

# 红色叶王族海棠成色色素分析

李 玲, 李厚华, 赵 冰, 梁 峥, 梁 燕, 付婉艺

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**利用紫外可见分光光度计、薄层层析色谱法、高效液相色谱仪-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)对王族海棠叶片色素进行了鉴定,并对鉴定出的单体酚、叶绿素、类胡萝卜素以及总黄酮含量进行定量分析。结果表明:王族海棠叶片内含有叶绿素、类胡萝卜素、矢车菊素半乳糖苷、矢车菊素及其它单体酚(儿茶素、绿原酸、表儿茶素、芦丁、对香豆酸、二氢槲皮素、木犀草素、槲皮素、山奈酚、根皮素、柚皮素)。其中,矢车菊素半乳糖苷和矢车菊素为王族海棠叶片呈现红色的主要色素,叶绿素起到使叶色加深的作用,类胡萝卜素、芦丁、木犀草素、槲皮素、山奈酚、柚皮素等起着辅助成色的作用。

**关键词:**王族海棠;花青苷;矢车菊素半乳糖苷

**中图分类号:**S 687 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)08-0071-05

植物叶片主要成色色素有叶绿素(Chlorophylls)、类胡萝卜素(Carotenoids)、类黄酮(Flavonoids)、甜菜色素(Betalains)等,甜菜色素在含花青苷的植物中从未发现过<sup>[1]</sup>。叶绿素是绝大多数绿色叶植物的成色色素,在植物叶片中广泛存在<sup>[2]</sup>;类胡萝卜素的大量积累是金叶女贞金黄色叶片形成的原因<sup>[3]</sup>;紫叶李、红花继木的红色叶形成是类黄酮中花青苷大量积累的结果<sup>[4-6]</sup>;而红甜菜的叶子、三角梅苞片的红色则是由甜菜红素的积累所导致的<sup>[7-8]</sup>。

海棠属蔷薇科苹果属植物,花姿潇洒,花开似锦,自古以来就是雅俗共赏的名花,其品种丰富,现各地均有栽培。王族海棠(*Malus* 'Royalty')为从美国引进的海棠新品种,其叶片为红色,极具观赏价值,是一种优良的红色叶树种<sup>[9]</sup>。

田立娟等<sup>[10]</sup>通过紫外可见分光光度计对佳木斯市引进的王族海棠叶片内色素进行了分析,初步判断其叶片中含有叶绿素、类胡萝卜素和花青素三大类色素,但未鉴定出王族海棠叶片内具体的花青苷及其它单体酚。该研究利用紫外可见分光光度计、薄层层析色谱法、高效液相色谱仪-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)对王族海棠叶片中的色素进行了定性、定量分析,以确定其中

的色素种类及含量,分析其叶片呈现红色的原因,以期通过杂交育种及基因工程培育红色叶海棠新品种提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

王族海棠叶片在2011年5月均匀采集于西北农林科技大学海棠园内,流水下冲洗去除灰尘后用吸水纸吸干叶表面水渍,冻存于-20℃冰箱中备用。

色谱级甲醇、乙腈购自Spectrum公司;标准品槲皮素、儿茶素、表儿茶素、木犀草素购自天津金测分析技术有限公司;二氢槲皮素、芦丁、对香豆酸、绿原酸、根皮素、柚皮素购自天津一方科技有限公司;矢车菊素、矢车菊素半乳糖苷、山奈酚购自Sigma公司。仪器为日立L-2000高效液相色谱仪,岛津-2450紫外可见分光光度计。

### 1.2 试验方法

1.2.1 干燥处理 取保存于-20℃冰箱中的叶片,放置于-86℃冰箱中预冻1 d后,用真空冷冻干燥机干燥处理48 h并研磨成粉末。

1.2.2 色素萃取 花青苷萃取:称取1.0 g冷冻干燥后的粉末,加入25 mL 1.0%的甲醇盐酸(97 mL的甲醇+3.0 mL 36%的盐酸)超声萃取,提取3次,合并萃取液,旋转蒸发浓缩定容至25 mL。花青素水解萃取:在2.0 mL的离心管中依次加入300 μL的花青苷萃取液和600 μL 2.0 mol/L的盐酸,混匀后在金属浴上以95℃条件下加热45 min。取出后在冰上冷却,待冷却后加入300 μL的异戊醇萃取(剧烈晃动),4℃ 8 000 r/min离心10 min,得到相性分离后,吸取上相到新的离心管中,上相中含有浓缩状态的花青素和其它类黄酮<sup>[11]</sup>。类黄酮萃取:称取1.0 g冷冻干燥后的粉

**第一作者简介:**李玲(1988-),女,宁夏吴忠人,硕士,现主要从事天然产物化学与植物色素分析等研究工作。E-mail: lil-ling20072008@126.com.

**责任作者:**李厚华(1973-),男,博士,副教授,现主要从事类黄酮次生代谢及转基因等研究工作。E-mail: lihuhua73@163.com.

**基金项目:**陕西省自然科学基金资助项目(2010JQ3009);西北农林科技大学引进人才经费资助项目(Z111020901)。

**收稿日期:**2012-12-10

末,用 25 mL 甲醇超声萃取,提取 3 次,合并萃取液,旋转蒸发后浓缩定容至 25 mL。叶绿素、类胡萝卜素萃取:取 0.5 g 粉末,用 96% 乙醇萃取<sup>[12]</sup>,定容至 20 mL,在 4℃ 条件下萃取 30 h,得到黄绿色萃取液。

1.2.3 紫外可见分光光度计检测 用岛津-2450 紫外可见分光光度计对不同萃取液在 200~700 nm 检测吸收波峰及吸光度。叶绿素及类胡萝卜素含量参考高俊凤<sup>[12]</sup>的方法进行测定,3 次重复;总黄酮含量测定方法:将芦丁(Rutin)在烘箱中 105℃ 烘至恒重后用甲醇溶解成浓度为 2 mg/mL 的标准液。分别取芦丁标准液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置入 10 mL 离心管中,加入 0.2 mL 5% 的 NaNO<sub>2</sub> 摇匀后静置 6 min;加入 0.2 mL 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>,摇匀后静置 6 min;加入 1.0 mL 4% NaOH,摇匀后室温静置 15 min;加入 60% 乙醇溶液定容至 10 mL,摇匀后在 510 nm 波长下测定吸光度值,以 0.2 mL 王族海棠甲醇萃取液代替芦丁标准液进行测定,3 次重复。王族海棠叶片总黄酮含量(mg/g) =  $10 \times C \times V_1 / (M \times 0.2)$ 。C 为测定样品液中总黄酮浓度(mg/mL);M 为样品干质量(g);V<sub>1</sub> 为样品最后定容体积(mL);0.2 为测定时加入提取液量(mL);10 为测定时提取液定容体积(mL)<sup>[13]</sup>。

1.2.4 薄层色谱法鉴定色素 取浓缩后的花青苷萃取液、花青苷水解萃取液和花青素(苷)标样用玻璃毛细管点样于纤维素薄层板上。将薄层板分别置于流动相 Formic(浓盐酸:甲酸:水=2:5:3)和 BuHCl(正丁醇:2 mol/L 盐酸=1:1)的层析缸中展开,测定各展开系统中显色带在色谱上的 R<sub>f</sub> 值。对分离的色素用以下方法进行鉴定:(I) 观察正常光照、紫外光(254 nm)下和氨气熏薄层板后颜色变化;(II) 将 100 mg 硼氢化钠溶解于 1 mL 水中,加入 9 mL 异丙醇,将溶液雾化后喷到纤维素板上,观察颜色变化;(III) 用软刷将锌粉均匀涂布在薄层板上,用 6 mol/L 的盐酸喷洒显色,观察颜色变化<sup>[14]</sup>。

1.2.5 高效液相色谱法检测 将标准品按稀释倍数配制成 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00、2.00 mg/mL,过滤后上机分析,进样量为 10 μL,根据每个色谱图的峰面积,制作标准曲线,得到峰面积 A 与标准品浓度 T(mg/mL)之间的回归方程。将薄层板上显色物质刮下,4℃ 萃取 24 h 后离心,吸取上清经过 0.22 μm 的过滤器过滤后和类黄酮萃取液、花青苷水解萃取液用日立 L-2000 色谱仪上样检测。检测参数:Lachrom-C18 柱,250 mm×4.6 mm,5 μm(Hitachi, Japan),柱温 40℃,流速 0.5 mL/min。流动相参数:A:0.04% 的甲酸水溶液 B:色谱级乙腈。采用梯度洗脱,洗脱程序为:0~40 min, A 95%~0, B 5%~100%;40~60 min, A 0, B 100%。检测波长除类黄酮萃取液为 280 nm 外,其它均为 530 nm<sup>[15]</sup>,试验 3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 紫外可见分光光度计检测

紫外可见吸收光谱检测结果表明,王族海棠叶片类胡萝卜素、叶绿素萃取液在 400~500 nm(类胡萝卜素特征吸收峰)、600~700 nm(叶绿素特征吸收峰)有吸收峰(图 1-A,峰 1、2;图 1-B,峰 3),表明王族海棠叶片内含有类胡萝卜素及叶绿素<sup>[14]</sup>。王族海棠叶片萃取液在 470、649、665 nm 处的平均吸光值分别为 1.885、0.603、1.472,根据叶绿素及类胡萝卜素定量方法计算得到叶绿素 a、b 的含量分别为 1.97、0.51 mg/g,总叶绿素含量为 2.48 mg/g,类胡萝卜素含量为 0.666 mg/g

花青苷萃取液在 531 nm 和 280 nm(图 1-C,峰 4、5)有吸收高峰,因此王族海棠叶片内可能存在矢车菊素的衍生物及黄酮醇类物质<sup>[16]</sup>。

根据 1.2.3 的总黄酮含量测定方法,得到标准品芦丁在不同浓度下的吸光度值(A),根据吸光度 A 与芦丁标准液的浓度(C, mg/mL)制作标准曲线,得到回归方程: $C=0.5324A-0.007$ ,  $R^2=0.9998$ ,计算得到王族海棠叶片萃取液的总黄酮浓度(C)为 0.029 mg/mL,含量为 36.25 mg/g。

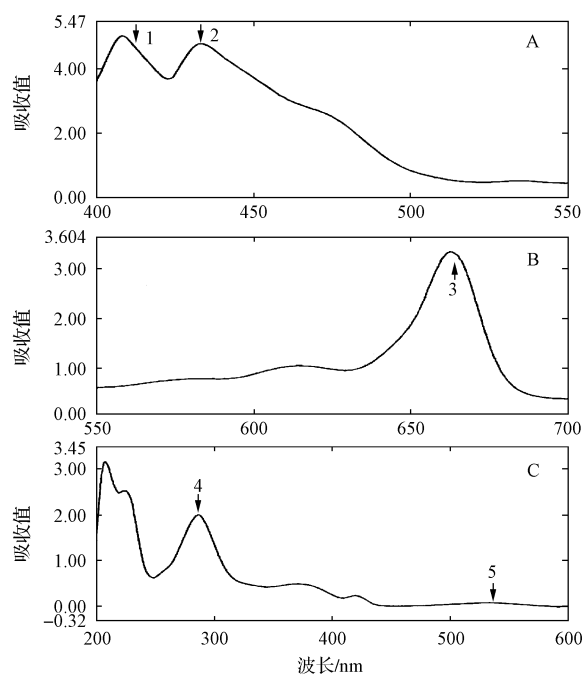


图 1 王族海棠叶片色素萃取液的紫外吸收光谱

注:A:类胡萝卜素萃取液;B:叶绿素萃取液;C:花青苷萃取液。

Fig. 1 UV spectrum of the pigment extracts of *Malus 'Royalty'* leaves

Note: A, B, C are chlorophyll, carotenoids and anthocyanin extracts respectively.

### 2.2 薄层层析色谱检测

王族海棠叶片花青苷萃取液点样薄层板在 Formic 流动相下分离后,在薄层板上可以肉眼观察到 2 个红色

斑点(图 2-A),其  $R_f$  值分别为 0.57 和 0.22,这与薄层板上标准品矢车菊素半乳糖苷和矢车菊素的  $R_f$  值完全一致,并且薄层板用氨气熏后 2 个斑点均由红色变成蓝

色,基本可以判断 2 种红色物质为矢车菊素半乳糖苷和矢车菊素。

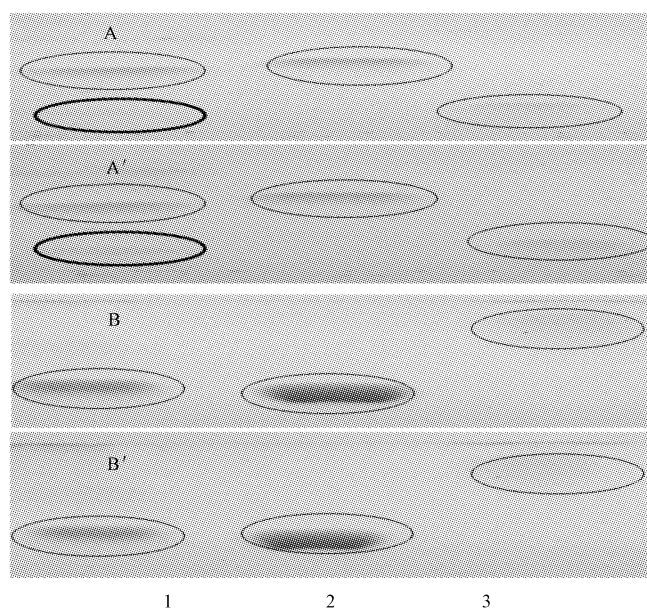


图 2 花青苷萃取液薄层层析色谱图

注:A,A'为在流动相 Formic 中氨气熏熏前后色谱图;B,B'为流动相 BuHCL 中氨气熏熏前后色谱图;1,2,3 依次为花青苷萃取液、矢车菊素半乳糖苷、矢车菊素。

Fig. 2 Thin layer chromatogram of the anthocyanin extracts pigments about *Malus 'Royalty'* red leaves

Note:A,A';the chromatogram about ammonia smoked and not smoked in the Formic mobile phase;B,B';the chromatogram about ammonia smoked and not smoked in the BuHCL mobile phase;1,2,3 are anthocyanin extracts,cyanidin-galactoside,cyanidin respectively.

花青苷萃取液点样薄层板在 BuHCL 流动相中分离的结果表明,在薄层板上肉眼可以观察到的红色斑点(图 2-B)的  $R_f$  值为 0.275,这与矢车菊素半乳糖苷的  $R_f$  值完全一致,得到了与 Formic 流动相下分离检测一致的结果,进一步验证了王族海棠叶片中主要的成色色素是矢车菊素半乳糖苷。但在流动相 BuHCL 中未检测到矢车菊素,这可能是因为王族海棠叶片中矢车菊素单体的含量较低,无法检测到。而在流动相 Formic 中可以检测到可能是因为花青苷在强酸下发生了部分水解,增加了原有单体矢车菊素的量,而使其在薄层板上可以肉眼观察到。通过对比 2 种流动相下分离后的薄层板上红色斑点,也可以发现,在 BuHCL 流动相分离后薄层板上的矢车菊素半乳糖苷的强度远远大于在流动相 Formic 中的强度,也验证了这一推测。

在 2 种流动相中分离后的薄层板经过硼氢化钠-异丙醇和锌粉-盐酸喷溅后,层析板上个别原本无色的部位分别呈现出黄色和红色,表明王族海棠叶片内可能含有黄酮醇和/或黄酮、二氢黄酮醇类物质。

### 2.3 高效液相色谱-二极管阵列(HPLC-DAD)检测

对王族海棠叶片花青苷萃取液薄层层析分析后显色斑点进行刮板,并加 1.0 mL 1%的甲醇盐酸进行萃取

后用 HPLC-DAD 进行检测,在 18.46 min 有单峰出现,这与矢车菊素半乳糖苷的保留时间基本一致,表明该色素为矢车菊素半乳糖苷。王族海棠水解萃取液的高效液相检测结果表明,在 23.2、45.35 min 处检测到了吸收峰,这与标准品矢车菊素、槲皮素的保留时间基本一致,可判断这些物质的存在。根据 1.2.5 的标准曲线制作方法,以标准品矢车菊素的浓度(T)为纵坐标,峰面积(X)为横坐标,得到矢车菊素的标准曲线: $T=6.8E-8X+0.0012$ , $R^2=0.9999$ 。HPLC 分析后检测到王族海棠叶片矢车菊素出峰时间段的平均峰面积为 120 224,依据标准曲线计算得到王族海棠叶片中矢车菊素的浓度为 0.0094 mg/mL,含量为 235 mg/kg。用同样的方法根据每个标准品的标准曲线计算得到各单体酚的含量(表 1)。对除花青苷以外的其它类黄酮,直接用甲醇萃取液检测,在 18.46、23.3、23.89、24.47、26.78、31.66、32.18、35.32、44.07、45.35、48.8、48.88、49.3 min 检测到了吸收峰,分别与矢车菊素半乳糖苷、矢车菊素、儿茶素、绿原酸、表儿茶素、芦丁、对香豆酸、二氢槲皮素、木犀草素、槲皮素、山奈酚、根皮素、柚皮素的保留时间基本一致。



表 1

王族海棠叶片内各单体酚含量

Table 1

The monomeric phenol contents in *Malus* 'Royalty' leaves

编号 No.	中文名称 Chinese name	英文名称 English name	分子式 Formula	分子量 Molecular weight	保留时间 Retention time/min	含量 Content/mg · kg <sup>-1</sup>
1	矢车菊素半乳糖苷	Cyanidin-Galactoside	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> ClO <sub>11</sub>	484.84	18.56	5 650±56.70
2	矢车菊素	Cyanidin	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClO <sub>6</sub>	322.70	23.00	235±0.83
3	儿茶素	Catechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> · H <sub>2</sub> O	308.28	23.87	280±0.95
4	绿原酸	Chlorogenic acid	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	354.31	24.37	3 925±29.82
5	表儿茶素	Epicatechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	290.27	26.76	3 930±30.63
6	芦丁	Rutin	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	610.51	31.56	650±2.67
7	对香豆酸	p-Coumaric acid	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164.158	32.15	2 780±25.30
8	二氢槲皮素	Dihydroquercetin	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	304.25	35.30	1 250±15.79
9	木犀草素	Luteolin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.23	44.00	2 950±27.47
10	槲皮素	Quercetin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302.23	45.30	3 080±28.60
11	山奈酚	Kaempferol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.23	48.80	580±2.20
12	根皮素	Phloretin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	274.27	48.88	520±2.15
13	柚皮素	Naringenin	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	272.25	49.30	330±1.50

### 3 结论与讨论

通过紫外可见分光光度计对王族海棠叶片花青苷萃取液进行光谱扫描,在 280、531 nm 处检测到吸收峰,初步判断王族海棠叶片内含有矢车菊素及其衍生物,再进一步通过薄层层析色谱法并结合颜色特征反应确定主要成色色素为矢车菊素半乳糖苷和矢车菊素,对薄层板红色斑块刮板萃取液用 HPLC-DAD 进样分析后,得到了与紫外和薄层层析色谱分析一致的结果,进一步证实主要成色色素为矢车菊素半乳糖苷(Cyanidin-galactoside)和矢车菊素(Cyanidin)<sup>[17]</sup>。田立娟等<sup>[10]</sup>对佳木斯市引进的王族海棠叶片进行色素含量分析后,认为花青素(Anthocyanin,应该译为花青苷<sup>[18]</sup>)是王族海棠成色的主要色素。该试验的检测结果表明,王族海棠叶片中的花青苷种类为矢车菊素半乳糖苷;另外,除了含有花青苷外,王族海棠叶片中还含有花青素(Anthocyanidin),其具体种类为矢车菊素(Cyanidin)。

王族海棠叶片内总叶绿素的含量为 2.48 mg/g,其绿色与花青苷的红色为互补色,对王族海棠叶片颜色加深起到重要的作用<sup>[19]</sup>。王族海棠叶片类胡萝卜素萃取液的紫外可见分光光度计检测结果表明,其在黄色吸收区域(440~500 nm)有很高的吸收峰,吸收值为 5.28 和 5.17;但在红色吸收区域(500~550 nm)没有检测到吸收峰,说明类胡萝卜素应该不是王族海棠叶片呈现红色的主要成色色素,但其黄色可能对叶色的形成起到辅助作用。

除了以上色素外,在王族海棠叶片内还检测到儿茶素、绿原酸、表儿茶素、芦丁、对香豆酸、二氢槲皮素、木犀草素、槲皮素、山奈酚、根皮素、柚皮素等单体酚,其中芦丁、木犀草素、槲皮素、山奈酚、柚皮素等类黄酮作为辅色素(co-pigments)可能对王族海棠叶片的成色起到辅助作用<sup>[20-21]</sup>。

### 参考文献

- [1] 于晓南,张启翔. 彩叶植物多形形成的研究进展[J]. 园艺学报,2000,27(增刊):533-538.
- [2] 张亮,曹丛华,任荣珠,等. 大叶黄杨叶绿素的提取及稳定性研究[J].

安徽农业科学,2010,38(17):8923-8925,8943.

- [3] 庄猛,姜卫兵,翁忙玲,等. 金叶女贞与小叶女贞光合特性的比较研究[J]. 南京农业大学学报,2007,30(2):39-43.
- [4] 鲁仪增,元文英,王晓云. 紫叶李叶片花色素及花色苷 HPLC 定量分析[J]. 山东农业科学,2011(11):100-102.
- [5] 朱书香. 李属彩叶植物叶片成色机理的研究[D]. 保定:河北农业大学,2010.
- [6] 李辛雷,李纪元,范正琪. 红花继木叶片花色素提取及其性质研究[J]. 食品科学,2011,32(20):57-62.
- [7] 王长泉,刘涛,王宝山. 植物甜菜素研究进展[J]. 植物学通报,2006,23(3):302-311.
- [8] 徐凤侠,王亮生,舒庆艳,等. 三角梅属植物的生物学研究进展[J]. 植物学通报,2008,25(4):483-490.
- [9] 侯元凯. 彩叶植物研究[J]. 世界林业研究,2010,23(6):24-28.
- [10] 田立娟,刘方明,程海涛. 佳木斯市王族海棠叶片色素含量研究[J]. 特产研究,2010(4):47-48.
- [11] Li H. Metabolic engineering of flavonoid biosynthesis in apple by genetic transformation[D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2008:51-54.
- [12] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000:99-103.
- [13] 李娟,张鲁刚,张昱. 橙色大白菜球叶总黄酮提取与测定方法的研究[J]. 园艺学报,2007,34(4):923-928.
- [14] 辛转霞,李厚华,李玲,等. 夏堇花成色色素分析[J]. 西北林学院学报,2011,26(6):107-109.
- [15] Li H, Flachowsky H, Fischer T C, et al. Maize Lc transcription factor enhances biosynthesis of anthocyanins, distinct proanthocyanidins and phenylpropanoids in apple (*Malus domestica* Borkh.) [J]. Planta, 2007, 226(5):43-54.
- [16] Harborne J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins [J]. Biochemical Journal, 1958, 70(1):22-28.
- [17] 马卡姆 K R. 黄酮类化合物结构鉴定技术[M]. 张宝琛,唐崇实,译. 北京:科学出版社,1990:42-58.
- [18] 安·田齐. 花色之谜[M]. 张承志,佟丽,译. 北京:中国林业出版社,1989:137-149.
- [19] Volk S L, Bishop N I. Photosynthetic efficiency of a phycocyanin-less mutant of cyanidium[J]. Photochemistry and Photobiology, 1968(6):213-221.
- [20] 李崇晖,王亮生,舒庆艳,等. 迎红杜鹃花色素组成及花色在开花过程中的变化[J]. 园艺学报,2008,35(7):1023-1030.
- [21] Sakada Y, Aoki N, Tsunematsu S, et al. Petal coloration and pigmentation of tree peony bred and selected in Daikon Island (Shimane Prefecture) [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1995, 64(2):351-357.

# 中华金叶榆灌丛苗嫁接成苗技术试验

葛韵宇<sup>1</sup>, 闫淑芳<sup>2</sup>, 李银华<sup>3</sup>

(1. 北京林业大学 园林学院, 北京 100083; 2. 河北省林业科学研究院, 河北 石家庄 050061;

3. 河北政法职业学院 园林系, 河北 石家庄 050061)

**摘 要:**以白榆为砧木, 中华金叶榆为接穗, 研究了劈接、切接 2 种嫁接方式, 顺基倾斜和垂直于基倾斜 2 种接穗生长方向对中华金叶榆灌丛苗嫁接成活的影响。结果表明: 中华金叶榆切接成活率明显高于劈接; 顺基切砧木接后成苗率为 85.7%, 垂直基向切砧木接后成活率为 82.7%, 因此生产中可采用顺基嫁接以减少损失。

**关键词:**中华金叶榆; 灌丛苗; 切接; 成苗率

**中图分类号:**S 688 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)08-0075-02

中华金叶榆(*Ulmus pumila* cv. *jinye*) 属榆科榆属植物, 白榆的 1 个变种, 喜光, 耐寒, 其抗寒能力较强, 在-33℃情况下无冻害表现<sup>[1]</sup>, 耐干旱瘠薄和轻盐碱土, 萌芽力强, 耐修剪<sup>[2]</sup>, 是我国具有自主知识产权的彩叶植物品种。其生长期叶色金黄, 观赏期长, 适生地广, 应用类型全而成为园林绿化、景观生态造林的新宠。为满足日益增长的市场需求, 苗木生产者需选择适宜的嫁接方法快速繁殖苗木, 但在实际生产中, 常常因为抹芽、拔草等养护管理碰掉接穗或使刚刚愈合的接穗摇动错位而死亡, 据统计, 每年因为管理中碰掉的接穗数量占嫁接总数的 2%~3%, 甚至更多, 由此造成的损失极其严重。为此, 该试验探究了提高嫁接成活率及接后成苗率的切接改进技术, 以期苗木生产者提供技术支撑和帮助, 并实现中华金叶榆灌丛苗嫁接技术的升级和熟化。

**第一作者简介:**葛韵宇(1992-), 女, 本科, 研究方向为园林绿化。

**基金项目:**国家农业转化资金资助项目(2007GB2A200029)。

**收稿日期:**2012-12-11

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地设在河北省林业科学研究院苗圃内, 位于石家庄市北郊, 属暖温带半湿润季风型大陆性气候。年总降水量 401.1~752.0 mm; 年均温 12.4~13.3℃, 最热月(7 月份)平均气温 26.5℃, 最冷月(1 月份)平均气温-2.9℃, 极端最高温 42.7℃, 极端最低温-26.5℃; 土壤为沙壤土, pH 为 7.5 左右, 排灌条件良好。

### 1.2 试验材料

选取 1 a 生地径在 0.5~0.8 cm 之间、生长健壮的白榆做砧木, 接穗全部采用粗度为 0.6 cm、长度为 10 cm 的中华金叶榆优质接穗, 通体蜡封。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 试验设计** 2010 年 3 月 16 日, 按株行距 0.3 m×0.4 m 定植当年生地径在 0.5~0.8 cm 的白榆 1 200 株。分 3 个小区, 每小区 400 株。对每个小区的苗木进行 4 个处理, 每个处理 100 株, 3 月 20 日每株嫁接

## Pigments Analysis of *Malus* 'Royalty' Red Leaves

LI Ling, LI Hou-hua, ZHAO Bing, LIANG Zheng, LIANG Yan, FU Wan-yi

(College of Forestry, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** Pigments of *Malus* 'Royalty' leaves were qualitative identified using of UV photo-spectrometer, thin layer chromatography and high performance liquid chromatography; and quantitative analysed using of  $\text{NaNO}_2$ - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ -NaOH coloration system and HPLC-DAD. The results showed that *Malus* 'Royalty' leaves contains chlorophyll, carotenoids, cyanidin, cyanidin-galactoside and other monomer phenol (catechin, chlorogenic acid, epicatechin, rutin,  $p$ -coumaric acid, dihydroquercetin, luteolin, quercetin, kaempferol, phloretin, naringenin). The red color of *Malus* 'Royalty' leaves was caused by accumulation of cyanidin, cyanidin-galactoside and chlorophylls. Carotenoids, rutin, luteolin, quercetin, kaempferol, naringenin played a role as co-pigments.

**Key words:** *Malus* 'Royalty'; anthocyanin; cyanidin-galactoside