

植物体可溶性糖测定方法的优化

赵轶鹏, 赵新勇 (江苏徐淮地区徐州农业科学研究所, 江苏徐州 221000)

摘要 [目的]优化植物体可溶性糖测定方法。[方法]通过定容前添加活性炭并持续吸附一定时间的叶绿素等有色物质,对目前测定植物体内可溶性糖采用的普遍方法——蒽酮比色法进行改进。[结果]与传统方法相比较,采用该研究改进的植物体可溶性糖测定方法测得的可溶性糖含量降低了20%左右,提高了准确性。[结论]该研究改进的可溶性糖测定技术可提高测定含有色物质植物器官可溶性糖的准确性,有助于对植物体内碳代谢的变化进行精确预测,同时具有可操作性强、简单易行、重复性好的特点。

关键词 可溶性糖;蒽酮比色法;色素

中图分类号 S-03 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)04-0184-02

Optimization of Classical Measuring Method of Soluble Sugar in Plant

ZHAO Yi-peng, ZHAO Xin-yong (Xuzhou Institute of Agricultural Sciences of Jiangsu Province, Xuzhou, Jiangsu 221000)

Abstract [Objective] The aim was to optimize the classical measuring method of soluble sugar in plant. [Method] Through adding with activated carbon before constant volume and continuously adsorbing non-ferrous material for certain time, the classical measuring method of soluble sugar in plant like anthrone colorimetry method was modified. [Result] Compared with the traditional method, the soluble sugar content determined by modified method were reduced about 20%. [Conclusion] The modified method can improve the accuracy of determining soluble sugar in plant containing non-ferrous material, is helpful for the accurately predict of the change of plant carbon metabolism, and has some advantages of strong operation, simple and good repeatability.

Key words Soluble sugar; Anthrone colorimetry method; Pigmentum

碳代谢是植物体内重要的代谢过程之一^[1-4]。碳代谢的强弱及其与氮代谢的协调程度不仅影响植物的生长发育,而且与作物产量的高低和品质的优劣紧密相关^[5]。可溶性糖作为高等植物的光合产物,既是植物碳代谢的主要形式,也是一种重要的渗透调节物质,在干旱胁迫过程中植物体内可溶性糖含量的变化在一定程度上能反映其对不良环境的适应能力。目前常见测定可溶性糖的方法是蒽酮比色法^[6],该方法操作简便、快速,而且成本较低,适宜于一般的实验室分析操作。但是由于样品本身有色物质的存在,如叶绿素,测定时往往会出现吸光度偏大的情况,最终导致试验结果不准确,影响实验者对数据的统计分析。笔者对采用蒽酮比色法测定植物体可溶性糖的方法进行了优化,旨在为植物体内碳代谢的预测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料。所选材料为粳粳杂交稻甬优 2640,将整个稻株自根部挖出后,按穗、茎、叶将各器官分开,并置105℃杀青30 min,80℃烘至恒重(至少72 h),取0.05 g过100目筛的样品,经3次80%乙醇提取后合并提取液。

1.1.2 试剂与仪器。试剂有80%乙醇、蒽酮试剂、氢氧化钠、盐酸、活性炭等。仪器有分光光度计、离心机、分析天平、恒温箱等。

1.2 方法 设置定容至50 mL前加活性炭、定容至50 mL后加活性炭和不加活性炭3个主处理。加入活性炭的量分别设置1、2和3 g;加入时间分别为12、24和48 h。然后将样品过滤、定容(定容后加活性炭的不进行该步骤),每个处理设3个重复。

上述步骤完成后,按照蒽酮比色法测定。定容前加活性炭测定步骤见图1,定容后加活性炭测定步骤见图2。活性炭处理完成后,吸0.5 mL提取液+0.5 mL水,加入2 mL 0.2%蒽酮试剂,经15 min沸水浴冷却至室温,用分光光度计在620 nm波长处比色。该过程中需注意:加蒽酮试剂时,试管置于冷水浴中;测蔗糖时,用0.9 mL蒸馏水+0.1 mL 2 mol/L NaOH+1 mL 0.1%间苯二酚+3 mL 10 mol/L HCl作参比。可溶性糖标准溶液的配制见表1。

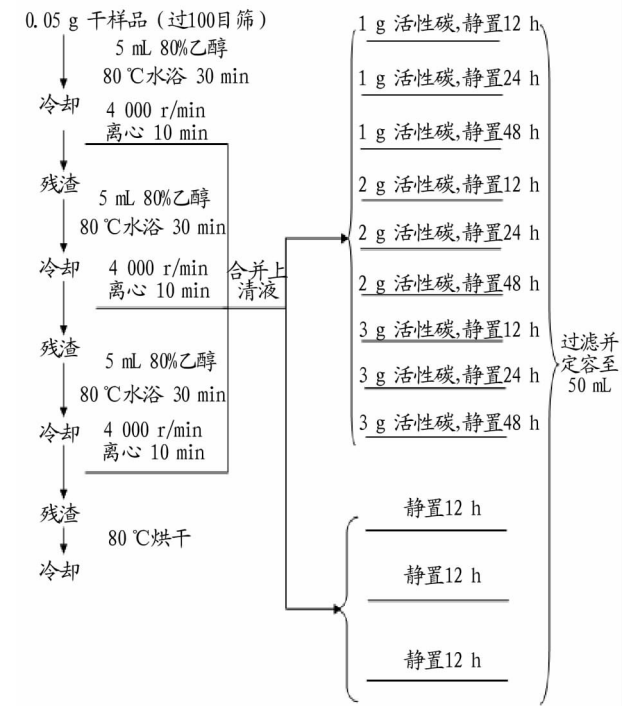


图1 定容前加入活性炭的操作步骤

Fig. 1 The method of adding activated carbon before constant volume

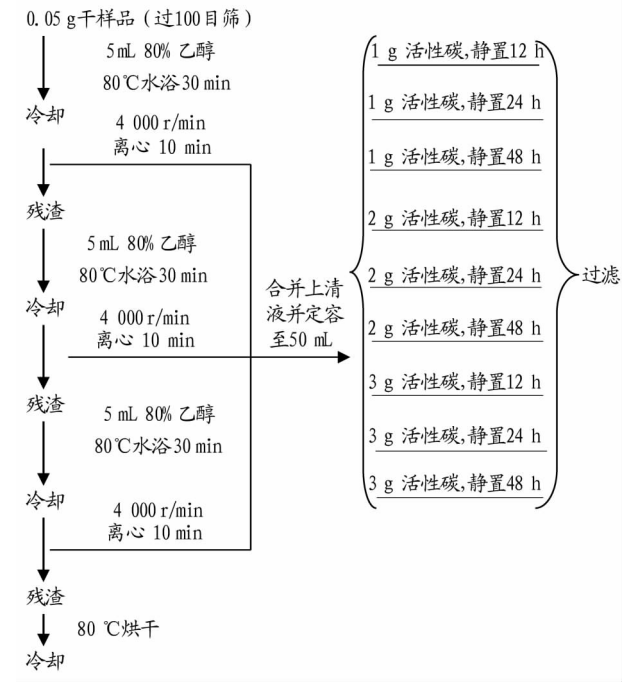


图2 定容后加入活性炭的操作步骤

Fig.2 The method of adding activated carbon after constant volume

2 结果与分析

由表2可知,不加活性炭的样品测定结果要极显著大于加入活性炭的样品,说明在某种程度上活性炭的加入能够吸附提取液中的有色物质,降低其对结果的干扰;在加入活性炭的处理中,定容前加活性炭处理结果要低于定容后加活性炭,其中以加入1和3 g活性炭在相同时间处理下差异最大,达极显著水平,表明在定容前加入活性炭所吸收的有色物质

的效果强于定容后加活性炭的效果;在定容前加入相同质量活性炭条件下,有且仅有加入量为3 g时,测定结果在不同时间处理下较为稳定,其极差为0.3,而其他处理的极差均大于1,说明在活性炭过量的情况下,能够快速地吸附有色物质,在活性炭不足的情况下,其吸附能力便随处理时间的延长逐渐加强。由此推断,若活性炭不足,但处理时间足够长亦有可能将有色物质吸附干净。在定容后加入相同质量活性炭的条件下,测定结果在不同时间处理下亦趋于稳定,但测定结果显著高于定容前加活性炭处理,其原因可能是由于定容后体积增大,有色物质较分散,活性炭表面积不足以与其全面接触,进而使部分有色物质不能被活性炭吸附,最终导致结果偏高。

表1 可溶性糖标准溶液的配制

Table 1 The preparation standard solution of soluble sugar				
编号 No.	糖标 Sugar mL	纯水 Pure water mL	蒽酮 Anthrone mL	葡萄糖 Glucose mg
0	0	1.0	4	0
1	0.2	0.8	4	0.02
2	0.4	0.6	4	0.04
3	0.6	0.4	4	0.06
4	0.8	0.2	4	0.08
5	1.0	0	4	0.10

3 结论

在测定植物组织可溶性糖的试验中,在定容前加入3 g活性炭,并持续12 h,既能使活性炭高效地吸收叶绿素等有色物质,又能使测定结果相对稳定。该研究寻找出一种测定植物组织可溶性糖的方法,该方法既能减少叶绿素等有色物质的干扰,又能稳定试验测定结果。

表2 不同处理糖含量测定结果

Table 2 The sugar content of different measuring methods								
加碳时间 Adding carbon time	加碳量 Adding carbon amount g	碳处 理时间 Carbon processing time//h	糖含量 Sugar content mg/g	加碳时间 Adding carbon time	加碳量 Adding carbon amount g	碳处 理时间 Carbon processing time//h	糖含量 Sugar content mg/g	
不加碳 No adding carbon	不加碳	12	99.2 fE	定容前 Before constant volume	3	48	77.8 aA	
不加碳 No adding carbon	不加碳	24	99.2 fE	定容后 After constant volume	1	12	87.3 deD	
不加碳 No adding carbon	不加碳	48	99.1 fE	定容后 After constant volume	1	24	87.4 eD	
定容前 Before constant volume	1	12	84.2 bcdeBC	定容后 After constant volume	1	48	87.6 eD	
定容前 Before constant volume	1	24	83.6 bcdeBC	定容后 After constant volume	2	12	86.3 cdeBC	
定容前 Before constant volume	1	48	82.8 bcdABC	定容后 After constant volume	2	24	86.1 cdeBC	
定容前 Before constant volume	2	12	83.8 bcdeBC	定容后 After constant volume	2	48	85.9 cdeBC	
定容前 Before constant volume	2	24	82.4 bcABC	定容后 After constant volume	3	12	84.4 bcdeBC	
定容前 Before constant volume	2	48	81.1 abAB	定容后 After constant volume	3	24	84.0 bcdeBC	
定容前 Before constant volume	3	12	77.8 aA	定容后 After constant volume	3	48	83.6 bcdeBC	
定容前 Before constant volume	3	24	77.5 aA					

注:同列数据后不同大、小写字母分别表示处理间在0.01和0.05水平差异显著
Note: Different capital letters and lowercase letters at the same column represented significant difference at 0.01 and 0.05 level among treatments, respectively

参考文献

[1] 宋建民,田纪春,赵世杰.植物光合碳和氮代谢之间的关系及其调节[J].植物生理学通讯,1998,34(3):230-238.

[2] 李潮海,刘奎,连艳鲜.玉米碳氮代谢研究进展[J].河南农业大学学报,2000,34(4):318-323.

[3] 赵立臣.春玉米高产施肥营养生理研究进展[J].农业与技术,2003,23(6):90-91.

[4] 王秀萍,刘荣花,詹静.连阴雨对玉米的影响研究进展[J].气象与环境科学,2016,39(4):121-125.

[5] HUPPE H C, TURPIN D H. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1994, 45:577-607.

[6] FAIRBAIRN N J. A modified anthrone reagent[J]. Chem and Ind, 1953, 4: 86.