

DOI:10.11686/cyxb2025199

http://cyxb.magtech.com.cn

韩玉兰, 李奕昕, 程一珊, 等. 斑叶芒叶斑色素组成和细胞结构解析. 草业学报, 2026, 35(4): 147-157.

HAN Yu-lan, LI Yi-xin, CHENG Yi-shan, et al. Analysis of leaf color pattern composition and cell structure of *Miscanthus sinensis* 'Zebrinus'. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(4): 147-157.

斑叶芒叶斑色素组成和细胞结构解析

韩玉兰^{1,2}, 李奕昕^{1,2}, 程一珊^{1,2}, 蔡明³, 牟兰^{1,2*}

(1. 西南林业大学园林园艺学院, 云南昆明 650224; 2. 云南省观赏草集成利用国际联合研发中心, 云南昆明 650224; 3. 云南省草地动物科学研究院, 云南昆明 650212)

摘要:斑叶芒为禾本科芒属多年生草本植物,其叶片分布不规则黄色斑纹,具有独特的观赏价值,且在生态环境美化中也发挥重要作用。为解析其斑纹的形成机制,以无斑叶片(WG)、斑叶绿色部分(GS)和黄色部分(YS)作为试验材料,综合色度分析、色素含量测定及显微/超微结构观察等方法进行系统研究。结果表明:YS在色度指标上差异突出,其亮度值为59.99,黄蓝轴色度值及彩度值分别为23.08,23.34,均极显著高于WG和GS($P<0.01$);而绿色饱和度则显著降低($P<0.01$),侧面体现出其黄色表型特征。在色素含量方面,YS的叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量分别为0.91、0.03和0.94 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,极显著低于GS和WG($P<0.01$);与之相反,类胡萝卜素含量(1.03 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$),类胡萝卜素与总叶绿素的比值(1.09)以及黄酮含量(2.48 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)在YS中均极显著升高($P<0.01$)。在解剖结构层面,与WG和GS相比,YS的叶片厚度减少了19.17%,叶肉细胞显著变薄,泡状细胞体积明显缩小,细胞排列呈现出疏松状态,同时木质化程度极显著加剧($P<0.01$)。通过超微结构观察进一步发现,YS的叶绿体基粒片层结构出现解体现象,淀粉粒异常积累,质体小球数量相较于GS增加。综上,斑叶芒叶斑形成主要源于叶绿体结构损伤导致的叶绿素合成受阻,同时类胡萝卜素相对积累和黄酮化合物增加共同强化了黄色表型。

关键词:斑叶芒;叶色参数;色素含量;显微结构;超微结构

Analysis of leaf color pattern composition and cell structure of *Miscanthus sinensis* 'Zebrinus'

HAN Yu-lan^{1,2}, LI Yi-xin^{1,2}, CHENG Yi-shan^{1,2}, CAI Ming³, MU Lan^{1,2*}

1. College of Landscape and Horticulture, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Yunnan International Joint Research and Development Center for Integrated Utilization of Ornamental Grass, Kunming 650224, China; 3. Yunnan Academy of Grassland and Animal Science, Kunming 650212, China

Abstract: *Miscanthus sinensis* 'Zebrinus' is a perennial grass of the genus *Miscanthus* in the Poaceae family. Its leaves feature irregular yellow transverse stripes, presenting unique ornamental value and playing an important role in ecological landscaping. To analyze the formation mechanism of its patterns, we conducted a systematic study of non-spotted leaves (WG), green parts of spotted leaves (GS), and yellow parts (YS), integrating chromaticity analysis, pigment content determination, and microscopic/ultrastructural observation methods. The results showed that YS had prominent differences in chromaticity indices. Its brightness value was 59.99, and the yellow-blue axis and chroma were 23.08 and 23.34, respectively, all of which were significantly higher than those of WG and GS

收稿日期:2025-05-19;改回日期:2025-07-04

基金项目:西南林业大学科研启动基金(110224001),云南省院士专家工作站(202305AF150154)和云南省兴滇英才支持计划青年人才专项(云人社通[2022]51号)资助。

作者简介:韩玉兰(1996-),女,云南威信人,在读硕士。E-mail: 3197287446@qq.com

*通信作者 Corresponding author. E-mail: mulan1016@163.com

($P < 0.01$); while the green saturation was significantly reduced ($P < 0.01$), indirectly reflecting its yellow phenotypic characteristics. In terms of pigment content, the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll in YS were 0.91, 0.03 and 0.94 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively, which were significantly lower than those in GS and WG ($P < 0.01$). In contrast, the carotenoid content (1.03 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$), the ratio of carotenoids to total chlorophyll (1.09), and the flavonoid content (2.48 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) were all significantly increased in YS ($P < 0.01$). At the anatomical structure level, compared with WG and GS, the leaf thickness of YS decreased by 19.17%, the mesophyll cells were significantly thinned, the volume of bulliform cells was obviously reduced, the cell arrangement showed a loose state, and the degree of lignification was significantly intensified ($P < 0.01$). Ultrastructural observation further revealed that the chloroplast grana lamella structure in YS was disintegrated, starch granules were abnormally accumulated, and the number of plastoglobules was increased compared with GS. In conclusion, the formation of leaf spots in *M. sinensis* 'Zebrinus' is mainly due to the obstruction of chlorophyll synthesis caused by chloroplast structure damage, while the relative accumulation of carotenoids and the increase of flavonoid compounds jointly enhance the yellow phenotype.

Key words: *Miscanthus sinensis* 'Zebrinus'; leaf color parameters; pigment content; microstructure; ultrastructural

斑纹是观赏植物的重要表型特征,其形态多样性直接影响植物的观赏价值与生态适应性。研究表明,叶片斑纹不仅决定了植物的观赏性状,更在环境适应^[1-2]、繁殖策略^[3]、天敌防御^[4]、营养调控^[5]、气候变化响应^[6]以及生存策略^[7]等生物学过程中发挥重要作用,具有重要的生态与进化意义。叶色形成是多因素调控的复杂生理过程,如温度^[8]、营养元素^[9]、光照^[10]、水分^[11]等非生物因素以及遗传因素^[12],但本质上取决于叶绿素、类胡萝卜素等色素物质的组成及比例。芽变黄化银杏(*Ginkgo biloba*)因叶绿素合成受阻呈现黄化表型^[1],而非黄竹(*Sasa auricoma*)嫩叶不同区域亮丽颜色的成因是叶片中叶绿素和类胡萝卜素的含量差异^[13]。从细胞学层面看,叶色变异与叶绿体发育及组织结构分化密切相关。研究表明,番茄(*Solanum lycopersicum*)黄化突变体因叶绿体结构损伤导致叶绿素降解,进而引发氧化还原稳态失衡^[14]。组织学分析显示,斑纹形成往往伴随叶片解剖结构的特异性改变,表现为表皮细胞形态变异,叶肉细胞层数减少以及栅栏组织与海绵组织比例失调^[15-16]。网状彩叶植物因叶肉细胞发育异常及栅栏组织气室化,导致叶脉间区域呈现白/黄色^[17]。尖萼报春苜蓿(*Primulina pungentisepala*)的鱼骨状叶斑主要由栅栏组织细胞与近轴表皮细胞间存在的大量细胞空隙形成^[18]。然而斑纹研究存在明显的类群偏向性,多数集中于秋石斛(*Phalaenopsis*)^[19]、龙血树(*Dracaena fragrans*)^[20]、花叶青木(*Aucuba japonica* 'variegata')^[21]、冬青(*Ilex* × *altaclerensis* 'belgica aurea')^[22]等木本植物,对草本植物的系统性研究仍较匮乏。因此,深入开展草本植物叶斑形成机制研究,对完善植物色彩调控理论具有重要科学意义。

斑叶芒(*Miscanthus sinensis* 'Zebrinus')是禾本科(Poaceae)芒属(*Miscanthus*)多年生暖季型草本植物,在我国主要分布于华北、华中、华南、华东及东北地区,表现出广泛的环境适应性^[23]。此外,较强的繁殖与竞争能力以及低维护的栽培特性,使其成为园林景观中重要的观赏草种^[24]。斑叶芒的叶片表型呈现动态变化特征:生长初期叶片为单一绿色(图1A),至中后期则发育出横向不规则黄色斑纹(图1B),形成鲜明的绿黄条纹对比,明显增强其观赏价值。目前,针对斑叶芒的研究主要集中于抗逆生理^[25]、引种栽培及景观应用^[26-27]等领域,而对其特色斑纹形成的生理与细胞学机制尚未见系统报道,其斑纹形成是由色素组成或组织结构改变导致,目前仍缺乏实证依据。基于此,本研究以斑叶芒为材料,通过比较其无斑叶(全绿)、斑叶绿色部分与斑叶黄色部分的叶色参数、色素(叶绿素、类胡萝卜素)及黄酮含量,结合电子显微镜与透射电镜的细胞学观察,系统解析色素组成与斑纹呈色的定量关系和不同色域叶片的组织与细胞结构差异,揭示斑叶芒斑纹形成的生理与结构基础,为观赏草及其他禾本科彩叶植物的叶色调控机理提供理论依据。

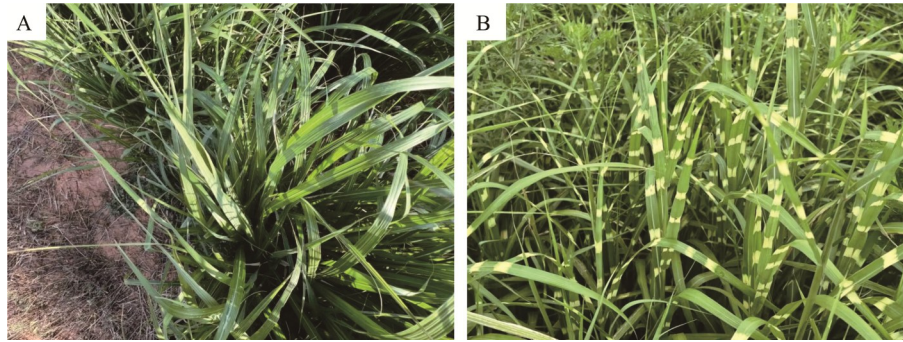


图 1 斑叶芒外观形态

Fig. 1 Appearance and morphology of *M. sinensis* 'Zebrinus'

A: 无斑叶 Non spotted leaves; B: 斑叶 Spotted leaves.

1 材料与方法

1.1 试验材料

斑叶芒试验材料于 2021 年 6 月栽植在曲靖马鸣乡云南省山地牧业科技示范园 (103°16'—103°45'E, 25°08'—25°37'N)。该地属低纬度高原季风气候, 海拔 2341 m, 年均气温 13.6 °C, 年均降水量 1001.8 mm。多年的表型观测表明, 斑叶芒在此生境下表现出明显的生态适应性, 其叶色性状稳定且观赏特性突出。为验证斑纹性状的遗传稳定性, 2022 年通过分株繁殖将子代植株引种至西南林业大学树木园实践基地 (102°45'E, 25°03'N), 经两代栽培观察, 确认其横向黄斑表型可稳定遗传。于 2024 年 7 月 2 日 9:00—11:00 进行样品采集, 在示范园内采用 5 点采样法选取 10 丛健康植株, 每丛采集中部功能叶 3 片。离体叶片立即置于预冷干冰保温箱 (−78 °C), 尽量确保 30 min 内完成无斑叶 (non spotted leaves, WG)、斑叶绿色部分 (the green part of spotted leaves, GS) 及黄斑部分 (the macula of spotted leaves, YS) 的解剖分离 (图 2)。样品分装后, 部分用于即时生理指标测定, 其余保存于 −80 °C 超低温冰箱以待后续分析。

1.2 试验方法

1.2.1 叶色参数 采用色差仪 (Konica Minolta CR-400 型, 日本) 测定斑叶芒不同表型 (WG、GS、YS) 的 CIELAB 色空间参数, 包括亮度值 (lightness, L^*)、红绿轴色度值 (red-green axis, a^*) 及黄蓝轴色度值 (yellow-blue axis, b^*)。每处理设置 3 次生物学重复, 测定位置统一选择叶片中脉与边缘的中间区域, 避开明显叶脉与损伤部位。根据以下公式计算彩度值 (chroma, c^*) 以量化颜色饱和度^[28]:

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (1)$$

式中: L^* 表示所测样品颜色的明亮程度, 取值范围从 0 (表示黑色) 到 100 (表示白色); L^* 值越大, 表明亮度越高。 a^* 值表示所测样品颜色的红绿偏向程度, 正值表示红色倾向, 负值表示绿色倾向; a^* 值越大, 红色越深, a^* 值越小, 绿色越深。 b^* 值表示所测样品颜色的黄蓝偏向程度, 正值表示黄色倾向, 负值表示蓝色倾向; b^* 值越大, 黄色越深, b^* 值越小, 蓝色越深。

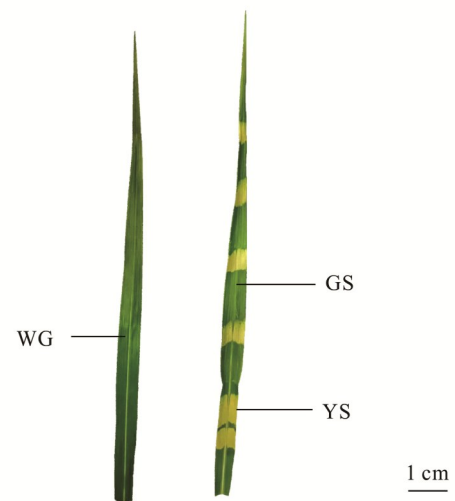


图 2 斑叶芒叶片

Fig. 2 *M. sinensis* 'Zebrinus' leaves

WG: 无斑纹叶片 Non spotted leaves; GS: 斑叶绿色部分 The green part of spotted leaves; YS: 斑叶黄斑部分 The macula of spotted leaves; 下同 The same below.

1.2.2 色素含量 使用电子天平(精确度为0.0001 g)准确称取新鲜样品各0.5 g,去除主脉后剪碎转移至棕色容量瓶中,加入25 mL预冷的80%丙酮,密封后置于室温黑暗条件浸提24 h。浸提完成后,通过0.45 μm有机系微孔滤膜过滤,每个处理设置3个重复。使用分光光度计,以80%丙酮作空白对照,分别测定滤液在470、645和663 nm波长处的吸光值。根据以下公式计算色素含量:

$$\text{叶绿素 a 含量}(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})=(12.7\times\text{OD}_{663}-2.69\times\text{OD}_{645})\times V/W \quad (2)$$

$$\text{叶绿素 b 含量}(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})=(22.9\times\text{OD}_{645}-4.68\times\text{OD}_{663})\times V/W \quad (3)$$

$$\text{类胡萝卜素含量}(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})=(1000\times\text{OD}_{470}\times V/W-3.27\times\text{Chla}-104\times\text{Chlb})/198 \quad (4)$$

式中: V 为提取液体积; W 为称取新鲜叶片的重量; OD_{470} 、 OD_{645} 、 OD_{663} 分别为470、645、663 nm波长处的吸光值。

1.2.3 黄酮含量 参照何伟等^[29]的方法并加以改进,制备芦丁标准曲线。将WG、GS、YS叶片用超纯水冲洗3次,65℃烘箱烘干至恒重(48 h),液氮速冻后研磨成粉,过250 μm不锈钢筛。准确称取0.5 g粉末置于试管中,按照1:20的比例加入60%乙醇,室温浸提4 h,超声辅助(40 kHz, 300 W)提取45 min。取1 mL提取液移入10 mL玻璃试管中(空白管不加提取液),依次加入0.3 mL 5% NaNO_2 、0.3 mL 10% AlCl_3 和4 mL 4% NaOH ,60%乙醇定容,轻轻摇匀,每样品3次重复。使用分光光度计,以空白管作为对照,测定上述混合液在510 nm处的吸光值,根据以下公式计算黄酮含量^[30]:

$$\text{黄酮含量}(\%)=\frac{C\times 250\times 10^{-6}}{m}\times 100 \quad (5)$$

式中: C 为待测样品溶液浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); m 为样品的质量(g)。

1.2.4 组织结构 叶片组织结构的观察参照康莹等^[31]的方法。1)显微结构观察:取WG、GS、YS叶片主脉间区域,用双面刀片切取3~5块(尺寸为1 mm×1 mm×4 mm),立即放入FAA固定液,真空泵抽气至组织沉底(约30 min)。所有样品依次经75%、85%、90%、95%乙醇脱水4、2、2和2 h。脱水完成后,进行浸蜡、包埋、脱蜡和染色,最后用二甲苯透明10 min后封片。对目的区域进行200倍成像,使用Image-Pro Plus 6.0分析扫描,统一以mm作为标准单位,在每张切片中分别测量5次上表皮厚度、下表皮厚度、叶片厚度、叶肉厚度、角质层厚度以及计数泡状细胞数量等指标。2)超微结构观察:将不同表型叶片按上述要求切成小片段,WG和GS置于2.5%戊二醛(YS使用4%戊二醛),抽真空处理20 min。磷酸缓冲液(0.1 mol·L⁻¹,pH=7)漂洗3次,1%锇酸溶液固定2 h,后用磷酸缓冲液漂洗。依次经50%、60%、70%、80%和90%乙醇脱水,进行包埋,制作70~90 nm的超薄组织切片,柠檬酸铅和醋酸双氧铀溶液染色10 min,用透射电镜随机选取10个细胞区域拍摄观察。按照上述方法以μm作为标准单位,对不同表型6700X成像的叶绿体面积进行3次测量。

1.3 数据分析

采用Excel对试验数据进行初步整理、分析及绘制差异显著性柱形图,运用SPSS 22.0软件对统计数据进行分析,进行单因素方差分析(One-way ANOVA),并借助Origin 2021软件绘制相关性分析图,以便更直观地展示数据特征和差异。

2 结果与分析

2.1 不同表型叶色参数分析

斑叶芒3种表型(WG、GS和YS)叶色参数分析(表1)显示,YS的 L^* 值(59.99)、 b^* 值(23.08)以及 c^* 值(23.34)均极显著高于WG和GS($P<0.01$),表明黄色斑纹区域具有更高的亮度、黄色程度以及色彩饱和度。YS表型较高的 L^* 值意味着其叶表对光的反射效率更强; b^* 值大体现黄色色素的积累优势;而 c^* 值作为 a^* 和 b^* 的合向量模长,量化表征了色彩饱和度,进一步验证了YS表型的高彩度特征。其中,叶色参数变化梯度(WG→GS→YS)与实际表型变异高度一致,证实了CIELAB系统在观赏草叶色评价中的可靠性,进一步表明色度学参数可作为叶色表型鉴定的有效指标。

2.2 不同表型色素含量分析

YS的叶绿素a(0.91 mg·g⁻¹)、叶绿素b(0.03 mg·g⁻¹)和总叶绿素(0.94 mg·g⁻¹)含量极显著低于WG和GS

($P < 0.01$, 图 3), 而类胡萝卜素含量($1.03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、类胡萝卜素/总叶绿素(1.09)及黄酮含量($2.48 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)极显著高于 WG 和 GS, 表明不同表型叶片的色素含量存在差异。叶绿素含量的降低直接削弱了叶片的绿色程度, 而类胡萝卜素相对含量的提高则使叶片黄色程度增强, 表明叶斑的形成受色素含量及比例的影响显著。与此同时, 3 种表型中黄酮含量均明显高于类胡萝卜素, 推测其在斑叶芒叶斑的形成中也具有重要作用。

表 1 斑叶芒不同表型叶片的叶色参数值

Table 1 Leaf color parameters values of different phenotypes of *M. sinensis* 'Zebrinus'

表型 Phenotype	L^*	a^*	b^*	c^*
WG	$35.93 \pm 0.21\text{Cc}$	$-6.12 \pm 1.01\text{Ab}$	$8.97 \pm 0.90\text{Cc}$	$11.11 \pm 0.34\text{Cc}$
GS	$44.41 \pm 0.63\text{Bb}$	$-5.88 \pm 0.59\text{Ab}$	$17.91 \pm 0.33\text{Bb}$	$18.57 \pm 0.48\text{Bb}$
YS	$59.99 \pm 0.68\text{Aa}$	$-3.41 \pm 0.45\text{Aa}$	$23.08 \pm 1.26\text{Aa}$	$23.34 \pm 1.27\text{Aa}$

注: 数值为平均值±标准误差; 同列不同大写字母表示不同表型间差异极显著($P < 0.01$), 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: The values are presented as mean±standard error. Different capital letters within the same column indicate extremely significant differences ($P < 0.01$) among different phenotypes, while different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

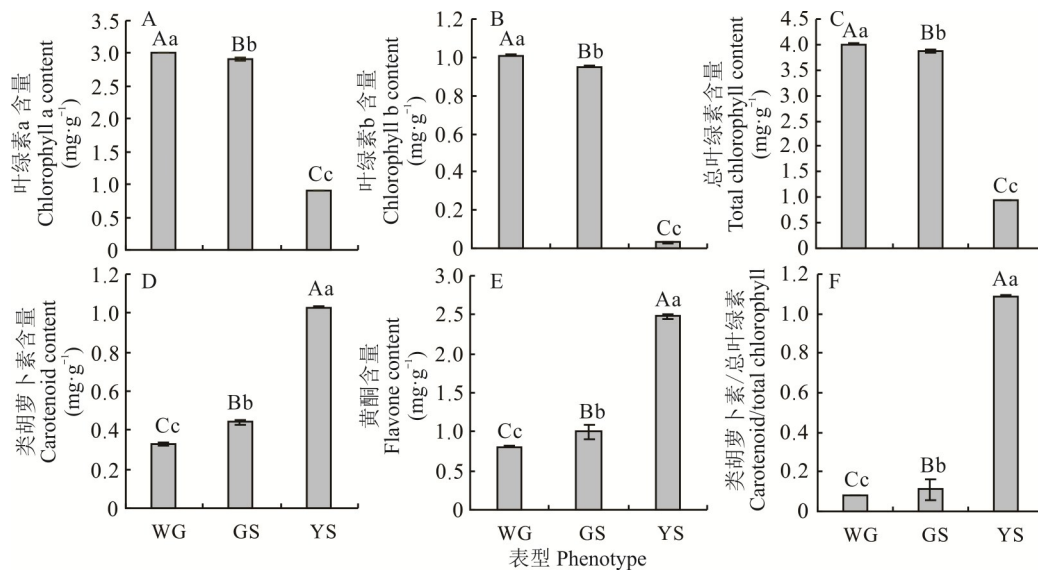


图 3 斑叶芒不同表型叶片的色素含量分析

Fig. 3 Analysis of pigment content in leaves of different phenotypes of *M. sinensis* 'Zebrinus'

不同大写字母表示不同表型间差异极显著($P < 0.01$), 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同。Different capital letters indicate extremely significant differences among different phenotypes ($P < 0.01$), and different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$), the same below.

2.3 叶色指标的相关性分析

Pearson 相关性分析表明(图 4), 叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素高度正相关($P < 0.01$), 符合总叶绿素由叶绿素 a、b 组成, 二者升高会直接带动总叶绿素含量上升的变化规律; 类胡萝卜素与黄酮的相关系数接近 1, 说明类胡萝卜素与黄酮含量协同变化, 提示光保护物质的共调控; 黄酮与类胡萝卜素、类胡萝卜素/总叶绿素显著正相关($P < 0.05$), 与叶绿素类指标负相关($P > 0.05$), 说明黄酮积累可能与类胡萝卜素代谢协同, 且会削弱叶绿素主导的绿色表现, 强化植物叶片色彩; 色素比值(类胡萝卜素/总叶绿素)与叶绿素含量呈显著负相关, 证实叶绿素合成受阻是叶片黄化的关键因素。 b^* 值与 c^* 值显著正相关($P < 0.05$), 说明黄色度与色彩饱和度共同影响叶色的呈现。

2.4 不同表型显微结构分析

通过石蜡切片对不同表型叶片进行系统观察(图 5), 发现 YS 的叶片厚度($0.097 \mu\text{m}$)较 WG($0.120 \mu\text{m}$)减少 19.17%($P < 0.01$), 主要表现为叶肉组织厚度减少和泡状细胞体积缩小(图 5A~C), 且 YS 的叶肉细胞占叶片横

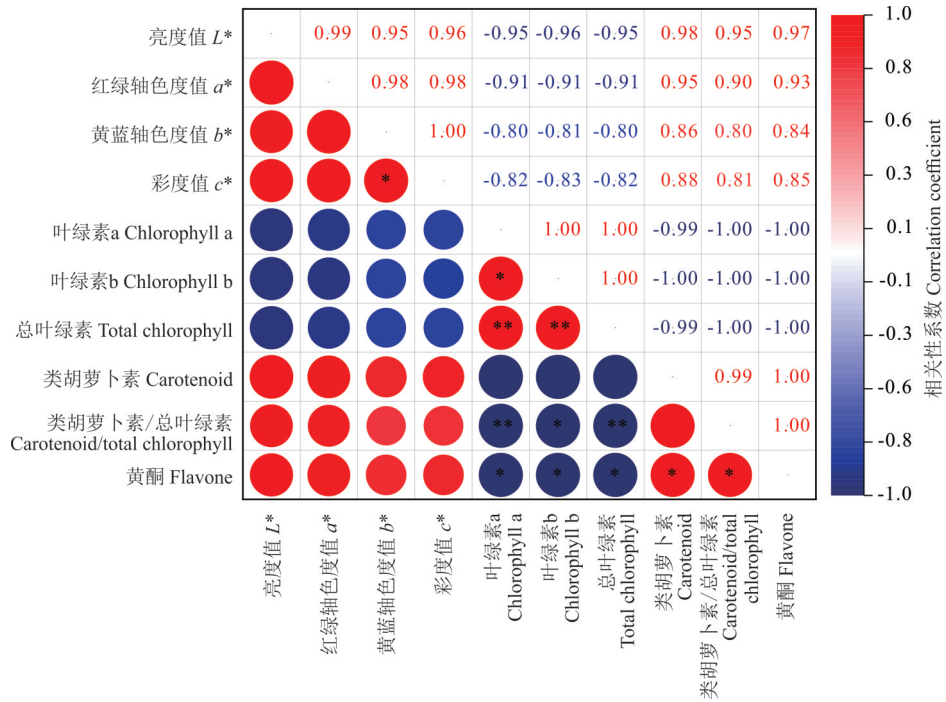


图4 斑叶芒叶色参数与色素组成的相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis between leaf color parameters and pigment composition of *M. sinensis* 'Zebrinus'

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

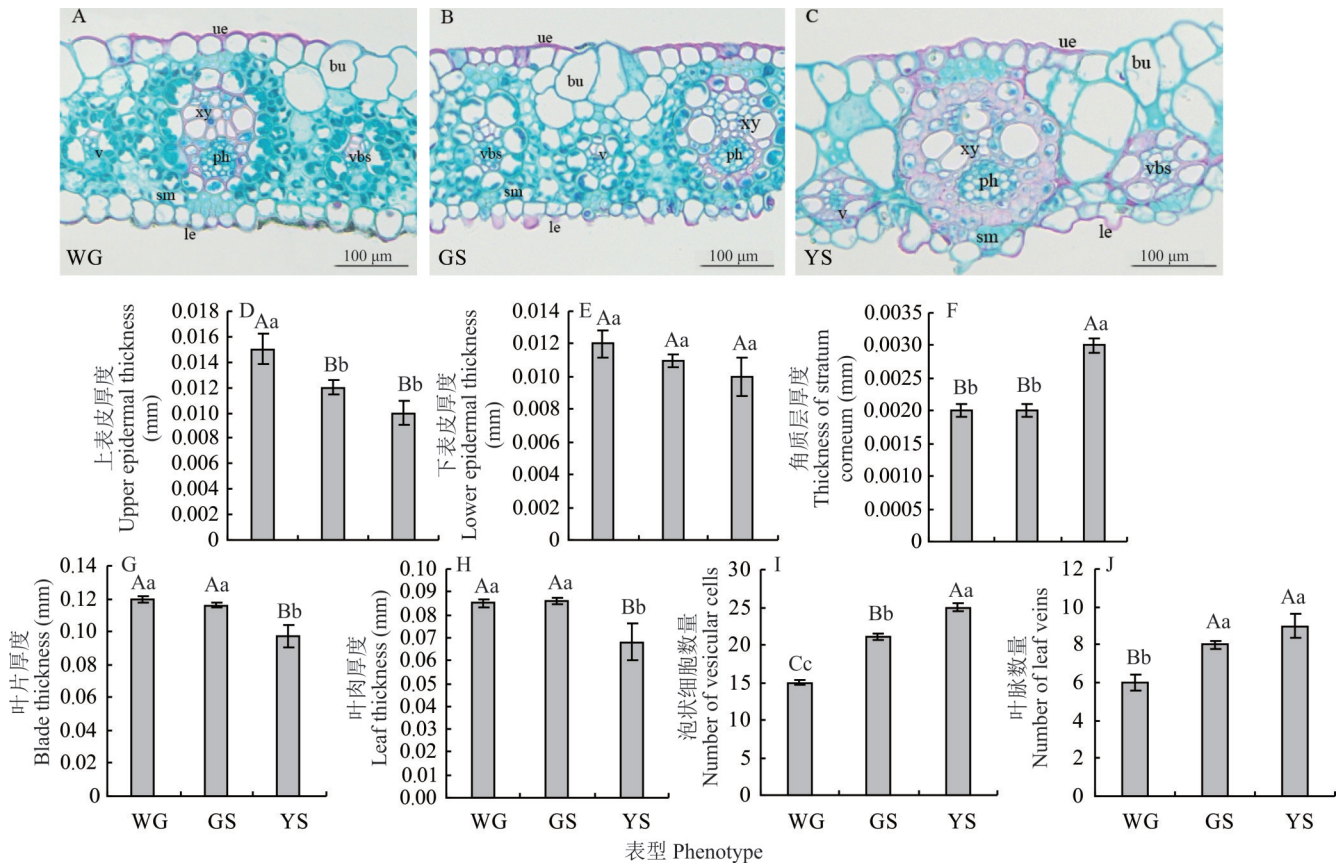


图5 斑叶芒不同表型叶片的组织结构比较

Fig. 5 Comparison of tissue structures of leaves with different phenotypes of *M. sinensis* 'Zebrinus'

le: 下表皮细胞 Lower-epidermis cells; sm: 海绵细胞 Spongy mesophyll cells; v: 叶脉 Vein; vbs: 维管束鞘细胞 Vascular bundle sheath cells; ph: 韧皮部 Phloem; xy: 木质部导管 Xylem; bu: 泡状细胞 Bulliform cell; ue: 上表皮细胞 Upper-epidermis cells.

截面积的比例下降,表明叶斑区域细胞结构发生明显变化。细胞排列方面,WG和GS的叶肉细胞排列整齐且紧密,而YS的叶肉细胞排列疏松且具有较大的细胞间隙,这种结构变化可能影响细胞间物质运输效率及光散射特性,进而参与叶色调控。维管系统方面,YS的维管束鞘细胞木质素沉积量高于WG和GS,木质化程度明显增强。表皮层次方面,YS的上表皮、下表皮厚度低于WG和GS(图5D,E),角质层厚度则极显著高于WG和GS($P < 0.01$)使得表皮结构弱化以利于光能透过表皮层。输导组织方面,YS的叶脉数量高于WG和GS(图5J),提示斑叶区域对水分和养分运输的需求增强。综合以上结果,说明不同表型叶片的组织结构存在显著差异,进一步证实细胞组织结构的变化与叶斑的形成密切相关。

2.5 不同表型超微结构分析

通过对不同表型叶片进行超微结构观察发现(图6),WG、GS、YS的超微结构均存在明显差异。WG和GS的花环周围含有丰富的淀粉粒(图6A,C),而YS则无(图6E)。YS区域的叶绿体数量较WG和GS减少,叶绿体形状发生改变及体积明显下降,表明叶绿体严重退化。对不同表型的叶绿体结构进一步观察发现,YS的叶绿体(图6F)富含淀粉粒,质体小球数量较GS明显增加,且叶绿体结构损伤严重。以上结果表明叶绿体结构的异常与叶片黄化表型的形成直接相关。

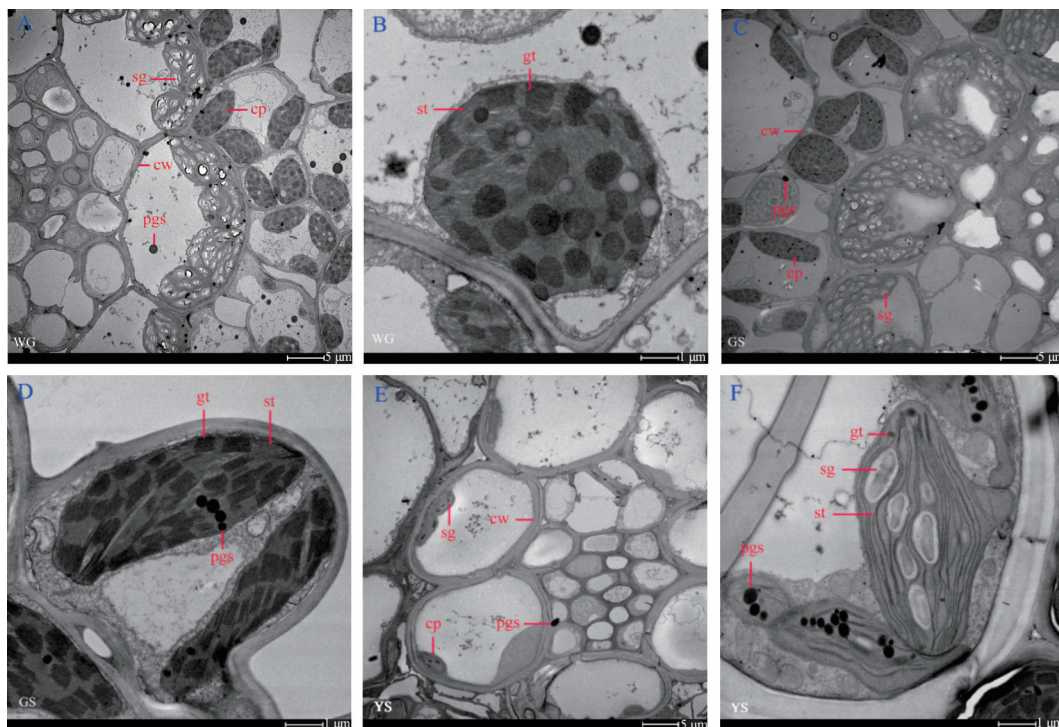


图6 斑叶芒不同表型叶片的超微结构

Fig. 6 Ultrastructure of leaves with different phenotypes of *M. sinensis* 'Zebrinus'

cp: 叶绿体 Chloroplasts; sg: 淀粉粒 Starch granules; pgs: 质体小球 Plastoglobules; cw: 细胞壁 Cell wall; st: 类囊体基质 Stroma thylakoid; gt: 类囊体基粒 Grana thylakoid.

3 讨论

本研究通过分析斑叶芒不同叶色区域(WG、GS、YS)的色素组成,发现YS区域的叶绿素a、叶绿素b及总叶绿素含量均极显著低于WG和GS($P < 0.01$),而类胡萝卜素含量、类胡萝卜素/总叶绿素及黄酮含量极显著高于WG和GS。这一结果与玉米(*Zea mays*)黄叶突变体(*yl-1*、*yl-2*、*yl-3*)的研究结论一致^[32],即光合色素比例失衡是叶片黄化的直接诱因。此外,较高的类胡萝卜素/总叶绿素被认为是黄化表型的关键指标^[33]。在黄金水蜡(*Ligustrum obtusifolium*)^[34]、银杏黄叶突变体^[35]及金叶榆(*Ulmus pumila* 'Jinye')^[36]中均观察到这一规律。本研

究中YS的类胡萝卜素/总叶绿素极显著高于WG和GS($P < 0.01$),进一步验证了类胡萝卜素相对积累对叶斑形成的影响。黄酮的积累会使叶片出现不同的黄化程度,本研究中黄酮在YS中的含量极显著高于WG和GS。黄酮作为光保护物质,可通过吸收紫外辐射减轻光氧化损伤;作为信号分子调控叶绿素降解相关基因的表达,促进叶绿素分解^[2,35]。相关研究表明,黄酮过量积累可抑制叶绿素合成关键酶(如谷氨酰-tRNA还原酶)的活性,导致叶色偏黄^[37]。尽管本研究未直接证实黄酮与叶斑形成的因果关系,但其与色素代谢的协同作用值得进一步探究。

叶色变异不仅受色素组成的调控,还与叶片组织结构密切相关。狗枣猕猴桃(*Actinidia kolomikta*)的白斑形成源于栅栏组织气室的光反射效应^[38]。本研究发现,YS区域的叶片厚度较WG和GS显著减少,且叶肉细胞排列疏松,胞间隙增大。分析这种结构可能通过减少光捕获效率,间接降低叶绿素需求,增加光散射,使类胡萝卜素及黄酮含量升高等途径影响叶色。同时,YS区域的角质层厚度显著高于WG和GS,在逆境下,植物可通过增加角质层厚度以防止叶片内部的水分流失并提高其抗逆性^[39]。超微结构观察显示,与WG和GS对比,YS的花环结构周围无淀粉粒,叶片结构的改变会促使光合作用速率下降,从而导致碳固定量减少,而植物为满足基本的生理需求会分解叶片中已有的淀粉粒进行能量供给。另外,YS叶绿体出现严重结构缺陷,表现为基粒片层断裂、淀粉粒异常积累及质体小球增多。叶绿体结构的完整性是叶绿素合成的先决条件^[40],而淀粉粒堆积(可能源于碳同化受阻^[41-42])和质体小球增生(脂溶性色素储存库^[43-44])会破坏叶绿体结构,使叶绿素合成受阻从而导致叶片黄化^[45]。尽管金叶连翘(*Forsythia koreana* 'Sun Gold')等黄叶植物也表现叶绿体退化^[33],但其缺乏淀粉粒的现象提示斑叶芒可能存在独特的碳代谢调控途径。YS的叶脉数量高于WG和GS,提示植物处于逆境时,通过增加叶片内的叶脉数量以提高物质的运输速率、增强光合作用能力与抗逆性^[46]。这些结构变异表明,YS叶斑的形成是植物应对环境胁迫(如强光、高温)的适应性策略,通过调整光合器官结构以平衡光能利用与光保护。

4 结论

本研究通过色素参数、色素组成及比例以及超微结构分析斑叶芒斑纹形成原因,得出叶绿体结构损伤导致叶绿素的合成减少是斑叶芒叶斑形成的主要原因,同时类胡萝卜素相对积累(类胡萝卜素/总叶绿素升高)强化了黄化表型。黄酮在YS中的显著积累可能通过光保护和叶绿素合成抑制双重作用参与叶斑调控,但其具体机制需结合分子试验验证。叶肉组织疏松化及叶绿体中淀粉粒和质体小球异常表明,斑叶芒可能通过结构调整适应环境。后续研究将整合代谢组与转录组数据,筛选调控叶斑形成的关键代谢物及候选基因,以解析其分子机制。

参考文献 References:

- [1] Jiang X R, Peng J G, Guo L, *et al.* Relationship between winter leaf reddening and carotenoids, reactive oxygen species in *Buxus microphylla* L. *Journal of Beijing Forestry University*, 2015, 37(6): 93–99.
姜雪茹, 彭金根, 郭翎, 等. 小叶黄杨冬季叶片呈色与其类胡萝卜素及活性氧关系研究. *北京林业大学学报*, 2015, 37(6): 93–99.
- [2] Xue F T, Liu X L, Liu Y H, *et al.* Photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of gold-coloured mutant leaves of *Ginkgo biloba*. *Journal of West China Forestry Science*, 2023, 52(4): 129–136.
薛芳婷, 刘新亮, 刘玉华, 等. 芽变黄叶银杏光合和叶绿素荧光特性. *西部林业科学*, 2023, 52(4): 129–136.
- [3] Zhang L, Wang G P, Ding Y P, *et al.* Hybrid sowing and leaf color differentiation of golden-leaf *Ginkgo biloba*. *Journal of Northeast Forestry University*, 2021, 49(11): 8–12, 22.
章雷, 王改萍, 丁延朋, 等. 金叶银杏杂交播种及其叶色分化. *东北林业大学学报*, 2021, 49(11): 8–12, 22.
- [4] Lev-Yadun S, Niemelä P. Leaf pseudo-variegation: definition, common types, and probably the defended models for real defensive leaf variegation mimicking them. *Flora*, 2017, 226: 82–88.
- [5] Tian Y C, Zhu Y, Cao W X. Monitoring leaf carbon and nitrogen status in wheat with color characteristics. *Acta Phytocologica Sinica*, 2005, 51(3): 357–360.
田永超, 朱艳, 曹卫星. 利用叶色特征监测小麦叶片的碳氮状况. *植物生态学报*, 2005, 51(3): 357–360.
- [6] Chen F, Tang X G, Dong Q, *et al.* Study on the seasonal change rules of pigment content and leaf color parameters of *Fraxinus*. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2012, 35(5): 20–24.

- 陈芳, 唐秀光, 董倩, 等. 金叶白蜡色素含量与叶色参数的年变化规律研究. 河北农业大学学报, 2012, 35(5): 20—24.
- [7] Ran H R, Zhang Y, Chen J C, *et al.* Research progress of leaf variegation in ornamental plants. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25(5): 704—717.
冉浩然, 张毓, 陈简村, 等. 观赏植物叶斑的研究进展. 植物遗传资源学报, 2024, 25(5): 704—717.
- [8] Zhong S F, Yang H, Chen C, *et al.* Phenotypic characterization of the wheat temperature-sensitive leaf color mutant and physical mapping of mutant gene by reduced-representation sequencing. *Plant Science*, 2023, 330: 111657.
- [9] Liu Y L, Zhang J Z, Li X D, *et al.* Effects of nitrogen fertilizer rate on leaf color of chimera *Hosta* 'Gold standard'. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(2): 93—100.
刘岳路, 张金政, 李晓东, 等. 氮肥施用量对嵌合体'金旗'玉簪叶色的影响. 草业学报, 2011, 20(2): 93—100.
- [10] Chen B, Li H Y, Liu X W, *et al.* Effects of different light intensities on morphogenesis and ultrastructure of *Gibasis pellucida* leaf. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(7): 175—185.
陈斌, 李洪瑶, 刘筱玮, 等. 不同光照强度对新娘草叶片形态建成及超微结构的影响. 草业学报, 2019, 28(7): 175—185.
- [11] Xu F, Fu C B, Yang Y F. Water affects morphogenesis of growing aquatic plant leaves. *Physical review letters*, 2020, 124(3): 038003.
- [12] Ma Y Y, Shi J C, Wang D J, *et al.* A point mutation in the gene encoding magnesium chelatase I subunit influences strawberry leaf color and metabolism. *Plant Physiology*, 2023, 192(4): 2737—2755.
- [13] Wang X C, Zhang L, Yue X H, *et al.* A preliminary study of relationship of leaf pigments content and structure with leaf color of *Sasa auricoma*. *World Bamboo and Rattan*, 2012, 10(6): 5—9.
王啸晨, 张磊, 岳祥华, 等. 菲黄竹叶片色素含量、结构与颜色之间关系初探. 世界竹藤通讯, 2012, 10(6): 5—9.
- [14] Cheng M Z, Meng F Y, Mo F L, *et al.* Insights into the molecular basis of a yellow leaf color mutant (ym) in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Scientia Horticulturae*, 2022, 293: 110743.
- [15] Wang F F, Chen N Z, Shen S H. iTRAQ-Based quantitative proteomics analysis reveals the mechanism of golden-yellow leaf mutant in hybrid paper mulberry. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 23(1): 127.
- [16] Zhang Z M. Morphological and physiological characteristics of *Lilium davidii* var. *unicolor* yellowing plant. Xining: Qinghai University, 2023.
张芷蔓. 兰州百合黄化植株形态及生理特性研究. 西宁: 青海大学, 2023.
- [17] Wang Z X, Yu Y F, Chen L, *et al.* Advances in leaf pigment composition, structure and photosynthetic characteristics of colored-leaf plants. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(1): 1—7.
王振兴, 于云飞, 陈丽, 等. 彩叶植物叶片色素组成、结构以及光合特性的研究进展. 植物生理学报, 2016, 52(1): 1—7.
- [18] Li Y Y, He D, Chen J C, *et al.* Identification and analysis of the type of leaf variegation of *Primulina pungentisepala*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, 49(11): 2388—2394.
李悦雅, 何栋, 陈简村, 等. 尖萼报春苣苔叶斑的观察与分析. 园艺学报, 2022, 49(11): 2388—2394.
- [19] Li J, Wen J, Wu K, *et al.* Integrating physiology, cytology, and transcriptome to reveal the leaf variegation mechanism in *Phalaenopsis* 'Chia E Yenlin Variegata' leaves. *Biomolecules*, 2024, 14(8): 963.
- [20] Chalenko E, Lysenko V, Kosolapov A, *et al.* Light green leaf sectors of variegated *Dracaena fragrans* plants show similar rates of oxygenic photosynthesis to that of normal, dark green leaf sectors. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2024, 215: 109040.
- [21] Zhang Q, Zhang M, Ding Y, *et al.* Composition of photosynthetic pigments and photosynthetic characteristics in green and yellow sectors of the variegated *Aucuba japonica* 'variegata' leaves. *Flora*, 2018, 240: 25—33.
- [22] Zhang Q, Huang J, Zhou P, *et al.* Cytological and transcriptomic analysis provide insights into the formation of variegated leaves in *Ilex altacrerensis* 'belgica aurea'. *Plants*, 2021, 10(3): 552.
- [23] Huang J F. Identification and application of landscape plants. Nanjing: Southeast University Press, 2015: 249.
黄金凤. 园林植物识别与应用. 南京: 东南大学出版社, 2015: 249.
- [24] Zhang Y M, Bai X M, Tian Y F, *et al.* Description of anatomical traits of leaves and adaptability of eight ornamental grasses. *Acta Agrestia Sinica*, 2019, 27(5): 1370—1376.
张咏梅, 白小明, 田彦锋, 等. 8种禾本科观赏草叶片解剖学特征的描述及其适应性分析. 草地学报, 2019, 27(5): 1370—1376.
- [25] Li X L, Liu K Q, Yang Z M, *et al.* Effect of drought stress on withered leaf rate and physiological indices of four ornamental grasses. *Acta Agrestia Sinica*, 2012, 20(1): 76—82.
李秀玲, 刘开强, 杨志民, 等. 干旱胁迫对4种观赏草枯叶率及生理指标的影响. 草地学报, 2012, 20(1): 76—82.

- [26] Xu Z M, Ding G C. Effects of copper and zinc compound stress on physiological, enrichment and transport characteristics of *Miscanthus sinensis* 'Zebrinus'. *Journal of Northeast Forestry University*, 2023, 51(11): 109–114, 124.
许志敏, 丁国昌. 铜锌复合胁迫对斑叶芒生理及富集转运特征的影响. *东北林业大学学报*, 2023, 51(11): 109–114, 124.
- [27] Li X Q, Yin Z, Yang J C, *et al.* Study on adaptability of twenty-three ornamental grasses in Nanjing. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2022, 34(4): 192–198.
李晓芹, 银征, 杨金财, 等. 23种观赏草在南京地区的适应性分析. *江西农业学报*, 2022, 34(4): 192–198.
- [28] Cui Q, Wu Y, Li D Z, *et al.* Changes of coloration and pigment compositions during leaf development of *Osmanthus fragrans* colour group cultivar. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2023, 47(2): 79–86.
崔祺, 吴响, 李东泽, 等. 彩叶桂叶片发育过程中叶色表型与色素成分变化. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2023, 47(2): 79–86.
- [29] He W, Wang L, Huang J F, *et al.* Determination method of total flavonoids in *Apocynum venetum* tea. *The Food Industry*, 2021, 42(8): 180–184.
何伟, 王莉, 黄景凤, 等. 罗布麻茶中总黄酮测定方法. *食品工业*, 2021, 42(8): 180–184.
- [30] Yuan J, Huang Y L. Determination of flavonoid content in the leaves of *Nadina domestica*. *Journal of Kaili University*, 2023, 41(3): 22–28.
苑静, 黄亚琳. 南天竹叶中黄酮含量的测定. *凯里学院学报*, 2023, 41(3): 22–28.
- [31] Kang Y, Pan J J, Chen J H, *et al.* Contents of pigments and anatomical structure of leaves in *Acer negundo* 'Aurea'. *Bulletin of Botanical Research*, 2023, 43(4): 591–600.
康莹, 潘晶晶, 陈建华, 等. 金叶复叶槭叶片色素与解剖结构. *植物研究*, 2023, 43(4): 591–600.
- [32] Yuan Y H, Fan J L, Yang W Z, *et al.* Photosynthetic characteristics studies of three maize yellow leaf mutants. *Current Biotechnology*, 2022, 12(1): 75–82.
袁钰涵, 樊佳丽, 杨文竹, 等. 3个玉米黄叶突变体的光合特性研究. *生物技术进展*, 2022, 12(1): 75–82.
- [33] Sun W W, Meng X M, Xu X Y, *et al.* Contents of pigments and anatomical structure in the leaves of *Forsythia koreana* 'Sun Gold'. *Bulletin of Botanical Research*, 2020, 40(3): 321–329.
孙旺旺, 孟宪敏, 徐秀源, 等. 金叶连翘叶片色素含量和解剖结构研究. *植物研究*, 2020, 40(3): 321–329.
- [34] Chen C, Li Y X, Zhu G C. Study on physio-biochemical traits and ultrastructure in 'Golden Wax' leaves with different colors. *Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science)*, 2024, 41(1): 9–16, 38.
陈聪, 李逸心, 朱桂才. '黄金水蜡'不同叶色叶片的生理生化与超微结构研究. *青岛农业大学学报(自然科学版)*, 2024, 41(1): 9–16, 38.
- [35] Wang Y F, Jiang Z D, Zhang A, *et al.* Changes of photosynthetic pigment content and chlorophyll fluorescence parameters during leaf etiolation of *Ginkgo biloba* L. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(10): 2220–2224.
王艺斐, 姜泽东, 张敖, 等. 银杏叶片黄化过程中光合色素含量和叶绿素荧光参数的变化特征研究. *西南农业学报*, 2020, 33(10): 2220–2224.
- [36] Hu Y M, Xu B X, Jing Y N, *et al.* The coloring and physiological index during the regreening of *Ulmus pumila* 'Jinye'. *Journal of Hebei Normal University of Science & Technology*, 2024, 38(3): 16–21.
胡亚梅, 徐蓓莹, 荆亚楠, 等. 中华金叶榆复绿过程中叶片呈色变化及其相关生理指标分析. *河北科技师范学院学报*, 2024, 38(3): 16–21.
- [37] Pan J Q, Tong X R, Guo B L. Progress of effects of light on plant flavonoids. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41(21): 3897–3903.
潘俊倩, 佟曦然, 郭宝林. 光对植物黄酮类化合物的影响研究进展. *中国中药杂志*, 2016, 41(21): 3897–3903.
- [38] Wang Z X, Cao J R, Qin H Y, *et al.* Common effect of pigment content and leaf structure on leaf color in *Actinidia kolomikta*. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(12): 1921–1926.
王振兴, 曹建冉, 秦红艳, 等. 狗枣猕猴桃彩叶色素含量和结构共同影响叶色. *植物生理学报*, 2016, 52(12): 1921–1926.
- [39] Yang W, Luo X Y, Wang W Q, *et al.* The role of plant cell wall in resistance to salt stress. *Plant Physiology Journal*, 2022, 58(3): 501–510.
杨蔚, 罗小燕, 王文强, 等. 细胞壁在植物抗盐胁迫中的作用. *植物生理学报*, 2022, 58(3): 501–510.
- [40] Zhang X N, Xiong L G, Wen B B, *et al.* Advances in leaf color variation of tea plant (*Camellia sinensis*). *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(4): 643–653.
张向娜, 熊立瑰, 温贝贝, 等. 茶树叶色变异研究进展. *植物生理学报*, 2020, 56(4): 643–653.

- [41] Micky B M, Abbas M A, El-Shhaby O A. Alterations in photosynthetic capacity and morpho-histological features of leaf in alfalfa plants subjected to water deficit-stress in different soil types. *Indian Journal of Plant Physiology*, 2018, 23(3): 426–443.
- [42] Das R. Interactive effect of elevated CO₂ and drought stress on leaf anatomy in brassica species. *International Journal of Environment and Climate Change*, 2021, 11(2): 97–108.
- [43] Liu Y, Ye J L, Zhu M, *et al.* Multi-omics analyses reveal the importance of chromoplast plastoglobules in carotenoid accumulation in citrus fruit. *The Plant Journal*, 2024, 117(3): 924–943.
- [44] Du L F. Study on physiological characteristics and genetic mapping of a spotted-leaf wheat mutant LF2010. Yangling: Northwest A & F University, 2014.
杜丽芬. 小麦斑点叶突变体 LF2010 的生理与遗传定位研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- [45] Lin T Z, Sun L T, Gong H B, *et al.* Identification and gene mapping of a *premature leaf senescence 5* mutant with starch accumulation in rice leaves. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2020, 43(3): 414–422.
林添资, 孙立亭, 龚红兵, 等. 水稻叶片淀粉累积早衰突变体 *pls5* 的鉴定及基因定位. *南京农业大学学报*, 2020, 43(3): 414–422.
- [46] Hu W S, Lu Z F, Meng F J, *et al.* The reduction in leaf area precedes that in photosynthesis under potassium deficiency: the importance of leaf anatomy. *New Phytologist*, 2020, 227(6): 1749–1763.