

## 光调控对金线莲生长发育的影响\*

洗康华, 苏江, 黄宁珍, 何金祥, 付传明\*\*

(广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西桂林 541006)

**摘要:**为研究不同光质和光周期处理对金线莲生长发育的影响,以蓝光、黄光、红光3种不同光质、不同光照时间处理广西金线莲组培苗,每瓶接种10个茎段,每个处理接种20瓶,培养90 d后观察记录。结果显示,日光灯照10 h·d<sup>-1</sup>处理比单色光处理更有利于金线莲组培苗株高、茎粗、鲜重、干重、干物率的积累,也更有利于总黄酮、可溶性蛋白、可溶性糖含量的积累。光照6 h·d<sup>-1</sup>时金线莲单株叶片数最多;光照14 h·d<sup>-1</sup>处理,茎生长最粗,叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性最高;单色光处理中,蓝光有利于干物质的积累,可使植株矮壮;黄光处理叶面积最大;红光处理下金线莲节间数和腋芽数最多,过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性最高,但在所有处理中金线莲茎最细。黄光最有利于金线莲组培苗氨基酸的积累,金线莲组培苗氨基酸含量会随着光照时间的增多而递减,表明不同光质和光周期处理对金线莲生长发育有重要的影响。

**关键词:**金线莲 光质 光周期 生长量 化学成分 酶活性

中图分类号:R931.2 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2019)01-0036-09

### 0 引言

金线莲(*Anoectochilus roxburghii*)是兰科开唇兰属植物金线兰的别名<sup>[1]</sup>,是一种在治疗高血压、糖尿病及肿瘤等疑难杂症上疗效显著的名贵药材,因其叶脉呈金黄色而得名,又名金钱草、乌人参等。由于对环境条件要求高、自然生长慢、繁殖率低以及人为掠夺性采挖等因素,野生金线莲资源近于枯竭<sup>[2]</sup>,目前金线莲鲜草在国内市场的售价已超800元/kg,且供不应求。利用组织培养进行金线莲种苗繁育,是目前保护和开发金线莲这一资源的最有效途径。植物的生长发育被许多环境因子所影响,其中包括光、温度、湿度、空气和水等。在这些影响因

子中,光具有特殊重要的地位,它不但为植物光合作用提供辐射能量,而且还作为环境信号调节植物整个生命周期,如种子萌发、植株生长、花芽分化以及器官衰老等许多生理过程<sup>[3-4]</sup>。自从1955年Capite<sup>[5]</sup>首次报道在向日葵等组织培养中引进光因子以来,有关光环境调控在植物组织培养中的应用研究已经越来越引起人们关注<sup>[6-7]</sup>。不同类型植物对光环境的需求不同,植物尤其光敏感型植物快速繁育成败与否往往取决于所处的光环境因子<sup>[8-13]</sup>。金线莲与其他绿色植物不同,其叶色紫红略带灰绿,并具有明显的金色网纹,叶中的色素成分和含量有别于其他绿色植物,因此其对光环境的要求也必定不同于其他绿色植物,而目前金线莲组培中的光控管理

\*广西科技攻关计划项目《兰科名贵植物金线莲良种选育与工厂化繁育示范》(桂科攻11598006-3-10),广西科技基地和人才专项(桂科AD17129022)和桂林市科学研究与技术开发计划项目(201810107-6)资助。

【作者简介】

洗康华(1988—),男,助理研究员,主要从事植物生物技术和珍稀濒危植物保育研究,E-mail:294258305@qq.com。

【\*\*通信作者】

付传明(1980—),男,副研究员,主要从事植物生物技术及濒危植物保育研究,E-mail:470196422@qq.com。

【引用本文】

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20190123.003

洗康华,苏江,黄宁珍,等.光调控对金线莲生长发育的影响[J].广西科学院学报,2019,35(1):36-44.

XIAN K H,SU J,HUANG N Z,et al.Effect of light environmental control on the growth and development of *Anoectochilus roxburghii* [J].Journal of Guangxi Academy of Sciences,2019,35(1):36-44.

却和其他植物相同,这可能是引发金线莲组培过程中生长发育缓慢的主要原因之一。

金线莲组织培养中光环境调控这一问题不明确,必将会造成其快繁技术问题研究的盲目性,但迄今为止,金线莲组培苗的光生理生态学研究尚未开展。笔者所在研究团队在前期研究中发现,光环境对金线莲离体材料的生长发育影响较大,其中低强度复合波长的白光对前期丛芽的诱导效果好,随着光强度的逐渐增加,对芽诱导的抑制作用越明显;相对高强度的复合波长白光有利于诱导出气生根系,促进叶片的张开和颜色的加深;特定波段的有色光对金线莲试管苗的长高有明显的促进作用。有鉴于此,本文采用不同的光质和光周期处理,结合一系列生理生化指标测试,明确金线莲组培苗对光的需求特性及其相应的促生长机理,为金线莲离体培养营造适宜的光环境条件,加速金线莲组培苗生长速度,缩短培养周期,为建立起科学、高效的金线莲组培快繁光控体系提供理论和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为引种到广西植物研究所的广西金线莲组培苗。

### 1.2 光处理与培养条件

光质处理:以(475±5) nm 蓝光、(585±5) nm 黄光、(660±5) nm 红光3种不同光质LED灯具代替常用日光灯为培养光源,以日光灯为对照,光源与离体材料距离为30 cm左右,每天光照10 h·d<sup>-1</sup>,连续处理90 d,各处理之间用遮光布遮盖并分隔成不同的区间,以避免相互相互影响。

光周期处理:进行不同光照时间处理。6 h·d<sup>-1</sup>: 照光时间从9:00到15:00;10 h·d<sup>-1</sup>: 照光时间从7:00到17:00;14 h·d<sup>-1</sup>: 照光时间从7:00到21:00。连续处理90 d,各处理之间用遮光布遮盖并分隔成不同的区间,以避免相互相互影响。

每瓶苗接种10个茎段,每个处理接种20瓶,培养90 d后观察记录。试验在广西植物研究所生物技术与野生珍稀植物保育中心进行,温度为(25±2)℃。

## 1.3 测量指标

### 1.3.1 金线莲生长量的测定

试验结束分别从每个处理中随机选取5瓶金线莲组培苗,用于测量株高、鲜重、叶面积、茎直径等生长量,并计算出平均值。植物烘干箱设定温度80℃,连续烘干5 h后测量干重。

### 1.3.2 叶绿素含量的测定

采用Amon等<sup>[14]</sup>方法,称取金线莲组培苗鲜叶0.5 g,放置于10 mL离心管中,倒入5 mL浓度为80%的丙酮溶液,置于黑暗条件浸提48 h,以12 h为间隔摇晃1次离心管,待植物叶片出现白色时,震荡均匀后放在紫外分光光度计中于波长663 nm、645 nm下测定。

### 1.3.3 总黄酮含量的测定<sup>[15]</sup>

将磨碎的金线莲干样0.1 g,置于10 mL离心管中。加入沸蒸馏水6 mL,在100℃水浴锅浸提30 min,随后冷却摇匀,置于冷冻离心机10 000 r/min离心10 min。吸取上清液1 mL,加入1%三氯化铝溶液5 mL混合、震荡,10 min后移入紫外分光光度计中,以蒸馏水作为对照进行空白实验,在波长420 nm处测其吸光值。黄酮苷含量的计算公式为

$$\text{黄酮苷} = (32 \times A_{420}) / (\text{金线莲干粉质量} \times \text{干物率}) \quad (1)$$

### 1.3.4 可溶性蛋白含量的测定

可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定<sup>[16]</sup>。取金线莲干样粉末0.1 g加入5 mL磷酸缓冲液PBS (0.05 mol/L, pH值为7.0), 4℃条件下, 10 000 r/min离心10 min, 上清液为蛋白质提取液。吸取提取液1 mL, 补充PBS至1 mL, 加入5 mL考马斯亮蓝溶液, 充分混合震荡, 放置5 min后用紫外分光光度计在595 nm处测定吸光值, 通过标准曲线计算出蛋白含量, 其公式为

$$\text{可溶性蛋白含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (C_p \times V \times D) / (W \times V_t \times 1000) \quad (2)$$

式(2)中,  $C_p$ 为标准曲线上查得的蛋白质含量,  $D$ 为稀释倍数,  $V$ 为酶提取液的总体积,  $W$ 为提取液的植物样品的鲜重,  $V_t$ 为测定时提取液的体积。

### 1.3.5 可溶性糖含量的测定

可溶性糖含量采用蒽酮浓硫酸法测定<sup>[16]</sup>。取金线莲干样粉末0.15 g, 加入6 mL 80%的乙醇, 80℃水浴提取30 min, 冷却至常温, 4 000 r/min离心5

min, 上清液小心转入 25 mL 的容量瓶, 以蒸馏水定容到 25 mL。吸取提取液 0.3 mL, 补充蒸馏水至 2 mL, 对照为 2 mL 蒸馏水, 沿试管壁向所有试管中加入 3 mL 的葱酮-硫酸试剂。摇匀后放入沸水浴中加热 10 min, 取出后自然降温, 在 625 nm 处测定吸光值, 通过标准曲线计算出糖含量。

可溶性糖含量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) =  $(C_s \times V \times D) / (W \times V_t \times 1000)$ , (3)

式中,  $C_s$  为标准曲线上查得的糖含量,  $D$  为稀释倍数,  $V$  为酶提取液的总体积,  $W$  为提取液的植物样品的鲜重,  $V_t$  为测定时提取液的体积。

### 1.3.6 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定

准确称取鲜重样品 0.1 g, 加入 4 mL Tris 缓冲液(pH 值为 8.2)冰浴研磨, 于 4°C 下 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液即酶提取液, 采用氮蓝四唑(NBT)法<sup>[17]</sup>测定其 SOD 酶活, 每个处理重复 3 次。

### 1.3.7 过氧化物酶(POD)活性的测定

准确称取鲜重样品 0.1 g, 加入 4 mL 磷酸(PB)缓冲液(pH 值为 6.0)冰浴研磨, 于 4°C 下 10 000 r/min 离心 15 min, 取上清液即酶提取液, 采用愈创木酚法<sup>[18]</sup>测定其 POD 酶活, 每个处理重复 3 次。

取比色皿 2 只, 其中 1 只中加入反应混合液 3 mL 和磷酸缓冲液 20  $\mu\text{L}$  (或加热煮沸 5 min 的酶液), 作为校零对照, 另一只加入反应混合液 3 mL, 上述酶提取液 20  $\mu\text{L}$  (如酶活性过高可以稀释), 马上读 470 nm 下的 OD 值并计时, 每隔 1 min 读 1 次, 共计 4 min。

### 1.3.8 过氧化氢酶(CAT)活性测定

准确称取新鲜植物叶片 0.1 g, 置于研钵中, 加入 1 mL 4°C 下预冷的 PBS(pH 值为 7.8)冰浴研磨, 转入 5 mL 离心管中, 再用 2 mL 缓冲液冲洗研钵, 倒入离心管, 合并冲洗液, 并定容至刻度。混合均匀, 置于 5°C 冰箱中静置 10 min, 4°C 下 8 000~10 000 r/min 离心 10~15 min, 取上清液即酶提取液, 5°C 下保存备用。

测定: 取 10 mL 试管 3 支, 其中 2 支为样品测定管(S1、S2), 1 支为空白管(S0), 按表 1 顺序加入试剂。

将 S0 号管在沸水浴中煮 1 min 以杀死酶液, 冷却。然后将所有试管在 25°C 预热后, 依次加入 0.3 mL 0.1 mol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 每加完一管立即计时, 并迅速倒入石英比色皿中, 240 nm 下测定吸光度, 每隔 1 min 读数 1 次, 共测 4 min (读取 0 min, 1 min, 2 min, 3

min, 4 min 的数据), 待 3 支管全部测定完后, 按公式计算酶活性。以 1 min 内  $A_{240}$  减少 0.1 的酶量为 1 个酶活单位(U)。

过氧化氢酶活性( $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) =  $\Delta A_{240} \times V_t / (0.1 \times V_s \times t \times W)$ , (4)

$\Delta A_{240} = A_{S0} - (A_{S1} + A_{S2}) / 2$ , (5)

式中,  $A_{S0}$  为加入煮死酶液的对照管吸光值;  $A_{S1}$ ,  $A_{S2}$  为样品管吸光值;  $V_t$  为粗酶提取液总体积(mL);  $V_s$  为测定用粗酶液体积(mL);  $W$  为样品鲜重(g); 0.1 表示  $A_{240}$  每下降 0.1 为 1 个酶活单位(U);  $t$  为加过过氧化氢到最后一次读数时间(min)。

表 1 过氧化氢酶活性测定试剂添加表

Table 1 Catalase activity determination reagent adding table

管号 Tube number	粗酶液 Crude enzymes(mL)	pH 值为 7.8 的磷酸缓冲液 Phosphoric acid buffer, pH 7.8	蒸馏水 Distilled wa- ter(mL)
S0	0.2 (煮死酶液 Boiling liquid enzyme)	1.5	1.0
S1	0.2	1.5	1.0
S2	0.2	1.5	1.0

### 1.3.9 氨基酸含量的检测

将经上述处理的金线莲瓶苗寄到北京质朴科技有限公司检测游离氨基酸含量, 检测方法为液质联用外标法, 具体方法如下: 称取 50 mg 左右植物样本, 加入 1 mL 1:1 乙腈:水, 混匀。超声提取 2 h, 13 200 r/min 离心 10 min。取 100  $\mu\text{L}$  上清液用乙腈水 3:1 稀释 20 倍。液质进样检测。

液相条件和质谱参数为柱温 50°C, 进样量 1  $\mu\text{L}$ , 流动相 A: 水(0.1% 甲酸), 流动相 B: 乙腈(2.5 mmol/L 甲酸铵、0.1% 甲酸), CUR: 40.00, CAD: Medium, CXP: 10.00, IS: 1500.00, DP: 35.0, GS1: 50.00, TEM: 600.00, EP: 10.0, GS2: 60.00。

## 1.4 数据处理

试验测得所有数据均采用 Excel2003 处理, 用 SPSS Statistics19.0 统计软件进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 光调控对金线莲生长量的影响

从表 2 中可以看出, 6 个光环境处理中, 金线莲

组培苗除茎粗差异不大外,株高、叶面积、节间数、腋芽数、单株叶片数、鲜重和干重均存在差异,其中单株叶片数、腋芽数、干重和鲜重差异极显著。从株高看,各处理下大小顺序是编号5>3>4>6>2>1,即光照处理10 h·d<sup>-1</sup>株高最高,达8.02 cm;光质处理组中,红光株高最高,黄光次之,蓝光最矮,这与陈美香等<sup>[9]</sup>研究结果相似;光周期处理组中,呈现先增后减的趋势,光照10 h·d<sup>-1</sup>株高最高,光照6 h·d<sup>-1</sup>次之,光照14 h·d<sup>-1</sup>最矮,说明并不是光照时间越长植株生长越高。

实验结果表明,各处理下金线莲组培苗茎粗差异虽不显著,但光照14 h·d<sup>-1</sup>处理茎最粗,红光处理茎最细,单色光处理均低于对照10 h·d<sup>-1</sup>,说明单色光会稍微抑制茎长粗。各处理下黄光处理叶面积最大;光质处理组中,黄光为培养光源时叶面积最大,且优于对照组(光照处理10 h·d<sup>-1</sup>),蓝光次之,红光最小;光周期处理组中,叶面积大小也呈先增后减的趋势,光照10 h·d<sup>-1</sup>叶面积最大,光照14 h·d<sup>-1</sup>次之,光照6 h·d<sup>-1</sup>最小。

从表2中可以看出,红光处理下节间数最多,日光灯照14 h·d<sup>-1</sup>最少;光质处理组中,红光处理节间数最多,且优于对照(光照处理10 h·d<sup>-1</sup>),蓝光次之,黄光处理节间数最少;光周期处理组中,光照10

h·d<sup>-1</sup>节间数最多,光照6 h·d<sup>-1</sup>次之,光照14 h·d<sup>-1</sup>节间数最少。腋芽数指标中,最利于腋芽数增长的是红光处理,其次是蓝光,黄光处理下腋芽数增加最少;光周期处理组中,以光照10 h·d<sup>-1</sup>处理为佳,14 h·d<sup>-1</sup>处理次之,光照6 h·d<sup>-1</sup>腋芽数增加最少。从节间数和腋芽数的比较结果来看,在金线莲组培苗增殖扩繁时,适当地使用红光可以提高繁殖系数。

单株叶片数光照6 h·d<sup>-1</sup>处理最多,黄光处理最少;光质处理组中,红光处理下单株叶片数最多,为5.2,略高于对照,蓝光处理次之,黄光处理下叶片数最少;光周期处理组中,叶片数随着光照时间的增加而递减,这可能是金线莲应对光源环境变化产生的对应措施。

从表2还可以看出,日光灯光照10 h·d<sup>-1</sup>处理下金线莲鲜重最大,蓝光处理次之,日光灯光照处理14 h·d<sup>-1</sup>最小;光照10 h·d<sup>-1</sup>处理下金线莲干重最大,蓝光次之,黄光与红光处理居中,光照6 h·d<sup>-1</sup>和14 h·d<sup>-1</sup>最小;而干物率(=干重/鲜重)日光灯光照10 h·d<sup>-1</sup>最大,蓝光次之,红光和日光灯照14 h·d<sup>-1</sup>居中,日光灯照6 h·d<sup>-1</sup>最小,说明日光灯照10 h·d<sup>-1</sup>最有利于金线莲干物质的积累,而日光灯照6 h·d<sup>-1</sup>有利于金线莲水分的积累。

表2 不同光处理下金线莲组培苗的生长量

Table 2 The growth mass of *Anoectochilus roxburghii* seedlings by different optical processing

处理 Treatment	株高 Stem higher (cm)	茎粗 Stem diameter(mm)	叶面积 Leaf area (cm <sup>2</sup> )	节间数 Internodes number	腋芽数 Axillary bud number	单株叶片数 Leaf number	鲜重 Fresh weight(g)	干重 Dry weight (g)	干物率 Dry matter rate (%)
蓝光 Blue light	5.60 a	2.81	1.92	5.0 ab	4.4 ab	4.0 ab	0.96 bc	0.14 b	14.58
黄光 Yellow light	6.34 ab	2.71	<b>3.40</b>	4.4 ab	2.6 a	3.0 a	0.89 abc	0.12 a	13.48
红光 Red light	7.26 ab	2.50	1.89	<b>6.6 b</b>	<b>5.2 b</b>	5.2 b	0.84 ab	0.12 a	14.29
日光灯 6 h·d <sup>-1</sup> Fluorescent lamp 6 h·d <sup>-1</sup>	7.14 ab	2.75	1.97	5.0 ab	3.0 a	<b>5.6 b</b>	0.84 ab	0.11 a	13.10
日光灯 10 h·d <sup>-1</sup> Fluorescent lamp 10 h·d <sup>-1</sup>	<b>8.02 b</b>	2.82	3.25	5.2 ab	3.6 a	5.0 b	<b>1.02 c</b>	<b>0.17 c</b>	<b>16.67</b>
日光灯 14 h·d <sup>-1</sup> Fluorescent lamp 14 h·d <sup>-1</sup>	6.82 ab	3.42	2.30	3.45 a	3.4 a	4.0 ab	0.77 a	0.11 a	14.29

注:表中不同字母表示差异达5%显著差异水平,加粗数据为最优结果

Note: Different letters in table mean significant at 5% level, bold data mean best treatment

综合上述分析,在本实验设计的范围内,日光灯照  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  最有利于金线莲组培苗的生长,所得的干物质最多;而单色光处理中,蓝光有利于干物质的积累,黄光叶面积最大,但干物质积累最少,红光处理节间数和腋芽数最多。从提高繁殖系数和金线莲产量的角度综合分析,可以使用日光灯照  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  与红光搭配的方法,具体实施方案有待进一步的研究。

## 2.2 光调控对金线莲组培苗主要化学成分和酶活力的影响

### 2.2.1 光调控对金线莲组培苗叶绿素含量的影响

从表3可以看出,各单色光处理下叶绿素含量均高于对照组(日光灯  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ )。单色光中,黄光处理下叶绿素含量最高,红光处理下最低。光周期处理实验中,叶绿素含量随着光照时间的增长而增加,叶绿素含量最高的是日光灯照  $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ ,最低的是光照  $6\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  的处理组。但在本实验设计的处理范围内,各实验组间的叶绿素含量未达到差异水平。

### 2.2.2 光调控对金线莲组培苗总黄酮含量的影响

各单色光处理下总黄酮含量均低于对照组(日光灯照  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ ),且除了蓝光略低于对照组外,黄光和红光处理均极显著低于对照(表3)。说明红光和黄光不利于金线莲总黄酮含量的积累。金线莲总黄酮含量随着光照时间的增加总体上呈现出先上升后下降的趋势,在光照时间  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  时含量最高,日光灯照  $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  次之,光照  $6\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  含量最低。

### 2.2.3 光调控对金线莲组培苗可溶性蛋白含量的影响

由表3可以看出,各单色光处理下可溶性蛋白含量均明显低于对照组。单色光中,各处理间蛋白含量差异也明显,其中,红光处理蛋白含量最高,黄光处理蛋白含量最低。金线莲可溶性蛋白含量随着光照时间的增加总体上呈现出先上升后下降的趋势,在光照时间  $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  时含量最高,日光灯照  $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  次之,光照  $6\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$  含量最低。

表3 不同光处理下金线莲组培苗的主要化学成分和酶活力

Table 3 The main chemical composition and enzyme activity of *Anoectochilus roxburghii* seedlings by different optical processing

处理 Treatment	叶绿素 Chlorophyll ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	总黄酮 Total flavone ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	可溶性蛋白 Soluble protein ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	可溶性糖 含量 The content of soluble sugar ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	SOD ( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	POD ( $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	CAT ( $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )
蓝光 Blue light	2.17	1.10 d	4.97 b	15.43 b	209.45 e	3.65 d	45.25 e
黄光 Yellow light	2.22	0.87 c	3.89 a	13.34 a	150.20 d	0.60 ab	41.20 d
红光 Red light	2.15	0.53 a	5.83 c	15.14 b	115.23 a	7.5 e	61.31 f
日光灯 $6\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ Fluorescent lamp $6\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$	1.65	0.70 b	4.93 b	19.23 d	148.50 c	0.50 a	39.17 c
日光灯 $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ Fluorescent lamp $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$	1.88	<b>1.11 d</b>	<b>7.12 d</b>	<b>22.53 e</b>	120.50 b	0.70 b	38.02 b
日光灯 $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ Fluorescent lamp $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$	<b>2.31</b>	0.88 c	5.87 c	17.05 c	<b>250.40 f</b>	1.05 c	25.33 a

注:表中不同字母表示差异达5%显著差异水平,加粗数据为最优结果

Note: Different letters in table mean significant at 5% level, bold data mean best treatment

#### 2.2.4 光调控对金线莲组培苗可溶性糖含量的影响

从表3可以看出,各单色光处理下可溶性糖含量均明显低于对照。单色光中,蓝光处理含量最高,红光处理次之,但是两者差异不显著,黄光处理显著低于蓝光和红光处理。可溶性糖含量随着光照时间的增加总体上呈现出先上升后下降的趋势,且各处理间差异极其显著,在光照时间10 h·d<sup>-1</sup>时含量最高,日光灯照6 h·d<sup>-1</sup>次之,光照14 h·d<sup>-1</sup>含量最低。

#### 2.2.5 光调控对金线莲 SOD 酶活性的影响

表3显示,各处理组之间SOD酶活性差异极显著。各单色光处理下SOD酶活性均高于对照。单色光中,蓝光处理下酶活性最高,红光处理下酶活性最低。日光灯14 h·d<sup>-1</sup>处理酶活性最高,6 h·d<sup>-1</sup>处理次之,10 h·d<sup>-1</sup>处理酶活性最低。

#### 2.2.6 光调控对金线莲 POD 酶活性的影响

单色光中,除了黄光处理外,蓝光和红光处理下,POD酶活性均极显著高于对照,红光处理酶活性最高,黄光处理酶活性最低(表3)。POD酶活性大小随着光照时间的增加而显著升高,光照14 h·d<sup>-1</sup>处理酶活性最高。

#### 2.2.7 光调控对金线莲 CAT 酶活性的影响

表3显示,各处理间金线莲CAT酶活性大小差异极显著。各单色光处理下CAT酶活性均显著高于对照,红光处理下酶活性最高,黄光处理酶活性最低。CAT酶活性随着光照时间的增加而降低,光照6 h·d<sup>-1</sup>酶活性最高,光照14 h·d<sup>-1</sup>酶活性最低。

#### 2.2.8 光调控对金线莲氨基酸含量的影响

金线莲组培苗中检测不到胱氨酸含量(表4,表5),这与王振登等<sup>[20]</sup>检测结果类似。各个处理中,日光灯6 h·d<sup>-1</sup>处理金线莲所含人体必需氨基酸含量最高,为611.6 μg·g<sup>-1</sup>,日光灯14 h·d<sup>-1</sup>金线莲所含人体必需氨基酸含量最低;在不同光质处理组中,黄光处理金线莲所含人体必需氨基酸含量最高,其次是红光,蓝光处理金线莲所含人体必需氨基酸含量最低。而从总氨基酸含量来看,黄光处理金线莲所含氨基酸量最高,氨基酸含量最低为蓝光处理。在不同光周期处理组中,日光灯6 h·d<sup>-1</sup>处理金线莲所含氨基酸量最高,氨基酸含量最低为日光灯14 h·d<sup>-1</sup>处理。但各处理间各氨基酸含量差异未达显著水平。综上所述,黄光最有利于金线莲组培苗氨基酸的积累,金线莲组培苗氨基酸含量会随着光照时间的增多而递减。

表4 不同光处理下金线莲组培苗人体必需氨基酸的含量(μg·g<sup>-1</sup>)

Table 4 The content of essential amino acid of *Anoectochilus roxburghii* seedlings by different optical processing (μg·g<sup>-1</sup>)

处理 Treatment	异亮 氨酸 Isoleu- cine	亮氨 酸 Leu- cine	赖氨 酸 Ly- sine	甲硫氨酸 Methio- nine	苯丙氨酸 Phenylala- nine	苏氨酸 Threo- nine	色氨酸 Tryptophan	正缬氨酸 Norvaline	人体必需氨基 酸含量合计 Total content of essential amino acid
黄光 Yellow light	48.3	100.2	93.0	48.8	78.4	83.4	33.6	92.9	578.5
蓝光 Blue light	35.3	81.1	71.2	39.9	62.3	69.4	33.2	75.2	467.5
红光 Red light	40.9	96.0	71.2	52.0	73.9	72.0	29.4	73.4	508.9
日光灯 6 h·d <sup>-1</sup> Fluorescent lamp 6 h·d <sup>-1</sup>	50.4	125.2	96.5	47.3	77.8	89.1	34.6	90.7	611.6
日光灯 10 h·d <sup>-1</sup> Fluorescent lamp 10 h·d <sup>-1</sup>	51.9	106.5	97.6	26.9	79.8	85.0	28.2	94.8	570.7
日光灯 14 h·d <sup>-1</sup> Fluorescent lamp 14 h·d <sup>-1</sup>	27.1	67.2	72.6	17.7	55.4	55.6	19.5	59.0	374.2

表5 不同光处理下金线莲组培苗人体非必需氨基酸的含量( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )Table 5 The content of non-essential amino acid of *Anoectochilus roxburghii* seedlings by different optical processing( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )

处理 Treatment	丙氨酸 Ala- nine	精氨酸 Arginine	天门冬 酰胺 Aspar- agine	天门冬 氨酸 Aspartic Acid	胱氨 酸 Cys- tine	谷氨酰 胺 Gluta- mine	谷氨酸 Gluta- mate	甘氨酸 Glycine	组氨 酸 Histi- dine	脯氨酸 Proline	丝氨 酸 Serine	酪氨酸 Tyro- sine	总氨基酸含 量合计 Total con- tent of the total amino acids
黄光 Yellow light	475.9	375.6	63.4	9 204.8	N/A	103.0	67.7	48.0	67.8	121.4	183.2	58.5	10 769.4
蓝光 Blue light	343.9	839.5	109.4	4 925.2	N/A	156.5	97.5	27.2	194.5	82.0	188.9	43.2	7 007.6
红光 Red light	327.4	933.1	72.2	5 433.8	N/A	106.9	135.0	32.7	131.1	75.6	175.0	52.2	7 475.1
日光灯 6 h·d <sup>-1</sup> Fluores- cent lamp 6 h·d <sup>-1</sup>	561.5	1 021.2	77.4	5 237.8	N/A	148.4	185.9	44.3	51.5	100.1	183.8	64.3	7 676.2
日光灯 10 h·d <sup>-1</sup> Fluores- cent lamp 10 h·d <sup>-1</sup>	491.1	1 516.8	114.1	4 297.2	N/A	1 20.7	194.6	46.0	95.0	99.6	197.2	60.6	7 232.8
日光灯 14 h·d <sup>-1</sup> Fluores- cent lamp 14 h·d <sup>-1</sup>	321.9	1 619.7	147.0	4 306.9	N/A	112.7	172.7	32.6	128.9	62.7	161.1	40.7	7 106.7

注: N/A 表示未检出

Note: N/A means not been detected

### 3 讨论

本文采用不同的光质和光周期处理,营造金线莲离体培养的光环境条件,结果表明,光周期处理中,日光灯照 10 h·d<sup>-1</sup> 最有利于组培苗长高,促进叶面积、腋芽数的生长,对金线莲干物率、总黄酮、可溶性蛋白、可溶性糖含量的增加促进作用最大,最抑制金线莲 SOD 酶活性;而光照 6 h·d<sup>-1</sup> 时金线莲单株叶片数最多, CAT 酶活性最高,而叶面积、腋芽数最少,茎在 3 个时间段内也最细,也不利于干物率、总黄酮、可溶性蛋白含量的积累,叶绿素含量、POD 酶活性在所有处理中最低;光照 14 h·d<sup>-1</sup> 在所有处理中,茎生长最粗,在 3 种光周期处理中,叶绿素含量、SOD 和 POD 酶活性最高,植株生长最矮,节间数、叶片数、可溶性糖含量、CAT 酶活性最低,叶绿素含量和叶片数呈负相关,可能是为了应对叶片数少而相应增加了叶绿素的含量。另外,金线莲组培苗氨基

酸含量会随着光照时间的增多而递减。

3 种单色光处理下,红光对株高、节间数、腋芽数、单株叶片数等生长量有促进作用,其中节间数、腋芽数在所有处理中最多;最有利于可溶性蛋白含量的积累,这与刘敏玲<sup>[21]</sup>的研究有些差异;POD 酶活性、CAT 酶活性最高,但在所有处理中金线莲茎最细,叶面积、鲜重、叶绿素含量、总黄酮含量、SOD 酶活性也没有其他两种单色光处理高。

蓝光处理相对于其他两种单色光,有利于金线莲组培苗茎长粗,有利于总黄酮、可溶性糖含量的积累和 SOD 酶活性的提高,这与肖开前等<sup>[22]</sup>研究结果一致,但植株生长最矮。

黄光处理更有利于叶面积的增加,且优于对照,对叶绿素含量的积累也略优于对照,这与刘敏玲<sup>[21]</sup>的研究结果相似;但是不利于节间数、腋芽数、叶片数的生长,这可能是由于黄光处理增加了叶面积,因此可相应的减少叶片数的生长;黄光对可溶

性蛋白、可溶性糖含量的积累也不如红光和蓝光,对POD酶活性、CAT酶活性的作用也是3种单色光中最低的。在氨基酸含量检测中,黄光在所有处理中最有利于金线莲组培苗氨基酸的积累。

#### 4 结论

目前国内外对于金线莲组培配方及栽培已经进行了大量的研究,但对于光环境对金线莲生长发育的影响研究不多。本文初步研究了不同光质和光周期处理对金线莲组培苗生长增殖及生理生化指标的影响,得到了初步的研究成果。今后的研究可集中在以下3个方面进行:(1)扩大实验的光质范围,探究更多不同的波长、复配光,以及更多、更为细分的光周期对金线莲的影响,同时借助分子生物学手段,更清楚地揭示光环境影响植物生长发育的机理;(2)光可以通过光质、光周期、光照强度和光照方向对植物进行影响,本实验只对部分光质和光周期进行了研究,为了更清楚地揭示光因素对植物生长发育的影响,还需结合光照强度以及光照方向等因素进行综合研究。(3)金线莲的生长发育受到多种环境因子的影响,而光因素是否是金线莲规模化生产的主要影响因子,还需要采用细胞学、分子生物学等多种研究手段对金线莲的光质效应进行深入的研究。本文主要研究了红、蓝、黄3种光质及3个不同光周期对金线莲生长的影响,在实际生产应用中,可以根据不同生产目的,对不同光质和光周期进行组合,如使用日光灯照 $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 与红光搭配的方法,提高金线莲的繁殖系数和产量,更为细致具体的搭配和实施方案,仍有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第17卷 兰科[M]. 北京:科学出版社,1999.
- [2] 洪琳,邵清松,周爱存,等. 金线莲产业现状及可持续发展对策[J]. 中国中药杂志,2015,40(23): 553-558.
- [3] 高荣孚,张鸿明. 植物光调控的研究进展[J]. 北京林业大学学报,2002,24(5): 235-243.
- [4] 马光恕,廉华. 设施内环境要素的变化规律及对蔬菜生长发育的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2002,14(3): 16-20.
- [5] CAPITE L D. Action of light and temperature on growth of plant tissue culture in vitro[J]. American Journal of Botany,1955,42(10): 869- 873.
- [6] 郭双生,艾为党,赵成坚,等. 受控生态生保系统中植物生长光源的选择[J]. 航大医学与医学工程,2003,16(增刊):490-493.
- [7] 蒋要卫. 大花蕙兰、蝴蝶兰试管苗光合自养培养体系初步建立[D]. 郑州:河南农业大学,2006:33-42.
- [8] POUDEL P R, KATAOKA I, MOCHIOKA R. Effect of red and blue light emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2008,92(2):147-153.
- [9] KURILČIK A, MIKLUŠYTĚ C R, ŽILEVSKAITĚ S, et al. In vitro cultivation of grape culture under solid-state lighting[J]. Sodininkystė Ir Daržininkystė, 2007, 26(3): 235-245.
- [10] HAHN E J, KOZAI T, PAEK K Y. Blue and red light emitting diodes with or without sucrose and ventilation affect in vitro growth of rehmannia glutinosa plantlets[J]. Journal of Plant Biology,2000,43(4): 247-250.
- [11] 岳岚. 光独立培养和新型组培光源(LED)对牡丹试管苗生长的影响[D]. 郑州:河南农业大学,2008.
- [12] TANAKA T, WATANABE A, AMANO H, et al. P-type conduction in Mg-doped GaN and Al 0.08 Ga 0.92 N grown by metalorganic vapor phase epitaxy[J]. Applied Physics Letters,1994,65(5): 593-594.
- [13] 史艳财,唐健民,王满莲,等. 广西地道药材战骨的光合特性研究[J]. 广西科学院学报,2016,32(1): 21-25.
- [14] AMON D I, MCSWAIN B D, TSUJIMOTO H Y, et al. Photochemical activity and components of membrane preparations from blue-green algae. I. Coexistence of twophotosystems in relation to chlorophyll a and removal of phycocyanin[J]. Biochim. Biophys Acta, 1974, 357(2): 231-245.
- [15] 吴立军. 天然药物化学[M]. 第4版. 北京:科学技术文献出版社,2006: 109-112.
- [16] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 第二版. 北京:高等教育出版社,2006: 184-201.
- [17] 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,2001: 164-261.
- [18] AMAKO K, CHEN G X, ASADE K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants[J]. Plant and Cell Physiology,1994,35(3): 497-504.
- [19] 陈美香,武礼宾,曹立,等. 光质对金线莲组培苗生长和主要化学成分的影响[J]. 照明工程学报,2016,27(2): 112-117.
- [20] 王振登,杨春波. 金线莲中微量元素及氨基酸的分析测



- 定[J]. 福州: 福建中医学院学报, 1993, 3(2): 100-101.
- [21] 刘敏玲. LED不同光质对金线莲生理特征及品质的影响[D]. 福州: 福建农林大学, 2013: 31-32.
- [22] 肖开前, 赖荣才, 林仁德, 等. 不同培养方式对金线莲主要化学成分的影响[J]. 中药材, 2014, 37(4): 553-556.

## Effect of Light Environmental Control on the Growth and Development of *Anoectochilus roxburghii*

XIAN Kanghua, SU Jiang, HUANG Ningzhen, HE Jinxiang, FU Chuanming

(Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China)

**Abstract:** The effects of light quality and photoperiod treatment on the growth and development of *Anoectochilus roxburghii* were studied in this paper. The tissue culture container seeding of Guangxi *Anoectochilus roxburghii* were treated with three different light qualities and different light times of blue light, yellow light and red light. Each container was inoculated with 10 stem segments, 20 containers were inoculated for each treatment, and the records were observed after 90 d of culture. The 10 h · d<sup>-1</sup> treatments of fluorescent lamp was more beneficial to the accumulation of plant height, stem diameter, fresh weight, dry weight and dry matter rate of tissue culture container seeding of *Anoectochilus roxburghii* than monochromatic light treatment, and was more beneficial to the accumulation of total flavonoids, soluble protein and total soluble sugar contents. When fluorescent lamp was employed for 6 h · d<sup>-1</sup>, the number of leaves per plant was the highest. After 14 h · d<sup>-1</sup> fluorescent lamp treatment, the stem growth was the thickest, and the chlorophyll content and SOD activity were the highest. During the treatment of the monochromatic light, blue light was good for the accumulation of dry matter and made the plant short and strong. The leaf area was the largest in yellow light treatment. Under red light treatment, the number of internodes and the number of axillary buds were the highest, and the activity of POD enzyme and CAT enzyme were the highest. However, in all treatments, the stem of *Anoectochilus roxburghii* was the finest. Yellow light was most beneficial to the accumulation of amino acids in the tissue culture container seedling of *Anoectochilus roxburghii*. The amino acid content of *Anoectochilus roxburghii* seedling would decrease progressively with the increase of illumination time. Different light qualities and photoperiod treatments had an important influence on the growth and development of *Anoectochilus roxburghii*.

**Key words:** *Anoectochilus roxburghii*, light quality, photoperiod, increment, chemical component, enzyme activity

责任编辑: 符支宏



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: [gxkxyxbjb@126.com](mailto:gxkxyxbjb@126.com)

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkxyxb/ch>