

CCFL 光源不同光质比对铁皮石斛原球茎 增殖及试管苗生长的影响

侯甲男¹, 王 政¹, 尚文倩¹, 何松林^{1*}, 杨 博²

(1. 河南农业大学 林学院, 河南 郑州 450002; 2. 信阳市林业科学研究所, 河南 信阳 464031)

摘要: 以铁皮石斛原球茎及试管苗为试材, 采用冷阴极荧光灯(CCFL)光源的白光(W)、红光(100%R)、蓝光(100%B)、60%R+40%B、70%R+30%B、80%R+20%B 6 种不同光质配比, 以普通荧光灯(PGFL)作为对照, 探讨不同光源及不同光质比处理对铁皮石斛原球茎增殖及试管苗生长状况的影响。结果表明: 铁皮石斛原球茎在光质比为 70%R+30%B 处理下增殖效果最好, 增殖率为 89.01%, 比对照提高 40.0 个百分点。株高随红光比例的增加呈升高趋势, 100%R 处理达到最大值(53.25 mm), 比对照提高 21.05%。叶数、最大叶宽和根数均在 60%R+40%B 处理下达到最大值, 分别为 7.6 片、9.95 mm、6.9 条, 比对照提高 38.18%、60.48%、27.78%。最大叶长和根长均在 80%R+20%B 处理下达到最大值, 分别为 25.52 mm 和 43.91 mm, 比对照提高 2.33%、104.14%。总鲜质量、总干质量均以 70%R+30%B 处理时最大, 分别为 1.2039 g 和 0.1048 g, 比对照提高 189.05%、113.44%。60%R+40%B 处理下叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、叶绿素 a/b、根系活力和可溶性糖含量均达到最大值, 分别为 0.80 mg/g、0.34 mg/g、2.35、297.66 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 、43.35%, 比对照提高 33.33%、30.77%、1.73%、150%和 12.36 个百分点。CCFL 红蓝光比例为 6:4 时, 更有利于铁皮石斛试管苗光合作用以及干物质和糖的积累。

关键词: 冷阴极荧光灯; 铁皮石斛; 原球茎; 试管苗; 光质比

中图分类号: S567.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)01-0086-05

Effects of Different Light Quality Ratios of CCFL on Multiplication of *Dendrobium officinale* PLB and Growth of Plantlets *in vitro*

HOU Jia-nan¹, WANG Zheng¹, SHANG Wen-qian¹, HE Song-lin^{1*}, YANG Bo²

(1. College of Forestry, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Xinyang Forestry Science Research Institute, Xinyang 464031, China)

Abstract: The aim of this research was to evaluate the effect of different light quality ratios of cold cathode fluorescent lamps (CCFL) on the multiplication of *Dendrobium officinale* PLB and the growth of *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* with different light quality ratios (W, 100%R, 100%B, 60%R+40%B, 70%R+30%B, 80%R+20%B), as well as PGFL(CK). The results showed that the *Dendrobium officinale* PLB multiplied better under 70%R+30%B with multiplication rate of 89.01%, 40.0 percentage points higher than CK. In the tube seedlings growth aspects, the *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* grew taller under red light, being the maximum of 53.25 mm under 100%R, and increasing 21.05% compared with the CK. The leaf number, leaf width and root number reached maximum (7.6 leaves, 9.95 mm, and 6.9 roots)

收稿日期: 2012-10-15

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: 侯甲男(1984-), 男, 河南郑州人, 在读硕士研究生, 研究方向: 园林植物生物技术。E-mail: hjnwikiscott@gmail.com

* 通讯作者: 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

under 60%R+40%B, increasing 38.18%, 60.48%, and 27.78% compared with the CK. The leaf length and root length reached maximum (25.52 and 43.91 mm) under 80%R+20%B, increasing 2.33% and 104.14% compared with the CK. The fresh weight and dry weight reached maximum (1.203 9 and 0.104 8 g) under 70%R+30%B, increasing 189.05% and 113.44% compared with the CK. The Chla content (0.80 mg/g), Chlb content (0.34 mg/g), Chla/b content (2.35), soluble sugar content (43.35%), and root activity [$297.66 \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$] reached their maximum under 60%R+40%B, increasing 33.33%, 30.77%, 1.73%, 12.36 percentage points, and 150% compared with the CK. This study showed that the *Dendrobium officinale* plantlets *in vitro* would be easier to synthesize chlorophyll, accumulate dry matter and sugar under 60%R+40%B.

Key words: CCFL; *Dendrobium officinale*; PLB; plantlets *in vitro*; light quality ratios

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)是兰科石斛属多年生附生草本植物,主要分布于西南和江南各省^[1],为我国药典记载的5种药用石斛之一,并以其味甘、质重、柔韧且黏性大而被视为药材珍品。由于铁皮石斛蕴涵极高的经济价值,其自然资源在20世纪末已近枯竭^[2]。铁皮石斛对环境敏感,生长缓慢,自然繁殖率极低^[3],因此,利用组织培养育苗是铁皮石斛大规模生产的最优途径。

光照是影响植物生长发育及形态构成的重要因素之一,在组织培养中起着举足轻重的作用。其中,波长为610~720 nm的红橙光及波长为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,在红橙光光谱区域却很低^[4]。因此,采用新型光源对试管苗进行培养成为当前研究的热点。冷阴极荧光灯(CCFL)光源因具有管径细(只有1.6~3.0 mm)、体积小、寿命长(可达50 000 h)、光效高、耗能低、光质可调、光强分布均匀、可节约成本等优点,有可能成为目前植物组织培养所用的较理想的新型替代光源之一^[5-7]。目前,将CCFL作为人工光源用于植物组织培养方面的研究较少^[8]。鉴于此,研究不同光质比对铁皮石斛原球茎增殖及试管苗生长的影响,筛选出适宜铁皮石斛试管苗生长的最佳光质比,为铁皮石斛试管苗商业化生产提供理论依据和技术支持,也为今后CCFL在植物组织培养中的应用和经济可行性分析提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

以100 mL三角瓶为培养容器,将由茎尖诱导产生的铁皮石斛原球茎接种于1/2MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L的固体培养基上,在常规培养条件[温度(24±1)℃,光照强度36 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光照时间12 h/d]下诱导丛生苗。将诱导的丛生苗接种于

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值5.7)的固体培养基上,在常规培养条件下进行壮苗培养。1个月后,选取生长状况及规格一致的试管苗(苗高约2 cm)备用。

1.2 方法

1.2.1 原球茎的增殖 以100 mL三角瓶为培养容器,在超净工作台上将由茎尖培养产生的原球茎称质量后接种于1/2MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+活性炭3 g/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L+20%土豆汁(pH值5.7)的固体培养基上,每瓶接种3块大小约1 cm²的原球茎,放置于具有白光(W)、红光(100%R)、蓝光(100%B)、60%R+40%B、70%R+30%B、80%R+20%B 6种不同光质的CCFL光照系统(由河南农业大学林学院自主设计^[9])中,并以普通荧光灯(PGFL)作为对照(CK),每个处理接种10瓶。45 d后,称原球茎质量,并统计增殖率。

1.2.2 试管苗培养 以150 mL三角瓶为培养容器,将供试试管苗接种于1/2MS+IBA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蛋白胨1 g/L+香蕉泥30 g/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L(pH值5.7)的固体培养基上,每瓶接种4株试管苗,预培养1周后分别放置于白光(W)、红光(100%R)、蓝光(100%B)、60%R+40%B、70%R+30%B、80%R+20%B 6种不同光质的CCFL光照系统中,并以普通荧光灯(PGFL)作为对照(CK),每个处理接种20瓶。培养90 d后统计形态指标和生理指标。

形态指标:先测量植株的株高、叶数、最大叶宽、最大叶长(自上而下第3片叶)、最大根长、总鲜质量、地上部鲜质量、根鲜质量,然后将植株放入105℃的烘箱内杀青30 min,在60℃条件下恒温干燥48 h后测定总干质量、地上部干质量、根部干质量,然后计算干物率。生理指标:叶绿素含量测定采用张志良等^[10]的无水乙醇和丙酮混合液提取法;可溶性糖含量测定采用李合生^[11]的苯酚法;根系活力测定采用李合生^[11]的TTC法。以上各个指标的测定均随机

选取 15 株试管苗,重复 3 次。

1.3 数据处理

采用邓肯氏新复极差测验法(SSR 法)测验数据差异显著性。采用 DPS 软件 3.01 版和 Excel 2003 进行数据统计。

2 结果与分析

2.1 不同光质比对铁皮石斛原球茎增殖的影响

从图 1 可以看出,光质比为 70%R+30%B 处理增殖效果最好,增殖率为 89.01%,比对照提高 40.0 个百分点。其次为 100%R 处理,增殖率为 86.38%。白光处理的增殖效果最差,增殖率仅为 42.48%。

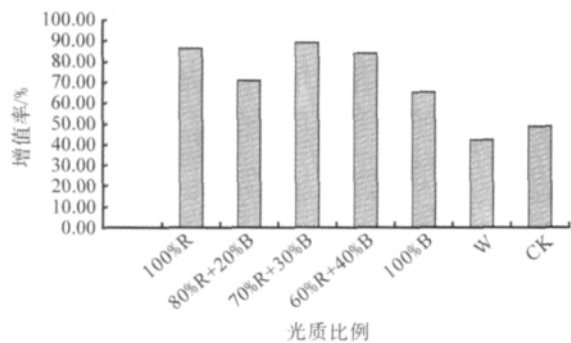


图 1 不同光质比下铁皮石斛原球茎的增殖率

2.2 不同光质比对铁皮石斛试管苗形态指标的影响

经过 90 d 培养,CCFL 不同光质比对铁皮石斛试管苗形态指标的影响如表 1 所示。从表 1 可以看

出,铁皮石斛试管苗株高在 100%R 处理下达到最大值(53.25 mm),比对照提高 21.05%,随着蓝光比例的增加株高逐渐降低,100%B 处理达到最小值(41.50 mm);60%R+40%B 处理叶数最大(7.6 片),比对照提高 38.18%;80%R+20%B 处理的最大叶长达到最大值,为 25.52 mm,比对照提高 2.33%,60%R+40%B 处理最小,为 20.18 mm;在最大叶宽方面,不同红蓝光比例的处理均要好于纯红光或者蓝光,60%R+40%B 处理达到最大值(9.95 mm),比对照提高 60.48%;同样,60%R+40%B 处理的根数最多(6.9 条),比对照提高 27.78%,其次分别是 70%R+30%B 处理和 80%R+20%B 处理,但 3 个处理之间差异不明显;80%R+20%B 处理的最大根长最大(43.91 mm),比对照提高 104.14%,其他处理间无显著差异。

2.3 不同光质比对铁皮石斛试管苗生理指标的影响

2.3.1 鲜质量、干质量及干物率 从表 2 可以看出,试管苗的总鲜质量、地上部鲜质量、根鲜质量、总干质量、地上部干质量、根干质量均在 70%R+30%B 处理下达到最大值,处理 80%R+20%B 次之;70%R+30%B 处理总鲜质量、干质量分别为 1.203 9 g 和 0.104 8 g,比对照提高 189.05%、113.44%。从图 2 可以看出,100%B 处理的总干物率和根干物率最大,而对照的地上部干物率最大。

表 1 不同光质比对铁皮石斛试管苗形态指标的影响

光质比例	株高/mm	叶数/片	最大叶长/mm	最大叶宽/mm	根数/条	最大根长/mm
100%R	53.25a	5.8b	21.38bc	6.77bc	5.0b	24.87b
80%R+20%B	48.40ab	6.9ab	25.52a	7.89b	6.2ab	43.91a
70%R+30%B	46.95ab	6.7ab	24.47ab	6.87bc	6.7a	25.40b
60%R+40%B	45.11b	7.6a	20.18c	9.95a	6.9ab	25.25b
100%B	41.50b	5.7b	20.19c	6.21c	5.1ab	25.24b
W	41.94b	6.0ab	22.19abc	7.79b	5.6ab	29.17b
CK	43.99b	5.5c	24.94a	6.20c	5.4ab	21.51b

注:同列不同字母表示差异显著(P<0.05),下同。

表 2 不同光质比对铁皮石斛试管苗鲜质量、干质量的影响

光质比例	鲜质量/g			干质量/g		
	地上部	根部	总计	地上部	根部	总计
100%R	0.316 7c	0.243 9bc	0.560 6c	0.025 7b	0.028 4c	0.054 1c
80%R+20%B	0.475 3b	0.310 3b	0.785 6b	0.042 0a	0.040 2b	0.082 2b
70%R+30%B	0.674 7a	0.529 2a	1.203 9a	0.048 8a	0.056 0a	0.104 8a
60%R+40%B	0.326 8c	0.240 7bc	0.567 5c	0.028 6b	0.031 3bc	0.059 9c
100%B	0.251 3c	0.140 3c	0.391 6c	0.025 0b	0.023 9c	0.048 9c
W	0.318 7c	0.222 9bc	0.541 6c	0.024 1b	0.025 8c	0.049 9c
CK	0.201 2c	0.206 3c	0.416 5c	0.027 8b	0.021 3c	0.049 1c

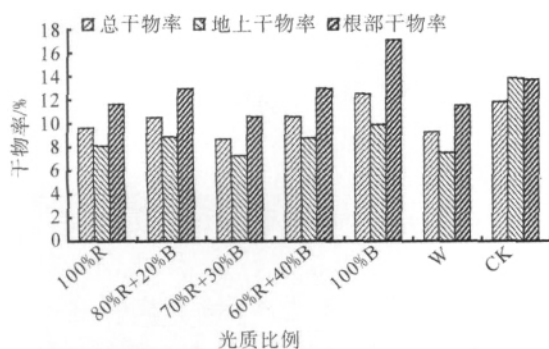


图 2 不同光质比对铁皮石斛试管苗干物率的影响

2.3.2 叶绿素含量 如图 3 所示,60%R+40%B 处理的叶绿素 a 和 b 含量均最大,分别为 0.80、0.34 mg/g,比对照提高 33.33%和 30.77%;80%R+20%B 处理的最小,分别为 0.50、0.23 mg/g。60%R+40%B 处理的叶绿素 a/b 最大,为 2.35,比对照提高 1.73%;白光处理的最小,为 1.83,且与对照差异较明显。

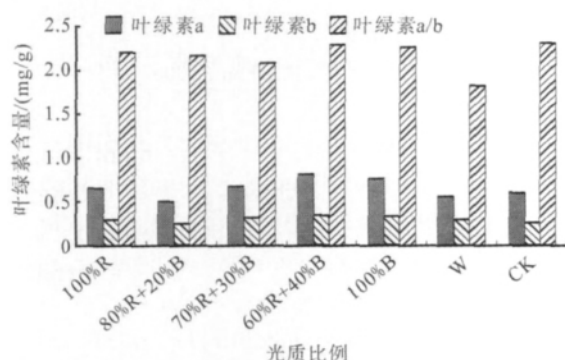


图 3 不同光质比对铁皮石斛试管苗叶绿素含量的影响

2.3.3 可溶性糖含量和根系活力 如图 4 所示,随着蓝光比例的增加,可溶性糖含量总体上呈现先上升后下降的趋势,在光质比 60%R+40%B 处理下达到最大值(43.35%),比对照提高 12.36 个百分点,其次为 70%+30%B 处理(38.95%),在纯蓝光处理下达到最小值(23.03%)。从图 5 可以看出,60%R+40%B 处理的根系活力最大,为 297.66 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$,比对照提高 150%,两者之间差异明显。

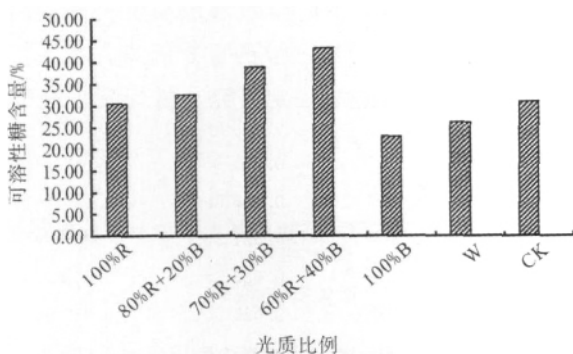


图 4 不同光质比对铁皮石斛试管苗可溶性糖含量的影响

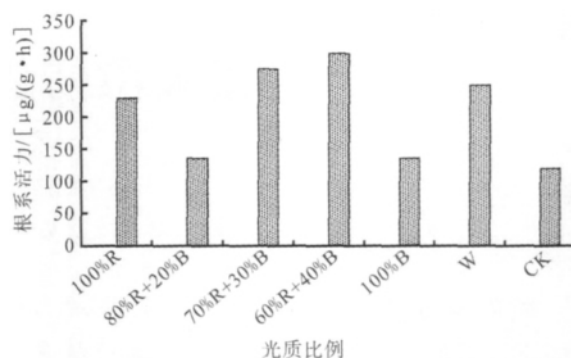


图 5 不同光质比对铁皮石斛试管苗根系活力的影响

3 结论与讨论

本研究比较了 CCFL 不同光质比对铁皮石斛原球茎增殖及试管苗生长的影响。结果表明:光质比为 70%R+30%B 时铁皮石斛原球茎增殖效果最好,其次是 100%R 处理,这与 Huan 等^[12]研究的红蓝光比例为 3:1 时大花蕙兰愈伤组织生长效果最佳的结果类似。随着红光比例的增加,株高呈增加趋势,说明红光对茎的伸长有促进作用,而蓝光有抑制作用,这与闫新房^[9]以牡丹试管苗乌龙捧盛为材料的研究结果一致。叶数、根数、最大叶宽均在 60%R+40%B 处理下达到最大值,在 80%R+20%B 处理下最大叶长和根长达到最大值。大多数指标中,红蓝光配比照射效果要好于单色光,这表明铁皮石斛试管苗在红、蓝单一光质下均生长不良,适宜的红蓝光配比较单一光质更有利于铁皮石斛试管苗的形态建成,这与刘晓英等^[13]对樱桃番茄以及唐大为等^[14]对黄瓜的研究结果一致。

植物鲜质量、干质量是其利用光能固定无机物、合成有机物的直接表现^[15]。本研究中,铁皮石斛的鲜质量、干质量最大值均出现在 70%R+30%B 处理中,说明红蓝光比例为 7:3 有利于光合产物的形成。叶绿素是植物进行光合作用的重要物质基础,有研究表明,叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量与红蓝光比率呈正相关^[16]或负相关^[17]。本研究中叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、叶绿素 a/b 均在 60%R+40%B 处理下达到最大值,说明当红蓝光比例为 6:4 时有利于叶绿素的合成。可溶性糖在植物代谢过程中发挥着重要的生理作用,其含量在 60%R+40%B 处理下达到最大值,说明 6:4 红蓝光配合使用有利于干物质的积累;同样在 60%R+40%B 处理下根系活力达到最大值。总之,CCFL 红蓝光比例为 6:4 时,更有利于铁皮石斛试管苗的光合作用和干物质积累。

参考文献:

- [1] 韶华,张玲琪,魏蓉城.铁皮石斛研究进展[J].中草药,2004,35(1):109-112. (下转第 101 页)

松,但营养成分不高,二者配合成为适合大花卷丹移栽的基质^[3]。本试验结果对大花卷丹的开发利用和工厂化育苗有一定的参考意义。

参考文献:

- [1] 龙雅宜. 百合,球根花卉之王[M]. 北京:金盾出版社, 1999.
- [2] 肖智,刘慧媛. 大花卷丹的经济价值及人工栽培[J]. 人参研究,2004(1):29-31.
- [3] 陈丽静,马爽,李丽丽,等. 东方百合“索蚌”离体培养快速繁殖体系建立[J]. 西南农业学报,2010,23(5):1652-1655.
- [4] 庞新霞. 东方百合离体培养与试管鳞茎诱导的研究[D]. 南宁:广西大学,2008:1-23.
- [5] 阮少宁,杨华,梁一池,等. 香水百合组织培养的试验研究[J]. 福建林学院学报,2001,21(2):142-145.
- [6] 潘佑找,赵金萍,曾祥秒,等. 野生乳头百合组织培养及快速繁殖研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(14):8256-8258.
- [7] 张晨,张美恒,樊金萍. 东方百合元帅“Acapulco”的组织培养及快繁体系的建立[J]. 作物杂志,2011(3):60-62.
- [8] Marinangeli P A, Hernandez L F, Pellegrini C P, *et al.* Bulblet differentiation after scale propagation of *Lilium longiflorum*[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2003, 128(3):324-329.
- [9] 孟杨,潘佑找,贾姗姗,等. 湖北百合的组织培养技术研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(17):4247-4248.
- [10] 赵强,李庆典,赵玉岭. 青岛百合的组织培养技术研究[J]. 北方园艺,2007(6):213-214.
- [11] 张鹏,巩延革,段祖安. 卷丹百合组培快繁技术研究[J]. 山东林业科技,2009(4):73-74.
- [12] 邵小斌,周翔,徐艳,等. 野生百合——卷丹的组织培养初探[J]. 天津农业科学,2010,16(4):18-19.
- (上接第 89 页)
- [2] 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.
- [3] 金银兵. 铁皮石斛的生物学特性与开花授粉技术研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(11):5280-5282.
- [4] 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, 48:1407-1413.
- [5] 赵科,罗新宇,崔向中,等. CCFL 荧光粉的现状及其发展趋势[J]. 稀有金属,2008,32(4):245-251.
- [6] Tanaka M, Norikane A, Watanabe T. Cold cathode fluorescent lamps (CCFL) revolutionary light source for plant micropropagation[J]. Biotechnol Biotechnol Equip, 2009, 23:1497-2153.
- [7] 苏云飞. 细管径冷阴极荧光灯(CCFL)的研发[J]. 照明工程学报,2001,12(3):36-37.
- [8] Ding Y, He S L, Jaime A T D S, *et al.* Effects of a new light source (cold cathode fluorescent lamps) on the growth of tree peony plantlets *in vitro* [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 125:167-169.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Huan L V T, Tanaka M. Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm-like body formation from callus in cymbidium orchid [J]. Environ Control in Biol, 2004, 42(1):57-64.
- [13] 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.
- [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.
- [15] 王忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [16] 邱秀茹,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.
- [17] 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.