

秋季不同色泽五叶地锦叶片生理生化特性的研究

史宝胜¹, 孟建朝², 刘冬云¹, 刘 栋¹, 吴雪梅¹

(1 河北农业大学 园林旅游学院, 河北 保定 071000 2 河北省农林科学院 棉花研究所, 河北 石家庄 050051)

摘要: 为明确秋季不同叶色五叶地锦叶片的生理差异, 以秋季同一植株上红色、中间色、绿色三种颜色的五叶地锦叶片为试材, 测定了叶片中色素物质含量、酶活性以及叶片可溶性内含物的含量。结果表明: 在红色叶片中, 叶绿素含量较低, PAL、POD酶活性较高, 花青素苷/叶绿素的比值较大, 从而使 R/G 的值增大, 叶色显现红色; 而在绿色叶片中, 叶绿素含量较高, PAL、POD酶活性较小, 花青素苷/叶绿素的比值较低, R/G 的值降低, 叶片显现绿色。通过可溶性内含物测定可知, 在红色叶片中的可溶性糖和蛋白质含量相对较高, 与花青素苷/叶绿素的比值达到显著相关水平, 表明这些内含物的积累有利于花色素苷的合成。

关键词: 五叶地锦; 叶片; 花青素; PAL; 可溶性糖

中图分类号: S687.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2009)增刊-0172-04

The Study on Physiological and Biochemical Characteristics in Different Color Leaves of Parthenocissus quinquefolia in Autumn

SHI Bao-sheng, MENG Jian-chao, LIU Dong-yun, LIU Dong, WU Xue-mei

(1. Agricultural University of Hebei Baoding 071000 2. Institute of Cotton, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract The paper studied the physiological character of different leaves color in autumn. Three kinds of leaves colors were selected to measure the pigment content, enzyme activity and inclusion in the leaves. The results showed that it had lower chlorophyll content, higher PAL and POD activities and larger ratio of anthocyanin to chlorophyll in red leaves. These made the ratio of R/G higher and the leaves appeared red color. The green leaves have higher chlorophyll content, lower PAL and POD activity and lower ratio of anthocyanin to chlorophyll. The ratio of R/G was low and the leaves appeared green color. Through the determination of soluble contents, the content of sugar and protein was relatively high in red leaves. The correlation coefficient between the ratio of anthocyanins to chlorophyll and soluble contents were all reach absolutely significance levels. These indicated that the accumulation of material contents was favorable in the synthesis of anthocyanin.

Key words: Parthenocissus quinquefolia Planch. Leaf Anthocyanin PAL, Soluble sugar

五叶地锦 (Parthenocissus quinquefolia Planch.) 又称美国地锦, 是葡萄科爬山虎属的落叶多年生木质藤本植物, 原产美国, 叶片呈五裂, 吸盘不发达, 固着力稍弱, 生长速率相对较快。五叶地锦是理想的垂直绿化植物, 它可覆盖墙面、山石, 入秋后叶子变红, 颇为美丽, 给庭园、假山、建筑增添色彩。近年来我国十分重视对爬山虎属植物利用, 对其繁殖方法、抗逆性和新品种选育等方面进行了相关研究^[1, 2],

明确了五叶地锦适宜的繁育方法和对干旱的耐受能力, 对于五叶地锦在秋季叶色变化方面的研究尚未见报道。

五叶地锦是园林绿化中常用的垂直绿化植物, 其最美的园林景观出现在秋季叶色变化期, 因此, 研究秋季叶色变化对提高其景观价值具有重要作用。在秋季叶片变色方面, 前人的研究主要集中在两方面: 一方面, 秋季植物生长量降低, 叶片制造的糖类

收稿日期: 2009-09-20

基金项目: 河北省科技攻关项目 (05547007D-3); 河北农业大学横向课题

作者简介: 史宝胜 (1969-) 男, 河北高阳人, 副教授, 博士, 主要从事园林植物的栽培生理及分子生物学研究。

通讯作者: 孟建朝 (1972-) 男, 河北深州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事作物栽培生理研究。

等营养物质输送到其他组织的减少, 留在叶片中的数量增加, 从而促进叶片中花青素的生成和积累, 使叶片变红; 另一方面, 秋季日照缩短, 温度降低, 叶绿素停止合成并分解成小颗粒, 而花色素苷的稳定性较好, 叶片中花青素的相对含量升高, 这也是鸡爪槭、雁来红、苹果、枫香等植物秋季叶片呈现红色的主要原因^[3-6]。五叶地锦是我国北方重要的藤蔓植物, 也是典型的秋色叶植物之一, 研究其叶色转变过程中的生理变化, 对提高五叶地锦的园林景观效果, 明确其秋季叶色变化的生理机制有重要的理论和实践意义。

1 材料和方法

1.1 供试材料

试验于 2006 年 11 月上旬进行。本试验所用材料为河北农业大学西校区苗圃内的三年生五叶地锦。叶片取自同一植株同一部位, 将叶片分为 3 级: ① 红叶, 即叶片中无绿色完全呈现红色; ② 绿叶, 即叶片全部为绿色; ③ 中间色叶, 即叶片部分呈黄绿色, 部分呈浅红色。每种选取新鲜叶片 50 片, 清水冲洗干净, 纱布擦干。叶片用自封袋装好, 置于一 80℃ 的低温冰箱中贮存备用。

1.2 叶色及生理指标的测定

叶色的测定根据以前的测定方法稍作改动^[7]。取不同颜色的代表性叶片各 7 枚, 用扫描仪扫描后,

利用 Photoshop 8.0 软件读取图片中的 R(红色)、G(绿色)、B(蓝色) 数值。

叶绿素与类胡萝卜素的含量参照刘秀丽等^[8]的方法测定; 叶片花青素的测定按 Pirie 和 Mullins^[9]的方法进行, 以每小时光密度变化 0.01 为一个酶活性单位 (U); 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 的活性参照王敬文等^[10]的方法; 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定^[11]; 过氧化物酶活性采用愈创木酚法^[12]; 可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[12]; 各项测定重复 3 次, 试验结果采用 SPSS 13.0 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同叶色的比较

测定三种颜色五叶地锦叶片的 R(红色)、G(绿色)、B(蓝色) 值可知: 红色叶片的 R 值最高, 显著高于中间色和绿色叶片的值; 红叶 R 值与 G、B 值的比值分别为 3.95 和 4.05, 表明 R 值在叶片中所占比重最大, 从而叶片显现为红色。绿色叶片的 G 值最高, 其 G 值在三种叶片中也是最大, 显著高于中间色和红色叶片, 且该叶片的 R 与 G 的比值较低, 仅为 0.75, 叶片显绿色。中间叶中仍以 R 值最大, 但 R 与 G 的比值仅为 1.40, 显著小于红色叶片的比值, 而大于绿叶, 叶片颜色处于红叶与绿叶之间。

表 1 不同叶色叶片的 R、G、B 值比较
Tab 1 The comparison of R、G、B in different leaves

| 叶片颜色 / Leaves color | R | G | B | R/G | R/B |
|---------------------|----------|---------|---------|--------|--------|
| 红叶 / Red | 130.29 A | 33.00 C | 32.17 a | 3.95 A | 4.05 A |
| 中间色叶 / Intermediate | 101.83 B | 72.92 B | 24.00 b | 1.40 B | 4.24 A |
| 绿叶 / Green | 57.33 C | 76.92 A | 21.21 c | 0.75 C | 2.70 B |

注: 不同大写字母间表示 1% 水平差异显著, 小写字母间表示 5% 水平差异显著, 采用 LSD 法。以下同。
Note: Different capital letters represent significant difference at 1% level compared with control; the small letters represent at 5% level, respectively according to LSD method. The same follows.

2.2 不同色叶中色素含量的比较

由不同叶色的叶片中叶绿素含量 (以鲜质量计) 可知 (表 2): 绿色叶片中的叶绿素 a、叶绿素 b 的含量显著高于中间叶和红叶, 分别比中间叶和红叶高 1.84、4.65 倍和 1.69、3.49 倍。叶绿素 a/b 的

值随着叶片的逐渐转红而急剧下降, 表明红色叶片的叶绿素 b 的相对含量较高。类胡萝卜素含量的变化与叶绿素 a 的变化相似, 但绿叶与中间叶的差异没有达到显著水平。

表 2 不同叶色叶片中色素含量的比较

Tab 2 The content comparison of chlorophyll and anthocyanin among different colour leaves

| 叶色 / Leaves color | 叶绿素 a / (mg/g) Chlorophyll a | 叶绿素 b / (mg/g) Chlorophyll b | 叶绿素 a/b Chlorophyll a/b | 叶绿素总量 / (mg/g) Chlorophyll a+b | 类胡萝卜素 / (mg/g) Carotenoid | 花青素 / U Anthocyanin | 花青素 / 叶绿素 Anthocyanin / Chlorophyll |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------|--|
| 红叶 / Red | 0.51 C | 0.21 C | 2.43 c | 0.72 C | 0.24 b | 12.43 A | 17.26 A |
| 中间色叶 / Intermediate | 1.29 B | 0.40 B | 2.96 b | 1.72 B | 0.41 a | 6.47 B | 3.76 B |
| 绿叶 / Green | 2.37 A | 0.73 A | 3.24 a | 3.10 A | 0.50 a | 1.07 C | 0.34 C |

花青素的含量变化与叶绿素相反, 以红色叶片中的花青素含量最高, 绿色叶片中的含量最低, 红色

叶片的花青素含量分别是中间色和绿色叶片的 1.92倍和 11.65倍。计算花青素与叶绿素含量的比值可知:红色叶片的比值最大,绿色的最小,红色叶片是绿色叶片的 50多倍。相关分析表明花青素/叶绿素与 R/G的比值呈极显著正相关(相关系数 $r=0.999^{**}$)。这表明叶绿素是使叶片显绿色的主要原因,而花青素是使叶片显红色的主要原因。正是由于这两种色素在叶片中的存在数量和相互比例关系,才使叶片显示绿、渐红、红等多种颜色。

2.3 苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活性的比较

2.3.1 叶片 PAL酶活性 苯丙氨酸解氨酶(PAL)是植物次生代谢中具有极重要的位置,它催化直接脱掉 L-苯丙氨酸上的氨基生成反式桂皮酸的酶,是一个可把苯丙氨酸用于花青素合成的关键酶和限速酶。由图 1可知,秋季美国红栎三种颜色叶片的 PAL酶活性(以鲜质量计)由红色到绿色依次递减,且红色叶片 PAL的活性分别比中间色、绿色高 1.34、1.57倍。相关分析表明 PAL酶活性变化与 R/G花青素/叶绿素的比值均呈显著正相关(相关系数均为 0.989),PAL酶可促进叶片中的花青素的生成,增加花青素含量,增大花青素/叶绿素的比值,从而使叶片显示红色。

2.3.2 叶片 POD酶活性 过氧化物酶(POD)是植物体内一种以血红素为辅基的氧化酶,它参与多种代谢活动,并能氧化酚类物质^[12]。图 1可知:红色叶片 POD活性(以鲜质量计)最高,绿色叶片最低,红色叶片的酶活性分别是中间色、绿色叶片的 1.29、2.71倍。因此,POD酶活性也影响五叶地锦叶片颜色的显现,POD酶活性越高,叶片花青素积累越多。

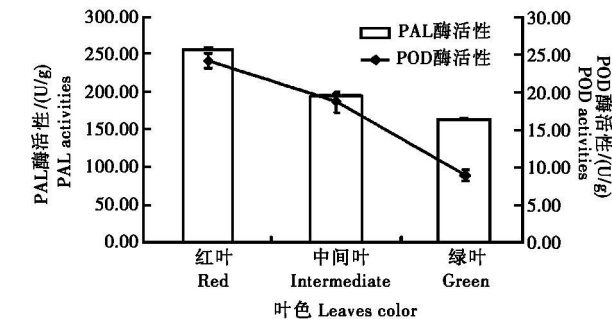


图 1 PAL和 POD酶活性变化

Fig 1 The variation of PAL and POD enzymic activities

2.4 可溶性糖和蛋白质含量的比较

可溶性糖和蛋白质是植物体内重要的营养物质,也是叶片合成花青素必不可少的成分。由图 2可知:三种颜色叶片中的可溶性糖含量(以鲜质量计)由高到低依次为:红色>中间色>绿色,且红

叶的糖含量显著高于其他两种叶色。相关分析表明可溶性糖含量与 R/G花色素苷/叶绿素的比值均呈显著正相关(相关系数均为 0.995^{*})。因此,美国红栎叶片中的可溶性糖含量在一定程度上决定着叶片红色的显现。

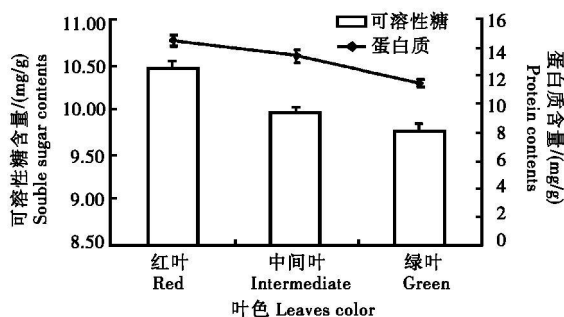


图 2 可溶性糖和可溶性蛋白质含量比较

Fig 2 The contents comparison of soluble sugar and protein

比较不同叶片的可溶性蛋白质含量(以鲜质量计)可知(图 2):红色叶片可溶性蛋白质含量最高;绿色叶片含量最低,红色叶片的含量是绿色叶片的 1.26倍。因此,叶片中可溶性蛋白质的含量与五叶地锦秋季叶片的花青素形成有密切关系。

3 讨论

植物叶片细胞内的色素包括叶绿素、花青素和类胡萝卜素,这几种色素在叶片中的含量、分布决定着叶片颜色。叶绿素是光合作用最主要的色素,它使叶片呈绿色;花青素使叶片呈红色。本试验结果表明,秋季五叶地锦的绿色叶片中叶绿素的含量较高、花色素苷与叶绿素的比值较低;而红色叶片中花色素苷的含量较高,花色素苷与叶绿素的比值较大;同时,花色素苷/叶绿素与 R/G的比值呈极显著正相关。因此,五叶地锦叶片变色的直接原因是受叶片中花色素苷与叶绿素比值的影响,比值增大叶片显示红色,比值减小叶片显现绿色。

花色素苷是广泛存在于植物体内的一种水溶性色素,其合成是在一系列酶的催化下形成的。苯丙氨酸解氨酶(PAL)是花青素合成的第一个关键酶。本研究发发现随着 PAL活性的增加,花青素苷含量也增加,而花青素的含量的增高或降低都可能改变植物体的颜色。相关分析表明 PAL的活性与五叶地锦叶片花色素苷与叶绿素的比值呈显著正相关,即 PAL酶的活性越高,叶片的颜色越红。

自然条件下游离的花青素极少见,而常与一个或多个单糖分子通过糖苷键形成花色素苷。本研究证实五叶地锦的红色叶片内花色素苷含量和可溶性糖含量均高于绿色叶片,且二者呈显著的正相关。

前人在红花檵木、杨梅等植物上也发现类似的发现^[13-14]。这表明可溶性糖含量的增加可显著促进叶片中花色素苷的积累。蛋白质是植物体内重要的组成部分,也是植物体内大多数生命活动的参与者,它在植物体细胞结构、生物催化、物质运输等方面都起着极其重要作用^[15]。本研究表明五叶地锦叶片中的可溶性蛋白质含量越高,叶色就越红润,五叶地锦的观赏价值越高。其原因可能与大部分可溶性蛋白质是植物体内具有活性的酶类有关,这些酶参与叶片中的色素、酶类和糖的合成与转化,从而促进叶片中花色素苷的积累。

总之,秋季五叶地锦叶色的变化是在多种因素的综合作用下完成的,最直接的原因是色素的成分和比例发生改变,而生理指标中 PAI 酶活性的升高和可溶性糖含量增大是促进叶片中花青素生物合成和红色显现的重要内部因子。同时,本研究也为五叶地锦的栽培管理提供了理论依据,今后可通过整形修剪、增加光照和其他技术措施提高五叶地锦叶片中 PAI 的酶活性,增加叶片中可溶性糖、蛋白质等内含物的含量,从而增加五叶地锦叶片中花色素苷含量、增大花色素苷与叶绿素的比值,促进五叶地锦叶片红色发育和提高景观效果。

参考文献:

[1] 张毅功, 孙振元, 陆诗雷. 爬山虎绿化荒山作用的初步研究[J]. 林业科技通讯, 2000(3): 26—27.
[2] Jean M. Gerrard, Usher Posluszný. Morphological and anatomical development in the vitaceae IV Floral development in Parthenocarpous inserts[J]. Can. J. B. 1989. 67. 1356—1365

[3] Kranlerand K W. Autumn and winter garden[M]. London: London Press, 1992. 96
[4] 于晓南, 张启翔. 彩叶植物多彩形成的研究进展[J]. 园艺学报, 2000. 27(增刊): 533—538
[5] Steven A Messenger, G. Hruby B A. Response of intertrinnally chlorotic red maple trees treated with med icaps or by soil acidification[J]. J Environ Hort. 1990. 8(1): 5—9
[6] 史宝胜, 马宝焜, 徐继忠, 等. 秋末 SH 中间砧红富士苹果幼树生理生化特性的研究[J]. 中国农学通报, 2001. 17(2): 21—23
[7] 李保会, 张 芹, 史宝胜, 等. 不同叶龄七叶树叶片面积、叶色及主要物质含量变化研究[J]. 河北农业大学学报, 2007. 30(5): 31—35
[8] 刘秀丽, 宋 平, 孙成命. 植物叶绿素测定方法的再讨论[J]. 江苏农业研究, 1999. 20(3): 46—67.
[9] Pirie A, Mullins M G. Changes in anthocyanin and phenolic content of grapevine leaf and abscisic acid[J]. Plant Physiol. 1976. 58. 468—472
[10] 王敬文. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究[J]. 植物生理学报, 1981. 7(4): 373—379
[11] 李合生, 孙 群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 196—197.
[12] 邹 琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 66—69
[13] 姜卫兵, 庄 猛, 韩浩章, 等. 彩叶植物呈色机理及光合特性研究进展[J]. 园艺学报, 2005. 32(2): 352—359
[14] 唐前瑞, 陈德富, 陈友云, 等. 红檵木叶色变化的生理生化研究[J]. 林业科学, 2006. 42(2): 111—115
[15] 聂庆娟, 史宝胜, 孟 朝, 等. 不同叶色红栎叶片中色素含量、酶活性及内含物差异的研究[J]. 植物研究, 2008. 28(5): 599—602