

光谱分布对大豆子叶节再生的影响

问涛, 焦学磊, 刘晓英, 徐志刚

(南京农业大学 农学院, 江苏 南京 210095)

摘要:以辽鲜1号大豆品种为试材,研究了不同光谱分布对大豆子叶节再生的影响,为菜用大豆子叶节遗传转化受体体系的改进提供借鉴。以萌发7 d的子叶节为外植体,依次接种于丛生芽诱导培养基、伸长培养基和生根培养基中,并且分别置于6种LED组合光源中培育,以荧光灯作为对照。光密度设置为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光周期设置为 $12 \text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。结果表明:复合光谱中630 nm红光会抑制丛生芽之间相互伸长,而660 nm红光能显著缓解相互抑制作用,并且更有利于丛生芽形态生长、叶绿素合成和干物质积累以及生根苗形态生长、干物质积累和根系发育。添加绿光或黄光均抑制丛生芽相互之间的伸长,且添加黄光抑制更强,添加绿光可促进丛生芽的叶绿素合成、干物质积累及生根壮苗。

关键词:大豆;光谱分布;子叶节;丛生芽;LED

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2015.05.0826

Effects of Light Spectra on Soybean Cotyledonary Node Regeneration System

WEN Tao, JIAO Xue-lei, LIU Xiao-ying, XU Zhing-gang

(College of Agronomy, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The soybean cultivar Liaoxian 1 was used as the experimental material to determine the effects of different light spectra on soybean cotyledonary node regeneration. Under six different light conditions, the soybean cotyledonary nodes from germinated seeds for 7 d were used as the explant and inoculated onto shoot initiation, shoot elongation and rooting medium successively. The photosynthetic photon flux density (PPFD) was $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, and photoperiod was 12 h light/12 h dark. The results showed that the 630 nm red light resulted in inhibition of elongation between multiple shoots. Compared with 630 nm red light, 660 nm red light promoted remission of this inhibition noticeably, and resulted in greater growth, chlorophyll accumulation and dry mass of multiple shoots, and greater growth, dry mass and root development of regenerated plantlet. Green or yellow light added to the complex spectra of red and blue light resulted in inhibition of elongation between multiple shoots, yellow light aggravated this inhibition. Green light added to the complex spectra of red and blue light resulted in greater growth, chlorophyll accumulation and dry mass of multiple shoots, and rooting of soybean plantlet *in vitro*.

Keywords: Soybean; Light spectra; Cotyledonary node; Multiple shoot; LED light

大豆的组织培养研究始于20世纪60年代,但由于其愈伤组织难以分化、丛生芽再生困难等因素,直到80年代中后期,这方面工作才有一定的进展。在常规育种基础上,采用基因工程技术或物理诱变与组织培养相结合的方法进行选择育种已取得较大进展。转基因育种将优良农艺性状的相关基因转入普通栽培大豆,进而获得综合性状优良的转基因大豆品种。建立高效稳定的大豆组培再生体系,是大豆遗传转化成功的先决条件^[1-3]。目前,大豆组培再生体系普遍存在基因型依赖强、再生率低、重复性差、培养条件苛刻等问题,仍是菜用大豆基因转化的瓶颈^[4],很大程度上限制了利用基因工

程手段对大豆的遗传改良。

1980年,Cheng等^[5]首先报道用无菌苗的子叶节为外植体,在含高浓度BA的改良B₅培养基上诱导丛生芽获得高频率的再生植株。此后,人们发现了各种不同的再生体系,然而,无论是通过间接(愈伤组织)还是直接(体细胞胚胎发生和器官发生)的方法,菜用大豆组织培养再生率均处于较低水平^[6]。其中,子叶节再生系统具有外植体来源不受时间限制,再生频率高、成苗时间短、再生频率高、突变率低和不可育的再生植株少等优点^[7-8],并且其外植体内已存在的分生组织和有分化潜力的表皮、亚表皮细胞都可作为遗传转化的靶组织^[9]。因

收稿日期:2015-03-18

基金项目:农业部公益行业(农业)科研专项(201303108);国家高技术研究发展计划“863计划”(2013AA103003)。

第一作者简介:问涛(1990-),女,硕士,主要从事植物光生物学研究。E-mail: 2012101056@njau.edu.cn。

通讯作者:徐志刚(1967-),男,教授,主要从事植物光生物学与设施光环境的研究。E-mail: xuzhigang@njau.edu.cn。

此子叶节被公认为是大豆遗传转化的理想外植体^[7, 10-11]。目前大豆的遗传转化多数以子叶节再生体系作为受体系统,但子叶节再生体系也存在诸如丛生芽少、芽之间相互抑制、不易伸长、再生困难等缺点^[12]。

在影响大豆子叶节再生体系的诸多因素中,人们把重点放在筛选能够使大豆受体系统高频率再生的外植体种类、品种基因型、取材大小及时间、培养基组分、激素种类和浓度上。然而,光不但为组培植物光合作用提供能量,还作为环境信号调控植物整个生长时期的生命活动。光谱能量分布对愈伤诱导、组织增殖、器官分化、组培苗形态建成、物质代谢以及基因表达等起到重要的调控作用^[13-14]。红光促进大蒜愈伤组织出芽,文心兰原球茎诱导和增殖^[15-16];蓝光可显著提高铁线莲不定芽的诱导频率和数量^[14],但对大蒜愈伤不定芽生长有抑制作用^[16];红蓝复合光有利于铁皮石斛原球茎增殖分化,丛生芽叶绿素合成及干物质积累^[17]。蒋向辉等^[18]指出光/暗处理时长影响野生大豆丛生芽分化,而光谱分布对大豆再生体系影响的研究还很缺乏。我们试图根据大豆再生的影响因素以及现有大豆再生体系的研究成果,对其再生体系进行优化。本文探究了光谱分布对大豆子叶节再生的影响,通过 LED 精量调制光谱分布,研究其对菜用大豆子叶节再生以及组培生根苗生长的影响,以期筛选适宜光谱分布,充实菜用大豆子叶节遗传转化受体体系。

1 材料与方法

1.1 材料

辽鲜 1 号菜豆优良品种由南京农业大学园艺学院提供。

1.2 试验设计

挑选籽粒饱满、表面光滑、没有病斑和破皮,以及大小一致的大豆种子,采用氯气灭菌,将灭好的种子种脐朝下接种到萌发培养基: B5 + 2% 蔗糖 + 0.8% 琼脂, pH 5.8 中萌发,荧光灯下培养 7 d。然后选择无污染的绿色健壮的幼苗,保留 3 mm 左右下胚轴,将子叶切除 1/3,并将子叶沿下胚轴中线分开,用解剖刀在子叶与下胚轴交界处 3 mm 范围内,垂直于下胚轴划上数刀,深度适当,即得到子叶节外植体。将获得的大豆子叶节外植体转入丛生芽诱导培养基: MS 无机 + B₅ 维生素 + 1.67 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.6 g·L⁻¹ MES + 3% 蔗糖 + 0.8% 琼脂, pH 5.8 中培养。每 5 小段放置于 1 瓶培养基中,置于不同光谱分布处理下培养 21 d。

在子叶节上切除大芽和老化的组织,保留丛生芽,继代到芽伸长培养基丛生芽伸长培养基: MS 无机 + B₅ 维生素 + 0.5 mg·L⁻¹ GA₃ + 0.1 mg·L⁻¹ IAA + 1.0 mg·L⁻¹ Zeatin-R + 0.6 g·L⁻¹ MES + 3% 蔗糖 + 0.3% Phytagel, pH 5.8 中培养。待丛生芽长至 3 ~ 5 cm, 将丛生芽转移至生根培养基: MS 无机 + B₅ 维生素 + 50 mg·L⁻¹ Asp + 50 mg·L⁻¹ Glu + 0.5 mg·L⁻¹ NAA + 0.8% Agar, pH 5.8 中,并置于相应处理下进行 21 d 生根培养。

各种波长的 LED 光源由南京欧谱润生物科技有限公司研制并提供,调制后的各种光谱处理的参数如表 1,将华电公司生产的电工牌三基色荧光灯设为对照。调节电压、电流、占空比及光源与植株之间的距离,将各种光源的光密度统一设置为 50 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照时间为 12 h·d⁻¹。培养室的相对湿度为 (75 ± 5)%,温度为 (25 ± 2)℃,荧光灯为对照。

表 1 不同光谱 LED 的主要技术参数

Table 1 Major technique parameters of different light spectrum of LED

光谱处理 Light treatment	光密度 PPFD / μmol·m ⁻² ·s ⁻¹					总光密度 Total PPFD / μmol·m ⁻² ·s ⁻¹
	R ₆₃₀	R ₆₆₀	B	G	Y	
R ₆₃₀ B	36.49	-	13.51	-	-	50
R ₆₆₀ B	-	36.49	13.51	-	-	50
R ₆₃₀ BG	33.75	-	12.50	3.75	-	50
R ₆₆₀ BG	-	33.75	12.50	3.75	-	50
R ₆₃₀ BY	33.75	-	12.50	-	3.75	50
R ₆₆₀ BY	-	33.75	12.50	-	3.75	50
FL						50

1.3 测定项目与方法

每处理随机选取培养 21 d 的子叶节记录芽再生率、平均芽数和芽伸长率,重复 3 次。计算公式如下:

$$\text{芽再生率}(\%) = \frac{\text{出芽外植体数}}{\text{接种外植体数}} \times 100$$

$$\text{单个分化外植体的平均芽数} = \frac{\text{总芽数}}{\text{产生芽的外植体总数}}$$

$$\text{芽伸长率}(\%) = \frac{\text{抽茎外植体数(芽长} \geq 2 \text{ cm)}}{\text{接种外植体数}} \times 100$$

每处理随机选取抽茎丛生芽和生根苗进行形态指标测定和生物量分析,包括芽长、叶片数株高、茎粗、根数和根粗,样品在 85℃ 烘干至恒重测干重,干重用电子天平(Shimadzu AUY120)测量。测定时对于各处理样本均采用随机取样,每处理 3 次重复。

叶绿素含量测定采用无水乙醇丙酮提取法。取新鲜叶片 0.1 g,放入试管中,加入 5 mL 叶绿素提取液,封口在暗处静止 6~8 h,以 1:1 的丙酮与无水乙醇的混合液为对照,分别在 663 和 645 nm 下测定吸光度。叶绿素含量计算公式如下:

$$\text{Chl. a}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{(12.72 \times \text{OD}_{663} - 2.59 \times \text{OD}_{645}) V}{1000W}$$

$$\text{Chl. b}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{(22.88 \times \text{OD}_{645} - 4.67 \times \text{OD}_{663}) V}{1000W}$$

$$\text{Chl. (a + b)}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \text{Chl. a} + \text{Chl. b}$$

根系活力测定采用四氮唑法(TTC),取根尖 0.1 g,加入 0.4% TTC 和 PBS 等量混合 6 mL,把根充分浸在溶液中,在 37℃ 下保温 0.5~4 h,此后加 1 mol·L⁻¹的硫酸 2 mL。反应终止后,倒出试管液,去离子水冲洗 2~3 遍,加 4 mL 95% 乙醇,加盖后沸水浴 5 min,冷却后用 95% 乙醇定容至 5 mL,摇匀,485 nm 下测吸光值。

1.4 数据整理与分析

采用 Excel 2003 和 SPASS 16.0 系统进行数据整理分析,然后进行方差分析(ANOVA),采用 Duncan's 法分析显著性差异($P \leq 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 光谱分布对辽鲜 1 号子叶节丛生芽诱导的影响

如表 2 所示,LED 组合光谱处理的大豆子叶节芽再生率和平均芽数与荧光灯对照均无显著差异,对照的芽伸长率显著低于 R₆₆₀B、R₆₃₀BG、R₆₆₀BG 和 R₆₆₀BY 处理。

表 2 光谱分布对子叶节丛生芽诱导的影响

Table 2 Effects of light spectra on induction of multiple shoots from cotyledonary nodes in vitro

处理 Light treatment	芽再生率 Induction rate of shoots / %	平均芽数 Average shoots	芽伸长率 Induction rate of elongate shoots / %
CK	100 ± 0 a	4.67 ± 0.33 a	23.41 ± 3.52 c
R ₆₃₀ B	93.33 ± 6.67 a	5.67 ± 0.88 a	15.08 ± 2.28 c
R ₆₆₀ B	86.67 ± 13.33 a	4.67 ± 0.33 a	65.00 ± 5.00 a
R ₆₃₀ BG	86.67 ± 13.33 a	5.33 ± 0.88 a	35.00 ± 5.00 b
R ₆₆₀ BG	73.33 ± 17.63 a	4.00 ± 1.00 a	44.44 ± 8.01 ab
R ₆₃₀ BY	80.00 ± 20.00 a	7.67 ± 2.33 a	16.19 ± 4.86 c
R ₆₆₀ BY	73.33 ± 13.33 a	4.33 ± 0.67 a	33.33 ± 0.00 b

不同小写字母表示各处理间的差异显著性($P < 0.05$),下同。

Different letters in columns indicate statistically significant differences ($P < 0.05$). The same bellow.

LED 组合光谱处理间,大豆子叶节芽再生率和平均芽数均无显著差异。R₆₆₀B、R₆₆₀BG 和 R₆₆₀BY 处理的芽伸长率分别是 R₆₃₀B、R₆₃₀BG 和 R₆₃₀BY 处理的 4.31, 1.27, 2.06 倍。这表明复合光谱中,660 nm 红光比 630 nm 红光更有利于子叶节诱导丛生芽的一致伸长。

R₆₃₀BG 处理的芽伸长率显著大于 R₆₃₀B 和 R₆₃₀BY 处理,表明在含有 630 nm 红光的处理中,添加绿光可使丛生芽伸长趋于一致。在含有 660 nm

红光的处理中,芽伸长率的高低顺序为 R₆₆₀B > R₆₆₀BG > R₆₆₀BY,添加绿光或黄光均抑制丛生芽相互之间的伸长,且添加黄光效果更显著。

2.2 光谱分布对辽鲜 1 号丛生芽生长的影响

如表 3 所示,LED 组合光谱处理的子叶节丛生芽的长度、粗度及干重均显著高于对照,表明与荧光灯相比,LED 组合光谱有利于丛生芽生长和干物质积累。

表 3 光谱分布对辽鲜 1 号丛生芽生长的影响

Table 3 Effects of light spectra on growth of multiple shoots *in vitro*

处理 Light treatment	芽长 Shoot length/cm	茎粗 Shoot diameter/mm	叶片数 Number of leaves	干重 Dry mass of shoot/mg
CK	2.21 ± 0.06 b	0.89 ± 0.10 d	3.33 ± 0.33 a	3.17 ± 0.71 d
R ₆₃₀ B	2.26 ± 0.18 b	1.26 ± 0.08 b cd	3.00 ± 0.57 a	4.30 ± 0.09 cd
R ₆₆₀ B	2.82 ± 0.04 a	1.58 ± 0.07 ab	2.67 ± 0.33 a	7.13 ± 0.27 b
R ₆₃₀ BG	2.51 ± 0.20 ab	1.01 ± 0.09 cd	2.33 ± 0.67 a	6.13 ± 0.36 b
R ₆₆₀ BG	2.8 ± 0.11 a	1.92 ± 0.12 a	3.00 ± 0.00 a	9.78 ± 0.41 a
R ₆₃₀ BY	2.54 ± 0.09 ab	1.50 ± 0.09 abc	2.67 ± 0.33 a	5.74 ± 0.26 bc
R ₆₆₀ BY	2.78 ± 0.11 a	1.81 ± 0.20 a	2.67 ± 0.33 a	7.28 ± 0.36 b

R₆₆₀B 处理的丛生芽长度和干重显著高于 R₆₃₀B; R₆₆₀BG 处理的丛生芽茎粗和干重显著高于 R₆₃₀BG; R₆₆₀BY 处理的丛生芽长度、茎粗和干重均大于 R₆₃₀BY, 但差异不显著。这表明复合光谱中, 660 nm 红光比 630 nm 红光更有利于丛生芽形态生长和干物质积累。

R₆₃₀BG 和 R₆₆₀BG 处理的丛生芽干重分别显著高于 R₆₃₀B 和 R₆₆₀B 处理, 表明在红蓝光基础上, 添加绿光可促进丛生芽的干物质积累。

2.3 光谱分布对辽鲜 1 号丛生芽叶片叶绿素合成的影响

如图 1 所示, LED 组合光谱处理的子叶节丛生芽叶片中叶绿素含量均高于对照, 表明与荧光灯相比, LED 组合光谱有利于丛生芽叶片中叶绿素合成。

R₆₆₀B 处理的叶绿素 a 含量高于 R₆₃₀B, R₆₆₀BG

和 R₆₆₀BY 则分别显著高于 R₆₃₀BG 和 R₆₃₀BY 处理的, R₆₆₀B、R₆₆₀BG 和 R₆₆₀BY 处理的叶绿素 b 和叶绿素总量分别高于 R₆₃₀B、R₆₃₀BG 和 R₆₃₀BY 处理, 差异显著。这表明复合光谱中, 660 nm 红光比 630 nm 红光更有利于丛生芽叶片中叶绿素的合成。

在含有 660 nm 红光中, R₆₆₀BG 处理的丛生芽叶片叶绿素含量均显著高于 R₆₆₀B 处理, R₆₆₀BY 处理高于 R₆₆₀B 处理, 但不显著。这表明在 R₆₆₀B 光基础上添加绿光或黄光有助于丛生芽叶片中叶绿素的合成, 并且绿光效果更显著。

2.4 光谱分布对辽鲜 1 号生根苗生长的影响

如表 3 所示, LED 组合光谱处理的生根苗的茎粗、干重、主根数、根粗和根系活力均高于对照, 表明与荧光灯相比, LED 组合光谱有利于大豆生根苗形态建成、干物质积累和根系活力。

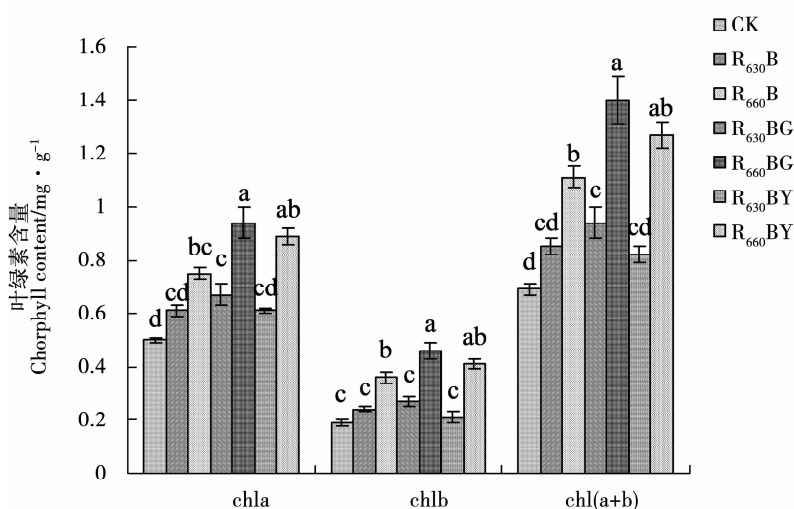


图 1 光谱分布对丛生芽叶片叶绿素合成的影响

Fig. 1 Effects of light spectra on chlorophyll content of multiple shoots *in vitro*

表 4 光谱分布对辽鲜 1 号生根苗生长的影响

Table 4 Effects of light spectra on growth of soybean regenerated plantlets *in vitro*

处理 Light treatment	株高 Plant height /cm	茎粗 Stem diameter /mm	干重 Dry mass /mg	主根数 Number of main roots	主根粗 Main root diameter /mm	根系活力 Root activity /g·g ⁻¹ ·h ⁻¹
CK	8.08 ± 0.51 ab	1.29 ± 0.07 d	104.30 ± 6.21 d	5.00 ± 1.00 b	1.33 ± 0.03 c	1.49 ± 0.09 b
R ₆₃₀ B	8.94 ± 0.84 a	1.48 ± 0.03 cd	123.23 ± 10.48 cd	5.33 ± 0.33 ab	1.43 ± 0.10 bc	1.73 ± 0.08 b
R ₆₆₀ B	6.48 ± 0.82 ab	1.73 ± 0.12 abc	165.03 ± 11.81 abc	7.33 ± 0.88 ab	1.94 ± 0.35 abc	2.26 ± 0.14 a
R ₆₃₀ BG	8.66 ± 0.67 a	1.68 ± 0.11 bc	150.30 ± 17.99 bcd	5.33 ± 0.33 ab	1.72 ± 0.20 abc	1.64 ± 0.08 b
R ₆₆₀ BG	5.66 ± 0.67 b	2.07 ± 0.07 a	216.33 ± 23.27 a	8.00 ± 1.00 a	2.07 ± 0.12 a	2.28 ± 0.08 a
R ₆₃₀ BY	9.01 ± 0.65 a	1.55 ± 0.07 bcd	131.17 ± 9.76 cd	5.33 ± 0.33 ab	1.45 ± 0.06 abc	1.72 ± 0.12 b
R ₆₆₀ BY	6.67 ± 0.36 ab	1.88 ± 0.11 ab	196.40 ± 18.70 ab	7.67 ± 1.20 ab	2.02 ± 0.22 ab	1.77 ± 0.17 ab

R₆₃₀B、R₆₃₀BG 和 R₆₃₀BY 处理的株高分别大于 R₆₆₀B、R₆₆₀BG 和 R₆₆₀BY 处理,其中 R₆₃₀BG 和 R₆₆₀BG 处理间差异显著。茎粗、干重、主根数、根粗和根系活力均呈现出相反趋势。这表明复合光谱中,660 nm 红光比 630 nm 红光更有利于生根苗形态生长、干物质积累和根系发育。

R₆₆₀BG 处理下的大豆生根苗株高最小,茎粗、干重、主根数、根粗和根系活力均最大,这表明在 R₆₆₀B 光基础上添加绿光有助于生根苗形态建成、干物质积累以及根系发育。

3 结论与讨论

通过器官发生途径,以大豆子叶节诱导丛生芽作为大豆基因工程的受体系统是一种切实可行的方法,其中丛生芽诱导数目是直接影响转化效率的关键因素之一。每个外植体的丛生芽数越多,再生率及转化率也就越高^[2-3]。光谱分布不仅影响了芽原基形成的数目,也影响了芽原基的扩展^[19]。有研究指出白光和红光促进不定芽的产生,而蓝光抑制不定芽的产生^[20],相反地,倪德祥等^[21]认为蓝光、绿光和黄光对芽的诱导有促进作用,而红光起抑制作用。这种类似的矛盾普遍存在,可能与不同材料基因型及外植体的选取有关。在本试验中各组合光谱下的芽再生率及平均芽数均无显著差异(表 2)。大豆子叶节再生体系中芽之间相互抑制、不易伸长的现象较为显著,R₆₆₀B 处理下丛生芽伸长率最高,丛生芽抑制现象较其他处理得以缓解,可作为子叶节丛生芽诱导的优选光谱。

不定芽的诱导在整个大豆再生系统中起关键作用,不定芽的数量和质量共同决定着再生体系的优劣^[22]。丛生芽生长不仅依靠子叶节中储存的营养物质,同时必须依赖于自身光合作用的物质积

累。叶绿素是光合有效辐射的主要光能吸收色素,直接影响植被的光合作用与同化机能。Lin 等^[17]指出光谱分布影响铁皮石斛原球茎丛生芽中叶绿素含量。在本试验中,在红蓝组合光基础上添加黄光有助于丛生芽叶片中叶绿素的合成(图 1),这与刘晓英等^[23]和张欢等^[24]研究结果一致。添加绿光对丛生芽叶片中叶绿素的合成也具有促进作用,Kim 等^[25]、刘晓英等^[23]和 Liu 等^[15]也有过类似的报道。然而本试验结果显示绿光对叶绿素合成的促进效果较添加黄光更显著,Kim 等^[26]指出虽然绿光被光合器官吸收较少,但绿光可以被光合器官反射,从一个叶绿体反射到另一个叶绿体,直至最后大部分被叶片吸收利用进行光合作用,也增加了叶绿素含量。不同波长红光对叶片中叶绿素的合成的影响还未见报道,本试验结果显示 660 nm 红光比 630 nm 红光更有利于丛生芽叶片中叶绿素的合成。丛生芽的茎粗和干重在不同处理的规律与丛生芽叶片中叶绿素含量呈现正相关关系(表 3)。

前人对大豆再生体系中生根阶段的研究相对较少^[27-28],然而大豆组培苗生根速度慢,生出的根不健壮会影响组培苗的再生效率及移栽后的生长和发育^[29]。Normanly^[30]、Kutschera 和 Briggs^[31]等人研究认为光谱明显影响植物根系生长。在本试验中,各处理下伸长丛生芽均于移栽后 7 d 后生根,而主根数、主根粗和根系活力均与地上部长势一致。红光可促进植物茎伸长^[32],并且我们发现,复合光谱中的 630 nm 红光比 660 nm 红光促进大豆生根苗茎伸长的效果更显著(表 4),这与丛生芽阶段的结果相反。Olle 和 Viršile^[33]认为不同波长的红光对植物可能具有不同的影响,本试验中 660 nm 红光更有利于大豆生根苗形态生长、干物质积累和根系发育。Liu 等^[34]研究发现,绿光比黄光更能抑制

樱桃番茄植株的茎长,这与本试验的结果一致。Johkan 等^[35]认为绿光由于能被隐花色素吸收,所以绿光可能具有蓝光抑制茎伸长的效应。Li 等^[36]发现红蓝组合 LED 显著提高棉花组培苗茎粗,百合^[37]、菊花^[25]和棉花^[36]的干物质积累在红蓝组合 LEDs 处理下高于荧光灯处理,本试验的结果与之相似。此外,在红蓝光基础上添加绿光或黄光均增加茎粗和干物质积累,而且绿光添加到红蓝光谱中对它们的增长更有利。近些年人们发现尽管绿光不是光合作用的高效吸收光谱,但是红蓝组合中添加绿光能促进植物的生长发育^[26, 35]。

本研究表明,复合光谱中 630 nm 红光会抑制丛生芽之间相互伸长,而 660 nm 红光能显著缓解相互抑制作用,并且更有利于丛生芽形态生长、叶绿素合成和干物质积累以及生根苗形态生长、干物质积累和根系发育。添加绿光或黄光均抑制丛生芽相互之间的伸长,且添加黄光抑制更强,添加绿光可促进丛生芽的叶绿素合成、干物质积累及生根壮苗。总之, R₆₆₀B 适宜用作大豆子叶节丛生芽诱导阶段的光源,有利于提高丛生芽伸长率,后续的丛生芽生长和生根阶段可在 R₆₆₀B 适当添加绿光。

参考文献

[1] 李桂兰, 乔亚科, 杨少辉, 等. 农杆菌介导大豆子叶节遗传转化的研究[J]. 作物学报, 2005, 31(2): 170-176. (Li G L, Qiao Y K, Yang S H, et al. Study of the *Agrobacterium*-mediated transformation systems of soybean cotyledonary node[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2005, 31(2): 170-176.)

[2] 孙昕, 闫帆, 赵健如, 等. 大豆子叶节丛生芽的诱导研究[J]. 大豆科学, 2012, 31(2): 184-187. (Sun X, Yan F, Zhao J R, et al. Induction of multiple shoots from soybean cotyledonary node[J]. *Soybean Science*, 2012, 31(2): 184-187.)

[3] 郝荣华, 邵群, 杨素欣, 等. 根瘤农杆菌介导的大豆子叶节转化体系的优化[J]. 大豆科学, 2012, 13(2): 167-172. (Hao R H, Shao Q, Yang S X, et al. Optimization of *Agrobacterium*-mediated soybean transformation using the cotyledonary node[J]. *Soybean Science*, 2012, 13(2): 167-172.)

[4] Collado R, Veitia N, Bermúdez-Caraballosa I, et al. Efficient *in vitro* plant regeneration *via* indirect organogenesis for different common bean cultivars [J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 153: 109-116.

[5] Cheng T Y, Saka H, Voqiu-Dinh T H. Plant regeneration from soybean cotyledonary node segments in culture[J]. *Plant Science Letters*, 1980, 19(2): 91-99.

[6] Veltcheva M, Svetleva D, Petkova S P, et al. *In vitro* regeneration and genetic transformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)—Problems and progress[J]. *Scientia Horticulturae*, 2005,

107(1): 2-10.

[7] 刘博林, 徐新民. 两个栽培大豆品种的体细胞胚胎发生和植株再生研究[J]. 中国油料作物学报, 1999, 21(2): 11-13. (Liu B L, Xu X M. Study on somatic embryogenesis and plant regeneration of two commercial soybean cultivars[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Science*, 1999, 21(2): 11-13.)

[8] Meurer C A, Dinkins R D, Collins G B. Factors affecting soybean cotyledonary node transformation[J]. *Plant Cell Reports*. 1998, 18: 180-186.

[9] 李明春, 蔡易, 赵桂兰, 等. 改良大豆子叶节再生体系的研究[J]. 作物学报, 2006, 32(2): 223-227. (Li M C, Cai Y, Zhao G L, et al. Improvement of cotyledon node regeneration system in soybean (*Glycine max*) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(2): 223-227.)

[10] Sairam R V, Franklin G, Hassel R, et al. A study on the effect of genotypes, plant growth regulators and sugars in promoting plant regeneration *via* organogenesis from soybean cotyledonary nodal callus[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 75: 79-85.

[11] 聂王星, 於丙军. TDZ 和 6-BA 对大豆子叶节再生体系中丛生芽诱导的效应[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(4): 130-134. (Nie W X, Yu B J. Effects of TDZ and 6-BA on inducing multiple shoots in soybean cotyledonary node regeneration system [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2012, 35(4): 130-134.)

[12] 张晓娟, 方小平, 罗丽霞, 等. TDZ 和 BA 对诱导大豆胚轴植株再生的影响[J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(1): 24-26. (Zhang X J, Fang X P, Luo L X, et al. Influence of TDZ and BA on efficiency of plant regeneration *via* organogenesis in soybean [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Science*, 2000, 22(1): 24-26.)

[13] Poudel P R, Kataoka I, Mochioka R. Effect of red-and blue-light emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes [J]. *Plant Cell*, 2008, 92(2): 147-153.

[14] 徐玲玲, 丁朵朵, 陶贵荣, 等. 不同光照强度和光质对铁线莲品种繁星 (*Clematis 'nelly moser'*) 不定芽诱导和生长的影响[J]. 光子学报, 2013, 42(6): 715-720. (Xu L L, Ding D D, Tao G R, et al. Effects of different light intensity and light quality on adventitious buds induction and growth of *Clematis 'nelly moser'* [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2013, 42(6): 715-720.)

[15] Liu M X, Xu Z G, Yang Y, et al. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2011, 106(1): 1-10.

[16] 马琳, 刘世琦, 张自坤, 等. 光质对大蒜愈伤组织诱导、增殖及器官分化的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(6): 118-122. (Ma L, Liu S Q, Zhang Z K, et al. Effect of different light qualities on callus induction, multiplication and organ differentiation of garlic [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2011, 20(6): 118-122.)

[17] Lin Y, Li J, Li B, et al. Effects of light quality on growth and de-

- velopment of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2011, 105 (3): 329-335.
- [18] 蒋向辉, 余朝文, 李丹, 等. 野生大豆丛生芽诱导及快速繁殖 [J]. *大豆科学*, 2008, 27(4): 697-700. (Jiang X H, She C W, Li D, et al. Caespitose shoots induction and rapid propagation of *G. soja* [J]. *Soybean Science*, 2008, 27(4): 697-700.)
- [19] Burritt D J, Leung D W M. Adventitious shoot regeneration from *Begonia* × *Erythrophylla* petiole sections is developmentally sensitive to light quality [J]. *Physiology Plant*, 2003, 118: 289-296.
- [20] Hunter D C, Burritt D J. Light quality influences adventitious shoot production from cotyledon explants of lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. *In vitro Cellular Developmental Biology Plant*, 2004, 40: 215-220.
- [21] 倪德祥, 张丕方, 陈刚, 等. 光质对康乃馨试管苗生长发育的影响 [J]. *园艺学报*, 1985, 12(3): 197-202. (Ni D Y, Zhang P F, Chen G, et al. The effect of light quality on growth and development of the test-tube seedlings of *Dianthus Caryophyllus* L. [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1985, 12(3): 197-202.)
- [22] 邱承祥, 武天龙. 6-BA 对大豆茎尖诱导再生植株的研究 [J]. *大豆科学*, 2003, 22(1): 32-35. (Qiu C X, Wu T L. Study on 6-BA to the regeneration of tip shoot of soybean [J]. *Soybean Science*, 2003, 22(1): 32-35.)
- [23] 刘晓英, 徐志刚, 常涛涛, 等. 不同光质 LED 弱光对樱桃番茄植株形态和光合性能的影响 [J]. *西北植物学报*, 2010, 30(4): 645-651. (Liu X Y, Xu Z G, Chang T T, et al. Growth and photosynthesis of cherry tomato seedling exposed to different low light of LED light quality [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010, 30(4): 645-651.)
- [24] 张欢, 徐志刚, 崔瑾, 等. 不同光谱能量分布对菊花试管苗增殖及生根的影响 [J]. *园艺学报*, 2010, 37(10): 1629-1636. (Zhang H, Xu Z G, Cui J, et al. Effects of light spectral energy distribution on multiplication and rooting of *Chrysanthemum* plantlets *in vitro* [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(10): 1629-1636.)
- [25] Kim S J, Hahn E J, Heo J W, et al. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of *Chrysanthemum* plantlets *in vitro* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2004, 101: 143-151.
- [26] Kim H H, Goins G H, Wheeler R M, et al. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes [J]. *Hort Science*, 2004, 39(7): 1617-1622.
- [27] Yue S Y, Wada K, Futsuhara Y. Comparative studies of organogenesis and plant regeneration in various soybean explants [J]. *Plant Science*, 1990, 72(1): 101-108
- [28] 袁鹰, 刘德璞, 郑培和, 等. 大豆组织培养再生植株研究 [J]. *大豆科学*, 2001, 20(1): 9-14. (Yuan Y, Liu D P, Zheng P H, et al. Study on plant regeneration from soybean culture [J]. *Soybean Science*, 2001, 20(1): 9-14.)
- [29] Afreen-Zobayed F, Zobayed S M A, Kubota C, et al. Supporting material affects the growth and development of *in vitro* sweet potato plantlets cultured photoautotrophically [J]. *In vitro Cellular Developmental Biology Plant*, 1999, 35(6): 470-474.
- [30] Normanly. Auxin metabolism [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 100: 431-442.
- [31] Kutschera U, Briggs W R. Root phototropism: from dogma to the mechanism of blue light perception [J]. *Planta*, 2012, 235: 443-452.
- [32] Nhut D T, Takamura T, Watanabe H, et al. Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 73: 43-52.
- [33] Olle M, Viršile A. The effects of light emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality [J]. *Agricultural and Food Science*, 2013, 22, 223-224.
- [34] Liu X Y, Guo S R, Chang T T, et al. Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiances of light emitting diodes (LED) [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 22(11): 6169-6177.
- [35] Johkan M, Shoji K, Goto K, et al. Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa* [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 75: 128-133.
- [36] Li H M, Xu Z G, Tang C M. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2010, 103: 155-163.
- [37] Lian M L, Murthy H N, Paek K Y. Effects of light emitting diodes on the *in vitro* induction and growth of bulblets of *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro' [J]. *Scientia Horticulturae*, 2002, 94: 365-370.