

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201703039

引文格式: 汤努尔·瓦力拜, 李厚华, 李果, 等. 不同叶色三叶海棠叶片成色色素分析 [J]. 广西植物, 2017, 37(12): 1572-1578
WALIBAI T, LI HH, LI G, et al. Pigment analysis on different colors of leaves from *Malus sieboldii* [J]. *Guihaia*, 2017, 37(12): 1572-1578

不同叶色三叶海棠叶片成色色素分析

汤努尔·瓦力拜, 李厚华*, 李果, 刘天庆, 李媛, 韩美玲

(西北农林科技大学 风景园林艺术学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 三叶海棠秋季叶色丰富, 观赏价值良好。该研究以三叶海棠叶色差异明显的绿色、黄色、红色系的叶片为材料, 利用紫外-可见分光光度法、高效液相色谱法对色素进行了定性定量检测, 并分析了叶色变化的原因。结果表明: 三叶海棠叶片中的色素主要有叶绿素、类胡萝卜素和花青苷, 其中花青苷主要是矢车菊素半乳糖苷。绿色系叶片中的叶绿素含量与所占比例显著高于红色和黄色系叶片, 而花色苷和类胡萝卜素所占比例均最小; 红色系叶片中的花青苷含量高于其它色系的叶片, 花青苷所占比例高于叶绿素与类胡萝卜素所占比例; 黄色系叶片中类胡萝卜素含量相对较高, 花色苷和叶绿素所占比例位于绿色与红色系之间。该研究结果表明三叶海棠秋季叶色变化最直接的原因是色素含量与比例发生变化; 叶片含有的原花青素 B1、芦丁、绿原酸等单体酚作为辅色素对叶片成色起到辅助作用; 三种色系叶片中的总黄酮含量由高到低依次为红色、黄色、绿色。

关键词: 三叶海棠, 叶色变化, 花青苷, 叶绿素, 类胡萝卜素

中图分类号: Q946.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)12-1572-07

Pigment analysis on different colors of leaves from *Malus sieboldii*

WALIBAI Tangnuer, LI Hou-Hua*, LI Guo, LIU Tian-Qing, LI Ai, HAN Mei-Ling

(College of Landscape Articulture and Arts, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: *Malus sieboldii* is a kind of plant with great ornamental value for its abundant colors in the autumn. Green, yellow and red leaves of *M. sieboldii* with obvious difference in leaf color were taken as experimental materials. The species and contents of pigments were detected by UV photo-spectrometer and HPLC-DAD and the relevant causes of leaf color change were analyzed afterwards. The experimental results indicated that the main pigments in the leaves of *M. sieboldii* were chlorophyll, carotenoid and anthocyanin (mainly Cyanidin-3-galactoside). In red leaves of *M. sieboldii*,

收稿日期: 2017-07-07 修回日期: 2017-08-03

基金项目: 国家自然科学基金(31570697); 中央财政林业科技推广示范项目(SLTG[2016]03); 西北农林科技大学基础科研业务费(Z109021563) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31570697); Forestry Science and Technology Popularization Demonstration Program (SLTG [2016] 03); Foundamental Scientific Research Fund of Northwest A & F University (Z109021563)]。

作者简介: 汤努尔·瓦力拜(1988-), 女(哈萨克族), 新疆伊犁人, 硕士研究生, 研究方向为园林植物色素分析, (E-mail) 805433021@qq.com。

*通信作者: 李厚华, 男, 博士, 教授, 主要从事植物基因工程和类黄酮次生代谢研究, (E-mail) lihouhua73@163.com。

the coloration was significantly related to the changes in anthocyanin content, whereas the coloration of yellow leaves was closely related to changes in chlorophyll content, as well as changes in the chlorophyll and carotenoid ratio. On the other hand, green coloration in the green leaves of *M. sieboldii* was attributed to extremely high chlorophyll content. Color changes of *M. sieboldii* leaves during fall could be attributed to multiple factors, and the most direct factor was the change of pigment content and ratio. As auxiliary pigments, mono-phenols were found to play a supporting role in the fineness of leaves. Furthermore, the total flavonoids content (from high to low) were red, yellow and green in three species of leaves of *M. sieboldii*.

Key words: *Malus sieboldii*, leaf color change, anthocyanin, chlorophyll, carotenoid

高等植物叶片的颜色因为三类主要色素分布与含量不同而不同,三类主要色素分别是叶绿素、类胡萝卜素和类黄酮类色素,又称花青苷(姜卫兵等,2005)。类黄酮色素(包括花青苷在内)是植物体内的一类次生代谢物质,在液泡内以糖苷的形式存在,具有吸光性而表现出红、粉、紫及蓝等颜色(于晓南和张启祥,2002)。通常植物叶片呈现为绿色的原因是叶绿素含量较高,而其他的色素含量相对较低。随着秋季日照、温度等环境因素的变化,植物叶片开始自然衰老,从而启动叶绿素降解机制,而类胡萝卜素含量相对较稳定,所以秋季叶色大多呈现出黄色。秋季昼夜温差的增大,日照时间的缩短以及温度的下降等环境因素,促进了部分树木花青素的合成和积累,导致其叶片变成红色(Deal, 1990; 李崇晖等, 2008; Sakata et al, 1995)。

三叶海棠 (*Malus sieboldii*) 是蔷薇科 (Rosaceae) 苹果属 (*Malus*) 的一种植物, 分布于山东、陕西、甘肃、浙江、四川、广西等地(李厚华等, 2014)。三叶海棠秋季叶色有绿、黄、红等多种色彩, 季相变化丰富, 极具观赏价值。目前, 关于三叶海棠主要有茶和药用价值方面的研究(许光明等, 2008; 肖美凤等, 2013); 但关于其叶色变化的研究尚未见有报道。本研究以秋季三叶海棠红、黄和绿三种色系叶片为材料, 利用紫外—可见分光光度计、高效液相色谱仪—二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 对叶片内叶绿素、类胡萝卜素、单体酚的含量进行定性定量分析, 研究不同颜色叶片色素含量变化, 为彩色叶海棠新品种培育, 丰富园林景观中的色彩美提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 植物材料

所用材料采集地点为西北农林科技大学海棠种质资源圃, 位于陕西省关中平原, 属于暖温带半湿润气候区, 年平均气温为 12.9 °C, 年日照时数为 2 163.8 h, 海拔为 441 m。2015 年 11 月上旬, 选 5 年生三叶海棠植株, 分别采摘上、中、下不同位置的绿、黄、红三种色系叶片 30 片。将叶片清洗干净后, 用吸水纸吸干叶表面水渍, 冻存于 -20 °C 的冰箱中备用。

1.2 方法

1.2.1 干燥处理与色素提取 将冰箱 -20 °C 中冻存的三叶海棠叶片, 用真空冷冻干燥机处理 2 d 后, 研磨成粉末备用。甲醇提取液(类黄酮分析用): 分别称量不同色系三叶海棠叶片备用粉末 0.3 g, 用 10 mL 甲醇超声提取 3 次, 合并提取液并旋转蒸发后浓缩定容至 10 mL, 实验重复 3 次。甲醇甲酸提取液(酚类物质分析用): 分别称量 0.03 g 不同色系三叶海棠叶片粉末, 加入 1.2 mL 提取液(甲醇: 去离子水: 甲酸 = 35: 14: 1), 20 °C 恒温混匀仪摇动提取 1 h, 12 000 r · min⁻¹ 离心 5 min, 吸取上清液, 提取液有机滤头过滤备用(Zhang et al, 2010)。乙醇提取液(叶绿体色素分析用): 分别称量不同色系三叶海棠叶片备用粉末 0.05 g, 用 96% 乙醇提取, 定容至 5 mL, 在 4 °C 条件下提取 30 h, 得到黄绿色提取液。实验重复 3 次。

1.2.2 叶绿素、类胡萝卜素含量测定 用紫外可见—分光光度计(岛津-2450)测叶绿体色素提取液在 665、649 和 470 nm 三个吸收波长处的吸光度值,

并据此数值计算叶绿素和类胡萝卜素含量(高俊风,2000)。计算公式如下:

$$C_a = 13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649};$$

$$C_b = 24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665};$$

$$C_{a+b} = C_a + C_b = 6.63A_{665} + 18.08A_{649};$$

$$C_{x \cdot c} = (1\,000 \times A_{470} - 2.05 \times C_a - 114.8 \times C_b) / 245;$$

$$\text{叶绿体色素含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (C \times V) / M.$$

式中: A_{665} 、 A_{649} 、 A_{470} 分别为三叶海棠叶片乙醇提取液在 665、649 和 470 nm 处的吸光度值; C_a 、 C_b 、 C_{a+b} 、 $C_{x \cdot c}$ 分别为叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素、类胡萝卜素的质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); C 、 V 、 M 分别为叶绿体色素浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、叶绿体色素提取液定容体积(L)、三叶海棠叶片干质量(g)。

1.2.3 总黄酮含量测定 将芦丁在烘箱中 105 °C 烘至恒重后用甲醇配制成浓度为 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准液。分别取标准液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 置于 10 mL 离心管中, 加入 0.2 mL 5% 的 NaNO_2 混匀后静置 6 min; 加入 0.2 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, 混匀后静置 6 min; 加入 1.0 mL 4% NaOH , 混匀后室温静置 15 min; 加入 60% 乙醇溶液定容至 10 mL, 充分摇混匀后测定 510 nm 波长处吸光度值, 根据刘飞和谢镇远(2005)的方法绘制其标准曲线, 吸取三叶海棠三种色系叶片甲醇提取液 0.1 mL, 代替芦丁标准液进行测定, 实验 3 次重复。按照李娟等(2007)的公式计算: 三叶海棠叶片总黄酮含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = $10 \times C \times V / (M \times 0.1)$ 。

1.2.4 单体酚含量的测定 三叶海棠叶片酚类物质分析参考 Li et al(2014)的方法(L-2000 高效液相色谱仪)。液相色谱检测参数: Inertsil ODS-3 色谱柱(5 μm , 250 mm \times 4.6 mm), 柱温为 30 °C。流动相参数: A 为 10% 甲酸水溶液, B 为色谱级乙腈包含 10% 的甲酸水和 1.36% 的水; 洗脱流速为 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。采用梯度洗脱: 洗脱程序为 95% A (0 min), 85% A (25 min), 78% A (42 min), 64% A (60 min), 95% A (75 min)。检测波长设定为 280、320、365、520 nm。

1.2.5 细胞液的 pH 值测定 采后鲜叶研磨, 用 pH 计进行检测。参照周文杉和邱保胜(2004)的细胞液提取法(cell sapextract)。

2 结果与分析

2.1 叶绿素与类胡萝卜素含量

由表 1 可知, 三叶海棠三种色系叶片中, 叶绿素含量由绿色到红色系叶片依次递减, 而且各个色系间差异显著。绿色系叶片中叶绿素含量分别是黄色、红色系叶片中含量的 2.42 和 4.12 倍。而类胡萝卜素的含量变化则为由绿色系到黄色系上升, 红色系小幅度下降, 黄色与红色系叶片类胡萝卜素含量差异不显著。黄色系类胡萝卜素含量是绿色系的 1.52 倍。

2.2 总黄酮含量

依据 1.2.3 中的方法制作芦丁的标准曲线, 得到芦丁标准浓度 Y ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 与吸光度 X 之间的回归方程 $Y = 0.532\,4X - 0.007$, $R^2 = 0.999\,8$ 。根据回归方程计算三叶海棠不同色系叶片中总黄酮含量(图 2)。图 2 结果显示, 三叶海棠不同色系叶片之间总黄酮含量存在明显的差异 ($P < 0.05$), 绿色叶片总黄酮含量最低, 为 45 364.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 随着叶片颜色由绿到红的变化, 总黄酮含量逐渐上升。红色叶片中总黄酮含量最高, 为 57 254.28 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 比绿色系叶片高出 26.21%, 比黄色系叶片高出 13.63%。

2.3 单体酚含量

三叶海棠不同颜色叶片提取液的 HPLC 分析结果显示, 在三种样品中, 检测到的花青苷主要是矢车菊素半乳糖苷, 同时还检测到二氢黄酮醇类, 包括槲皮苷、金丝桃苷、芦丁、异槲皮苷、瑞诺苷等。除此之外, HPLC 还检测到丁香酸、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸等植物酚类化合物。另外, 在海棠叶片中, 检测到了属于苹果属植物特征酚类的根皮苷(表 2)。从表 2 结果发现, 三种样品中含量变化最明显的是矢车菊素半乳糖苷, 绿色叶片与红色叶片相差倍数高达 77.53, 说明该花青苷是引起三叶海棠叶片变红的关键色素。在三叶海棠叶片检测到的单体酚中含量最高的是芦丁, 在红色系叶片中芦丁的含量为 15 292.04 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。儿茶素、表儿茶素、绿原酸、芦丁含量随着叶片颜色变化呈上升趋势, 含量分别为绿色叶片的 1.34、1.32、1.62、



图 1 三叶海棠不同颜色的叶片

Fig. 1 Different colors of leaves from *Malus sieboldii*

表 1 三叶海棠叶片中叶绿素和类胡萝卜素含量

Table 1 Contents of chlorophyll and carotenoid in leaves of *Malus sieboldii*

叶绿体色素含量 Chloroplast pigment content ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	颜色 Colors		
	绿色系叶片 Green leaves	黄色系叶片 Yellow leaves	红色系叶片 Red leaves
叶绿素 a Chlorophyll a	$2\ 668.08 \pm 20.95\text{a}$	$1\ 010.70 \pm 90.96\text{b}$	$639.87 \pm 11.96\text{c}$
叶绿素 b Chlorophyll b	$982.62 \pm 27.74\text{a}$	$500.06 \pm 68.23\text{b}$	$245.67 \pm 41.83\text{c}$
总叶绿素 Total chlorophyll	$3\ 650.70 \pm 14.67\text{a}$	$1\ 510.91 \pm 24.24\text{b}$	$885.54 \pm 46.39\text{c}$
类胡萝卜素 Carotenoid content	$381.60 \pm 16.48\text{b}$	$591.24 \pm 49.66\text{a}$	$526.74 \pm 24.08\text{a}$
叶绿素类胡萝卜素比值 Ratio of chlorophyll to carotenoid	9.57	2.56	1.68

注: 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below.

1.40 倍。原花青素 B1、原花青素 B2 则随着三叶海棠叶片颜色变化呈下降趋势。

2.4 叶片中各色素含量百分比变化

绿色叶片中叶绿素所占比例显著高于红色和黄色系叶片(值为 89.91%),而花青苷所占比例最小;红色叶片中花青苷所占比例显著提高(达 60.49%),而叶绿素所占比例最小;黄色系叶片中

类胡萝卜素所占比为 25.13%,高于绿色与红色系叶片(图 3)。

2.5 pH 值测定

从 pH 值测定结果可以看出,三叶海棠绿、黄、红三种色系叶片细胞液的 pH 值分别为 5.34 ± 0.06 、 5.41 ± 0.02 、 5.48 ± 0.05 。三叶海棠不同颜色叶片酸碱度差异不显著。这表明 pH 不是影响

表 2 三叶海棠三种颜色叶片中各单体酚含量
Table 2 Nonophenol contents in leaves of *Malus sieboldii*

编号 No.	中文名称 Chinese name	英文名称 English name	含量 Contents (mg · kg ⁻¹)		
			绿色叶 Green-leaf	黄色叶 Yellow-leaf	红色叶 Red-leaf
1	没食子酸	Gallic acid	373.29 ± 44.78	420.48 ± 28.07	424.01 ± 11.09
2	原花青素 B1	Procyanidin B1	7 245.07 ± 204.62	6 618.64 ± 220.98	5 275.16 ± 84.87
3	儿茶素	Catechin	5 292.67 ± 69.41	5 747.76 ± 28.29	7 094.26 ± 136.11
4	原花青素 B2	Procyanidin B2	7 437.77 ± 196.29	6 230.1 ± 269.25	4 397.41 ± 140.80
5	表儿茶素	Epicatechin	3 414.82 ± 55.34	2 420.8 ± 136.12	4 514.23 ± 80.83
6	丁香酸	Syringic acid	376.64 ± 27.65	437.45 ± 123.99	657.53 ± 117.83
7	根皮苷	Phloridzin	726.08 ± 39.46	641.72 ± 15.01	1 375.26 ± 60.93
8	绿原酸	Chlorogenic acid	5 929.19 ± 180.46	6 539.06 ± 153.71	9 613.7 ± 234.76
9	咖啡酸	Caffeic acid	245.48 ± 11.58	345.15 ± 18.66	325.34 ± 12.06
10	对香豆酸	Coumaric acid	98.98 ± 3.67	215.42 ± 107.42	49.08 ± 18.11
11	阿魏酸	Ferulic acid	148.68 ± 8.83	474.22 ± 271.99	177.11 ± 29.61
12	金丝桃甙	Hyperin	1 354.31 ± 85.70	1 600.34 ± 43.09	2 362.42 ± 35.87
13	芦丁	Rutin	10 937.43 ± 102.83	13 284.48 ± 348.64	15 292.04 ± 324.26
14	异槲皮苷	Isoquercitrin	13.94 ± 2.19	12.16 ± 0.51	17.61 ± 0.78
15	瑞诺苷	Reynoutrin	486.48 ± 38.69	544.91 ± 18.70	253.97 ± 4.42
16	槲皮苷	Quercitrin	521.18 ± 37.76	456.86 ± 15.84	318.74 ± 8.87
17	矢车菊素半乳糖苷	Cyanidin-3-galactoside	27.89 ± 91.70	250.23 ± 18.71	2 162.38 ± 48.94

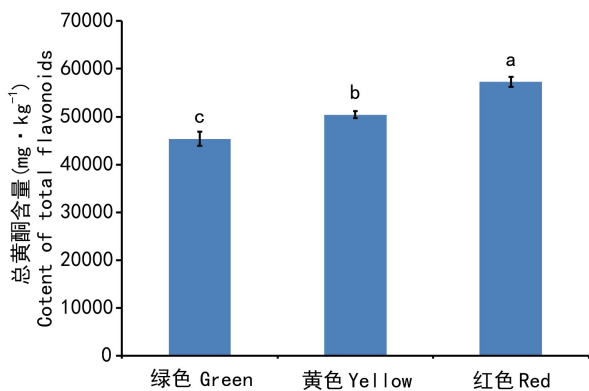


图 2 三叶海棠不同颜色叶片总黄酮含量
Fig. 2 Contents of total flavonoids in three different colors of leaves from *Malus sieboldii*

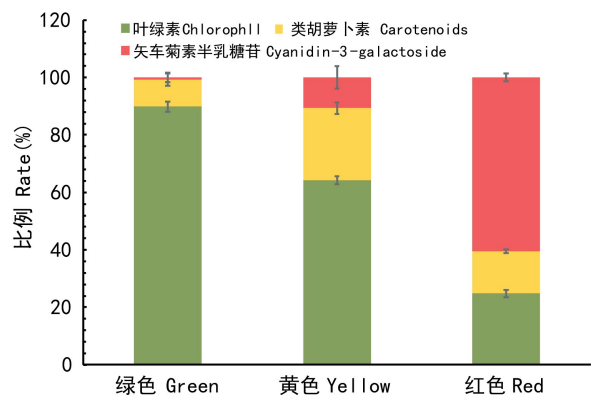


图 3 三叶海棠叶片中各色素含量百分比
Fig. 3 Percentage changes of three pigments in different leaves of *Malus sieboldii*

叶色变化的主要因素。

3 讨论与结论

植物叶片的颜色是自身遗传因素和外界环境因素共同作用的结果。不同色系黄连木(*Pistacia chinensis*)叶片中,红色系单株叶片花青苷的含量高于其他色系的单株,花青苷所占比例也最大,高于叶绿素和类胡萝卜素所占的比例。黄色系单株的叶片,叶绿素和类胡萝卜素所占比例最大,而花青苷所占比例最小。橙色系单株的叶片,花青苷所占的比例位于两者之间(胡静静等,2010);银杏(*Ginkgo biloba*)和栎树(*Koelreuteria paniculata*)在秋季叶变黄是因为叶片中类胡萝卜素质量分数显著上升,在各色素比例中占绝对优势(楚爱香等,2012);黄栌(*Cotinus coggygria*)叶片由绿变红主要是因为叶绿素含量下降,花色素苷含量上升导致,与类胡萝卜素含量无显著相关性(葛雨萱等,2011)。叶色变化不仅与色素种类、比例和分布有关。植物细胞体内的pH值也是影响叶色的重要因素之一,植物液泡内pH值的变化对类黄酮中花色苷的稳定性影响很大,它会随着pH值的升高而降低(Tanaka et al,1998)。三叶海棠不同色系叶片,pH值差异不显著,说明其叶色变化与pH值无关,是色素含量与比例变化引起的结果。三叶海棠不同色系叶片中各类色素含量与所占比例存在明显差异。绿色系叶片中,叶绿素含量与所占比例显著高于红色和黄色系叶片,叶片呈现绿色;黄色系叶片中类胡萝卜素含量与所占比例高于其它色系叶片,类胡萝卜素比例的提高主要是由于叶绿素的大量降解所致;红色系叶片中花青苷含量较高,所占比例也最大,花青苷的比例提高是叶绿素含量减少和花青苷含量增加的共同结果,但花青苷变化量更大。除了以上色素外,在三叶海棠叶片内检测到的芦丁、槲皮苷等类黄酮作为辅色素可能对三叶海棠叶片的成色起到辅助作用(Sakata et al,1995)。

三叶海棠叶片变黄是因为类胡萝卜素含量占优势,这表明三叶海棠中具有完整的类胡萝卜素生物合成体系,可以通过基因工程或诱变育种提

高类胡萝卜素在叶片中的生物合成(Shewmaker et al,1999),培育黄色叶海棠新品种。叶片变红是因为花青苷含量占优势。三叶海棠作为育种的亲本,通过杂交育种培育秋季彩叶海棠,以丰富秋季园林景观效果。

此外,三叶海棠三种色系叶片总黄酮含量由高到低依次为红色、黄色、绿色。这与叶片显红色的程度也有正相关关系。其叶片含有的植物酚类物质绿原酸、咖啡酸、根皮苷等均具多种保健功能,并已经广泛应用在医药、化妆品及食品等领域(谭颺和周志钦,2013)。红色系叶片中这些酚类物质均不同程度的高于其他色系叶片,我们可以用叶片或果实、花的颜色来推断其黄酮类营养成分的含量高低(王冰洁,2015)。

参考文献:

- CHU AX, ZHANG YZ, TIAN YF, 2102. Physiological changes of leaves of several fall color trees during color changing period in Autumn and Winter [J]. J NE For Univ, 40(11):40-43. [楚爱香,张要战,田永芳,2012.几种秋色叶树种秋冬转色期叶色变化的生理特性[J].东北林业大学学报,40(11):40-43.]
- DEAL DL, 1990. Leaf color retention, dark respiration, and growth of red—leafed Japanese maples under high night temperature [J]. Hortie Sci,115(1):135-140.
- GAO JF, 2000. Experiment technology of plant physiology [M]. Xi'an: World Book Publishing Co., Ltd.: 99-103. [高俊风,2000.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版公司:99-103.]
- GE YX, WANG LS, ZHOU XH, et al, 2011. Correlation between the leaf color and pigments composition of *Cotinus coggygria* in fragrant hills park and their temporal and spatial variation [J]. Sci Silv Sin, 47(4):38-42. [葛雨萱,王亮生,周肖红,等,2011.香山黄栌叶色和色素组成的相互关系及时空变化[J].林业科学,47(4):38-42.]
- HU JJ, SHEN X, LI XF, et al, 2010. Relationships of leaf color changes and soluble sugars and mineral elements in leaves of *Pistacia chinensis* in Autumn [J]. Sci Silv Sin, 46(2):80-86. [胡静静,沉向,李雪飞,等,2010.黄连木秋季叶色变化与可溶性糖和矿质元素的关系[J].林业科学,46(2):80-86.]
- JIANG WB, ZHUANG M, HAN HZ, et al, 2005. Progress on color emerging mechanism and photosynthetic characteristics of colored-leaf plants [J]. Acta Hortie Sin, 32(2):352-358. [姜卫兵,庄猛,韩浩章,等,2005.彩叶植物呈色机理及光合特性研究进展[J].园艺学报,32(2):352-358.]

- LI CH, WANG LS, SHU QY, et al, 2008. Pigments composition of petals and floral color change during the blooming period in *Rhododendron mucronulatum* [J]. *Acta Horti Sin*, 35(7): 1023-1030. [李崇晖, 王亮生, 舒庆艳, 等, 2008. 迎红杜鹃花色色素组成及花色在开花过程中的变化 [J]. *园艺学报*, 35(7): 1023-1030.]
- LI HH, ZHAO B, LI PM, 2014. Chinese crabapple and chaenomelis [M]. Beijing: China Forestry Publishing House: 20-58. [李厚华, 赵冰, 李鹏民, 2014. 中国海棠 [M]. 北京: 中国林业出版社: 20-58.]
- LI J, ZHANG LG, ZHANG Y, 2007. A study on extraction and determination of total flavonoids in orange colour Chinese Cabbages [J]. *Acta Horti Sin*, 34(4): 923-928. [李娟, 张鲁刚, 张昱, 2007. 橙色大白菜球叶总黄酮提取与测定方法的研究 [J]. *园艺学报*, 34(4): 923-928.]
- LI PM, ZHANG YZ, TODD C, et al, 2014. Comparison of phenolic metabolism and primary metabolism between green 'Anjou' pear and its bud mutation, red 'Anjou' [J]. *Physiol Plant*, 150(3): 339-354.
- LIU F, XIE ZY, 2005. Spectrophotometric determination of total flavones of buckwheat leaf [J]. *Physiol Test Chem Analys Part B: Chem Analy*, 41(1): 93-95. [刘飞, 谢镇远, 2005. 吸光光度法测定荞麦花叶中总黄酮 [J]. *理化检验: 化学分册*, 41(1): 93-95.]
- SAKATA Y, AOKI N, TSUNEMATSU S, et al, 1995. Petal coloration and pigmentation of tree peony bred and selected in Daikon Island (Shimane Prefecture) [J]. *J Jpn Soc Horti Sci*, 64(2): 351-357.
- SHEWMAKER CK, SHEEHY JA, DALEY M, et al, 1999. Seed-specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects [J]. *Plant J*, 20(4): 401-412.
- TANAKA Y, TSUDA S, KUSUMI T, 1998. Metabolic engineering to modify flower color [J]. *Plant & Cell Physiol*, 39(11): 1119-1126.
- TAN S, ZHOU ZQ, 2013. Current research status on phloridzin [J]. *Food Ferm Ind*, 39(8): 182-186. [谭颀, 周志钦, 2013. 根皮苷研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 39(8): 182-186.]
- WANG BJ, 2015. Cloning and expression analysis of flavonoid-related transcription factors in crabapple [D]. Yangling: NW A & F Univ. [王冰洁, 2015. 海棠类黄酮合成调控转录因子克隆与表达分析 [D]. 杨陵: 西北农林科技大学.]
- XIAO MF, WU P, CHEN H, et al, 2013. Determination of the water-soluble total sugars in *Malus sieboldii* [J]. *J Trad Chin Med Univ Hunan*, 33(5): 62-64. [肖美凤, 吴萍, 陈慧, 等, 2013. 三叶海棠叶中水溶性总糖含量的测定 [J]. *湖南中医药大学学报*, 33(5): 62-64.]
- XU GM, PENG XJ, XIAO MF, et al, 2008. Identifier and determination of Chrysin in San-Ye-Chongcha [J]. *Chin J Exp Trad Med Form*, 14(7): 12-14. [许光明, 彭新君, 肖美凤, 等, 2008. 三叶虫茶中白杨素苷的鉴定及定量分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 14(7): 12-14.]
- YU XN, ZHANG QX, 2002. Anthocyanin in ornamental plant and color express [J]. *Sci Silv Sin*, 38(3): 147-153. [于晓南, 张启祥, 2002. 观赏植物的花色色素苷与花色 [J]. *林业科学*, 38(3): 147-153.]
- ZHANG Y, LI P, CHENG L, 2010. Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in 'Honeycrisp' apple flesh [J]. *Food Chem*, 123(4): 1013-1018.
- ZHOU WS, QIU BS, 2004. Measurement of intracellular pH in plants [J]. *Plant Physiol Comm*, 40(6): 724-728. [周文杉, 邱保胜, 2004. 植物细胞内 pH 值的测定 [J]. *植物生理学通讯*, 40(6): 724-728.]