化及色素空间差异积累提供了理想材料。

已有研究[5-6]表明，牡丹绚丽的花色主要来源于花青苷，包括矢车菊素3-葡萄糖苷（cyanidin 3-*O*-glucoside，Cy3G）、矢车菊素3，5-二葡萄糖苷（cyanidin 3，5-di-*O*-glucoside，Cy3G5G）、芍药花素3-葡萄糖苷（peonidin 3-*O*-glucoside，Pn3G）、芍药花素3，5-二葡萄糖苷（peonidin 3，5-di-*O*-glucoside，Pn3G5G）、天竺葵素3-葡萄糖苷（pelargonidin 3-*O*-glucoside，Pg3G）及天竺葵素3，5-二葡萄糖苷（pelargonidin 3，5-di-*O*-glucoside，Pg3G5G）。Zhang等[7]通过高效液相色谱分析发现，西北牡丹品种花瓣色斑区与非斑区在花青苷组成上存在显著差异：色斑区以Cy类花青苷为主，而非斑区以Pn类花青苷为主；且色斑区*a**和*b**随Cy类花青苷含量增加而降低。后续研究[8-9]进一步指出，不同颜色类型的色斑与Cy类和Pn类花青苷的比例密切相关。深紫色色斑通常表现为“Cy>Pn”型，而紫红色或红色色斑则表现为“Pn>Cy”型，Pn3G5G与Cy3G等组分的相对含量变化是影响色斑色调的重要因素。色斑形成是一个动态持续的过程，然而现有研究多集中于紫斑牡丹盛开期色斑的花青苷成分比较，针对花瓣基部色斑形成过程的连续解剖学观察较少，花青苷积累的时序变化及其与色斑扩展之间的关系仍缺乏深入研究。因此，本研究以具有不同斑色和斑型的紫斑牡丹品种为材料，观察色斑从花蕾期至盛开期的细胞结构和花色值变化，比较色斑区与非斑区在色素组成和含量上的差异，以期阐明紫斑牡丹花瓣基部色斑形成的物质基础和发育机制，为深入理解紫斑牡丹花色形成机理及相关性状的遗传改良提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

选取杨陵区（34°14′~34°20′N，107°59′~108°8′E）西北农林科技大学牡丹资源圃（30 m×215 m）中10个花色、斑色及斑型各异且花瓣基部带有色斑的紫斑牡丹品种作为研究对象，分别为‘黑天鹅’（*P. rockii* ‘Heitiane’）、‘墨海’（*P. rockii* ‘Mohai’）、‘娇妹’（*P. rockii* ‘Jiaomei’）、‘金环银线’（*P. rockii* ‘Jinhuan Yinxian’）、‘五颜六色’（*P. rockii* ‘Wuyan Liuse’）、‘菊花粉’（*P. rockii* ‘Juhuafen’）、‘雪山飞虹’（*P. rockii* ‘Xueshan Feihong’）、‘棕斑白’（*P. rockii* ‘Zongbanbai’）、‘玉楼藏娇’（*P. rockii* ‘Yulou Cangjiao’）和‘银海红波’（*P. rockii* ‘Yinhai Hongbo’）（图1）。试验所用紫斑牡丹品种均为10年生成株，生长状况良好且种植条件一致。于2024年3—4月，根据花蕾发育进程及外部形态变化（表1），连续采集7个不同时期的新鲜花蕾（花），用于形态学和解剖学观察。其中，‘黑天鹅’‘墨海’‘娇妹’‘棕斑白’‘玉楼藏娇’5个品种在7个时期的花瓣经剪刀分离色斑与非斑区后，于冰箱中-80 ℃保存，用于花青苷含量测定。每个品种、每个时期测定3个样本，每个样本设置3个重复。

1.2　试验方法

1.2.1　色斑形成过程形态学观察

选取S2~S3时期10个紫斑牡丹品种的新鲜花蕾或花朵，剥离花瓣，重点观察花瓣基部色斑的出现时间、初始形态及其扩展过程，分析色斑从出现至形成完整轮廓的形态变化特征。每个品种在各发育时期至少选取3个独立花蕾或花朵进行形态学观察。

1.2.2　色斑形成过程解剖学观察

利用解剖针挑破待观察花瓣，使用尖头镊子撕取上、下表皮，并用剃须刀片快速连续横切与纵切花瓣，以获取横截面和纵截面。将获得的上、下表皮及横、纵截面分别制成装片，立即使用生物显微镜（Olympus BX43，日本）进行观察。在每个切片的不同视野下拍照，每个样品至少重复3次[10]。

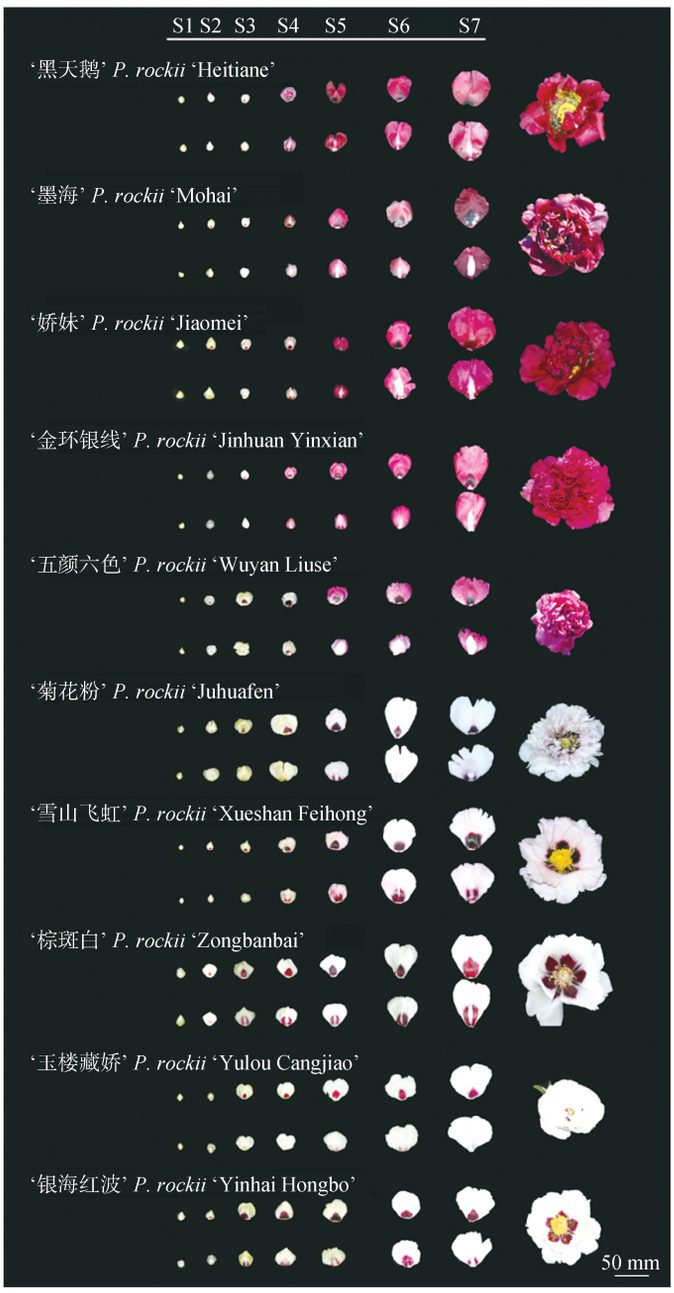


图 1　10 个紫斑牡丹品种 S1~S7 时期花瓣

Fig.1　Petals of 10 *Paeonia rockii* cultivars at S1−S7 stages

表 1　紫斑牡丹花瓣色斑形成过程的时期划分

Table 1　The stage division of *Paeonia rockii* 's blotch formation process

时期 Stage	描述 Description	对应牡丹物候期 Phenological period
S1	无色斑	立蕾期、小风铃前期
S2	色斑逐渐显露，未形成完整轮廓	小风铃期、大风铃期
S3	色斑轮廓初步形成，花色初显或将显未显	大风铃后期、圆桃前期
S4	色斑增大加深，花色逐渐显露	圆桃期
S5	色斑继续扩增，花色基本形成	圆桃后期、平桃期
S6	色斑、花色已形成，面积仍有变化	破绽透色期、初开期
S7	花开放	盛开期

其中，在记录色素细胞的出现形式及其扩展模式时，为确保判定标准一致，对不同形态的色素细胞界定如下：

（1）单个色素细胞：指仅有1个细胞内出现明显色素累积，其周围相邻细胞无色。

（2）未成型色素细胞团：指以1个色素累积较多的细胞为中心，周围1~3个相邻细胞出现浅色色素累积，但尚未形成相对完整的环状排列。

（3）色素细胞团：指以1个色素累积最多的细胞为核心，周围6~8个浅色细胞呈环状或半环状分布，形成相对清晰的团状结构。

（4）色素细胞团连接成片：指2个或多个色素细胞团的外围细胞相互接触，形成连续着色区域，团状边界不再清晰可辨。

1.2.3　花瓣与色斑面积、花色值测量

使用剪刀将S1~S7时期花瓣的色斑区与非斑区裁剪分离，置于网格纸上统计花瓣和色斑的面积。利用ImageJ 1.54软件对解剖照片进行图像分析[11]，在视野内随机选取10个色斑区细胞测量其面积，每个样品重复3次。通过色斑面积除以色斑细胞面积计算色斑细胞数目，通过色斑面积除以花瓣面积计算斑瓣比。

将各时期新鲜花瓣置于白色A4纸上，使用色彩色差仪（CR-400，Konica Minolta，日本）测量新鲜花瓣色斑区及非斑区的L^*（明度）、a^*（红绿度）和b^*（黄蓝度）。每个品种、每个时期测定3个样品，每个样品测定3个重复[12-13]。

1.2.4　色斑和非斑区花青苷含量测定

参照Luo等[14]的方法，采用高效液相色谱法提取并测定花青苷含量。所用仪器为高效液相色谱仪（LC-2030C 3D，岛津，日本）。试验所用6种花青苷标准品中，Cy3G、Pn3G、Pg3G由西北农林科技大学风景园林艺术学院实验室自备，Cy3G5G、Pn3G5G、Pg3G5G购自上海源叶生物公司。每个样品重复测定3次。

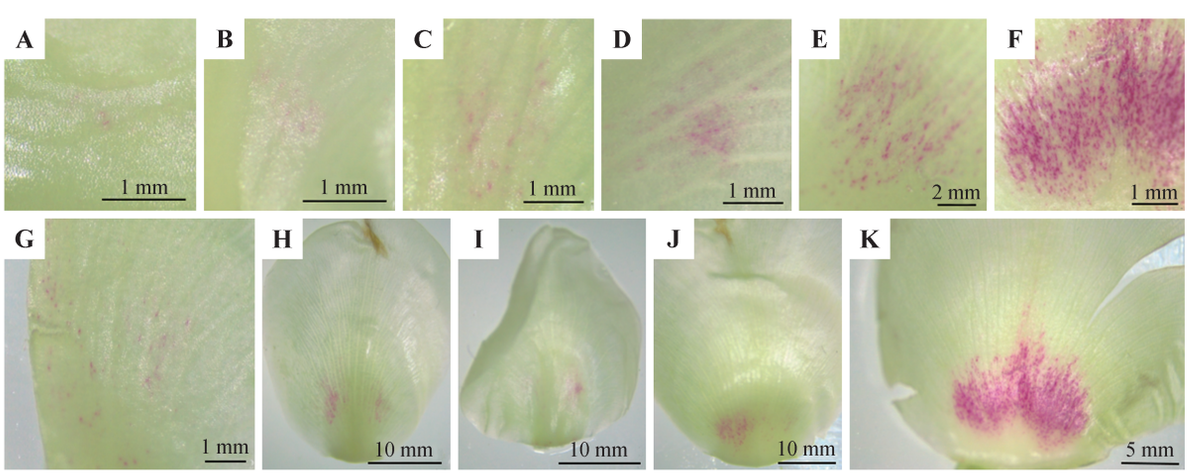
1.2.5　数据处理

分别使用Microsoft Excel、SPSS 26.0和Origin 2025软件进行数据整理、统计分析与作图。对花瓣非斑区和色斑区的花色值与花青苷含量进行皮尔逊相关性分析和线性回归分析。

2　结果与分析

2.1　紫斑牡丹色斑形态学观察结果

以‘银海红波’品种外轮花瓣S2~S3时期色斑形成过程为例（图2），首先在花瓣上观察到分散分布的斑点（图2A）；随后斑点增多并相互聚集形成色斑团（图2B、2E），进而逐步形成色斑（图2F）。在此过程中，花瓣基部出现斑点后（图2G），色斑通常呈不对称形式（图2H）。以花长轴为界，色斑团并非在花瓣左右两侧同时出现，而是在其中一侧较早出现（图2I、2J）；随后另一侧逐渐形成色斑团并与之连接。色斑由基部向上扩展，最终形成具有初步轮廓的色斑（图2K）。



A~F.‘银海红波’花瓣的斑点扩散过程；G~K.‘银海红波’花瓣的左右斑点不对称扩散过程。

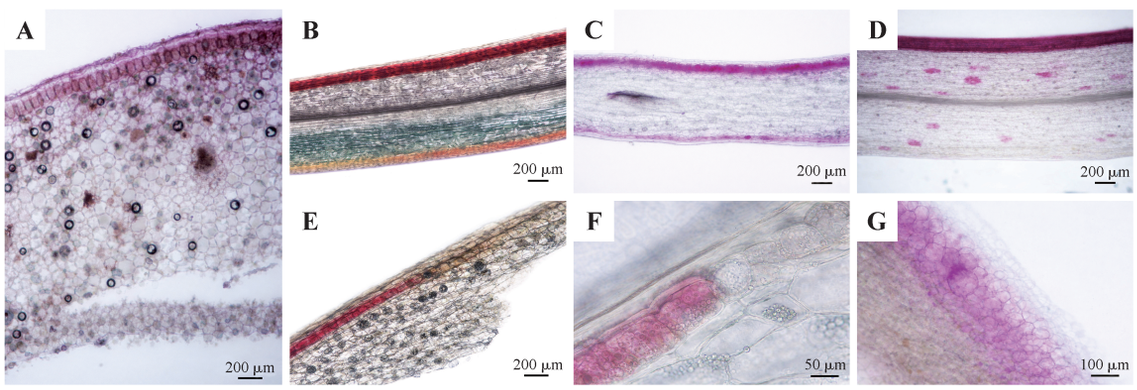
A–F. The spot expansion process on the petal of ‘Yinhai Hongbo’; G–K. The asymmetric expansion of spot clusters on the left and right sides of the petal.

图2　S2~S3时期‘银海红波’花瓣色斑形成过程

Fig.2　Formation process of *Paeonia rockii* ‘Yinhai Hongbo’ blotch at stages S2–S3

2.2 紫斑牡丹色斑解剖学观察结果

紫斑牡丹花瓣由表皮组织、薄壁组织和维管组织构成(图3A)。花瓣基部色斑的色素细胞主要分布于上、下表皮及栅栏组织(图3B、3C),且上表皮色泽深于下表皮;部分品种的海绵组织也存在色素细胞(图3D)。进一步观察发现,色素细胞在形态和结构上与周围正常细胞基本一致(图3E、3G),其细胞大小、形态及排列方式无显著差异,未见明显的特化结构。



A.'银海红波'色斑区横切面;B.'菊花粉'色斑区纵切面;C.'五颜六色'色斑区横切面;D.'玉楼藏娇'色斑区纵切面;E.'菊花粉'色斑区色素细胞;F.'菊花粉'色斑区色素细胞;G.'雪山飞虹'色斑区色素细胞。

A.'Yinhai Hongbo' transverse section in blotch area; B.'Juhuafen' longitudinal section in blotch area; C.'Wuyan Liuse' transverse section in blotch area; D.'Yulou Cangjiao' longitudinal section in blotch area; E.'Juhuafen' blotched cells; F.'Juhuafen' blotched cells; G.'Xueshan Feihong' blotched cells.

图3 S6时期紫斑牡丹品种花瓣基部色斑横纵切图

Fig.3 Transverse and longitudinal views of *Paeonia rockii* cultivar blotches at stage S6

对10个紫斑牡丹品种色斑区的上表皮细胞,按划分的7个时期进行连续解剖观察,结果如图4所示。S1时期细胞体积较小,排列疏松,色素尚未明显积累。S2~S3时期,细胞逐渐膨大,排列趋于紧密,液泡中开始出现浅粉至浅紫色素积累。自S4时期起,色素积累显著增强,细胞轮廓清晰,呈规则多边形结构。S5~S6时期,细胞内色素积累呈紫红或深紫色,品种间颜色差异显著。至S7时期,细胞形态趋于稳定,色素分布均匀,紫斑形态基本定型。

观察色素细胞的形成和扩展过程,发现在S2前期,肉眼尚未观察到明显色斑时,花瓣基部表皮细胞中已可见单个色素细胞(图5A、5C)。随后,同一视野内可同时观察到单个色素细胞、未成型色素细胞团及完整色素细胞团(图5A)。在完整色素细胞团中,中心细胞颜色明显深于外围细胞;连续观察显示,单个色素细胞的出现早于完整色素细胞团的形成,表明色素细胞团可能由最早出现的中心色素细胞逐步向周围扩展而成。随着色斑扩展,色素细胞团普遍存在于色斑基部及斑瓣交界区域(图5D~5G),因此色素细胞团是色斑扩展的基本微观结构单位。

色斑在S6时期基本形成并趋于稳定。为明确色素在色斑区域内的空间分布特征,对S6时期色斑基部至顶部的上表皮细胞进行了观察。图6结果显示,色斑基部色素积累相对分散,细胞间颜色差异较大;中部区域色素积累最为集中,细胞着色均匀且颜色最深;顶部区域色素含量逐渐减少,细胞间存在明显色差。

2.3 花瓣与色斑面积、花色值测量结果

为量化色斑形成过程中的表型变化,本研究统计并计算了10个紫斑牡丹品种在7个时期的花瓣面积、色斑面积、色斑细胞面积、斑瓣比及色斑细胞数目,结果如图7所示。10个紫斑牡丹品种的色斑细胞面积和数目随色斑形成整体呈上升趋势。8个品种的斑瓣比呈现"先升高、后降低、再升高"的变化趋势;其中,6个品种在S2时期出现由高转低的转折,7个品种在S6时期出现再次升高的转折。此外,这7个品种在S6~S7时期色斑细胞数目急剧增加。上述结果表明:在S1~S3时期,色斑细胞形成速度快于花瓣生长速度;在S4~S5时期(花色显现后),花瓣生长速度超过色斑细胞形

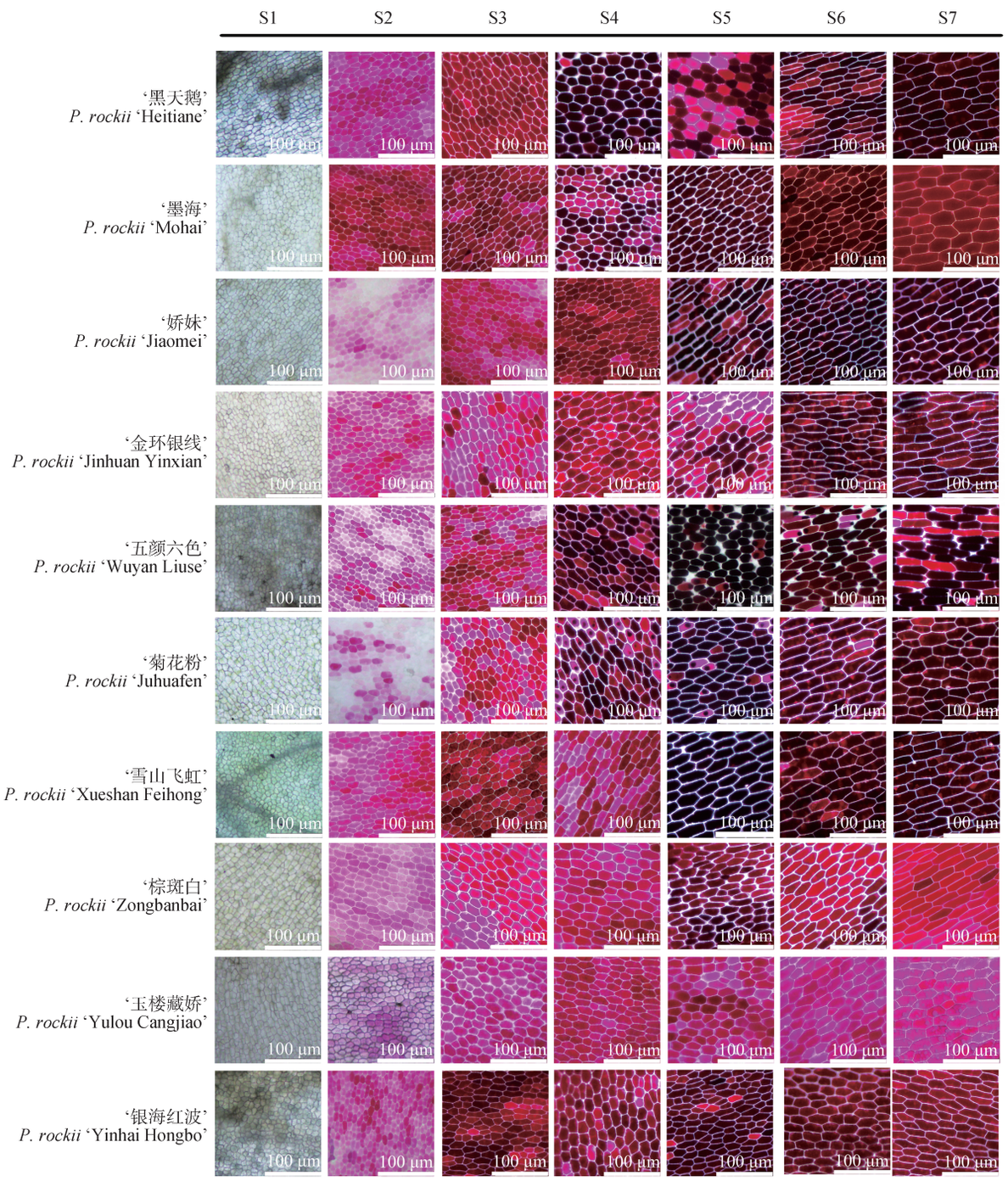


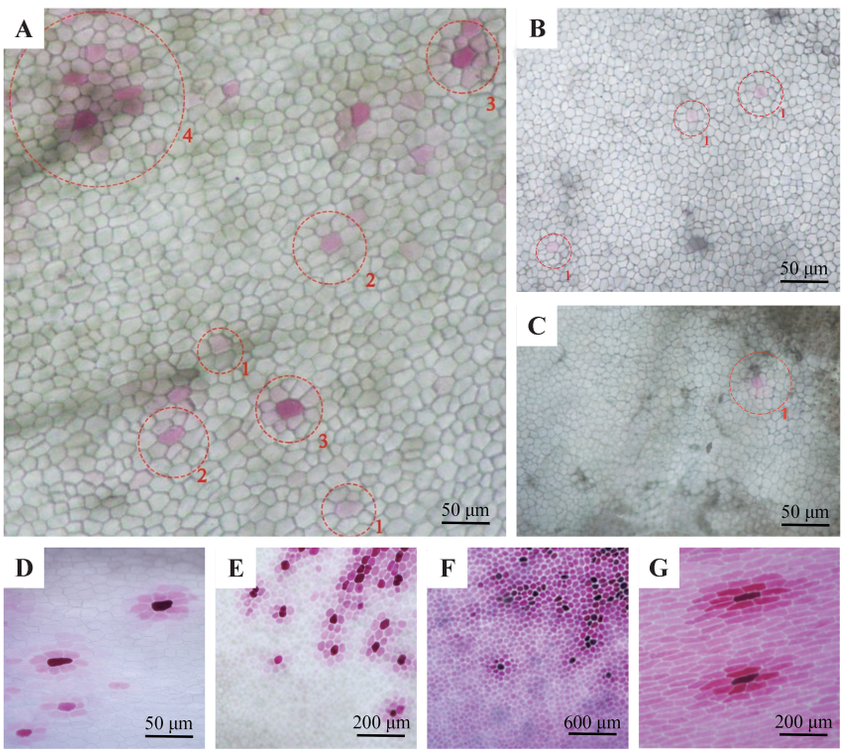
图 4　S1~S7 时期 10 个紫斑牡丹品种色斑区上表皮解剖结构

Fig.4　Anatomical structure of the upper epidermis in the blotched area of ten *Paeonia rockii* cultivars at stages S1–S7

成速度；而在色斑形成末期（S6~S7 时期），色斑细胞形成速度再次超过花瓣生长速度。

对 10 个紫斑牡丹品种花瓣色斑区与非斑区的花色值进行统计分析并绘制箱线图，结果如图 8 所示。其中，*L**代表明度，数值越大颜色越明亮；*a**代表红绿度，正值偏红，负值偏绿；*b**代表黄蓝度，正值偏黄，负值偏蓝。

色斑区花色值在品种间的离散程度较小，箱线图箱体较为集中。色斑区 *L**总体呈下降趋势，且在 S2~S3 时期色斑初现时亮度降低最为显著，平均值由 69.05 降至 41.62。色斑区 *a**呈“升高—降低—再升高”的变化趋势，在 S1~S3 时期红色调

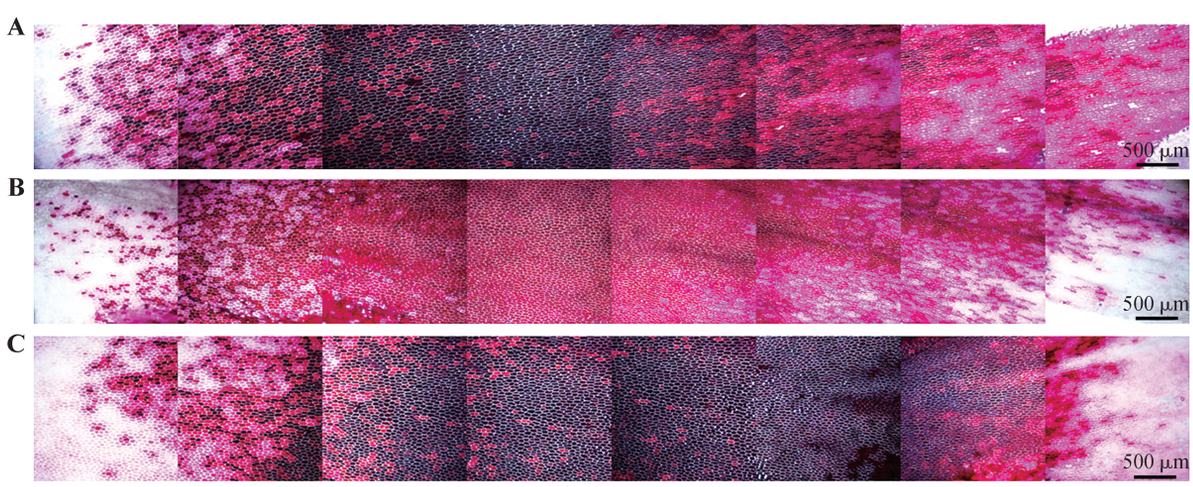


A.‘银海红波’色素细胞；B.‘菊花粉’色素细胞；C.‘银海红波’色素细胞；D.‘五颜六色’色斑基部色素细胞；E.‘棕斑白’色斑顶部色素细胞；F.‘墨海’色斑基部色素细胞；G.‘雪山飞虹’色斑顶部色素细胞。A~C.S2前期；D、E.S2后期；F、G.S6期。图中标注：1.单个色素细胞；2.未成型色素细胞团；3.色素细胞团；4.色素细胞团连接成片。

A. ‘Yinhai Hongbo’ pigment cells; B. ‘Juhuafen’ pigment cells; C. ‘Yinhai Hongbo’ pigment cells; D.‘Wuyan Liuse’ pigment cells at the base of the blotch; E.‘Zongbanbai’ pigment cells at the top of the blotch; F.‘Mohai’ pigment cells at the base of the blotch; G.‘Xueshan Feihong’ pigment cells at the top of the blotch. A–C. Early stage of S2; D and E. Later stage of S2; F and G. S6 stage. The markings in the figures were: 1. Single pigment cell; 2. Unformed pigment cell mass; 3. Pigment cell mass; 4. Pigment cell clusters join into sheets.

图5 紫斑牡丹中心色素细胞及色素细胞团

Fig.5 Central pigment cells and pigment cell clusters of *Paeonia rockii*



A.‘五颜六色’；B.‘银海红波’；C.‘棕斑白’。左端为色斑基部，右端为色斑顶部。

A.‘Wuyan Liuse’; B.‘Yinhai Hongbo’; C.‘Zongbanbai’. The left end was the base of the blotch, and the right end was the top of the blotch.

图6 S6时期紫斑牡丹品种色斑基部到顶部上表皮拼接图

Fig.6 Patchwork of the upper epidermis from the base to the apex of the *Paeonia rockii* cultivar blotch at stage S6

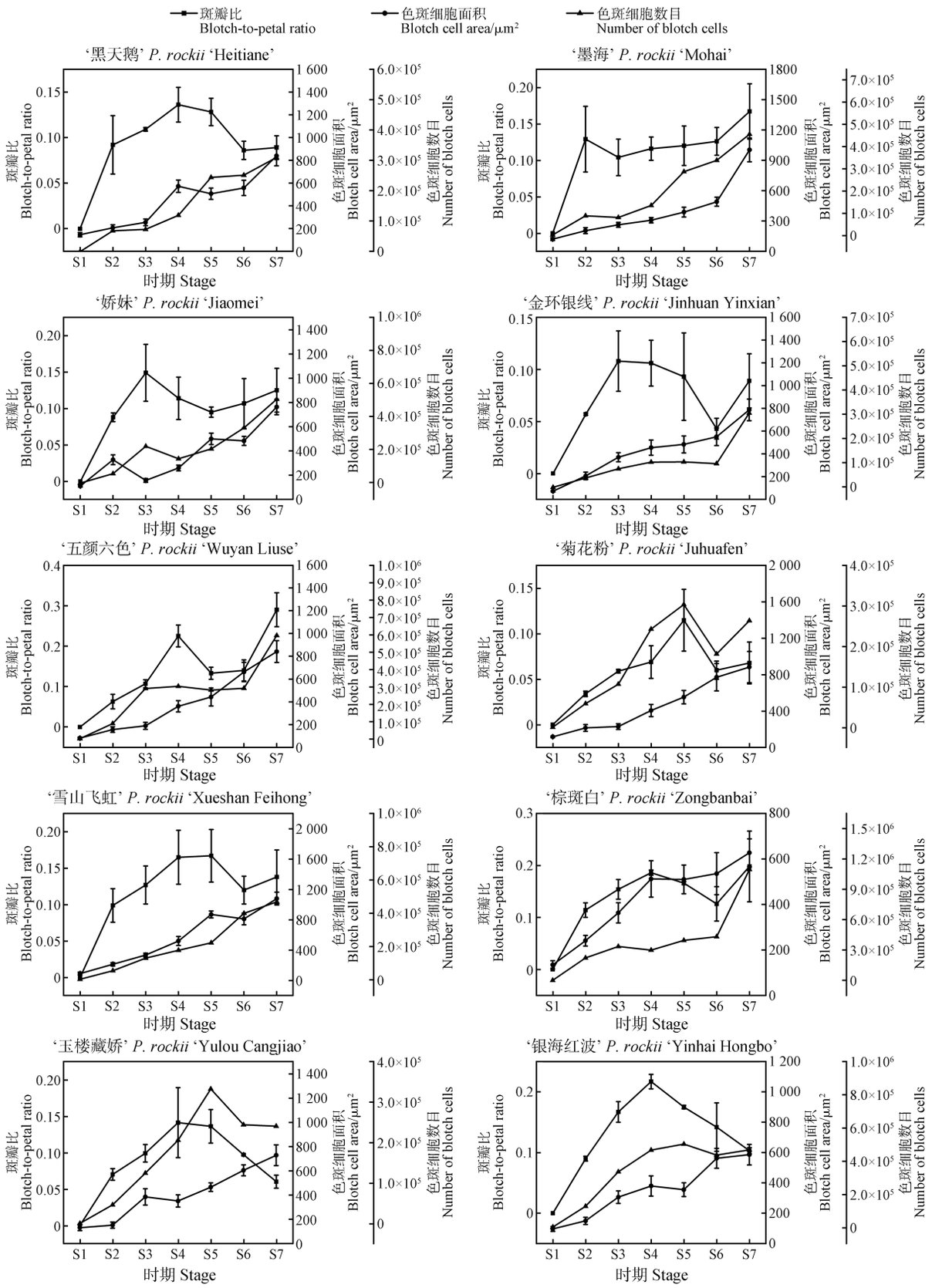
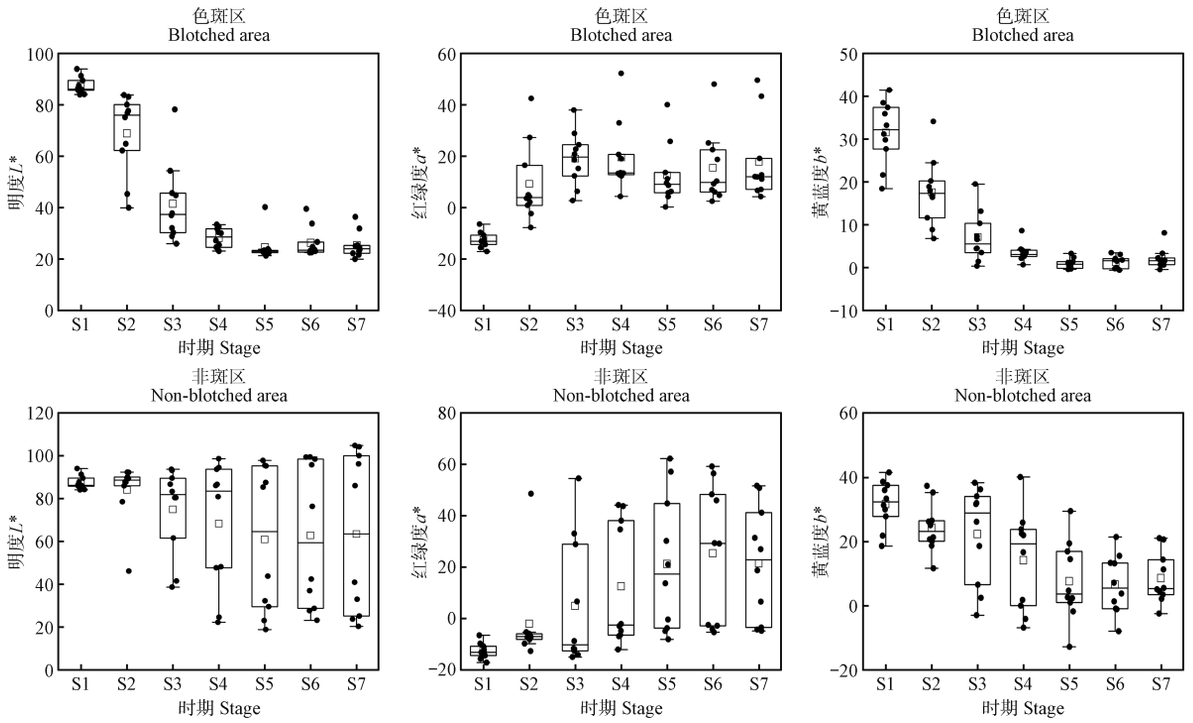


图 7　紫斑牡丹品种在 S1~S7 时期的色斑细胞数目、面积和斑瓣比的变化

Fig.7　Changes in blotch cell number, blotch area, and blotch-to-petal ratio of *Paeonia rockii* cultivars during stages S1−S7

显著增强，平均值由−12.61增至18.92，后期变化趋于平缓。色斑区*b**呈下降趋势，黄度减小，S1~S3时期平均值由31.56降至7.26。相比之下，10个紫斑牡丹品种花瓣非斑区颜色差异较大（包括白色、粉色、紫红色等），导致非斑区花色值在品种间差异显著，箱线图箱体跨度较大。总体而言，非斑区*L**和*b**随花色形成呈降低趋势，*a**呈升高趋势；且在花色形成期（S4~S5时期）非斑区花色值变化明显，*L**平均值下降7.44，*a**平均值升高8.68，*b**平均值下降6.51。紫斑牡丹花瓣色斑区花色值的显著变化时期（S1~S3）早于非斑区（S4~S5），这与形态学观察到的色斑形成早于花色形成的现象一致。



箱内横线表示中位数，方形标记表示均值。

The horizontal line within the box represented the median，and the square symbol represented the mean.

图8 紫斑牡丹品种色斑形成过程中的花色值箱线图

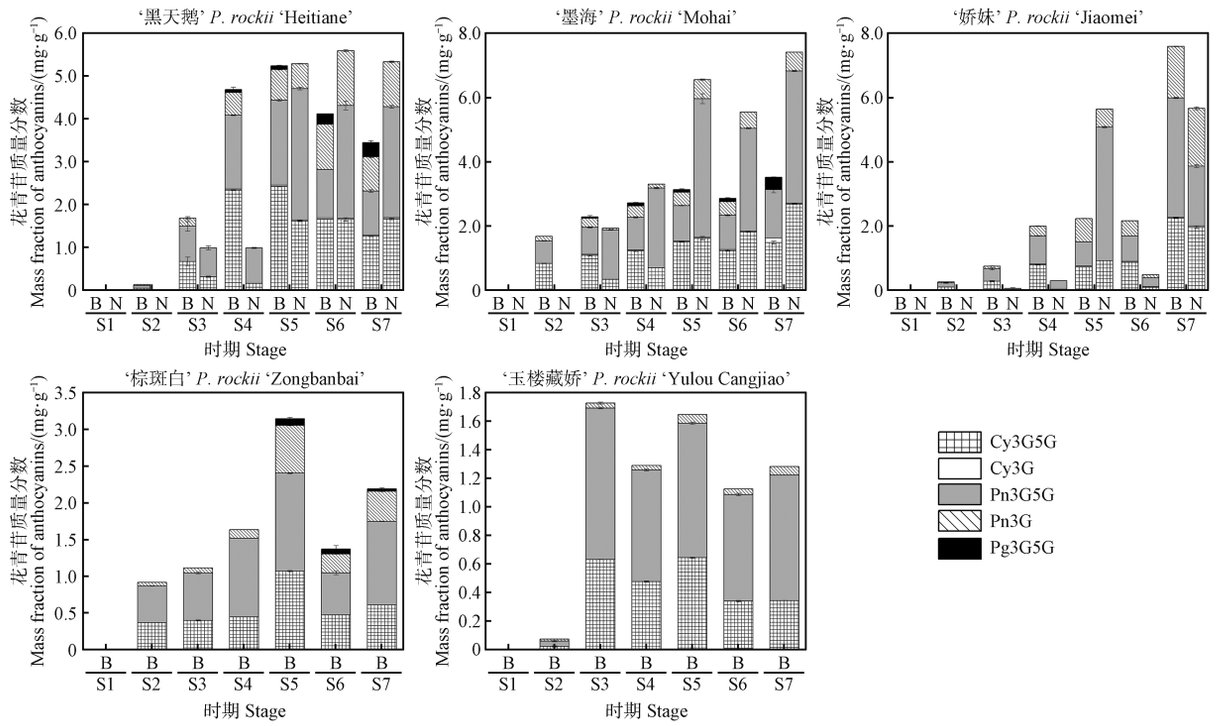
Fig.8 Boxplot of CIE values during blotch formation in *Paeonia rockii* cultivars

2.4 紫斑牡丹色斑区和非斑区花青苷含量测定结果

为探究花青苷积累动态与色斑发育过程的对应关系，测定了5个紫斑牡丹品种在7个发育时期花瓣色斑区和非斑区的花青苷含量，结果如图9所示。色斑区自S2时期开始检测到花青苷，其总含量随色斑形成整体呈上升趋势。白色紫斑牡丹品种的花瓣非斑区未检测到花青苷，而非白色品种的非斑区自S3时期开始检出。这一结果表明，色斑形成是花青苷积累的直接结果，并为“色斑形成早于花色形成”这一现象提供了生理依据。

在色斑形成过程中，花青苷的种类和含量均发生动态变化。Cy3G5G和Pn3G5G出现最早，且在色斑形成各个阶段均被检测到；Pg3G5G则在色斑形成后期出现。5个紫斑牡丹品种在S5时期总花青苷含量均由升高转为降低。除‘黑天鹅’外，‘墨海’‘棕斑白’‘玉楼藏娇’和‘娇妹’在S7时期色斑区总花青苷含量均有所增加。在5个品种的色斑区和3个非白色品种的非斑区均检测到Cy3G5G、Pn3G5G和Pn3G；其中Cy3G5G和Pn3G5G含量最高，是构成紫斑牡丹色斑的主要花青苷成分。此外，Pg3G5G仅在色斑区被检测到，而Cy3G含量极低。

‘黑天鹅’和‘墨海’的色斑区呈黑色，检测到Cy3G5G、Pn3G5G、Cy3G、Pn3G和Pg3G5G共5种花青苷；‘娇妹’色斑区呈深红色，含有Cy3G5G、Pn3G5G、Pn3G和Cy3G共4种花青苷，其Cy3G5G和Pn3G5G含量显著高于‘黑天鹅’和‘墨海’，但未检测到Pg3G5G。因此，Pg3G5G可能在‘黑天鹅’和‘墨海’黑色色斑形成中发挥重要作用。‘棕斑白’和‘玉楼藏娇’色斑区呈紫红色，含有Cy3G5G、



B. 色斑区；N. 非斑区。

B. Blotched area; N. Non-blotched area.

图 9　紫斑牡丹品种花瓣色斑形成过程中色斑区与非斑区花青苷质量分数

Fig.9　Anthocyanin mass fraction in the blotched and non-blotched petal areas of *Paeonia rockii* cultivars during blotch formation

Pg3G5G、Pn3G5G 和 Pn3G 共 4 种花青苷，但因其含量明显低于‘黑天鹅’‘墨海’和‘娇妹’，这可能是其色斑颜色相对较浅的原因。综上所述，花青苷的种类和含量共同决定了色斑的颜色表型。

2.5　紫斑牡丹花瓣色斑区和非斑区花色值与花青苷含量相关性分析

为深入探究紫斑牡丹花瓣基部色斑形成过程中，色斑区与非斑区花色值与花青苷含量之间的关系，本研究对‘墨海’‘黑天鹅’‘娇妹’‘棕斑白’及‘玉楼藏娇’5 个品种在 S1~S7 发育时期的花色值与花青苷含量进行了相关性分析。

分析结果（图 10）显示，在花瓣色斑区与非斑区中，L^* 与 a^*、a^* 与 b^* 均呈极显著负相关，L^* 与 b^* 呈极显著正相关。在色斑区，L^* 和 b^* 与花青苷 Cy3G5G、Cy3G、Pn3G5G、Pn3G 及 Pg3G5G 含量均呈显著负相关；此外，花青苷 Cy3G5G 含量与 Cy3G、Pn3G5G、Pn3G、Pg3G5G 含量呈极显著正相关，Cy3G 含量与 Pn3G5G、Pg3G5G 含量呈显著正相关，Pn3G5G 含量与 Pn3G 含量呈极显著正相关。在非斑区，L^* 与花青苷 Cy3G5G、Cy3G、Pn3G5G、Pn3G 含量均呈极显著负相关，a^* 与上述花青苷含量呈显著正相关，b^* 与花青苷 Cy3G5G、Pn3G5G 含量呈显著负相关。此外，花青苷 Cy3G5G、Cy3G、Pn3G5G、Pn3G 含量之间均呈极显著正相关。

基于上述结果，为进一步探究形成色斑的关键花青苷，对上述 5 个品种的色斑区花色值与花青苷含量进行了线性回归分析。

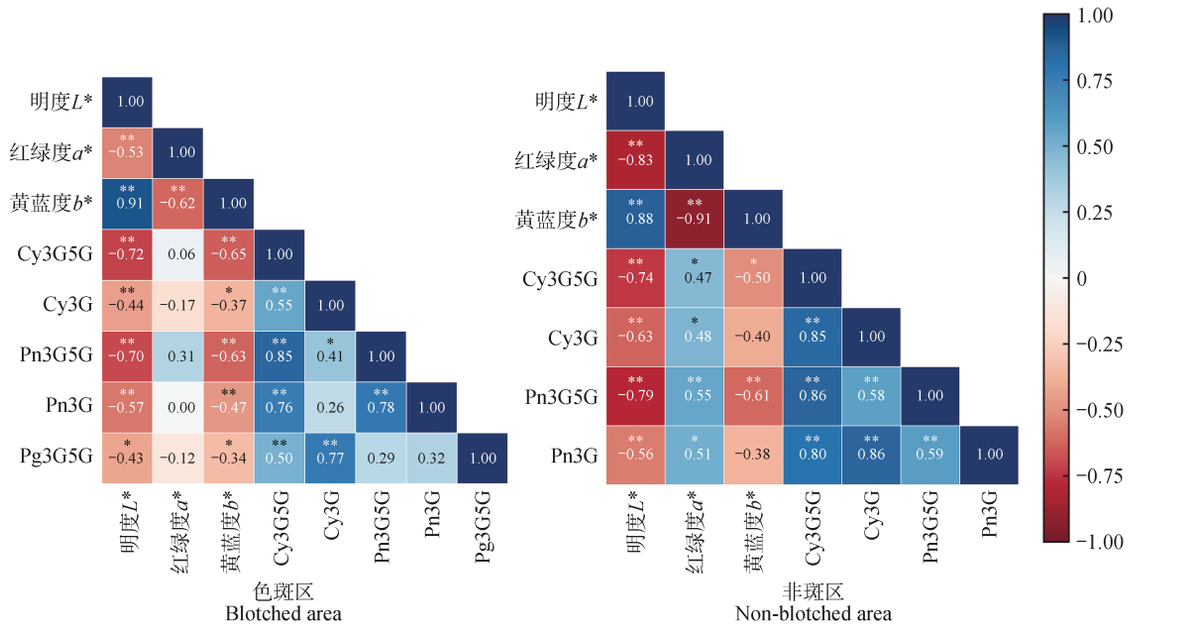
$$L^* = 65.138 - 24.668\omega\,(\text{Pn3G5G})\quad (R^2 = 0.484,\ P < 0.001) \tag{1}$$

$$a^* = 5.700 + 26.343\omega(\text{Pn3G5G}) - 34.689\omega(\text{Pn3G}) - 277.095\omega(\text{Cy3G})\quad (R^2 = 0.380,\ P < 0.505) \tag{2}$$

$$b^* = 18.247 - 10.397\omega\,(\text{Pn3G5G})\quad (R^2 = 0.399,\ P < 0.001) \tag{3}$$

式中：L^*、a^* 和 b^* 分别表示颜色的明度、红绿度和黄蓝度；R^2 为决定系数；P 为显著性水平。

结果表明，Pn3G5G 含量越高，色斑 L^* 越低，a^* 增强且色调向蓝紫方向偏移，从而更有利于紫红色色斑的形成。此外，色斑 a^* 与 Pn3G、Cy3G 含量呈负相关，说明较低含量的 Pn3G 和 Cy3G 也有利于紫红色色斑的形成。



*. $P<0.05$; **. $P<0.01$.

图 10 紫斑牡丹品种花瓣色斑区和非斑区的花色值与花青苷含量的相关性分析

Fig.10 Correlation analysis between color parameters and anthocyanin contents in the blotched and non-blotched petal areas of *Paeonia rockii* cultivars

3 讨论

牡丹因花形硕大、色彩绚丽而享有“花中之王”“国色天香”等美誉。其中，紫斑牡丹是西北牡丹品种群最重要的起源种，其花瓣基部的色斑具有极高的观赏和研究价值。为探究紫斑牡丹色斑的形成过程，本研究对紫斑牡丹品种花瓣色斑形成过程进行了连续观察和色素分析。结果表明，紫斑牡丹花瓣基部色斑由部分细胞先合成花青苷，随后以色素细胞团的形式扩散形成。色素细胞团是由 1 个色素积累最多的细胞及其周围环绕的 6~8 个浅色细胞构成的环状结构（图 5）。色斑左右两侧总是一侧先于另一侧形成。色斑形成始于 S2 时期，至 S3 时期形成完整轮廓，在 S6~S7 时期出现色斑细胞分裂和生长高峰。Pn3G5G 对紫斑牡丹品种色斑的花色值变化具有较强的解释力，Pg3G5G 则与黑色色斑的形成有关。

紫斑牡丹品种色斑区的花青苷合成早于非斑区。在百合（*Lilium*）双色花被片及斑点形成过程中，色素积累也表现出时序差异：斑点或有色区域的色素在早期发育阶段即开始积累，而背景区域色素的显现相对较晚[15-17]。这表明花瓣特殊花色区域的细胞色素代谢会优先启动，从而在花瓣发育过程中建立稳定的色彩分区，也说明色斑区和非斑区的色素代谢相对独立[18]。在部分植物中，花色差异常伴随表皮或组织结构的特化，如花菱草（*Eschscholzia californica*）通过细胞壁局部加厚以增强光聚集效应[19]，万寿菊（*Tagetes erecta*）舌状花上表皮呈圆锥状凸起[20]，秋石斛（*Dendrobium* hybrids）不同花色类型亦与表皮细胞形态差异相关[21]。因此，本研究对紫斑牡丹品种色斑横切面进行了观察，发现色斑区与非斑区未见明显的细胞形态或组织分化，这与前人[9]研究结果一致，表明其花色分区主要依赖色素在局部细胞中的差异积累，进一步说明不同植物在花色分区形成中可能采取差异化的发育策略，紫斑牡丹更倾向于通过代谢层面的调节实现色斑形成，而非依赖组织结构特化。此外，还观察到紫斑牡丹色素细胞主要分布在上、下表皮和栅栏组织中，这与既往牡丹色素分布研究结果[22]一致。

花瓣色斑的形成在时间和空间上均受到精确调控，其图案形成过程与细胞生长和分裂紧密相关[23]。已有研究[2]指出，斑瓣比不仅取决于早期的图案分区，还可能受到后期细胞分裂与生长过程的调节。该模型[24]认为，早期原基阶段形成的发育边界决定色素区域的初始位置，而后续不同区域细胞增殖或扩张速率的差异则可放大或缩小斑

瓣比。结合试验结果推测，紫斑牡丹色斑在S2时期即完成空间定位，后期色斑细胞数目和面积的变化反映了色素细胞团的分裂或生长对色斑的调节与修饰作用。

紫斑牡丹色斑区花青苷的含量与种类影响色斑花色值。紫斑牡丹野生种花瓣基部色斑中Cy3G为主要花青苷，总花青苷质量分数可达43.9 mg·g^{-1}；而紫斑牡丹与杨山牡丹（*Paeonia ostii*）杂交后代的色斑中则以Pn3G5G为主，其次为Cy3G5G，总花青苷质量分数仅为8.4 mg·g^{-1}[7,9]。本研究所用紫斑牡丹品种的主要花青苷类型与杂交后代表现一致，且总花青苷质量分数多数低于7.0 mg·g^{-1}。该结果表明，在不同遗传背景下，花青苷合成代谢可能发生改变。野生紫斑牡丹表现出较高的花青苷积累水平，而在杂交及品种选育过程中，总花青苷含量明显降低。结合已有研究[8]表明，PrMYB5通过激活*PrDFR*促进Cy和Pn类花青苷积累，推测花青苷含量差异可能与关键调控基因表达水平有关。此外，尽管本研究材料花青苷总量低于野生种，但仍能形成明显色斑，说明色斑的呈色效果除与色斑总花青苷含量有关外，还与花青苷的种类、色斑区与非斑区之间的颜色差异有关。Li等[25]在色斑区检测到4种花青苷，分别为Cy3G、Cy3G5G、Pn3G、Pn3G5G，而在非斑区仅检测到Cy3G5G和Pn3G5G。这表明，糖基转移酶在斑块部位这4种糖基化花青素的生物合成过程中可能发挥重要作用。Zhang等[7]研究表明，Pg类花青苷是非斑区红度增加的主要原因。在本研究所用紫斑牡丹品种中，Pg3G5G仅在色斑区检测到，且在黑色色斑品种中含量较高。Pg3G5G在色斑发育后期逐渐积累，并伴随色斑颜色由紫红向深紫或黑色过渡。该结果表明，Pg3G5G在紫斑牡丹中的呈色效应可能依赖于其与Cy、Pn类花青苷的比例。

4　结论

本研究通过连续发育观察与花青苷动态分析，系统揭示了紫斑牡丹花瓣基部色斑形成的结构基础与物质基础。色斑在S2时期即完成空间定位，以色素细胞团为基本结构单位进行扩展，并在S6~S7时期出现细胞增殖高峰。紫斑牡丹色斑色素细胞主要分布在花瓣的上、下表皮和栅栏组织中，部分品种的海绵组织中也存在色素细胞，但色素细胞的形态和结构未发生特化。色斑区花青苷积累早于非斑区，呈现显著的时空特异性。Pn3G5G对花色值变化具有较强解释力，是紫红色色斑形成的关键成分；Pg3G5G可能参与黑色色斑的形成。本研究从连续发育角度阐明了色斑形成机制，为紫斑牡丹花色调控及相关性状改良提供了理论依据。

参　考　文　献

[1] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京：中国林业出版社，2000：81-82.
Cheng Jinshui. Genetics and breeding of garden plants[M]. Beijing：China Forestry Publishing House，2000：81-82.

[2] Fairnie A L M，Yeo M T S，Gatti S，*et al*. Eco-Evo-*Devo* of petal pigmentation patterning[J]. Essays in Biochemistry，2022，66(6)：753-768.

[3] Zhang Y Z，Cheng Y W，Ya H Y，*et al*. Transcriptome sequencing of purple petal spot region in tree peony reveals differentially expressed anthocyanin structural genes[J]. Frontiers in Plant Science，2015，6：964.

[4] 成仿云. 中国紫斑牡丹[M]. 北京：中国林业出版社，2005：88.
Cheng Fangyun. Chinese flare Mudan[M]. Beijing：China Forestry Publishing House，2005：88.

[5] Wang L S，Hashimoto F，Shiraishi A，*et al*. Phenetics in tree peony species from China by flower pigment cluster analysis[J]. Journal of Plant Research，2001，114(3)：213-221.

[6] Wang L S，Hashimoto F，Shiraishi A，*et al*. Chemical taxonomy of the Xibei tree peony from China by floral pigmentation[J]. Journal of Plant Research，2004，117(1)：47-55.

[7] Zhang J J，Wang L S，Shu Q Y，*et al*. Comparison of anthocyanins in non-blotches and blotches of the petals of Xibei tree peony[J]. Scientia Horticulturae，2007，114(2)：104-111.

[8] Shi Q Q，Yuan M，Wang S，*et al*. PrMYB5 activates anthocyanin biosynthetic PrDFR to promote the distinct pigmentation pattern in the petal of *Paeonia rockii*[J]. Frontiers in Plant Science，2022，13：955590.

[9] Shi Q Q，Li L，Zhang X X，*et al*. Biochemical and comparative transcriptomic analyses identify candidate genes related to variegation formation in *Paeonia rockii*[J]. Molecules，2017，22(8)：1364.

[10] Qi Y Y，Lou Q，Li H B，*et al*. Anatomical and biochemical studies of bicolored flower development in *Muscari latifolium*[J]. Protoplasma，2013，250(6)：1273-1281.

[11] Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, *et al*. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis [J]. Nature Methods, 2012, 9(7): 676-682.

[12] Zhang J, Wang L S, Gao J M, *et al*. Determination of anthocyanins and exploration of relationship between their composition and petal coloration in crape myrtle (*Lagerstroemia* hybrid) [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50(5): 581-588.

[13] Hanbury A, Serra J. Mathematical morphology in the cielab space [J]. Image Analysis & Stereology, 2002, 21(3): 201.

[14] Luo X N, Sun D Y, Wang S, *et al*. Integrating full-length transcriptomics and metabolomics reveals the regulatory mechanisms underlying yellow pigmentation in tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) flowers [J]. Horticulture Research, 2021, 8: 235.

[15] Suzuki K, Suzuki T, Nakatsuka T, *et al*. RNA-seq-based evaluation of bicolor tepal pigmentation in Asiatic hybrid lilies (*Lilium* spp.) [J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 611.

[16] Wang Z, Li X, Chen M M, *et al*. Molecular and metabolic insights into anthocyanin biosynthesis for spot formation on *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* flower petals [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(3): 1844.

[17] Xu L F, Yang P P, Feng Y Y, *et al*. Spatiotemporal transcriptome analysis provides insights into bicolor tepal development in *Lilium* "tiny padhye" [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 398.

[18] Zhu J, Wang Y Z, Wang Q Y, *et al*. The combination of DNA methylation and positive regulation of anthocyanin biosynthesis by MYB and bHLH transcription factors contributes to the petal blotch formation in Xibei tree peony [J]. Horticulture Research, 2023, 10(7): uhad100.

[19] Wilts B D, Rudall P J, Moyroud E, *et al*. Ultrastructure and optics of the prism-like petal epidermal cells of *Eschscholzia californica* (California poppy) [J]. New Phytologist, 2018, 219(3): 1124-1133.

[20] 林登贵，曾丽，裴峰，等. 万寿菊营养器官及舌状花解剖结构的研究 [J]. 上海交通大学学报(农业科学版)，2015，33(4)：59-64.
Lin Denggui, Zeng Li, Pei Feng, *et al*. Anatomical structures of vegetative organs and ray floret in *Tagetes erecta* L. [J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University (Agricultural Science), 2015, 33(4): 59-64.

[21] 殷涵泰，尹俊梅，廖易，等. 基于秋石斛花朵颜色、色素分布及表皮细胞形态的表型分类 [J]. 园艺学报，2021，48(10)：1907-1920.
Yin Hantai, Yin Junmei, Liao Yi, *et al*. Phenotype classification based on flower color, pigment distribution and epidermal cell shape of *Dendrobium* hybrids [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(10): 1907-1920.

[22] Luan Y T, Tang Y H, Wang X, *et al*. Tree peony R2R3-MYB transcription factor PsMYB30 promotes petal blotch formation by activating the transcription of the anthocyanin synthase gene [J]. Plant and Cell Physiology, 2022, 63(8): 1101-1116.

[23] Kicheva A, Briscoe J. Developmental pattern formation in phases [J]. Trends in Cell Biology, 2015, 25(10): 579-591.

[24] Davies K M, Albert N W, Schwinn K E. From landing lights to mimicry: the molecular regulation of flower colouration and mechanisms for pigmentation patterning [J]. Functional Plant Biology, 2012, 39(8): 619-638.

[25] Li Y, Kong F, Liu Z A, *et al*. PhUGT78A22, a novel glycosyltransferase in *Paeonia* 'He Xie', can catalyze the transfer of glucose to glucosylated anthocyanins during petal blotch formation [J]. BMC Plant Biology, 2022, 22: 405.