

doi:10.11937/bfyy.20171415

不同 pH 缓冲液处理对月季花瓣颜色的影响

刘佳琴^{1,2}, 李茂福^{1,2}, 王 华^{1,2}, 杨 媛^{1,2}, 金万梅^{1,2}

(1. 北京市农林科学院 林业果树研究所, 北京 100093;

2. 农业部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 北京 100093)

摘 要:以‘冰山’和‘萨曼莎’月季为试材,采用不同 pH 缓冲液(1、3、5、7、9、11)处理月季切花和花瓣花青素提取物,利用植物比色卡对比其颜色变化,研究了不同 pH 缓冲液对白色和红色月季花瓣颜色及花青素提取物的影响。结果表明:不同 pH 缓冲液处理对白色月季‘冰山’花瓣颜色影响差异不大,但对红色月季‘萨曼莎’的花瓣颜色影响差异较大,在 pH 1 缓冲液处理中比色值由 53C 变为 53A,而在 pH 9 和 pH 11 缓冲液处理下,比色值由 53C 变为 61B;不同 pH 缓冲液对白色月季‘冰山’花青素提取物影响不明显,而对红色月季‘萨曼莎’影响较大。随着 pH 缓冲液浓度的增加,月季‘萨曼莎’花青素溶液的颜色从深红色、红色向棕红、红褐色转变,颜色逐渐变深、变暗。

关键词:月季;pH;花瓣;花青素;颜色

中图分类号:S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)23-0128-06

月季花色丰富,为我国传统名花之一。花色是植物重要的观赏性状之一,花色的优劣直接关系到其观赏价值和商业价值。此外,花色还有吸引昆虫帮助授粉和抵御病虫害的作用。有研究发现花色的呈现受到花青素的种类和含量、花瓣的组织结构、色素在花瓣中的分布、细胞液的 pH、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、细胞液的胶体状态、色素与金属离子的结合形态等因素的影响^[1-2]。在玉兰花、杜鹃花及海棠花中的研究表

明,花色苷的成分和含量是影响花色最重要的因素^[3-5]。目前对于月季的研究大多集中在花青素提取和性质^[6-9]、采后保鲜机理^[10-13]、基因工程^[14]及品种选育等方面。在离体条件下,pH 对月季花瓣颜色及花青素的影响研究尚鲜见报道。为此,该试验以白色‘冰山’和红色‘萨曼莎’月季为试材,探索在相同温度及光照条件下,利用不同 pH 缓冲液处理月季花瓣,观察其在不同 pH 缓冲液中花瓣颜色及花青素提取物的变化,以期 pH 对月季花瓣颜色的分子机理研究提供数据支撑,也为月季切花花色的保持提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试月季品种白色‘冰山’、红色‘萨曼莎’均由北京市农林科学院林业果树研究所月季资源圃提供。剪下开花状况一致的花朵,以塑料袋包裹迅速带回实验室备用。

1.2 试验方法

1.2.1 月季生长特征的观察

观察月季品种‘冰山’和‘萨曼莎’田间生长及

第一作者简介:刘佳琴(1965-),女,河南信阳人,本科,副研究员,现主要从事花卉种质资源的收集评价及育种等研究工作。E-mail:liujq65@126.com.

责任作者:金万梅(1971-),女,博士,研究员,现主要从事林果类分子生物研究及育种等研究工作。E-mail:jwm0809@163.com.

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(31600418);北京市科委重大资助项目(D131100000113001);北京市农林科学院科技创新能力建设专项资助项目(KJCX20170104, KJCX20170203, KJCX20170601);北京市农林科学院青年基金资助项目(QNJ201513)。

收稿日期:2017-07-18

开放过程,对小蕾期-大蕾期-初开期-盛花期-衰败期花瓣颜色的变化进行描述。

1.2.2 花色对比

以柠檬酸、柠檬酸钠为主要试剂,以盐酸和氢氧化钠调节 pH,使用去离子水配制 pH 浓度梯度缓冲液至 1、3、5、7、9、11,以去离子水为对照。将不同月季品种的切花分别插入以上 pH 缓冲液中,每瓶放置 3 朵花,重复 3 次。采用英国皇家园林协会植物比色卡对比试验中花瓣的颜色变化。‘冰山’月季基础比对为白色组 NN155D、‘萨曼莎’月季为红色组 53C。每 24 h 对所处理月季花的颜色进行观察记录并拍照,连续观察至花朵干枯凋谢。

1.2.3 花青素提取物的对比

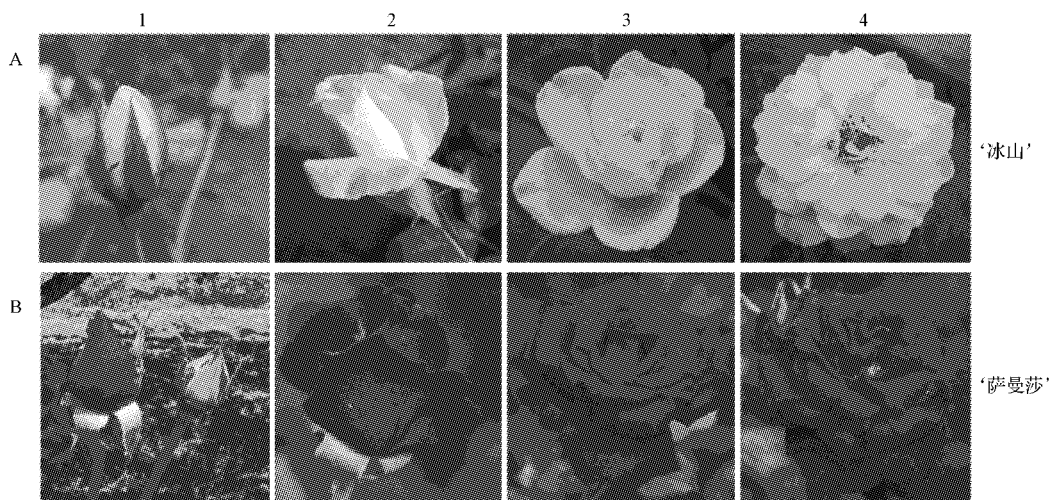
参照文献[15-16],采用差示法提取月季花瓣的总花青素,取 6 个离心管各加入‘冰山’‘萨曼莎’花青素提取物 0.5 mL,然后分别加入 pH 缓冲液 1、3、5、7、9、11 溶液 1 mL,摇匀;对照分别为 1.5 mL‘冰山’‘萨曼莎’月季花青素提取物原液。

用比色卡对比其颜色的变化。

2 结果与分析

2.1 月季‘冰山’和‘萨曼莎’田间生长过程及特征

月季‘冰山’和‘萨曼莎’一般情况下在田间从花芽分化到现蕾期约 45 d。月季‘冰山’从现蕾期到衰败期约 12 d;各时期花色均为白色,表现稳定一致(图 1A),比色卡均比对为白色组 NN155D。月季‘冰山’盛花期花瓣为扇形,无绒光;花瓣数约 35 枚。月季‘萨曼莎’从花芽分化到现蕾期约 45 d,而现蕾期到衰败期约 12 d;各时期花色均为红色,表现稳定、一致(图 1B),比色卡均比对为红色组 53C。月季‘萨曼莎’盛花期花瓣为圆阔瓣,且有少量绒光;花瓣数约 35 枚。说明月季‘冰山’‘萨曼莎’在花朵生长和开放过程中,生长周期较一致,花色均较稳定,无变化。



注:1. 大蕾期;2. 初开期;3. 半开期;4. 盛花期。

Note: 1. Large budding stage; 2. First opening stage; 3. Half opening stage; 4. Full opening stage.

图 1 ‘冰山’‘萨曼莎’月季花朵生长及开放过程

Fig. 1 Flower growth and opening process of ‘Iceberg’ and ‘Samansha’ *Rosa hybrid*

2.2 不同 pH 缓冲液处理对月季‘冰山’和‘萨曼莎’花瓣颜色的影响

在不同 pH 缓冲液对‘冰山’花朵的处理中,第 1 天所有处理颜色均无差异(图 2)。处理第 2 天,在 pH 1 处理下,花柄完全失绿变灰褐色且花柄有断裂现象,叶片多数失绿呈灰褐色,花朵萎焉

变枯、变小,花瓣失水、皱缩,比色卡颜色为 NN155A;在 pH 9 处理下,花瓣萎焉变枯,花朵变小,中心花瓣有失水干枯及少量脱落,其余处理下的枝、叶、花柄均为绿色,花朵正常,比色卡颜色不变为 NN155A。第 3 天,在 pH 1 处理下,花柄折断,花朵皱缩变小且干枯,无法比色;在 pH 3 处

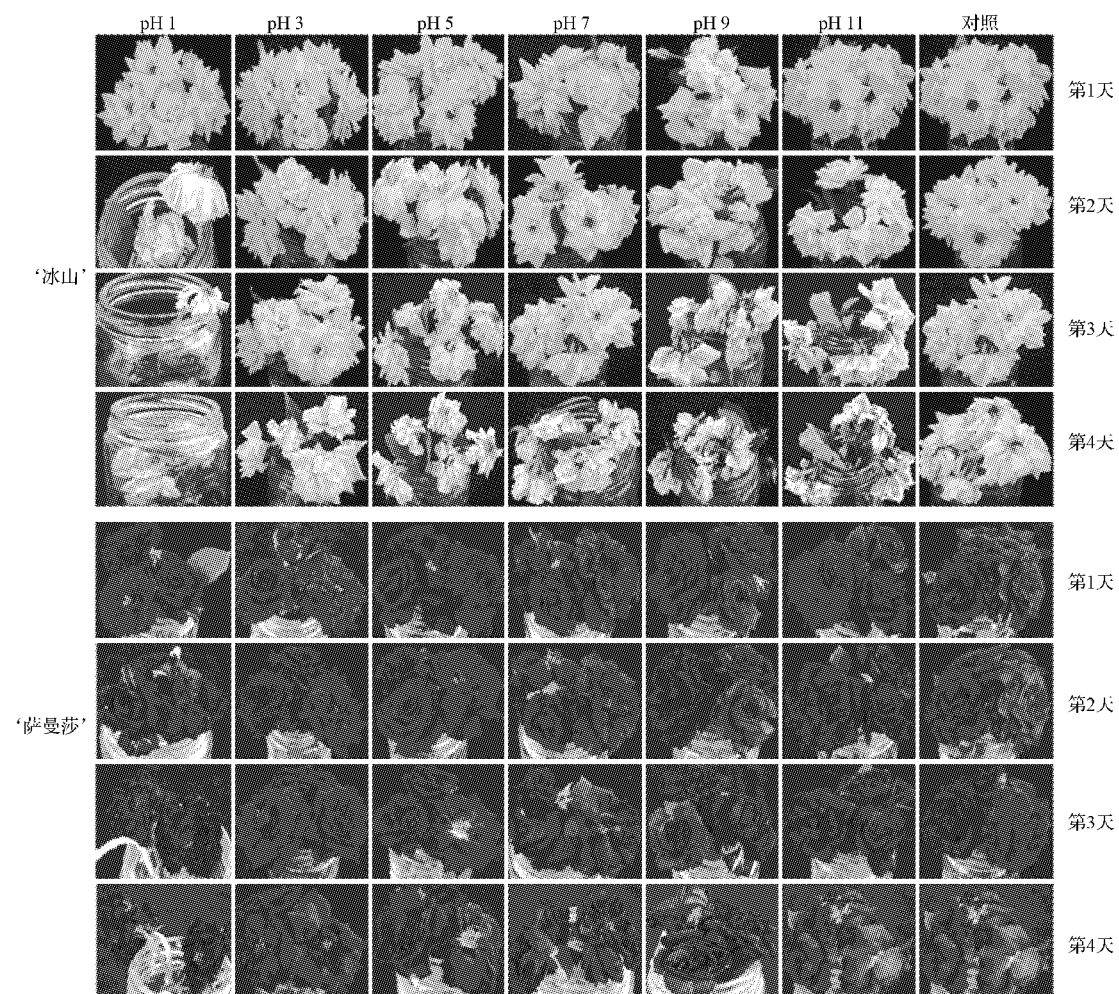


图2 不同 pH 缓冲液处理下‘冰山’和‘萨曼莎’月季花朵颜色的变化

Fig. 2 Change of color of ‘Iceberg’ and ‘Samansha’ *Rosa hybrid* under different pH treatments

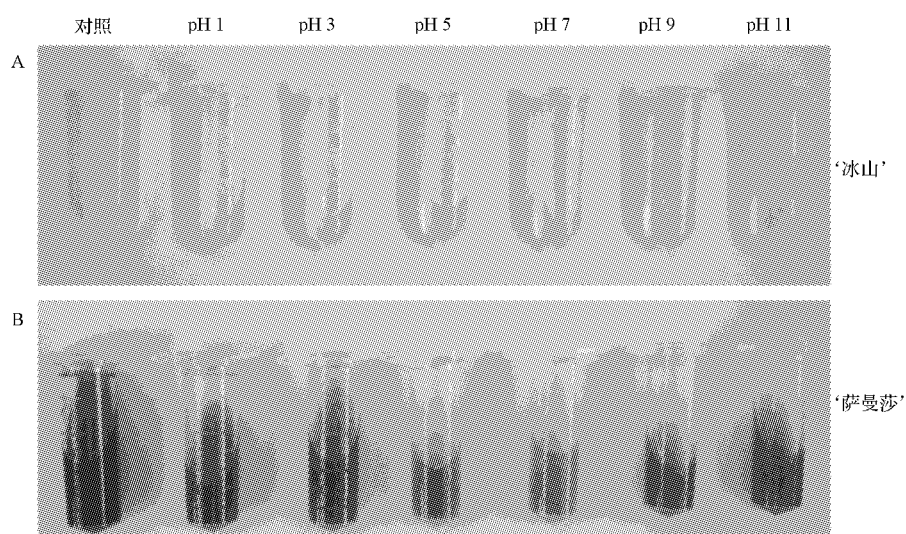


图3 不同 pH 缓冲液处理下月季‘冰山’与‘萨曼莎’花青素提取物的颜色变化

Fig. 3 Color change of anthocyanins extract of ‘Iceberg’ and ‘Samansha’ *Rosa hybrid* under different pH treatments

理下,花柄颜色绿色,花瓣正常、挺立,比色卡颜色为 NN155A;在 pH 5、pH 7 处理的‘冰山’几乎相似,花柄颜色绿色,花朵萎蔫干枯、有变小现象,比色卡颜色为 NN155A;在 pH 9 和 pH 11 处理下,花柄变黑失水,花朵凋谢变皱,花瓣干枯脱落,比色卡颜色为 155A;对照水处理花柄颜色正常,花朵正常,中心花瓣开始干枯,比色卡颜色为 NN155A。第 4 天,在这些处理中,花瓣干枯,无法比色的有 pH 1、pH 9、pH 11 处理,花柄变黑,花朵完全衰败,花瓣呈褐色;pH 3 和对照处理类似,花柄颜色绿色,花朵萎蔫变小,花瓣部分干枯,以中心花瓣最为严重,比色卡颜色为 NN155A;pH 5、pH 7 处理,花柄颜色绿色,略萎蔫,花朵变小,花瓣干枯皱缩,比色卡颜色为 NN155A。

在不同 pH 缓冲液对‘萨曼莎’花朵的处理中,第 1 天所有处理颜色均无差异(图 2)。第 2 天,在 pH 1 处理下,花柄失绿变浅褐色,花瓣失水、皱缩,出现少量干枯,比色卡颜色为 53A;pH 3 处理下,花柄略失绿,花瓣正常,无失水现象,比色卡颜色为 53C;pH 5 处理花柄绿色,花瓣及比色卡颜色均同 pH 3 处理;pH 7 处理下,花柄颜色绿色,花瓣略失水少数边缘枯焦,比色卡颜色为 53C;而 pH 9、pH 11 处理,花柄略失水失绿,花瓣正常边缘偶见干枯,比色卡颜色同 pH 1 为 53A;对照枝、叶片、花柄和花瓣均颜色正常,无失水现象,比色卡颜色为 53C。第 3 天,pH 1 处理下,花朵干枯无法比色;pH 3 的处理同第 2 天;pH 5、pH 7 处理下,花柄为黄绿色,花朵中心瓣有少量干枯现象,比色卡颜色为 53C;pH 9 处理下,花柄皱缩、干枯,并开始脱落,花色变紫,比色卡颜色为 61A;而 pH 11 处理下,花柄不仅皱缩变黑,花瓣颜色更紫,比色卡颜色为 61B。第 4 天,在 pH 9、pH 11 处理,花柄均失绿、变皱、发黑,花瓣干枯,中心花紫色,比色卡值为 61B;在 pH 5 处理下,花瓣开始干枯,比色卡颜色为 53C;pH 7 处理中心花颜色略微变紫,比色卡颜色为 59C;pH 3 处理的花朵依然挺立,比色卡颜色为 53C;对照中,花瓣开始干枯外,比色卡颜色仍为 53C。对月季‘冰山’而言,不同 pH 缓冲液对其花瓣颜色影响差异不大,可能是白色的‘冰山’中不含花青素;对月季‘萨曼莎’而言,不同 pH 缓冲液对其花瓣颜色影响差异较大,在 pH 1 的处理中

比色值由 53C 变为 53A,而在碱性条件下(pH 9 和 pH 11),比色值由 53C 变为 61B。另外,不同 pH 对月季花瓣的新鲜程度影响较大,过酸或过碱溶液都不利月季花瓣保水。在 pH 3 处理下,月季‘冰山’和‘萨曼莎’花瓣失水最慢,而且颜色也无变化。

2.3 不同 pH 缓冲液处理对月季花青素提取物的影响

月季‘冰山’的花瓣中几乎不含花青素(图 3A)。在酸性条件下(pH 1~5),‘冰山’花青素提取物比色卡颜色为 NN155A;而在中性和碱性条件下(pH 7~11)花青素提取物比色卡颜色与‘冰山’花青素提取物原液比色卡颜色相同均为 160C。

月季‘萨曼莎’花瓣的花青素含量为 $341.53 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1} \text{FW}$,比色卡颜色 185B,在不同 pH 处理下,颜色发生较大变化(图 3B)。在酸性 pH 1 和 pH 3 下,花青素提取物比色卡颜色为 58B;在微酸性 pH 5 处理下,花青素提取物比色卡颜色为 186B;在中性 pH 7 条件下,花青素提取物颜色比色卡为 186C;在碱性条件 pH 9、pH 11 的处理下,花青素提取物的比色卡颜色 182A。

说明不同 pH 浓度对无花青素的白色月季‘冰山’几乎没有影响,而对花青素含量较高的红色月季品种‘萨曼莎’影响较大,随着 pH 的升高,‘萨曼莎’月季颜色由红色变为浅红直至褐色,比色值由红色组的 58B、灰橙组 168B、168C 到灰色组 182A。

3 讨论

植物的液泡占了细胞体积的 90%,液泡对各种生理过程发挥着重要的作用,如 pH 的平衡、渗透调节、离子运输、代谢物的储存及细胞的生长^[17-18]。花瓣的着色依赖于液泡内 pH 的大小,当花瓣刚开始展开时,液泡内的 pH 相对较低,从而表现红色,随着花瓣的发育及衰老,pH 逐渐增加花瓣颜色加深^[19]。该研究通过体外使用不同浓度的 pH 缓冲液处理离体月季花朵,结果发现在 pH 3 时,随着处理时间的增加,花朵颜色及发育几乎不受影响,说明白色和红色月季花瓣细胞液泡内的 pH 约为 3。随着 pH 的升高或降低,无论是白色还是红色花瓣,随着处理时间的增加,花

朵颜色逐渐加深和变枯,说明 pH 变化打破了花瓣细胞液泡内的 pH 平衡,电化学梯度发生变化,造成液泡内容物内渗或外泄,最终导致花瓣颜色变化及枯萎。

花青素是一类广泛存在于植物花、果实、种子和叶中的水溶性天然色素,属于类黄酮化合物,其性质不稳定,易受到各种理化因素的影响(如温度、pH、光照)而发生变化,最终植物呈现不同颜色。该试验结果表明在红色花瓣花青素提取液中,随着 pH 升高花青素提取液的颜色由红色逐渐变成蓝褐色,这可能是花青素中花色苷的结构发生了变化。说明花色苷只在酸性条件下才能保持其本色-红色,而在碱性条件下不能稳定存在,故而出现褐色。而白色花瓣中由于花青素含量极低,甚至没有,即使在酸性条件下也不变红。随着 pH 的升高,白色花瓣花青素提取液的颜色稍有变化,可能是白色花瓣提取液中其它色素基团的变化所导致的。

参考文献

- [1] MOL J, CORNISH E, MASON J, et al. Novel coloured flowers[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 1999, 10(2): 198-201.
- [2] PAECH K. Colour development in flowers[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1955(6): 273-298.
- [3] 张超,陈光,李彦慧. 二乔玉兰开花过程中花色变化的生理生化机制[J]. *西北植物学报*, 2012, 32(4): 716-721.
- [4] 张洁,王亮生,高锦明,等. 贴梗海棠花青苷组成及其与花色的关系[J]. *园艺学报*, 2011, 38(3): 527-534.
- [5] 李崇晖,王亮生,舒庆艳,等. 迎红杜鹃花色组成及花色在开花过程中的变化[J]. *园艺学报*, 2008, 35(7): 1023-1030.
- [6] 王岚岚,朱志玲. 月季花红色素的提取及性质研究[J]. *食品工程*, 2007(4): 46-60.
- [7] 刘健君,林萍. 康乃馨和月季天然红色素研究进展[J]. *南方农业*, 2010, 4(2): 42-44.
- [8] 杨琼,张来新,徐改娥,等. 月季花色素的提取及稳定性研究[J]. *化工时刊*, 2009, 23(5): 5-9.
- [9] 赵晓峰. 食用玫瑰花红色素的提取精制的研究[J]. *现代食品科技*, 2006, 1(23): 68-69.
- [10] JIANG X, ZHANG C, LU P, et al. RhNAC3, a stress-associated NAC transcription factor, has a role in dehydration tolerance through regulating osmotic stress-related genes in rose petals[J]. *Plant Journal*, 2014, 12(1): 38-48.
- [11] LU P, ZHANG C, LIU J, et al. RhHB1 mediates the antagonism of gibberellins to ABA and ethylene during rose (*Rosa hybrida*) petal senescence[J]. *Plant Physiology*, 2014, 78(4): 578-590.
- [12] PEI H, MA N, CHEN J, et al. Integrative analysis of miRNA and mRNA profiles in response to ethylene in rose petals during flower opening[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64290.
- [13] WU L, MA N, JIA Y. An Ethylene-induced regulatory module delays flower senescence by regulating cytokinin content[J]. *Plant Physiology*, 2017, 173(1): 853-862.
- [14] KATSUMOTO Y, FUKUCHIM M, FUKUI Y, et al. Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin[J]. *Plant Cell Physiology*, 2007, 48(11): 1589-1600.
- [15] 李建伟. pH 示差法测定山楂中花青素的含量[J]. *长治医学院学报*, 2015, 29(3): 177-179.
- [16] 杨兆艳. pH 示差法测定桑椹红色素中花青素含量的研究[J]. *食品科技*, 2007(4): 201-203.
- [17] MAESHIMA M. Tonoplast transporters: organization and function annual review plant physiology [J]. *Plant Molecular Biology*, 2001, 52: 469-497.
- [18] YOSHIDA K, KONDO T, OKAZAKI Y, et al. Cause of blue petal colour[J]. *Nature*, 1995, 373: 291.
- [19] YOSHIDA K, TOYAMAK Y, KAMEDA K, et al. Sepal color variation of hydrangea macrophylla and vacuolar pH measured with a proton-selective microelectrode[J]. *Plant Cell Physiology*, 2003, 44: 262-268.

Effects of Different pH Buffer Treatments on Petal Color of *Rosa hybrid*

LIU Jiashen^{1,2}, LI Maofu^{1,2}, WANG Hua^{1,2}, YANG Yuan^{1,2}, JIN Wanmei^{1,2}

(1. Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100093; 2. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (North China), Ministry of Agriculture, Beijing 100093)

Abstract: *Rosa hybrid* in white variety 'Iceberg' and red variety 'Samantha' were taken as materials, the effects of different pH buffer treatments(1, 3, 5, 7, 9, 11) on the petals color of both cut flower and petal extract were studied, and assessed by colored cards. The results showed that there was little

doi:10.11937/bfyy.20170954

上湾煤矿塌陷区群落植被特征

乔牡丹¹, 闫敏², 左合君², 杨阳², 王强², 刘宇胜²

(1. 内蒙古鄂尔多斯造林总场, 内蒙古 鄂尔多斯 014300; 2. 内蒙古农业大学 沙漠治理学院, 内蒙古风沙物理与防沙治沙工程重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010011)

摘要:通过对神府-东胜上湾煤矿塌陷区与未塌陷区植物分布情况的调查, 利用重要值、生活型、多样性指数等指标分析了未塌陷区与不同塌陷年限区域的植被组成特征, 以期为该矿区生态环境恢复提供理论依据与数据支撑; 进一步为生态脆弱区植被恢复建设提供参考依据。结果表明: 该区共有植物 64 种, 分属 20 科 51 属, 其中以菊科、禾本科、豆科和藜科占优势, 分别为 17、10、10、4 种; 未塌陷区植物以多年生草本和半灌木占优势, 塌陷区植被主要以多年生草本和一二年生草本植物为主, 沙生和旱生植物有所增加, 并出现了超旱生植物; 整个采煤塌陷区仍处于植被恢复初期, 效果并不明显, 甚至部分区域有退化趋势。

关键词:采煤塌陷; 重要值; 生活型; 物种多样性; 植被恢复

中图分类号:S 731.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)23-0133-08

随着社会经济的发展, 人们对能源的需求日益增加, 煤矿的发展规模日益扩大。然而, 大规模的煤层采掘, 将会导致地面大范围塌陷, 对本来脆弱的生态环境带来严重影响。如采煤塌陷形成的裂缝可降低土壤湿度, 改变土壤结构与理化性质; 同时改变植物群落的组成和结构, 降低塌陷区植被覆盖度^[1-2]。在干旱半干旱区, 采煤塌陷会直接

导致植被死亡率增加, 并引起塌陷区的严重风蚀^[3]; 甚至改变矿区环境和水文地质条件^[4], 从而进一步加剧了煤矿开采区生态环境的恶化^[5]。因此, 对于采煤塌陷区生态环境的恢复已成为研究热点。

目前, 关于采煤塌陷区生态环境恢复的研究主要集中在土壤改造技术^[6]、植被恢复技术^[7]以及土壤微生物利用技术^[8]等。植被恢复是生态环境恢复工程中的重要环节^[9], 是采煤塌陷区生态环境恢复最常用的方法之一^[10]。采煤塌陷区生态恢复的限制因素主要体现在土壤肥力和 pH 太低^[11], N、P 和有机质缺乏^[12]等方面, 而改善土壤理化性质与土壤结构有效方法是植被的恢复, 特别是对固氮植物的恢复。王琦等^[13]通过研究采煤塌陷后土壤理化性质与植被多样性均发生一

第一作者简介:乔牡丹(1973-), 女, 内蒙古杭锦旗人, 本科, 高级工程师, 现主要从事造林防沙治沙和森林资源管护等研究工作。E-mail: 522931402@qq.com.

责任作者:左合君(1971-), 男, 甘肃渭源人, 博士, 副教授, 现主要从事荒漠化防治等研究工作。E-mail: zuohj@126.com.

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2016YFC0501000)。

收稿日期:2017-07-10

difference in the effects of different pH treatments on the petals color of white variety 'Iceberg', for red variety 'Samantha', there was large difference on the petals color. The colorimetric value changed from 53C to 53A when exposed to pH 1, while changed from 53C to 61B when exposed between pH 9 and pH 11. There was little difference in the effects of different pH treatments on the petal extracts of white variety 'Iceberg'. For red variety 'Samantha', there was large difference on the petal extracts.

Keywords: *Rosa hybrid*; pH; petal; anthocyanin; color