

## 不同叶色石榴杂种单株叶片色素含量的比较

陈延惠<sup>1</sup>, 郭晓丽<sup>1</sup>, 李洪涛<sup>2</sup>, 胡青霞<sup>1\*</sup>, 李跃霞<sup>1</sup>, 易小燕<sup>3</sup>

(1. 河南农业大学 园艺学院, 河南 郑州 450002; 2. 郑州市园林科学研究所, 河南 郑州 450003;  
3. 河南省中医院, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 为了研究石榴杂种后代不同叶片颜色的成因, 采用分光光度法对 8 个石榴杂种单株和 2 个亲本(母本豫大籽、父本突尼斯软籽)对照单株生长期叶片中叶绿素、类胡萝卜素和花青素含量进行了研究。结果表明, 在生长初期, 叶片表现红色的 4 个单株花青素含量均高于对照, 其中 5 号单株花青素含量最高, 达到 4.12 mg/g; 叶片表现黄绿色的 4 个单株叶绿素和类胡萝卜素含量的变化趋势与对照基本一致, 其中 4 号单株叶绿素含量和叶绿素/类胡萝卜素的值最高, 而 3 号单株叶绿素 a/b 最低。在生长旺盛期, 8 个石榴单株叶绿素、类胡萝卜素和花青素含量的变化趋势一致, 与对照无明显差异。经方差分析, 不同石榴单株在不同的生长期其叶绿素和类胡萝卜素含量均存在显著差异, 不同石榴单株间花青素含量存在显著差异, 而不同石榴单株在不同的生长期其叶绿素/类胡萝卜素的值无显著差异, 可以初步得出石榴杂种后代间叶片颜色不同是由于生长期花青素、叶绿素含量和比值不同造成的。

**关键词:** 石榴; 杂种单株; 叶绿素; 类胡萝卜素; 花青素

**中图分类号:** S665.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)10-0131-05

## Determination and Comparison of Leaf Pigment Content of *Punica granatum* L. Hybrid with Different Leaf Color

CHEN Yan-hui<sup>1</sup>, GUO Xiao-li<sup>1</sup>, LI Hong-tao<sup>2</sup>, HU Qing-xia<sup>1\*</sup>, LI Yue-xia<sup>1</sup>, YI Xiao-yan<sup>3</sup>

(1. College of Horticulture, Henan Agricultural university, Zhengzhou 450002, China;  
2. Zhengzhou Institute of Urban Landscape and Architecture, Zhengzhou 450003, China;  
3. Traditional Chinese Medicine Hospital of Henan Provincial, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Spectrophotometry was used to study the contents of three pigments, chlorophyll, carotenoid, and anthocyanin, in the leaves of eight pomegranate trees and their parents. The results showed that at the beginning of growing period, the anthocyanin content of the four pomegranate trees with red leaves was higher than the control tree. The anthocyanin content of No. 5 individual plant was the highest (4.12 mg/g). The dynamic trends of chlorophyll and carotenoids of the four pomegranate trees with green yellow leaves were consistent with the contrast tree. The chlorophyll content and the chlorophyll/carotenoids content of No. 4 were the highest, the chlorophyll a/b content of No. 3 was the lowest. During vigorous growing period, the dynamic trends of pigments including chlorophyll, carotenoid and anthocyanin of eight individual plants were consistent; there was no significant difference comparing with the control. Analysis of variance indicated that there was a significant difference in the contents of chlorophyll and carotenoid between different trees in different growth periods and the content of anthocyanin between different trees, while the value of chlorophyll/carotenoids between different trees was not obvious.

**Key words:** pomegranate (*Punica granatum* L.); individual hybrid plant; chlorophyll; carotenoid; anthocyanin

收稿日期: 2012-03-10

基金项目: 河南省科技攻关项目(072102150001); 郑州市科技攻关项目(083SGYG24123-6)

作者简介: 陈延惠(1963-), 女, 河南南阳人, 副教授, 主要从事果树遗传育种研究。E-mail: chenyanhui188@163.com

\* 通讯作者: 胡青霞(1971-), 女, 河南洛阳人, 副教授, 主要从事园艺产品贮藏加工研究。E-mail: hortdept@126.com

石榴(*Punica granatum* L.)属石榴科石榴属落叶灌木或小乔木<sup>[1]</sup>,原产于伊朗、阿富汗和印度西北部地区,2 000 多年前沿丝绸之路传入我国<sup>[2]</sup>。石榴除了食用、药用之外,主要以观花、观果或制作盆景为主<sup>[3]</sup>。但目前尚未见对具有特殊彩色叶片石榴的研究报道,也未见对石榴叶片中相关色素的研究及其呈色机制的研究报道。若能选出在石榴生长期叶片颜色表现典型的单株,即可提高石榴的观赏价值。鉴于此,以河南省的 2 个优良石榴品种——豫大籽和突尼斯软籽<sup>[4]</sup>为亲本进行杂交,从其 619 个杂交后代单株中选出 8 个颜色表现典型(浅玫红、红、淡黄、绿色)的后代单株为试验材料,对其不同生长期的叶绿素、类胡萝卜素和花青素含量变化规律进行比较研究,以探讨不同石榴单株叶色变化的生化基础,为进一步培育彩叶石榴品种奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于河南省郑州市河南农业大学石榴资源圃园,地处东经 112°42′—114°14′,北纬 34°16′—34°58′,属于北温带大陆性气候,四季分明,年平均气温 14.3℃,年平均降水量 640.9 mm,7 月平均气温 27.3℃,1 月平均气温 0.2℃,全年无霜期 220 d。

### 1.2 材料、药品及设备

以 8 个具有代表性的 5 年生石榴单株为材料(表 1),2 个亲本单株(母本豫大籽和父本突尼斯软籽)为对照。所用药品和设备有 80% 丙酮、0.1 mol/L HCl、CaCO<sub>3</sub>、石英砂、试管、研钵、离心机、UV-3200 型紫外分光光度计、GNP-9080 型隔水式恒温培养箱等。

表 1 10 个石榴单株春季叶色表现

| 编号         | 叶片颜色     |
|------------|----------|
| 1          | 绿色       |
| 2          | 黄绿色      |
| 3          | 黄白色      |
| 4          | 黄绿色      |
| 5          | 暗红色      |
| 6          | 红色       |
| 7          | 浅玫红色     |
| 8          | 浅玫红色     |
| CK1(豫大籽)   | 绿色(略带红色) |
| CK2(突尼斯软籽) | 绿色(略带红色) |

### 1.3 试验方法

从 2011 年 4 月 20 日至 10 月 28 日,自石榴植

株春季发芽展叶开始,生长初期每隔 3 d 取一次样,叶色稳定以后(生长旺盛期)每个月取一次样<sup>[5]</sup>。因为 7 月份郑州雨水较多,影响了石榴叶片叶绿素含量的测定,因此,7 月 30 号叶绿素含量没有数据。每次取样在 8:00 点左右,采集树冠中上部东、南、西、北 4 个方向生长良好的成熟叶片,取样重复 3 次,将叶片放入湿润的纱布中带回实验室。首先用净水将叶片冲洗干净,用滤纸吸干,除去叶片主脉后备用。测定叶绿素、类胡萝卜素、花青素含量。

1.3.1 叶绿素和类胡萝卜素含量的测定 参考袁明等<sup>[6]</sup>的方法,叶片叶绿素和类胡萝卜素质量浓度的计算公式为: $Ca = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$ ,  $Cb = 20.13A_{646} - 5.03A_{663}$ ,  $Ct = 17.32A_{646} + 7.18A_{663}$ ,  $Ccar = (1000A_{470} - 3.27Ca - 104Cb)/229$ ,其中,Ca 为叶绿素 a 质量浓度,Cb 为叶绿素 b 质量浓度,Ct 为叶绿素总含量,Ccar 为类胡萝卜素含量。叶片叶绿素和类胡萝卜素含量=(色素质量浓度×提取液体积×稀释倍数)/样品质量,单位:mg/g。

1.3.2 花青素的测定 参考潘丽芹等<sup>[7]</sup>的方法,花色素苷含量(色素单位)= $OD_{525}/0.1$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 石榴生长期叶片叶绿素含量的比较

8 个石榴单株在生长期叶片叶绿素含量的变化规律如图 1 所示。图 1 表明,生长初期叶绿素含量较低,随后缓慢升高,最高峰在 8 月到 9 月,进入秋季逐渐降低,其中 2 个对照单株在生长初期叶绿素含量有一个下降的趋势,这可能与环境条件的影响有关。4 月 20 日对照 1、对照 2 单株的叶绿素含量最高,达到 2.702 mg/g 和 2.668 mg/g。这与实际观察到的叶色基本一致,8 个杂种单株在生长初期叶片表现黄绿色、黄白色、暗红色、红色等不同颜色,而 2 个对照单株则表现正常石榴叶片的绿色,测得结果表明,2 个对照单株叶绿素含量最高,而颜色表现典型黄色、红色的 2 号、3 号、5 号、7 号、8 号单株叶绿素含量则较低。

### 2.2 石榴生长期叶片类胡萝卜素含量的比较

8 个石榴单株在生长期叶片类胡萝卜素含量的变化规律如图 2 所示。图 2 表明,8 个石榴单株在生长期叶片类胡萝卜素含量均呈升高—降低—升高的趋势,处于缓慢平稳变化的状态,在生长期类胡萝卜素含量均在 0.2 mg/g 和 0.5 mg/g 之间。其中,在 10 月 28 日 3 号、6 号和 7 号单株类胡萝卜素含量均有上升的趋势,实际观察到这些单株在秋天叶子发黄较早,这可能是秋天叶色转黄的一个原因。

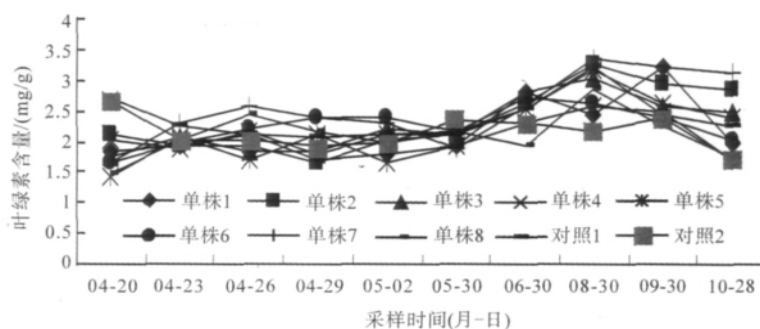


图 1 8 个石榴单株生长期叶片叶绿素含量的变化

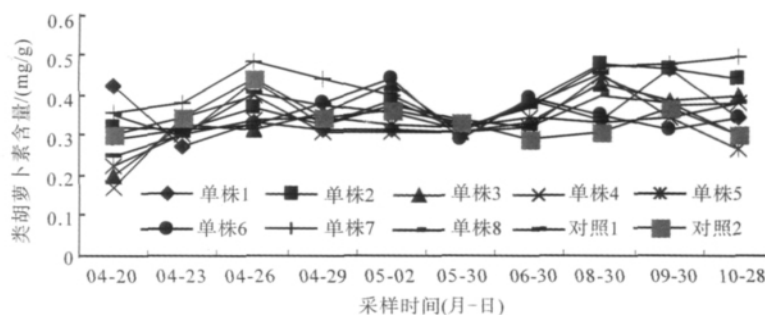


图 2 8 个石榴单株生长期叶片类胡萝卜素含量的变化

### 2.3 石榴生长期叶片花青素含量的比较

从图 3 可以看出,5、6 号单株在生长初期(4 月 20 日)达到最高值 4.12 和 4.02,其次是 7、8 号,之后迅速降低,在生长中后期没有明显的变化,表现黄绿色和黄白色的 2、3、4 号单株花青素含量在生长初

期表现最低,之后有一个小的升高然后又降低,8—9 月份花青素的含量有升高的现象。表明,正是由于前期较高的花青素含量使 5、6、7、8 号单株出现红叶现象,较低的花青素含量使 1、2、3、4 号单株表现出绿色。

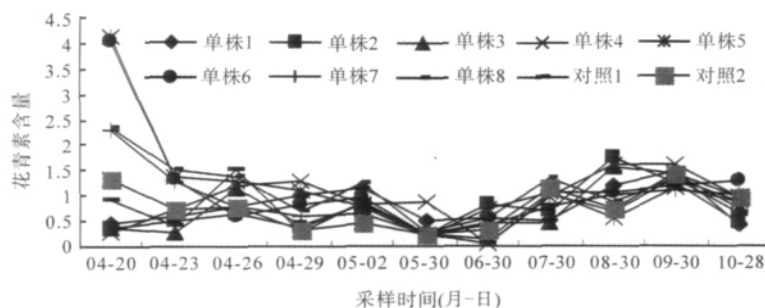


图 3 8 个石榴单株生长期叶片花青素含量的变化

### 2.4 石榴生长期叶片叶绿素 a/b 值的变化

图 4 表明,在生长初期石榴叶片颜色表现不同时,叶绿素 a/b 差别明显,在生长中后期,单株叶绿素 a/b 的变化趋势基本一致。这可能由于叶绿素 a/b 的差异导致各个单株间叶片在生长初期表现黄白色和黄绿色等各种颜色。

### 2.5 石榴生长期叶片叶绿素/类胡萝卜素值的变化

图 5 表示,在生长初期,10 个石榴单株叶片叶

色表现明显不同时,叶绿素/类胡萝卜素值差异较明显,后期叶色表现一致后,10 个石榴单株叶片叶绿素/类胡萝卜素值的变化趋于一致。4 号单株在生长初期(4 月 20 日)叶片表现黄绿色,叶绿素/类胡萝卜素值较高,结合石榴叶片生长期叶绿素 a/b 可以看出,叶片初期表现黄绿色可能是叶绿素 b 作用的结果,类胡萝卜素是在叶片进入秋季表现黄色的主要色素。

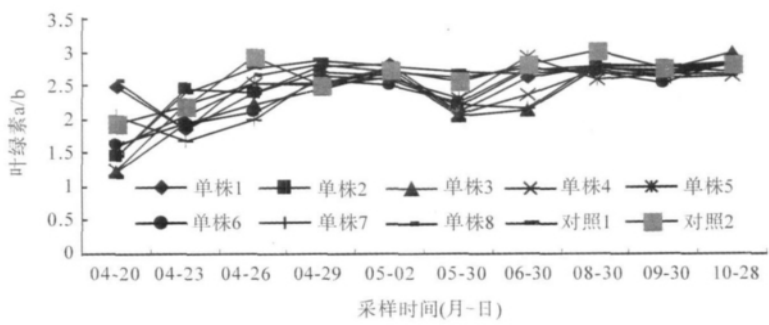


图 4 8 个石榴单株生长期叶片叶绿素 a/b 的变化

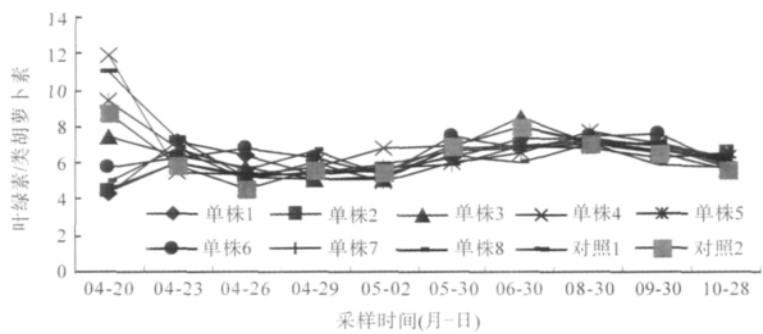


图 5 8 个石榴单株生长期叶片叶绿素/类胡萝卜素比值的变化

2.6 不同石榴单株间叶片色素方差分析

通过对不同石榴单株间叶绿素、类胡萝卜素、花青素含量和叶绿素/类胡萝卜素值进行方差分析(表 2)得知:不同石榴单株在不同生长期其叶绿素和类胡萝卜

素含量均存在显著差异。同一时期不同石榴单株间花青素含量存在显著差异,而同一单株不同生长期花青素含量无显著差异。不同石榴单株在不同生长期其叶绿素/类胡萝卜素值不存在显著差异。

表 2 不同石榴单株间色素方差分析

| 色素        | 差异来源 | 平方和       | 自由度 | 均方        | F 值      | F <sub>0.05</sub> |
|-----------|------|-----------|-----|-----------|----------|-------------------|
| 叶绿素       | 单株间  | 23.895 4  | 9   | 2.655     | 14.842 3 | 3.52              |
|           | 不同时间 | 7.675 9   | 10  | 0.567 6   | 3.614 1  | 3.47              |
|           | 误差   | 38.994 4  | 218 | 0.178 9   |          |                   |
| 类胡萝卜素     | 单株间  | 1.010 6   | 9   | 0.112 3   | 30.883 5 | 3.52              |
|           | 不同时间 | 0.235 2   | 9   | 0.026     | 7.186 9  | 3.52              |
|           | 误差   | 0.719 9   | 198 | 0.003 6   |          |                   |
| 花青素       | 单株间  | 25.260 4  | 9   | 2.806 7   | 26.846 1 | 3.52              |
|           | 不同时间 | 6.125 9   | 10  | 0.512 6   | 2.641 9  | 3.47              |
|           | 误差   | 22.719 4  | 218 | 0.104 5   |          |                   |
| 叶绿素/类胡萝卜素 | 单株间  | 4 114.779 | 9   | 457.197 7 | 3.007    | 3.52              |
|           | 不同时间 | 1 533.988 | 9   | 170.441 3 | 1.005 8  | 3.52              |
|           | 误差   | 30 098.19 | 198 | 152.011 1 |          |                   |

3 结论与讨论

本试验结果表明,石榴生长初期叶片颜色表现黄白色和黄绿色的 2 号、3 号、4 号单株叶绿素、类胡萝卜素和花青素含量都较低,而叶绿素 a/b 也低,这说明这些单株在生长初期叶片表现黄白色或黄绿色

不是类胡萝卜素和花青素在叶片内分布的作用,可能是由于叶绿素 b 在叶片内的含量和分布的作用。叶片颜色表现呈各种红色的 5 号、6 号、7 号和 8 号单株在生长初期叶绿素含量较低,但花青素含量均高,这说明这些单株在生长初期叶片颜色表现红色可能是由于叶片内花青素含量较高的原因。在叶片

成熟叶色颜色表现一致后,叶片各种色素含量的变化趋势一致。植物的叶片细胞中含有叶绿素、类胡萝卜素、花青素等色素物质,这些色素物质的综合作用使叶片具有一定色彩,而袁明等<sup>[6]</sup>认为导致叶色变化的直接原因是叶片色素种类和比例的变化。

对石榴单株间色素进行方差分析表明,在整个生长期内,不同单株间类胡萝卜素含量存在显著差异。不同石榴单株间花青素含量存在显著差异,尤其是在生长初期,叶色表现典型的 5 号和 6 号单株花青素含量最高,而不同石榴单株在不同的生长期其叶绿素/类胡萝卜素值不存在显著差异。这说明石榴生长初期叶色显现红色可能是受叶片中花青素与叶绿素比值的影响,显现黄色可能是受叶绿素 a/b 的影响。

叶片内花色素苷的积累均受到光照、温度、昼夜温差、酶活性等因素的影响。潘丽芹等<sup>[7]</sup>认为光照是影响叶色变化的最重要的环境因素。光照主要影响叶绿素、类胡萝卜素和花青苷的含量和比例,并通过调节与色素代谢相关酶的活性来影响叶色变化。胡敬志等<sup>[8]</sup>认为,温度对叶色的影响比较明显,30℃左右是叶绿素合成的最适宜温度,随着温度降低和昼夜温差加大,叶片开始自然衰老,从而启动叶绿素分解,类胡萝卜素含量相对稳定,所以秋天的叶色多呈黄色。胡永红等<sup>[9]</sup>认为秋色叶的叶色变化主要是光合产物变化的影响,在试验过程中,4—6 月份的天气良好,7—9 月份的雨水较多,可能会对叶片色素的形成和积累产生一定的影响。

花青素的积累则会受激素、光、糖、pH 值、温度<sup>[10]</sup>、酶<sup>[11]</sup>等多种因素的影响。光能促进花青苷的生成,遮光或除去叶片时花青苷的合成则受到严重的抑制<sup>[12]</sup>。适当的低温不仅有利于提高花青苷合成基因的发育调节,而且是花青苷积累的一种特殊信号<sup>[6]</sup>。花青素在酸性条件下呈现红色,花青素相对含量与 pH 值呈负相关性<sup>[13]</sup>。植株内的矿物质含量也会影响花青苷的积累。于晓南等<sup>[14]</sup>研究表明,钾能促进碳水化合物的合成、积累和运输,因而植物体内 K<sup>+</sup> 含量的增多会促进花青苷的积累。因

此,本试验的石榴单株在生长初期表现深红色或浅红色可能是春季的气候、植株的生长势等多种因素影响的结果。

#### 参考文献:

- [1] 汪小飞,向其柏,尤传楷,等. 石榴品种分类研究进展[J]. 果树学报,2007,24(1):94-97.
- [2] 尹燕雷,苑兆和,冯立娟,等. 我国石榴种质资源研究进展[J]. 山东林业科技,2008(3):80-82.
- [3] 薛华柏,郭俊英,司鹏,等. 4 个石榴基因型的 SRAP 鉴定[J]. 果树学报,2010,27(4):631-635.
- [4] 冯玉增,宋梅亭,宋长治. 河南省石榴种质资源的研究[J]. 中国果树,2003(2):25-28.
- [5] 李海龙,潘青华,王贤荣. 四个黄栌变种及品种生长期色素含量的比较[J]. 林业科技开发应用研究,2010,24(3):84-86.
- [6] 袁明,万兴智,杜蕾,等. 红花檵木叶色变化机理的初步研究[J]. 园艺学报,2010,37(6):949-956.
- [7] 潘丽芹,徐小勇,沈琪,等. 不同生境条件下山麻杆叶片色素含量变化研究[J]. 北方园艺,2010(1):150-152.
- [8] 胡敬志,田旗,鲁心安. 枫叶叶片色素含量变化及其与叶色变化的关系[J]. 西北农林科技大学:自然科学版,2007,35(10):199-223.
- [9] 胡永红,秦俊,蒋昌华. 上海地区秋色叶成因的调查与分析[J]. 东北林业大学学报,2004,32(5):84-86.
- [10] 陈延惠,李跃霞,郭晓丽,等. 园艺植物叶色变化机制研究进展[J]. 河南农业科学,2011,40(12):30-34.
- [11] 史宝胜,孟建朝,刘冬云,等. 秋季不同色泽五叶地锦叶片生理生化特性的研究[J]. 华北农学报,2009,24(增刊):172-175.
- [12] Kawabata S, Ohta M, Kusuhara Y, et al. Influences of low light intensities on the pigmentation of *Eustoma grandiflorum* flowers[J]. Acta Hort, 1995, 405:173-178.
- [13] 周肖红,葛雨萱,王亮生,等. 黄栌叶片变色期生理变化及植物生长调节剂对叶色的影响[J]. 林业科学,2009,45(7):59-62.
- [14] 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.