

# 植物光合色素含量的测定 及其电算程序的设计

修士忠 柳 莉

(白山市农业技术推广站,白山 134300)

**提 要** 植物光合色素含量的高低是衡量植物光合水平的一项重要生理指标,测定后其计算程序烦琐。本文通过对萝卜叶片光合色素含量的测定,介绍一种应用 BASIC 语言编制的计算程序进行数据处理,方便、准确。

**关键词** 植物光合色素;含量;测定;电算程序;设计

高等植物叶绿体内参与光合作用的色素主要有两类,即叶绿素(a和b)与类胡萝卜素,其含量高低是衡量植物光合水平的一项重要生理指标。其测定方法主要是用有机溶剂提取色素,然后选取适宜波长在分光光度计上比色,并按有关公式计算出含量,因其计算时步骤较多,计算较烦琐,所以我们利用微机的 BASIC 语言编制出计算光合色素含量的电算程序。该程序不受处理样本数的限制,直接以记录表格的形式输出计算结果,应用十分方便。本程序已在 IBM-PC/XT 微机上运行通过。

## 1 光合色素含量的测定

### 1.1 材料、仪器与试剂

**材料:**植物的绿色叶片。

**仪器:**分光光度计、具塞刻度试管、天平、打孔器、移液管。

**试剂:**无水乙醇与丙酮(1:1,V/V)混合液、无水乙醇、丙酮与蒸馏水(4.5:4.5:1,V/V)混合液。

### 1.2 方法

用打孔器在欲测叶片主脉两侧打取约 0.03 dm<sup>2</sup> 叶片,或称取 0.1 g 左右,放在具塞试管中,加 20 mL 混合提取液。加塞后置于黑暗条件下直接浸提,直到叶片完全变白(浸提时间因温度和植物而异,一般由 10 min 到几十 h),即可进行测定,摇匀后,取上部清液测定,以混合液作对照,用 1 cm 光径比色杯于分光光度计上波长 644 nm、662 nm、440 nm 处分别测出光密度值(OD)。

### 1.3 光合色素含量计算

本文采用 Wetstein 公式,选定叶绿素 a 的吸收峰为 662 nm,叶绿素 b 的吸收峰为 644 nm,类胡萝卜素的吸收峰为 440 nm,其计算公式为:

$$C_a = 9.784 OD_{662} - 0.990 OD_{644}$$

$$C_b = 21.426 OD_{644} - 4.650 OD_{662}$$

$$C_t = C_a + C_b = 5.134 OD_{662} + 20.436 OD_{644}$$

$$C_c = 4.695 OD_{440} - 0.268(C_a + C_b)$$

式中  $C_a$ 、 $C_b$ 、 $C_t$ 、 $C_c$  分别为提取液中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量和类胡萝卜素的浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $OD_{662}$ 、 $OD_{644}$ 、 $OD_{440}$  分别为相应波长 (nm) 下的 OD 值。

将各色素提取液浓度分别代入下式,即可计算出各种色素的含量:

$$\text{光合色素含量} (\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2} \text{ 或 } \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{C (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) \times \text{提取液总量} (\text{mL}) \times 10^{-3}}{\text{叶片面积} (\text{dm}^{-2}) \text{ 或 } \text{叶片重量} (\text{g})}$$

## 2 程序设计

### 2.1 变量说明

由键盘输入程序清单:

L——光合色素提取液总量,单位:mL;

G——被测叶片的重量,单位:g;

S——被测叶片的面积,单位: $\text{dm}^{-2}$ ;

X——输入的被测样本数;

ZS——存放被测植物的名称;

D1——存放波长 662 nm 处的光密度值  $OD_{662}$ ;

D2——存放波长 644 nm 处的光密度值  $OD_{644}$ ;

D3——存放波长 440 nm 处的光密度值  $OD_{440}$ 。

### 2.2 运行实例

如测定萝卜叶片中的光合色素含量,用打孔器打取约  $0.03 \text{ dm}^2$  叶片 ( $\phi = 4.6 \text{ mm}$ , 20 片),在 20 mL 混合提取液中浸泡直到叶片完全变白时,然后在分光光度计上波长为 662 nm、644 nm、440 nm 处分别测出其光密度值: $OD_{662}$  为 0.375、 $OD_{644}$  为 0.250、 $OD_{440}$  为 0.950。

从第 1 000 DATA 语句依次输入字符串植物名称及数字变量  $OD_{662}$ 、 $OD_{644}$ 、 $OD_{440}$  的测定值:1 000 DATA “萝卜”,0.375,0.250,0.950。输入完毕后,开始运行 (RUN),根据屏幕提示,键入以下项目:L=? 20 G=? 0 (因打取叶片面积,故 G 为 0。若称取叶片重量,则键入相应的重量值)S=? 0.033 2 X=? 1,便可直接输出光合色素含量记录表。

表 1 光合色素含量记录

(单位:  $\text{mg}/\text{dm}^2$ )

样品编号	植物名称	Chl. a	Chl. b	Chl. a + b	Chl. c
1	萝卜	2.061	2.176	4.237	1.557

### 2.3 程序清单

```
10 REM 光合色素含量计算
20 CLEAR
30 INPUT "L=";L
40 INPUT "G=";G
50 IF G=0 THEN 80 ELSE 60
```

```

60 LPRINT TAB(31)“光合色素含量记录表”TAB(60)“单位:mg/g”
70 GOTO 110
80 INPUT “S = ”;S
90 G = S
100 LPRINT TAB(31)“光合色素含量记录表” TAB(60)“单位:mg/dm2”
110 GOSUB 270
120 LPRINT TAB(1)“样品编号”TAB(13)“植物名称”TAB(26)“Chl. a”TAB(39)“Chl.
    b”TAB(52)“Chl. a + b”TAB(65)“Chl. c”
130 GOSUB 270
140 INPUT “X = ”;X
150 FOR I = 1 TO X
160 READ Z$ ,D1,D2,D3
170 A = 9.784 * D1 - 0.99 * D2
180 B = 21.426 * D2 - 4.65 * D1
190 T = 5.134 * D1 + 20.436 * D2
200 C = 4.695 * D3 - 0.268 * T
210 DEF FNF(M) = INT(((M * L)/(G * 1 000)) * 1 000 + 0.5)/1 000
220 CA = FNF(A);CB = FNF(B);CT = FNF(T);CC = FNF(C)
230 LPRINT TAB(4);I;TAB(13);Z$ ;TAB(26);CA;TAB(39);CB;TAB(52);CT;TAB
    (65);CC
240 GOSUB 270
250 NEXT I
260 END
270 FOR N = 1 TO 80:LPRINT“ - ”;:NEXT N
280 RETURN

```

### 参 考 文 献

- 1 白宝璋等.植物生理生化测试技术.北京:中国科学技术出版社,1995,37~38
- 2 张苏华.BASIC 语言程序的设计.济南:山东大学出版社,1988