



冯英辉,俞金礼,刘金文.不同发育阶段红枫叶片呈色机制[J].黑龙江农业科学,2024(5):63-69.

不同发育阶段红枫叶片呈色机制

冯英辉,俞金礼,刘金文

(温州大学 生命与环境科学学院,浙江 温州 325035)

摘要:为了探究红枫叶色变化的生理和分子机制,以不同发育阶段叶色差异显著的3种叶片为材料,利用生物化学和转录组学方法对叶色变化相关的生理指标和差异基因进行检测和分析。结果表明,不同发育阶段红枫叶片由红色发育为绿色过程中,叶片中的叶绿素含量、叶绿素合成前体 ALA 与 PBG 含量和类胡萝卜素含量呈上升趋势,而花色素苷含量、总酚和类黄酮含量显著下降;转录组数据显示不同发育阶段的红枫叶片存在 6 931 个差异表达基因,花青素和类黄酮生物合成途径关键酶的编码基因 *CHS*、*ANS*、*CHI*、*HHT*、*F3'H*、*FLS*、*ART* 在红色叶片中上调表达,两个 MYB 转录因子基因 (*MYB2* 和 *MYB113*) 和两个蛋白激酶基因 (*TMK1* 和 *RUL1*) 在红色叶片中上调表达。本研究初步阐明了不同发育阶段红枫叶色变化的生理特征,鉴定了花青素合成途径相关的结构基因和调控基因,为进一步研究红枫叶色变化的分子机制提供了丰富的遗传信息。

关键词:红枫;花色素苷;转录组;叶色

红枫 (*Acer palmatum* ‘Atropurpureum’) 是槭树科槭属鸡爪槭的一个品种,是一种重要的园林绿化树种,具有丰富多彩的叶色和较高的观赏价值,国内主要分布在东北、西北和华南等地区。红枫叶片在不同发育阶段呈现红色、紫色和绿色等多彩的叶色变化,因其具有抗逆性、适应性和较高的观赏价值,被广泛用作园林绿化彩叶树种^[1]。

叶色是观赏植物最重要的特征之一,植物的叶色多态性是由多种色素含量的不同组合决定的,如叶绿素、类胡萝卜素和花青素等协同决定植物组织颜色^[2]。已有研究人员对叶片的色素种类、色素含量和比例、色素关键酶活性等生理指标进行了测定和分析,证明了彩叶植物的叶色变化与这些指标密切相关^[3-6]。近年来,高通量基因组测序技术已被广泛用于研究各种植物叶片颜色变化的分子机制^[7-8]。花青素在植物叶片着色中起到关键作用,花青素生物合成途径是苯丙烷类生物合成的重要途径之一。已有研究证实,苯丙烷类生物合成的许多结构基因如 *CHS*、*ANS*、*ANR*、*F3'H*、*CHI*、*F3H* 等和一些调控基因如 *MYB*、*bHLH* 和 *WD40* 等协同调控植物的叶色多彩表现^[9]。目前,已有一些槭树科的植物叶色变化的生理机制和决定叶色变化的基因被报道^[10-13]。但槭树属红枫等彩叶植物叶色变化的生理特征和

控制花青素生物合成的关键基因尚不清楚。因此,本研究以不同发育阶段的红枫叶片为研究对象,分析不同颜色叶片的叶绿素、类胡萝卜素、花色素苷、总酚、类黄酮含量、色素合成前体胆色素原 (PBG) 和 5-氨基酮戊氨酸 (ALA) 含量,同时利用转录组学 (RNA-seq) 技术鉴定不同颜色叶片参与调控叶色变化的差异表达基因 (DEG),以期初步理解不同发育阶段红枫叶色变化的生理机制和筛选调控叶色变化的关键基因,以为红枫等彩叶植物的基因工程育种奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验用红枫取自浙江省温州市瓯海区茶山高教园区温州大学校园内 (27°55'26"N, 120°41'30"E)。

1.2 材料

供试材料取自 2022 年 4 月 8 日发育初期红色叶片 (Ap-R)、6 月 10 日发育中期红绿混色叶片 (Ap-M) 和 8 月 18 日成熟期绿色叶片 (Ap-G), 3 个时期叶片取样 3 次重复,液氮速冻后保存于 -80 °C 冰箱备用。

1.3 方法

1.3.1 叶绿素和类胡萝卜素含量提取测定 称取 0.025 g 叶片,剪碎后利用无水乙醇和 80% 丙

收稿日期:2023-12-18

基金项目:浙江省自然科学基金 (LY20C160010)。

第一作者:冯英辉 (1998—),男,硕士研究生,从事植物分子遗传学研究。E-mail:2374120701@wzu.edu.cn。

通信作者:刘金文 (1977—),男,博士,硕导,从事植物分子遗传学研究。E-mail:ljw@wzu.edu.cn。

酮 1:1 混合液溶解提取, 放置于 30 ℃ 恒温箱中震荡至叶片无色, 离心取上清待测。利用分光光度计测定 440, 645 和 663 nm 吸光度(D)。每个处理 3 次重复。计算叶绿素和类胡萝卜素含量, 公式参考陈继卫等^[4]的方法。

1.3.2 PBG 和 ALA 含量测定 根据试剂盒(ZK-7843 和 ZK-7842, 上海臻科)使用说明操作, 称取 0.1 g 叶片, 在 900 μL 的 1×PBS 溶液中冰上研磨匀浆, 4 ℃ 下 3 000 g 离心 20 min, 取上清待测。加样反应, 测定 450 nm 的吸光度(D), 标准曲线计算分析 PBG 和 ALA 含量。每个处理 3 次重复。

1.3.3 花色素苷、总酚与类黄酮含量测定 称取 0.025 g 叶片, 加入 5 mL 0.1% 的 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸, 32 ℃ 摇床震荡提取, 12 000 r·min⁻¹, 离心 10 min, 取上清测 530, 320 和 280 nm 的吸光度, 利用公式计算花色素苷、总酚和类黄酮含量。每个处理 3 次重复。计算花色素苷、类黄酮和总酚含量, 公式参考罗安才等^[10]的方法。

1.3.4 转录组学检测及差异基因的定量分析 提取叶片组织总 RNA, 反转录后利用 Illumina Hisccq™ 4000 进行测序。以漾濞槭(*Acer yangbiense*)为参

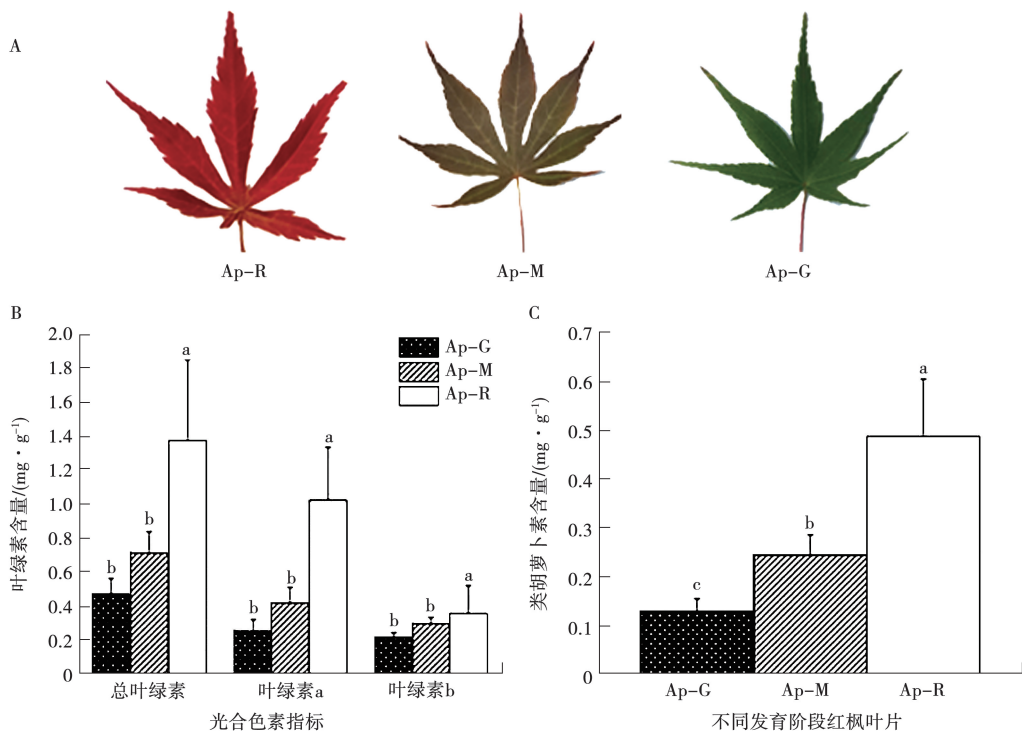
考转录组^[14], 使用 FPKM 法计算基因的表达量。采用 DESeq2 进行差异基因分析, 筛选阈值为 $\text{padj} < 0.05$ 且 $|\log_2 \text{FoldChange}| > 1$ 的差异基因(DEG)进行分析。差异基因的半定量和荧光定量分析采用 Liu 等^[15]方法。试验结果统计采用相对定量方法, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法对 qPCR 的结果进行分析。

1.3.5 统计分析 采用 SPSS 20 软件统计分析, 数据以平均值±标准偏差(Mean±SD)表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同发育阶段红枫叶色表型和光合色素含量变化

红枫在不同发育阶段叶片呈现不同颜色, 发育初期的叶片(Ap-R)为红色、发育中期的(Ap-M)叶片为红绿混合色、成熟期的叶片(Ap-G)为绿色(图 1A)。分析 3 种叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量变化, 发现在红枫叶色由红转绿过程中, 总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量呈现逐渐显著上升的趋势, 绿色叶片的总叶绿素含量和类胡萝卜素含量分别是红色叶片含量的 4.1 倍和 3.3 倍, 符合表型变化特征(图 1B、C)。



A. 不同发育阶段红枫叶色; Ap-R, 发育初期的红色叶片; Ap-M, 发育中期混色叶片; Ap-G, 成熟期绿色叶片; B. 不同发育阶段叶绿素含量; C. 不同发育阶段类胡萝卜素含量。

图 1 不同发育阶段红枫叶片叶色与光合色素含量变化

注: 图中不同小写字母表示处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同。

2.2 不同发育阶段红枫叶片花色素苷、总酚以及类黄酮含量变化

由图 2 可知,不同发育阶段红枫 3 种叶片花色素苷、总酚和类黄酮含量均在红色叶片(Ap-R)中含量最高,分别为 $1.928\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $7.784\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $9.768\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,在绿色叶片(Ap-G)中含量最低,分别为 $0.192\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $1.844\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $3.976\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,且红色显著高于绿色。

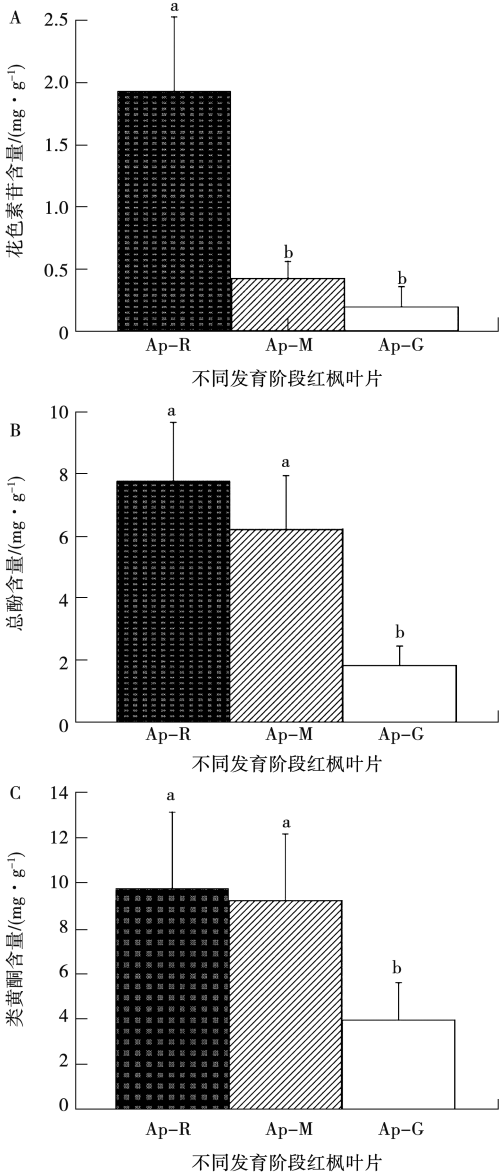


图 2 不同发育阶段红枫叶片花色素苷(A)、总酚(B)和类黄酮(C)含量变化

2.3 不同发育阶段红枫叶片色素合成前体含量变化

由图 3A 可知,3 种叶片中色素合成前体 ALA 的含量在红枫叶色由红转绿过程中,呈现

上升趋势,红色叶片(Ap-R)中的含量最低,为 $0.806\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,绿色叶片(Ap-G)中含量最高,达到了 $0.951\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,且两者差异显著。

内源 PBG 含量也随叶片由红转绿呈现逐渐上升的趋势,红色叶片中的含量为 $1.319\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,绿色叶片中含量达到了 $1.866\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,两者差异显著(图 3B)。

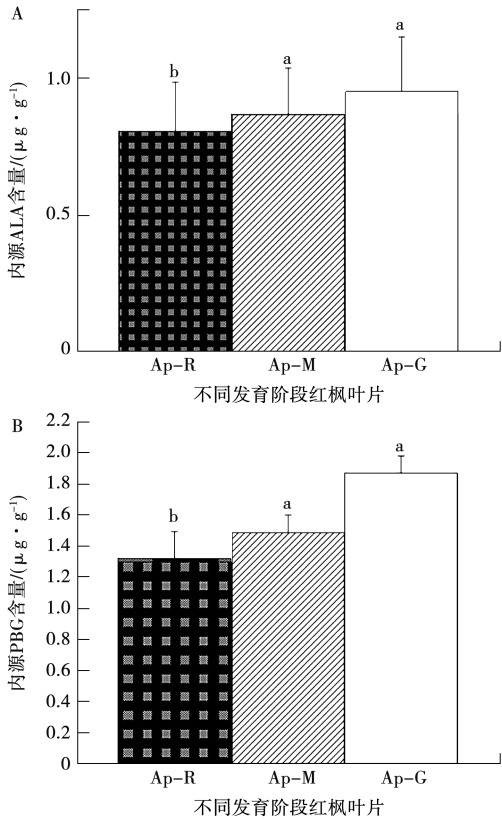


图 3 不同发育阶段红枫叶片 ALA(A)和 PBG(B)含量变化

2.4 不同发育阶段红枫叶片花青素生物合成途径结构基因的差异表达分析

为了从全基因组水平研究不同发育阶段红枫叶片叶色变化的分子基础,采用 RNA-Seq 技术分析了三类叶片的基因组,共获得 59.21 Gb 数据,采用 DESeq2 进行差异表达基因(DEG)分析发现 Ap-R 与 Ap-G 存在 5 804 个差异基因,Ap-R 与 Ap-M 存在 6 350 个差异基因,3 种颜色叶片共存在 6 931 个差异基因。为了进一步发掘和鉴定影响红枫叶色变化的关键基因,从转录组差异表达基因筛选出代表性的花青素生物合成途径基因和类黄酮合成相关的关键基因(表 1):查尔酮合成酶(*CHS*)、查尔酮异构酶(*CHI*)、类黄酮 3'-羟化酶(*F3'H*)、花青素合成酶(*ANS*)、黄酮 3-羟

化酶(*FLS*)、花青素鼠李糖基转移酶(*ART*)和 ω -羟基酸-羟基肉桂酰转移酶(*HHT*)进行了半定量和荧光定量 PCR 分析,结果如图 4 所示,不同发育阶段红枫叶片叶色变化过程中,红枫发育初

期红色叶片(Ap-R)中的这些与花青素/类黄酮合成相关的关键基因表达量显著高于成熟期的绿色叶片(Ap-G),半定量结果(图 4A)和荧光定量结果(图 4B)均与转录组结果一致。

表 1 不同发育阶段红枫叶片花青素和类黄酮合成途径基因

基因名称	蛋白数据库 ID	Log ₂ FC 值 (Ap-R/Ap-G)	表达趋势	基因名称	蛋白数据库 ID	Log ₂ FC 值 (Ap-R/Ap-G)	表达趋势
<i>CHS</i>	P48386	-3.021101529	上调	<i>HHT</i>	Q94CD1	-3.472454738	上调
<i>FLS</i>	Q9ZWQ9	-8.823362865	上调	<i>CHI</i>	Q45QI7	-2.054781309	上调
<i>CHS2</i>	Q9FSB9	-4.018291435	上调	<i>ART</i>	Q43716	-10.52621955	上调
<i>ANS</i>	P51091	-4.532967893	上调	<i>CHI3</i>	Q8VZW3	-3.512740829	上调
<i>F3'H</i>	Q9SD85	-3.580417903	上调				

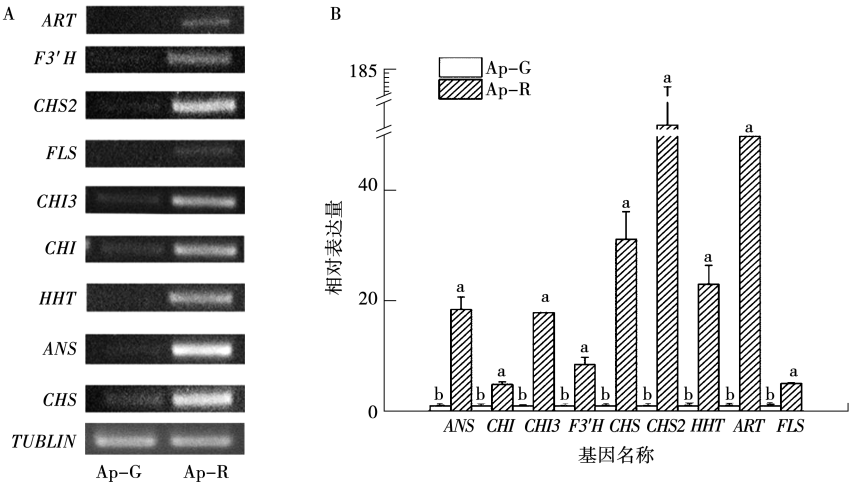


图 4 不同发育阶段红枫叶片花青素和类黄酮关键基因的表达变化

2.5 不同发育阶段红枫叶片叶色变化调控基因的表达分析

不同发育阶段红枫叶片的转录组分析发现了两个 MYB 转录因子,*MYB2*、*MYB113* 在红枫发育初期红色叶片高表达。另外,不同发育阶段红枫叶片的转录组也鉴定到了两个蛋白激酶基因,植物类受体蛋白激酶基因(*TMK1*)和富含亮氨酸

重复序列的类受体激酶基因(*RUL1*),在红枫发育初期红色叶片有较高表达。采用半定量和荧光定量方法分析这 4 个调控基因在不同发育阶段红枫叶片的表达情况,结果如图 5 所示,4 个基因的表达情况与转录组分析的结果一致,均在发育初期红色叶片高表达,表明鉴定到的两个 MYB 转录因子和两个激酶可能参与红枫叶色变化的调控。

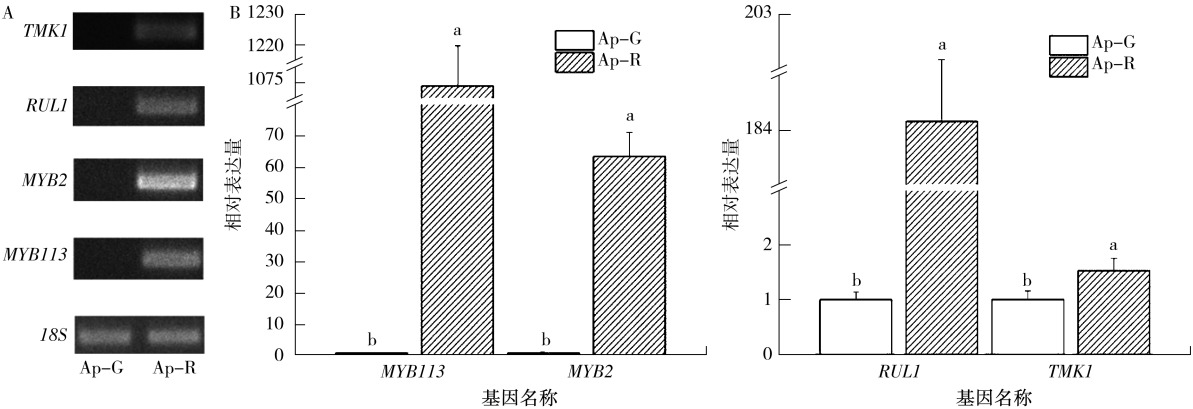


图 5 不同发育阶段红枫叶片叶色调控基因的表达变化

3 讨论

3.1 不同发育阶段红枫叶色变化的生理特征

叶色是园林植物育种的重要性状,是遗传和环境共同作用的结果^[16]。植物叶片中的色素含量、组分及分布的变化是叶色差异的重要原因,叶绿素、类胡萝卜素以及花青素这三大植物色素共同作用使得植物叶片呈现出多种色彩^[5]。叶绿素是植物和藻类进行光合作用的重要物质,也是植物绿色表型的主要决定因素^[17]。一般情况下,彩叶植物叶片的叶绿素含量往往低于绿色叶片。如金陵黄枫黄色叶片的叶绿素含量远低于鸡爪槭^[18];细叶鸡爪槭的叶绿素总含量在不同月份的总是高于紫红叶鸡爪槭^[10];黄绿叶、浅绿叶、深绿叶和紫绿叶胡萝卜突变体的总叶绿素含量极显著高于黄叶和紫叶胡萝卜突变体^[19]。本研究结果表明,不同发育阶段的红枫随着叶色逐渐变绿,叶绿素含量亦逐渐升高,达到显著差异水平($P < 0.05$)。已知植物内源性 ALA 和 PBG 是叶绿素合成的前体和中间体^[10],在 15 种酶的作用下经过多个催化途径形成叶绿素,途径中的前体物质和中间物含量的变化会影响叶绿素的积累^[16]。本研究测定了不同发育阶段红枫叶片叶绿素合成前体物质 ALA 和中间体 PBG,发现两者的含量与红枫叶片叶绿素的含量呈正相关,ALA 和 PBG 含量越高,叶片越绿,这与前人的结果一致^[10]。植物中的类胡萝卜素决定黄色到红色的变化,花青素决定红色到紫色的变化,两者与叶绿素协同调节植物组织的颜色^[20]。如银杏黄叶突变体的类胡萝卜素含量高于绿色叶片^[21];金陵丹枫红色叶片的类胡萝卜素含量高于金陵黄枫^[11];紫薯的块根积累的花青素含量大于红薯块根^[22];紫叶胡萝卜突变体的花色素苷含量显著高于野生型绿色胡萝卜叶片^[19]。本研究结果也显示,红枫发育初期的红色嫩叶的类胡萝卜素和花色素苷含量均显著高于成熟期的绿色叶片,与前人研究结果相同。

已有研究报道,胡萝卜和银杏存在的酚类物质、类黄酮和花色素苷等植物次生代谢产物,这些物质与叶色发育相关^[19,23]。另外,花色素苷可以在多酚氧化酶的作用下降解成酚类物质,总酚、类黄酮的含量对叶色的影响与花色素苷含量对叶色的影响具有一致性^[24]。本研究结果表明,在不同发育阶段红枫的叶色变化过程中,类黄酮和总酚的含量与花青素的含量具有正相关性,均在红枫发育初期红色叶片中含量最高。

3.2 不同发育阶段红枫叶色变化的分子特征

转录组测序技术已被用于研究植物叶色的形成^[9]、蔬菜与花的颜色变化^[25-26]和果实的发育^[27]等代谢和发育过程。最近,槭属植物漾濞槭的基因组解析,为分子水平研究槭属的其他物种奠定了坚实的遗传学信息基础^[14]。花青素/类黄酮是决定植物器官颜色的最重要的植物色素之一,植物花青素含量被证明与花青素生物合成途径中编码结构酶的关键基因的差异表达有关^[7-9]。已有研究证实,植物体内广泛存在的一些转录因子如 MYB、bHLH 和 WD40 等调控叶色的变化^[28]。如花青素生物合成中的一些关键结构基因如 *PAL*、*CHS*、*CHI*、*F3'H*、*DFR*、*ANS*、*FLS* 和 *UFGT* 已经在茶树、枣和瓜叶菊等植物中被鉴定^[29-31]。*CHS* 负责催化 4-香豆酰辅酶 A 产生柚配基查尔酮,之后在 *CHI* 的作用下产生黄烷酮,在 *FLS* 催化下形成黄酮醇^[19]。*F3'H* 催化二氢山奈酚生成二氢槲皮素,然后在 *ANS* 催化下生成有色花青素^[32]。本研究的转录组分析鉴定了不同发育阶段 3 种颜色差异的红枫叶片共存在 6 931 个差异基因, RNA-Seq 数据发现花青素生物合成途径的两个 *CHS*、两个 *CHI* 以及 *F3'H*、*ANS* 和 *FLS* 共 7 个基因在红色叶片中上调表达,荧光定量 PCR 结果也揭示了同样的表达趋势,这与牡丹(*Paeonia qiui*)花色变化的研究结果一致^[33]。已有研究显示花青素生物合成途径中产物的糖基化修饰可以增强花青素的稳定性和水溶性^[34]。本研究的转录组分析鉴定到了一个花青素鼠李糖基转移酶(*ART*)在红色叶片高表达,表明糖基化修饰可能参与不同发育阶段红枫叶片的颜色变化。另外,有研究显示 *HHT* 是苯丙烷生物合成的关键酶,其可能在砂梨果实的褐色/绿色性状的形成中起作用^[35],本研究也鉴定到了一个在红色叶片高表达的 *HHT* 基因,其可能是影响叶色变化的关键基因。

花青素/类黄酮的生物合成除了与结构基因的变化相关,还受到多种转录因子的调节,如 MYB、bHLH、WD40 和 WRKY^[16]。MYB 是植物花青素生物合成的核心转录因子,能与 bHLH 和 WD40 相互作用,形成 MYB-bHLH-WD40 调控复合体,以进一步诱导花青素在植物中的生物合成和积累^[36]。在本研究中,红枫的 *MYB2* 和 *MYB113* 在红色嫩叶中高表达,它们可能是红枫发育初期红色叶中花青素积累的关键调节因子,

正向调控花青素合成基因的表达。

磷酸化是蛋白质翻译后修饰中最为常见的类型之一,已有一些报道证实磷酸化调控植物花色素苷的生物合成。如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的MPK4介导MYB75的磷酸化影响花青素的积累^[37],苹果(*Malus pumila* Mill.)的MdMPK4响应光诱导被激活,磷酸化修饰苹果MdMYB1以增加其稳定性,从而促进果实花青素的积累^[38]。本研究在不同发育阶段的红枫叶片转录组中鉴定了两个激酶基因*TMK1*和*RUL1*,可能参与叶片花青素的变化。然而,蛋白质磷酸化在红枫叶片花青素积累中的作用机制仍需进一步通过遗传学手段证实。

4 结论

不同发育阶段红枫叶片由红色发育为绿色过程中,叶片中的叶绿素含量、叶绿素合成前体ALA与PBG含量和类胡萝卜素含量呈上升趋势,而花色素苷含量、总酚和类黄酮含量显著下降;转录组数据显示不同发育阶段的红枫叶片存在6 931个差异表达基因,花青素和类黄酮生物合成途径关键酶的7个编码基因*CHS*、*ANS*、*CHI*、*HHT*、*F3'H*、*FLS*、*ART*在红色叶片中上调表达。同时发现两个MYB转录因子基因(*MYB2*和*MYB113*)和两个蛋白激酶基因(*TMK1*和*RUL1*)在红色叶片中上调表达。说明,不同发育阶段红枫叶片颜色的变化由植物色素如叶绿素、花色素苷和类胡萝卜素与植物次生代谢产物酚类物质共同决定,关键的色素合成前体物质ALA和PBG参与叶片颜色的转变。花青素/类黄酮生物合成途径基因和可能调控该途径的相关转录因子及可能的蛋白质翻译后修饰协同在分子水平调控相关色素的含量,进而使叶片呈现不同的颜色。

参考文献:

- [1] 丁婷,方志慧,唐婧婧,等.红枫栽培技术及园林实践分析[J].现代园艺,2020,43(23):109-110.
- [2] LI X, LI Y, ZHAO M H, et al. Molecular and metabolic insights into anthocyanin biosynthesis for leaf color change in chokecherry (*Padus virginiana*) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10697.
- [3] MARIËN B, BALZAROLO M, DOX I, et al. Detecting the onset of autumn leaf senescence in deciduous forest trees of the temperate zone [J]. The New Phytologist, 2019, 224(1): 166-176.
- [4] 陈继卫,沈朝栋,贾玉芳,等.红枫秋冬转色期叶色变化的生理特性[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2010,36(2):181-186.
- [5] 徐明远,何鹏,赖伟,等.植物叶色变异分子机制研究进展[J].分子植物育种,2021,19(10):3448-3455.
- [6] 李利霞.鸡爪槭叶色变化机制的研究[D].重庆:重庆师范大学,2015.
- [7] 王玉书,王欢,范震宇,等.基于转录组测序的羽衣甘蓝叶色相关基因分析[J].基因组学与应用生物学,2020,39(1):200-206.
- [8] JIANG Y, WANG Q, SHEN Q Q, et al. Transcriptome analysis reveals genes associated with leaf color mutants in *Cymbidium longibracteatum* [J]. Tree Genetics & Genomes, 2020, 16(3): 44.
- [9] GAO Y F, ZHAO D H, ZHANG J Q, et al. De novo transcriptome sequencing and anthocyanin metabolite analysis reveals leaf color of *Acer pseudosieboldianum* in autumn [J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 383.
- [10] 罗安才,阎晓灵,李利霞,等.鸡爪槭叶色变化机制研究[J].江苏农业科学,2018,46(22):118-122.
- [11] 朱璐,闻婧,马秋月,等.鸡爪槭金陵丹枫和金陵黄枫叶片呈色分析[J].江苏农业学报,2022,38(2):521-527.
- [12] 梁俊林,张晓蓉,唐实玉,等.光照强度对鸡爪槭叶色变化生理的影响[J].应用与环境生物学报,2020,26(3):597-602.
- [13] 楚爱香,张要战,王萌萌.四种槭树属(*Acer*)植物秋色叶变化与色素含量和可溶性糖的关系[J].江西农业大学学报,2013,35(1):108-111,137.
- [14] YANG J, WARISS H M, TAO L D, et al. De novo genome assembly of the endangered *Acer yangbiense*, a plant species with extremely small populations endemic to Yunnan Province, China [J]. GigaScience, 2019, 8(7): giz085.
- [15] LIU J W, ZHOU W B, LIU G F, et al. The conserved endoribonuclease YbeY is required for chloroplast ribosomal RNA processing in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2015, 168(1): 205-221.
- [16] 张磊,曹德美,胡建军.植物叶色形成调控机制研究进展[J].植物遗传资源学报,2021,22(2):293-303.
- [17] 赵宇璇,刘真真,常双锋,等.胡萝卜叶色突变体叶色参数和色素含量及其相关性分析[J].江苏农业科学,2022,50(4):100-104.
- [18] 刘伟,王俊斌,李萌,等.基于转录组测序的银杏类黄酮生物合成关键基因表达分析[J].中草药,2018,49(23):5633-5639.
- [19] CHEN Z, LU X Y, XUAN Y, et al. Transcriptome analysis based on a combination of sequencing platforms provides insights into leaf pigmentation in *Acer rubrum* [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 240.
- [20] ZHANG Q, WANG L L, LIU Z G, et al. Transcriptome and metabolome profiling unveil the mechanisms of *Ziziphus jujuba* Mill. peel coloration [J]. Food Chemistry, 2020, 312: 125903.
- [21] LI W X, YANG S B, LU Z G, et al. Cytological, physiological, and transcriptomic analyses of golden leaf coloration in *Ginkgo biloba* L. [J]. Horticulture Research, 2018, 5: 12.
- [22] MANO H, OGASAWARA F, SATO K, et al. Isolation of a regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in tuberous

- roots of purple-fleshed sweet potato [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(3): 1252-1268.
- [23] MASUDA T, FUJITA Y. Regulation and evolution of chlorophyll metabolism [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences: Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 2008, 7(10): 1131-1149.
- [24] 崔舜, 邱国金, 吴茜, 等. 彩叶紫薇新品种红火球与仑山 1 号的叶色及生理变化特性 [J]. *贵州农业科学*, 2020, 48(9): 16-21.
- [25] KODAMA M, BRINCH-PEDERSEN H, SHARMA S, et al. Identification of transcription factor genes involved in anthocyanin biosynthesis in carrot (*Daucus carota* L.) using RNA-Seq [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 811.
- [26] QU Y, OU Z, YANG F S, et al. The study of transcriptome sequencing for flower coloration in different anthesis stages of alpine ornamental herb (*Meconopsis* 'Lingholm') [J]. *Gene*, 2019, 689: 220-226.
- [27] SHI L Y, CHEN X, CHEN W, et al. Comparative transcriptomic analysis of white and red Chinese bayberry (*Myrica rubra*) fruits reveals flavonoid biosynthesis regulation [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 235: 9-20.
- [28] LI S S, LI Q Z, TANG L, et al. Pigment comparison and expression of chlorophyll metabolism genes in yellow and green *Acer palmatum* leaves [J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2017; CJPS-2016-0307.
- [29] 蒋会兵, 夏丽飞, 田易萍, 等. 基于转录组测序的紫芽茶树花青素合成相关基因分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(5): 967-978.
- [30] LI S P, DENG B L, TIAN S, et al. Metabolic and transcriptomic analyses reveal different metabolite biosynthesis profiles between leaf buds and mature leaves in *Ziziphus jujuba* Mill [J]. *Food Chemistry*, 2021, 347: 129005.
- [31] LU C F, LI Y J, CUI Y M, et al. Isolation and functional analysis of genes involved in polyacylated anthocyanin biosynthesis in blue *Senecio cruentus* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 640746.
- [32] WAN L Y, LEI Y, YAN L Y, et al. Transcriptome and metabolome reveal redirection of flavonoids in a white testa peanut mutant [J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 161.
- [33] LUO J R, DUAN J J, HUO D, et al. Transcriptomic analysis reveals transcription factors related to leaf anthocyanin biosynthesis in *Paeonia qiui* [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2186.
- [34] 闫雅如, 齐博文, 莫婷, 等. 鼠李糖基转移酶研究进展 [J]. *有机化学*, 2018, 38(9): 2281-2295.
- [35] 吕照清, 任丹丹, 周贺, 等. '黄花'梨及其芽变'绿黄花'梨 *HHT* 基因克隆与表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2016, 36(6): 1105-1109.
- [36] BEALE S I. Green genes gleaned [J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(7): 309-312.
- [37] LI S N, WANG W Y, GAO J L, et al. MYB75 phosphorylation by MPK4 is required for light-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2016, 28(11): 2866-2883.
- [38] YANG T, MA H Y, LI Y, et al. Apple MPK4 mediates phosphorylation of MYB1 to enhance light-induced anthocyanin accumulation [J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2021, 106(6): 1728-1745.

Mechanism of Leaf Color Change in Red Maple at Different Development Stages

FENG Yinghui, YU Jinli, LIU Jinwen

(College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China)

Abstract: In order to explore the physiological and molecular mechanisms of leaf color change in red maple, three color types of leaves with significant differences at different developmental stages were used as experimental materials and biochemical and transcriptome sequencing analysis were carried out to clarify and analyze physiological characteristics and differential genes related to leaf color changes. The results showed that the chlorophyll content, chlorophyll synthesis precursor ALA and PBG content, and carotenoid content significantly increased and anthocyanin content, total phenol and flavonoid content significantly decreased. Transcriptome analysis showed that there were 6 931 differentially expressed genes in red maple leaves at different developmental stages. The structural genes *CHS*, *ANS*, *CHI*, *HHT*, *F3'H*, *FLS*, and *ART*, which were key enzymes in the anthocyanin biosynthesis pathway, were highly expressed in the red leaves. Two gens of MYB transcription factors (*MYB2* and *MYB113*) and two gens of protein kinases (*TMK1* and *RUL1*) were highly expressed in the red leaves. The study preliminarily elucidated the physiological characteristics of leaf color differences and identified structural and regulatory genes related to anthocyanin synthesis pathways in red maple at different developmental stages, which will provide rich genetic information for further research on the molecular mechanisms of leaf color changes in red maple.

Keywords: *Acer palmatum* 'Atropurpureum'; anthocyanins; transcriptome; leaf color