



代祥,梅菊芬,杨亦扬,等. 基于色差仪的茶树叶色量化研究[J]. 南京农业大学学报,2024,47(2):232-241.

DAI Xiang, MEI Jufen, YANG Yiyang, et al. A quantitative study of leaf colors of tea plants based on the colorimeter[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(2): 232-241.

## 基于色差仪的茶树叶色量化研究

代祥<sup>1,2</sup>, 梅菊芬<sup>3</sup>, 杨亦扬<sup>2</sup>, 王玉花<sup>1\*</sup>

(1.南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095;2.江苏省农业科学院休闲农业研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏南京 210014;3.无锡市茶叶品种研究所/江苏省茶树种质资源圃,江苏无锡 214063)

**摘要:** [目的] 本试验旨在探讨不同叶色茶树群体的叶色关系及分布规律,确定茶树叶色定量描述的最佳色差仪参数,为叶色描述、分类提供理论依据。[方法] 以 120 个茶树品种(或株系)为研究对象,用色差仪测定叶片的明度( $L^*$ )、红度( $a^*$ )、黄度( $b^*$ )、彩度( $C^*$ )、总色值( $E^*$ )、色调角( $h$ )和饱和度( $S^*$ ),开展包括正态性检验、主成分分析、非参数多重比较、聚类分析和相关性分析的统计分析。[结果] 由黄色、绿色到紫绿色,叶片的  $L^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$  和  $S^*$  值逐渐降低, $a^*$  值先降后升。 $h$  值在绿色茶树中最大,紫绿色与黄色茶树没有显著差异。7 个参数在绿色茶树中多为正态分布,而在黄色、紫绿色茶树中多为偏态,说明黄色和紫绿色茶树所受选择压力大于绿色茶树。主成分分析结果表明,不同颜色茶树群体之间主要是明度和饱和度存在差异,群体内主要是红绿度存在差异。多重比较结果显示, $S^*$  值对不同品种(株系)茶树叶色的区分度最佳, $a^*$  值最差。当欧式距离为 8.78 时,120 个茶树品种(株系)被聚为 3 类,与目测法的分类一致。 $L^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$  和  $S^*$  值与叶绿素含量的相关性较强,相关系数都在 0.70 以上; $a^*$  值与花色苷含量的相关性较强,相关系数为 0.76。[结论]  $S^*$  值对不同品种茶树叶色区分度最佳,同时与叶绿素和花色苷含量均有较强的相关性,能够在一定程度上反映叶绿素与花色苷含量,可以选定饱和度  $S^*$  作为精准评价茶树叶片颜色的最佳色差仪参数。

**关键词:** 茶树;叶色;色差仪;参数

中图分类号: S571.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-2030(2024)02-0232-10

## A quantitative study of leaf colors of tea plants based on the colorimeter

DAI Xiang<sup>1,2</sup>, MEI Jufen<sup>3</sup>, YANG Yiyang<sup>2</sup>, WANG Yuhua<sup>1\*</sup>

(1.College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2.Institute of Leisure Agriculture/ Jiangsu Key Laboratory for Horticulture Crop Genetic Improvement, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3.Wuxi Tea Varieties Research Institute/Jiangsu Tea Germplasm Resources Nursery, Wuxi 214063, China)

**Abstract:** [Objectives] This study was conducted to explore the relationship and distribution of leaf color among tea plant populations, and also to determine the best colorimeter parameter for a quantitative description of tea plant leaf color, so as to provide a theoretical basis for leaf color description and classification. [Methods] Taking 120 tea varieties (or lines) as the research object, the lightness ( $L^*$ ), redness ( $a^*$ ), yellowness ( $b^*$ ), chroma ( $C^*$ ), total color value ( $E^*$ ), hue angle ( $h$ ) and saturation ( $S^*$ ) of tea plant leaves were measured with a colorimeter and the statistical analysis was conducted, including normality test, non-parametric multiple comparisons, principal component analysis, cluster analysis, and correlation analysis. [Results] From yellow, green to purple green,  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $E^*$ , and  $S^*$  values of leaves decreased gradually and  $a^*$  value increased firstly then decreased. The  $h$  value was the biggest in green tea plants, and there was no significant difference in the  $h$  value between purple green and yellow tea plants. Most of the seven parameters were normal in green tea plants but abnormal in yellow and purple green tea plants, which suggested that the selection pressure of yellow and purple green tea plants was bigger than that of green tea plants. The result of the principal components analysis indicated that there were differences in lightness and saturation between groups of tea plants of different colors, and differences in redness and greenness within groups. The result of multiple comparisons showed that the  $S^*$  value had the best discrimination of leaf color of diverse tea varieties (lines) and the  $a^*$  value the worst. When the euclidean distance equaled 8.78, 120 tea varieties (lines) were clustered into three categories, which was consistent with the classification that was divided by visual observation.  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $E^*$  and  $S^*$  values had a strong correlation with the chlorophyll content, and all the correlation coefficients were bigger than 0.70;  $a^*$  value had a strong correlation with the anthocyanin content, and the correlation coefficients was 0.76. [Conclusions] The  $S^*$  value had the best discrimination of leaf color of diverse tea varieties (lines) and had a relatively strong correlation with chlorophyll content and

收稿日期: 2023-03-02

基金项目: 江苏现代农业(茶叶)产业技术体系(JATS[2023]416); 江苏省科技计划专项资金(重点研发现代农业)项目(BE2023364); 国家茶叶产业技术体系(CARS-19); 江苏省种业振兴揭榜挂帅项目(JBGS[2021]085); 江苏省自主创新基金项目[ CX(22)2008 ]

\* 通信作者: 王玉花, 教授, 主要从事茶树生理生态研究, E-mail: wangyuhua@njau.edu.cn。

anthocyanin content, then it could reflect the content of chlorophyll and anthocyanin in tea plants to a certain extent, so the saturation  $S^*$  could be chosen as the best colorimeter parameter for accurately accessing the leaf color of tea plants.

**Keywords:** *Camellia sinensis*; leaf color; colorimeter; parameter

特异叶色茶树是指叶片颜色呈白化、黄化或紫化的茶树品种,它们不仅芽叶色泽异于常规绿色品种,生化成分也各具特点,具有重要的开发利用价值。因此,近年来各地育种工作者对特异叶色茶树的选育力度不断加大,目前,公开报道的此类茶树品种(品系)已超过50个<sup>[1]</sup>。叶色特异茶树的选育离不开对其叶色的描述及评价,研究如何精确描述这些茶树资源的颜色以及开展分类对育种工作具有重要意义。

目前,对茶树叶片颜色的描述和分类,主要依赖目测法。茶树性状调查中多使用此方法<sup>[2-4]</sup>。也有学者用比色卡辅助判断茶树颜色<sup>[5-7]</sup>,如根据潘通颜色代码判断‘白叶1号’和‘安吉黄茶’为白色,‘黄金芽’和‘苏玉黄’为黄色<sup>[5]</sup>。茶树全基因组关联分析和QTL定位研究中,常常也是目测划分颜色等级,然后再将不同等级进行赋值<sup>[8-10]</sup>。目测法简单直观,但主观误差较大,且难以量化描述。色差仪可将颜色量化用于进一步分析,如白光处理的‘黄金芽’叶片要“白”于红蓝光处理,其 $L^*$ 和 $b^*$ 值显著大于红蓝光处理,而 $a^*$ 值显著小于红蓝光处理<sup>[11]</sup>。使用色差仪参数可以描述叶片颜色变化的显著性,而目测法不行。除定量描述叶色,也有研究利用色差仪测定的颜色指标对叶色分类及定级。在茶树中研究发现,根据聚类分析的结果可将68份茶树资源的叶色分为7类,并可给定基于这些分类的测色值的值域<sup>[12]</sup>。在其他植物中,有研究者根据色差仪参数的第一主成分值将库尔勒香梨分为特优、优、良和一般4个等级<sup>[13]</sup>;还有根据色差仪参数聚类分析结果将红枫划分为3大色系和6大子色系类群<sup>[14]</sup>。有许多研究关注色差仪参数与呈色物质以及品质成分的关系,以期通过颜色测量估计生化成分含量及材料品质。研究发现,可用颜色参数 $C^*$ 值来估测西瓜番茄红素含量<sup>[15]</sup>。在龙胆中,颜色指标 $L^*$ 、 $E^*$ 与其主要成分龙胆苦苷存在显著正相关关系<sup>[16]</sup>。

为调查茶树群体间叶色关系及变化规律,确定茶树叶色评价及分类的最佳色差仪参数,建立快捷精准的叶色评价方法,本研究以120个茶树品种(株系)为试验材料,利用色差仪测定叶片的7个参数,分析茶树叶色遗传多样性,并筛选出合理的定量描述茶树叶片颜色的色差仪参数,为资源评价和品种选育工作提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验以种植于江苏省茶树种质资源圃的120个茶树品种或株系(表1)为研究对象,根据目测法分类,这些材料有绿色41个、黄色39个、紫绿色40个。2022年9月末,使用CR-23D型分光测色计(柯尼卡美能达,日本),测量每一品种(株系)秋梢自上而下第2叶的叶色,一次测量可得到 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $h$ 值。其中, $L^*$ 表示明度, $a^*$ 表示红/绿度, $b^*$ 表示黄/蓝度, $C^*$ 为彩度, $h$ 为色调角。使用SPAD502-Plus叶绿素测定仪(柯尼卡美能达,日本)测量叶绿素相对含量。每株随机选4片叶,尽量保证叶片的成熟度一致,3个生物学重复。测量完成后用锡纸包裹叶片投于液氮中。

表1 120份茶树资源的名称及叶色

Table 1 Names and leaf colors of 120 tea plant resources

名称 Name	叶色 Leaf color	名称 Name	叶色 Leaf color	名称 Name	叶色 Leaf color	名称 Name	叶色 Leaf color
M123	黄绿 Yellow green	M46	黄 Yellow	苏茶 120 Sucha 120	绿 Green	TRI04	绿 Green
M106	黄绿 Yellow green	M36	黄绿 Yellow green	福鼎大白 Fudingdabai	嫩绿 Light green	TRI03	绿 Green
M113	黄绿 Yellow green	M132	绿黄 Green yellow	桂香 22 号 Guixiang 22	嫩绿 Light green	碧香早 Bixiangzao	绿 Green
M114	黄绿 Yellow green	M68	黄绿 Yellow green	桂绿 1 号 Guili 1	嫩绿 Light green	TRI08	嫩绿 Light green
M65	黄绿 Yellow green	M54	绿黄 Green yellow	桂绿 3 号 Guili 3	绿 Green	玉山 16 Yushan 16	绿 Green
M127	黄绿 Yellow green	M24	黄 Yellow	中茶 126 Zhongcha 126	嫩绿 Light green	0207-4	绿 Green

续表 1 Table 1 continued

名称 Name	叶色 Leaf color	名称 Name	叶色 Leaf color	名称 Name	叶色 Leaf color	名称 Name	叶色 Leaf color
M53	绿黄 Green yellow	嵊白二号 Shengbaierhao	浅黄绿 Light yellow green	0318F	嫩绿 Light green	绿芽佛手 Lüyafoshou	绿 Green
M72	黄 Yellow	M30	绿黄 Green yellow	THB0711	嫩绿 Light green	黄 61(3) Huang 61(3)	嫩绿 Light green
M41	黄绿 Yellow green	嵊州越黄 Shengzhouyuehuang	绿黄 Green yellow	中茶 127 Zhongcha 127	嫩绿 Light green	桂红 3 号 Guihong 3	绿 Green
M53B	黄 Yellow	极白 Jibai	黄绿 Yellow green	TRI25	嫩绿 Light green	TRI25	绿 Green
M42	黄绿 Yellow green	中黄 4 号 Zhonghuang 4	黄绿 Yellow green	毛蟹 Maoxie	绿 Green	M15-10	深紫绿 Dark purple green
M110	绿黄 Green yellow	泰上黄 Taishanghuang	嫩绿 Light green	苦瓜茶 Kuguacha	嫩绿 Light green	M3-18	深紫绿 Dark purple green
M32	绿黄 Green yellow	小叶奶白 Xiaoyenaibai	黄 Yellow	大叶乌龙 Dayewulong	偏深绿 Middle green	M47-14	深紫绿 Dark purple green
M112	绿黄 Green yellow	金香白 Jinxiangbai	黄 Yellow	金观音 Jinguanyin	偏深绿 Middle green	M15-4	紫绿 Purple green
M39	绿黄 Green yellow	黄金甲 Huangjinjia	黄绿 Yellow green	水仙 Shuixian	绿 Green	M34-36	浅紫绿 Light purple green
M48	黄绿 Yellow green	白金芽 Baijinya	黄绿 Yellow green	醉贵妃 Zuiguifei	绿 Green	Z2-42	紫绿 Purple green
M58	黄绿 Yellow green	特早极黄 Tezaojihuang	黄 Yellow	HK18	绿 Green	Z2-54	浅紫绿 Light purple green
M69	黄绿 Yellow green	B04115	黄 Yellow	尖波黄 Jianbohuang	绿 Green	Z2-46	浅紫绿 Light purple green
M60	绿黄 Green yellow	M18	黄 Yellow	金春 Jinchun	绿 Green	Z2-2	浅紫绿 Light purple green
M27	黄绿 Yellow green	早奶白 Zaonaibai	黄 Yellow	早逢春 Zaofengchun	绿 Green	Z2-7	浅紫绿 Light purple green
苏黄 157 Suhuang 157	绿 Green	Z256	浅紫绿 Light purple green	Z25	紫绿 Purple green	M34-22	浅紫绿 Light purple green
九龙大白 Jiulongdabai	绿 Green	M71-4	紫绿 Purple green	Z2-18	浅紫绿 Light purple green	M34-38	浅紫绿 Light purple green
0317E	绿 Green	Z2-44	浅紫绿 Light purple green	M47-5	紫绿 Purple green	M34-75	浅紫绿 Light purple green
灵溪 6 号 Lingxi 6	绿 Green	M34-94	深紫绿 Dark purple green	Z2-4	浅紫绿 Light purple green	M34-39	浅紫绿 Light purple green
黄 56 Huang 56	黄绿 Yellow green	Z2-55	浅紫绿 Light purple green	M3-9	浅紫绿 Light purple green	M13-12	浅紫绿 Light purple green
老君眉 Laojunmei	嫩绿 Light green	M43-5	紫绿 Purple green	M34-47	浅紫绿 Light purple green	M34-32	浅紫绿 Light purple green
宁化 2 号 Ninghua 2	嫩绿 Light green	M3-17	紫绿 Purple green	M48-5	紫绿 Purple green	M43-4	深紫绿 Dark purple green
玉井流香 Yujingliuxiang	绿 Green	M34-23	紫绿 Purple green	M30-7	浅紫绿 Light purple green	M8-2	浅紫绿 Dark purple green
白芽奇兰 Baiyaqilan	绿 Green	Z2-57	紫绿 Purple green	M34-94	紫绿 Purple green	M34-73	浅紫绿 Light purple green
正太阳 Zhengtaiyang	绿 Green	M34-33	浅紫绿 Light purple green	M34-24	紫绿 Purple green	紫英 1 号 Ziying 1	浅紫绿 Light purple green

## 1.2 叶绿素和花色苷含量测定

叶绿素含量测定:避开主叶脉,称取 0.1 g 左右叶片至离心管中,加入 9 mL 95%乙醇浸提 48 h 至完全褪色,于 663、645 nm 波长处测量吸光值(A),叶绿素 a 浓度 =  $12.72A_{663} - 2.59A_{645}$ ,叶绿素 b 浓度 =  $22.88A_{645} - 4.67A_{663}$ 。

花色苷含量测定:称量方法同叶绿素含量测定方法。参考 Proctor<sup>[17]</sup>的方法,略有改动,试验所用 1% 盐酸甲醇为体积分数,以 1 g 茶树叶片在 10 mL 提取液中光密度为 0.1 为 1 个花色苷单位(U)。

## 1.3 数据分析

使用 Excel 2019 软件整理数据,计算  $E^*$  和  $S^*$  值。使用 R(version 4.1.3)软件进行各色差仪参数的正态性检验和主成分分析,以及各品种的非参数多重比较和聚类分析。

1) 数据处理:用测得的色差仪参数,计算  $E^*$  值、 $S^*$  值。计算公式如下:

$$E^* = [(L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \tag{1}$$

$$S^* = C^*/L^* \tag{2}$$

式中: $E^*$  为总色值; $S^*$  (saturation) 为饱和度<sup>[18]</sup>。绘制不同叶色色差仪参数的概率密度曲线图,并进行正态性检验。

2) 主成分分析:首先通过 KMO 检验和 Bartlett 球形度检验确定主成分分析可行性,然后使用 factoMineR 进行主成分分析<sup>[19]</sup>。

3) 不同色差仪参数的多重比较:运用 Kruskal Wallis 秩和检验判断各样本均值是否相等,后续进行品种之间的非参数多重比较<sup>[20]</sup>,以此对比不同色差仪参数对不同样本的区分度。检验不同叶色茶树之间颜色参数及色素含量差异与否亦使用此法。

4) 聚类分析:对经主成分分析降维后的样本进行层次聚类,使用欧式距离度量样本间距,离差平方和方法进行聚类,并将聚类结果导出.nwk 格式文件<sup>[21]</sup>进行可视化。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同叶色茶树叶片色差仪参数及叶绿素和花色苷的含量

3 种叶色茶树的色差仪参数呈规律性的变化趋势(图 1)。从黄色、绿色到紫绿色茶树, $L^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$  和  $S^*$  值都逐渐变小,即茶树叶片颜色的明度、黄度和饱和度在逐渐变低。 $a^*$  值表示颜色的红-绿度,正

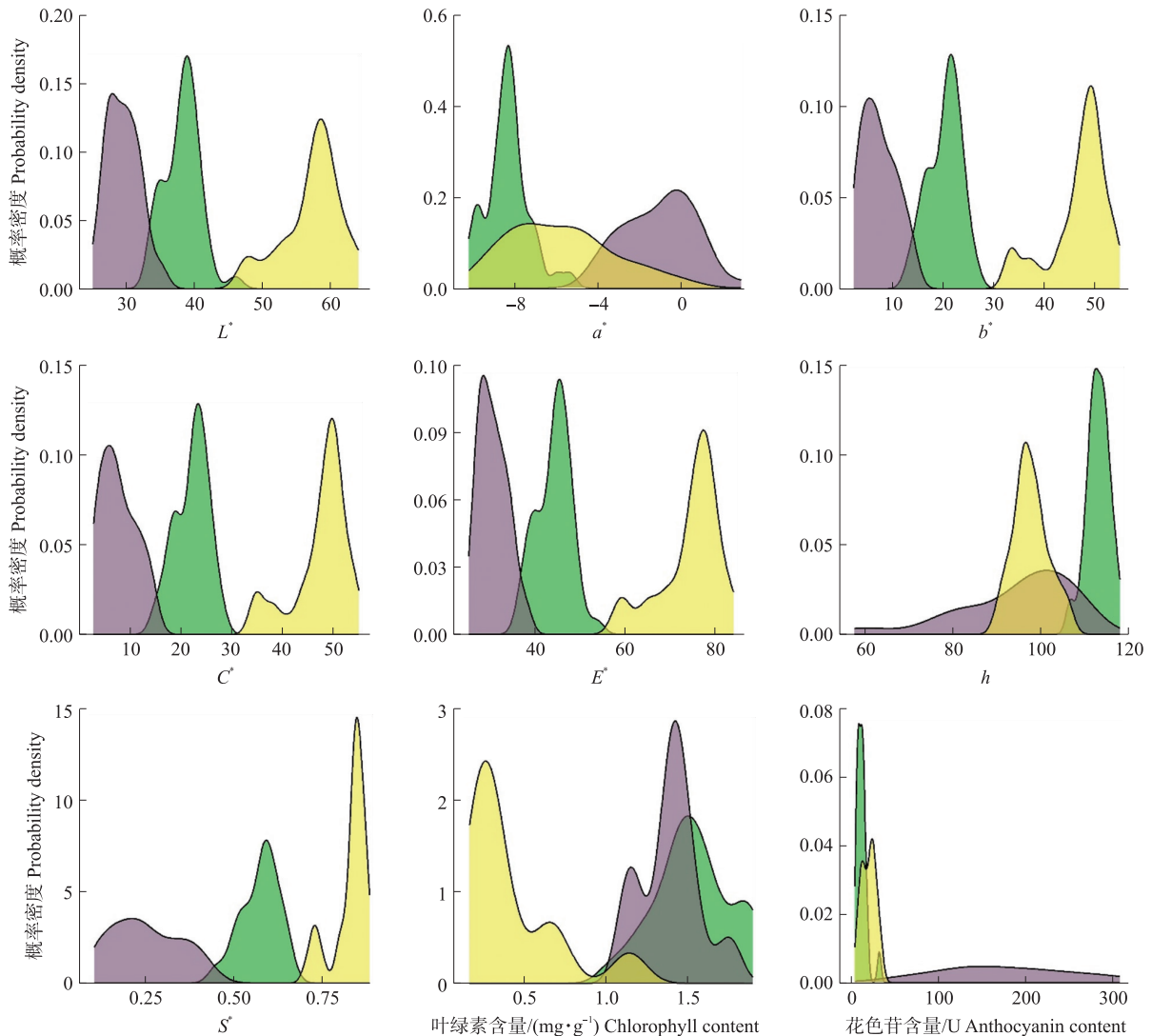


图 1 不同叶色茶树色差仪参数和色素含量的密度图

Fig. 1 Density plot of colorimeter parameters and pigment content of different color tea plants

图中颜色代表叶片目测颜色。下同。The colors in the figure represent the visual color of leaves. The same as follows.

值为红,负值为绿,值越大,表明颜色偏红,越小表明颜色偏绿。试验发现,紫绿色茶树  $a^*$  值最大,黄色茶树次之,绿色茶树最小,与此相符。绿色茶树的  $h$  值最大,黄色茶树和紫绿色茶树之间无显著差异。

从黄、绿和紫绿色茶树中各选取 23、21 和 22 个样本测定叶绿素和花色苷含量,这 66 个茶树样本中,叶绿素含量最高的是‘玉井流香’和 0207-4,最低的为‘嵊州越黄’。花色苷含量最高的是 M34-94,最低的为 0318F(表 2)。

正态性检验显示,绿色茶树的 7 个颜色参数都符合正态分布;紫绿色的  $C^*$  和  $h$  值不符合正态分布;黄色中则只有  $a^*$  和  $h$  值符合正态分布,其他都不符合正态分布。绿色茶树的叶绿素含量符合正态分布,黄色茶树的花色苷含量符合正态分布,紫绿色茶树的叶绿素含量和花色苷含量皆符合正态分布。

表 2 66 个茶树品种(株系)的叶绿素和花色苷含量

Table 2 Chlorophyll content and anthocyanin content of 66 tea plant varieties (lines)

名称 Name	叶绿素含量/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Chlorophyll content	花色苷含量/U Anthocyanin content	名称 Name	叶绿素含量/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Chlorophyll content	花色苷含量/U Anthocyanin content	名称 Name	叶绿素含量/ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Chlorophyll content	花色苷含量/U Anthocyanin content
M123	0.43	18.02	灵溪 6 号 Lingxi 6	1.61	10.69	白金芽 Baijinya	1.12	4.36
M106	0.35	13.42	宁化 2 号 Ninghua 2	1.48	11.36	桂绿 3 号 Guili 3	1.58	6.90
M113	0.32	8.96	玉井流香 Yujingliuxiang	1.89	7.79	黄金甲 Huangjinjia	0.25	22.15
M65	0.33	16.72	白芽奇兰 Baiyaqilan	1.04	7.79	0318F	1.36	2.72
M127	0.26	24.98	TRI04	1.82	17.32	毛蟹 Maoxie	1.40	9.45
M53	0.28	10.28	TRI03	1.46	15.55	苦瓜茶 Kuguacha	1.44	11.29
M72	0.30	23.15	碧香早 Bixiangzao	1.55	15.04	金观音 Jinguanyin	1.83	30.86
M53B	0.23	23.74	TRI08	1.21	12.60	水仙 Shuixian	1.44	10.75
M32	0.24	11.25	0207-4	1.89	12.82	红口 18 Hongkou 18	1.64	6.22
M39	0.23	11.25	绿芽佛手 Lüyafoshou	1.57	7.29	尖波黄 Jianbohuang	1.20	5.44
M46	0.22	20.47	桂红 3 号 Guihong 3	1.50	12.64	0317E	1.71	5.11
M68	0.24	26.62	Z2-56	1.44	49.45	M3-18	1.43	200.68
M24	0.18	30.88	M71-4	1.51	150.52	Z2-54	1.78	226.35
嵊白二号 Shengbaierhao	0.66	24.58	Z2-44	1.40	79.66	M47-5	1.40	274.36
M30	0.29	7.15	M34-94	1.30	306.07	M3-9	1.47	116.54
嵊州越黄 Shengzhouyuehuang	0.16	21.49	Z2-55	1.15	157.16	M48-5	1.38	123.31
极白 Jibai	0.66	13.96	M43-5	1.71	182.66	M30-7	1.58	140.14
中黄 4 号 Zhonghuang 4	0.70	32.42	M3-17	1.40	213.80	M34-24	1.48	204.45
泰上黄 Taishanghuang	0.62	21.92	M34-23	1.11	184.99	M34-22	1.31	108.06
小叶奶白 Xiaoyenaibai	1.15	9.92	Z2-57	1.49	259.23	M34-32	1.18	136.69
金香白 Jinxiangbai	0.20	29.99	M34-23	1.17	63.74	M43-4	1.09	246.38
中茶 126 Zhongcha 126	1.31	5.20	M15-10	1.38	302.13	紫英 1 号 Ziying 1	1.38	138.71

## 2.2 色差仪参数的主成分分析

KMO 检验的统计量为 0.6, Bartlett 球形度检验的  $P$  值为 0, 可以进行主成分分析。结果显示, 共提取

出 2 个主成分,累积贡献率达 92.5%。

绿色的茶树样本,其叶色间的变异主要存在于第 1 主成分之间,而黄色和紫绿色茶树样本,其叶色之间的变异既存于第 1 主成分之间,也存于第 2 主成分之间(图 2)。其中,决定第 1 主成分的主要指标包括  $L^*$ 、 $b^*$  和  $C^*$  等(表 3),说明绿色、黄色和紫绿色群体之间主要是颜色的明度、黄度和饱和度的差异。这与视觉观察结果相符,黄色茶树色彩较明亮活泼,紫绿色茶树色彩较暗淡沉重,绿色茶树处在二者之间。决定第 2 主成分的指标为  $a^*$  和  $h$ ,说明黄色和紫绿色群体内的差异主要是红绿度的差异,即紫绿色群体内主要是红色程度的变异,视觉观察结果有淡紫绿、紫绿和深紫绿等,黄色群体内主要是绿色程度的变异,视觉观察有黄、绿黄和黄绿等。

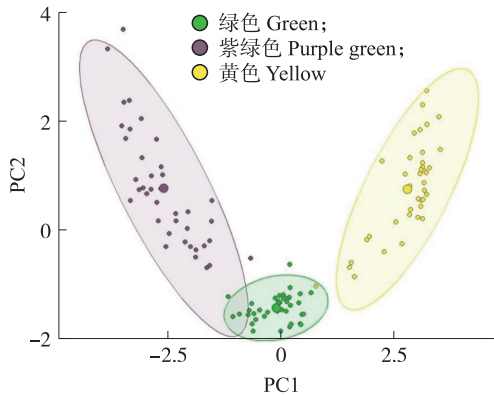


图 2 主成分分析(PCA)得分图

Fig. 2 Principal component analysis(PCA) score plot

表 3 因子对原始变量的载荷情况  
Table 3 The availability of the load factor for the original indicators

原始变量 Original variables	主成分 1 Principle component 1	主成分 2 Principle component 2
$L^*$	0.978	0.188
$a^*$	-0.518	0.813
$b^*$	0.985	0.166
$C^*$	0.991	0.129
$E^*$	0.980	0.194
$h$	0.128	-0.959
$S^*$	0.987	-0.123

### 2.3 色差仪参数的多重比较

针对各样本方差不齐的问题,采用 Kruskal Wallis 秩和检验替代单因素方差分析判断样本均值是否均等。通过 Kruskal Wallis 检验发现,7 个色差仪参数在 120 个样本中的均值不相等,且所有参数在品种间的差异均达到极显著水平(表 4),故进行非参数多重比较。对 120 个样本进行多重比较,共得到 7 140 个组合,其中, $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$ 、 $h$  和  $S^*$  值有显著差异的组合数分别为 1 445、1 410、1 457、1 467、1 449、1 433 和 1 476(表 4)。综上,茶树叶片的饱和度  $S^*$  值对 120 品种(株系)的区分度最佳, $a^*$  值最差。

表 4 不同色差仪参数的多重比较结果

Table 4 Multiple comparison results of different colorimeter parameters

色差仪参数 Colorimeter parameters	卡方值 Chi-square value	差异显著组合数 Number of significantly different combinations
$L^*$	1 390.4 **	1 445
$a^*$	1 269.3 **	1 410
$b^*$	1 396.1 **	1 457
$C^*$	1 398.0 **	1 449
$E^*$	1 394.6 **	1 467
$h$	1 286.7 **	1 433
$S^*$	1 394.9 **	1 476

Note: \*\*  $P < 0.01$ .

### 2.4 茶树品种(株系)的聚类分析

高维数据中欧式距离失效,不适于聚类分析<sup>[22]</sup>。本试验使用 PCA 降维后的数据,即第 1 主成分和第 2 主成分的值进行聚类。由图 3 可见:当欧式距离为 8.78 时,120 个茶树品种(株系)归为 3 个大类,结合目测法分类结果来看,聚类分析所得到的 3 个颜色分别为黄色、绿色和紫绿色;当欧式距离为 21.16 时,紫绿色和绿色品种又可以归为一类与黄色品种并列。目测分类与聚类分类的样本基本没有出入,仅 2 个品种(株系)目测叶色分类与聚类结果存在差异,目测划分为黄色的‘白金芽’和紫绿色的 M34-36 被聚类到绿色系中。

根据聚类分析结果,确定不同色系中色差仪参数的分布范围(表 5)。以多重比较中效果最优的  $S^*$  值为例,当  $S^*$  在  $[0.10, 0.43]$  范围,表明该茶树是紫绿色的,若  $S^*$  在  $[0.44, 0.66]$  范围,表明茶树是绿色的,若  $S^*$  在  $[0.70, 0.88]$  范围,表明茶树是黄色的。

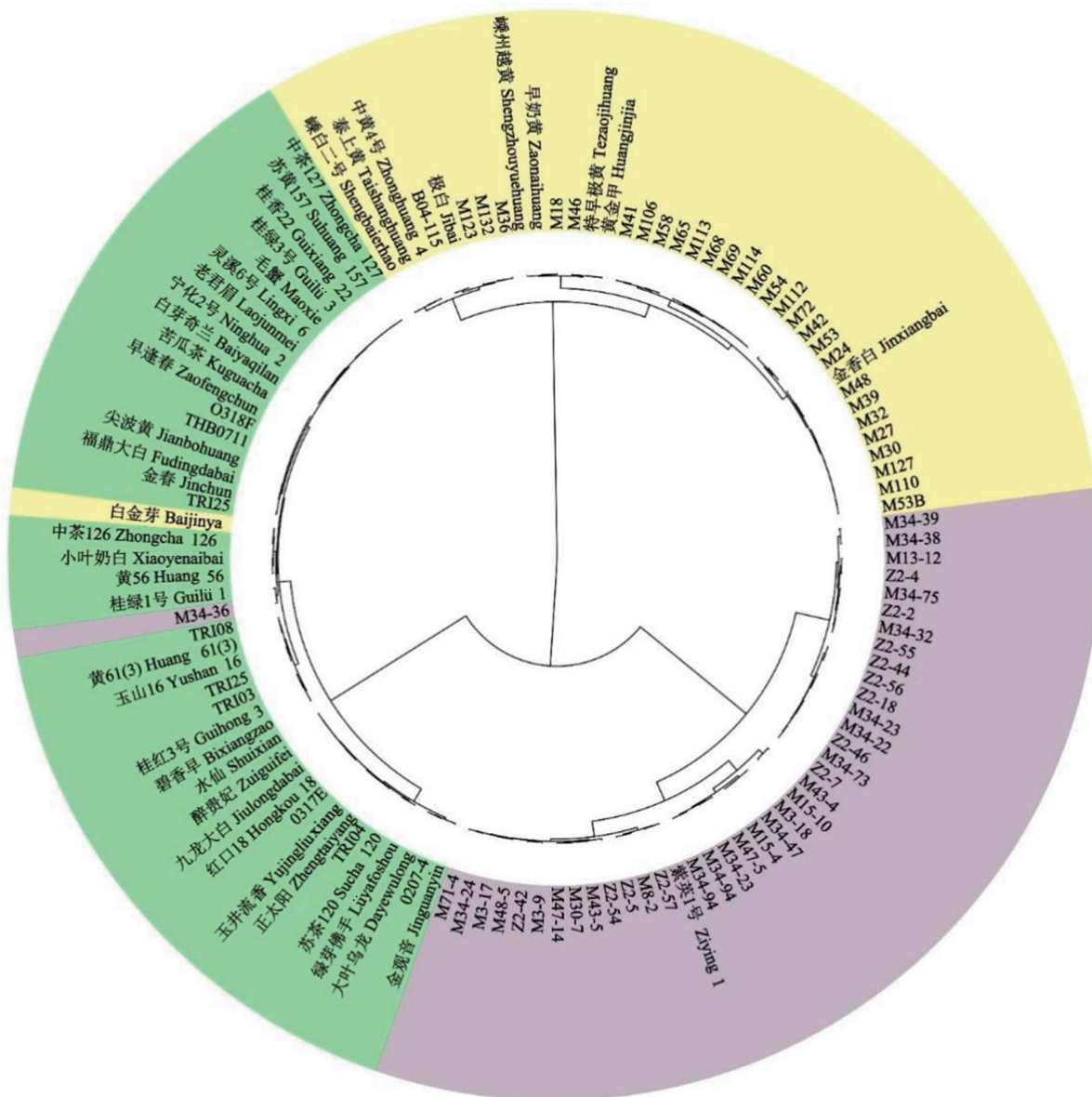


图3 茶树品种(株系)的层次聚类

Fig.3 Hierarchical clustering of tea plant varieties( lines)

表5 不同色差仪参数在不同色系茶树中的范围

Table 5 Ranges of different colorimeter parameters in diverse colored tea plants

色差仪参数 Colorimeter parameters	黄色系 Yellow system	绿色系 Green system	紫绿色系 Purple green system
$L^*$	[47.15,63.96]	[33.74,45.94]	[25.04,35.34]
$a^*$	[-9.81,0.08]	[-10.27,-5.37]	[-4.26,2.86]
$b^*$	[33.14,54.75]	[13.45,26.03]	[2.19,14.10]
$C^*$	[34.37,54.83]	[14.86,27.58]	[2.57,14.28]
$E^*$	[58.35,83.71]	[36.89,53.56]	[25.20,38.16]
$h$	[89.91,106.41]	[106.47,117.75]	[57.27,109.80]
$S^*$	[0.70,0.88]	[0.44,0.66]	[0.10,0.43]

2.5 色差仪参数的相关性分析

相关性分析结果(图4)表明,所有色差仪参数两两之间均显著相关,其中, $L^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$ 和 $S^*$ 值相关性极强,相关系数均在0.98之上,说明不同叶色茶树中明度、黄度和彩度具有强一致性,即叶片的明度越高,其黄度和彩度亦越高。7个参数中,只有 $a^*$ 值与叶绿素含量相关性不显著,其余参数 $L^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$ 和 $S^*$ 值与叶绿素含量的相关性均很强,相关系数均在0.70以上。7个参数皆与花色苷含量显著相关,其中 $a^*$ 值与花色苷含量的相关性最强,相关系数为0.76, $L^*$ 、 $b^*$ 、 $C^*$ 、 $E^*$ 和 $S^*$ 值与花色苷的相关性次之,

相关系数均在 0.58 左右。色调角  $h$  值与叶绿素和花色苷含量相关性都较弱。SPAD 值与叶绿素含量相关性极强,相关系数为 0.91,花色苷含量与叶绿素含量之间不具有相关性。

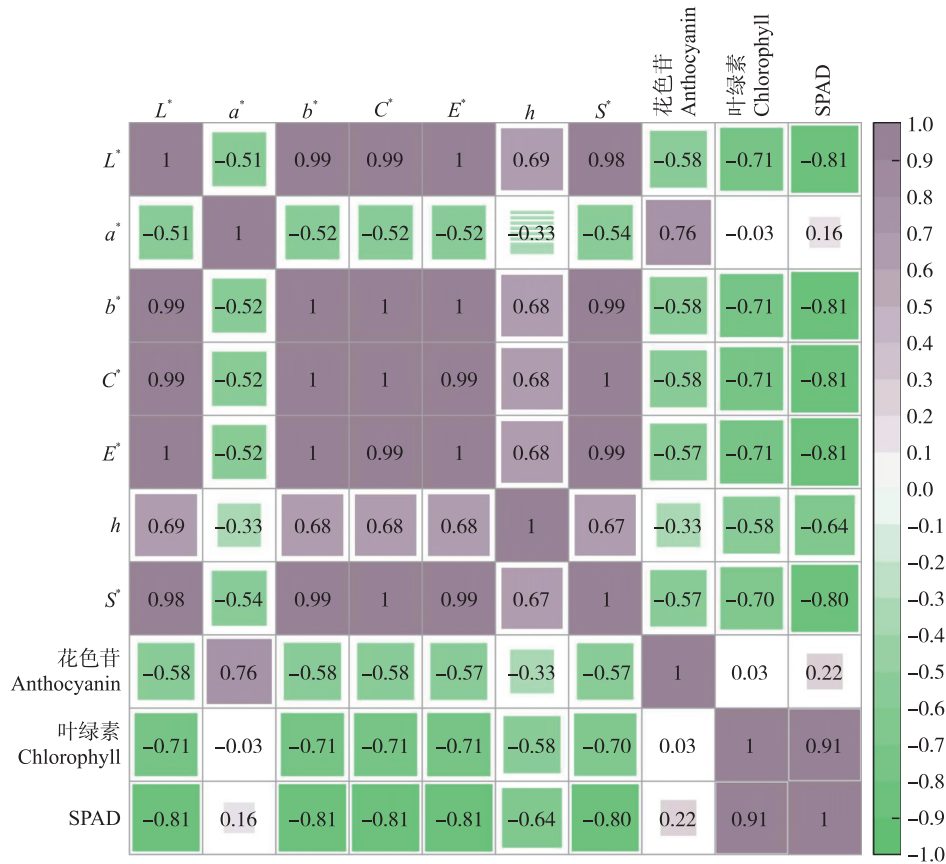


图 4 色差仪参数的相关性分析  
Fig. 4 Correlation analysis of colorimeter parameters

### 3 讨论与结论

本试验得出的色差仪参数在不同叶色茶树之间的变化趋势为:茶树由黄、绿至紫绿时,明度  $L^*$  值、黄度  $b^*$  值递减, $a^*$  值先减后增,这与前人调查的结果基本一致<sup>[23-25]</sup>。 $a^*$  值是反映颜色红-绿度的参数,与花色苷含量相关性最强(相关系数为 0.76),茶树叶片颜色越紫, $a^*$  值越大,花色苷含量越高。以往研究发现, $a^*$  值一般与叶绿素含量相关<sup>[26-27]</sup>。本试验中, $a^*$  值与叶绿素含量相关系数接近于 0,可能是受花色苷含量干扰,绿色与紫绿色茶树叶绿素含量无显著差异,但花色苷含量紫绿色要高于绿色茶树,其叶片绿色易受紫色遮蔽,视觉感知上茶树叶片花色苷含量越高,叶片越紫,所以无论  $a^*$  值大小,叶绿素含量几乎不变,故  $a^*$  值和叶绿素含量无相关性。色调角  $h$  表示颜色的类型, $0^\circ$  左右颜色为红, $90^\circ$  左右颜色为黄, $180^\circ$  左右颜色为绿。本试验发现,绿色茶树的  $h$  值最大,黄色和紫绿色茶树的  $h$  值没有显著差异,可能是紫绿色茶树的叶片叶绿素含量与绿色茶树叶片相比没有显著差异,紫色中含绿,相当于紫绿色茶树的色调角是绿色和紫色的均值,恰好对应黄色。聚类分析结果中,当欧式距离为 21.16 时,绿色茶树可与紫绿色茶树聚为一类与黄色茶树并列的原因可能亦由此所致。

以往研究发现,黄化茶树叶绿素含量显著低于绿色茶树<sup>[28]</sup>,紫色茶树的花色苷含量显著高于绿色茶树,且紫色越深,花色苷含量越高<sup>[29]</sup>。本研究中,黄色茶树的叶绿素含量显著低于绿色和紫绿色茶树,且绿色和紫色茶树的叶绿素含量没有显著差异。紫绿色茶树的花色苷含量显著高于绿色和黄色茶树,绿色系和黄色系的花色苷含量没有显著差异。

一般认为,自然条件下数量性状符合正态分布,在有选择压力存在时,会使性状分布向某一方向偏移<sup>[30]</sup>。本试验发现绿色系茶树所有色差仪参数都符合正态分布,紫绿色茶树有 2 个色差仪参数偏态分布,黄色茶树有 5 个参数偏态,这可能说明黄色和紫绿色茶树资源所受的人为选择压力要大于绿色茶树

资源。

本研究聚类分析结果表明,目测法划分的叶色与层次聚类结果基本一致,仅有2个样本不符,‘白金芽’和M34-36目测分别为黄色和紫绿色,均被聚类分析归为绿色,查找目测叶色发现,‘白金芽’的目测颜色为“黄绿”,M34-36的目测颜色为“浅紫绿”,应是这2个样本的叶色以绿为主,因此被聚类到绿色系中。本试验也基于分类数据划分了不同色系的色差仪参数范围,其中 $C^*$ 和 $S^*$ 值的分类效果较好,在3个色系之间没有重叠的部分,可以辅助目测法对颜色的判断,不过划分比较笼统,只有黄、绿、紫绿3个色系,从聚类分析的结果来看,可以进行进一步细分,但是由于目测观察的数据比较粗糙,故未进行。作为试验材料的这120种茶树是不同的品种或者杂交后代,其遗传基础不同,默认它们之间的叶色应具有有一定差异,故需要确定一个颜色参数体现这种变异,来表征茶树叶色及用于茶树叶色的分类学鉴定。常用的方法为比较不同参数在品种间和品种内的变异系数,某参数在品种内变异系数小于10%为符合一致性标准,在品种间变异系数大于15%则说明在品种间有明显变异<sup>[31]</sup>,最优色差仪参数在品种内一致性最高,在品种间差异性最大<sup>[30]</sup>。但在实际运用中发现,一些参数虽然与其他参数标准差相差无几,但由于数值接近0,平均值也趋于0,导致变异系数(标准差/平均值)非常大,如 $a^*$ 值的品种(株系)内变异系数从-442.68%到2307.93%。进一步分析发现,色差仪参数应是定距变量,其0点也代表一种颜色,而不代表没有或不存在<sup>[32]</sup>,不适于计算变异系数,所以本试验改用Kruskal Wallis检验和非参数多重比较的方法。计算不同的色差仪参数在品种内和品种间的变异系数可以比较这些参数在品种内的一致性,以及品种间的特异性,采用非参数多重比较的方法也能起到同样的效果,即进行多重比较后,有显著差异的品种越多,就说明这个参数在品种内变异越小,品种间的变异越大。本研究结果发现, $S^*$ 值检验效果最佳。但在7440个组合中,最多也只有1476个组合有显著差异,主要是非参数检验的检验效率较低的原因<sup>[33]</sup>。

$S^*$ 表示颜色饱和度,其值为彩度(chroma)与明度(lightness)之比,指相对于自身亮度的彩色性<sup>[34]</sup>。非参数多重比较结果表明 $S^*$ 值最优,聚类分析发现, $S^*$ 值在不同色系之间无重叠,可以辅助目测法划分茶树叶色。同时 $S^*$ 值与叶绿素与花色苷的含量显著相关,相关系数分别为-0.57和0.70,能够在一定程度上代表叶片色素含量,所以可以选择饱和度 $S^*$ 值作为茶树叶色定量化描述的最佳参数。

#### 参考文献 References:

- [1] 李强,项建,郑国杨,等.我国叶色特异茶树品种选育推广与产业化发展探析[J].中国茶叶,2020,42(9):52-57.  
Li Q,Xiang J,Zheng G Y,et al. Advance of the breeding,extension and industrialization of tea cultivars with special colors in China[J]. China Tea,2020,42(9):52-57(in Chinese with English abstract).
- [2] Zhao Y C,Wang R Y,Liu Q,et al. Genetic diversity of ancient *Camellia sinensis*(L.)O. Kuntze in Sandu County of Guizhou Province in China[J]. Diversity,2021,13(6):276.
- [3] Wang Z H,Yang P X,Peng H,et al. Comprehensive evaluation of 47 tea [*Camellia sinensis*(L.)O. Kuntze]germplasm based on entropy weight method and grey relational degree[J]. Genetic Resources and Crop Evolution,2021,68(8):3257-3270.
- [4] Wibowo N A,Martono B. The diversity and classification of tea germplasm based on morpho-agronomic characteristics[J]. IOP Conference Series:Earth and Environmental Science,2022,985(1):012008.
- [5] Li R L,Li Z Z,Yang Y Y,et al. Comparison of the quality characteristics of 4 albinos tea[J]. Food and Nutrition Sciences,2013,4(11):1102-1107.
- [6] Maritim T K,Korir R K,Nyabundi K W,et al. Molecular regulation of anthocyanin discoloration under water stress and high solar irradiance in pluckable shoots of purple tea cultivar[J]. Planta,2021,254(5):85.
- [7] 王开荣.白化茶种质资源综合性状研究[D].杭州:浙江大学,2006.  
Wang K R. The research on the comprehensive characters of albino tea as germplasm resources[D]. Hangzhou: Zhejiang University,2006 (in Chinese with English abstract).
- [8] Lu L T,Chen H F,Wang X J,et al. Genome-level diversification of eight ancient tea populations in the Guizhou and Yunnan regions identifies candidate genes for core agronomic traits[J]. Horticulture Research,2021,8:190.
- [9] Cheng L N,Dong X,Liu Q,et al. SLAF-Seq technology-based genome-wide association and population structure analyses of ancient *Camellia sinensis*(L.) Kuntze in Sandu County, China[J]. Forests,2022,13(11):1885.
- [10] Tan L Q,Wang L Y,Xu L Y,et al. SSR-based genetic mapping and QTL analysis for timing of spring bud flush,young shoot color,and mature leaf size in tea plant(*Camellia sinensis*) [J]. Tree Genetics & Genomes,2016,12(3):52.
- [11] Tian Y Y,Wang H Y,Sun P,et al. Response of leaf color and the expression of photoreceptor genes of *Camellia sinensis* cv. Huangjinya to different light quality conditions[J]. Scientia Horticulturae,2019,251:225-232.
- [12] 杨如兴,孔祥瑞,张磊,等.茶树品种(品系)芽叶色泽表型遗传数量分类研究[J].热带亚热带植物学报,2016,24(4):444-451.  
Yang R X,Kong X R,Zhang L,et al. Numerical taxonomy of leaf color phenotypes for tea (*Camellia sinensis*) [J]. Journal of Tropical and

- Subtropical Botany,2016,24(4):444-451(in Chinese with English abstract).
- [13] 黄娟,李新建. 基于色差仪法的库尔勒香梨果实颜色分级标准[J]. 北方园艺,2018(17):38-44.  
Huang J,Li X J. The Korla fragrant pear color grading based on colorimeter[J]. Northern Horticulture,2018(17):38-44(in Chinese with English abstract).
- [14] 沈星诚,周婷,范俊俊,等. 日本红枫春季叶片色彩评价[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2020,44(6):213-220.  
Shen X C,Zhou T,Fan J J,et al. Evaluation of leaf colors of Japanese maples in spring[J]. Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition),2020,44(6):213-220(in Chinese with English abstract).
- [15] 路绪强,袁明,何楠,等. 利用色差仪快速检测西瓜番茄红素含量[J]. 中国瓜菜,2021,34(4):41-45.  
Lu X Q,Yuan M,He N,et al. Rapid determination of watermelon lycopene content by using Chromatic meter[J]. China Cucurbits and Vegetables,2021,34(4):41-45(in Chinese with English abstract).
- [16] 宿莹,李翟,侯晓琳,等. 基于色差原理分析龙胆有效成分含量与颜色的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(13):151-156.  
Su Y,Li D,Hou X L,et al. Correlation between effective components content and color values of gentianae radix et rhizoma based on color difference principle[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae,2019,25(13):151-156(in Chinese with English abstract).
- [17] Proctor J T A. Color stimulation in attached apples with supplementary light[J]. Canadian Journal of Plant Science,1974,54(3):499-503.
- [18] Zou Y, Ma W J, Tang Q, et al. A high-precision method evaluating color quality of sichuan dark tea based on colorimeter combined with multi-layer perceptron[J]. Journal of Food Process Engineering,2020,43(8):e13444.
- [19] Lê S, Josse J, Husson F. FactoMineR: an R package for multivariate analysis[J]. Journal of Statistical Software,2008,25(1):1-18.
- [20] 金英良,赵华硕,孙桂香,等. 基于R软件的多组独立样本秩和检验的多重比较[J]. 预防医学论坛,2016,22(11):805-806,809.  
Jin Y L,Zhao H S,Sun G X,et al. Multiple comparison test after Kruskal-Wallis based on R software[J]. Preventive Medicine Tribune,2016,22(11):805-806,809(in Chinese with English abstract).
- [21] Wang L G, Lam T T Y, Xu S B, et al. Treeio: an R package for phylogenetic tree input and output with richly annotated and associated data[J]. Molecular Biology and Evolution,2020,37(2):599-603.
- [22] Cevikalp H. High-dimensional data clustering by using local affine/convex hulls[J]. Pattern Recognition Letters,2019,128:427-432.
- [23] 孔祥瑞,杨军,王让剑. 茶叶叶片精准测色装置构建及在稀有种质鉴别中的应用[J]. 茶叶科学,2017,37(2):160-166.  
Kong X R, Yang J, Wang R J. Establishment of precise color measuring device for tea (*Camellia sinensis* L.) leaf and its application in identification of rare germplasm[J]. Journal of Tea Science,2017,37(2):160-166(in Chinese with English abstract).
- [24] 萧力争,李勤,谭正初,等. 茶树紫色芽叶分级标准研究[J]. 云南农业大学学报,2008,23(5):668-672.  
Xiao L Z,Li Q,Tan Z C,et al. Study on the classification standard of purple tea shoot[J]. Journal of Yunnan Agricultural University,2008,23(5):668-672(in Chinese with English abstract).
- [25] 金琦芳,孙威江,王仲. 遮阴处理对茶叶叶色表型及生化成分的影响[J]. 食品工业科技,2018,39(23):1-6.  
Jin Q F,Sun W J,Wang Z. Effects of shading treatments on leaf color phenotype and biochemical composition of tea leaves[J]. Science and Technology of Food Industry,2018,39(23):1-6(in Chinese with English abstract).
- [26] 吕运舟,施士争,吴静. 不同间种模式对白茶春梢叶色参数与色素含量的影响[J]. 江苏林业科技,2020,47(4):13-16.  
Lü Y Z,Shi S Z,Wu J. Effects of different agroforestry system on leaf color parameters and pigment content of spring tip of white tea[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology,2020,47(4):13-16(in Chinese with English abstract).
- [27] 王改萍,张磊,姚雪冰,等. 金叶银杏叶色变化特性分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2020,44(5):41-48.  
Wang G P,Zhang L,Yao X B,et al. An analysis of color variation characteristics of golden leaf ginkgo[J]. Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition),2020,44(5):41-48(in Chinese with English abstract).
- [28] Li Y C, Chen C S, Li Y S, et al. The identification and evaluation of two different color variations of tea[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2016,96(15):4951-4961.
- [29] Kumari M, Thakur S, Kumar A, et al. Regulation of color transition in purple tea (*Camellia sinensis*) [J]. Planta,2020,251(1):35.
- [30] 沈凤,蒋逍道,房伟民,等. 切花菊叶片的遗传多样性分析[J]. 南京农业大学学报,2018,41(2):275-285. DOI: 10.7685/jnau.201703036.  
Shen F,Jiang X X,Fang W M,et al. Genetic diversity analysis of cut chrysanthemum leaves[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2018,41(2):275-285(in Chinese with English abstract).
- [31] 陈霜,马跃,王宝宁,等. 重庆市常用的平瓣类菊花品种数量性状分析[J]. 湖北农业科学,2017,56(20):3894-3897.  
Chen S, Ma Y, Wang B N, et al. Quantitative trait analysis of the commonly used flat petals varieties of *Chrysanthemum morifolium* in Chongqing[J]. Hubei Agricultural Sciences,2017,56(20):3894-3897(in Chinese with English abstract).
- [32] 魏和清,罗良清. 实用统计学[M]. 北京:中国财政经济出版社,2011:7-8.  
Wei H Q,Luo L Q. Applied Statistics[M]. Beijing:China Financial and Economic Publishing House,2011:7-8(in Chinese).
- [33] 葛飞. 基于秩差序列的两样本检验[D]. 兰州:兰州财经大学,2016.  
Ge F. Two sample test based on rank difference[D]. Lanzhou:Lanzhou University of Finance and Economics,2016(in Chinese with English abstract).
- [34] Fairchild M D. Color Appearance Models[M]. Hoboken:John Wiley & Sons,Inc,2013:91-93.