

野生白芨叶绿素含量与 SPAD 值的测定与分析

蹇 黎, 余 丹 凤, 秦 小 军

(毕节学院 环境与生命科学系, 贵州 毕节 551700)

摘 要:以 20 份野生白芨资源为试材, 利用 SPAD-502 叶绿素计和丙酮乙醇混合法对其叶片叶绿素含量进行比较分析。结果表明:不同的白芨种质资源的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量以及 SPAD 值均有所不同, 通过相关性分析, 发现叶绿素含量和 SPAD 值之间存在显著的线性相关关系, 表明利用叶片 SPAD 值可以很好的反应整个植株的叶绿素含量水平, 且方法简单易行。

关键词:白芨; 叶绿素含量; SPAD 值; 聚类分析

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0165-03

兰科是有花植物中最大科之一, 约有 25 000 余种, 占 10%。白芨(*Bletilla striata* Reichb.) 属多年生草本地生兰科(Orchidaceae)白芨属(*Bletilla* Rchb. f.) 植物, 主要分布在贵州、广西、安徽、四川、云南、陕西、甘肃等地, 其中以贵州、广西、安徽野生种质资源分布最为丰富, 白芨多生长在海拔高度为 950~3 500 m 的疏生灌木和杂草山坡多石的阔叶林下, 具有很强的适应性。白芨花色丰富, 花型端庄而优雅、叶态美观, 以干燥块茎为药用, 不但具有清热利湿、收敛止血、消肿生肌、改善皮肤营养状况和防止皱纹产生之功效, 而且在工业上还可作为涂料、糊料及浆丝绸等原料, 具有极高的观赏价值、药用价值和经济价值^[1-3]。

绿色植物的光合利用率主要取决于该植物叶片叶绿素含量的多少, 在植株的整个生育期, 可以通过植株的叶绿素含量来鉴定其营养状况。因此, 研究绿色植物

叶片中叶绿素的含量至关重要^[4]。SPAD-502 叶绿素检测仪是通过不同叶绿素含量的叶片对 2 种不同波长光的吸收不同来确定其叶绿素含量, 具有快速、简便和无损的特点, 其测量结果是植物叶片中叶绿素含量的相对值, 已在多种植物中得到应用^[5-9], 但野生白芨叶片的 SPAD 值和叶绿素含量测定及相互关系分析尚鲜见报道。该试验在这方面做了初步的探索, 旨在为快速测定野生白芨种质资源的叶绿素含量提供一种新的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 20 株野生白芨资源分别采自贵州毕节纳雍林场(编号为 1~4), 贵州毕节泰丰园周边(编号为 5~8), 贵州毕节黔西林泉(编号为 9~12), 贵州毕节赫章小山(编号为 13~16), 贵州毕节大方云龙(编号为 17~20)。

1.2 试验方法

1.2.1 SPAD-502 值的测定 对采集野生的白芨资源进行盆栽 1 a, 选取无机械性损伤、无病虫害和病斑的完整叶片, 把叶片表面的泥土和灰尘擦掉, 用 SPAD-502 叶绿素检测仪测定, 每株选 4 片叶片。测定样品用作叶绿素含量测定的样品。

第一作者简介:蹇黎(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为植物分子育种。

基金项目:贵州省科学技术基金资助项目(黔科合 J 字[2012]2012 号); 毕节学院科学研究基金资助项目(院科合字 G2012011 号)。

收稿日期:2013-05-16

stem; the isolated strains attributed to four genera, two families, and two orders based on morphological characteristics; 79.3% of the total isolated strains were found to have some microbial inhibition activities against two or more indicating fungi, 41.4% of the total isolates had antibacterial activities against one or more indicating bacteria; the strain 'SNEFL012' had evident inhibition activities to four kinds of pathogenic indicators, and the strain 'SNEFS005' had evident inhibition activities to two kinds of bacterial indicators and two kinds of pathogenic indicators, the two bioactive strains with evident antimicrobial activities belonging to *Aspergillus* sp. and *Fusidium* sp., respectively. The medicinal plant *Solanum nigrum* L. showed relatively abundant endophytic fungal resource for pathogenic inhibition, and its microbial inhibition was worthwhile for further studies.

Key words: medicinal plant; *Solanum nigrum*; endophytic fungi; isolation; microbial inhibition activity

1.2.2 叶绿素含量的测定 采用丙酮乙醇混合液法进行测定,参照张宪政^[10]的方法计算。

2 结果与分析

2.1 叶绿素含量和 SPAD 值的测定与分析

由表 1 可知,不同白芨品种的叶绿素 a(chl a)含量、叶绿素 b(chl b)含量、总叶绿素(Total chl)含量和 SPAD 值均不相同,即使是产自相同地方的品种也存在差异。叶绿素 a 含量最高的来自大方云龙(18)和黔西林泉(9、11),分别为 1.05、1.01、0.98 mg/g,比叶绿素含量最低(纳雍林场,0.57 mg/g)的品种高出 45.71%、43.56%、41.84%。叶绿素 b 含量最高的来自大方云龙(18、19)和黔西林泉(12、9),分别为 1.00、0.85、0.86、0.82 mg/g;比叶绿素 b 含量最低的来自于纳雍林场(0.32 mg/g)的品种分别高出 68.0%、62.4%、62.8%和 61.0%。总叶绿素含量最高可达到 2.05 mg/g(18),其次是 1.83 mg/g(9)和 1.81 mg/g(19)。SPAD 值最大是来自大方云龙高达 73.8,比最低 SPAD 值(54.3)高出 26.42%。所有的品种的总叶绿素含量均随 SPAD 值的增加而增加。从 5 个采集地的平均叶绿素含量来看,叶绿 a 含量大小依次为:黔西林泉(0.95 mg/g) > 大方云龙(0.87 mg/g) > 赫章小山(0.81 mg/g) > 泰丰园周边(0.80 mg/g) > 纳雍林场(0.65 mg/g);叶绿 b 含量大小依次为:黔西林泉(0.69 mg/g) = 大方云龙(0.69 mg/g) > 赫章小山(0.53 mg/g) = 纳雍林场(0.53 mg/g) > 泰丰园周边

表 1 20 个白芨品种叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、总叶绿素含量和 SPAD 值

Table 1 Contents of chlorophyll a, b, total chlorophyll and SPAD value of 20 *Bletilla striata*

来源	编号	叶绿素 a 含量 /mg · g ⁻¹	叶绿素 b 含量 /mg · g ⁻¹	总叶绿素含量 /mg · g ⁻¹	SPAD 值
贵州毕节	1	0.78	0.55	1.33	62.00
纳雍林场	2	0.64	0.32	0.96	56.00
	3	0.57	0.64	1.21	61.10
	4	0.61	0.59	1.20	58.12
贵州毕节	5	0.69	0.50	1.19	63.48
泰丰园周边	6	0.93	0.46	1.39	69.00
	7	0.82	0.41	1.23	60.00
	8	0.76	0.59	1.35	64.00
贵州毕节	9	1.01	0.82	1.83	65.00
黔西林泉	10	0.87	0.55	1.42	54.30
	11	0.98	0.53	1.51	56.00
	12	0.94	0.86	1.80	66.50
贵州毕节	13	0.86	0.65	1.51	69.00
赫章小山	14	0.69	0.58	1.27	55.60
	15	0.89	0.47	1.36	62.00
	16	0.80	0.42	1.22	58.00
贵州毕节	17	0.74	0.46	1.20	57.40
大方云龙	18	1.05	1.00	2.05	73.80
	19	0.96	0.85	1.81	58.00
	20	0.73	0.45	1.18	60.00

表 2 20 个白芨品种间的叶绿素含量、SPAD 值的 t 测验

Table 2 t test on the chlorophyll contents and SPAD value of 20 *Bletilla striata*

来源	泰丰园 Total Chl SPAD	黔西林泉 Total Chl SPAD	赫章小山 Total Chl SPAD	大方云龙 Total Chl SPAD
纳雍林场	1.16 0.24	2.59* 0.34	1.53 0.66	1.42 0.58
泰丰园		1.82 0.37	0.31 0.68	0.92 0.51
黔西林泉			2.10 0.33	0.26 0.35
赫章小山				0.84 0.51

注: *、* * 分别表示在 0.05 及 0.01 水平上差异显著,下同。

Note: *, * * mean significant at 0.05 and 0.01 levels respectively, the same below.

(0.49 mg/g);总叶绿素含量大小依次为:黔西林泉(1.64 mg/g) > 大方云龙(1.56 mg/g) > 赫章小山(1.33 mg/g) > 泰丰园周边(1.29 mg/g) > 纳雍林场(1.17 mg/g)。SPAD 值大小依次为:泰丰园周边(64.12) > 大方云龙(62.29) > 赫章小山(61.15) > 黔西林泉(60.5) > 纳雍林场(59.33)。从表 2 可以看出,除了来自于黔西林泉和纳雍林场的总叶绿素含量间存在着显著差异外,其余不同来源的品种间的叶绿素含量和 SPAD 值之间的差异均不显著。这些结果表明,虽然全部白芨品种间的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量和 SPAD 值有所不同,但它们之间的差异不大。

2.2 叶绿素含量和 SPAD 值的相关性分析

SPAD-502 叶绿素含量测定是一种快速、间接的方法,为验证其在白芨叶绿素含量测定中的有效可行性,对 20 个白芨品种间的叶绿素含量与 SPAD 值进行相关性分析,从表 3 可以看出,不同的白芨品种间的叶绿素含量和 SPAD 值的相关性也有所不同。所有的白芨品种的叶绿素含量和 SPAD 值之间存在着显著的线性相关关系。最大相关系数可以达到 0.99,最低的相关系数也达到显著水平。这些结果表明,在用 SPAD 值来测定其叶绿素含量的相对值时,叶片 SPAD 值与叶绿素含量一样存在着正相关关系,因此,可以把白芨叶片的 SPAD 值作为白芨生长期间营养需求的一项指标。

表 3 20 个白芨品种间的叶绿素含量与 SPAD 值的相关性分析

Table 3 Correlation coefficients of SPAD value and the chlorophyll content in 20 *Bletilla striata*

来源	编号	r	来源	编号	r	来源	编号	r
纳雍林场	1	0.91* *	黔西林泉	9	0.59* *	大方云龙	17	0.56* *
	2	0.99* *		10	0.48* *		18	0.75* *
	3	0.56* *		11	0.88* *		19	0.99* *
	4	0.99* *		12	0.69* *		20	0.91* *
泰丰园	5	0.78* *	赫章小山	13	0.58* *			
	6	0.94* *		14	0.62* *			
	7	0.68* *		15	0.65* *			
	8	0.99* *		16	0.99* *			

2.3 总叶绿素含量的聚类分析

对 20 个野生白芨种质资源的总叶绿素含量进行聚类分析,从图 1 可以看出,叶绿素含量有着明显的分化态势,以 8.0 为阈值,可将 20 个品种划分为三大类群。如果以这些类别品种的 chl a、chl b、Total chl 以及 chl a/chl b 作为指标,可以看出大多数品种的叶绿素含量均处于相当水准。可见,大多数不同来源的品种聚为一类,这些品种的园艺性状存在诸多的相似性。

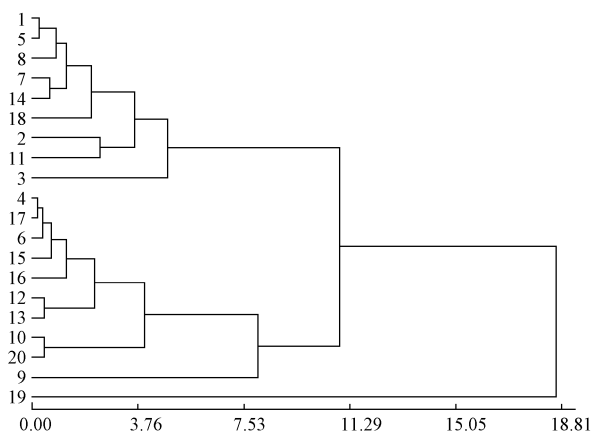


图 1 20 个白芨野生资源叶绿素含量聚类分析图

Fig. 1 Dendrogram by cluster analysis of total chlorophyll content from 20 *Bletilla striata*

3 讨论与结论

不同的白芨种质资源的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量和 SPAD 值不同,但多数品种间不存在显著差异性。根据叶绿素含量和 SPAD 值之间的相关性分析,20 个白芨品种间均存在显著的线性相关关系,其相关系数

变幅为 0.48~0.99,证明用 SPAD-502 叶绿素计来测量叶绿素含量是合理可行的,更加方便快捷,重要的是测定材料不破坏植物的叶片、测定不受时间、温度及其它气候条件的影响,可快速的收到测定数据,为相关白芨研究提供可靠快捷的测量手段。

参考文献

- [1] 陈心启,吉占和,罗毅波. 中国野生兰科植物彩色图[M]. 北京:科学出版社,1999:107.
- [2] 文臻. 春兰组培条件和体内多糖的研究[D]. 成都:四川大学,2005:31.
- [3] 侯大强. 春石斛兰离体培养、再生过程生理变化及转基因初步研究[D]. 杭州:浙江大学,2006.
- [4] 董运斋. 大花蕙兰营养特性与施肥的研究[D]. 北京:北京林业大学,2005:11-13.
- [5] Loh F, Grabosky J, Bassuk N. 191 Use of the minolta SPAD-502 to determine chlorophyll concentration in *Ficus benjamina* L. and *Populus deltoides* Marsh leaf tissue[J]. Hort Science, 2000, 35(7): 423-424.
- [6] Han H H, Kim Y K, Lee J Y. Correlation among the nitrogen, chlorophyll (SPAD Value) and photosynthetic reactions on the leaves of one-year-old shoots by training angles in 'Fuji' apple trees[J]. Hort Science, 2004, 39(4): 762-763.
- [7] Babar M A, Reynolds M P, van Ginkel M, et al. Spectral reflectance to estimate genetic variation for in-season biomass, leaf chlorophyll, and canopy temperature in wheat[J]. Crop Sci, 2006, 46(3): 1046-1057.
- [8] Loh F C W, Grabosky J C, Bassuk N L. Using the SPAD 502 Meter to Assess Chlorophyll and Nitrogen Content of Benjamin Fig and Cottonwood Leaves[J]. Hort Technology, 2002, 12(4): 541-740.
- [9] Neilsen D, Hogue E J, Neilsen G H, et al. Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees[J]. HortScience, 1995, 30(3): 508-512.
- [10] 张宪政. 植物叶绿素含量测定-丙酮乙醇混合液法[J]. 辽宁农业科学, 1986(3): 26-28.

Comparative Analysis on the Chlorophyll Contents and SPAD Value of Wild *Bletilla striata* Germplasm Resources

JIAN Li, YU Dan-feng, QIN Xiao-jun

(Department of Geography and Life Sciences, Bijie University, Bijie, Guizhou 551700)

Abstract: Taking 20 wild *Bletilla striata* germplasm resources as materials, the chlorophyll contents of 20 *Bletilla striata* cultivars were measured and compared by chlorophyll meter SPAD-502 and acetone ethanol mixed methods. The results showed that different cultivars had different chlorophyll a content, chlorophyll b content, total chlorophyll content and SPAD value. The relativity of the chlorophyll content and SPAD value were notability lever. So it concluded that SPAD readings could fully reflect the chlorophyll contents and it had simple and convenient measure without any harm leaves.

Key words: *Cymbidium*; chlorophyll content; SPAD value; cluster analysis