

# 水稻叶绿素含量的测定

## Determination of Chlorophyll Content in Rice

周勇<sup>1</sup>, 范晓磊<sup>1,2</sup>, 林拥军<sup>1</sup>, 陈浩<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>作物遗传改良国家重点实验室, 华中农业大学, 武汉; <sup>2</sup>农学院, 扬州大学, 扬州

\*通讯作者邮箱: [hchen@mail.hzau.edu.cn](mailto:hchen@mail.hzau.edu.cn)

引用格式: 周勇, 范晓磊, 林拥军, 陈浩. (2018). 水稻叶绿素含量的测定. *Bio-101* e1010147. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010147.

How to cite: Zhou, Y., Fan, X. L., Lin, Y. J. and Chen, H. (2018). Determination of chlorophyll content in rice. *Bio-101* e1010147. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010147. (in Chinese)

**实验原理:** 根据叶绿素提取液对可见光谱的吸收, 利用分光光度计在特定波长下测定叶绿素提取物的吸光值, 然后根据公式计算出样品中叶绿素的含量。

**实验目的:** 可以检测水稻叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量。

**关键词:** 叶绿素 a, 叶绿素 b, 总叶绿素含量

### 材料与试剂

1. 2 ml 离心管
2. Parafilm
3. 乙醇 (国药试剂) (分析纯)
4. 丙酮 (国药试剂) (分析纯)
5. 抽提 Buffer (见溶液配方)

### 仪器设备

1. 分析天平 (Adventurer, USA)
2. 分光光度计 DU640 (Backman, USA)
3. 离心机 (Backman, USA)

### 实验步骤

1. 取新鲜水稻叶片, 擦干后去中脉, 剪碎, 混匀。

2. 用分析天平称取 0.1 g 左右的叶片到 2 ml 离心管中，每个编号的样品分成三份作为三个技术重复，每管加入抽提 Buffer 2 ml，parafilm 封口，4 °C 避光抽提 12 h。
3. 以抽提 Buffer 为空白对照，使用紫外分光光度计 DU640 在波长 645 nm 和 663 nm 下测定叶绿素提取物的吸光值。

## 结果与分析

根据 Arnon 法 (1949) 的公式加以修正计算叶绿素含量：

$$\text{叶绿素 a} = (12.72A_{663} - 2.59A_{645}) \times v/w \times 1,000$$

$$\text{叶绿素 b} = (22.88A_{645} - 4.67A_{663}) \times v/w \times 1,000$$

$$\text{叶绿素总含量} = (20.29A_{645} + 8.05A_{663}) \times v/w \times 1,000$$

## 注意事项

1. 为避免叶绿素见光分解，操作时尽量在弱光下进行，且操作速度要快。
2. 样品不宜太多，否则加入抽提 Buffer 后，2 ml 离心管装不下。
3. 若 4 °C 避光抽提 12 h 后，叶片还没有完全变白，则延长抽提时间至叶片全部变白为止。
4. 若叶绿素抽提物浑浊，则可以短暂离心后测定吸光值，否则会对试验结果造成误差。

## 溶液配方

1. 抽提 Buffer

乙醇:丙酮:H<sub>2</sub>O = 4.5:4.5:1 (体积比)