Vol. 23 No. 8 Aug. 2007

# 无糖培养条件下大型组培箱内 CO<sub>2</sub> 变化规律及对组培苗的影响

曲英华,周 炜,李 艳,邓

(1. 中国农业大学农业部设施农业生物环境工程重点开放实验室,北京 100083)

摘 要:该文采用中国农业大学农业部设施农业生物环境工程重点开放实验室研制的设有组培微环境实时监控系统的大 型组培箱,分别对矮牵牛、菊花和番茄组培苗移栽后箱体内 CO2 浓度的变化规律及不同 CO2 增施浓度对无糖组培苗生长 的影响进行了研究。试验表明:移栽后的当天,组培箱内的 CO2 浓度便开始下降,第2d下降速度明显加快,均降至 100 μL/L以下。在移栽后的第 4~5 d,箱体内 CO₂ 浓度下降到 35 μL/L 左右后便不再下降,一直在 30~40 μL/L 之间波动。 因此得出:无糖培养在组培苗移栽后的第2d就应增施CO2,否则会直接影响组培苗的生长。在不同CO2增施浓度试验中, 当光照度控制在 80 μmol/(m²·s)时,CO2 浓度为(650±50)μL/L 时培养出的组培苗生长状况最好。

关键词: 无糖组培; CO2 浓度; 组培苗

中图分类号: Q813.1+2

文献标识码: A

文章编号:1002-6819(2007)8-0216-06

曲英华,周 炜,李 艳,等. 无糖培养条件下大型组培箱内 CO2 变化规律及对组培苗的影响[J]. 农业工程学报,2007,23 (8):216-221.

Qu Yinghua, Zhou Wei, Li Yan, et al. Effect of CO2 concentration transformation rule in the sugar-free large tissue culture box on the tissue-culture plantlet[J]. Transactions of the CSAE, 2007,23(8);216-221. (in Chinese with English abstract)

#### 0 引言

植物组织培养技术的优点在于快速繁殖、脱除病毒 和种质资源保存,其中应用最为广泛的是快速微繁 殖[1-2]。传统的组培技术使用的是含糖培养基,杂菌很 容易侵入培养容器内,并在培养基中繁殖,造成组培植 物污染。为防止杂菌侵入,通常将培养容器完全密闭,这 样很多培养植物就会出现生长缓慢,形态及生理异常等 现象,同时也大大地提高了人工费用。以上诸多不利因 素都严重地制约了组培技术的发展及推广[3]。20世纪 80年代,日本千叶大学古在丰树教授发现传统组培设 施内光照度弱,容器内 CO2 浓度过低是造成组培苗无 法进行光合自养生长的主要原因,据此提出了一种全新 的植物组织培养概念——无糖组培技术,将环境控制技 术和组培技术有机地结合起来。其特点在于以CO2代 替糖作为植物体的碳源,利用工程技术手段调控组培微 环境的气体、光照、湿度等影响因子,以达到促进植物体 自养生长,提高组培苗质量和成苗率,缩短培养周期的 目的[4-8]。

收稿日期:2006-11-05 修订日期:2007-01-11

基金项目:北京市教育委员会都市农业学科群建设项目资助 (XK100190553); 北京市教育委员会共建项目建设计划资助 (XK100190550)

作者简介: 曲英华,博士,副教授,主要从事设施园艺研究。北京 中 国农业大学农业部设施农业生物环境工程重点开放实验室, 100083. Email:quyinghua@cau.edu.cn

无糖组培概念提出后,很多国家的研究人员围绕增 加光照度和 CO。浓度,引进大型培养容器,去除培养基 中的糖等几个方面进行了大量研究,并设计出不同的培 养容器[9-11]。在这些研究中,由于研究人员所采用的多 为间接增施 CO<sub>2</sub> 方式,即在大型容器中放入带有透气 封口膜的培养瓶,然后向大型容器内增施 CO<sub>2</sub>,这样就 需要成倍地提高 CO2 增施浓度才能够使组培容器内部 的 CO<sub>2</sub> 浓度达到理想的状态[1]。古在丰树通过研究发 现,在间接增施的条件下,当外部的 CO2 浓度达到 1890  $\mu$ L/L 时,组培容器内部的 CO<sub>2</sub> 浓度只有 363  $\mu$ L/L,只 相当于大气中 CO2 的浓度[12]。到目前为止,在大型组培 箱内进行开放式培养,直接增施 CO2 的研究还很少,特 别是至今还没有见到在开放式的培养状态下对容器内 CO<sub>2</sub>浓度变化规律的研究,而CO<sub>2</sub>的消耗规律对于准 确确定 CO<sub>2</sub> 增施工艺有着重要的意义。

为此,我们采用大型箱体内开放式培养的方法,移 栽后首先不增施 CO2,实时监测箱体内 CO2 浓度的变 化规律,当确定箱体内 CO2 浓度降至一定浓度并维持 不变后,将光照期间的 $CO_2$ 浓度补充到(350±50) μL/L,直至培养结束,另外,还进行了不同 CO<sub>2</sub>,增施浓 度的试验,以研究大型培养容器内无糖组培的 CO2 增 施时间及增施浓度对组培苗的影响。

## 1 材料与方法

试验材料为番茄、矮牵牛和菊花组培苗,将在传统

组培条件下繁育的组培苗剪成 1 cm 长,并带有 1 个叶片(番茄)或 2 个叶片(菊花)或 2~3 个叶片(矮牵牛)的茎节段,然后移栽在蛭石基质上。培养容器采用的是 15 cm×22 cm×4 cm 的医用托盘,每盘盛放蛭石 240 g,并添加 200 mL 的 1/2MS 营养液,不添加糖。每盘移栽组培苗 21 株,移栽后直接放在大型组培箱(135 cm×55 cm×22 cm)中,大型组培箱内可容纳托盘 12 个,共移栽组培苗 252 株。

该组培设备为本实验室研制的基于可编程控制器 (PLC)的无糖组培微环境控制系统,系统采用 Modicon TSX Neza 型中的 TSX08CD6AC PLC 及 TSX08EA4A2 模拟扩展与上位机组成的监控系统对组培箱内的气体环境进行监控,PLC 对  $CO_2$  增施阀、搅拌风扇、除湿器等进行控制,对箱内的  $CO_2$  浓度、温度和湿度等环境参数进行采集并定时记录。当与上位机连接并通讯时,上位机可以实时监测各个环境参数,也可不定期下载记录在 PLC 上的历史数据 [13.14],其结构如图 1 所示。

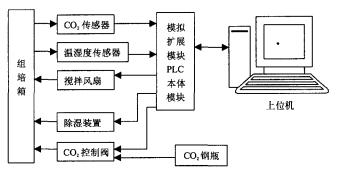


图 1 控制系统总体结构框图

Fig. 1 Architecture of the control system

 $CO_2$  增施控制是当  $CO_2$  传感器检测到组培箱内  $CO_2$  浓度低于设定的最低值时,PLC 向电磁阀和风机继电器输出开/关信号,电磁阀动作,向组培箱内加入定量的  $CO_2$  气体,同时启动搅拌风扇(箱体内共设置两个20 W 的轴流式小风扇)。搅拌风扇安装在组培箱内部,开启时吸入的是组培箱内的空气,同时,组培箱内温度场的梯度影响很小,可以忽略。当高压、高浓度的  $CO_2$  气体从气管喷出时,结合风扇的作用,气体呈自由淹没等温射流状态,在射流卷吸作用下,其边界临近的静态气体随之运动,形成更大流量的射流,从而使  $CO_2$  气体在具有一定流速的空气中进一步与箱内的空气混合,达到均匀分布[15]。培养期间将光照度控制在80  $\mu$ mol/( $m^2 \cdot s$ ),光照周期为 12 h,从7:00到19:00,培养温度控制在(25±1)  $\Gamma$ 。

# 1.1 移栽后未增施 CO<sub>2</sub> 前组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化 规律

该试验在将番茄、矮牵牛和菊花组培苗移栽到大型组培箱后,首先不增施 CO<sub>2</sub>,实时监测箱体内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化规律,当确定箱体内 CO<sub>2</sub> 浓度降至最低点且稳定不变后,后期将光照期间的 CO<sub>2</sub> 浓度补充到(350±50)µL/L,直至培养结束。培养期间每隔 20 min 利用实时监控系统采集一组数据,然后用 Excel 软件对数据进行处理,绘制 CO<sub>2</sub> 浓度变化曲线,研究组培容器内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化规律。

## 1.2 不同 CO<sub>2</sub> 增施浓度对矮牵牛无糖组培苗的影响

从移栽后的第二天开始分别将箱体内 CO₂ 浓度设定为(350±50)、(650±50)和(950±50)μL/L,当 CO₂ 传感器检测到组培箱内 CO₂ 浓度低于设定的最低值时,PLC 向电磁阀和风机继电器输出开/关信号。CO₂ 施放装置采用的是常开和常闭电磁阀各一个配对使用,两电磁阀同时动作,每次向组培箱内定量加入高压、高纯度 CO₂ 气体,使组培箱内的 CO₂ 浓度分别控制在(350±50)、(650±50)和(950±50)μL/L,直至培养结束。同时,在各不同 CO₂ 浓度下,又分别将基质含水率设为 60%、70%和 80% 3 个处理,每处理 4 盘,共 84 株。3 个不同 CO₂ 浓度是在同一控制系统下,分别进行的,每个浓度重复 3 次。对照采用传统的组培方法,即在直径 8 cm 的玻璃瓶内封闭培养,基质采用添加 3%糖的 MS 琼脂培养基。

培养 21 d 后,每处理取样 10 株,对其株高、叶片数、地上部干鲜质量和地下部干鲜质量等指标进行调查,利用 SPSS 统计分析软件对调查结果进行分析。

#### 2 结果与分析

# 2.1 移栽后未增施 CO<sub>2</sub> 前组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化 规律

利用 Excel 软件对实时监控系统采集的 CO<sub>2</sub> 浓度数据进行处理,绘制出 CO<sub>2</sub> 浓度变化曲线。图 2 为矮牵牛移栽后 1~4 d 未增施 CO<sub>2</sub> 前组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化情况。从图中可以看出,在移栽后的第 1 天,组培箱内的 CO<sub>2</sub> 浓度便下降,由原来的 500 μL/L 左右,降至450 μL/L 左右,然后,暗期随着呼吸作用箱体内 CO<sub>2</sub> 浓度升至700 μL/L 左右。第 2 天光照开始后,CO<sub>2</sub> 浓度便出现了明显的下降,从 700 μL/L 左右降到了 100 μL/L以下,第 2 天,第 3 天箱体内 CO<sub>2</sub> 浓度暗期虽然随着呼吸作用有所上升,但已经出现了逐渐下降的趋势,第 4 天,箱体内的 CO<sub>2</sub> 浓度下降到 35 μL/L 左右后便不再下降,而是在 35 μL/L 附近上下波动(如图 5 所示)。从图 2 还可以看出,随着箱体内 CO<sub>2</sub> 浓度的降低,CO<sub>2</sub> 浓度的下降速度逐渐减缓。

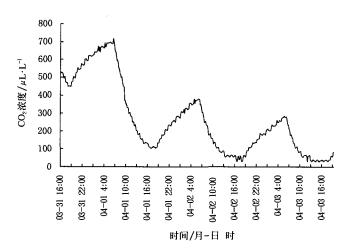


图 2 矮牵牛组培苗移栽后 1~4 d 内组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化 Fig. 2 Changes of CO<sub>2</sub> concentration in the box of petunia tissue-culture plantlet after transplanting for 1~4 days

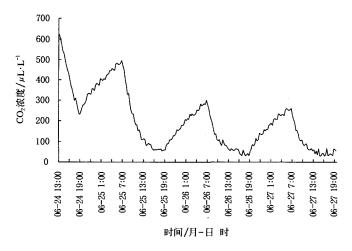


图 3 菊花组培苗移栽后 1~4 d 内组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化 Fig. 3 Changes of CO<sub>2</sub> concentration in the culture box of chrysanthemum tissue-culture plantlet after transplanting for 1~4 days

从图 3 可以看出,移栽菊花组培苗后,其组培箱内的  $CO_2$  浓度变化规律同矮牵牛基本相同,移栽后的第 1 天,组培箱内的  $CO_2$  浓度便出现下降,由原来的 600  $\mu$ L/L 左右,降至 250  $\mu$ L/L 左右,下降幅度之所以远大于矮牵牛第 1 天  $CO_2$  浓度下降的幅度,是由于菊花是上午移栽到箱体内的,经过了较长时间的光合作用,而矮牵牛是下午移栽到箱体内的,当天只经过了较短时间的光合作用。然后,暗期随着呼吸作用箱体内  $CO_2$  浓度 升至 500  $\mu$ L/L 左右。第 2 天光照开始后, $CO_2$  浓度便明显下降,从 500  $\mu$ L/L 左右降到了 100  $\mu$ L/L 以下,第 4 天,箱体内的  $CO_2$  浓度下降到 35  $\mu$ L/L 左右后,便不再继续下降,而是在 35  $\mu$ L/L 附近上下波动(如图 5 所示)。

图 4 为番茄组培苗移栽到组培箱内后 1~5 d,CO<sub>2</sub>

浓度变化曲线,变化趋势与矮牵牛和菊花相同。

图 5 是将图 2、图 3、图 4 中箱体内  $CO_2$  浓度降至 35  $\mu$ L/L 左右后上下波动的详细情况进行放大比较,从下午 14:00 到 19:00 光照结束,箱体内  $CO_2$  浓度一直在  $30\sim40$   $\mu$ L/L 之间波动,这说明此时容器内的光合作用和呼吸作用达到了平衡状态。

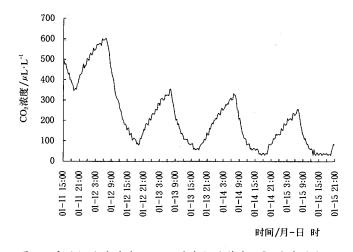


图 4 番茄组培苗移栽后 1~5 d 内组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度的变化 Fig. 4 Changes of CO<sub>2</sub> concentration in the culture box of tomato tissue-cultrure plantlet after transplanting for 1~5 days

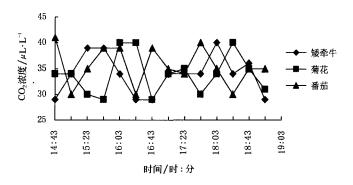


图 5 三种不同组培苗的 CO<sub>2</sub> 补偿点 Fig. 5 CO<sub>2</sub> conpensation point for three different tissue-culture plantlets

#### 2.2 不同 CO<sub>2</sub> 浓度对矮牵牛无糖组培苗的影响

从表 1 中可以看出,当光照度设置为 80 μmol/(m²·s)时,组培箱内 CO<sub>2</sub> 浓度控制在(650±50) μL/L 培养出的组培苗生长健壮,其地上部干鲜质量和地下部干鲜质量都明显优于其他两个浓度区,其次是 CO<sub>2</sub> 浓度控制在(950±50)μL/L 处理,(350±50)μL/L 浓度下培养出的组培苗地下部生长较差。从各不同增施 CO<sub>2</sub> 浓度的基质含水率来看,不同增施 CO<sub>2</sub> 浓度下,最适基质含水率不同,以地下部质量为主要考察指标,(350±50)μL/L 浓度下,基质含水率在 60%时组培苗

生长最好;而在(650±50)μL/L 和(950±50)μL/L 浓度下,基质含水率为70%时组培苗生长最好。图6为组培箱内 CO₂浓度控制在(650±50)μL/L 时,各不同基质含水率对组培苗的影响。处理1(基质含水率60%)的组培苗根系发育好,但茎叶比较矮小,处理2(基质含水率70%)的根系和茎叶发育的都很好,处理3(基质含水率80%)的根系发育不良,无论是发根数还是根长都明显不如处理1和处理2。但3个不同基质含水率下培养出的无糖组培苗,特别是处理1和处理2其植株整体生长状况都明显优于传统条件下培养的组培苗。

由 CO<sub>2</sub> 增施浓度与基质含水率相互作用关系可见,同一 CO<sub>2</sub> 浓度三个不同基质含水率条件下培养出的组培苗其各项生长指标基本处于同一水平。这表明,

在本研究的条件下,CO<sub>2</sub> 浓度的变化对矮牵牛组培苗生长的影响要远远大于基质含水率变化的影响。

#### 2.3 无糖组培与传统组培植株生长状况的比较

在 2.1 试验中,当组培箱体内 CO<sub>2</sub> 浓度降至一定浓度后,将光照期间的 CO<sub>2</sub> 浓度补充到(350±50) µL/L,直至培养第 21 d 结束后,分别对无糖培养条件下和传统培养条件下的矮牵牛、菊花、番茄组培苗进行调查。结果表明:无糖组培苗和传统组培苗的成活率均达到 100%。但无糖培养的组培苗叶色浓绿,叶片大而厚,且叶片上绒毛多,节间距小,植株健壮;而传统培养的组培苗叶色淡绿,叶片细小卷曲,节间距大,茎部细长,呈明显的徒长状态(图 7)。在 2.2 试验中也有同样的倾向(图 6)。

表 1 不同 CO<sub>2</sub> 增施浓度及基质含水率对矮牵牛组培苗生长的影响

Table 1 Effects of different CO2 concentrations and media moisture on the growth of petunia tissue-culture plantlet

实验处理	株高/cm	叶片数	地上部鲜质量/mg	地下部鲜质量/mg	地上部于质量/mg	地下部干质量/mg
T1-1	2.38±0.36bc	15.2±2.1b	400±60e	64.0±13.0cd	32.9±7.1b	9.44±2.1bc
T1-2	1.36 $\pm$ 0.25e	12.9 $\pm$ 1.1c	$420 \pm 55 de$	25.8 $\pm$ 8.1ce	29.7 $\pm$ 9.3b	$3.23 \pm 0.8d$
T1-3	$2.62 \pm 0.50b$	14.1 $\pm$ 1.6bc	$550 \pm 80 \mathrm{cd}$	25.3 $\pm$ 6.5e	48.1 $\pm$ 8.5a	2.75 $\pm$ 0.8d
T2-1	1.85 $\pm$ 0.31d	14. $2 \pm 2$ . 1bc	$620 \pm 96 \mathrm{bc}$	$104.9 \pm 33.2b$	50.0 $\pm$ 10.1a	12.60 $\pm$ 2.0ab
T2-2	$2.28 \pm 0.48 \text{bc}$	15. $9 \pm 3.9 b$	$740 \pm 120ab$	148.9 $\pm$ 42.5a	48.4 $\pm$ 10.6a	16.72 $\pm$ 2.9a
T2-3	$2.61 \pm 0.28b$	18.2 $\pm$ 2.1a	$830 \pm 100a$	134.4 $\pm$ 30.4a	51.9 $\pm$ 12.3a	12.91 $\pm$ 3.1ab
T3-1	$2.08 \pm 0.59$ cd	14.5 $\pm$ 2.0bc	$470 \pm 68 de$	64.5 $\pm$ 10.1cd	32. $4 \pm 9$ . 1b	10.70 $\pm$ 1.1bc
T3-2	$2.62 \pm 0.25 $ b	$16.0 \pm 2.3b$	$450 \pm 60 de$	80. $5 \pm 12$ . 3bc	30.2 $\pm$ 9.5b	12. 16 $\pm$ 1. 2ab
T3-3	3.51±0.62a	16.3±1.8ab	$420 \pm 70 de$	47. $4 \pm 15$ . 1de	30.0 $\pm$ 10.1b	6.81 $\pm$ 2.2cd

注:T1-1,2,3 为组培容器内的 CO2 浓度控制在(350±50)µL/L 时的三个不同基质含水率(60%,70%,80%)处理;

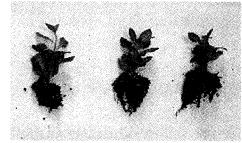
T2-1,2,3 为组培容器内的 CO2 浓度控制在(650±50)µL/L 时的三个不同基质含水率(60%、70%、80%)处理;

T3-1,2,3 为组培容器内的 CO<sub>2</sub> 浓度控制在(950±50)μL/L 时的三个不同基质含水率(60%、70%、80%)处理。

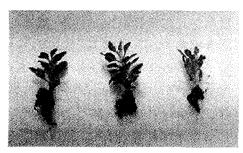
同列不含相同字母表示差异显著 ( $\alpha=0.05$ , Duncan 新复极差法)。



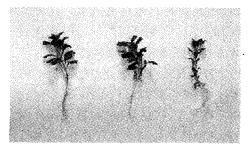
a. 处理 1: 基质含水率 60%



b. 处理 2: 基质含水率 70%



c. 处理 3: 基质含水率 80%

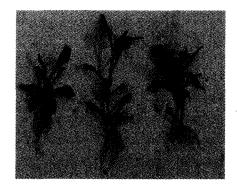


d. 传统组

图 6  $(650\pm50)\mu$ L/L 浓度 CO<sub>2</sub> 下不同基质含水率培养出的组培苗

Fig. 6 Tissue-culture plantlet under the condition of different moistures and  $CO_2$  concentration of  $(650\pm50)\mu L/L$ 





a. 无糖组培

b. 传统组培

图 7 不同组培条件下培养的矮牵牛组培苗

Fig. 7 Petunia tissue-culture plantlet under photoautotrophic and traditional conditions

表 2 列出了两种不同条件下培养的组培苗各项生长指标,分别从番茄、矮牵牛、菊花无糖组培苗和传统组培苗中各取样 10 株,计算其平均值。三种植物传统组培苗的株高都高于无糖组培苗,其中矮牵牛和菊花达到了显著性差异。叶片数矮牵牛和番茄无糖组培与传统组培

没有出现显著性差异,菊花无糖组培的叶片数则明显多于传统组培。无糖组培的根长(最长根长)、地下部干鲜质量都远远大于传统组培,特别是矮牵牛和菊花的地下部干质量比传统组培高出了1~4倍。无糖组培克服了传统组培苗茎叶纤细、徒长、根系不发达的缺点。

#### 表 2 组培苗生长性状对比表

Table 2 Tissue-culture plantlet growth properties

试验处理	株高/cm	叶片数	根长/mm	地上部鲜质量/g	地下部鲜质量/mg	地上部干质量/mg	地下部干质量/mg
番茄无糖培养	8.72±1.42a	5.3±0.7a	63.8±0.6a	0.38±0.06b	29.9±0.01a	31.5±0.01b	2.8±0.001a
番茄传统组培	$9.26 \pm 2.04a$	$5.7\pm1.0$ a	$44.0 \pm 0.8b$	$0.51 \pm 0.10a$	$18.2 \pm 0.01b$	$44.7 \pm 0.01a$	$2.1 \pm 0.001b$
矮牵牛无糖培养	1.36 $\pm$ 0.25b	12.9 $\pm$ 1.1a	46.9±1.6a	$0.40 \pm 0.06a$	$64.0 \pm 0.02a$	32.9 $\pm$ 0.01a	9.44 $\pm$ 0.005a
矮牵牛传统组培	3.41 $\pm$ 0.31a	13.1 $\pm$ 2.3a	$13.8 \pm 0.2b$	$0.25 \pm 0.07b$	17.0 $\pm$ 0.01b	$17.1 \pm 0.01b$	$1.44 \pm 0.001b$
菊花无糖培养	$3.21 \pm 0.29b$	8.4 $\pm$ 0.9a	$63.4 \pm 0.9a$	$0.23 \pm 0.02a$	$53.5 \pm 0.01a$	22.4 $\pm$ 0.00a	$6.23 \pm 0.001$ a
菊花传统组培	4.90 $\pm$ 0.77a	6.4±1.0b	48.9 $\pm$ 0.7b	$0.24 \pm 0.05 $ b	29.1 $\pm$ 0.01b	$17.5 \pm 0.00b$	$3.29 \pm 0.001b$

注:同列不含相同字母表示差异显著 (a = 0.05, Duncan 新复极差法)。

#### 3 结论和讨论

通过对矮牵牛、菊花、番茄三种组培苗的无糖开放式培养发现,组培箱内  $CO_2$  浓度具有相似的变化规律,即在移栽后的当天,组培箱内的  $CO_2$  浓度便开始下降,第 2 天下降速度明显加快,均降至  $100~\mu$ L/L 以下。这说明在采用无糖基质和增加一定光照度的条件下,带有  $1\sim2$ 个叶片茎节段的组培苗在移栽后就具有一定的光合能力。虽然箱体内的  $CO_2$  浓度在暗期因呼吸作用有所上升,但总体趋势是在不断下降,随着箱体内  $CO_2$  浓度降低, $CO_2$  浓度的下降速度逐渐减缓。在移栽后的第  $4\sim5$  d,箱体内的  $CO_2$  浓度下降到  $35~\mu$ L/L 左右后便不再下降,一直在  $30\sim40~\mu$ L/L 之间波动,这说明此时容器内的光合作用和呼吸作用达到了平衡状态,有可能是达到了  $CO_2$  补偿点。普通 C3 栽培植物的  $CO_2$  补偿点是在  $30\sim50~\mu$ L/L 附近。

根据以上无糖开放式培养箱内 CO2 浓度的变化情

况,在该试验条件下,组培苗移栽后的第2天就应该进行 CO<sub>2</sub> 气体增施,否则组培苗光照期间将处于 CO<sub>2</sub> 饥饿状态,不能有效地进行光合物质的积累,直接影响了组培苗的生长。

当光照度为  $80 \ \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 时,组培箱内  $CO_2$  浓度控制在  $(650\pm50)\mu L/L$  时培养出的组培苗优于  $CO_2$  浓度控制在  $(950\pm50)\mu L/L$  和  $(350\pm50)\mu L/L$  的,这说明在一定的光照度条件下,增施的  $CO_2$  浓度有一个适宜的范围。

从 CO<sub>2</sub> 增施浓度与基质含水率对组培苗影响的程度来看,CO<sub>2</sub> 浓度控制在(650±50)μL/L 时其各基质含水率培养出的组培苗都优于其他两个 CO<sub>2</sub> 浓度的各基质含水率处理;同一 CO<sub>2</sub> 浓度三个不同基质含水率条件下培养出的组培苗的各项生长指标基本上处于同一水平。由此可见,CO<sub>2</sub> 浓度的变化对矮牵牛组培苗生长的影响要远远大于基质含水率变化的影响。

通过无糖培养和传统组培培养的对比试验可以看出,仅将无糖培养箱体内的 CO<sub>2</sub> 浓度补充到大气 CO<sub>2</sub> 浓度水平(350±50)µL/L 左右,就可以明显地促进组培苗的生长。特别是无糖组培苗的形态及各项生长指标完全不同于传统组培苗纤细柔弱的特征,植株健壮,根系发达,近似于普通栽培苗。由此可以推断,无糖组培苗完全不用进行驯化,可直接移栽到穴盘或花盆中,移栽后也基本没有缓苗期,这一点在我们进行的菊花无糖组培试验中已经得到了证明。

#### [参考文献]

- [1] 周 炜,曲英华. 无糖组培技术在我国的研究进展[J]. 温 室园艺,2005,17(6);90-92.
- [2] 杨武振,王 荔,侯典云,等. 无糖组织培养技术研究进展 [J]. 云南农业大学学报,2004,19(3);239-254.
- [3] 曲英华,胡秀婵,吴毅明. 植物组织培养新技术:光独立培养法[J].农业工程学报,2001,17(6):90-92.
- [4] Fujiwara K, Kozai T, Watanble I. Development of a photoautotrophic tissue culture system for shoot and/or plantlets at rooting and acclimatization stages [J]. Acta Hort, 1988, 230:153-158.
- [5] Kitaya Y, Askami K, Kozai T. Development of photoautotrophic plant tissue culture system using CO<sub>2</sub> from shiitake mushroom[J]. Acta Hort, 1995,393:195— 202.

- [6] Kozai T, Chieri, Byoungr J. Environmental control for the large-scale production of plants through in vitro techniques [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1997,51:49-56.
- [7] Kozai T, Hiroshi O, Fujiwara K. Photosynthetic characteristics of cymbidium plantlet in vitro [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1990,22;205-211.
- [8] Niu G, Kozai T. Simulation of the growth of potato plantlets cultured photoautotrophically in vitro[J]. Trans ASAE, 1997,40:255-258.
- [9] Tisser B, Jones D, Gallerra D. Construction and use of an inexpensive in vitro ultrasonic misting system[J]. Hort Technology, 1993,3(1):75-78.
- [10] 徐志刚. 组培微环境与规模化育苗设施环境调控的研究 [D]. 南京:南京农业大学,2002.
- [11] 丁永前. 组培苗微生态环境中 CO<sub>2</sub> 控制的研究[D]. 南京:南京农业大学,2000.
- [12] Katsumi O, Kozai T. CO<sub>2</sub> Concentration profiles in a plant tissue culture vessel [J]. Environ Control Biol, 1997,35(3):197-202.
- [13] 李传业. 基于 PLC 的无糖组培箱微环境 CO<sub>2</sub> 增施监控系统的研究[D]. 北京:中国农业大学,2004.
- [14] 李传业,腾光辉,曲英华.基于PLC 的无糖组培微环境控制系统[J].中国农业大学学报,2004,9(4):30-34.
- [15] 王双喜,高昌珍,杨存栋,等. 温室  $CO_2$  气体浓度环境自动控制系统的研究 [J]. 农业工程学报,2002,18(3):85-86.

# Effect of CO<sub>2</sub> concentration transformation rule in the sugar-free large tissue culture box on the tissue-culture plantlet

Qu Yinghua, Zhou Wei, Li Yan, Den Jian

(Key of Agricultural Bio-environment Engineering, Ministry of Agriculture, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: In this paper, the rule of  $CO_2$  concentrations and the effects of  $CO_2$  enrichment concentration on the growth of sugar-free culture plantlets in the culture box with real-time control system after transplanting petunia, chrysanthmum and tomato plantlet were investigated, which was developed by Key Lab of Agricultural Bio-environment Engineering, Ministry of Agricultue, China Agricultural University. The day after transplanting, the  $CO_2$  concentration started to decrease, speeding up the rate of decline in the second day and it dropped below 100  $\mu$ L/L. In the first  $4\sim5$  days after transplanting,  $CO_2$  conpensation dropped to between  $30\sim40~\mu$ L/L. So  $CO_2$  should be enriched on the second day after transplanting, otherwise, it would affect plantlet growth. In different  $CO_2$  enrichment tests, tissue-culture is the best at  $CO_2$  concentration of  $(650\pm50)~\mu$ mol/mol under  $80~\mu$ mol/(m² · s) Photosynthetic Photon Flux Density(PPFD).

key words: sugar-free micropropagation; CO2 concentration; tissue-culture plantlet