

不同光质对铁皮石斛光合特性和多糖积累的影响

林小苹^{1,2}, 赖钟雄²

(1. 漳州城市职业学院, 福建 漳州 363000; 2. 福建农林大学 园艺植物生物工程研究所, 福建 福州 350002)

摘要:以铁皮石斛试管苗为试材,研究了不同光质对其光合特性和多糖积累的差异。结果表明:不同光质条件下,试管苗叶中叶绿体数量及叶绿素含量有明显差异,二者呈负相关;白光和绿光下多糖含量和叶绿素含量变化趋势基本一致,表现为白光>绿光;在红、蓝光下则表现出低叶绿素含量、高多糖含量的特征,表现出光质对光合代谢调控的复杂性。

关键词:光质;铁皮石斛;叶绿体数量;叶绿素含量;多糖含量

中图分类号:S 312 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)13-0154-05

光质对植物的生长、发育和代谢有一定的调节作用。大量研究证实不同光质对高等植物的碳水化合物代谢有重要的调节作用。对于光质调控植物碳代谢的机理至今仍不清楚。目前,光质对植物离体培养调控的研究报道越来越多,但光质对铁皮石斛作用情况的详细资料仍很缺乏,包括细胞学观察、生理生化变化等。

光质对植物体内叶绿素含量影响有很多研究报道,但很少见叶绿素含量与叶绿体数量之间关系的研究。通过资料检索,发现铁皮石斛叶片的细胞学观察也很少有报道。该试验以铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)试管苗为试材,对铁皮石斛在不同光质下叶片叶绿体数量进行扫描和录取图像,并与叶绿素含量进行比较,以探讨光建成过程中色素与细胞器形态发生之间的关系;同时也对不同光质下叶片中多糖含量、叶绿体数量和叶绿素含量变化趋势进行分析,为进一步探索铁皮石斛多糖代谢途径提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试铁皮石斛取自福建农林大学园艺植物生物工程研究所,以铁皮石斛试管苗为试材。

1.2 试验方法

在白光、红光、蓝光和绿光 4 种不同光质下培养的铁皮石斛试管苗(瓶苗),取同一生长时期的 2~5 片成熟叶片用于试验。光照使用的各种光源均系冷光源,主要技术参数见表 1。每天光照 15 h,培养温度 25 ℃。

表 1 各种荧光灯的主要技术参数

Table 1 Main technical parameters of different lamps

处理	蓝光	红光	绿光	白光
波长范围/nm	410~540	600~690	490~590	330~770
光量/($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	25	25	25	25

1.2.1 不同光质对叶绿体数量的影响 参考刘向东^[1]

方法,将选取好的铁皮石斛叶片,分表皮朝上和朝下 2 种分别放在载玻片上,滴 2% 琼脂糖封片,在 Leica SP₂ 激光扫描共聚焦显微镜下(EXP=1)利用远红外双光子激光(波长 800 nm)对叶肉细胞进行连续扫描,在连续扫描 30 s 之后,利用蓝色激光记录荧光,对叶肉细胞内的叶绿体进行扫描和录取图像。

1.2.2 不同光质对叶绿素含量的影响 叶绿素含量的

测定采用丙酮乙醇混合法^[2-3]。用 Amon 法计算叶绿素 a、b 含量及总量。叶绿素 a 浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $C_a = 12.72A_{663} - 2.69A_{645}$; 叶绿素 b 浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $C_b = 22.88A_{645} - 4.68A_{663}$; 叶绿素总浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $C_{(a+b)} = C_a + C_b$ 。根据提取液中叶绿素浓度,换算为 1 g 鲜叶中叶绿素含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)。叶绿素含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = (叶绿素的浓度 × 提取液体积 × 稀释倍数) / (1 000 × 样品鲜样质量)。

1.2.3 不同光质对多糖含量的影响 参照李彩霞等^[4]

的方法,先用葡萄糖标准溶液绘制标准曲线方程式 $C =$

第一作者简介:林小苹(1975-),女,硕士,副教授,研究方向为植物生理与生物技术。E-mail:lxp103@126.com.

责任作者:赖钟雄(1966-),男,博士,教授,研究方向为植物生理与生物技术。E-mail:laizx01@163.com.

基金项目:漳州市自然科学基金资助项目(zz2013J12);福建省农业科技平台建设资助项目(2008N2001)。

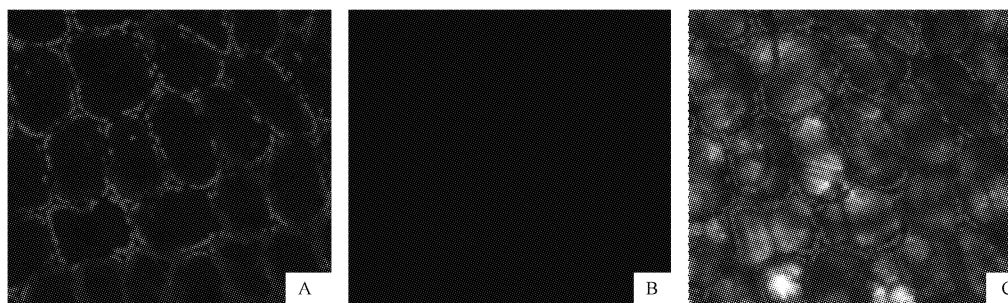
收稿日期:2016-02-14

144.85A-0.306 1($R^2=0.999\ 6$)。再提取在不同光质条件下铁皮石斛叶中的多糖,计算多糖的百分含量。多糖含量(%)=($C\times V1\times V3\times W$)/($V2\times V4\times 10\ 000$),式中: $V1$ 为样品定容体积(mL); $V2$ 为样品定容液取样体积(mL); $V3$ 为沉淀定容体积(mL); $V4$ 为测定用样液体积(mL); W 为样品质量(g); C 为标准曲线查得样品溶液中葡萄糖含量(μg)。

2 结果与分析

2.1 不同光质对铁皮石斛叶片叶绿体数量的影响

激光扫描共聚焦显微镜在植物细胞形态及发育研究上具有独特的功能。在显微镜下可以清晰地观察到所有光质条件下铁皮石斛叶肉细胞中均含有大量的叶绿体,在 CLSM 上用透射通道扫描时,叶绿体为不透明的近球体(图 1~4 中的图 A),蓝色激光连续扫描,叶



注:图 A.透射通道扫描时观察到的叶绿体;图 B.蓝光激光扫描,叶绿体没有自发荧光;图 C.双光子扫描 30 s,利用蓝色激光记录荧光,叶绿体出现明显的荧光,可以观察到叶绿体在叶肉细胞里的位置及分布数量。以下同。

Note:Fig. A,showing chloroplast observed by transmission channel;Fig. B,no autofluorescence was seen in chloroplasts scanned by blue laser;Fig. C,bright autofluorescence was observed in chloroplasts scanned by multiphoton laser for 30 seconds,the location and the number of distribution was observed in mesophyll cell. The same below.

图 1 绿光培养条件下铁皮石斛叶肉中的叶绿体

Fig. 1 The chloroplast in mesophyll cells under the condition of green light

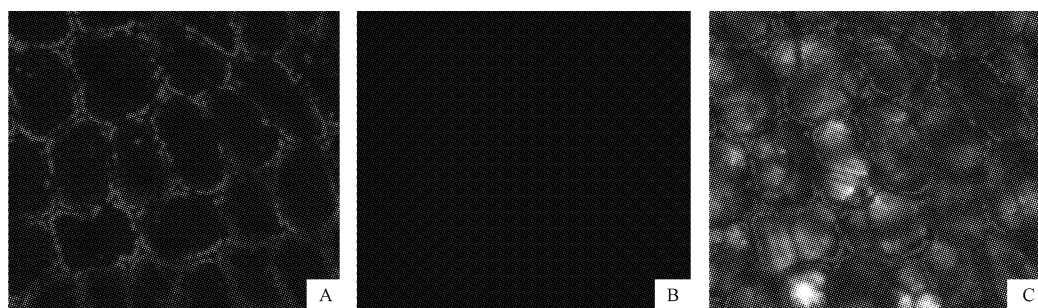


图 2 红光培养条件下铁皮石斛叶肉中的叶绿体

Fig. 2 The chloroplast in mesophyll cells under the condition of red light

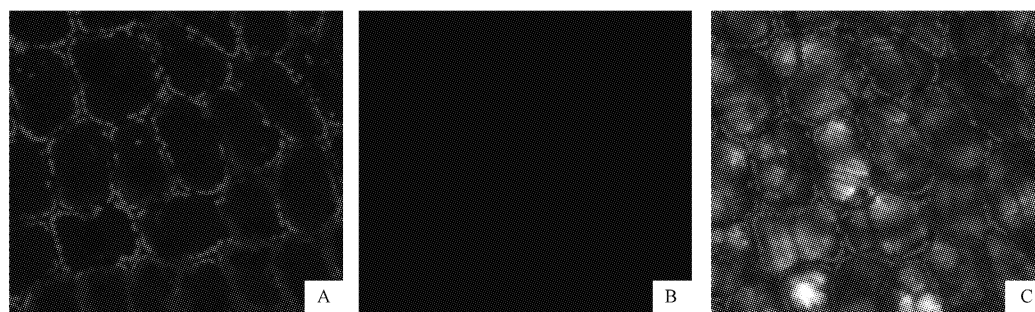


图 3 蓝光培养条件下铁皮石斛叶肉中的叶绿体

Fig. 3 The chloroplast in mesophyll cells under the condition of blue light

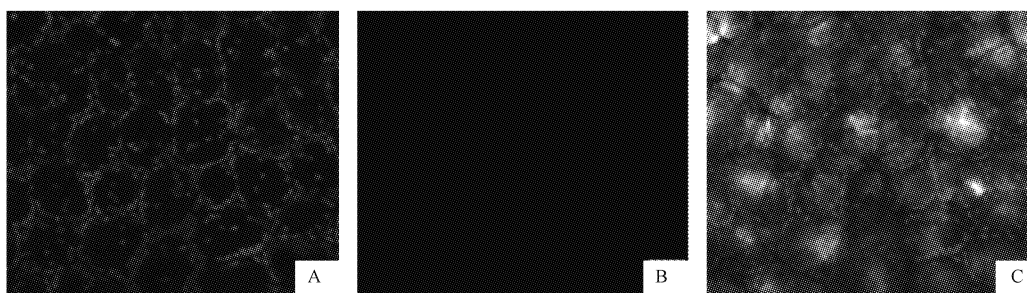


图4 白光培养条件下铁皮石斛叶肉中的叶绿体

Fig. 4 The chloroplast in mesophyll cells under the condition of white light

叶绿体不产生荧光(图1~4中的图B)。双光子激光扫描30 s时,出现明亮的荧光,其叶绿体呈红色荧光,可以清楚地观察到叶绿体在叶肉细胞里的位置及分布数量(图1~4中的图C)。从图1~4可以看出,叶绿体数量变化趋势为绿光>红光>蓝光>白光,绿光下最多,白光下最少,红光与蓝光数量居中。

2.2 不同光质对铁皮石斛叶片叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用的物质基础,在植物的光合反应过程中起着关键作用。其含量的变化往往与叶片的生理活性、植物对环境的适应性和抗逆性有关,对植物的生长发育产生重要影响。由表2可知,叶绿素

总含量的变幅为 $1.303 \sim 0.534 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。所有处理中,白光、红光和蓝光均显著高于绿光,说明相对于对照组白光,红光和蓝光有利于叶绿素的积累,绿光则不同程度抑制叶绿素的合成,这与高亭亭等^[5]研究结果一致。在红光与蓝光的比较中,红光下叶绿素总量稍低于蓝光,这与TANA等^[6]、ANZELI等^[7]结论一致,却与徐凯等^[8]、江明艳^[9]研究结果相反,后者认为蓝光会降低叶绿素含量,而红光会促进叶绿素的合成。这说明不同植物种类,其细胞内叶绿素含量的变化对光质的响应各不相同,有些甚至产生相反的变化趋势。

表2 不同光质对铁皮石斛叶绿素含量的影响

Table 2 The effect of different light quality on chlorophyll content in *Dendrobium officinale*

光质	叶绿素总量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	叶绿素 a/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	叶绿素 b/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	叶绿素 a/b 值
白光	1.303a	0.892a	0.411a	2.170a
红光	1.195c	0.797c	0.398b	2.001d
蓝光	1.216ab	0.824b	0.392b	2.101bc
绿光	0.534d	0.361d	0.174c	2.077c

注:不同小写字母表示差异达5%显著水平。下同。

Note: The different lowercase letters showed significant at 0.05 level. The same below.

叶绿素 a/b 是植物对环境适应性的一种指标。该试验中任何光质下铁皮石斛的叶绿素 a/b 值均在 $2.000 \sim 2.200$,符合阴生植物的特点。其中在红光和绿光下生长的铁皮石斛比在白光和蓝光下的叶绿素 a/b 值低。与大多数的研究^[8,10-16]结果一致,即同等光强下蓝光可以提高植物的叶绿素 a,红光有利于叶绿素 b 的合成,因此蓝光培养的植株一般叶绿素 a/b 值较高,而红光培养的植株叶绿素 a/b 较低。

2.3 不同光质对铁皮石斛叶片多糖含量的影响

从表3可知,显著性 P 值大于0.05,说明不同光质处理之间的方差具有齐次性,故运用LSD法进行多重比较。由表4可知,显著性 $P < 0.05$,说明用不同颜色的光照射,对多糖含量影响显著,以白光为对照,其余3种光质相对白光的差异显著性表现为绿光>蓝光>红光。

2.4 不同光质下铁皮石斛叶片叶绿素含量和多糖含量的比较

图5反映出不同光质下叶绿素含量与多糖含量对光质响应基本一致,呈现出白光下二者含量均最高,而绿光下均最低的趋势。只有蓝光和红光条件下的数值呈现出逆相关—蓝光条件下叶绿素含量较红光高但多糖含量反而比红光低,这一现象与刘立侠等^[16]、李韶山等^[17]研究结果一致。

表3 不同光质下多糖含量的方差齐次性检验

Table 3 Levene's test of homogeneity of variances of polysaccharide content

统计量	组间自由度 $df1$	组内自由度 $df2$	P
0.398	3	8	0.758

表 4 不同光质下多糖含量的多重比较

Table 4 Multiple comparisons of polysaccharide content

(I)光质	(J)光质	均值差(I-J)	标准误	显著性	95%置信区间	
					下限	上限
白光	蓝光	0.015 293 333 *	0.000 386 178	0.000	0.014 402 81	0.016 183 86
	红光	0.006 326 667 *	0.000 386 178	0.000	0.005 436 14	0.007 217 19
	绿光	0.135 326 667 *	0.000 386 178	0.000	0.134 436 14	0.136 217 19
蓝光	白光	-0.015 293 333 *	0.000 386 178	0.000	-0.016 183 86	-0.014 402 81
	红光	-0.008 966 667 *	0.000 386 178	0.000	-0.009 857 19	-0.008 076 14
	绿光	0.120 033 333 *	0.000 386 178	0.000	0.119 142 81	0.120 923 86
红光	白光	-0.006 326 667 *	0.000 386 178	0.000	-0.007 217 19	-0.005 436 14
	蓝光	0.008 966 667 *	0.000 386 178	0.000	0.008 076 14	0.009 857 19
	绿光	0.129 000 000 *	0.000 386 178	0.000	0.128 109 47	0.129 890 53
绿光	白光	-0.135 326 667 *	0.000 386 178	0.000	-0.136 217 19	-0.134 436 14
	蓝光	-0.120 033 333 *	0.000 386 178	0.000	-0.120 923 86	-0.119 142 81
	红光	-0.129 000 000 *	0.000 386 178	0.000	-0.129 890 53	-0.128 109 47
白光	蓝光	0.015 293 333 *	0.000 368 842	0.000	0.013 650 67	0.016 935 99
	红光	0.006 326 667 *	0.000 309 910	0.000	0.004 958 48	0.007 694 85
	绿光	0.135 326 667 *	0.000 419 577	0.000	0.133 349 92	0.137 303 42
蓝光	白光	-0.015 293 333 *	0.000 368 842	0.000	-0.016 935 99	-0.013 650 67
	红光	-0.008 966 667 *	0.000 349 603	0.000	-0.010 583 53	-0.007 349 80
	绿光	0.120 033 333 *	0.000 449 691	0.000	0.118 028 35	0.122 038 32
红光	白光	-0.006 326 667 *	0.000 309 910	0.000	-0.007 694 85	-0.004 958 48
	蓝光	0.008 966 667 *	0.000 349 603	0.000	0.007 349 80	0.010 583 53
	绿光	0.129 000 000 *	0.000 402 768	0.000	0.126 994 10	0.131 005 90
绿光	白光	-0.135 326 667 *	0.000 419 577	0.000	-0.137 303 42	-0.133 349 92
	蓝光	-0.120 033 333 *	0.000 449 691	0.000	-0.122 038 32	-0.118 028 35
	红光	-0.129 000 000 *	0.000 402 768	0.000	-0.131 005 90	-0.126 994 10

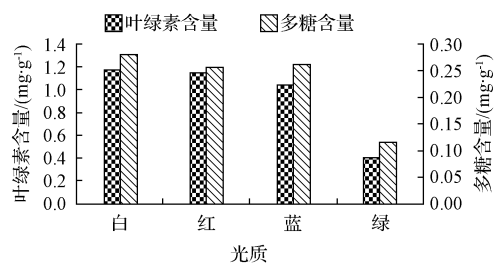


图 5 不同光质对叶绿素含量与多糖含量的影响
Fig. 5 The effect of different light quality on chlorophyll content and polysaccharide content

3 讨论

3.1 叶绿体数量多少不能完全反映光合效率的高低

叶绿体是叶绿素的载体,它含有包括叶绿素在内的多种色素,叶绿素是一类与光合作用相关的最重要色素。绿色植物进行光合作用时,被叶绿素吸收并参与光化学反应的太阳辐射光谱成分称为光合有效辐射。叶绿素 a、b 的吸收光谱有 2 个高峰,一个在 600~700 nm,一个在 400~500 nm。多位学者^[18-23]的研究表明,红光和蓝光的波长恰好在有效辐射范围内,所以其光合效率较高;而绿光波长不在有效辐射范围内,导致光合效率下降,白光波长则完全涵盖了光合辐射范围,其光合效果最高。

该试验中,不同光质下叶绿体数量呈现出绿光>红光>蓝光>白光的趋势,绿光下叶绿体数量的最多,但积累的多糖最少,长势较弱,说明叶绿体数量的多少与和光合产物的积累不呈正相关,这与以往研究^[16,24-25]结果一致,可能由于波长不在光合有效辐射范围内的绿光具有低光合效率,其叶片中叶绿体数量的增多,是阴生植物对光合低效光的一种生态适应^[16],光合效果越高的光质下生长的植物,其叶中产生的叶绿体数量越少;也可能与绿光下参与光合作用的其它组分(除色素外)如酶类等物质不是处于理想状态有关。

3.2 叶绿素含量高低不能完全反映光合性能的强弱

该试验中,蓝光下叶绿素含量高于红光,但多糖含量却略低于红光,这说明叶绿素含量的高低并不能完全反映光合性能的强弱。各位学者对此现象的解释各不相同,有研究者认为可能是蓝光处理下植株的呼吸速率较高使光合产物消耗多的缘故^[17,26];也有研究认为红光下植物光合速率较高,明显促进可溶性糖积累,而由于蓝光对植物叶绿体光合片层结构破坏使光合效率明显降低,影响了植物的碳同化作用,从而导致可溶性糖下降^[12,17,27-29]。另外,还有可能由于光质的改变会诱导光敏色素对糖代谢酶的调控,影响糖代谢相关酶活性,从而影响可溶性糖含量^[30]。

参考文献

- [1] 刘向东. 利用激光扫描共聚焦显微镜研究植物细胞发育形态学变化[J]. 激光生物学报, 2007, 16(2): 173-178.
- [2] 刘秀丽, 宋平, 孙成明. 植物叶绿素测定方法的再探讨[J]. 江苏农业研究, 1999, 20(3): 46-67.
- [3] 李志丹, 韩瑞宏, 廖桂蓝, 等. 植物叶片中叶绿素提取方法的比较研究[J]. 广东第二师范学院学报, 2011, 3(31): 80-83.
- [4] 李彩霞, 竹剑平. 不同采收期铁皮石斛中多糖含量比较[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 1138-1149.
- [5] 高亭亭, 斯金平, 朱玉球, 等. 光质与种质对铁皮石斛种苗生长和有效成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(2): 198-201.
- [6] TANA K A, TAKAMU R A, WATANA B E, et al. *In vitro* growth of cymbidium plantlets cultured under superbright red and blue light-emitting diodes(leds)[J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 1998, 73: 39-44.
- [7] ANZEL K A, RENA T A, SILV A, 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.
- [8] 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.
- [9] 江明艳. 遮荫和光质对一品红生长发育的影响研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2004.
- [10] ANDERSON, JAN M. Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes[J]. Plant Physiol, 1986, 37(1): 9-136.
- [11] 迟伟, 王荣富, 张成林. 遮荫条件下草莓的光合特性变化[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 566-568.
- [12] RIVKIN R B. Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton in photo-synthesis, chemical composition and growth[J]. Marine Ecology Progress Series, 1989, 55: 291-304.
- [13] 车生泉. 光质对小苍蓝茎尖试管培养的影响[J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 269-273.
- [14] 储钟稀, 童哲, 冯丽洁, 等. 不同光质对黄瓜叶片光合特性的影响[J]. 植物学报, 1999, 41(8): 867-870.
- [15] 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.
- [16] 刘立侠, 唐树延, 许守民, 等. 光质对人参叶绿体结构和光合生理性状的影响[J]. 植物学报, 1993, 35(8): 588-592.
- [17] 李韶山, 潘瑞焱. 蓝光对水稻幼苗碳水化合物和蛋白质代谢的调节[J]. 植物生理学报, 1995, 21(1): 22-28.
- [18] 张玲菊, 高亭亭, 章晓玲, 等. 5 个种源铁皮石斛的光合特性[J]. 浙江农林大学学报, 2013, 30(3): 359-363.
- [19] 王振兴, 艾军, 陈丽, 等. 软枣猕猴桃光合日变化的研究[J]. 北方园艺, 2010(6): 29-31.
- [20] 刘汉峰. CO₂ 倍增对三种石斛光合特性的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2012.
- [21] 孙志蓉, 王美云, 张宏桂, 等. 环草石斛和铁皮石斛试管苗叶片气孔特征比较[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(27): 16583-16586.
- [22] 濮晓珍, 尹春英, 周晓波, 等. 铁皮石斛组培苗移栽驯化过程中叶片光合特性、超微结构及根系活力的变化[J]. 生态学报, 2012, 32(13): 4114-4122.
- [23] 李雪, 刘建福, 曾小爱, 等. 不同基质和容器对铁皮石斛生长和生理特性的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2012, 37(8): 124-128.
- [24] SAEBO A, KREKLING T, APPELGREN M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995, 41: 177-185.
- [25] VLASOVA M P, DROZDOVA S, VOSKRESENSKAYA N P. Modification of chloroplast ultrastructure in pea plants greening under blue and red light[J]. Fiziol Rast(USSR), 1971, 18: 5-11.
- [26] 史宏志, 韩锦峰, 张国显, 等. 单色蓝光和红光对烟苗叶片生长和碳氮代谢的影响[J]. 河南农业大学学报, 1998(3): 258-262.
- [27] 戴绍军, 王洋, 阎秀峰, 等. 滤光膜对喜树幼苗叶片生长和喜树碱含量的影响[J]. 生态学报, 2004, 24(5): 869-875.
- [28] 徐克章, 曹正菊, 张为群, 等. 人参叶片光合作用特性的研究[J]. 中国农业科学, 1990(23): 69-74.
- [29] ARNON, D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant Physiol, 1949, 24(1): 1-15.
- [30] KASPERBAUER M J. Strawberry yield over red versus black plastic much[J]. Crop Sci, 2000, 40: 171-174.

Effect of Different Light Qualities on Photosynthetic Characteristics and Polysaccharide Accumulation of *Dendrobium officinale*

LIN Xiaoping^{1,2}, LAI Zhongxiong²

(1. Zhangzhou City Professional College, Zhangzhou, Fujian 363000; 2. Institute of Horticultural Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract: The *in vitro* shoots of *Dendrobium officinale* were chosen as materials to study the effects of different light qualities on photosynthetic characteristics and the differences in polysaccharide accumulation. The results showed that, under the condition of different light qualities, there existed in leaves of *in vitro* shoots significant difference between chloroplast number and chlorophyll content, which were negatively correlated; the change trend of polysaccharide content and chlorophyll content were basically the same under white light and green light, exhibiting white > green, and it was characterized by low chlorophyll content and high polysaccharide content under red light and blue light, showing the complexity of photosynthetic metabolism regulation under different light qualities.

Keywords: light quality; *Dendrobium officinale*; chloroplast number; chlorophyll content; polysaccharide content