

不同光谱能量分布对冬青试管苗生长的影响

邸秀茹¹, 崔瑾², 徐志刚^{1*}, 常涛涛¹, 张欢², 刘海俊¹

(¹ 南京农业大学农学院, 南京 210095; ² 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095)

摘要: 采用发光二极管 (light-emitting diode, LED) 调制光质和光量, 研究光谱能量分布对冬青试管苗生长的影响, 以荧光灯为对照。结果表明: 红光 LED 处理下试管苗的干样质量、生根率、根冠比和根长指标最高; 而蓝光 LED 处理下则最低。绿光 LED 有利于叶片质量增加。单色红光 LED 导致试管苗徒长, 根系活力和移栽成活率最低, 最高值出现在复合光质 LED 组合中。与荧光灯相比, 在能效、干样质量、碳水化合物含量以及 SOD 和 CAT 抗氧化酶活性指标上, 复合光质 LED 具有明显优势, 有利于培育壮苗、提高移栽成活率并降低能耗成本。

关键词: 冬青; 试管苗; 光谱能量分布; 发光二极管

中图分类号: S 687; S 123 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2008) 09-1339-06

Effects of Light Spectral Energy Distribution on Growth of *Ilex chinensis* Sims Plantlets *in Vitro*

DI Xiu-ru¹, CUI Jin², XU Zhi-gang^{1*}, CHANG Tao-tao¹, ZHANG Huan², and LIU Hai-jun¹

(¹ College of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ² College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effects of different light spectral energy distribution of light-emitting diode (LED) on growth of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro* were studied. Fluorescent light was used as the control. The results showed that, plantlets under red LED exhibited the highest dry mass, rooting rate, root/shoot rate and root length, but blue LED had the contrary effects. Green LED was suitable for leaf growth. However, monochromatic red LED induced abnormal growth, poor root vigor and least survival rate. Compared with fluorescent light, complex of LED showed the obvious advantages on energy efficiency, dry mass, carbohydrate contents, SOD and CAT activities. The results indicated that application of complex of LED could improve antioxidant capacity and environment adaptable of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro* which got stronger and survival rate were higher than those under fluorescent.

Key words: *Ilex chinensis* Sims; plantlets *in vitro*; light spectral energy distribution; light-emitting diode

光质和光量对试管苗生长发育影响的研究一直备受关注。国内学者研究了光质对康乃馨 (倪德祥等, 1985)、仙客来 (庞基良等, 1994)、小苍兰 (车生泉等, 1997) 和葡萄 (李胜等, 2005) 试管苗生长的效应。但试验中均采用荧光灯或滤光片获得光质, 无法精确定量调制光谱能量分布, 光量低且不一致, 影响到结论的可靠性和可比性 (童哲, 1989)。发光二极管 (light-emitting diode, LED) 为新型半导体光源, 具有光质纯、光效高、波长类型丰富、光谱能量调制便捷、低发热、小体积、长寿命等突出优势, 便于集中植物所需波长实施均衡近距离照射, 可实现高效能、低热负荷和紧凑空间的集约化植物生产, 将是替代荧光灯用于植物组织培养、工厂化快繁育苗和航天生态生保系统

收稿日期: 2008-05-27; 修回日期: 2008-08-11

基金项目: 国家‘863’计划项目 (2006AA03A165); 江苏省自然科学基金项目 (BK2004107)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: xuzhigang@njau.edu.cn)

的新一代节能环保型光源 (Guo et al., 2008)。国内外学者研究了 LED 对多种试管苗生长的影响 (Heo et al., 2002; Lian et al., 2002), 但仅涉及红光和蓝光及其组合两种光质类型。

冬青是木本植物, 具有观赏和药用价值, 其试管苗生根难, 快繁困难, 目前侧重于培养基和植物生长调节剂的研究 (陈家龙 等, 2006)。本研究中采用 LED 调制光质和光量, 研究光谱能量分布对冬青试管苗生长的影响, 为其离体快繁光环境的改善和组培专用 LED 光源的研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为南京农业大学花卉研究所提供的四季冬青 (*Ilex chinensis* Sims) 试管苗。生根培养基为 1/2 MS + 0.2 mg · L⁻¹ NAA + 25 g · L⁻¹ 蔗糖 + 6 g · L⁻¹ 琼脂, 高压灭菌前调节 pH 至 5.8。每个容积为 350 mL 的玻璃瓶内接种高约 1.5 cm 的外植体 6 株。培养室相对湿度 75% ± 5%, 温度 (25 ± 2) °C。

1.2 光谱能量分布

LED 光源系统由南京农业大学农学院自主研制, 以华电公司制造的管状荧光灯作为对照, 光谱能量分布如表 1 所示。预培养 3 d 后随机分成 8 组, 每组 12 瓶, 分别置于 7 种光谱能量分布的 LED 光源小区 (图 1) 和 1 个荧光灯对照区。调节电流、占空比以及光源与植株的距离, 使光量均在 50 μmol · m⁻² · s⁻¹ 左右; 采用 16 h · d⁻¹ 光照, 60 d 培养周期。

表 1 不同 LED 光谱能量分布的主要技术参数

Table 1 Major technique parameters of light spectral energy distribution under LED

光处理 Treatment	光谱能量分布 Light spectral energy distribution	峰值波长/nm λ _p	波长半宽/nm Δλ	光量/(μmol · m ⁻² · s ⁻¹) Light quantity	功率/W Power
R	100% 红 100% red	658	20	50	10.3
1RB	高红/蓝 High red/blue (9:1)	658 + 460	20	50	11.0
2RB	中红/蓝 Middle red/blue (8:1)	658 + 460	20	50	11.8
3RB	低红/蓝 Low red/blue (7:1)	658 + 460	20	50	12.4
B	100% 蓝 100% blue	460	20	50	17.3
RBFr	红/蓝/远红 Red/blue/far-red (8:1:1)	658 + 460 + 715	20	50	11.8
RBG	红/蓝/绿 Red/blue/green (8:1:1)	658 + 460 + 530	20	50	11.8
W	荧光灯 Fluorescent	380 ~ 750	—	50	80

1.3 测定指标与数据处理

培养结束后, 测量试管苗基部到顶芽的距离作为株高、根基到根尖的距离为根长以及植株基部的茎粗。用打孔器取直径 0.5 cm 的叶片圆片, 称鲜样质量, 比叶面积 = 鲜叶面积/叶鲜样质量。随机选取 20 株试管苗, 进行炼苗驯化, 移入基质中 20 d 后统计移栽成活率。试管苗 105 °C 烘箱杀青 15 min, 烘干至恒重, 分别称量单株根、茎、叶和整株的干样质量; 能效 = 整株干样质量/各光源所消耗功率。保留干样, 准确称量各光质下的叶片 0.1 g, 参照李合生 (2003) 的方法测定可溶性糖和游离氨基酸含量, C/N = 可溶性糖/游离氨基酸含量; 称取新鲜叶片 0.1 g, 磷酸缓冲液冰浴研磨, 10 000 × g 冷冻离心 20 min 提取上清液 4 °C 保存备用, 测定可溶性蛋白、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化物酶 (POD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性和丙二醛 (MDA) 含量; 称取新鲜的根尖 0.5 g, 测定根系活力。形态指标测定重复 6 次, 生理生化试验重复 3 次。Excel 2003 进行数据整理, SAS 9.0 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 不同光谱能量分布对冬青试管苗形态的影响

冬青试管苗在不同光谱能量分布小区 (图 1) 培养 60 d 后, RBFr 处理的根系活力显著高于其他

处理; 1RB、2RB、3RB、RBG 和 RBFr 处理的移栽成活率高于荧光灯对照; B 处理植株矮壮, 茎粗, 比叶面积和根长最小, 移栽成活率低。R 处理的植株最高, 节间距最大, 明显徒长导致形态异常, 根系活力和移栽成活率低 (图 2, 表 2)。

试管苗株高由高到低依次为 R、W、1RB、RBG、2RB 和 3RB、RBFr、B, 随着蓝光 (远红光、绿光) 光量的增多和红光光量的减少, 茎粗渐增, 而株高、比叶面积和根长渐减。比叶面积在一定程度上与叶片截获光的能力正相关, 红光有利于增强叶片的光截获能力和根系的形态建成, 这与李胜等 (2005) 的研究结论一致, 也表明添加蓝光、绿光或远红光能促成植株矮壮。以上分析表明, 单一光质不利于试管苗的形态建成、生长发育及以后的移栽成活。



图 1 部分 LED 光源小区示意图

Fig. 1 General view of LED light plot



图 2 不同光谱能量分布下的冬青试管苗形态

Fig. 2 Morphology of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro* under light spectral energy distribution

表 2 不同光谱能量分布对冬青试管苗形态及生根的影响

Table 2 Effects of spectral energy distribution on morphology and rooting of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro*

处理 Treatment	株高/cm Height	茎粗/cm Stem diameter	比叶面积/ ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) Specific leaf area	根长/cm Root length	根系活力/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) Root vigor	生根率/% Rooting rate	移栽成活率/% Survival rate
R	4.533 a	0.068 d	118.22 a	2.30 a	199.61 d	100	50
B	1.867 c	0.093 a	77.62 d	1.00 c	228.21 cd	61.11	50
1RB	2.15 bc	0.076 c	96.72 bc	1.53 b	257.69 bcd	66.67	85
2RB	2.10 bc	0.078 c	93.92 c	1.51 b	312.93 b	83.33	95
3RB	2.10 bc	0.090 ab	92.50 cd	1.50 b	272.44 bcd	72.22	80
RBFr	2.00 bc	0.088 ab	97.80 bc	1.30 c	404.19 a	77.78	90
RBG	2.12 bc	0.086 b	95.49 bc	2.30 a	299.48 bc	83.33	95
W	2.61 b	0.074 cd	110.33 ab	1.57 b	249.18 bcd	66.67	75

注: 同列中相同小写字母表示在 5% 水平上差异不显著。下同。

Note: The same small letters in the same column mean no significant difference at 5% level. The same below.

2.2 不同光谱能量分布对冬青试管苗色素含量和生物量的影响

R 处理的叶片类胡萝卜素含量和 B 处理的叶片叶绿素 a/b 比值都显著高于荧光灯对照；LED 复合光质处理叶片的色素含量和叶绿素 a/b 比值与荧光灯对照差异不显著（表 3）。这表明与荧光灯相比，LED 光源对组培苗色素的形成和发育无不良影响。蓝光处理叶片的叶绿素 a/b 比值高于红光处理，这表明植株在蓝光下呈现阳生植物特性，在红光下呈现阴生植物特征，印证了蒲高斌等（2005）的研究结论。

表 3 不同光谱能量分布对冬青试管苗色素含量的影响

Table 3 Effects of spectral energy distribution on pigment contents of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro*

处理 Treatment	叶绿素/(mg · g ⁻¹ FM) Chlorophyll	类胡萝卜素/(mg · g ⁻¹ FM) Carotenoid	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b
R	3.722 a	0.766 a	3.176 ab
B	3.517 a	0.746 ab	3.597 a
1RB	3.688 a	0.777 ab	3.322 ab
2RB	3.830 a	0.779 ab	3.176 ab
3RB	3.969 a	0.782 ab	3.234 ab
RBFr	3.901 a	0.807 ab	3.190 ab
RBG	3.544 a	0.760 ab	3.330 ab
W	3.144 a	0.629 b	3.061 b

由表 4 可知，R 处理植株的根和茎的干样质量最大；B 处理植株各部位干样质量较低；3RB 处理的各部分干样质量显著高于 1RB 和 B 处理。RBFr、RBG 和 R 处理的根及总干样质量显著高于荧光灯对照。LED 的能效高于荧光灯，是荧光灯的 3~9 倍。R 处理的根冠比显著高于其它处理和对照，说明红光促使光合产物较多的分配到地下部，促进根部生长，这与表 2 的数据互证吻合；B 处理的根冠比最低，表明蓝光有利于地上部干物质积累，促使试管苗矮壮。RBG 处理的植株叶片干样质量最高，表明绿光促进光合产物较多的转运到叶片中。总之，RBG 和 RBFr 以及 3RB 处理的试管苗干样质量最高，根冠比适宜，能效高。

表 4 不同光谱能量分布对冬青试管苗干样质量及根冠比的影响

Table 4 Effects of spectral energy distribution on dry mass and root/shoot of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro*

处理 Treatment	干样质量/g Dry mass				能效/(g · kW ⁻¹) Energy efficiency	根冠比 Root/ shoot
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	整株 Total plantlet		
R	0.016 a	0.0048 a	0.021 bc	0.042 a	4.08	0.627 a
B	0.005 e	0.0026 d	0.014 d	0.022 d	1.28	0.311 c
1RB	0.007 de	0.0025 d	0.019 cd	0.028 c	2.55	0.348 bc
2RB	0.010 c	0.0028 cd	0.025 ab	0.037 ab	3.14	0.357 bc
3RB	0.010 c	0.0034 bc	0.023 ab	0.037 ab	2.98	0.364 bc
RBFr	0.013 b	0.0033 bc	0.025 ab	0.040 a	3.39	0.451 b
RBG	0.012 b	0.0034 bc	0.026 a	0.042 a	3.56	0.430 bc
W	0.009 cd	0.0033 bc	0.022 abc	0.035 b	0.43	0.345 bc

2.3 不同光谱能量分布对冬青试管苗碳氮代谢的影响

1RB、RBG 和 RBFr 处理的叶片可溶性糖与碳水化合物含量均显著高于白光（表 5）。B、R 和 1RB 处理的游离氨基酸含量较高，且 B 处理的游离氨基酸含量显著高于荧光灯对照和其它 LED 处理。RBFr 和 RBG 处理的叶片游离氨基酸含量较低。RBG、RBFr 和 2RB 处理的 C/N 比显著高于 B 处理。RBG 和 RBFr 处理的植株积累了较多的可溶性糖和碳水化合物，碳代谢旺盛，为光合生长奠定了物质基础，较少的游离氨基酸表明蛋白质合成与分解平衡，氮代谢稳定。

表 5 不同光谱能量分布对冬青试管苗碳氮代谢的影响

Table 5 Effects of spectral energy distribution on metabolism of carbon and nitrogen of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro*

处理 Treatment	可溶性糖/% Soluble sugar	碳水化合物/% Carbohydrate	游离氨基酸/(mg·g ⁻¹) Amino acid	C/N
R	32.590 ab	34.690 abc	423.53 ab	0.770 ab
B	26.858 c	29.442 bc	441.66 a	0.611 b
1RB	33.988 a	36.267 a	395.51 abc	0.881 ab
2RB	32.622 ab	34.535 abc	324.02 bc	1.018 a
3RB	29.380 abc	31.317 abc	328.49 bc	0.902 ab
RBF _r	33.561 a	35.704 a	311.28 c	1.087 a
RBG	32.681 a	35.101 ab	316.42 bc	1.048 a
W	27.400 bc	29.237 c	321.72 bc	0.869 ab

2.4 不同光谱能量分布对冬青试管苗叶片可溶性蛋白和抗氧化酶系的影响

从表 6 可以看出,所有含有蓝光光谱的 LED 处理和荧光灯对照的叶片可溶性蛋白质含量都显著高于 R 处理,表明蓝色光利于叶片蛋白质的合成。除 RBG 处理外,所有 LED 处理的 SOD 活性都显著高于荧光灯对照;复合光质和单色蓝光 LED 处理的叶片 CAT 活性显著高于单色红光 LED 处理和荧光灯对照。不同光谱能量分布对叶片 POD 活性和 MDA 含量的影响差异不显著。

表 6 不同光谱能量分布对冬青试管苗叶片可溶性蛋白质含量和酶活性的影响

Table 6 Effects of spectral energy distribution on soluble protein contents and enzyme activities of *Ilex chinensis* Sims plantlets *in vitro*

处理 Treatment	可溶性蛋白/(mg·g ⁻¹ FM) Soluble protein	SOD/ (U·g ⁻¹ FM)	CAT/ (mmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹ FM)	POD/ (U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ FM)	MDA/ (μmol·g ⁻¹ FM)
R	5.077 b	409.70 c	560.66 d	5.607 a	10.075 b
B	6.468 a	502.04 c	1 193.99 abc	3.991 a	17.702 a
1RB	6.114 a	480.41 c	1 238.02 abc	4.168 a	14.306 ab
2RB	6.370 a	608.93 ab	1 291.99 ab	4.818 a	18.011 a
3RB	6.367 a	637.36 a	1 351.92 a	4.480 a	15.305 ab
RBF _r	6.159 a	511.77 bc	1 106.85 bc	4.804 a	17.218 a
RBG	6.334 a	269.95 d	1 070.65 c	4.981 a	17.782 a
W	6.118 a	257.74 d	686.29 d	5.655 a	12.776 ab

3 讨论

冬青试管苗在红光下的生根率为 100%,这与车生泉等(1997)对小苍兰试管苗上的研究结果相同,红光是促进试管苗根萌发的有效波长。但单色红光 LED 导致根系活力和移栽成活率降低,最高值却出现在红蓝、红蓝绿或红蓝远红的 LED 组合中。单色蓝光 LED 下,冬青试管苗的生根指标都处于最低水平,说明蓝光抑制试管苗生根(李胜等,2005)。对于难以生根的试管苗,宜在培养前期采用红光诱导其发根,随后添加蓝光等光质,以促进根的正常生长,提高根系活力和移栽成活率。

在本研究中,复合光谱 LED 对冬青试管苗叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量以及叶绿素 a/b 的影响与荧光灯无明显差异,说明 LED 不会对色素的形成、叶绿体的发育及光反应系统造成不良影响,这表明采用复合 LED 替代荧光灯作为植物组培光源具有可行性。尽管绿光不是光合作用的高效吸收光谱,但红蓝绿组合处理的叶片干样质量最大,在生菜上也有类似的结果,Kim 等(2004)认为绿光可以更多地穿透植物冠层,促进生菜下部叶片的光合作用。

SOD 催化氧自由基(O₂⁻)的歧化反应产生 H₂O₂,而 H₂O₂又被 POD 或 CAT 抗氧化酶系转化为无害的氧和水分子。复合光质 LED 处理明显提高试管苗叶片的 SOD 和 CAT 活性,提高植株抗氧化能

力。在细胞膜遭受光破坏时,膜脂过氧化而产生丙二醛(MDA),LED处理的MDA含量与荧光灯差异不显著,可见,LED照射对试管苗不会破坏植物的细胞膜系统。

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(Kodym & Zapata-Arias, 1999)。本试验的各项生长指标表明,光谱能量分布为复合光质LED对试管苗生长的效果优于荧光灯,其能效是荧光灯的3~9倍,突显了LED用于植物组培和工厂化快繁育苗产业的高能效特征,是替代荧光灯的理想光源。

References

- Chen Jia-long, Wang Guang-dong, Cao Fu-ying, Hao Ri-ming, Zhang Ji-lin. 2006. In vitro culture and rapid propagation of *Ilex chinensis* Sims. *Plant Physiology Communications*, 42 (6): 1123. (in Chinese)
- 陈家龙, 王广东, 曹福营, 郝日明, 张纪林. 2006. 冬青的离体培养与快速繁殖. *植物生理学通讯*, 42 (6): 1123.
- Che Sheng-quan, Sheng Yue-ying, Qin Wen-ying. 1997. Effects of light quality on meristem of *Freesia refracta* test tube culture. *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (3): 269–273. (in Chinese)
- 车生泉, 盛月英, 秦文英. 1997. 光质对小苍兰茎尖试管培养的影响. *园艺学报*, 24 (3): 269–273.
- Guo S, Liu X, Ai W, Tang Y, Zhu J, Wang X, Wei M, Qin L, Yang Y. 2008. Development of an improved ground-based prototype of space plant-growing facility. *Advances in Space Research*, 41 (5): 736–741.
- Heo J, Lee C, Chakrabarty D, Paek K Y. 2002. Growth responses of marigold and salvia bedding plants as affected by monochromatic or mixture radiation provided by a light-emitting diode (LED). *Plant Growth Regulation*, 38 (3): 225–230.
- Kim H H, Goins G D, Wheeler R M, Sager J C. 2004. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes. *HortScience*, 39 (7): 1617–1622.
- Kodym A, Zapata-Arias F J. 1999. Natural light as an alternative light source for the in vitro culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 55 (2): 141–145.
- Li He-sheng. 2003. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 李合生. 2003. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Li Sheng, Li Wei, Yang De-long, Wu Ji-ling, Yang Ning, Cao Zi-yi. 2005. Effects of different light qualities on root growth and development of test-tube plantlets of *Vitis vinifera* L. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (5): 872–874. (in Chinese)
- 李 胜, 李 唯, 杨德龙, 武季玲, 杨 宁, 曹孜义. 2005. 不同光质对葡萄试管苗根系生长的影响. *园艺学报*, 32 (5): 872–874.
- Lian M L, Murthy H N, Paek K Y. 2002. Effects of light emitting diodes (LEDs) on the in vitro induction and growth of bulblets of *Lilium oriental* hybrid 'Pesaro'. *Scientia Horticulturae*, 94 (3–4): 365–370.
- Ni De-xiang, Zhang Pi-fang, Chen Gang, Wang Kai-ji. 1985. The effect of light quality on growth and development of the test-tube seedlings of *Dianthus caryophyllus* L. *Acta Horticulturae Sinica*, 12 (3): 197–202. (in Chinese)
- 倪德祥, 张丕方, 陈 刚, 王凯基. 1985. 光质对康乃馨试管苗生长发育的影响. *园艺学报*, 12 (3): 197–202.
- Pang Ji-liang, Lin Bo, Liang Hai-man. 1994. Effect of phytohormone and light on callus induction and differentiation of leaf explant from *Cyclamen persicum* Mill. and on shoot growth. *Acta Horticulturae Sinica*, 21 (1): 103–104. (in Chinese)
- 庞基良, 林 波, 梁海曼. 1994. 激素、光照对仙客来叶片愈伤组织诱导、分化及试管苗生长的影响. *园艺学报*, 21 (1): 103–104.
- Pu Gao-bin, Liu Shi-qi, Liu Lei, Ren Li-hua. 2005. Effects of different light quality on growth and physiological characteristics of tomato seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (3): 420–425. (in Chinese)
- 蒲高斌, 刘世琦, 刘 磊, 任丽华. 2005. 不同光质对番茄幼苗生长和生理特性的影响. *园艺学报*, 32 (3): 420–425.
- Tong Zhe. 1989. Effects of purity of light quality on photomorphogenesis of seedlings. *Plant Physiology Communications*, (2): 28–31. (in Chinese)
- 童 哲. 1989. 光质纯度对幼苗光形态建成的影响. *植物生理学通讯*, (2): 28–31.