

## 不同光谱能量分布对文心兰组织培养的影响

徐志刚<sup>1</sup> 崔瑾<sup>2</sup> 邸秀茹<sup>1</sup>

(1 南京农业大学农学院 2 南京农业大学生命科学学院)

**摘要:**采用发光二极管(light-emitting diode, LED)调制获取不同光谱能量分布的光源,以荧光灯为对照,研究其对文心兰原球茎诱导、增殖及生根组培苗生长的影响。结果表明:红光有利于原球茎的诱导,并促使原球茎产生最高的增殖系数和碳水化合物含量以及最低的分化出芽率;蓝光使原球茎产生最高的蛋白质含量、酶系活力和分化出芽率;单一红光促进文心兰生根苗茎的伸长,但不利于叶片色素的形成;单一蓝光抑制生根苗茎的伸长,促进叶片蛋白质和色素的合成;红蓝光谱分布处理的生根苗的生长量、干重、能效和酶系活力指标均高于荧光灯对照,色素含量与荧光灯对照无显著差异;红光 LED 促进文心兰原球茎的诱导,蓝光 LED 促进分化,红蓝光谱构成的 LED 光源更有利于生根组培苗的正常生长,是替代荧光灯的理想光源。

**关键词:**光谱能量分布;发光二极管;文心兰;原球茎;植物组织培养

**中图分类号:**S682.31; S123 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-1522(2009)04-0045-06

XU Zhi-gang<sup>1</sup>; CUI Jin<sup>2</sup>; DI Xiu-ru<sup>1</sup>. **Effects of different spectral energy distribution on tissue culture of *Oncidium in vitro*.** *Journal of Beijing Forestry University* (2009) **31**(4) 45-50 [Ch, 37 ref.]

<sup>1</sup> College of Agronomy, Nanjing Agricultural University, 210095, P. R. China;

<sup>2</sup> College of Life Science, Nanjing Agricultural University, 210095, P. R. China.

The light sources with different spectral energy distribution were generated by light-emitting diode (LED), and then under these light sources, the protocorm-like body (PLB) induction, proliferation and growth of plantlets in rooting stage of *Oncidium* (*Onc.* 'Sweets Sugar') *in vitro* were investigated, while the fluorescent lamp was used as control. The results indicated that the PLB induction from shoot apex tissues was promoted obviously under the red LED with the highest proliferation rate, the most content of carbohydrate and the lowest differentiation rate, while the most content of protein content, enzyme activity and the highest differentiation rate were observed under blue LED. Under red LED, the elongation of plantlets of *Oncidium* in rooting stage was the highest, and the pigments were the lowest, whereas, the elongation was the least, and the pigments and protein were the highest under blue LED. In comparison with fluorescent light, the growth amount, dry mass, energy efficiency and enzyme activity of plantlets in rooting stage were the highest under combination of red and blue LED, and no significant difference was observed on pigment in leaf. Though the red LED is effective for PLB induction, and blue LED is advantageous for differentiation from PLB, the spectral energy distribution with a combination of red and blue LED is more suitable for the growth of plantlets in rooting stage.

**Key words** spectral energy distribution; light-emitting diode (LED); *Oncidium*; protocorm-like body (PLB); plant tissue culture

光作为物理因子,其光谱能量分布(光质与光量)对植物组织培养具有深刻的影响<sup>[1-3]</sup>。国内外学者研究了光质对风信子(*Hyacinthus orientalis*)<sup>[1]</sup>和肉

苋蓉(*Cistanche deserticola*)<sup>[2]</sup>愈伤组织、榉桤(*Cydonia oblonga*)体胚产量<sup>[3]</sup>,以及小苍兰(*Freesia refracta*)<sup>[4]</sup>、一品红(*Euphorbia pulcherrima*)<sup>[5]</sup>、康乃馨

收稿日期:2008-08-16

http://www.bjfujournal.cn; http://journal.bjfu.edu.cn

**基金项目:**“863”国家高技术研究发展计划项目(2006AA03A165)、江苏省自然科学基金项目(BK2004107)。

**第一作者:**徐志刚,博士,副教授。主要研究方向:植物光生物学。电话:025-84395323 Email: xuzhigang@njau.edu.cn 地址:210095 南京农业大学农学院。

©1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(*Dianthus caryophyllus*)<sup>[6]</sup> 和葡萄 (*Vitis vinifera*)<sup>[7-8]</sup> 愈伤组织或生根组培苗生长的影响,采用有色膜或荧光灯加滤光片获得光质,无法定量精确调制不同光谱,光量低且不一致,对研究结论间的相互比较带来不便<sup>[9]</sup>。

与荧光灯相比,新型半导体光源发光二极管(light-emitting diode, LED)具有波长窄、光质纯、光效高、波长类型丰富、光谱能量分布调制便捷、寿命长等突出优势,便于集中植物所需波长实施均衡近距离照光,既是用作实验研究的高品质光源,又可用作低热辐射和紧凑空间集约化植物种苗生产的高效能光源<sup>[10]</sup>。国外学者采用 LED,研究了光质对百合(*Lilium*)离体鳞茎<sup>[11]</sup>、兰花(*Cymbidium*)原球茎<sup>[12]</sup>,以及对香蕉(*Musa sapientum*)<sup>[13]</sup>和菊花(*Chrysanthemum* × *morifolium*)<sup>[14]</sup>组培苗生长的影响,但仅限于两种光质类型的定性研究。

文心兰(*Oncidium*)的观赏性好、商品价值高,组培技术是获得文心兰优质种苗的重要手段<sup>[15]</sup>,已有的研究多集中在生长调节剂<sup>[16]</sup>、培养条件<sup>[17]</sup>以及外植体类型<sup>[18]</sup>等的选择上,关于不同光谱能量分布对其诱导、增殖、分化和生根完整组培过程影响的研究至今未见报道。本研究通过调制 LED 获取不同光谱能量分布,研究其对文心兰原球茎(PLB)诱导、增殖分化和生根苗生长的影响,寻找文心兰组培苗快繁的最佳高效光谱,为植物组培专用高效 LED 光源研发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与处理

实验于 2008 年 1 月至 2008 年 5 月在南京农业大学农学院组培室进行。供试材料为南京农业大学花卉研究所提供的文心兰切花品种无菌苗。

1.1.1 PLB 诱导

剥除无菌苗外层叶片,剥取约 3~5 mm 茎尖,将其竖直接种在 1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L 培养基上。

1.1.2 PLB 增殖分化

为避免由单色光所诱导的 PLB 材料对增殖分化有可能造成的后续效应误差,以白光诱导的 PLB 为材料,选取较一致的 PLB 团块分割成直径 3~4 mm 的切块,在无菌条件下称重后接入增殖分化培养基:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L。

1.1.3 生根培养

为避免后续效应误差,仍然以白光下的分化苗为生根培养材料,选取含叶 3~4 片、高 1~2 cm 的分

化苗,切净基部的原球茎,接入生根培养基 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L。

1.2 实验装置及光谱能量分布参数

以各种波长的 LED 为光源,采用文献[19]提供的方法调制并获得不同的光谱能量分布,调制后的各种光谱处理的参数如表 1, W 为华电公司生产的电工牌三基色荧光灯<sup>[20]</sup>,设为对照。调节电压、电流、占空比以及光源与植株的距离使光量一致,光照时间为 16 h/d。培养室中相对湿度为(75±5)%,温度(25±2)℃。各次实验材料预培养 5 d 后(诱导、增殖和分化为黑暗预培养,生根为荧光灯预培养),随机分组,每组 12 瓶,分别置于不同光谱能量分布的实验小区内(图 1)。

表 1 不同光谱能量分布处理的主要技术参数

TABLE 1 Major technique parameters of different spectral energy distribution						
培养阶段	处理	光谱	峰值波长/nm	波长半宽/nm	光量/(μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	功率/W
PLB 诱导和增殖分化	R	红光	625	±10	11	
	B	蓝光	460	±10	11	
	Y	黄光	596	±10	11	
	G	绿光	550	±10	11	
	W	白光	380~750		11	
生根	R	纯红光	625	±10	50	10.3
	1RB	高红蓝比	625+460	±10	50	11.0
	2RB	中红蓝比	625+460	±10	50	11.8
	3RB	低红蓝比	625+460	±10	50	12.4
	B	纯蓝光	460	±10	50	17.3
	RBFr	红+蓝+远红	625+460+715	±10	50	11.8
	RBG	红+蓝+绿	625+460+530	±10	50	11.8
	W	白光	380~750		50	80.0



图 1 基于 LED 调制的不同光谱能量分布的实验小区示意图(部分)  
FIGURE 1 Sketch map of plots with different spectral energy distribution under LED

1.3 指标测定与数据处理

茎尖诱导培养 30 d 后统计 PLB 的诱导率,诱导率=形成 PLB 的茎尖数/接种茎尖数×100%。PLB 增殖培养 30 d 后取出称重,增殖系数=PLB 增殖后的鲜重/接种时的鲜重,分化率=PLB 分化出芽的块数/接种块数×100%。

生根培养 30 d 后统计株高、根长、生根率,称量单株鲜重和干重。蒽酮法测定可溶性糖和淀粉含量,茚三酮法测定游离氨基酸含量,无水乙醇丙酮提取法测定叶绿素和类胡萝卜素含量,考马斯亮蓝法

测定可溶性蛋白含量,氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性,高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶(CAT)活性,硫代芭比妥酸(TBA)比色法测定丙二醛(MDA)含量<sup>[21]</sup>,实验重复 3 次。C/N=可溶性糖/游离氨基酸,能效=全株干重/各光源所消耗功率。

以 Excel 计算整理数据,SAS 进行方差分析,采用 LSD 进行多重比较( $P<0.05$ )。

2 结果与分析

2.1 不同光谱对文心兰 PLB 生长的影响

2.1.1 对文心兰 PLB 诱导、增殖和分化的影响

在诱导阶段,处理 15 d 后,红光 R 处理的茎尖最先开始膨大,四周产生许多乳白色或浅黄色类似愈伤组织的乳状突起,20 d 左右开始转为绿色或浅绿色,并形成大量桑果状的原球茎团。30 d 后原球茎诱导率由高到低为 $R>B>W>G>Y$ (表 2),其中 R 处理显著高于其他处理和对照,蓝光 B 处理与荧光灯对照差异不显著,但高于黄光 Y 与绿光 G 处理,且差异显著,黄光 Y 处理最低。

在增殖分化阶段,处理 30 d 后,PLB 得到不同程度增殖,如图 2 和表 2 所示,其鲜重和增殖系数由高到低为 $R>W>Y>G>B$ 。红光 R 处理的 PLB 质地松软,含水量较大,鲜重和增殖系数显著高于其他处理和对照。而蓝光 B 处理的 PLB 质地较硬,鲜重最低。

表 2 不同光谱对文心兰 PLB 诱导、增殖和分化的影响  
TABLE 2 Effects of different light spectrum on induction, proliferation and differentiation of PLB for *Oncidium*

光谱	诱导率/%	鲜重/g	增殖系数	分化率/%
R	96.667 a	19.4 a	6.467 a	50 d
B	83.333 b	13.8 e	4.600 e	90 a
Y	56.667 d	17.6 c	5.667 c	80 b
G	66.667 cd	14.8 d	4.933 d	60 d
W	76.667 bc	18.2 b	6.067 b	70 c

注:同列中相同小写字母表示在 5% 水平上差异不显著,表 3~8 同此。

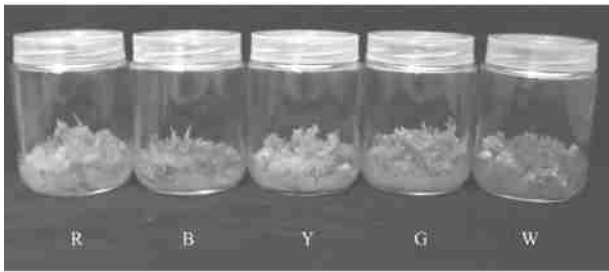


图 2 不同光谱处理的文心兰 PLB

FIGURE 2 PLB of *Oncidium* under different spectra from LED

PLB 在增殖的同时分化出绿色芽点,30 d 后各光谱处理下均分化出大量不定芽,分化率由高到低依次为: $B>Y>W>G>R$ ,其中蓝光 B 处理的分化率最高,其次是黄光 Y 处理,显著高于荧光灯对照。

绿光 G 处理和红光 R 处理,R 处理的分化率最低。与荧光灯相比,蓝光和黄光有利于 PLB 分化出芽,而绿光和红光抑制分化出芽。

2.1.2 对文心兰 PLB 色素含量的影响

如表 3 所示,PLB 的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素(a+b)以及类胡萝卜素含量(鲜重含量,下同)由高低依次为: $B>W>R>G>Y$ ,B 处理的色素含量与荧光灯对照之间无显著差异,但高于 R、G 和 Y 处理。这一结果与图 2 吻合,在图 2 中,B 处理的 PLB 呈深绿色,G 处理和荧光灯 W 对照呈绿色,R 处理呈黄色,而 Y 处理呈淡黄色。叶绿素 a/b 比值由高到低为: $B>W>G>Y>R$ ,其中 R 处理最低。

表 3 不同光谱对文心兰 PLB 色素含量的影响  
TABLE 3 Effects of different light spectra of LED on pigment content of PLB for *Oncidium*

光谱	色素含量/(mg·g <sup>-1</sup> )				Chl a/b
	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总量	类胡萝卜素	
R	0.021 b	0.014 b	0.035 b	0.012 b	1.443 b
B	0.053 a	0.026 a	0.079 a	0.024 a	2.001 a
Y	0.019 b	0.012 b	0.032 b	0.010 b	1.584 a
G	0.020 b	0.013 b	0.033 b	0.011 b	1.690 a
W	0.033 ab	0.017 ab	0.050 ab	0.016 ab	1.929 a

2.1.3 对文心兰 PLB 碳氮代谢的影响

由表 4 可知,可溶性糖和碳水化合物含量由高到低为 $R>W>Y>G>B$ ,淀粉含量由高到低为 $R>Y>W>B>G$ ;R 处理的 PLB 可溶性糖、淀粉和碳水化合物的含量均显著高于 B 处理,与荧光灯对照差异不显著;G 处理的淀粉含量最低。由表 4 可以看出:游离氨基酸含量由高到低为 $R>B>Y>W>G$ ,可溶性蛋白含量由高到低为 $B>Y>W>G>R$ ,B、Y 处理的游离氨基酸含量较高,B 处理的可溶性蛋白含量显著高于 R 和 G 处理。

表 4 不同光谱对文心兰 PLB 碳氮代谢的影响  
TABLE 4 Effects of different light spectra of LED on carbon-nitrogen metabolism of PLB for *Oncidium*

光谱	可溶性糖	淀粉	碳水化合物	游离氨基酸	可溶性蛋白
R	12.495 a	2.609 a	15.104 a	1.923 a	1.103 b
B	9.125 b	2.294 b	11.566 b	1.695 ab	1.705 a
Y	10.960 a	2.441 ab	13.569 a	1.669 ab	1.559 a
G	10.840 a	1.870 c	12.711 a	1.255 c	1.251 b
W	11.452 a	2.438 ab	13.890 a	1.413 bc	1.508 a

2.1.4 对文心兰 PLB 酶系活性的影响

如表 5 所示,SOD 和 POD 活性由高到低为 $B>Y>W>G>R$ ,CAT 活性由高到低为 $Y>B>R>G>W$ ;B 和 Y 处理的 POD、SOD 和 CAT 活性均较高,其中 B 处理的 POD、SOD 活性显著高于 R 处理。B 处理的酶活性维持在较高水平,有利于各种酶基因的表达和促进 PLB 的分化;而 R 处理的酶活处于低水平,不利于 PLB 分化,这与表 2 的数据分析相吻合。

表 5 不同光谱对文心兰 PLB 酶系活性的影响

TABLE 5 Effects of different light spectra of LED on enzyme activity of PLB for *Oncidium*

光谱	SOD/	POD/	CAT/
	(U·g <sup>-1</sup> )	(U·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	(mmol·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )
R	83.960 b	5.853 b	51.831 ab
B	198.210 a	14.054 a	61.953 ab
Y	166.230 ab	9.557 ab	67.291 a
G	116.760 ab	6.701 b	51.699 ab
W	135.550 ab	9.088 ab	44.157 b

2.2 不同光谱能量分布对文心兰生根组培苗的影响

2.2.1 对文心兰组培苗形态及生根的影响

由图 3 和表 6 可知:R 处理促进文心兰组培苗伸长,而 B 处理则显著抑制组培苗增高;复合光谱 2RB、3RB 处理的根长均显著大于荧光灯对照,所有复合光谱 LED 处理的生根率显著高于 B、R 处理和荧光灯对照;R 处理的根系活力显著低于其余 LED 处理,但与荧光灯对照差异不显著;2RB 和 3RB 处理的单株干重和能效最高。

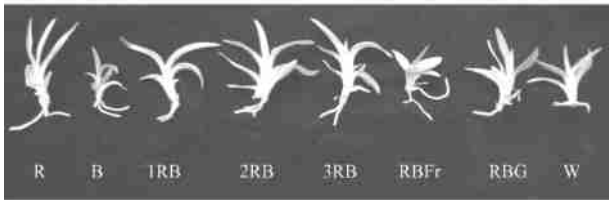


图 3 不同光谱能量分布处理的文心兰生根苗  
FIGURE 3 Rooting *Oncidium* plantlets under different spectral energy distribution of LED

表 6 不同光谱能量分布对文心兰组培苗生根和形态的影响

TABLE 6 Effects of different spectral energy distribution of LED on rooting and morphology of *Oncidium* plantlets

光谱	株高/ cm	根长/ cm	生根 率/%	根系活力/ (U·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	单株干 重/g	能效/ (g·kW <sup>-1</sup> )
R	3.925 a	1.825 ab	70 b	192.29 b	0.043 bc	4.175 b
1RB	3.375 abc	1.425 bc	90 a	338.83 a	0.035 cd	3.182 c
2RB	3.500 ab	1.950 a	100 a	321.70 a	0.059 a	5.000 a
3RB	3.800 ab	1.850 ab	100 a	339.41 a	0.059 a	4.758 a
B	2.675 c	1.575 abc	80 b	342.09 a	0.026 e	1.503 d
RBFr	3.038 bc	1.650 ab	95 a	314.80 a	0.037 cd	3.136 c
RBG	3.350 abc	1.425 bc	85 a	306.96 a	0.046 b	3.898 bc
W	3.200 abc	1.175 c	80 b	277.51 ab	0.030 de	0.375 e

2.2.2 对文心兰组培苗色素含量的影响

如表 7 所示:除 R 处理的叶片叶绿素 a、b 和叶绿素(a+b)含量最低之外,其余 LED 处理与荧光灯对照无显著差异;除 RBG 处理的叶片类胡萝卜素含量最高、R 处理最低之外,其余 LED 处理与荧光灯对照无显著差异;LED 处理的组培苗叶片叶绿素 a/b 均显著高于白光,其中 2RB 最大。数据分析表明,LED 光源不会对文心兰组培苗叶绿素的形成产生不利影响。

表 7 不同光谱能量分布对文心兰组培苗色素含量的影响

TABLE 7 Effects of different spectral energy distribution of LED on pigment content of *Oncidium* plantlets

光谱	色素含量/(mg·g <sup>-1</sup> )				Chl a/b
	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总量	类胡萝卜素	
R	0.226 c	0.067 c	0.293 c	0.084 d	3.393 bc
1RB	0.407 ab	0.125 ab	0.532 ab	0.148 bc	3.282 bcd
2RB	0.472 ab	0.130 ab	0.602 ab	0.160 bc	3.637 a
3RB	0.494 a	0.159 a	0.653 a	0.180 b	3.110 d
B	0.483 a	0.149 a	0.633 a	0.172 b	3.227 cd
RBFr	0.338 bc	0.098 bc	0.436 bc	0.121 cd	3.452 ab
RBG	0.493 a	0.158 a	0.651 a	0.322 a	3.122 d
W	0.394 ab	0.135 ab	0.529 ab	0.143 bc	2.921 e

2.2.3 对文心兰组培苗叶片酶系活性和蛋白质含量的影响

如表 8 所示:除 R 处理外,其他 LED 处理的叶片 SOD、POD 和 CAT 活性均显著高于荧光灯对照,其中 RGB 处理的叶片 SOD 和 POD 活性最高,B 处理的 CAT 活性最高;所有 LED 处理的叶片 MDA 含量与荧光灯对照差异不显著;B 处理的叶片可溶性蛋白含量最高,而 R 处理最低。

表 8 不同光谱能量分布对文心兰组培苗叶片酶活性和蛋白质含量的影响

TABLE 8 Effects of different spectral energy distribution of LED on enzyme activity and protein in leaf of *Oncidium* plantlets

光谱	SOD/ (U·g <sup>-1</sup> )	POD/ (U·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	CAT/ (mol·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	MDA/ (μmol·g <sup>-1</sup> )	可溶性蛋白/ (mg·g <sup>-1</sup> )
R	43.36 de	9.179 ef	0.696 c	14.595 b	2.145 d
1RB	95.31 cd	11.358 b	0.998 b	17.178 ab	2.887 bc
2RB	98.35 c	9.418 de	1.154 b	23.123 ab	2.951 bc
3RB	153.83 ab	9.656 d	1.066 b	22.200 ab	3.145 abc
B	142.84 bc	10.420 c	1.367 a	19.267 ab	3.562 a
RBFr	127.25 bc	8.922 f	1.039 b	23.637 a	3.297 ab
RBG	197.08 a	12.669 a	1.062 b	19.719 ab	2.658 cd
W	27.17 e	8.225 g	0.669 c	20.511 ab	2.559 cd

3 结论与讨论

3.1 红光在植物组织培养中的作用

在红光下,文心兰 PLB 的诱导率最高,其次是蓝光(表 2),这与红光促进兰花<sup>[12]</sup>、一品红<sup>[5]</sup>、华黄芩(*Astragalus chinensis*)<sup>[22]</sup>和甘蔗(*Saccharum officinarum*)<sup>[23]</sup>愈伤组织诱导的报道一致;车生泉等<sup>[4]</sup>报道红光、蓝光均促进小苍兰愈伤组织的诱导,蓝光效果略高于红光,但不显著。可见,红光、蓝光均有利于诱导愈伤组织,但哪种光质效应更好,则需综合考虑激素的影响,因为光质与激素协同作用于愈伤组织的诱导。周吉源等<sup>[24]</sup>研究发现,在低激素浓度下(1 mg/L 6-BA),红光的效果大于蓝光,但不显著;在高激素浓度下(5 mg/L 6-BA),蓝光效果显著大于红光。

在红光下,文心兰 PLB 的增殖系数和鲜重最

大,蓝光的增殖系数最低(表 2),红光同样促进肉苁蓉<sup>[2]</sup>愈伤组织增殖和楸树树体胚<sup>[3]</sup>产量提升。在本研究中,红光处理的原球茎具有较高的可溶性糖、淀粉和碳水化合物(表 4),为细胞增殖提供了细胞结构成分和能量。张真等<sup>[7]</sup>研究发现黄光下葡萄愈伤组织的增殖系数略大于红光。上述不一致的结论可能与“光质不纯”有关<sup>[9]</sup>,因为文献[7]所用的黄光和红光光谱分别为 520~650 nm 和 600~900 nm,两者间有 50 nm 的重叠波长宽度。

在本实验中,红光处理的文心兰组培苗株高最大(表 6 和图 3),这与 Kim 等<sup>[14]</sup>的结论一致,在风铃木(*Azorina vidalii*)组培苗<sup>[25]</sup>以及彩色甜椒(*Capsicum annuum*)<sup>[26]</sup>和油菜(*Brassica napus*)<sup>[27]</sup>实生苗上也有相同报道。Normanly<sup>[28]</sup>认为 POD 具有某些 IAA 氧化酶的功能,红光会导致 POD 活性较低,从而引起茎的伸长,本研究表 8 的数据印证了这一观点。但 Tatsuya 等<sup>[29]</sup>认为红光能降低植物体内赤霉素(GA)的含量,从而减少节间长度和植株高度,在万寿菊(*Tagetes erecta*)和鼠尾草(*Sabia officinali*)<sup>[30]</sup>上也有相同的效应。红光对茎伸长的不同效应可能是由以下两个因素引起的:其一是不同实验所用红光的波长宽度不一致,即“光质不纯”<sup>[9]</sup>;其二是不同植物种类的红/蓝光受体与隐花色素之间存在不同的协同交互作用。

3.2 蓝光在植物组织培养中的作用

在蓝光和黄光下,文心兰 PLB 的分化出芽率最高,红光则最低(表 2),对于毛地黄(*Digitalis purpure*)<sup>[31]</sup>、华黄芪<sup>[22]</sup>、草莓(*Fragaria ananassa*)<sup>[32-33]</sup>,均有类似的报道。Anna 等<sup>[1]</sup>研究发现蓝光促进风信子愈伤组织色素的形成,而红光则相反,本研究结果与之相同(表 3)。较高的色素含量有利于 PLB 的光合生长,因而促进其分化出芽;而红光下最低的色素含量,导致最低的分化出芽率。本研究中,在蓝光、黄光下,PLB 的蛋白质含量、SOD 和 POD 活性均高(表 4 和表 5),可见,芽的分化与蛋白质、酶系活力有关。王维荣等<sup>[34]</sup>和郭君丽等<sup>[35]</sup>也有类似的实验结果,并认为 POD 是芽分化的指示酶,光谱通过调控 POD 活力而影响光形态建成反应。据此,或许能够推测:蓝光或黄光通过调控基因表达来指导一些功能性蛋白或酶的合成,最终影响代谢反应及形态发生,相关机制值得系统深入地研究。

本实验结果(表 6 和图 3)表明,蓝光抑制文心兰茎的伸长,相同的结果出现在小苍兰组培苗<sup>[4]</sup>和彩色甜椒实生苗<sup>[26]</sup>上。蓝光处理的 PLB 和叶片的可溶性蛋白含量最高(表 4 和表 8),表明蓝光有利

于蛋白质的形成,与已有的研究结论一致<sup>[4,6]</sup>。单一红光不利于叶绿素的形成,蓝光则调控并促进叶绿素的形成(表 7),与 Senger<sup>[36]</sup>的结论一致。尽管绿光不是光合作用的高效吸收光谱,但本研究发现绿光可以与红蓝光协同增进色素的合成(表 7);其他颜色的光,如远红光也具有类似的效应, Kim 等<sup>[10]</sup>与何小弟等<sup>[37]</sup>都曾获得相同的结论。可见复合光谱的 LED 组合光源不会对色素的形成造成不良影响,其作为植物组培光源具有可行性。

3.3 多光谱能量分布的 LED 光源用于植物组织培养中的可行性

内源保护酶在清除植物体内活性氧毒害方面有着重要作用,其活性在一定程度上反映了机体的生理活性及衰老情况。SOD 催化氧自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)的歧化反应产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,而 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>又被 POD 抗氧化酶系转化为无害的分子氧和水。所有多光谱能量分布 LED 处理的 SOD 和 POD 活性显著高于荧光灯,有利于提高植株的抗氧化能力,延缓衰老。

荧光灯是植物组织培养中常用的电光源,其光谱能量分布不符合植株生长需求,发热量大,引起电能损耗和浪费<sup>[10,12,14]</sup>。本实验的各项生长指标表明:红光 LED 促进文心兰 PLB 的诱导;蓝光 LED 促进 PLB 分化;红蓝光谱分布的 LED 促进组培苗生长,干物质积累多,根系活力强和光能利用率高,突显了 LED 用于植物组培和工厂化快繁育苗产业的高效特征,是替代荧光灯的理想光源。

参 考 文 献

[ 1 ] BACH A, KROL A. Effect of light quality on somatic embryogenesis in *Hyacinthus orientalis* L. 'Delft's blue' [J]. *Biological Bulletin of Poznan*, 2001, 38(1): 103-107.

[ 2 ] OUYANG J, WANG X D, ZHAO B, et al. Light intensity and spectral quality influencing the callus growth of *Cistanche deserticola* and biosynthesis of phenylethanoid glycosides [J]. *Plant Science*, 2003, 165:657-661.

[ 3 ] ONOFRIO C D, MÚRINI S, BELLOCCHIL G. Effect of light quality on somatic embryogenesis of quince leaves [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1998, 53(2): 91-98.

[ 4 ] 车生泉,盛月英,秦文英. 光质对小苍兰茎尖试管培养的影响[J]. *园艺学报*, 1997, 24(3): 269-273.

[ 5 ] 焦海华,铁军. 不同光质对一品红幼茎愈伤组织的诱导和器官分化影响的研究[J]. *内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版)*, 2003, 32(2): 168-170.

[ 6 ] 倪德祥,张丕方,陈刚,等. 光质对康乃馨试管苗生长发育的影响 [J]. *园艺学报*, 1985, 12(3): 197-202.

[ 7 ] 张真,李胜,李唯,等. 不同光质对葡萄愈伤组织增殖和白藜芦含量的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2008, 44(1): 106-108.

[ 8 ] 李胜,李唯,杨德龙. 不同光质对葡萄试管苗根系生长的影响[J]. *园艺学报*, 2005, 32(5): 872-874.

- [9] 童哲. 光质纯度对幼苗光形态建成的影响[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(2): 28-31.
- [10] KIM H H, GOINS G D, WHEELER R M, *et al.* Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes [J]. *Hort Science*, 2004, 39(7): 1 617-1 622.
- [11] LIAN M L, MURTHY H N, PAEK K Y. Effects of light emitting diodes (LEDs) on the *in vitro* induction and growth of bulblets of *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro' [J]. *Scientia Horticulturae*, 2002, 94(3/4): 365-370.
- [12] HUANG L V T, TANAKA M. Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm-like body formation from callus in *Cymbidium* orchid [J]. *Environment Control in Biology*, 2004, 42(1): 57-64.
- [13] NHUT D T, TAKAMURA T, WATANABE H, *et al.* Efficiency of a novel culture system by using light-emitting diode (LED) on *in vitro* and subsequent growth of micropropagated banana plantlets [J]. *Acta Horticulturae*, 2003, 616: 121-127.
- [14] KIMS J, HAHN E J, HEO J W, *et al.* Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2004, 101(1-2): 143-151.
- [15] JHENG F Y, DO Y Y, LIAUH Y W, *et al.* Enhancement of growth and regeneration efficiency from embryogenic callus cultures of *Oncidium* 'Gower Ramsey' by adjusting carbohydrate sources[J]. *Plant Science*, 2006, 170: 1 133-1 140.
- [16] SU Y J, CHEN J T, CHANG W C. Efficient and repetitive production of leaf-derived somatic embryos of *Oncidium* [J]. *Biologia Plantarum*, 2006, 50(1): 107-110.
- [17] 何松林, 刘震, 杨秋生, 等. CO<sub>2</sub> 施肥时非无菌条件下树脂膜容器内文心兰试管苗接种技术[J]. 北京林业大学学报, 2003, 25(4): 49-53.
- [18] CHEN J T, CHANG W C. Effects of tissue culture conditions and explant characteristics on direct somatic embryogenesis in *Oncidium* 'Gower Ramsey' [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2002, 69(1): 41-44.
- [19] 徐志刚, 焦学磊. 一种光谱柔性可调的 LED 光源系统: 中国, 200710133284. 1 [P/OL]. 2008-03-19 [2008-08-25]. <http://search.sipo.gov.cn/sipo/zljs/hyjs/yx/new.jsp?recid=CN200710133284.1>.
- [20] 徐志刚, 丁为民, 崔瑾, 等. 组培室补光光源应用分析与评价[J]. 农业机械学报, 2001, 32(5): 62-64.
- [21] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [22] 许桂芳, 董承明, 周吉源, 等. 不同光质时华黄芪愈伤组织诱导、增殖及器官分化的效应[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1994, 28(4): 533-537.
- [23] 梁钾贤, 陈彪. 光质对甘蔗愈伤组织分化出苗的影响[J]. 中国糖料, 2006(3): 9-11.
- [24] 周吉源, 赵洁, 杨和平, 等. 油菜薄层细胞培养中不同光质对愈伤组织诱导和增殖的效应[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1992, 26(1): 77-80.
- [25] MORERIA M H, DEBERGH P C. The effect of light quality on the morphogenesis of *in vitro* cultures of *Azorella vidalii* (Wats.) Feer [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1997, 51(3): 187-193.
- [26] 杜洪涛, 刘世琦, 蒲高斌. 光质对彩色甜椒幼苗生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 西北农业学报, 2005, 14(1): 41-45.
- [27] 杜健芳, 廖箱儒, 叶步青. 光质对油菜幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 植物学通报, 2002, 19(6): 743-745.
- [28] NORMANLY J. Auxin metabolism [J]. *Physiol Plant*, 1997, 100: 431-442.
- [29] TATSUYA H, YASUSHI S, WATANABE H, *et al.* Effect of light quality with different red/far-red photon flux density ratio on elongation of pakchoi seedlings grown under high temperatures [J]. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 2001, 70(6): 774-776.
- [30] HEO J W, LEE C W, CHAKRABARTY D, *et al.* Growth responses of marigold and salvia bedding plants as affected by monochromatic or mixture radiation provided by a light-emitting diode [J]. *Plant Growth Regulation*, 2002, 38(3): 225-230.
- [31] 倪德祥, 曹勇伟, 张丕方, 等. 毛地黄叶离体培养过程中光质与培养基对器官发生的交互作用[J]. 植物生理学报, 1987, 13(4): 359-364.
- [32] 周厚成, 罗静, 赵霞, 等. 不同培养条件对幸香草莓离体叶片再生的影响 [J]. 果树学报, 2007, 24(1): 105-108.
- [33] 秦永华, 张上隆, 徐凯, 等. '丰香'草莓叶片高效再生体系的建立 [J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 101-104.
- [34] 王维荣, 王咏东, 欧阳光察, 等. 光质对黄瓜及蕃茄愈伤组织培养中分化和有关酶的影响[J]. 植物生理学报, 1991, 17(2): 118-124.
- [35] 郭君丽, 陈明霞, 李明军, 等. 光质和生长物质组合对怀山药零余子脱分化和再分化的影响 [J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2003, 31(2): 99-102.
- [36] SENGHER H. The effect of blue light on plants and microorganisms [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1982, 35(6): 911-920.
- [37] 何小弟, 邵耀春, 李良俊. 菊花组织培养过程的光质效应初探[J]. 激光生物学, 1993, 2(2): 267-271.

(责任编辑 董晓燕)