

三个观赏型杜仲无性系叶片色素含量比较*

朱景乐^{1,2}, 李芳东^{1,2}, 杜红岩^{1,2**}, 王彬³

(1. 国家林业局泡桐研究开发中心,河南 郑州 450003; 2. 国家林业局杜仲工程技术研究中心,河南 郑州 450003;
3. 河南省林业厅,河南 郑州 450003)

关键词:杜仲;光合色素;花色苷

中图分类号:S759.3

文献标识码:A

Comparison of Leaf Pigment Content Among Three Ornamental *Eucommia ulmoides* Varieties

ZHU Jing-le^{1,2}, LI Fang-dong^{1,2}, DU Hong-yan^{1,2}, Wang Bin³

(1. China Paulownia Research Centre, State Forestry Administration, Zhengzhou 450003, He'nan, China;
2. The Eucommia Engineering Research Centre, State Forestry Administration, Zhengzhou 450003, He'nan, China;
3. Department of Forestry of He'nan Province, Zhengzhou 450003, He'nan, China)

Abstract: In order to reveal the formation reasons for different colors of ornamental *Eucommia* leaf, the leaves of *Eucommia ulmoides* 'Hongye', *E. ulmoides* 'Miye' and *E. ulmoides* 'Xiaoye' were studied by using freehand section combined with photosynthetic pigments and anthocyanin content measurement. The results showed that for *E. ulmoides* 'Hongye', the front of the blade was dark red while the back was green, the pigment causing redness concentrates on the leaf palisade tissue; among the three varieties, C_a was $1.1003 \sim 1.3148 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_b was $0.4354 \sim 0.4670 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_{Car} was $0.3847 \sim 0.4455 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_T was $1.4625 \sim 1.7818 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_F was $0.1408 \sim 0.3042 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_{Car} and C_F of *E. ulmoides* 'Hongye' were significantly higher than that of *E. ulmoides* 'Miye' and *E. ulmoides* 'Xiaoye', while C_T/C_{Car} was significantly lower than *E. ulmoides* 'Miye' and *E. ulmoides* 'Xiaoye', moreover, the C_a , C_b , C_a/C_b and C_T showed no significant difference between *E. ulmoides* 'Hongye' and *E. ulmoides* 'Miye'. The conclusion in this study stated that the anthocyanin and carotenoids contents were higher, which was the main reason for forming red color of *E. ulmoides* 'Hongye'.

Key words: *Eucommia ulmoides*, photosynthetic pigment, anthocyanin

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)是我国特有的经济树种,也是分布范围最广的胶原植物^[1],红叶杜仲是中国林科院经济林研究开发中心选育的具有一定观赏性的杜仲药用优良无性系,其叶片暗红色,与其他无性系差别明显。花色苷是花色素与糖以糖苷键结合而成的一类化合物,广泛存在于植物的花、果

实、茎、叶和根器官的细胞液中,使其呈现由红、紫红到兰等不同颜色^[2,3]。根据侯元凯^[4]对彩叶树种叶片不同颜色的产生原因的描述,叶片颜色主要是由叶片中光合色素种类、含量以及花色苷含量引起。然而对于杜仲的叶片构造、光合色素含量及花色苷含量却鲜有报道。本文以红叶杜仲等3个优良杜仲

收稿日期:2013-07-16

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD21B0502)

作者简介:朱景乐,博士,男,助理研究员,主要研究方向:经济林高效栽培技术研究。Email:zhujignle1982@126.com

* :感谢河南农业大学研究生王珂在光合色素及花色苷含量测定过程中提供的帮助。

** 通讯作者:研究员,主要研究方向:经济林良种选育及高效栽培技术研究。Email:dhy515@126.com

无性系为材料,通过对叶片颜色及叶片结构特征观察和光和色素及花色苷含量的测定,探寻杜仲叶片不同颜色的直接原因,以期为后期新品种选育及配套高效栽培技术提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 研究材料

以原阳杜仲良种繁育圃的小叶杜仲、红叶杜仲和密叶杜仲3个杜仲优良无性系的2年生嫁接苗为实验材料。2011年进行生物学特性观察,2012年6月份采取成熟叶片进行叶片徒手切片及光合色素和花色苷测定。

仪器为OLYMPUS-BX51型光学显微镜、上海菁华科技仪器有限公司JINGHUA Instruments 752紫外可见分光光度计及RX100数码相机。

1.2 研究方法

1.2.1 红叶杜仲叶色观察 每个无性系各选择生长一致的单株3株,从其顶端叶片展开开始,至其叶片成熟且颜色达到最红期间,使用数码相机每3d采集其叶片颜色照片。待其叶片成熟之后,每10d采集1次。对所采集的照片按照时间排序后,观测杜仲不同无性系叶片颜色随生长时间的变化规律。相机像素为2020万像素。

1.2.2 叶片结构观察 采用双刀片的紧压并排多刀碎切法^[5],切取成熟叶片中部带叶脉的部分。在解剖镜下筛选后,用显微镜观察并用相机拍照。

1.2.3 叶片色素含量测定 采用Fadeel的方法^[6]测定叶绿素和类胡萝卜素含量。称量剪去叶脉后成熟叶片0.1g(精确到0.01g),加入90%丙酮10mL黑暗研磨后(4000 r·min⁻¹)离心10min,然后取上清液分别测定445、644和662nm处的吸光值;每个无性系重复5次,每次以相同波长下2个吸光值的平均值进行光合色素含量计算,光合色素含量计算方法如下:

叶绿素a含量(mg·g⁻¹): $C_a = (9.78 \times A_{662} - 0.99 \times A_{644}) V / (W1000)$

叶绿素b含量(mg·g⁻¹): $C_b = (21.4 \times A_{644} - 4.65 \times A_{662}) V / (W1000)$

总叶绿素含量(mg·g⁻¹): $C_T = C_a + C_b$

类胡萝卜素含量(mg·g⁻¹): $C_{Car} = (4.69 \times A_{445}) V / (W1000) - 0.268 \times (C_a + C_b)$

式中:A为在一定波长下的吸光值,C为色素浓度(mg·g⁻¹);V为提取液体积(mL);W为样品鲜质

量(g)。

1.2.4 叶片花色苷含量测定 花色苷含量测定根据Rabino的方法并加以改进^[7]。将新鲜叶片用清水洗净去污,准确称量剪去叶脉的叶片0.1g(精确到0.01g),研磨加入1% HCl 甲醇溶10 mL,于32℃恒温培养箱中5 h,不时摇荡,取出过滤。1% HCl 甲醇溶液稀释5倍后作为待测液。以1% HCl 甲醇溶液为对照,分别测定530 nm,657 nm处吸光值;每个无性系重复5次,每次以相同波长下的2个吸光值的平均值进行花色苷含量计算,花色苷含量计算公式如下:

花色苷含量(mg·g⁻¹): $C_F = (A_{530} - 0.25A_{657}) V / (W1000)$ 。

1.3 数据处理方法

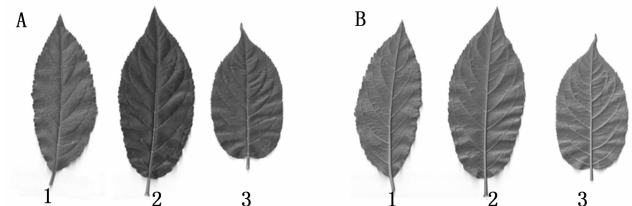
使用spss16.0软件进行单因素方差分析和多重比较(LSD法)。

2 结果与分析

2.1 杜仲3个无性系叶片颜色及徒手切片结果

红叶杜仲叶片萌发后13~17d内为淡绿色,之后颜色逐渐变红,约22~29d颜色达最深的暗红色,之后至落叶颜色始终保持暗红不变。小叶杜仲和密叶杜仲自叶片萌发至9月中旬叶片为绿色,9月下旬至落叶其叶片颜色逐渐变黄。

红叶杜仲叶片正面暗红,背面绿色,其他两个无性系叶片均为绿色(图1),叶片正面颜色略深于背面;对红叶杜仲、密叶杜仲、小叶杜仲进行徒手切片后进行显微观测(图2),结果表明,3个杜仲无性系的上下表皮、叶脉均为透明状,海绵组织为绿色,密叶杜仲和小叶杜仲的栅栏组织呈绿色,但红叶杜仲栅栏组织呈红色。该结果说明,叶片的上下表皮及叶脉中无叶绿素及花色苷存在;栅栏组织和海绵组织颜色差异是红叶杜仲叶片正面颜色暗红色,背面绿色的原因。



A为三个杜仲无性系叶片正面颜色,B为背面颜色,1,2,3分别代表小叶杜仲,红叶杜仲和密叶杜仲,下同。

图1 杜仲无性系3个叶片正面和背面颜色

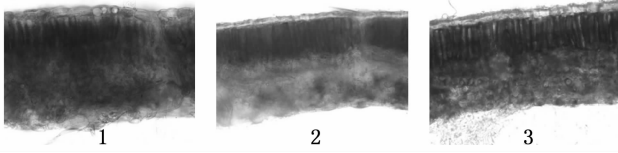


图2 杜仲3个无性系的表皮、海绵组织及栅栏组织特征(200倍)

2.2 杜仲3个无性系光合色素含量变化规律

对3个杜仲无性系光和色素进行测定,测定结

表1 杜仲3个无性系光合色素及花色苷含量

无性系	C_a	C_b	C_T	C_a/C_b	C_T/C_{Car}	C_{Car}	C_F
小叶杜仲	1.314 8 ± 0.123 8b	0.467 0 ± 0.047 4a	1.781 8 ± 0.159 7b	2.82 ± 0.23 b	4.64 ± 0.51b	0.384 7 ± 0.016 6a	0.164 9 ± 0.013 8a
密叶杜仲	1.100 3 ± 0.051 9a	0.435 4 ± 0.021 9a	1.535 7 ± 0.067 5a	2.53 ± 0.11a	4.29 ± 0.52b	0.363 4 ± 0.058 6a	0.140 8 ± 0.021 8a
红叶杜仲	1.100 9 ± 0.065 3a	0.454 5 ± 0.037 0a	1.555 4 ± 0.100 8a	2.43 ± 0.08a	3.52 ± 0.39a	0.445 5 ± 0.053 5b	0.304 2 ± 0.023 2b

表中数据为平均值 ± 标准差,同列间不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)。

2.3 杜仲3个无性系花色苷含量测定

3个杜仲无性系 C_F 为 0.140 8 ~ 0.304 2 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,方差分析结果表明,红叶杜仲 C_F 显著高于密叶杜仲和小叶杜仲,分别是其1.8倍和2.2倍。由此结果可知, C_F 较高是红叶杜仲叶片呈暗红色的主要原因。

3 结论与讨论

李亚蒙^[8]在李属(*Prunus* L.)彩叶树种叶片花色苷分布的解剖研究中指出,叶片不同组织中花色苷含量不同,且组织的颜色与花色苷含量呈正比。本研究通过对杜仲3个无性系叶片颜色的观查,发现致使花色苷集中分布于叶片的栅栏组织中,使其叶片正面为暗红色,背面为绿色。小叶杜仲和密叶杜仲叶片花色苷浓度较低,所以正面、背面均为绿色。

张琪静^[9]在紫叶李颜色的报道中指出,紫叶李叶片颜色在种内变异丰富,可细分为全叶均为红色和叶片正面绿色背面红色的品种,本研究中的红叶杜仲优良无性系是仅叶片正面红色的杜仲变异类型。由于红叶杜仲叶片颜色常年均成暗红色,按照洪丽^[10]的划分依据,因此其属于杜仲中的常色叶植物。

本文研究表明,红叶杜仲 C_{Car} 显著高于密叶杜仲和小叶杜仲,红叶杜仲的 C_T/C_{Car} 为 3.52,显著低于密叶杜仲和小叶杜仲的 4.29 和 4.64,因红叶杜仲与密叶杜仲在 C_T , C_a , C_b , C_a/C_b 等指标上均无显著差异,所以排除叶绿素含量及种类对红叶杜仲颜色形成的影响,认为 C_{Car} 及 C_T/C_{Car} 是红叶杜仲颜色的原因之一,该结论与李保印在金叶女贞因 C_T/C_{Car} 较低而使叶片呈黄色的结论一致^[9]。红叶杜仲和密叶杜仲 C_T , C_a , C_b , C_a/C_b 均低于小叶杜仲,根据张明生

果如表1所示,3个杜仲无性系 C_a 为 1.100 3 ~ 1.314 8 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_b 为 0.435 4 ~ 0.467 0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_T 为 1.535 7 ~ 1.781 8 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, C_{Car} 为 0.384 7 ~ 0.445 5 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;方差分析结果表明,小叶杜仲 C_a 和 C_T 显著高于密叶杜仲和红叶杜仲;3个杜仲无性系 C_b 无显著差异;红叶杜仲的 C_{Car} 显著高于小叶杜仲和密叶杜仲。3个无性系的 C_a/C_b 为 2.43 ~ 2.82,小叶杜仲显著高于密叶杜仲和红叶杜仲。

在红薯中的 C_a/C_b 占对照百分率与品种抗旱性呈极显著负相关研究结论^[10],可推测这两个无性系的抗旱性可能低于小叶杜仲。

本研究表明杜仲3个无性系的花色苷含量差异明显,红叶杜仲分别为小叶杜仲和密叶杜仲的1.8倍和2.2倍,花色苷含量高是红叶杜仲叶片暗红色形成的主要原因,本研究结论与郝峰鸽^[11]花青素在紫(红)色系彩叶植物叶片呈色中起主导作用的结论一致。

参考文献:

- [1] 李芳东,杜红岩.杜仲[M].北京:中国中医药出版社,2001:232-256
- [2] 侯元凯.彩叶植物研究进展[J].世界林业研究,2010,23(6):24-28
- [3] 张春宇,范海延.植物学实验[M].北京:中国农业大学出版社,2007
- [4] Fadeel A A. Location and properties and chloroplasts and pigment determination in roots[J]. Physiologia Plantarum,1962,15:130-146
- [5] Isaac Rabino, Alberto L. Mancinelli. light, temperature and anthocyanin production [J]. Plant Physiology,1986,81(3):922-924
- [6] 李亚蒙,王庆菊,沈向.四种李属彩叶树种枝叶花色苷分布的解剖研究[J].山东农业大学学报;自然科学版,2006,37(4):489-494
- [7] 张琪静,金诚,白海.观赏李资源——紫叶李[J].北方果树,2005(23):45-46
- [8] 洪丽,庞松龄.彩叶树种分类与园林绿化中的应用[J].北方园艺,2008(3):182-183
- [9] 李保印,周秀梅,王西波,等.不同彩叶植物叶片中叶绿体色素含量研究[J].河南农业大学学报,2004,38(3):285-288
- [10] 张明生,谈锋.水分胁迫下甘薯叶绿素 a/b 比值的变化及其与抗旱性的关系[J].种子,2001(4):23-25
- [11] 郑杰,丁晨旭,赵先恩,等.花色苷化学研究进展[J].天然产物研究与开发,2011,23:970-978
- [12] 庞志申.花色苷研究概况[J].北京农业科学,2000,18(5):37-42
- [13] 郝峰鸽,杨立峰,周秀梅,等.4种彩叶植物生长期色素含量研究[J].西北林学院学报,2006,21(6):63-65