

蔷薇属植物花青素苷的测定及其对花瓣呈色的影响

刘冉¹, 寇亚平², 陈庆阳², 牛鹏飞², 王晓飞², 葛红², 贾瑞冬², 赵鑫², 杨树华²

(¹青岛农业大学园林与林学院, 山东青岛 266109; ²中国农业科学院蔬菜花卉研究所/农业农村部花卉生物学与种质创制重点实验室(北方), 北京 100081)

摘要: 通过目测法及比色卡进行表型观测并选取8种不同花色的蔷薇属植物作为研究对象, 利用分光色差仪测定花色表型, 采用高效液相色谱质谱联用技术对花青素苷进行定性定量分析, 探讨蔷薇属植物花色与花青素苷之间的关系。结果表明, 8种蔷薇属植物材料首次检测出8种花青素苷成分, 分别为矢车菊素-3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷(Cy3CafG)、矢车菊素-3-O-半乳糖苷(Cy3Gal)、芍药素-3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷(Pn3CafG)、矢车菊素-3-(顺式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷(Cy3(*cis*Caf)DmG)、矢车菊素-3-(反式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷(Cy3(*trans*Caf)DmG)、矢车菊素-3-二甲基-葡萄糖苷(Cy3DmG)、芍药素-3-(顺式-咖啡酰基)-芸香苷(Pn3(*cis*Caf)Ru)、芍药素-3-(反式-咖啡酰基)-芸香苷(Pn3(*trans*Caf)Ru)。8种花青素苷的生物修饰类型包含半乳糖糖基化、甲基化修饰和咖啡酰基化修饰3种, 这3种生物修饰类型均在蔷薇属植物中首次报道。花青素苷与CIELab参数相关性结果显示Cy3CafG、Cy3(*cis*Caf)DmG与花瓣红度(a^*)呈正相关, Cy3Gal、Cy3(*trans*Caf)DmG与花瓣黄度(b^*)和亮度(L^*)呈显著正相关, 相关性系数均大于0.5。本研究为蔷薇属植物中花青素苷的精准鉴定和花色呈色机理研究提供理论参考, 为蔷薇属植物分子育种提供方法基础。

关键词: 蔷薇属; 花青素苷; 花色

Detection of Anthocyanins in *Rosa* Plants and The Effect on Petal Color

LIU Ran¹, KOU Yaping², CHEN Qingyang², NIU Pengfei², WANG Xiaofei²,
GE Hong², JIA Ruidong², ZHAO Xin², YANG Shuhua²

(¹College of Landscape Architecture and Forestry, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong;

²Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Flower Crops (North China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081)

Abstract: In this study, eight *Rosa* plants showing different flower colors were subjected for phenotypic observation using the CIELab color measurement system. The anthocyanins were qualified using the high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS/MS) techniques, and examined for the relationship with the flower colors. The results showed that eight anthocyanins components were first detected, including Cyanidin-3-(caffeoyl)-glucoside (Cy3CafG), Cyanidin-3-O-galactopyranoside (Cy3Gal), Peonidin-3-(caffeoyl)-glucoside (Pn3CafG), Cyanidin-3-(*cis*-caffeoyl)-dimethyl-glucoside (Cy3(*cis*Caf)DmG), Cyanidin-3-(*trans*-caffeoyl)-dimethyl-glucoside (Cy3(*trans*Caf)DmG), Cyanidin-3-dimethyl-glucoside (Cy3DmG), Peonidin-3-(*cis*-caffeoyl)-rutinoside (Pn3(*cis*Caf)Ru), Peonidin-3-(*trans*-caffeoyl)-rutinoside (Pn3(*trans*Caf)Ru). The anthocyanin glycosides include galactosylation, methylation modification, and

收稿日期: 2023-12-20 网络出版日期: 2024-03-27

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231220002>

第一作者研究方向为观赏植物花色花香代谢研究, E-mail: lr19990210@163.com

通信作者: 杨树华, 研究方向为花卉种质资源与遗传育种, E-mail: yangshuhua@caas.cn

寇亚平, 研究方向为花卉色香代谢的遗传调控, E-mail: kouyaping@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划课题(2022YFD1200504); 山东省重点研发计划项目(2022LGZCQY009)

Foundation projects: National Key R & D Program of China (2022YFD1200504); Key R&D Program of Shandong Province, China (2022LGZCQY009)

caffeoylation modification, all of which have been reported for the first time in *Rosa* plants. The correlation analysis between anthocyanins and CIELab parameters showed that Cy3CafG and Cy3 (*cis*Caf) DmG were positively correlated with petal redness (a^*). Cy3Gal and Cy3 (*trans*Caf) DmG were significantly positively correlated with petal yellowness (b^*) and luminance (L^*). This study provides a theoretical reference for the precise identification of anthocyanins in *Rosa* plants and the study of the mechanism of flower color formation, and provides a methodological basis for molecular breeding of *Rosa* plants.

Key words: *Rosa* genus; anthocyanins; petal color

月季(*Rosa hybridshdy*)、蔷薇(*Rosa spp.*)和玫瑰(*Rosa rugosa*)均属于蔷薇属(*Rosa L.*)植物,其许多资源的花瓣中富含多糖、多酚和类黄酮等成分,具有抗氧化、抑菌、镇静催眠、调节血脂等效果,可以用于医药、化工、食品等行业^[1]。蔷薇属中月季为多年生灌木,是世界著名的观赏植物之一,有2000多年的栽培历史,具有花期长、花色艳丽、香气浓郁、适应性强、商用价值高等特点^[2-5],在园林中广泛应用^[6]。

花色是月季重要的观赏特征之一,花瓣颜色是月季花色呈现的重要形式。花青素作为主要的类黄酮类色素,与黄酮醇、类胡萝卜素一起组成蔷薇属植物花色多样性的色素基础^[3,7]。花青素是一类广泛存在于植物中的水溶性天然色素,大多以花青素苷的形式存在,是自然界中植物的主要呈色物质^[8]。由于花青素的不稳定性,在自然状态下多与各种单糖结合,在糖基化的作用下形成糖苷元,称为花青素苷元。花青素苷元的糖基主要有葡萄糖、鼠李糖、木糖、半乳糖和阿拉伯糖。这些糖苷在糖基化、甲基化、酰基化等的进一步修饰下形成多种多样的花青素苷,使花瓣呈现不同的颜色^[9-11]。如矢车菊素通过单个氧甲基化衍生出芍药素和天竺葵素,芍药素能使植物花色呈现红色或紫红色,天竺葵素则使植物呈现砖红色,飞燕草素、矮牵牛素与锦葵素使植物花色表现为蓝色至蓝紫色^[9]。研究显示,花青素苷种类及含量是影响月季花瓣呈色的主要因素,在蔷薇属植物花瓣呈色中起着至关重要的作用,可使花瓣呈现粉色、橙色、红色、猩红、紫色等多种色彩^[12-13]。

目前,已有700多种花青素苷被分离和鉴定^[14],这些花青素苷主要基于6种常见的花色素衍生而来,包括飞燕草色素、天竺葵色素、芍药色素、矢车菊色素、矮牵牛色素和锦葵色素^[15]。利用液相色谱质谱联用及核磁共振等技术,蔷薇属植物仅鉴定出13种花青素苷,其中,天竺葵素3,5-*O*-葡萄糖苷

(Pg3G5G)、矢车菊素3,5-*O*-葡萄糖苷(Cy3G5G)、芍药素3-*O*-葡萄糖苷(Pn3G)是蔷薇属植物主要的花青素苷,而花青素苷的糖基化和酰基化修饰,是蔷薇属植物主要的生物修饰类型,甲基化修饰类型尚未见报道^[16-19]。蔷薇属植物花色代谢通路研究相对清楚,但相较于各种合成酶的鉴定,有关花青素苷修饰途径的研究较少,花色呈色的分子机制仍需进一步研究。色素物质的精准鉴定是研究花色呈色分子机制和通过基因工程手段进行花色遗传改良的基础。因此,不同花青素苷类型的鉴定是蔷薇属植物花色呈色的研究重点。

本研究基于液相色谱质谱联用技术,对8种颜色跨度较广且差异较大的蔷薇属植物花瓣中的花青素苷进行分离和鉴定。同时基于CIELab参数,利用相关性分析探讨花色素苷的含量对花瓣呈色的影响,为花青素苷的种类鉴定提供可靠依据,为蔷薇属植物花色呈色机理研究提供参考,为蔷薇属植物资源的分子育种和创新利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 按照花瓣颜色由浅到深的选取原则,利用RHSCC比色卡选取种植于中国农业科学院南口实验基地的8种蔷薇属植物花瓣作为研究对象(图1、表1),包含黄色系、橙黄色系、橙色系、紫红色系、红色系。2022年5月在晴朗无风的上午9:00至10:30期间采样,选取无损伤的蔷薇属植物花瓣,其中,花瓣具有色差的光谱、佛见笑、铜管乐队仅选取花瓣黄色部位,无色差的品种统一去除最外轮及最内轮花瓣,装于50 mL离心管内,液氮速冻后转移至-80 °C冰箱保存备用。

1.1.2 试剂耗材 本研究所用的试剂甲酸、甲醇、乙腈(色谱纯)均购于赛默飞公司,纯净水购于屈臣氏,标准品芍药素-3-葡萄糖苷(Pn3Gal)购于西格玛公司;尼龙膜、棕色试剂瓶均于购沃特世公司。



图1 8种蔷薇属植物
Fig. 1 Eight *Rosa* species

表1 用于检测花青素苷的8种蔷薇属植物

Table 1 Eight *Rosa* species used for detecting anthocyanins

序号 Number	中文名称 Chinese name	拉丁名或品种名 Latin or variety name	类型 Type	色系 Color system	颜色初步描述 Preliminary color description	RHSCC 比色卡 RHS colour chart
1	光谱	Spectra	现代月季	黄色系	中间明黄色外缘粉红色	Yellow Group 2 D
2	佛见笑	Fortune's Double Yellow	古老月季	黄色系	黄色至橙红色, 铜色底纹	Yellow Group 13 D
3	欢笑格鲁吉亚	Teasing Georgia	现代月季	橙黄色系	黄色、杏色阴影、浅黄色边缘	Yellow-Orange Group 18 D
4	铜管乐队	Brass Band	现代月季	橙色系	杏色或混合色	Orange Group 29 A
5	幸运的帕门蒂尔	Felicite Parmentier	古老月季	紫红色系	中间粉色边缘白色	Red-Purple Group 62 D
6	大马士革玫瑰	<i>Rosa × damascene</i>	古老月季	红色系	粉色	Red Group 55 B
7	一马当先	Surpasse Tout	古老月季	紫红色系	玫红色	Red-Purple Group 57 C
8	天香	Tianxiang	现代月季	紫红色系	红色	Red-Purple Group 58 A

1.2 表型测定

花瓣无色差的品种统一去除最外轮及最内轮花瓣进行观察和测量,具有色差的光谱、佛见笑、铜管乐队品种仅选取花瓣黄色部位进行观察和测量。

1.2.1 目测法 对以上8种蔷薇属植物进行观察,选取生长正常且长势良好的不同植株的至少3朵花的花瓣于黑纸上进行观测,至少3人观察描述花色信息,初步获得8种蔷薇属植物花瓣颜色信息,并记录整理,以多数人描述花色为最终记录花色信息。

1.2.2 RHSCC 比色卡测定 每种蔷薇属植物选取生长正常且长势良好的不同植株至少3朵花的花瓣进行RHSCC比色卡测定,在室内自然光下选取花

瓣中部纯色部位与RHSCC比色卡进行比较并确定所属色系及范围。

1.2.3 色差仪测色 选用分光色差仪(三恩驰NS800,深圳),参考王峰^[20]的方法进行CIELab测色,记录亮度(L^*)、红度(a^*)、黄度(b^*),每种蔷薇属植物取3个生物学重复,每个重复测3次,依次记录数值,计算并取平均值。其余花瓣迅速置于液氮速冻后 -80°C 保存。

1.3 花青素苷种类和含量测定

本研究中所用的液相色谱质谱联用仪器HPLC-QTOF/PDA(Waters ACQUITY UPLC I-Class-Xevo G2-XS QTOF/PDA eLambda Detector)为沃特

世公司产品。

1.3.1 花青素苷的提取 将低温冷藏保存的蔷薇属植物花瓣取出,用液氮研磨,取 0.5 g 样品于 15 mL 棕色玻璃瓶中,加入含有 0.5 μg 标准品芍药素 3-葡萄糖苷(Pn3Gal)作内标,加入 4 mL 甲酸/甲醇(体积比 9:1)混合溶液;置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷藏 12 h,取出后离心,转速 3900 r/min,离心 20 min,收集上清液转移至新的棕色玻璃瓶,氮气吹干;吹干后用 200 μL 甲酸/甲醇(体积比 9:1)混合溶液溶解,将液体取出过 220 nm 尼龙膜上机。每种蔷薇属植物 3 次生物学重复。

1.3.2 HPLC 色谱条件 色谱柱类型:ACQUITY UPLC CSH C18;色谱柱参数:2.1 mm \times 100 mm i.d., 1.7 μm ;流动相 A:由体积比为 95:5 的乙腈和甲酸组成的混合液;流动相 B:由体积比为 95:5 的水和甲酸组成的混合液;梯度洗脱程序为:所述流动相 A 初始体积比例为 2.5%,流动相 A 在 5 min 内从 2.5% 到 10%,然后在 20 min 内从 10% 升到 25%,保持 5 min,然后在 30 min 内从 25% 变为 2.5%;流速:150 $\mu\text{L}/\text{min}$;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;自动进样器温度:4 $^{\circ}\text{C}$;进样体积:1 μL 。

1.3.3 质谱检测条件 质谱为正离子模式;离子源:ESI 源;毛细管电压:2.0 kV;离子源温度:100 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度:300 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气流速:800 L/h;锥孔气流:50 L/h;质谱采集模式:Fast DDA 模式;分析模

式:分辨率模式;母离子采集范围:200~850 m/z;子离子采集范围:50~850 m/z;碰撞能量范围为 10~80 V;光谱条件:二极管阵列检测器波长范围为 190~800 nm。

1.3.4 花青素苷的定性定量分析 用液相色谱和质谱联用方法解析提取液中花青素苷定性结构,子离子最多选取 5 个用于定性结构解析。采用内标法对提取液所得不同种类花青素苷进行定量分析,以 535 nm 处紫外吸收色谱图的峰面积为纵坐标,以内标当量进行半定量,具体为以所述花青素在 535 nm 处紫外吸收色谱图的峰面积进行定量,公式如下:组分含量($\mu\text{g}/\text{g}$)=(组分峰面积/内标峰面积) \times 内标的密度($\mu\text{g}/\text{mL}$) \times 内标的体积(mL)/样品重量(g)。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Office Excel 2010、Origin2021 和 Tb tools、SPSS 进行数据分析及作图。

2 结果与分析

2.1 8 种蔷薇属植物花瓣颜色表型分析

CIELab 测色体系获得的花色信息为一组连续的花色数据,能够初步区分花色变化。本研究对 8 种蔷薇属植物的 L^* 、 a^* 、 b^* 进行测量并记录(表 2)。随着花瓣颜色的加深,亮度 L^* 值降低,即花色亮度降低。黄色系、橙色系月季的红色 a^* 低于红色系,黄色 b^* 高于红色系。

表 2 8 种蔷薇属植物花色数据

Table 2 Color data of 8 *Rosa* species

序号 Number	品种名称 Variety name	亮度 L^*	红度 a^*	黄度 b^*
1	光谱	87.44 \pm 1.03a	-5.12 \pm 1.21f	26.62 \pm 6.41b
2	佛见笑	74.06 \pm 2.41b	8.22 \pm 1.05e	43.09 \pm 4.50a
3	欢笑格鲁吉亚	64.68 \pm 0.69c	-3.15 \pm 0.21f	23.263 \pm 5.71b
4	铜管乐队	70.08 \pm 2.19bc	34.57 \pm 4.26d	37.97 \pm 6.98a
5	幸运的帕门蒂尔	66.27 \pm 0.66c	40.87 \pm 0.97c	-14.60 \pm 0.56c
6	大马士革玫瑰	65.24 \pm 2.26c	53.28 \pm 1.18b	-8.84 \pm 0.89c
7	一马当先	65.63 \pm 2.29c	53.90 \pm 1.22b	-9.04 \pm 0.89c
8	天香	49.87 \pm 6.93d	59.36 \pm 5.54a	-8.56 \pm 2.62c

小写字母表示显著性差异水平($P<0.05$)

Lowercase letters represent the level of significant difference ($P<0.05$)

将 L^* 与 a^* 、 b^* 值进行曲线拟合并分析三者之间的关系。如图 2A 所示, L^* 与 a^* 之间呈显著的负相关, $y=-0.44637x+82.57822$ ($R^2=0.86552$), 亮度 L^* 的值随着红度 a^* 的变大而降低, 即红度 a^* 越大, 亮度 L^* 越低。 L^* 与 b^* 之间呈正相关, $y=0.33332x+61.36151$

($R^2=0.65485$), 亮度 L^* 的值随着黄度 b^* 的增加而增大, 即黄度 b^* 越大, 亮度 L^* 越大(图 2B)。本研究检测的 8 种蔷薇属植物, 根据亮度 L^* 、红度 a^* 、黄度 b^* 数值之间的关系, 可以将其显著区分开来, 用于后续花青素苷种类和含量与花瓣呈色关系分析。

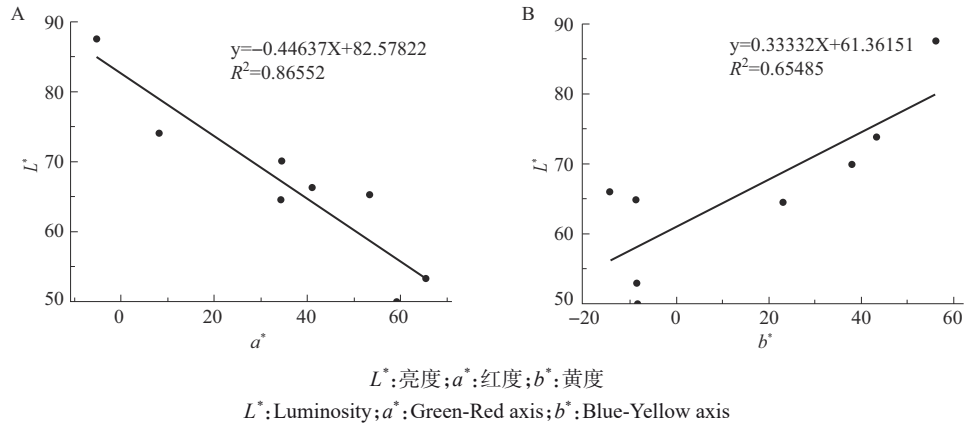


图2 8种蔷薇属植物花色表型线性关系

Fig. 2 Linear relationship between flower color phenotypes of 8 *Rosa* species

2.2 8种蔷薇属植物花瓣中花青素苷的定性分析

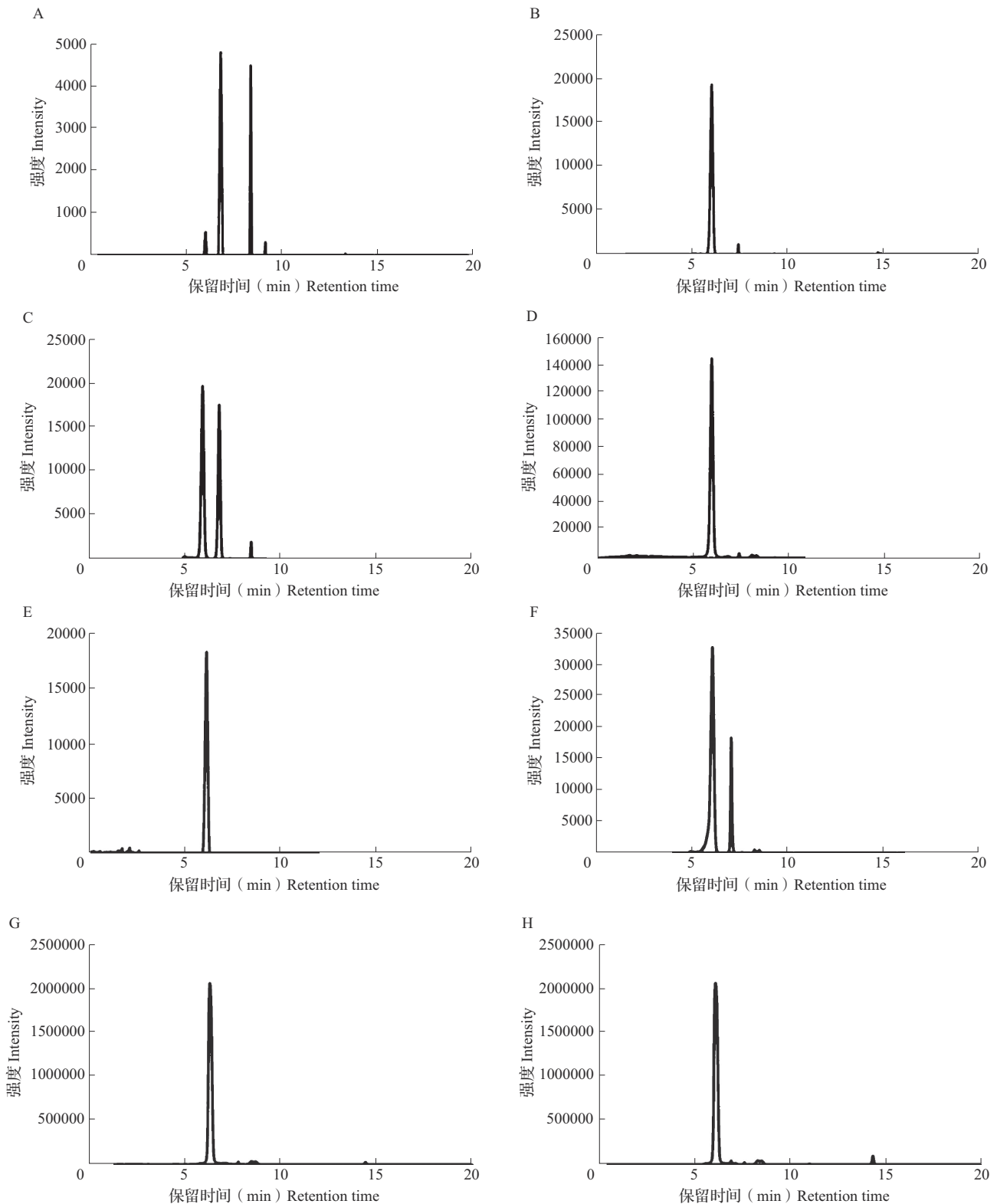
花青素苷的PDA检测波长为535 nm(图3、表3)。8种蔷薇属植物的花青素苷种类和成分相差较大(图3),共鉴定出8种花青素苷成分:矢车菊素3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷(Cy3CafG)、矢车菊素3-O-半乳糖苷(Cy3Gal)、芍药素3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷(Pn3CafG)、矢车菊素3-(顺式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷(Cy3(*cis*Caf)DmG)、矢车菊素3-(反式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷(Cy3(*trans*Caf)DmG)、矢车菊素3-二甲基-葡萄糖苷(Cy3DmG)、芍药素3-(顺式-咖啡酰基)-芸香苷(Pn3(*cis*Caf)Ru)、芍药素3-(反式-咖啡酰基)-芸香苷(Pn3(*trans*Caf)Ru)。

光谱共检测出4种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Cy3(*trans*Caf)DmG、Pn3(*cis*Caf)Ru(图3A)。佛见笑共检测出4种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Pn3CafG、Pn3(*cis*Caf)Ru(图3B)。欢笑格鲁吉亚共检测出4种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Pn3CafG、Cy3(*trans*Caf)DmG(图3C)。铜管乐队共检测出5种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Pn3CafG、Cy3(*cis*Caf)DmG、Cy3(*trans*Caf)DmG(图3D)。幸运的帕门蒂尔共检测出4种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Pn3CafG、Pn3(*cis*Caf)Ru、Pn3(*trans*Caf)Ru(图3E)。大马士革玫瑰共检测出6种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Pn3CafG、Cy3(*cis*Caf)DmG、Cy3(*trans*Caf)DmG、Cy3DmG、Pn3(*cis*Caf)Ru(图3F)。一马当先共检测出6种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Pn3CafG、Cy3(*cis*Caf)DmG、Cy3(*trans*Caf)DmG、Pn3(*trans*Caf)Ru(图3G)。天香共检测出7种花青素苷成分,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Pn3CafG、Cy3(*cis*Caf)DmG、Cy3(*trans*Caf)DmG、Pn3(*cis*Caf)Ru、Pn3(*trans*Caf)Ru(图3H)。

2.3 8种蔷薇属植物花瓣中总花青素苷定量分析

根据内标法,对8种蔷薇属植物中花青素苷进行定量分析(表4),结果表明8种蔷薇属植物花瓣中总花青素苷含量由少及多依次为黄色月季光谱、橙黄色月季佛见笑、杏黄色月季欢笑格鲁吉亚、混合杏色月季铜管乐队、淡粉色月季幸运的帕门蒂尔、粉色大马士革玫瑰、红色月季天香、玫红色月季一马当先(图5),花青素苷总含量依次为13.05 $\mu\text{g/g}$ 、32.28 $\mu\text{g/g}$ 、216.79 $\mu\text{g/g}$ 、73.22 $\mu\text{g/g}$ 、32.48 $\mu\text{g/g}$ 、452.17 $\mu\text{g/g}$ 、4958.52 $\mu\text{g/g}$ 、4406.98 $\mu\text{g/g}$ 。其中,月季光谱黄色花瓣总花青素苷含量显著低于其他色系,佛见笑、铜管乐队花瓣中花青素苷的含量显著低于红色月季天香及玫红色月季一马当先。黄色月季光谱、橙黄色月季佛见笑、混合杏色月季铜管乐队、粉色大马士革玫瑰、红色月季天香、玫红色月季一马当先共6种蔷薇属植物随着花瓣颜色红度的增加,花青素苷的总量也逐渐增加。矢车菊素3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷(Cy3CafG)的含量与花青素苷总含量的增加趋势一致(表4)。杏色的欢笑格鲁吉亚与淡粉色幸运的帕门蒂尔花瓣中花青素苷的总含量少于大马士革玫瑰、天香、一马当先等品种,花瓣呈色可能受其他色素影响较大,其呈色机理还有待进一步研究。

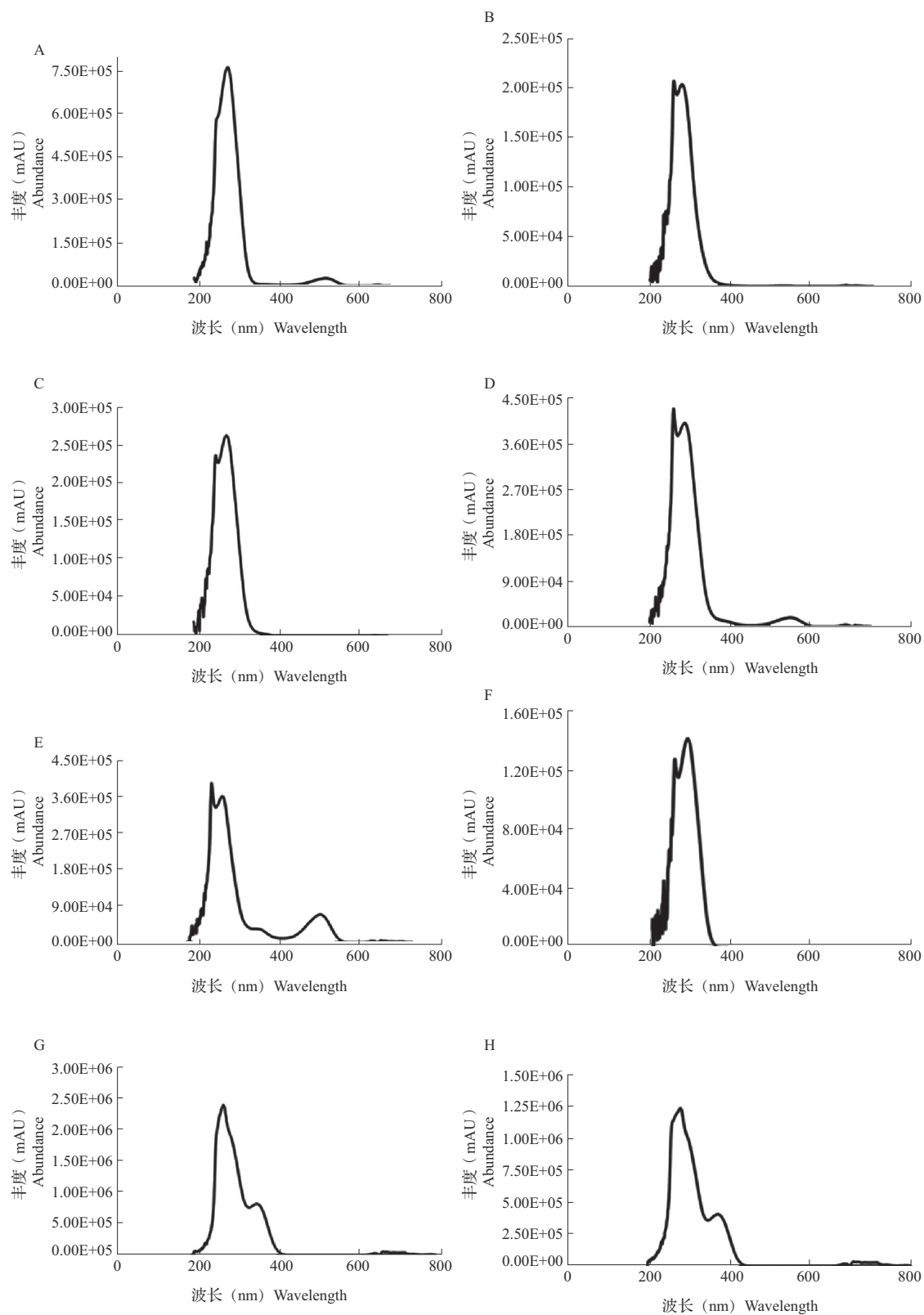
黄色月季光谱、橙黄色月季佛见笑、杏黄色月季欢笑格鲁吉亚、淡粉色月季幸运的帕门蒂尔中,均检测到4种花青素苷成分,其中Cy3Gal为黄色月季光谱主要花青素苷成分,占总花青素苷含量的53.87%;Cy3Caf为橙黄色月季佛见笑、杏黄色月季欢笑格鲁吉亚、淡粉色月季幸运的帕门蒂尔主要花青素苷成分,分别占总花青素苷含量的91.91%、55.52%、90.73%。混合色月季铜管乐队中检测到5种花青素苷成分,Cy3CafG为主要花青素苷成分,占总花青素苷含量的93.86%。在粉色大马士革玫瑰、玫红色月季一马



A: 光谱; B: 佛见笑; C: 欢笑格鲁吉亚; D: 铜管乐队; E: 幸运的帕门蒂尔; F: 大马士革玫瑰; G: 一马当先; H: 天香
 A: Spectra; B: Fortune's Double Yellow; C: Teasing Georgia D: Brass Band; E: Felicite Parmentier; F: *Rosa × damascene* Mill; G: Surpasse Tout;
 H: Tianxiang

图3 8种蔷薇属植物色谱图(535nm)

Fig. 3 Chromatogram maps of 8 *Rosa* species (535nm)



A: 矢车菊素-3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷; B: 矢车菊素-3-O-半乳糖苷; C: 芍药素-3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷; D: 矢车菊素-3-(顺式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷; E: 矢车菊素-3-(反式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷; F: 矢车菊素-3-双甲基-葡萄糖苷;
G: 芍药素-3-(顺式-咖啡酰基)-芸香苷; H: 芍药素-3-(反式-咖啡酰基)-芸香苷
A: Cy3CafG; B: Cy3Gal; C: Pn3CafG; D: Cy3(*cis*Caf)DmG; E: Cy3(*trans*Caf)DmG; F: Cy3DmG; G: Pn3(*cis*Caf)Ru; H: Pn3(*trans*Caf)Ru

图4 8种蔷薇属植物花青素苷色谱图(535 nm)

Fig. 4 Chromatograms of anthocyanins in 8 *Rosa* species (535 nm)

表3 8种蔷薇属植物花瓣中花青素苷成分分析鉴定

Table 3 Analysis and identification of anthocyanin components in the petals of 8 *Rosa* species

保留时间 (min) Retention time	推定识别 Putative identification	一级离子 信息 (m/z) [M+H] ⁺	二级离子信息 MS ² fragments
6.05	矢车菊素-3-咖啡酰基-葡萄糖苷	611	287 (Cya), 449 (Cya+3Glc), 611 (Cya+3CafGlc)
6.58	矢车菊素-3-O-半乳糖苷	449	287 (Cya), 449 (Cya+3Gal)
7.44	芍药素-3-咖啡酰基-葡萄糖苷	625	301 (Peo), 463 (Peo+3Glc), 625 (Peo+3CafGlc)
8.17	矢车菊素-3-(顺式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷	639	287 (Cya), 477 (Cya+3dimethylGlc), 639 (Cya+3cis-CafdimethylGlc)
8.36	矢车菊素-3-(反式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷	639	287 (Cya), 477 (Cya+3dimethylGlc), 639 (Cya+3trans-CafdimethylGlc)
9.71	矢车菊素-3-双甲基-葡萄糖苷	477	287 (Cya), 477 (Cya+3dimethylGlc)
13.80	芍药素-3-(顺式-咖啡酰基)-芸香苷	771	301 (Peo), 463 (Peo+3Glc), 609 (Peo+3Rut), 771 (Peo+3cis-CafRut)
15.68	芍药素-3-(反式-咖啡酰基)-芸香苷	771	301 (Peo), 463 (Peo+3Glc), 609 (Peo+3Rut), 771 (Peo+3trans-CafRut)

Cya: 矢车菊素; Peo: 芍药素; Glc: 葡萄糖苷; CafGlc: 咖啡酰基-葡萄糖苷; dimethylGlc: 二甲基葡萄糖苷; cis-CafdimethylGlc: 顺式-咖啡酰基-二甲基葡萄糖苷; trans-CafdimethylGlc: (反式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷; CafRut: 咖啡酰基-芸香苷

Cya: Cyanidin; Peo: Peonidin; Glc: glucoside; CafGlc: (caffeoyl)-glucoside; dimethylGlc: dimethyl-glucoside; cis-CafdimethylGlc: (cis-caffeoyl)-dimethyl-glucoside; trans-CafdimethylGlc: (trans-caffeoyl)-dimethyl-glucoside; CafRut: caffeoyl-rutinoside

当先中,均检测到6种花青素苷成分,其中Cy3CafG为主要花青素苷成分,分别占总花青素苷含量的95.34%、94.63%。红色月季天香检测到7种花青素苷成分,其中Cy3Caf为主要花青素苷成分,占总花青素苷含量94.59%。综上所述,除黄色月季光谱外,其他7种蔷薇属植物花瓣中Cy3CafG花青素苷相对含量均高于其他类型花青素苷。8种蔷薇属植物中,粉色大马士革玫瑰、玫红色月季一马当先和红色月季天香的花青素苷种类多于其他5个品种。

2.4 8种蔷薇属植物花瓣中花青素苷含量与种类联合分析

为了进一步分析不同花青素苷在8种蔷薇属植物花瓣中的情况,对检测出的花青素苷种类及含量进行热图分析。结果显示,天香、一马当先、大马士革玫瑰花瓣中花青素苷种类及含量高于其他蔷薇属植物,而月季光谱花青素苷含量及种类显著低于其他7个品种(图6,表4)。推测黄色月季光谱花瓣颜色呈现较浅黄色与花青素苷种类及含量显著低于其他品种有关。结果表明在蔷薇属植物中,花青素苷含量与种类对花瓣呈色产生重要的影响。

8种蔷薇属植物花瓣花青素苷组成及含量热图显示(图6),除黄色月季光谱外,Cy3CafG在各品种花青素苷含量中占比最大;黄色月季光谱中,Cy3Gal占花青素苷含量最高,因此推测Cy3Gal是对月季光谱呈色影响较大的花青素苷类型。大马士革玫瑰中

检测到Cy3DmG,是本研究8种蔷薇属植物独有的花青素苷成分,可能是大马士革玫瑰独特花色的影响因素之一。红色系天香和一马当先的花瓣中Cy3CafG、Pn3CafG、Cy3(cisCaf)DmG、Cy3(transCaf)DmG、Pn3(transCaf)Ru的含量在两个品种中相似,除Cy3Gal的含量差异较大之外,Pn3(cisCaf)Ru为天香特有成分,这些可能是造成两个品种花色差异较大的原因。

2.5 花青素苷对花色表型参数的影响

为了进一步探讨检测出的花青素苷与蔷薇属植物花色之间的关系,对8种蔷薇属植物花色及花青素苷成分进行相关性分析(图7),结果表明花青素苷Cy3CafG的含量与花瓣的红度 a^* 呈正相关,与 L^* 和 b^* 呈负相关,对花瓣红色呈现起主要作用,这一结果在橙黄色月季佛见笑、混合杏色月季铜管乐队、淡粉色幸运的帕门蒂尔、粉色大马士革玫瑰、红色月季天香、玫红色月季一马当先共6种蔷薇属植物中得到验证。花青素苷Cy3Gal的含量与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈正相关,与 a^* 呈负相关,对花瓣的黄色呈现起主要作用,这一结果在黄色月季光谱和杏黄色欢笑格鲁吉亚中得到验证。Pn3CafG与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈成正相关,与 a^* 呈负相关,但相关性系数均较小。Cy3(cisCaf)DmG与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈负相关,与 a^* 呈正相关,可能对花瓣红色产生重要的影响。Cy3(transCaf)DmG与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈正相

表 4 8 种蔷薇属植物花瓣中花青素苷成分及含量

Table 4 The composition and content of anthocyanins in the petals of 8 *Rosa* species

序号 Number	品种 名称 Variety name	花青素苷含量(μg/g) Content of anthocyanins								总计 Total
		矢车菊素-3-(咖啡 酰基)-葡萄糖苷 Cy3CafG	矢车菊素-3-O-半 乳糖苷 Cy3Gal	矢车菊素-3-(咖啡酰 基)-葡萄糖苷 Pn3CafG	矢车菊素-3-(顺 式-咖啡酰基)-二 甲基葡萄糖苷 Cy3(cisCaf)DmG	矢车菊素-3-(反 式-咖啡酰基)-二 甲基葡萄糖苷 Cy3(transCaf) DmG	矢车菊素-3-双甲 基-葡萄糖苷 Cy3DmG	芍药素-3-(顺式- 咖啡酰基)- 芸香苷 Pn3(cisCaf)Ru	芍药素-3-(反式- 咖啡酰基)-芸香苷 Pn3(transCaf)Ru	
1	光谱	1.64±0.07d	7.03±0.57c	-	3.66±0.55b	-	0.72±0.2b	-	13.05±1.37d	
2	佛见笑	29.76±1.87d	0.32±0.04d	1.44±0.11d	-	-	0.86±0.22b	-	32.38±2.14d	
3	欢笑 格鲁吉亚	40.65±3.24d	29.22±2.03b	0.65±0.13de	-	2.70±0.44b	-	-	73.22±5.78d	
4	铜管乐队	203.47±10.13d	3.10±0.57cd	2.49±0.38c	3.66±0.36b	4.07±0.33b	-	-	216.79±11.5d	
5	幸运的 帕门蒂尔	29.47±2.35d	-	0.45±0.06e	-	-	1.20±0.19b	1.36±0.13c	32.48±2.14d	
6	大马士革 玫瑰	431.10±24.14c	-	2.51±0.11c	5.89±2.64b	6.75±2.62b	3.73±1.77	2.19±0.66a	452.17±31.38c	
7	一马当先	4692.35±201.46a	57.55±5.26a	29.40±0.75a	95.34±1.09a	79.55±2.93a	-	-	4958.52±140.17a	
8	天香	4168.38±133.98b	29.17±1.40b	23.49±0.40b	93.66±4.60a	85.33±4.92a	-	1.28±0.03b	4406.98±140.17b	

-表示该成分未被检测到;小写字母表示显著性差异水平($P < 0.05$)- indicates that the component has not been detected; Lowercase letters represent the level of significant difference ($P < 0.05$)

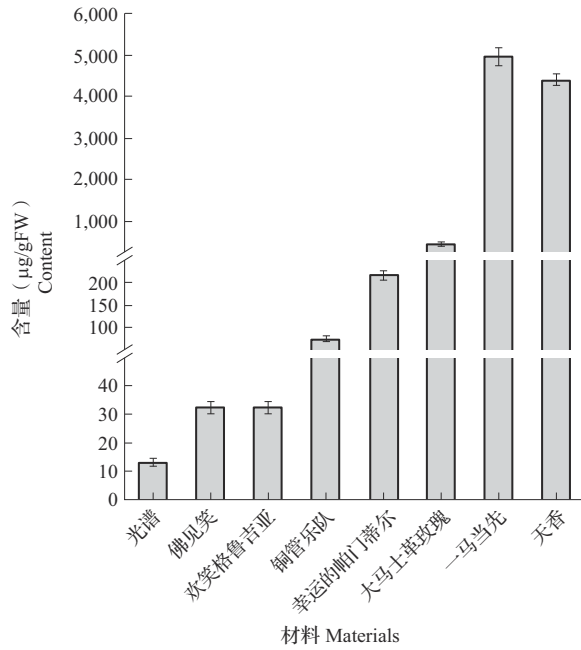


图5 8种蔷薇属植物中花青素苷总含量

Fig.5 Total content of anthocyanins in 8 Rosa species

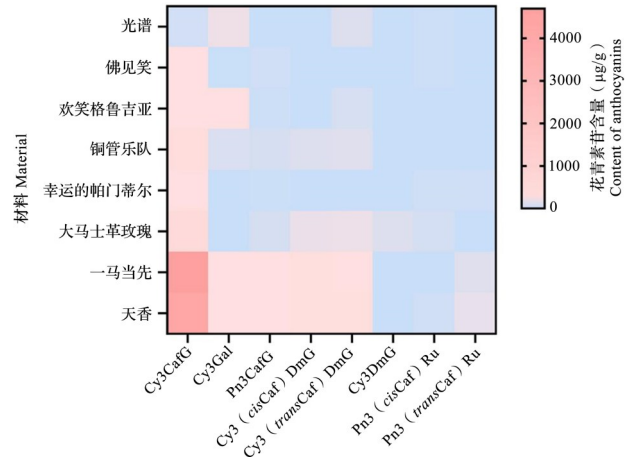
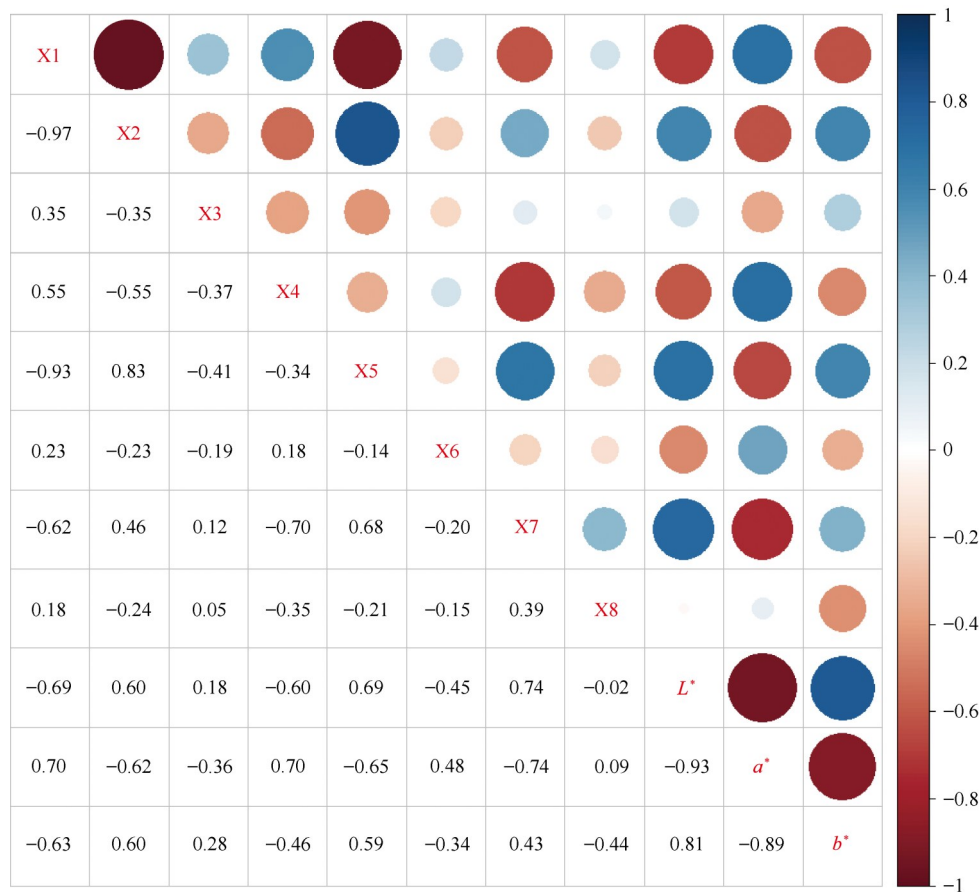


图6 不同花色蔷薇属植物花瓣花青素苷组成及含量热图

Fig.6 Composition and content of anthocyanins in petals of different phenotypes of Rosa



X1: 矢车菊素-3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷; X2: 矢车菊素-3-O-半乳糖苷; X3: 芍药素-3-(咖啡酰基)-葡萄糖苷; X4: 矢车菊素-3-(顺式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷; X5: 矢车菊素-3-(反式-咖啡酰基)-二甲基葡萄糖苷; X6: 矢车菊素-3-双甲基-葡萄糖苷; X7: 芍药素-3-(顺式-咖啡酰基)-芸香苷; X8: 芍药素-3-(反式-咖啡酰基)-芸香苷

X1: Cy3CafG; X2: Cy3Gal; X3: Pn3CafG; X4: Cy3(cisCaf)DmG; X5: Cy3(transCaf)DmG; X6: Cy3DmG; X7: Pn3(cisCaf)Ru; X8: Pn3(transCaf)Ru

图7 8种蔷薇属植物表型与花青素苷相关性

Fig.7 Correlation between phenotypes and anthocyanins of 8 Rosa species

关,与 a^* 呈负相关,可能对花瓣亮度和黄色产生重要的影响。Cy3DmG与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈负相关,与 a^* 呈正相关,但相关性系数均未超过0.5。Pn3(*cis*Caf)Ru与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈正相关,与 a^* 呈负相关,可能对花瓣亮度和黄色产生重要的影响。Pn3(*trans*Caf)Ru与亮度 L^* 和黄度 b^* 呈负相关,与 a^* 呈正相关,但相关性系数较小。本研究中新检测出的两种花青素苷成分Cy3Gal、Cy3DmG分别对月季花色中亮度和黄度、红度产生影响,且相关性系数较大,在月季花瓣呈色中可能发挥重要的作用。

3 讨论

花青素苷的糖基化、甲基化以及酰基化修饰等是花青素多样性的主要原因。花色素的糖基化修饰增强花青素的稳定性与水溶性,是自然界中花青素稳定存在的基础^[11]。花青素结合的糖苷主要有葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、木糖等单糖类,鼠李葡萄糖、龙胆二糖、槐二糖等二糖类^[10]。花青素的甲基化修饰能够稳定其结构,降低分子活性,增加水溶性,促使花青素颜色偏红。酰基化修饰能够进一步提高其水溶性与稳定性,并改变吸收波使其更蓝^[11]。

根据酰基类型可将酰基化修饰分为芳香族酰基化和脂肪族酰基化。参与芳香族酰基化的芳香酸主要有咖啡酸、阿魏酸、香豆酸、芥子酸和

-羟基苯甲酸;参与脂肪族酰基化的脂肪酸主要包括丙二酸、琥珀酸、草酸、乙酸和苹果酸^[11]。本研究共检测出8种花青素苷,分别为Cy3CafG、Cy3Gal、Pn3CafG、Cy3(*cis*Caf)DmG、Cy3(*trans*Caf)DmG、Cy3DmG、Pn3(*cis*Caf)Ru、Pn3(*trans*Caf)Ru,包含半乳糖糖基化修饰、甲基化修饰和咖啡酰基化修饰3种类型,这3种类型的修饰,在蔷薇属植物中均为首次报道。

张洁等^[21]、王峰^[20]、侯异璇等^[22]、朱满兰等^[23]、孟晗等^[24]研究表明,花青素苷的种类及含量影响花色。张红磊^[25]的研究表明,在红色牡丹(*Paeonia* × *suffruticosa*)中,花青素苷含量越高,花色越红。葛雨萱等^[26]的研究表明,花青素苷存在于蜡梅原变种(*C.praecox* var. *praecox*)及狗蝇蜡梅(*C.praecox* var. *intermedius*)的红色内被片,开放过程中,含量稳定且较高。张洁等^[21]的研究中,贴梗海棠[*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai]的红色与矢车菊素含量有关,矢车菊素花青素苷含量越高,花色越红。本研究结果表明矢车菊素花青素苷种类越多,含量越高,花色表现为红色且程度越高,与Mikanagi等^[27]

的研究相符,与月季花色的呈色规律相符。温佳辛等^[3]指出,月季花瓣中的花青素苷元主要有3种,分别是天竺葵素、矢车菊素和芍药素,主要在3,5位或3位发生葡萄糖糖基化成为稳定的花青素苷。本研究中,以矢车菊素为基本结构单元的Cy3CafG与Cy3Gal含量对8种蔷薇属植物的花色呈现起主要作用,Cy3CafG含量越高,花色越红,Cy3CafG与Cy3Gal的积累能够使蔷薇属植物花瓣表现为不同程度的红色和橙色,从而影响花瓣颜色,与安田齐^[28]、Harborne等^[29]认为花色素种类及含量影响花瓣呈色相符。

孟晗等^[24]在银莲花(*Anemone cathayensis*)中发现天竺葵素苷、矢车菊素苷以及甲基化的芍药素苷能使花瓣呈现从粉色到红色的变化,飞燕草素苷及其甲基化衍生物矮牵牛素苷和锦葵素苷的大量积累使银莲花具有明亮的蓝紫色系品种。本研究中,新鉴定出的矢车菊花青素苷甲基化衍生物Cy3DmG、Cy3(*cis*Caf)DmG与花色红度呈正相关,Cy3(*trans*Caf)DmG与花色红度呈负相关,在蔷薇属植物复杂的花瓣呈色中发挥作用,具体的呈色机理还有待进一步探讨。

在蔷薇属植物中,尤其是月季和玫瑰市场应用极为广泛,目前市面流通品种的花色多为白色、红色、粉色等较为单一色系,因此本研究的结果可为分子育种提供参考。本研究为蔷薇属植物花色表型精准鉴定提供技术体系,为月季新品种的培育提供参考,具有重要的理论意义和实践价值。此外,花青素苷的存在对人类生产和生活也具有重要作用。花青素苷作为黄酮类物质,具有较强的还原性,具有清除人体自由基,防止部分疾病发生^[30, 31],能够延缓衰老、提高视力等^[32]作用。在生产上,花青素苷可用作食品添加剂,增加食品的风味、提高营养价值,对人类的生产生活至关重要^[33]。本研究为蔷薇属植物中花青素苷的挖掘和鉴定提供技术指导,为进一步挖掘利用蔷薇属植物资源提供理论基础。

参考文献

- [1] 李春丽, 赵娅敏, 杨军丽. 玫瑰花提取工艺、化学成分及其生物活性研究进展. 分析测试技术与仪器, 2020, 26(4): 249-257
Li C L, Zhao Y M, Yang J L. Progress in extraction technology, chemical composition and biological activity of rose. Analysis and Testing Technology and Instruments, 2020, 26(4): 249-257
- [2] 李元鹏, 张英杰, 朱志奇, 张京伟, 郭文姣, 孙纪霞. 光谱分析结合纸层析法对3个色系月季花色素组份鉴定. 分子植物

- 育种, 2021, 22(7):1-9
- Li Y P, Zhang Y J, Zhu Z Q, Zhang J W, Gou W J, Sun J X. Spectrometry combined paper chromatography identify the components of three chromatic chinese rose anthocyanidins. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 22(7):1-9
- [3] 温佳辛, 王超林, 冯慧, 李珊珊, 王亮生, 武荣花, 赵世伟. 月季花色研究进展. *园艺学报*, 2021, 48(10):2044-2056
- Wen J X, Wang C L, Feng H, Li S S, Wang L S, Wu R H, Zhao S W. Research progress on flower color of rose. *Acta Horticulturae Sinica*, 2021, 48(10):2044-2056
- [4] 吴亦丁, 杨振宇, 杨碧楠, 吴若楠, 张彦婷, 奉树成, 明凤. 上海城市绿化月季品种的应用现状. *上海师范大学学报: 自然科学版*, 2022, 51(6):833-842
- Wu Y D, Yang Z Y, Yang B N, Wu R N, Zhang Y T, Feng S C, Ming F. Current application status of urban greenery rosa chinensis varieties in shanghai, China. *Journal of Shanghai Normal University: Natural Sciences*, 2022, 51(6):833-842
- [5] 祝秀丽. 月季在城市园林绿化中的应用前景. *现代园艺*, 2013(9):18, 113
- Zhu X L. The application prospect of rose in urban landscaping. *Modern Horticulture*, 2013(9):18, 113
- [6] 张杰. 南阳月季资源调查及主要性状的遗传规律研究. 郑州: 河南农业大学, 2016
- Zhang J. Investigation of resources of nanyang roses and the research of inheritance of major traits. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2016
- [7] Wan H H, Yu C, Han Y, Guo X L, Luo L, Pan H. T, Zheng T, Wang J, Cheng T R, Zhang Q X. Determination of flavonoids and carotenoids and their contributions to various colors of rose cultivars (*Rosa spp.*). *Frontiers in Plant Science*, 2019, (10)
- [8] 庞立, 夏延斌, 王仁才. 花青素调控机制和贮藏条件及其的影响. *农产品加工*, 2015(23):47-49, 53
- Pang L, Xia Y B, Wang R C. Regulation of anthocyanin biosynthesis and the influence of storage conditions. *Farm Products Processing*, 2015(23):47-49, 53
- [9] 王江昱, 田淑婷, 张涵, 杜灵娟. 单子叶观赏植物花青素苷呈色机制研究进展. *扬州大学学报: 农业与生命科学版*, 2022, 43(5):101-114
- Wang J Y, Tian S T, Zhang H, Du L J. Coloring mechanism of anthocyanin in monocot ornamental plants. *Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition*, 2022, 43(5):101-114
- [10] 汪慧华, 赵晨霞. 花青素结构性质及稳定性影响因素研究进展. *农业工程技术: 农产品加工业*, 2009(9):32-35
- Wang H H, Zhao C X. Research progress on structural properties and stability influencing factors of anthocyanins. *Agricultural Engineering Technology: Agricultural Product Processing Industry*, 2009(9):32-35
- [11] 谢焯, 孙毅, 黄继荣. 拟南芥中花青素的修饰. *植物生理学报*. 2013, 49(2):101-110
- Xie Y, Sun Y, Huang J R. Anthocyanin modification in *Arabidopsis*. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(2):101-110
- [12] Andersen O M, Jordheim M. The anthocyanins. Leiden: CRC Press, 2006:471-551
- [13] Ferretti G, Bacchetti T, Belleggia A, Neri D. Cherry antioxidants: From farm to table. *Molecules*, 2010(10):6993-7005
- [14] Santos-Buelga C, Mateus N, De Freitas V. Anthocyanins plant pigments and beyond. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2014(29):6879-6884
- [15] 鲍明月. 影响芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)花色呈现的生理生化因素分析. 泰安: 山东农业大学, 2020
- Bao M J. Analysis of physiological and biochemical factors affecting the flower color of *Paeonia lactiflora* pall. Taian: Shandong Agricultural University, 2020
- [16] Biolley J P, Jay M. Anthocyanins in modern roses: Chemical and colorimetric features in relation to the colour range. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 44(268):1725-1734
- [17] Biolley J P, Jay M, Forkmann G. Pigmentation patterns of modern rose mutants throw light on the flavonoid pathway in *Rosa × hybrida*. *Phytochemistry*, 1994, 36(5):1189-1196
- [18] Biolley J P, Jay M, Viricel M R. Flavonoid diversity and metabolism in 100 *Rosa × hybrida* cultivars. *Phytochemistry*, 1994, 35(2):413-419
- [19] 王峰, 杨树华, 常智慧, 贾瑞冬, 赵鑫, 葛红. 月季种质资源花色基础研究. *草原与草坪*, 2017, 37(2):82-88
- Wang F, Yang S H, Chang Z H, Jia R D, Zhao X, Ge H. Basic research on flower color of rose germplasm resources. *Grassland and Turf*, 2017, 37(2):82-88
- [20] 王峰. 月季种质资源花色表型及花青苷花青素苷组分分析. 北京: 北京林业大学, 2020
- Wang F. Studies on petal color phenotype and anthocyanin components of rose germplasms. Beijing: Beijing Forestry University, 2020
- [21] 张洁, 王亮生, 高锦明, 李圣波, 徐彦军, 李崇晖, 杨瑞珍. 贴梗海棠花青苷花青素苷组成及其与花色的关系. *园艺学报*, 2011, 38(3):527-534
- Zhang J, Wang L S, Gao J M, Li S B, Xu Y J, Li C H, Yang R Z. Identification of anthocyanins involving in petal coloration in *Chaenomeles speciosa* cultivars. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011, 38(3):527-534
- [22] 侯异璇, 张玲, 吕梦雯, 武耀星, 王亮生, 张秀卿, 李珊珊. 芍药属组间杂种花香成分分析. *园艺学报*. 2023, 50(4):842-852
- Hou Y X, Zhang L, Lv M W, Wu Y X, Zhang L S, Zhang X Q, Li S S. Analysis of floral aroma components in inter group hybrid of *Paeonia*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, 50(4):842-852
- [23] 朱满兰, 王亮生, 张会金, 徐彦军, 郑绪辰, 王丽金. 耐寒睡莲花瓣中花青素苷组成及其与花色的关系. *植物学报*, 2012, 47(5):437-453
- Zhu M L, Wang L S, Zhang H J, Xu Y J, Zheng X C, Wang L J. Relationship between the composition of anthocyanins and flower color variation in hardy water lily (*Nymphaea spp.*)

- Cultivars. *Bulletin of Botany*, 2012, 48(5):437-453
- [24] 孟晗, 付灯祥, 吴艳梅, 金雪花. 花毛茛和银莲花花瓣中花青素苷组成及含量与其花色的关系. *园艺学报*, 2020, 47(12): 2362-2372
- Meng H, Fu D X, Wu Y M, Jin X H. Regulation of anthocyanin biosynthesis and the influence of storage conditions. *Acta Horticulturae Sinica*, 2020, 47(12):2362-2372
- [25] 张红磊. 牡丹花期、花色及花香的变异研究. 泰安: 山东农业大学, 2011
- Zhang H L. The researches on variation of florescence, color and aromatic components in *Paeonia suffruticosa*. Taian: Shandong Agricultural University, 2011
- [26] 葛雨萱, 王亮生, 徐彦军, 刘政安, 李崇晖, 贾妮. 蜡梅的花色和花色素组成及其在开花过程中的变化. *园艺学报*, 2008(9):1331-1338
- Ge Y X, Wang L S, Xu Y J, Liu Z A, Li C H, Jia N. Flower color pigment composition and their changes during flowering in *Chimonanthus praecox* link. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008(9):1331-1338
- [27] Mikanagi Y, Saito N, Yokoi M, Tatsuzawa F. Anthocyanins in flowers of genus *Rosa*, sections *Cinnamomeae* (= *Rosa*), *Chinenses*, *Gallicanae* and some modern garden roses. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2000, 28(9):887-902
- [28] 安田齐. 花色之谜. 北京: 中国林业出版社, 1989:1-149
- An T Q. Physiology and biochemistry of flower colors. Beijing: China Forestry Press, 1989:1-49
- [29] Harborne J B. Introduction to ecological biochemistry. London: London Academic Press, 1977
- [30] 林丽, 李进, 李永洁, 冯燕. 黑果枸杞花色苷对氧化低密度脂蛋白损伤血管内皮细胞的保护作用. *中国药理学杂志*, 2013, 48(8):606-611
- Lin L, Li J, Li Y J, Feng Y. Protective effects of *Lycium ruthenicum* anthocyanins on the vascular endothelial cells with oxidative injury by oxidized low-density lipoprotein *in Vitro*. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2013, 48(8):606-611
- [31] 林丽, 李进, 吕海英, 王玉婷, 钱一萍. 黑果枸杞花色苷对小鼠动脉粥样硬化的影响. *中国中药杂志*, 2012, 37(10):1460-1466
- Lin L, Li J, Lv H Y, Ma Y T, Qian Y P. Effect of *Lycium ruthenicum* anthocyanins on atherosclerosis in mice. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2012, 37(10):1460-1466
- [32] 李环通. 蓝莓花色苷高效提取及其对人视网膜色素上皮细胞的抗氧化保护作用. 广东: 华南农业大学, 2023
- Li H T. Efficient extraction of blueberry anthocyanins and its protective effect on human retinal pigment epithelial cells. Guangdong: South China Agricultural University, 2023
- [33] 李环通, 柯倩华, 刘婧, 李彦勋. 蓝莓花色苷的特性及在食品中的应用. *食品安全导刊*, 2023(25):177-180
- Li H T, Ke Q H, Liu J, Li Y X. Characteristics of blueberry anthocyanins and their application in food. *China Food Safety Magazine*, 2023(25):177-180