

王红梅,王永平,陈丽如,等. 三角槭秋叶色素的测定及时序变化分析[J]. 江苏农业科学,2017,45(20):228-230.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.20.057

三角槭秋叶色素的测定及时序变化分析

王红梅,王永平,陈丽如,王 程

(江苏农林职业技术学院,江苏句容 212400)

摘要:以三角槭叶片为试验材料,比较了不同浸提液和浸提时间对色素浸提效果的影响,并对测定期内温湿度的变化与叶绿素、类胡萝卜素、花青素含量变化的相关性进行了分析。结果发现,适合叶绿素的浸提液为丙酮:乙醇=1:1,浸提时间为 50 h;适合花青素的浸提液为 0.1 mol/L 的 HCl,浸提时间为 50 h。测定期内随着温度的降低,叶绿素、类胡萝卜素都呈下降趋势,而花青素的含量呈上升趋势。叶绿素、类胡萝卜素、花青素与测定期内平均温度的相关性达显著水平,而与湿度的相关性不强。

关键词:三角槭;叶绿素;类胡萝卜素;花青素;时序变化;温度

中图分类号:S792.350.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)20-0228-03

三角槭(*Acer buergerianum* Miq.)又名三角枫,为槭树科(Aceraceae)槭属落叶乔木,因其叶片秋季变为暗红色或橙红色,成为一种良好的彩叶观赏树种。其主要分布区位于长江流域,华北、华南、西南各省也有栽培^[1]。对于彩叶树种变色机制的研究,国外起步较早,早在 20 世纪 90 年代,已有学者对红叶鸡爪槭和红花槭在不同环境条件下叶色的变化进行了研究^[2-3]。近年来,国内关于槭树属植物的变色生理在红枫、紫花槭、白牛槭、拧筋槭、茶条槭、五角槭、自由人槭、红花槭等种或品种中已经有相关报道^[4-7],而对于三角枫变色机制的研究仅荣立莘等^[1]进行了探索。

本研究以栽培于江苏农林职业技术学院内的三角槭优良单株为试验材料,研究其转色期叶片中叶绿素、花青素含量的变化,分析测定期内温湿度的变化与色素含量的关系,为进一步研究三角槭叶色变化的生理机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为三角槭优良单株,现栽培于江苏农林职业技术学院,该单株生长健壮,于秋季叶色转为亮红色,落叶初期为 12 月。

1.2 试验方法

1.2.1 取样 本试验于秋季三角槭进入转色期开始测定,试验期为 2015 年 10 月 28 日至 12 月 2 日。每周采样 1 次,采样时取树冠向阳面中部当年生枝条的叶片^[4,8-9],同时利用温湿度测定仪观测采样期前 1 周内的温湿度变化。

1.2.2 色素的提取

1.2.2.1 叶绿素的提取 将采集的叶片用清水冲洗干净,擦干,避开主脉,剪碎,并混合均匀^[8]。称取剪碎的叶片 0.2 g,放入 50 mL 的三角瓶中,加入浸提液 20 mL。浸提液分别为

80% 丙酮、丙酮:无水乙醇=1:1、95% 乙醇。倒入浸提液后立即用保鲜膜封口,并用黑色塑料膜将整个瓶子包裹起来,防止漏光。将培养瓶放置于 32 ℃ 的环境下避光恒温进行浸提,浸提时间分别设定 40、45、50 h,浸提过程中摇动几次。试验采用双因素完全随机组合设计,每个试验处理重复 3 次。

1.2.2.2 花青素的提取 称取剪碎的叶片 1 g,放入 50 mL 三角瓶,加入 0.1 mol/L 的 HCl 10 mL,封口,遮光(方法同叶绿素的提取),采用单因素试验设计,试验因子为浸提时间(40、45、50 h),每个处理重复 3 次。

1.2.3 光密度的测定 用分光光度计在 470、645、646、649、663、665 nm 的波长下测定叶绿素的 D 值,在 530 nm 下测定花青素的 D 值^[10]。

1.2.4 色素的计算 色素计算公式分别用 3 种不同浸提液的色素浓度(mg/L)的计算公式进行计算,并对计算结果进行比较。80% 丙酮作为浸提液的的计算公式为:

$$C_a = 12.72 \times D_{663 \text{ nm}} - 2.59 \times D_{645 \text{ nm}}; \quad (1)$$

$$C_b = 22.88 \times D_{645 \text{ nm}} - 4.67 \times D_{663 \text{ nm}}; \quad (2)$$

$$C_{\text{car}} = (1\,000 \times D_{470 \text{ nm}} - 3.27 \times C_a - 104 \times C_b) / 229. \quad (3)$$

丙酮:乙醇=1:1 为浸提液的计算公式为:

$$C_a = 12.21 \times D_{663 \text{ nm}} - 2.81 \times D_{646 \text{ nm}}; \quad (4)$$

$$C_b = 20.13 \times D_{646 \text{ nm}} - 5.03 \times D_{663 \text{ nm}}; \quad (5)$$

$$C_{\text{car}} = (1\,000 \times D_{470 \text{ nm}} - 3.27 \times C_a - 104 \times C_b) / 229. \quad (6)$$

95% 乙醇作为浸提液时的计算公式为:

$$C_a = 13.95 \times D_{665 \text{ nm}} - 6.88 \times D_{649 \text{ nm}}; \quad (7)$$

$$C_b = 24.96 \times D_{649 \text{ nm}} - 7.32 \times D_{665 \text{ nm}}; \quad (8)$$

$$C_{\text{car}} = (1\,000 \times D_{470 \text{ nm}} - 2.05 \times C_a - 114 \times C_b) / 245^{[11]}. \quad (9)$$

将上述浓度计算结果转换为色素含量,利用公式:

$$\text{色素含量 (mg/g)} = \text{色素浓度 (mg/L)} \times \text{浸提液体积 (mL)} / [1\,000 \times \text{叶片质量 (g)}]; \quad (10)$$

计算色素的相对含量^[12]。并对不同计算公式的计算结果进行误差率的对比。

花青素的计算,以 1 g 鲜质量叶在 10 mL 浸提液中的 D 值为 0.1 时的花青素浓度记为 1 个色素单位,计算花青素相对含量(色素单位)^[4,13-17]。

收稿日期:2016-05-04

基金项目:江苏省林业三新工程[编号:LYSX(2015)01]。

作者简介:王红梅(1976—),女,河北任丘人,硕士,副教授,主要从事林木遗传育种等专业课程教学与研究。E-mail:whmei132@sohu.com。

1.2.5 温湿度的测定 空气温度和湿度的观测,利用空气温湿度自动记录仪于色素测定的前 1 周开始,每天进行观测和记录。统计到测定时为止 1 周的大气湿湿度的最高、最低、平均值以及极差,并与色素含量变化进行相关性分析^[13]。

2 结果与分析

2.1 叶绿素的不同浸提方法的比较

2.1.1 不同浸提效果比较 在比较不同浸提效果时,色素浓

度的计算公式分别采用式(1)~(9),色素含量的计算利用公式(10),将计算出的色素含量采用 SPSS 19.0 进行方差分析和多重比较(表 1)。研究发现,处理 4、5、6 的叶绿素 a、叶绿素 b 的平均含量之间没有显著差异,而这 3 个处理与其他各处理间均存在显著差异。类胡萝卜素平均含量在处理 4~9 之间无显著差异,而与其他处理间差异显著。综合分析得出:以丙酮与乙醇=1:1 的浸提液浸提效果最好,与其他 2 种浸提液间存在显著差异;而不同浸提时间的各处理间差异不显著。

表 1 不同浸提效果比较

处理号	浸提液	浸提时间(h)	叶绿素 a 平均含量(mg/g)	叶绿素 b 平均含量(mg/g)	类胡萝卜素平均含量(mg/g)
1	80% 丙酮	40	1.23cd	0.18c	0.21b
2	80% 丙酮	45	1.18d	0.24c	0.24b
3	80% 丙酮	50	1.32c	0.19c	0.25b
4	丙酮:无水乙醇=1:1	40	2.70a	0.95a	0.69a
5	丙酮:无水乙醇=1:1	45	2.71a	0.98a	0.70a
6	丙酮:无水乙醇=1:1	50	2.72a	1.01a	0.69a
7	95% 乙醇	40	2.11b	0.53b	0.69a
8	95% 乙醇	45	2.09b	0.54b	0.69a
9	95% 乙醇	50	2.02b	0.54b	0.67a

注:同一列数值后不同字母表示在 0.05 水平存在显著差异。

2.1.2 不同色素计算公式的比较 浸提液不同,色素的计算公式也不同。固定浸提时间为 50 h,以 3 种不同浸提液浸提色素,并用相应的计算公式进行计算,对其计算结果与采用公式(4)~(6)计算的结果进行比较。以(4)~(6)计算结果为实测值,其他公式计算的为测定值,利用公式:误差率=(测定值-实测值)/实测值×100%,计算不同测定公式的误差率(表 2)。

表 2 各浸提计算公式误差率比较

浸提液种类	叶绿素 a 含量的误差率(%)	叶绿素 b 含量的误差率(%)	类胡萝卜素含量的误差率(%)
80% 丙酮	5.30	57.9	-16.00
丙酮:无水乙醇=1:1	0.00	0.00	0.00
95% 乙醇	1.49	35.2	-22.39

经误差率比较发现,采用不同浸提液计算公式的计算结果误差率相差很大(表 2)。这就说明,在进行色素吸光度测定时波长的选择必须与浸提液的吸收峰对应,计算也必须运用相应的计算公式,而不能套用 Lichtenthaler 等对 Arnon 法进行的修正公式。

2.2 叶绿素的时序性变化

色素时序性变化的试验,均采用浸提液 2(丙酮:乙醇=1:1),浸提时间为 50 h。在测定期内,每 7 d 测定 1 次数据。研究发现,从 2015 年 10 月至 12 月,三角槭的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素 a+b 均呈短暂上升后急速下降,叶绿素 a+b 的含量从最大的 4.19 mg/g 降至 0.27 mg/g,类胡萝卜素含量也有所下降,但下降幅度较为平缓(图 1)。

2.3 花青素的时效性变化

研究发现,在测定期内花青素的相对含量随着时间的变化呈逐渐增加的趋势,由 7.30 增至 17.50(图 2)。

2.4 花青素相对含量、类胡萝卜素与总叶绿素比值的变化

研究发现,在测定期内,花青素与总叶绿素比值呈上升趋

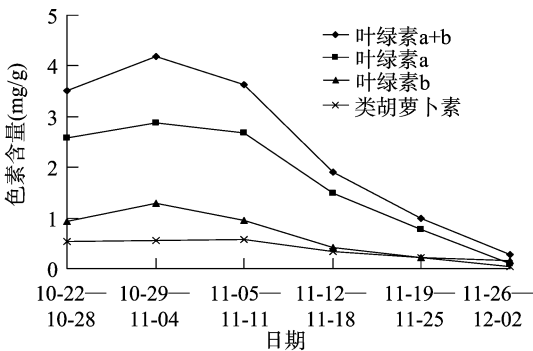


图 1 色素的时序变化

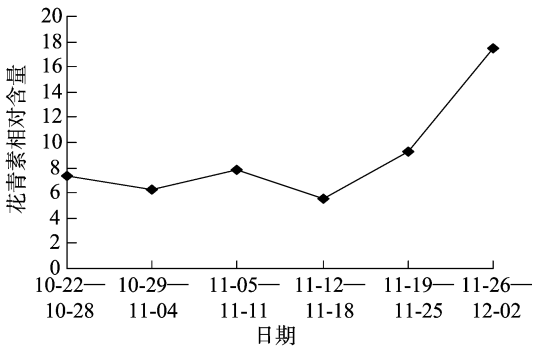


图 2 花青素的时序变化

势,但开始上升较为缓慢,至 11 月中旬后,迅速上升。而叶绿素与类胡萝卜素比值变化幅度比较小(图 3)。因此,测定株表现在叶片颜色上是由绿变黄并不明显,但随着花青素含量的增加,叶片呈现较明显的红色。

2.5 测定期内温湿度的变化

测定期内平均温度呈下降趋势,由 19.9℃ 下降到 10.8℃(图 4)。同时,平均湿度差呈现类似的下降趋势(图 5)。

2.6 叶绿素、花青素与温湿度的相关性分析

对叶绿素和花青素含量的变化与温湿度变化进行相关性

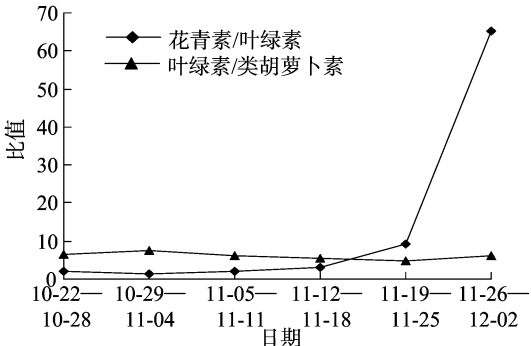


图3 花青素、叶绿素、类胡萝卜素比值

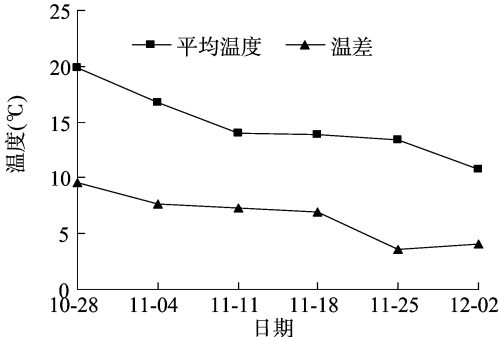


图4 测定期内温度变化

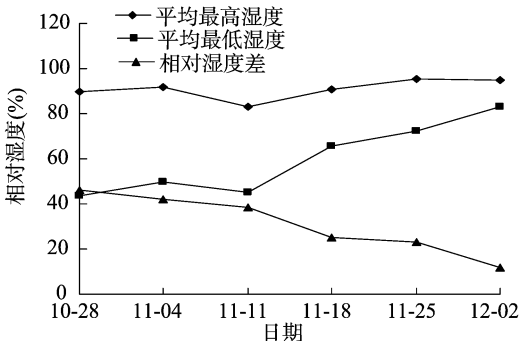


图5 测定期内相对湿度的变化

分析,结果发现,叶绿素 a、类胡萝卜素的含量均与平均气温之间存在较强的正相关,即随着气温的降低,叶绿素、类胡萝卜素含量均降低。其含量与相对湿度的相关性不强,即色素含量的变化受湿度影响较小。花青素的含量与平均气温间存在较强的负相关,随着气温的降低,花青素含量逐渐增加,反映了花青素在不断的合成和积累(表 3)。因此,叶片的颜色也

表 3 叶绿素、花青素与温湿度的相关性

性状	平均气温	温差	最高湿度	最低湿度	湿度差
叶绿素 a	0.887 *	0.159	-0.222	-0.235	0.221
	$P=0.018$	$P=0.763$	$P=0.673$	$P=0.654$	$P=0.674$
叶绿素 b	0.756	0.354	-0.484	-0.444	0.393
	$P=0.082$	$P=0.491$	$P=0.330$	$P=0.377$	$P=0.441$
类胡萝卜素	0.906 *	0.093	-0.122	-0.143	0.140
	$P=0.013$	$P=0.860$	$P=0.817$	$P=0.787$	$P=0.792$
花青素	-0.842 *	0.512	-0.319	-0.322	0.297
	$P=0.036$	$P=0.299$	$P=0.538$	$P=0.533$	$P=0.567$

逐渐变为红色。

3 结论与讨论

在三角槭叶片色素和花青素测定中,叶绿素的浸提液以丙酮:乙醇=1:1,浸提 50 h,效果较好。使用不同浸提液必须使用此浸提液最大吸光度下的计算公式,而不能为了简便选择固定公式。

在色素含量的时序性变化中发现,随着平均气温的降低,叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素均呈下降的趋势,而且叶绿素 a、类胡萝卜素与平均气温之间存在较强的正相关。花青素的含量随着平均气温的降低而升高,两者呈现负的相关。

参考文献:

[1] 荣立苹,李倩中,李淑顺,等. 三角枫及其变异株转色期叶色变化生理[J]. 江苏农业学报,2011,27(5):1089-1092.

[2] Deal D L, Raulston J C, Hinesley L E. Leaf color retention, dark respiration, and growth of red-leaved Japanese maples under high night temperatures [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1990, 115(1):135-140.

[3] Messenger A S, Hruby B A. Response of interveinally chlorotic red maple trees treated with medicaps or by soil acidification[J]. Journal of Environmental Horticulture, 1990, 8(1):5-9.

[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] 孙波,郑德承,崔惠梅. 紫花槭秋季叶色的变化规律[J]. 东北林业大学学报,2009,37(2):14-15.

[6] 庞秋颖,卓丽环. 槭树树冠秋季变色过程中叶片生理指标的空间差异[J]. 东北林业大学学报,2007,35(6):16-17,20.

[7] 冯立娟,苑兆和,尹燕雷,等. 槭属 2 品种叶变色期花青苷含量与相关酶活性的变化[J]. 林业科学,2009,45(8):56-60.

[8] 荣立苹,李倩中,李淑顺,等. 鸡爪槭黄色品种叶片转色期生理变化[J]. 西北农业学报,2012,21(1):187-191.

[9] 魏媛,闫伟,杨瑞. 四种秋色叶树种转色期叶色变化的生理特性[J]. 现代园艺,2014(7):17-19.

[10] 刘青,刘苑秋,李超. 城市森林斑块对温湿度的影响研究[J]. 中国农学通报,2013,29(7):35-39.

[11] 黄利斌,施大伟,周鹏,等. 金焰彩染色素组成与叶片呈色的关系[J]. 江苏林业科技,2015,42(1):8-10,39.

[12] 何春霞,李吉跃,张燕香,等. 5 种绿化树种叶片比叶重、光合色素含量和 $\delta^{13}C$ 的开度与方位差异[J]. 植物生态学报,2010,34(2):134-143.

[13] 李效文,陈秋夏,郑坚. 枫香秋叶色素变化及与环境因子的关系[J]. 浙江农业科学,2011(2):279-282.

[14] 楚爱香,张要战,田永芳. 几种秋色叶树种秋冬转色期叶色变化的生理特性[J]. 东北林业大学学报,2012,40(11):40-43.

[15] 于晓南. 植物叶片中花青素的分析与研究[J]. 现代仪器,2000(4):37-38.

[16] 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.

[17] 崔珂婉,林梅,朴楠,等. 元宝枫秋季转色期叶色变化与生理特性的关系[J]. 中国园艺文摘,2015(3):5-7.

注:显著水平 $\alpha=0.05$ 。