

LED 不同光质对大花蕙兰‘爱神’×虎雪兰‘霞光’杂交组培苗叶绿素含量的影响

郭莹, 李海燕, 阮氏月, 李夏媛, 李枝林

(云南农业大学 花卉研究所, 云南 昆明 650201)

摘要:以大花蕙兰‘爱神’♀×虎雪兰‘霞光’♂杂交组培苗为试材,用不同配比的 LED 光质进行照射,生长一段时间后,对叶片进行叶绿素含量测定,研究 LED 不同光质配比组合对该种兰花杂交组培苗叶绿素含量的影响,以期 LED 光源对植物组织培养的研究提供数据参考和理论依据。结果表明:RBW(红:蓝:白)为 6:1:1 处理下,该兰花组培苗叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量极显著高于其余处理,分别为 1.224 5、0.738 1、0.144 6 mg/g;而 2RB(红:蓝)为 2:1 处理下叶绿素含量相对较低,各色素含量分别为 0.678 1、0.401 0、0.079 1 mg/g。红蓝白复合光最有利于大花蕙兰‘爱神’♀×虎雪兰‘霞光’♂杂交组培苗叶绿素的合成。

关键词:LED 光质;兰花;组织培养;叶绿素含量

中图分类号:S 682.2⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0077-04

光是植物整个生命周期中最重要的环境因子之一,它为植物进行光合作用提供能量^[1]。在自然界中并非所有光质都利于叶绿体色素的合成,植物吸收光谱具有选择性,其中 610~700 nm 的红光和 425~490 nm 的蓝光对光合作用贡献最大,而 520~610 nm 的绿光下植物的吸收率则相对较低^[2]。LED(Light Emitting Diode)又

称发光二极管,相比传统的人工光源,它具有光电转换效率高、发热低、环保节能、易于配比组合不同光质来调控植物生长的重要特点^[3],若将其广泛应用于植物组织培养,会很大程度降低成本,带来显著的经济效益^[4]。

兰花在我国历史悠久,与“梅”、“竹”、“菊”并称四君子。其花型、花色及花香淡雅独特素有“花中君子”之称^[5],观赏价值极高,在国内外花卉市场中占有举足轻重的地位^[6]。随着我国经济的发展,人们购买欲的增强,推进兰花逐渐成为一项产业并进军工业化生产,传统的分株繁殖早已不能达到市场的需求。为了解决这一现状,人们对兰花育种展开了广泛而深入的研究^[7]。近年来虽已有研究结球甘蓝、菊花、芽菜苗和垂直绿化植物等组培苗利用 LED 不同光质照射试验的报道^[8-11],

第一作者简介:郭莹(1986-),女,山西太原人,硕士研究生,研究方向为园林植物资源利用与创新。E-mail:252009857@qq.com.

责任作者:李枝林(1955-),男,云南宾川人,教授,现主要从事园林花卉遗传资源利用等研究工作。E-mail:lzl-yn@sohu.com.

基金项目:国家科技部科技成果转化资助项目(2012GB2F300423);云南省重点新产品开发资助项目(2012BB008)。

收稿日期:2015-03-15

2.98 cm, the average root number was 37.95 and the root effective indexes was 3.78, which were 1.33, 2.46, 2.46 and 6.10 times than that of the control respectively; the most appropriate concentration of IBA was 150 mg/L when the branches were soaked for 2 hours, the rooting rate was 95.57%, the average root length was 1.85 cm, the average root number was 31.80 and the root effective index was 1.96, which were 1.34, 1.53, 2.06 and 3.16 times than that of the control respectively; soaking the branches in the ABT 1 for 2 hours, the most appropriate concentration was 150 mg/L, but the rooting rate, the average root length, the average root number and the root effective indexes were only 84.43%, 2.13 cm, 16.23 and 1.15 respectively. Peat : perlite : vermiculite = 1 : 1 : 1 (V : V : V) was the most suitable substrates, the rooting rate was 100%, the average root length was 3.72 cm, the average root number was 35.13 and the root effective index was 6.55. Therefore, 100 mg/L NAA and 1 peat : 1 perlite : 1 vermiculite should be used for the cutting propagation of the *Cornus alba* L. in order to achieve the best rooting effect.

Keywords: *Cornus alba* L.; hardwood; container cutting; hormone; substrates; rooting

但 LED 不同光质在兰花组培室内生产技术的应用报道却很少。以大花蕙兰‘爱神’♀×虎雪兰‘霞光’♂杂交组培苗为试材,研究了 LED 不同光质配比组合对该种兰花组培苗叶绿素含量的影响,以期 LED 光源对植物组织培养的研究提供数据参考和理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为云南农业大学花卉研究所 LED 组培室内大花蕙兰‘爱神’♀×虎雪兰‘霞光’♂杂交组培苗。

表 1 光源控制系统

Table 1 Control system of light source

| 序号 Sequence number | 光处理 Light treatment | 光质 Light quality | 光量比例 The proportion of light | 峰值波长 Peak wavelength/nm | 波长半宽 Wavelength half width/nm | 功率 Power/W |
|-----------------------|------------------------|---------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------------|---------------|
| 1 | RBG | 红+蓝+绿 | 4:2:1 | 625+475+530 | 20 | 11.2 |
| 2 | R | 红 | 1 | 625 | 20 | 18.0 |
| 3 | 1RB | 红+蓝 | 1:1 | 625+475 | 20 | 10.0 |
| 4 | B | 蓝 | 1 | 475 | 20 | 18.0 |
| 5 | RBW | 红+蓝+白 | 6:1:1 | 625+475+720 | 20 | 10.0 |
| 6 | 2RB | 红+蓝 | 2:1 | 625+475 | 20 | 10.0 |
| 7 | W1 | 白 | 1 | 720 | 20 | 11.2 |
| 8 | CK(对照) | 荧光灯(白) | — | 白光 | — | 40.0 |

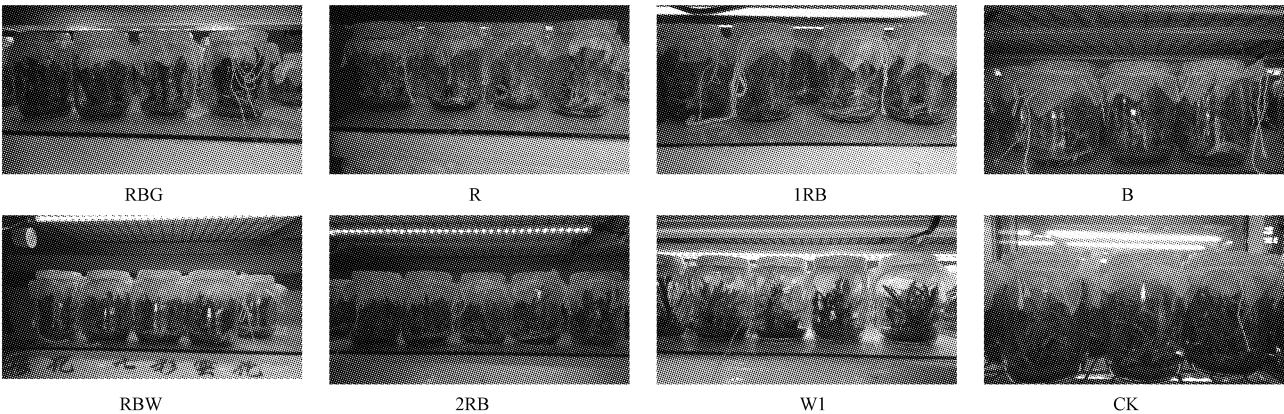


图 1 不同光质处理

Fig. 1 Different LED light qualities treatment

1.3 项目测定

叶绿体色素含量测定采用比色法^[12]。选取各处理杂交组培苗,分别剪碎,每份 0.2 g,每组设置 3 次重复。将取好的样品分别置于研钵内,加少许石英砂、碳酸钙粉和 2~3 mL 乙醇(95%),研成均浆后再次加入 10 mL 乙醇(95%),继续研磨至绿色变白,过滤到 25 mL 棕色容量瓶中。过滤时,用滴管吸取乙醇(95%),将滤纸上的叶绿体色素全部冲入棕色容量瓶中。直至滤纸及残渣中无绿色为止。再将乙醇定容至 25 mL,摇匀待测。把叶绿体色素提取液倒入光径 1 cm 的比色杯。以乙醇(95%)为空白,将分光光度计的波长分别调至 665、649、470 nm,测定吸光度。叶绿体色素浓度计算: $C_a = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$; $C_b = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$;

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 培养基配方:1/2MS+琼脂 5.8 g/L+蔗糖 20 g/L+肌醇 1 g/L+活性炭 0.5 g/L+0.3%的花宝 4 号,pH 5.8。组培室条件:温度(25±2)℃、相对湿度(75±5)%。选取生长状况及大小一致的杂交组培苗作为试验材料培养 100 d 后,测定其叶绿素含量。

1.2.2 光源控制系统 LED 光质控制系统如表 1 所示。将被试组培苗随机分 8 组,每组 20 瓶,每瓶 6 株苗,分别置于 7 种 LED 不同光源区和 1 个荧光灯对照区(图 1)。

$C_x = (1\ 000A_{470} - 2.05C_a - 114.8C_b)/245$; $C_T = C_a + C_b$;
式中: A_{665} 、 A_{649} 和 A_{470} 为色素提取液在 665、649、470 nm 下测到的吸光度数值; C_a 、 C_b 和 C_x 为叶绿素 a、b 和类胡萝卜素的浓度, C_T 为总叶绿素浓度,单位 mg/L。

叶片组织中叶绿体色素含量的计算:叶绿体色素含量(mg/g) = $C \times V \times N / (W \times 1\ 000)$ 。式中: C -色素含量(mg/g); V -提取液体积(mL); N -稀释倍数; W -样品重量(g)。

叶绿素 a/b=叶绿素 a 含量/叶绿素 b 含量。

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 进行数据整理,SPSS 19.0 进行方差分析,采用 Duncan 进行多重比较。

2 结果与分析

从表2可以看出,在8种LED不同光质处理下, RBW照射的组培苗叶绿素a含量最高,为1.224 5 mg/g; 2RB处理下含量最低,为0.678 1 mg/g,二者相差近1.8倍,差异极显著。RBW与CK处理有极显著差异;RBG、R和1RB处理的组培苗之间无差异显著。2RB和W1处理的组培苗差异极显著。叶绿素a含量变化规律为RBW>W1>CK>B>R>1RB>RBG>2RB。

叶绿素b的含量分析中,RBW处理下其含量最高,为0.738 1 mg/g;2RB处理下组培苗的叶绿素含量最低,为0.401 0 mg/g,二者差异极显著。RBG、R、1RB和B处理均与CK无显著差异;RBW与2RB处理下的组培苗,差异显著,并存在极显著差异。2RB与W1处理、RBW与CK处理都存在极显著差异。8种LED不同光质对叶绿素b含量影响的变化规律为RBW>W1>CK>B>R>1RB>2RB>RBG。

RBW处理下的组培苗总叶绿素含量最高,为1.962 7 mg/g;2RB处理含量最低为1.079 0 mg/g,二者存在极显著差异。RBG、1RB和2RB处理之间无显著

差异,但与W1处理下的组培苗差异显著;RBW与CK处理间差异极显著。总叶绿素含量变化规律为RBW>W1>CK>B>R>1RB>RBG>2RB。

各处理间对叶绿素a、b及总叶绿素含量的影响存在一定的相似性。RBW处理下的组培苗含量均最高;RBG和2RB处理下的组培苗含量相对较低。

类胡萝卜素含量RBW处理下最高,为0.144 6 mg/g;R处理下含量最低,为0.050 9 mg/g,二者相差近2.8倍,并存在极显著差异。RBG、R、1RB与CK处理无显著差异,RBW和W1均与CK处理差异极显著。类胡萝卜素含量变化规律为RBW>W1>B>2RB>CK>1RB>RBG>R。

RBG处理下叶绿素a/b的比值最高,为1.714 3;2RB处理次之,为1.691 1,二者无差异显著;B、RBW、2RB处理均与CK无差异显著。1RB处理下比值最低,1.362 3;1RB与CK处理在 $P<0.01$ 水平下差异极显著。不同光质对叶绿素a/b比值影响的变化规律为RBG>2RB>RBW>B>W1>CK>R>1RB。

表2 不同光质对大花蕙兰‘爱神’♀×虎雪兰‘霞光’♂杂交组培苗色素含量影响的比较及显著性检验

Table 2 Comparison and significance test for effect of different light quality on plants pigment of tissue culture seedlings of *Cymbidium lucky* Gloria‘Aguri’×(*Cymbidium tracyanum* var ‘Huanghua’×*Cymbidium mastersii* cv ‘Xianguang’)

| 序号 Sequence number | 光处理 Light treatment | 色素含量 Pigment content/(mg·g ⁻¹) | | | | 叶绿素 a/b Chlorophyll a/b |
|-----------------------|------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| | | 叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content | 叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content | 总叶绿素含量 Total chlorophyll content | 类胡萝卜素含量 Carotenoid content | |
| 1 | RBG | 0.683 5aA | 0.398 7aA | 1.082 2aA | 0.066 1abAB | 1.714 3dD |
| 2 | R | 0.736 4aAB | 0.513 7abAB | 1.250 1abAB | 0.050 9aA | 1.433 7abAB |
| 3 | 1RB | 0.691 5aAB | 0.507 6abAB | 1.199 1aAB | 0.068 6abAB | 1.362 3aA |
| 4 | B | 0.858 3abAB | 0.531 3abAB | 1.389 5abAB | 0.088 2bBC | 1.615 6cdBC |
| 5 | RBW | 1.224 5cC | 0.738 1cC | 1.962 7cC | 0.144 6dD | 1.659 0cdBC |
| 6 | 2RB | 0.678 1aA | 0.401 0aA | 1.079 0aA | 0.079 1bAB | 1.691 1cdBCD |
| 7 | W1 | 0.934 9bB | 0.611 5bcBC | 1.546 4bB | 0.116 5cCD | 1.528 8abcABC |
| 8 | CK | 0.880 8abAB | 0.592 3abAB | 1.473 1abAB | 0.072 8bAB | 1.487 0bcdBC |

注:表中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: Different lowercase letters show significant difference($P<0.05$), different capital letters show extremely significant difference ($P<0.01$).

3 讨论与结论

植物生长发育的基础是光合作用,光质对植物光合作用的调控主要表现为影响植物叶绿体结构、叶片生长及其光合色素含量^[13]。

在植物组织培养中,可通过调控光质来提高植物的光合作用。该研究表明,在LED复合光RBW(红:蓝:白)为6:1:1处理下的杂交组培苗各色素含量均极显著高于其余处理;此结论与RENATA等^[14]研究葡萄组织培养中蓝光可促进叶的形成以及各种光合色素的合成这一结论具有一致性。大量试验也表明,蓝光可以使叶绿素a含量增加。如,可提高藻类植物、风信子愈伤组织的叶绿素a含量^[15-16];也有报道认为复合光更利于植物中叶绿素的合成,LED不同光质对组培苗的作用并不仅是简

单相加,光质之间还相互影响来调控植物生长^[16]。如KIM等^[17]经研究发现各种光质中有利于莴苣叶片生长的顺序为:红、蓝、绿3种组合光>白光>红蓝光。与该试验结论存在差别可能是由于不同种植物 and 不同光合色素吸收的光谱不一致有关。研究还显示,2RB(红:蓝)为2:1组合下相比单色蓝光(B)和单色红光(R)处理下的杂交组培苗叶绿素含量要低,(R)单色红光下类胡萝卜素与其它处理相比最低,这与鄢春芳^[19]研究发现的红光可提高叶绿素a、b含量,但会降低类胡萝卜素含量有相似性。

该研究结果表明,红:蓝:白=6:1:1处理下,该兰花组培苗叶绿素a、叶绿素b及类胡萝卜素含量极显著高于其它处理,分别为1.224 5、0.738 1、

0.144 6 mg/g;而红:蓝=2:1 处理下叶绿素含量相对较低,各色素含量分别为 0.678 1、0.401 0、0.079 1 mg/g。说明红:蓝:白=6:1:1 复合光最有利于大花蕙兰‘爱神’♀×虎雪兰‘霞光’♂杂交组培苗叶绿素的合成。

参考文献

- [1] BERRY J A,DOWNTON W J S. Environmental regulation of photosynthesis. In: Govindjee, Photosynthesis (Vol. II) [M]. New York: Academic Press, 1982;294-306.
- [2] 闫新房,丁林波,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.
- [3] 吴根良,郑积荣,李许可. 不同 LED 光源对设施越冬辣椒果实品质和产量的影响[J]. 浙江农林大学学报,2014,31(2):246-253.
- [4] 陈星星,徐明辉,何松林. 新型光源发光二极管(LED)下白掌组培苗移栽后生长状况研究[J]. 中国农学通报,2014,30(19):196-200.
- [5] 黄家平,戴思兰. 兰花组织培养研究综述[J]. 广东园林,1997(2):29-31.
- [6] 金铃. 兰花组织培养研究进展[J]. 现代农业,2010(7):14.
- [7] 丁燕芬,王岩,龙春林. 中国兰花组织培养研究进展[J]. 安徽农业科学,2007,35(8):2247-2248,2250.
- [8] 郑子松,王红,王神云,等. LED 光源对结球甘蓝 (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) 不定芽再生的影响[J]. 天津农学院学报,2013,20(2):6-10.
- [9] 魏星,顾清,戴艳娇,等. 不同光质对菊花组培苗生长的影响[J]. 中国农学通报,2008,24(12):344-349.
- [10] 崔瑾,张晓燕,鲁燕舞. LED 光调控技术在芽苗菜生产中的应用[J]. 科技导报,2014,32(10):32-35.
- [11] 王佳,许建新,罗旭荣. 不同 LED 补光对 5 种垂直绿化植物光合特性及生长的影响[J]. 安徽农业科学,2013,41(25):10221-10223.
- [12] 王学奎. 叶绿素含量的测定[J]. 植物生理生化实验原理和技术,2006(2):135-136.
- [13] 郑洁,胡美君,郭延平. 光质对植物光合作用的调控及其机理[J]. 应用生态学报,2008,19(7):1619-1624.
- [14] RENATA,SILVA,ANZELIKA,et al. *In vitro* cultivation of grape culture under solid state lighting[J]. Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture,2007,26(3):235-245.
- [15] ANNA B,ALICJA K. Effect of light quality on somatic embryogenesis in *Hacanthus orientalis* L. ‘Delft’s blue’[J]. Biological Bulletin of Poznan,2001,38:103-107.
- [16] 褚四敏,陈敏洁,贾文妹,等. 光质对植物组织培养的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(2):665-666,672.
- [17] KIM H H,GOINS G D,WHEELER R M,et al. Stomatal conductance of lettuce grown under or exposed to different light qualities[J]. Annals of Botany,2004,94:691-697.
- [18] ZEIGER E,CIELD C,MOONEY H A. Stomatal opening at dawn:possible roles of the blue light response in nature[M]. Plants and the Daylight Spectrum,1981:391-407.
- [19] 郭春芳. 光质对云南烤烟生长发育及品质的影响[D]. 北京:中国农业科学院,2011.

Effect of Different LED Light Qualities on Chlorophyll Content of the Orchid Hybrid

(♀: *Cymbidium lucky* Gloria ‘Aguri’ × ♂: *Cymbidium tracyanum* var ‘Huanghua’ × *Cymbidium mastersii* cv ‘Xianguang’)

GUO Ying, LI Haiyan, RUAN Shiyue, LI Xiayuan, LI Zhilin

(Institute of Flowers, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201)

Abstract: The influence of different LED light on chlorophyll content of *Cymbidium lucky* Gloria ‘Aguri’ × (*Cymbidium tracyanum* var ‘Huanghua’ × *Cymbidium mastersii* cv ‘Xianguang’) tissue culture seedling was studied, to provide data support and theoretical basis for tissue culture which was under LED light. The tissue culture seedling grew under different proportions of LED light qualities after a period of time, content of chlorophyll was tested. The results showed that under the RBW (red: blue: white = 6:1:1) treatment, the content of chlorophyll a, b and carotenoid were significantly higher than others, respectively, 1.224 5 mg/g, 0.738 1 mg/g, 0.144 6 mg/g; under the 2RB (red: blue = 2:1) treatment, all kinds of chlorophyll were relatively low, respectively, 0.678 1 mg/g, 0.401 0 mg/g, 0.079 1 mg/g. It was the most beneficial treatment RBW to *Cymbidium lucky* Gloria ‘Aguri’ × *Cymbidium tracyanum* var ‘Huanghua’ × *Cymbidium mastersii* cv ‘Xianguang’ synthetise chlorophyll.

Keywords: light emitting diodes (LEDs); the orchid hybrid; tissue culture plantlets; chlorophyll content