

不同光质对红花檵木愈伤组织生长及黄酮类物质含量的影响

郭佩瑶^{1,2}, 邓斯颖^{1,2}, 张艺帆^{1,2}, 许璐^{1,2}, 于晓英^{1,2,3*}, 李炎林^{1,2,3}

(1 湖南农业大学 园艺学院, 长沙 410128; 2 湖南省中亚热带优质花木繁育与利用工程技术中心, 长沙 410128; 3 教育部园艺作物种质创新与新品种选育工程研究中心, 长沙 410128)

摘要: 该试验以红花檵木叶片诱导的愈伤组织为试验材料, 以黑暗(CK)为对照, 分别进行白光(W)、红光(R)、蓝光(B)、蓝紫光(BP)、蓝光+UV-A(B+UV-A)和 UV-A 处理 15 d 和 30 d, 通过对愈伤组织的生长、生理指标、花色苷和总黄酮含量的比较分析, 探讨光质对红花檵木愈伤组织生长和黄酮类物质含量的影响。结果显示: (1) 与 CK 相比, 几种不同光质处理均可提高愈伤组织的干、鲜重, 其中 R 更有利于愈伤组织鲜重的增加, B+UV-A 和 UV-A 更有利于干重的增加, 而且光质对愈伤组织干重的影响存在基因型差异。(2) R、B 和 W 处理可显著提高红花檵木愈伤组织的可溶性糖含量, 其中 R 处理的增加最高, B 和 W 处理其次, 其他短波处理与 0 d 相比稍变化。(3) 短波光质的光质处理显著提高了红花檵木愈伤组织中的丙二醛(MDA)含量, 其中 B+UV-A 处理的增值最高。(4) 短波光质的光质更有利于提高红花檵木愈伤组织的苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性, 其中 BP 和 B+UV-A 处理的增效最为显著。(5) 短波光质的光质(B、BP、B+UV-A 和 UV-A)可促进红花檵木愈伤组织花色苷和黄酮类物质的合成, 但 R 处理具有抑制作用。研究表明, 短波光质 B、BP、B+UV-A 和 UV-A 处理可促进红花檵木愈伤组织花色苷合成, B+UV-A 和 B 处理更有利于总黄酮含量的提高, 而且在愈伤组织干重、花色苷与总黄酮含量方面光质的影响存在一定的基因型差异。

关键词: 光质; 红花檵木; 愈伤组织; 黄酮类物质

中图分类号: Q945.79; Q813.1¹⁺² **文献标志码:** A

Effect of Different Light Quality on Callus Growth and Flavonoids Content of Two *Loropetalum chinense* Plants

GUO Peiyao^{1,2}, DENG Siying^{1,2}, ZHANG Yifan^{1,2}, XU Lu^{1,2}, YU Xiaoying^{1,2,3*}, LI Yanlin^{1,2,3}

(1 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2 Hunan Mid-subtropical Quality Plant Breeding and Utilization Engineering Technology Research Center, Changsha 410128, China; 3 Engineering Research Center for Horticultural Crop Germplasm Creation and New Variety Breeding, Ministry of Education, Changsha 410128, China)

Abstract: In order to clarify the influence mechanism of light quality on the growth of *Loropetalum chinense* var. *rubrum* callus and the synthesis and accumulation of secondary metabolites flavonoids, to provide a theoretical basis for man-made regulation of the yield and quality of its cell products, we used,

收稿日期: 2021-08-06; **修改稿收到日期:** 2021-11-18

基金项目: 湖南省科技计划(2018TP2007, 2019TP1033); 湖南省教育厅项目(18A084); 长沙市科技局项目(kq2004032); 湖南农业大学“双一流”建设项目科学研究培育项目(SYL201802026, SYL2019012); 湖南农业大学第三批重大科研项目暨创新团队培育工程(201909)

作者简介: 郭佩瑶(1997—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事观赏植物资源与应用研究。E-mail: 1214847648@qq.com

* 通信作者: 于晓英, 教授, 博士, 主要从事观赏植物资源与应用研究。E-mail: 475705701@qq.com

the callus induced by *L. chinense* var. *rubrum* leaves as the test material in this experiment with the darkness (CK) as control. White light (W), red light (R), blue light (B), blue-violet light (BP), and blue light + UV-A (B+UV-A) and UV-A treat for 15 and 30 d, respectively. Through comparative analysis of callus growth, physiological indicators, anthocyanin and total flavonoids content, we explored the effect of light quality on *L. chinense* var. *rubrum* callus growth and flavonoid content. The results show that: (1) compared with CK, several different light quality treatments can increase the dry and fresh weight of callus. Among them, R is more conducive to the increase of callus fresh weight, B+UV-A and UV-A are more conducive to the increase of dry weight, and there are some genotypic differences in the influence of light quality on the dry weight of callus. (2) R, B and W treatments can significantly increase the solubility of *L. chinense* var. *rubrum* callus sugar content, among which R treatment has the highest value-added, B and W treatments second, and other short-wave treatments slightly increase or decrease compared with 0 d. (3) Short-wavelength light quality treatment significantly improves the callus of *L. chinense* var. *rubrum*. Among them, B+UV-A treatment has the highest value-added content. (4) Short-wavelength light quality treatment is more conducive to increasing the PAL activity of *L. chinense* var. *rubrum* callus. Among them, BP and B+UV-A treatments are the most significant. (5) Short-wavelength light quality (B, BP, B+UV-A and UV-A) can promote the synthesis of anthocyanins and flavonoids in the callus of *L. chinense* var. *rubrum*, while R treatment play an inhibitory role. It was shown that short-wave light quality B, BP, B+UV-A and UV-A treatments can promote the synthesis of anthocyanins in the callus of *L. chinense*, B+UV-A and B treatments are more conducive to the increase of total flavonoids content; Moreover, there are certain genotypic differences in the influence of light quality on the dry weight of callus, anthocyanin and total flavonoids.

Key words: light quality; *Loropetalum chinense* var. *rubrum*; callus; flavonoids

红花檵木 (*Loropetalum chinense* var. *rubrum*) 属于金缕梅科檵木属的常绿灌木或小乔木,具有较高的观赏价值,广泛应用于园林种植,同时也是重要的民间药用植物资源。现代药理研究表明红花檵木根、花和叶均可药用,含有较多的鞣质、脂肪酸、还原糖、甙类、异槲皮甙、黄酮类和酚类物质,临床上广泛用于上消化道出血、肺结核出血、产后出血及各类烧、烫伤等病症。红花檵木叶片中含有丰富的不饱和脂肪酸如亚油酸、山萘酸等,可以作为抗癌药物和天然农药原料开发^[1-4]。卢成瑛等^[2]研究发现红花檵木粗提物对细菌的生长有明显的抑制作用。唐华等^[3]的研究表明红花檵木叶片挥发油的主要成分可用于医药卫生、香料、食品添加剂和抗菌杀虫剂等领域。唐华等^[4]通过分离和鉴定红花檵木叶的脂肪酸成分,发现含有大量不饱和脂肪酸,可作为中药材原料。

然而,依靠土壤种植的植株获得富含黄酮的植物提取物往往会受到很多环境因素以及病虫害的影响,培养周期长,人工消耗大,而且通过种植次生代谢产物积累往往与生长环境条件需求方面存在矛盾^[5]。但植物组织培养周期短、节约耕地及经济成本、周年可以规模化生产、培养条件可人为控制^[6],而且相关学者发现通过组织培养多数植物次生代谢

产物的含量高于或接近原生植物^[7-9],如檵木 [*Loropetalum chinense* (R. Br.) Oliv.]、白英 (*Solanum lyratum*) 和人参 (*Panax ginseng*) 等次生代谢产物含量均高于原生植物,因此,利用组织培养技术生产次生代谢产物已成为生物制药的趋势^[10]。在组培的环境条件中,光是非常重要的因子之一,光对植物的生长、光合作用、形态、次生代谢产物的合成和积累、基因表达都具重要的调控作用^[11]。如王宇等^[12]的研究表明 UV-A 可以显著诱导成熟津田芜菁 (*Brassica rapa* ‘Tsuda’) 膨大肉质根表皮花青素的大量积累。居鑫等^[13]的研究结果显示 UV-A 显著提高了小豆芽菜 (*Vigna angularis* L.) 类黄酮和总酚的含量。目前,关于红花檵木植物组织培养技术较成熟,但对光质影响其愈伤组织黄酮类物质含量的研究还鲜见报道。

本试验以红花檵木叶片诱导的愈伤组织为试验材料,通过测定不同光质处理下愈伤组织的鲜重、干重、可溶性糖、丙二醛 (MDA)、苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性、花色素苷含量和总黄酮含量的变化,分析其对不同光质的响应机制,探究其次生代谢产物黄酮类物质合成和累积的适宜光质条件,以期为人调控红花檵木细胞次生代谢产物产量和品质提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

以湖南农业大学园林花卉教学基地红花檵木资源圃的‘花叶檵木 1 号’(编号为 H1)、“湘农粉娇”(编号为 H2)为植物材料,以 MS 为基本培养基,培养基附加 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 和 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA,将所诱导的叶片愈伤组织接种于 $\text{MS}+2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 培养基中进行继代,置于不同光质条件下培养。

1.2 光源参数与处理方法

试验在湖南农业大学观赏植物教学基地的组织培养室进行,以黑暗为对照组(CK),采用 LED 调制不同光质对愈伤组织进行光照培养。具体光质条件参数见表 1。所用 LED 均统一规格,处理组之间用黑色塑料膜隔开,避免光质干扰。培养温度为 $(25\pm 0.5)\text{ }^{\circ}\text{C}$,光照时间 $16\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。将愈伤组织随机分为 7 组,每组 30 瓶,每瓶处理 2 g,培养第 15 天和第 30 天时,测定愈伤组织的生长指标、生理指标和次生代谢物含量,每个指标 3 个重复。

1.3 测定指标及方法

分别取不同光质处理 15 天和 30 d 后的愈伤组织,称取其鲜重;将愈伤组织在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干至恒重,称取其干重;愈伤组织 PAL 活性、丙二醛和可溶性糖含量采用南京建成生物工程研究所定量试剂盒测定;花色苷含量采用 pH 示差法^[14]。

总黄酮含量参考文献[15]方法,并稍作改动,具体为:将愈伤组织烘干后,研磨成细粉,称取干粉 0.2 g ,加 60% 乙醇,料液比为 1 : 100,在 100 W , $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超声提取 40 min 后,于 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 冷冻离心机中离心 2 次,每次 10 min。取 1 mL 上清液,加入 5% NaNO_2 溶液 4 mL 静置 6 min 后,加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$

溶液 4 mL 静置 6 min,再加入 4% NaOH 4 mL,最后用 60% 乙醇将溶液定容 10 mL,静置 15 min 后待测。以 60% 乙醇为空白,在 510 nm 波长处测量吸光度。

1.4 数据分析

用 Excel 2010 整理数据;用 OriginPro 2018 作图;用 SPSS Statistics 19.0 对数据进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同光质对愈伤组织生长的影响

不同光质处理显著影响红花檵木愈伤组织的鲜重和干重(表 2)。在鲜重上,处理第 15 天,W 处理 H1 的愈伤组织的鲜重最高,比 0 d 时增加了 14.5%;UV-A 处理 H2 的鲜重最高,比 0 d 时增加了 44%。30 d 时,R 处理 H1 和 H2 的鲜重增加显著,对比 0 d 时分别增加了 43.0%和 76.0%;在干重上,15 d 时,R 处理 H1 的愈伤组织的干重最高,为 0.14 g,比 0 d 时增加了 55.6%;UV-A 处理 H2 的干重最高,比 0 d 时增加了 100%;第 30 天时,B+UV-A 处理 H1 的干重比 0 d 时增加了 100%,而各处理 H2 的干重增加不明显,UV-A、BP 和 B+UV-A 处理还略有下降趋势。

总体而言,相对其他几种光质,R 更有利于愈伤组织鲜重的增加,B+UV-A 和 UV-A 更有利于干重的增加;另外,在愈伤组织干重方面光质的影响还存在一定的基因型差异,其中 H1 的干重在 R、BP 和 B+UV-A 处理下显著提高($P<0.05$),但 H2 的干重增加不显著,在处理 30 d 时还稍有下降趋势。

2.2 不同光质对愈伤组织生理生化指标的影响

2.2.1 可溶性糖含量 由表 3 可知,处理第 15 天,R 处理的 H1 和 H2 的可溶性糖含量最高,分别为 31.06 和 $25.85\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,比 CK 分别高 30.17%和

表 1 试验光源控制系统
Table 1 Test light source control system

光处理 Light treatment	光质 Light quality	光量比值 The ratio of luminous flux	峰值波长 Peak wavelength/nm	光合有效辐射 Photosynthetically active radiation /($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
CK	黑暗 Dark	—	—	—
W	白光 White	100%	植物生长全光谱 Full spectrum of plant growth	60
R	红光 Red	100%	622~710	60
B	蓝光 Blue	100%	460±10	60
BP	蓝紫光 Blue violet light	100%	390~420	60
B+UV-A	蓝光 Blue +UV-A	1 : 1	460+320	60
UV-A	UV-A	100%	320~400	30

表 2 不同光质对愈伤组织生长的影响

Table 2 Effect of different light qualities on the growth of callus

光处理 Light treatment	时间 Treatment time/d	鲜重 Fresh weight/g		干重 Dry weight/g	
		H1	H2	H1	H2
CK	0	2.00±0.00	2.00±0.00	0.09±0.02	0.08±0.02
	15	2.17±0.09ab	2.34±0.09b	0.11±0.01b	0.10±0.02b
	30	2.82±0.29a	2.82±0.44ab	0.15±0.02ab	0.10±0.01a
W	15	2.29±0.15a	2.52±0.37ab	0.12±0.01ab	0.10±0.01b
	30	2.59±0.25ab	3.22±0.28a	0.15±0.04ab	0.13±0.03a
R	15	2.27±0.03a	2.47±0.17ab	0.14±0.02a	0.11±0.01ab
	30	2.86±0.12a	3.52±0.03a	0.17±0.04a	0.13±0.01a
B	15	2.08±0.02b	2.57±0.09ab	0.11±0.02b	0.11±0.01ab
	30	2.05±0.02c	2.32±0.16b	0.10±0.02b	0.13±0.02a
BP	15	2.26±0.05a	2.59±0.16ab	0.13±0.01ab	0.11±0.01ab
	30	2.72±0.14a	2.64±0.04ab	0.17±0.02a	0.10±0.01a
B+UV-A	15	2.11±0.17ab	2.62±0.30ab	0.12±0.01ab	0.14±0.01ab
	30	2.59±0.32ab	3.24±0.81a	0.18±0.05a	0.13±0.04a
UV-A	15	2.06±0.02b	2.88±0.37a	0.11±0.01b	0.16±0.06a
	30	2.22±0.05bc	2.65±0.69ab	0.12±0.01ab	0.13±0.01a

注: H1. 花叶檵木 1 号;H2. 湘农粉娇;不同小写字母表示同列同一处理时间下各光质之间的差异显著性 ($P<0.05$),下同

Note: H1. Huaye jimu 1;H2. Xiangnong fenjiao; Different normal letters in the same column indicated the significant difference among different light qualities under the same treatment time point ($P<0.05$), the same as below

表 3 不同光质对愈伤组织可溶性糖含量的影响

Table 3 Effect of different light qualities on the content of soluble sugar in callus

光处理 Light treatment	处理时间 Treatment time/d	可溶性糖含量 Soluble sugar content/(mg·g ⁻¹)	
		H1	H2
CK	0	28.62±2.17	23.14±1.73
	15	23.86±1.66b	20.68±0.86c
	30	27.88±0.87b	21.07±0.84e
W	15	30.14±2.24a	24.10±0.31ab
	30	32.30±1.34b	28.15±1.87c
R	15	31.06±1.38a	25.85±1.98a
	30	36.69±1.51a	34.75±1.19a
B	15	29.83±1.19a	24.94±1.29ab
	30	30.92±1.92b	30.47±1.53b
BP	15	25.10±0.46b	24.46±1.31ab
	30	26.01±0.81c	25.76±1.09d
B+UV-A	15	24.07±0.24b	25.39±0.88ab
	30	24.11±0.63c	25.77±1.06d
UV-A	15	24.23±1.97b	23.76±2.46bc
	30	24.51±1.77c	25.55±0.81d

34.22%,其次是 B 和 W,显著高于其他处理组($P<0.05$);处理第 30 天时,R 处理的 H1 和 H2 的可溶性糖含量分别高达 36.69 和 34.75 mg·g⁻¹,比 0 d 时分别增加了 53.77%和 50.17%,其次是 B 和 W;CK、BP、B+UV-A 和 UV-A 处理的 H1 和 H2 可溶性糖含量变化存在一定的基因型差异,H1 都呈下降趋势,其中 B+UV-A 处理第 30 天与 0 d 相比下降了 15.75%,而 H2 的可溶性糖含量除了 CK 下降之外,BP、B+UV-A 和 UV-A 处理都略有增加。

2.2.2 MDA 含量 由表 4 可知,处理第 15 天时,B+UV-A 处理的 H1 的 MDA 含量为 4.82 nmol·mg⁻¹,BP 处理的 H2 的 MDA 含量为 6.14 nmol·mg⁻¹,显著高于其他处理组($P<0.05$),R 处理 H1 和 H2 的 MDA 含量都为最低,分别是 2.11 和 2.37 nmol·mg⁻¹;处理第 30 天时,置于 B+UV-A 光下的 H1 和 H2 愈伤组织的 MDA 含量达到最高,分别为 5.23 和 7.69 nmol·mg⁻¹,比 0 d 分别增加了 95.88%和 196.91%,显著高于其他处理组($P<0.05$)。

总体而言,短波光质处理显著提高了红花檵木愈伤组织中的 MDA 含量,其中 B+UV-A 处理

的增值最高;两个试验材料相比,B+UV-A 处理第 30 天时,H2 的 MDA 含量比 H1 高了 47.04%,可能是 H2 比 H1 的抗氧化特性要弱,以致 B+UV-A 对 H2 的膜质伤害程度更重。

2.2.3 PAL 活性 由表 5 可知,处理 15 d 时,除 R 外,其他处理组处理的 H1 的愈伤组织 PAL 活性均比 CK 高,其中 BP 最高,为 19.41 U · g⁻¹ 鲜重,其次是 B+UV-A,为 18.30 U · g⁻¹ 鲜重,显著高于其他处理组(*P*<0.05);UV-A 处理的 H2 的愈伤组织 PAL 活性最高,为 27.06 U · g⁻¹ 鲜重,其次是 BP,而 R 最低。

处理第 30 天时,BP 和 B+UV-A 处理的 H1 和 H2 的 PAL 活性显著高于其他处理组(*P*<0.05),B+UV-A 处理的 H1 的 PAL 活性最高,比 0 d 时增加了 58.49%;BP 处理的 H2 的 PAL 活性高达 53.57 U · g⁻¹ 鲜重,比 0 d 时增加了 44.7%,而 R 处理 H1 和 H2 的 PAL 活性都为最低,分别是 14.34 U · g⁻¹ 鲜重和 11.52 U · g⁻¹ 鲜重。BP 和 B+UV-A 处理的 H2 的 PAL 活性比 H1 分别高 52.23%和 42.28%。总体而言,短波长光质处理更有利于提高红花檵木愈伤组织的 PAL 活性,其中 BP 和 B+UV-A 处理的增效最为显著。

表 4 不同光质对愈伤组织 MDA 含量的影响
Table 4 Effect of different light qualities on MDA content in callus

光处理 Light treatment	处理时间 Treatment time/d	MDA 含量 MDA content/(nmol · mg ⁻¹)	
		H1	H2
CK	0	2.67±0.19	2.59±0.26
	15	2.64±0.12d	2.60±0.12cd
	30	2.79±0.16c	4.75±0.09d
W	15	2.79±0.12d	2.69±0.11cd
	30	2.70±0.16c	5.20±0.29c
R	15	2.11±0.05e	2.37±0.09d
	30	1.96±0.07d	4.40±0.18d
B	15	4.51±0.25b	2.88±0.63cd
	30	4.89±0.12b	5.40±0.18c
BP	15	4.49±0.13b	6.14±0.36a
	30	5.11±0.05a	6.99±0.22b
B+UV-A	15	4.82±0.12a	3.07±0.08bc
	30	5.23±0.07a	7.69±0.36a
UV-A	15	4.23±0.08c	3.46±0.09b
	30	4.72±0.13b	6.71±0.14b

2.3 不同光质对愈伤组织黄酮类物质含量的影响
2.3.1 花色素苷含量 如图 1 所示,除 R 处理,其余处理从 0 d 到 30 d H1 和 H2 的花色素苷含量逐渐增加。处理 15 d 时,B 处理的 H1 的花色素苷含量最高,比 0 d 时增加了 18.27%,而 R 降低了 2.4%,其他处理组之间不显著(*P*>0.05);BP 处理的 H2 的花色素苷含量比 0 d 时增加了 19.46%,而 R 降低了 14.48%。

处理第 30 天时,BP 处理的 H1 的花色素苷含量最高,为 3.15 μmol · g⁻¹,比处理前增加了 51.44%,B、B + UV-A 和 UV-A 分别增加了 42.79%、33.65%和 23.56%,而 CK 和 W 之间不显著(*P*>0.05)。BP 和 B+UV-A 处理的 H2 的花色素苷含量显著高于其他处理组(*P*<0.05),分别增加了 72.85%和 68.33%,最低的是 R,仅有 1.57 μmol · g⁻¹,比 0 d 时降低了 28.5%。

短波长的光质(B、BP、B+UV-A 和 UV-A)可促进 H1 和 H2 的花色素苷合成,BP 处理效果最为显著,与蓝紫光可以诱导 CHS、F3H 和 DFR 的表达有关^[16],BP 处理 30 d 后,H2 的花色素苷含量比 H1 高 21.59%,可能是因为 H2 的与花色素苷的合成有关的 PAL 活性高于 H1。

表 5 不同光质对愈伤组织 PAL 活性的影响
Table 5 Effect of different light qualities on PAL activity in callus

光处理 Light treatment	处理时间 Treatment time/d	PAL 活性 PAL activity/(U · g ⁻¹)	
		H1	H2
CK	0	23.32±1.58	37.02±1.39
	15	15.75±0.87cd	15.60±0.98bc
	30	17.64±0.98d	14.93±1.16c
W	15	17.39±1.18bc	17.49±0.85b
	30	18.51±0.82d	16.59±1.53c
R	15	15.49±0.59d	12.97±1.15d
	30	14.34±0.84e	11.52±0.66d
B	15	16.53±0.81cd	24.73±1.08a
	30	33.15±1.47bc	32.59±1.53b
BP	15	19.41±1.03a	26.26±1.07a
	30	35.19±0.40ab	53.57±2.14a
B+UV-A	15	18.30±0.56ab	17.11±0.45b
	30	36.96±2.69a	52.59±2.52a
UV-A	15	16.72±1.18bcd	27.06±1.18a
	30	32.65±1.07cd	30.39±0.81b

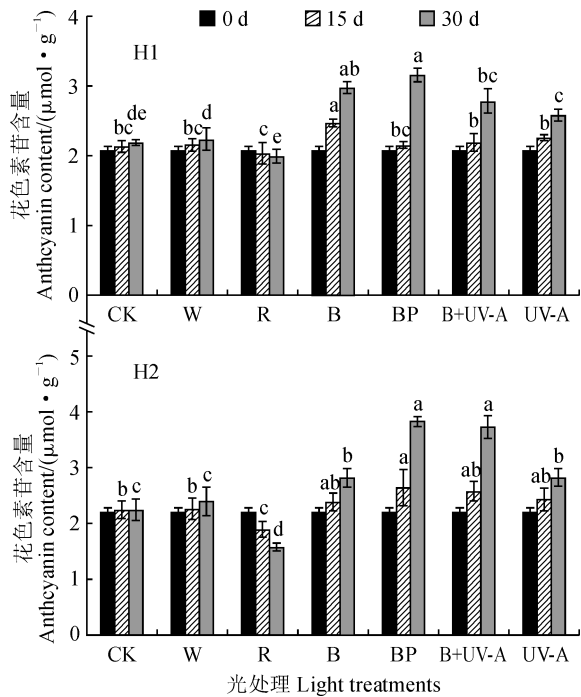


图1 不同光质对‘花叶檵木1号’(H1)和‘湘农粉娇’(H2) 花色素苷含量的影响

Fig. 1 Effect of light treatments on the content of anthocyanin in ‘Huaye jimu 1’(H1) and ‘Xiangnong fenjiao’(H2)

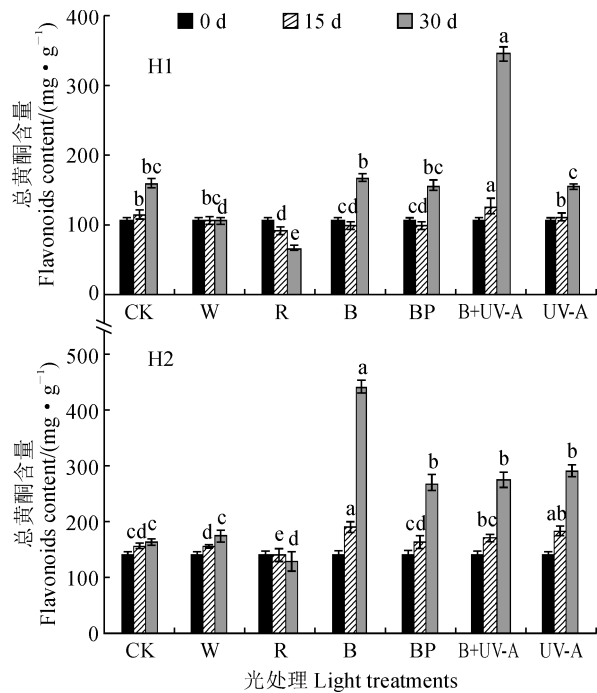


图2 不同光质对‘花叶檵木1号’(H1)和‘湘农粉娇’(H2) 总黄酮含量的影响

Fig. 2 Influence of different light qualities on the content of flavonoids in ‘Huaye jimu 1’(H1) and ‘Xiangnong fenjiao’(H2)

2.3.2 总黄酮含量 由图2可知,不同光质处理第15天,置于B+UV-A光下的H1的愈伤组织总黄酮含量最大,为125.91 mg · g⁻¹,比0 d时增加了19.97%,而置于R、B和BP光下的愈伤组织总黄酮含量分别降低了13.52%、6.68%和6.23%;H2的愈伤组织总黄酮含量变化则与H1的有一定差异,它是在B处理下的含量最高,为192.79 mg · g⁻¹,比处理前增加了37.17%;处理第30天,除置于R光下的H1和H2的愈伤组织总黄酮含量最低,分别比处理前降低了37.28%和7.14%之外,其他处理的含量均有增加。

总体而言,R光处理不利于红花檵木愈伤组织黄酮类物质的积累,短波长光质B+UV-A和B处理更有利于总黄酮含量的增加,其中H1的含量在B+UV-A处理下增加效果最为显著,H2的含量则在B处理下增加效果更为显著。

3 讨 论

适宜的光质在愈伤组织增殖过程中,能降低黄酮生产过程中的能耗,提高生产效益。植物愈伤组织经过继代培养可获取大量愈伤组织材料用于黄酮类物质的生产,目前关于不同光质对红花檵木黄酮含量的影响研究较少。相关学者对小麦(*Triticum aestivum* L.)^[17]、非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolus)^[18]和烟草(*Nicotiana tabacum* L.)^[19]的研究结果表明,红光或者红光比例较高的光质处理更有助于植物的生长。本试验研究发现,R处理后的红花檵木生长状态最佳。在处理过程中,单蓝光处理不利于愈伤组织的生长,而在蓝光与其他光质组合的复合光质(BP和B+UV-A)处理下,有利于愈伤组织的生长,与前人研究结果一致。

糖类是植物体内重要的组成成分,可溶性糖含量作为中间产物能反映生长过程中代谢的快慢^[20]。多数研究发现在红光或红光比例较高的光质处理下,植物体内可溶性糖含量较高。但是光质对植物可溶性糖积累的影响也因植物种类不同而存在差异。例如,白菜叶片中可溶性糖含量在红光的照射下最高^[21]。在白光处理下的香椿芽苗菜的可溶性糖含量最高^[22],在白光和红蓝光比例相同的光质处理下,更有利于樱桃萝卜成熟肉质根中可溶性糖含量的积累^[23]。本试验结果表明,W和R处理均能促进红花檵木愈伤组织可溶性糖的合成。同时,R处理的愈伤组织鲜重和干重均最高,可能是R处理愈伤组织合成和累积的产物高于其他6组,从而促

进了愈伤组织的生长。

MDA 含量常常反映植物体内脂质过氧化的程度,可间接地反映出细胞损伤的程度。当植物处于逆境环境中,MDA 含量越高,表明细胞膜受损的程度越大^[24]。本试验中,R 处理愈伤组织 MDA 含量较 CK 显著降低,原因可能是植物体内 CAT 活性提高从而增强自身活性氧解毒能力的效果,导致 MDA 含量降低,减轻了细胞膜受伤害的程度,这也是 R 处理促进愈伤组织生长的原因之一。据报道,红光处理下烟草^[19]MDA 含量最低,蓝光处理增加了非洲菊^[25]中膜质伤害程度,表明当植株受到严重的逆境伤害时,会影响植株的生长。本研究中,短波长光质处理不同程度地增加了 MDA 含量,与前人研究结果相似。

PAL 是苯丙烷类代谢和酚类化合物合成途径中的关键酶,与植物体内一些重要的次生代谢产物合成密切相关,在植物正常生长发育和抵御病菌侵害过程中起重要作用。当植物处于逆境环境中,植物通过增强与次生代谢产物合成相关酶的基因表达,来保护自身免受损伤。本试验结果表明,BP、B+UV-A 和 UV-A 处理下,愈伤组织中 PAL 活性高于对照和其他处理组。鲁燕舞等^[26]研究发现,相比于黑暗条件,蓝光处理更能提高萝卜中 PAL 的活性。有关光质对次生代谢产物合成过程中其他关键酶的影响,还需进一步研究。

蓝光和紫外光是促进植物花色素苷合成最有效的光质,紫外线辐射激活植物内的抗氧化酶,引起氧化反应,同时合成谷胱甘肽、抗坏血酸和酚类等抗氧化物质^[27]。不同光质处理后的植物生产次生代谢物质来应对环境的改变,这可能是植物的一种自我防御机制。多数研究表明蓝光或蓝光比例较高的光质处理有利于植物花色素苷的合成。如蓝光处理更有利于番茄幼苗中花色素苷的合成^[28],在培养红叶白菜时,增加蓝光能促进其花色素苷的合成^[29];蓝

光处理的马铃薯花色素苷含量较高^[30]。蓝光和紫外光诱导拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[31]花色素苷的合成。同时,红光对植物合成花色素苷起到抑制作用,如红光处理后菊花(*Chrysanthemum*)舌状花颜色变浅,与花色素苷合成相关的基因表达量明显下降^[32];单一光照或红光比例较高时,紫叶甘薯(*Ipomoea batatas*)^[33]中花色素苷含量较低。但也有研究发现红光能促进植物合成花色素苷^[34-35]。说明光质对植物合成花色素苷的影响与植物种类或基因型有关。本试验中,短波光质 B、BP、B+UV-A 和 UV-A 处理可促进红花檵木愈伤组织花色素苷合成,而红光(R)处理使花青素苷总含量有所下降,BP 处理 30 d 后,H2 的花色素苷含量就比 H1 高 21.59%。

不同的光质对黄酮类化合物的合成也有较大的影响。相关学者对萝卜芽苗菜^[26]、青钱柳叶(*Cyclocarya paliurus*)^[36]和大豆芽苗(*Glycine max*)^[37]的研究表明蓝光和紫外光处理后黄酮类化合物含量显著提高;也有研究发现,红光有助于三叶崖爬藤(*Tetrastigma hemsleyanum*)合成黄酮类成分^[38]。在本试验中,红光(R)处理不利于黄酮类物质的积累,短波 B+UV-A 和 B 处理更有利于总黄酮含量的增加,且存在一定的基因型差异,研究结果与前人不完全一致,具体机制有待进一步研究。

4 结 论

R 更有利于红花檵木愈伤组织鲜重的增加,但不利于其黄酮类物质的积累;B+UV-A 和 UV-A 有利于干重、PAL 活性的增加,其中 B+UV-A 处理效果比较显著;短波光质 B、BP、B+UV-A 和 UV-A 处理可促进红花檵木愈伤组织花色素苷合成,B+UV-A 和 B 处理更有利于总黄酮含量的增加;在愈伤组织干重、花色素苷与总黄酮含量方面光质的影响存在一定的基因型差异。

参考文献:

[1] 任铁林. 红花檵木中总多酚的提取纯化与抗氧化性初步研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.

[2] 卢成瑛, 唐克华, 唐 慧, 等. 红檵木花红色素提取物抗菌活性研究初报[J]. 中国林副特产, 2005, (3): 9-11.

LU C Y, TANG K H, TANG H, *et al.* Priliminary study report of anti-virus activity of the pigment extracts of *Loropetalum chinense* var. *rubrum* flower[J]. *Quarterly of Forest by-Product and Speciality in China*, 2005, (3): 9-11.

[3] 唐 华, 郑强峰, 梁同军, 等. 同时蒸馏萃取- GC/MS 法分析檵木与红花檵木叶挥发油成分[J]. 安徽农业科学, 2011, **39** (26): 15 985-15 987.

TANG H, ZHENG Q F, LIANG T J, *et al.* Analysis of volatile oils in leaves of *Loropetalum chinense* and *L. chinense* var. *rubrum* using simultanuuous distillation and solvent extraction (SDE) and GC-MS[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, **39**(26): 15 985-15 987.

[4] 唐 华, 郑强峰, 葛 刚, 等. 檵木与红花檵木叶中脂肪酸

- GC-MS 分析[J]. 中药材, 2011, **34**(10): 1 549-1 552.
- TANG H, ZHENG Q F, GE G, *et al.* Analysis of fatty acids in leaves of *Loropetalum chinense* and *L. chinense* var. *rubrum* by GC-MS[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2011, **34**(10): 1 549-1 552.
- [5] 苏文华, 张光飞, 李秀华, 等. 植物药材次生代谢产物的积累与环境的关[系][J]. 中草药, 2005, **36**(9): 1 415-1 418.
- SU W H, ZHANG G F, LI X H, *et al.* Relationship between accumulation of secondary metabolism in medicinal plant and environmental condition[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2005, **36**(9): 1 415-1 418.
- [6] 那 倩, 韩 琳. 浅谈植物组织培养技术及应用[J]. 广东蚕业, 2021, **55**(5): 23-24.
- NA Q, HAN L. The discussion about the tissue culture technology and application of plants[J]. *Guangdong Sericulture*, 2021, **55**(5): 23-24.
- [7] 万 涛. 白花檵木组织培养对檵木黄酮含量的影响[J]. 现代园艺, 2017, (10): 11.
- [8] 司春灿, 林 英. 毛状根培养技术在获得药用植物次生代谢产物中的应用[J]. 景德镇学院学报, 2021, **36**(3): 57-60.
- SI C C, LIN Y. Application of culture technique of hairy hoots to obtaining secondary metabolites of medicinal plants [J]. *Journal of Jingdezhen University*, 2021, **36**(3): 57-60.
- [9] 陈艳阳, 王京京, 牛 晨, 等. 不同诱导子对人参愈伤组织生长及皂苷含量的影响[J/OL]. 吉林农业大学学报: 1-9[2021-12-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1100.S.20210512.1635.005.html>.
- CHEN Y Y, WANG J J, NIU C, *et al.* Effects of different elicitors on callus growth and ginsenoside content of *Panax ginseng* [J/OL]. *Journal of Jilin Agricultural University*: 1-9[2021-12-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1100.S.20210512.1635.005.html>.
- [10] 于巧芝, 刘 芳, 殷 帆, 等. 不同光质对迷迭香愈伤组织类黄酮含量的影响[J]. 园艺与种苗, 2013, **33**(8): 18-21.
- YU Q Z, LIU F, YIN F, *et al.* Effects of different light qualities on the contents of flavonoids in callus of *Rosmarinus officinalis*[J]. *Horticulture & Seed*, 2013, **33**(8): 18-21.
- [11] 潘俊倩, 佟曦然, 郭宝林. 光对植物黄酮类化合物的影响研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, **41**(21): 3 897-3 903.
- PAN J Q, TONG X R, GUO B L. Progress of effects of light on plant flavonoids[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, **41**(21): 3 897-3 903.
- [12] 王 宇. 短波光质诱导津田芜菁花青素合成相关基因差异表达机制研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013.
- [13] 居 鑫, 陈 沁, 陈景斌, 等. 光质对小豆芽苗菜生长和类黄酮的影响及其机理初步探究[J]. 食品工业科技, 2019, **40**(16): 64-70.
- JU X, CHEN Q, CHEN J B, *et al.* Effects of light quality on growth and flavonoids of adzuki bean sprouts and its preliminary mechanism[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, **40**(16): 64-70.
- [14] FANG Z Z, ZHOU D R, YE X F, *et al.* Identification of candidate anthocyanin-related genes by transcriptomic analysis of ‘furongli’ plum (*Prunus salicina* Lindl.) during fruit ripening using RNA-seq [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, **7**: 1 338.
- [15] 王 璟. 贯叶连翘悬浮细胞培养生产黄酮类物质的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2015.
- [16] 魏永赞, 李伟才, 董 晨, 等. 光照对植物花色苷生物合成的调控及机制[J]. 植物生理学报, 2017, **53**(9): 1 577-1 585.
- WEI Y Z, LI W C, DONG C, *et al.* Regulation and mechanism of light on anthocyanin biosynthesis in plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2017, **53**(9): 1 577-1 585.
- [17] 常建伟, 杨润强, 王 沛, 等. LED 光质对食品用小麦芽苗生长和酚类物质累积的影响[J/OL]. 中国粮油学报: 1-15 [2021-12-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20210407.1754.008.html>.
- CHANG J W, YANG R Q, WANG P, *et al.* Effects of light spectrums on growth phenolics accumulation of wheat seedlings for food[J/OL]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*: 1-15 [2021-12-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20210407.1754.008.html>.
- [18] 孙 翊, 殷丽青, 张永春, 等. 不同 LED 光质对非洲菊组培苗生长及生理特性的影响[J]. 分子植物育种, 2017, **15**(12): 5 140-5 147.
- SUN Y, YIN L Q, ZHANG Y C, *et al.* Effect of different LED light qualities on proliferation and physiological characteristics of *Gerbera jamesonii* plantlets[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, **15**(12): 5 140-5 147.
- [19] 苏 俊, 刘昶雯, 杨 凡, 等. 不同光质对烟草组培苗生长及生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2014, **34**(6): 1 206-1 212.
- SU J, LIU Y W, YANG F, *et al.* Effect of different light qualities on physiological characteristics and growth of tobacco *in vitro* under light emitting diodes (LEDs)[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, **34**(6): 1 206-1 212.
- [20] 史爱琴. 红花檵木叶片离体培养与植株再生研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [21] 李慧敏, 陆晓民. 不同 LEDs 光质下普通白菜开花以及花期生理特性的动态变化[J]. 西北植物学报, 2016, **36**(4): 730-737.
- LI H M, LU X M. Effects of light quality on flowering, dynamic variation in physiological characteristics of pakchoi during budding and flowering stage[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(4): 730-737.
- [22] 唐 丽. LED 光质在植物组织培养和芽苗菜栽培中的调控作用及机理[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [23] 陈冰星, 王晓倩, 刘 涛, 等. 不同光质光周期对樱桃萝卜生长发育及营养品质的影响[J]. 西北植物学报, 2020, **40**(1): 77-86.
- CHEN B X, WANG X Q, LIU T, *et al.* Effect of different light quality and photoperiods on growth development and nutritional quality of cherry radish[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(1): 77-86.
- [24] 陈海霞, 李志奇, 彭尽晖, 等. 铝胁迫对八仙花抗氧化酶系

统的影响[J]. 湖南生态科学学报, 2019, **6**(4): 7-13.

CHEN H X, LI Z Q, PENG J H, *et al.* Effects of aluminum stress on antioxidant enzyme system of *Hydrangea macrophylla* [J]. *Journal of Hunan Ecological Science*, 2019, **6**(4): 7-13.

[25] 孙 翊, 张永春, 殷丽青, 等. LED 光质对非洲菊组培苗增殖及生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2017, **37**(12): 2 419-2 426.

SUN Y, ZHANG Y C, YIN L Q, *et al.* Effects of LED light on proliferation and physiological characteristics of *Gerbera jamesonii* plantlets[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2017, **37**(12): 2 419-2 426.

[26] 鲁燕舞, 张晓燕, 耿殿祥, 等. 光质对萝卜芽苗菜总酚类物质含量及抗氧化能力的影响[J]. 园艺学报, 2014, **41**(3): 545-552.

LU Y W, ZHANG X Y, GENG D X, *et al.* Effects of light quality on total phenolic contents and antioxidant activity in radish sprouts[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, **41**(3): 545-552.

[27] CHEN Z J, MA Y, WENG Y, *et al.* Effects of UV-B radiation on phenolic accumulation, antioxidant activity and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings [J]. *Food Bioscience*, 2019, **30**: 100 409.

[28] 贾真真, 王春英, 胡 超, 等. 不同光质对番茄幼苗花色素苷积累的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2018, (1): 66-67.

JIA Z Z, WANG C Y, HU C, *et al.* Effects of different light qualities on anthocyanin accumulation in tomato seedlings [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2018, (1): 66-67.

[29] ZHENG Y J, ZHANG Y T, LIU H C, *et al.* Supplemental blue light increases growth and quality of greenhouse pak choi depending on cultivar and supplemental light intensity[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2018, **17**(10): 2 245-2 256.

[30] XU J M, YAN Z M, XU Z G, *et al.* Transcriptome analysis and physiological responses of the potato plantlets *in vitro* under red, blue, and white light conditions[J]. *Biotech*, 2018, **8**(9): 394.

[31] 顾 林, 朱洪梅, 顾振新. 花青素的生物合成和成色机理及提高其稳定性的途径[J]. 食品工业科技, 2007, **28**(11): 240-244.

[32] 李梦灵, 洪 艳, 戴思兰, 等. 光质对菊花花青素苷合成与呈色的影响[C]//2016 年中国观赏园艺学术研讨会论文集. 长沙, 2016: 346-352.

[33] 李国良, 刘中华, 许泳清, 等. 光温对叶菜型甘薯叶片花青素合成及相关酶基因表达的影响[J]. 核农学报, 2017, **31**(1): 8-13.

LI G L, LIU Z H, XU Y Q, *et al.* Effect of light and temperature on anthocyanin biosynthesis and expression of anthocyanin structural genes in leaf-vegetable sweetpotato leaves[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, **31**(1): 8-13.

[34] 池 方, 李树人, 田红星. 光照对套袋苹果花青素含量的影响[J]. 河南农业大学学报, 1997, **31**(2): 73-76.

CHI F, LI S R, TIAN H X. Effects of artificial light on development of anthocyanin in bagging “fuji” apple[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis*, 1997, **31**(2): 73-76.

[35] ZHANG Y T, HU W J, PENG X R, *et al.* Characterization of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in two strawberry genotypes during fruit development in response to different light qualities[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2018, **186**: 225-231.

[36] 刘 洋, 秦 健, 周明明, 等. 光质和基因型对青钱柳叶黄酮类化合物积累的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2018, **42**(3): 99-104.

LIU Y, QIN J, ZHOU M M, *et al.* Influence of light quality and genotype on flavonoid accumulation in the leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2018, **42**(3): 99-104.

[37] 李 娜, 张晓燕, 田纪元, 等. 蓝光连续光照对大豆芽苗菜类黄酮合成的影响[J]. 大豆科学, 2017, **36**(1): 51-59.

LI N, ZHANG X Y, TIAN J Y, *et al.* Effect of blue light continuous illumination on flavonoid synthesis in soybean sprouts[J]. *Soybean Science*, 2017, **36**(1): 51-59.

[38] 程小燕, 杨志玲, 杨 旭, 等. 不同光质对三叶崖爬藤生长及有效成分含量的影响[J]. 林业科学研究, 2018, **31**(5): 98-103.

CHENG X Y, YANG Z L, YANG X, *et al.* Effects of light quality on the growth and content of active ingredients of *Tetrastigma hemsleyanum* [J]. *Forest Research*, 2018, **31**(5): 98-103.

(编辑:潘新社)