

网络出版时间:2013-05-02 10:54

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130502.1054.014.html>

不同红蓝光质比 LED 光源对铁皮石斛 试管苗生长的影响

尚文倩,王 政,侯甲男,郑卫杰,何松林

(河南农业大学 林学院,河南 郑州 450002)

[摘 要] 【目的】研究不同红蓝光质比 LED 光源对铁皮石斛试管苗生长的影响,为高品质的铁皮石斛试管苗生产提供理论依据,也为 LED 光源在植物组培中的应用和经济可行性分析提供参考。【方法】以铁皮石斛试管苗为试材,在 LED 光源的红光 100%R(主波长 640 nm),蓝光 100%B(主波长 464 nm),80%R+20%B,70%R+30%B,50%R+50%B 5 种不同光质配比下培养,以普通荧光灯(PGFL)作为对照,比较经不同光质比处理 90 d 后试管苗的形态指标、叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白含量以及根系活力。【结果】铁皮石斛试管苗株高在 100%R 处理下达到最大值;叶数、根长均在 80%R+20%B 处理下达到最大值;根数在 70%R+30%B 处理下达到最大值。在 50%R+50%B 处理下,铁皮石斛试管苗的干鲜质量、叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)、可溶性糖含量和根系活力均达到最大值。可溶性蛋白在 100%B 处理下达到最大值。【结论】红蓝光比例为 1:1 时有利于铁皮石斛试管苗的生长、叶绿素合成及干物质和糖的积累。

[关键词] LED;红蓝光;铁皮石斛;试管苗

[中图分类号] S682.314⁺.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2013)05-0155-05

Effects of light emitting diode(LED)with different red/blue quality ratios on the growth of *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro*

SHANG Wen-qian, WANG Zheng, HOU Jia-nan, ZHENG Wei-jie, HE Song-lin

(College of Forestry, He'nan Agricultural University, Zhengzhou, He'nan 450002, China)

Abstract: 【Objective】The effects of LED with different red/blue quality ratios on the growth of *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* were studied. 【Method】The *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* were cultured under LED with five different ratios (100%R(red), 100%B(blue), 80%R+20%B, 70%R+30%B, 50%R+50%B), and PGFL was used as control. After 90 days, the effects of different treatments on morphology, chlorophyll content, soluble sugar content, soluble protein content, and root activity of *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* were examined. 【Result】The plant height of *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* reached maximum under 100%R. The leaf number and root length reached maximum under 80%R+20%B. The root number reached maximum under 70%R+30%B. The dry and fresh weight, chl a content, chl b content, chl a+b content, soluble sugar content, and root activity all reached maximum under 50%R+50%B, and the soluble protein content reached maximum under 100%B. 【Conclusion】The LED with red/blue ratio of 1:1 had the best effects on growth, synthesize chlorophyll, accumulate dry matter and sugar of *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro*.

[收稿日期] 2012-08-15

[基金项目] 河南省科技攻关项目(102102310229);郑州市科技创新团队项目(10CXTD147)

[作者简介] 尚文倩(1987—),女,河南孟津人,在读硕士,主要从事园林植物生物技术研究。E-mail: shangwenqian1987@126.com

[通信作者] 何松林(1965—),男,河南淮阳人,教授,博士生导师,主要从事园林植物生物技术研究。E-mail: hsl213@163.com

Key words: LED; red/blue light; *Dendrobium officinale*; plantlets *in vitro*

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)又名黑节草、铁皮枫斗,为兰科多年生草本附属生兰类,是名贵的药用与盆栽观花植物,具有很高的观赏价值和药用价值^[1-2],其对生长环境要求相对苛刻、生长缓慢、自然繁殖率低,市场需求量大^[2]。近年来,很多学者对铁皮石斛的人工栽培和组织培养进行了大量研究,其中有关铁皮石斛组织培养的研究主要集中在培养基、激素类型、外植体类型、培养方式的筛选^[2-4]等方面,而对其品质研究甚少,因此如何提高铁皮石斛试管苗的品质仍需要继续深入研究。环境因子(如光照度、光质比例、温度及湿度等)作为组织培养中的关键影响因素之一,对植物试管苗的生长发育具有重要意义。

光谱对植物的生长发育、形态建成、光合作用、物质代谢以及基因表达均有调控作用,通过光质调节和控制植株形态建成和生长发育,可使植株在一定程度上满足人们的生产需要,因此近年来光源对试管苗生长的影响成为学者们争相研究的热点。研究表明,波长为 610~720 nm 的红橙光及 400~510 nm 的蓝紫光是植物生长所吸收的主要光谱,而传统荧光灯的发射光谱主要集中在蓝紫光(450~580 nm)区域,在红橙光光谱区域的发射光谱却很少^[5]。新型半导体光源 LED(Light emitting diodes)具有波长具体、光谱性能好、光效高、系统发热少、质量和体积较小、寿命较长、占用空间小等诸多传统电光源技术无可比拟的优势,因而受到人们的青睐^[6-8]。LED 十分适用于可控设施环境中的植物栽培,如植物组织培养、设施园艺与工厂化育苗和航天生态保护系统等^[9-10],国内外已有尝试用 LED 光源对植物进行照射补光的研究报道^[11-13],已有研究证明,LED 可成功用于黄瓜^[14]、菊花^[15]、蝴蝶兰^[16]等植物组织培养中,而有关 LED 光源对铁皮石斛试管苗生长的影响尚未见报道。为此,本试验采用河南农业大学自主研发的 LED 照光装置^[17],研究不同光质比例对铁皮石斛试管苗生长的影响,以期为高品质铁皮石斛试管苗的商业化生产提供理论依据和参考,也为今后 LED 在植物组织培养中的应用和经济可行性分析提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

铁皮石斛(约 1 cm 高)试管苗,购自山东普朗特

科技有限公司。试验之前,将试管苗接种于 MS+NAA 1 mg/L+IBA 0.4 mg/L+蛋白胨 2 g/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L(pH=5.7)的固体培养基上,在常规培养条件(温度(24±1)℃、光照强度 36 μmol/(m²·s)、光照时间 12 h/d)下壮苗培养。培养 1 个月后(苗高约 2 cm),随机选取生长状况及规格一致的试管苗作为供试材料。

1.2 试验设计

将供试铁皮石斛试管苗在无菌条件下接种于 1/2MS+IBA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蛋白胨 1 g/L+香蕉 30 g/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L(pH=5.7)的固体培养基上,每瓶接种 4 株,每个处理接种 20 瓶。预培养 1 周后,分别置于 100%R、80%R+20%B、70%R+30%B、50%R+50%B、100%B(R、B 分别表示红光和蓝光)5 种不同光质比的光照系统中培养。试验所用光照系统由河南农业大学自主设计^[17],其中 LED 光源为厦门华联电子有限公司生产的 HFR405CP 超高亮度红光 LED(主波长 640 nm)和 HFBA05011CP-15(P4E6)的蓝光 LED(主波长 464 nm),光质、光强、光周期均可调节,以满足试验需要。试验以普通荧光灯(PGFL)作为对照。

1.3 测定指标及方法

试管苗在 5 种不同光质比光照系统中培养 90 d 后,随机从各处理中取 10 株铁皮石斛试管苗,测定其株高、叶数、最大叶长、根数、最大根长、总鲜质量,然后将其放入 105℃烘箱内杀青 30 min,再在 60℃条件下恒温干燥 48 h 测定干质量,各指标均取其平均值。

随机从每个处理中选取 5 株试管苗,将其叶片或根混匀后,测定叶绿素、可溶性蛋白质、可溶性糖含量及根系活力等生理指标,均重复 3 次。其中,叶绿素和可溶性蛋白含量分别采用张志良等^[18]无水乙醇和丙酮混合液提取法及考马斯亮蓝法测定。可溶性糖含量和根系活力分别采用李合生^[19]的苯酚法及 TTC 法测定。

1.4 数据统计与分析

所有试验数据均采用邓肯氏新复极差法(SSR 法)检测其差异显著性,显著水平为 $P<0.05$ 。采用 DPS 软件 3.01 版和 Excel 2003 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同光质比对铁皮石斛试管苗生长的影响

经过 90 d 培养后,不同光质比 LED 对铁皮石斛试管苗生长的影响如表 1 所示。表 1 显示,铁皮石斛试管苗株高在 100%R 处理下达到最大值,为 56.25 mm,随着蓝光(B)比例的增加,株高逐渐减小,至 100%B 时,株高低于对照($P>0.05$);叶数在 80%R+20%B 处理下达到最大值,且与其他处理差异显著。叶长在 100%B 处理下达到最大值,为 22.89 mm,但各处理间差异不显著。在根数方面,

红蓝光均占一定比例时的根数明显高于其他处理;70%R+30%B 处理根数最大,为 6.47 个,其次是 50%R+50%B 处理;仅有红或蓝光处理的根数均小于对照,但差异不显著。根长在 80%R+20%B 处理下达到最大值,50%R+50%B 处理次之,但各处理间差异不明显。铁皮石斛试管苗的鲜质量和干质量均在 50%R+50%B 处理下均达到最大值;红蓝光配合使用下的鲜质量明显高于其他处理;100%R 处理鲜质量最小(274.57 mg),且显著低于对照;70%R+30%B 处理干质量较大,与 50%+50%B 处理差异不显著。

表 1 不同红蓝光质比对铁皮石斛试管苗生长的影响

Table 1 Effects of different light quality ratios on the growth of <i>Dendrobium officinale</i> test-tube plantlets							
处理 Treatment	株高/mm Plant height	叶数 No. of leaves	叶长/mm Leaf length	根数 No. of roots	根长/mm Root length	鲜质量/mg Fresh weight	干质量/mg Dry weight
100%R	56.25 a	5.53 b	19.98 a	4.73 c	35.61 a	274.57 c	23.21 b
80%R+20%B	54.14 ab	6.87 a	18.56 a	6.07 ab	40.48 a	408.23 a	39.02 b
70%R+30%B	47.68 b	5.73 b	19.65 a	6.47 a	40.20 a	418.71 a	42.19 ab
50%R+50%B	47.37 b	4.93 b	17.48 a	6.40 ab	40.37 a	436.35 a	70.56 a
100%B	38.82 c	5.53 b	22.89 a	5.13 bc	36.99 a	282.72 bc	34.52 b
PGFL(CK)	40.47 c	4.93 b	18.19 a	5.60 abc	36.73 a	373.39 ab	37.22 b

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$,SSR 测验)。下表同。
Note:Data in same column with different small letters show significant difference between treatments at $P<0.05$ according to SSR test.
Same for below.

2.2 不同光质比对铁皮石斛试管苗叶绿素含量的影响

表 2 显示,铁皮石斛试管苗的叶绿素 a、b 含量均在 50%R+50%B 处理下达到最大值,分别为 1.50,0.62 mg/g;在 100%R 处理下达到最小值,分

别为 1.06,0.44 mg/g;单色红蓝光处理叶绿素 a、b 的含量低于对照,且 100%R 处理低于 100%B 处理。叶绿素总量也在 50%R+50%B 处理下达到最大值,其次为对照,但二者差异不显著。

表 2 不同红蓝光质比对铁皮石斛试管苗叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of different light quality ratios on the chlorophyll content of <i>Dendrobium officinale</i> test-tube plantlets				mg/g
处理 Treatment	叶绿素 a Chl a	叶绿素 b Chl b	叶绿素 a+b Chl a+b	
100%R	1.06 c	0.44 b	1.50 d	
80%R+20%B	1.14 bc	0.46 b	1.60 cd	
70%R+30%B	1.25 bc	0.58 a	1.83 abc	
50%R+50%B	1.50 a	0.62 a	2.12 a	
100%B	1.33 ab	0.46 b	1.79 bcd	
PGFL(CK)	1.34 ab	0.58 a	1.92 ab	

2.3 不同光质比对铁皮石斛试管苗可溶性蛋白、可溶性糖含量和根系活力的影响

由表 3 可以看出,铁皮石斛试管苗的可溶性蛋白含量在 100%B 处理下达到最大值,且随着蓝光比例的减少而逐渐降低;各处理可溶性蛋白含量均显著高于对照。可溶性糖含量和根系活力均在 50%R+50%B 处理下达到最大值,均显著高于对照;100%R 处理的可溶性糖含量最低,100%B 处理的根系活力最低。

3 讨论与结论

本研究比较了不同红蓝光质比 LED 光源对铁皮石斛试管苗生长的影响,结果表明,随着红光(R)比例的增加,株高呈增大的趋势,并于 100%R 时达到最大值,100%B 处理株高最低,说明红光对茎的伸长有促进作用,而蓝光(B)有抑制作用,这与戴艳娇等^[16]对蝴蝶兰的研究结果一致。叶数和根长均在 80%R+20%B 处理下达到最大值;根数在 70%

R+30%B 处理下达到最大值,其次为 50%R+50% B 处理;且大多数红蓝光配比照射的叶数、根长、根数高于单色光,表明铁皮石斛试管苗在红、蓝单一光质下均生长不良,红蓝配比光较单一光质更有利于植株的形态建成,这与刘晓英等^[20]对樱桃番茄和唐

表 3 不同红蓝光质比对铁皮石斛试管苗可溶性蛋白、可溶性糖含量和根系活力的影响

Table 3 Effects of different light quality ratios on the soluble protein content, soluble sugar content, root activity of *Dendrobium officinale* test-tube plantlets

处理 Treatment	可溶性蛋白/(mg·g ⁻¹) Soluble protein	可溶性糖/% Soluble sugar	根系活力/(μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹) Root activity
100%R	4.30 c	12.15 c	136.71 c
80%R+20%B	5.01 b	31.23 a	186.38 bc
70%R+30%B	5.48 ab	27.64 ab	227.51 b
50%R+50%B	5.63 ab	39.10 a	443.43 a
100%B	5.75 a	17.64 bc	125.34 c
PGFL	3.38 d	18.45 bc	200.26 bc

叶绿素是植物进行光合作用的重要物质基础^[21]。有研究表明,叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素(a+b)的含量与红光/蓝光值呈正相关^[14]或负相关^[22]。本研究中,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)的含量均在 50%R+50%B 处理下达到最大值,说明红蓝光等比例时有利于叶绿素的合成,红光比例越大,含量越低,而在红蓝单色光下,红光处理叶绿素含量低于蓝光处理,这与徐凯等^[22]的研究结果一致。可溶性蛋白含量与植物的抗性密切相关,本研究中,可溶性蛋白含量在单色蓝光下达到最大值,50%R+50%B 处理次之,说明蓝光有利于可溶性蛋白的合成,这与唐大为等^[14]对黄瓜的研究结果一致。可溶性糖在植物代谢过程中发挥着重要的生理作用^[21],本研究可溶性糖含量在 50%R+50%B 处理下达到最大,且红蓝光配比处理均高于单色光处理,说明红蓝光配合使用有利于干物质的积累。根系活力也在 50%R+50%B 处理下达到最大,在 100%B 处理下达到最小,说明蓝光不利于试管苗根系的生长。

综上所述,配合使用 LED 红蓝光对铁皮石斛试管苗的生长发育较为有利,红光有利于植株的伸长生长,蓝光有利于可溶性蛋白的合成;总体而言,LED 红蓝光比例为 1:1 时,最有利于铁皮石斛试管苗的生长、光合作用以及干物质的积累。

[参考文献]

[1] 徐程,詹忠根,廖苏梅. 8 种不同地域铁皮石斛农艺性状及多糖和纤维素分析 [J]. 浙江大学学报:理学版,2008,35(5): 576-579.
Xu C, Zhan Z G, Liao S M. Studies on agronomic characteristics

大为等^[14]对黄瓜的研究结果一致。植物干鲜质量是其利用光能固定无机物,合成有机物的直接表现^[21]。本研究中,铁皮石斛的干鲜质量最大值均出现在 50%R+50%B 处理下,说明红蓝光等比例配比有利于光合产物的运转和积累。

tics, polysaccharide and cellulose contents of 8 kind *Dendrobium officinale* from different distribution areas [J]. Journal of Zhejiang University: Science Edition, 2008, 35(5): 576-579. (in Chinese)

[2] 莫昭展, 贝学军, 覃贵毕, 等. 铁皮石斛丛生芽增殖研究 [J]. 西北林学院学报, 2008, 23(6): 104-107.
Mo Z Z, Bei X J, Qin G B, et al. Multiplication of *Dendrobium officinale* cluster buds [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(6): 104-107. (in Chinese)

[3] 张书萍, 白石, 陈丽静. 铁皮石斛的组织培养与快速繁殖 [J]. 辽宁农业科学, 2008(6): 12-15.
Zhang S P, Bai S, Chen L J. Tissue culture and rapid propagation of *dendrobium candidum* [J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2008(6): 12-15. (in Chinese)

[4] 鲍顺淑, 贺冬仙, 郭顺星. 可控环境下光照时间对铁皮石斛组培苗生长发育的影响 [J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(6): 90-94.
Bao S S, He D X, Guo S X. Suitable photoperiod of *Dendrobium officinale* in vitro under controlled environment [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2007, 9(6): 90-94. (in Chinese)

[5] Goins G D, Yorio N C, Sanwo M M, et al. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting [J]. J Exp Bot, 1997, 48(7): 1407-1413.

[6] Bula R J, Morrow T W, Tibbitts T W, et al. Light-emitting diodes as a radiation source for plants [J]. Hort Science, 1991, 26(2): 808-813.

[7] Brown C S, Schuerger A C, Sager J C. Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting [J]. Am Soc Hort Sci, 1995, 120(5): 808-813.

[8] 闫新房, 丁义波, 丁义, 等. LED 光源在植物组织培养中的应用 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(12): 42-45.
Yan X F, Ding Y B, Ding Y, et al. The application of LED light

source in plant tissue culture [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(12): 42-45. (in Chinese)

[9] 杨其长, 张成波. 植物工厂概论 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2005: 146-147.

Yang Q C, Zhang C B. Plant introduction to factory [M]. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press, 2005: 146-147. (in Chinese)

[10] Guo S, Liu X, Ai W, et al. Development of an improved ground based prototype of space plant growing facility [J]. Advances in Space Research, 2008, 41(5): 736-741.

[11] 唐凤鸾, 黄宁珍, 黄志民, 等. 自然光照下补照不同光质光对马蹄莲光合速率及生长的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(5): 879-881.

Tang F L, Huang N Z, Huang Z M, et al. Effects of additional light with different qualities on photosynthetic rate and growth of *Zantedeschia aethiopica* (L.) spreng under natural light condition [J]. Plant Physiology Communications, 2007, 43(5): 879-881. (in Chinese)

[12] Heo J, Lee C, Chakrabarty D, et al. Growth responses of marigold and salvia bedding plants as a affected by monochromic or mixture radiation provided by a lighting-emitting diode (LED) [J]. Plant Growth Regulation, 2002, 38(3): 225-230.

[13] Lian M L, Murthy H N, Pack K Y. Effects of light emitting diodes on the in vitro induction and growth of bulblets of *Lilium* oriental hybrid Pesaro [J]. Scientia Horticulturae, 2002, 94(3): 365-370.

[14] 唐大为, 张国斌, 张帆, 等. LED 光源不同光质对黄瓜幼苗生长及生理生化特性的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2011, 46(1): 44-48.

Tang D W, Zhang G B, Zhang F, et al. Effects of different LED light qualities on growth and physiological and biochemical characteristics of cucumber seedings [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2011, 46(1): 44-48. (in Chinese)

[15] 邸秀茹, 焦学磊, 崔瑾, 等. 新型光源 LED 辐射的不同光质配比光对菊花组培苗生长的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(4): 661-664.

Di X R, Jiao X L, Cui J, et al. Effects of different light quality ratios of LED on growth of *Chrysanthemum* plantlets *in vitro* [J]. Plant Physiology Communications, 2008, 44(4): 661-664. (in Chinese)

[16] 戴艳娇, 王琼丽, 张欢, 等. 不同光谱的 LEDs 对蝴蝶兰组培苗生长的影响 [J]. 江苏农业科学, 2010(5): 227-231.

Dai Y J, Wang Q L, Zhang H, et al. Effect of different light qualities on growth of *Phalaenopsis* ssp. plantlets *in vitro* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2010(5): 227-231. (in Chinese)

[17] 闫新房. 新型组培光源的开发及其在植物组织培养中的应用 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2009.

Yan X F. The development of novel tissue culture light source and its application in the research of plant tissue culture [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2009. (in Chinese)

[18] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004.

Zhang Z L, Zhai W J. Plant physiology experiment guidance [M]. Beijing: Higher Education Press, 2004. (in Chinese)

[19] 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, 2000.

Li H S. Plant physiology and biochemistry experiment principle and technology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000. (in Chinese)

[20] 刘晓英, 徐志刚, 常涛涛, 等. 不同光质 LED 弱光对樱桃番茄植株的形态和光合性能的影响 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(4): 725-732.

Liu X Y, Xu Z G, Chang T T, et al. Growth and photosynthesis of cherry tomato seeding exposed to different low light of LED light quality [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(4): 725-732. (in Chinese)

[21] 王忠. 植物生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.

Wang Z. Plant physiology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002. (in Chinese)

[22] 徐凯, 郭延平, 张上隆. 不同光质对草莓叶片光合作用和叶绿素荧光的影响 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 369-375.

Xu K, Guo Y P, Zhang S L. Effect of light quality on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in strawberry leaves [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(2): 369-375. (in Chinese)