

# 组织培养

## 环境控制中的问题及对策

### (一) 密闭式组培间的环境控制

■ 刘文科 杨其长

20世纪80年代后期,日本千叶大学的Kozai教授在原有的植物组织培养方法的基础上,提出了一种新型组织培养方法——无糖组织培养(Sugar-free micropropagation),又称光自养微繁(Photoautotrophic micropropagation)。该技术是环境控制在农业生产中的典型应用,其特点是采用人工环境控制手段,用CO<sub>2</sub>代替糖作为碳源,提供适宜植株生长的光、温、水、气、营养等条件,促进植株的光合作用,从而促进植物的生长发育和快速繁育。此法优点在于:培养基中不用添加糖和生长调节物质,只是通过提高培养器内的光照度、CO<sub>2</sub>浓度以及气流交换速度等来增强组培植物的光合速率。由于该技术尽可能多地依靠组培苗自身的光合能力,解决了传统组培技术由于培养器内CO<sub>2</sub>浓度过低、气体交换不足以及弱光环境等对组培植株的光合能力提升的制约,简化了培养程序,植物苗的成活率和质量大大提高。同时,该技术的应用也为组织培养的工厂化、规模化提供了契机。然而,良好的环境控制是该技术高效应用的前提,而目前我国对组培物理环境因子的调控及其控制系统的研究尚处于起步阶段,且多数研究集中于大型组培箱及其强制供气系统,组培间环境控制方面研究较少,有关组培室内物理环境综合调控技术的相关报道也比较欠缺。因此,有必要对组培室内温度、光照、相对湿度和CO<sub>2</sub>浓度等物理环境因子变化规律、相互关系及其综合控制技术进行深入研究,以推动光独立组织培养技术在我国推广与普及。其中,首先应开发组培间环境控制技术,使得光独立组织培养技术的实用化、规模化、自动化的商业应用成为可能。

2003~2006年,在科技部项目的资助下,中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所环境工程研究室设施工程技术实验室研制并建立了国内首套密闭式无糖组织培养室综合环境控制系统,该系统可对组培间内的温度、湿度、CO<sub>2</sub>浓度进行综合控制,并可维持万级以上的空气洁净度。根据设计建造,以及多次研究经验,系统性能可满足无糖培养的需求。同时,试验结果也表现出系统的一些不足之处,需要进一步研究和改进,以推动该项技术的成熟和应用。本文对该套控制系统的整体性能优缺点进行总结,为今后的工作提出方向和一些借鉴。

#### 组培室的设计

从规模化、工厂化组培苗生产和大幅度提高生产效率的角度出发,密闭式设计是今后组培设施发展的方向。其主要的优点如下:

- ★ 可减少组培室,尤其是植株培养间与外界之间的物质和能量的交换,有利于资源的高效利用;
- ★ 密闭环境有利于环境控制系统发挥作用,调节控制的精准度高,保证培养间环境的高度一致性;
- ★ 密闭式可很好地控制空气质量,如与洁净度相关的指标等。密闭式组培室可设置新风口,按照生物学规律,根据组培苗需要和季节变化进行开闭,提高控制效果,减少控制成本。

另外,根据需要适当地配置辅助房间,将能使组培室功能效率提高。总之,组培室设计应以组培苗为中心,以促进环境因子优化,提高资源利用率和操作成本为目标的。

#### 环境控制系统中的问题与对策

目前,组培室可对温度、湿度、光照、CO<sub>2</sub>浓度、洁净度进行不同程度的控制,其控制精度主要取决于设计要求。同时,由于采用的传感器、控制方式、执行机构和控制元件的不同,在控制效果上差异明显。另外,由于组培苗生长的生物学规律、环境因子控制原理及其相互作用的存在,实际上密闭环境的综合控制也是相当复杂的一个问题。要获得理想的控制效果必须将控制对象的调控容量(组培间的体积)、控制系统负荷以及植物学要求紧密结合起来。否则,顾此失彼,得不偿失,效果难以提高。下面就从环境因子的控制原理与特征、控制精度问题两个方面进行阐述。

##### 环境因子的控制方法与特征

- ★ **温度控制** 温度控制一般很稳定,在触点控制方式下就能达到很好的效果,最高可达到±0.1℃的控制精度。但是,控制差的确定存在季节差异。在夏季,由于组培间内温度升高较快,过低的控制差使空调启动频率过高,能量消耗大,空调寿命降低。因此,适当地提高控制差值是比较明智的选择。在冬季气温较低条件下,可以将控制差适当放大。另外,在冬季气温较低条件下,补充新风过程中,常导致控制曲线超过控制差而下

滑；而在夏季，可能出现温度控制的上扬，这都为控制系统的设计提出了更高的要求。主要原因就是由于新风温度过低或过高，加之传感器存在一定的滞后性缺点，导致空调启动后在控制最低点难以控制造成的。系统中现有的空调机组还不具备比例控制功能，只能采用触点控制。所研制的控制系统在温度控制上完全可满足植物无糖组织培养对环境温度因素控制的需求，也满足实际生产的需要。

★ **湿度控制** 通过加湿器加湿是提高微环境相对湿度最常用的方法。但密闭环境中空气相对湿度不适宜是大空间组培间环境控制的普遍问题。其原因主要是空间体积大，单位湿度波动需要的水气量较高致使加湿器功率不足造成的。减少由于空调制冷过程中除湿造成的组培间气体湿度的波动也是措施之一。当采用空调降温处理时，长伴随着除湿过程，被动地降低湿度。即双重影响着湿度的控制。试验中发现，可采用辅助加湿和应急加湿（和空调联动）两种措施提高加湿效率。辅助加湿可以始终开启，以弥补加湿器功率不足缺点；而应急加湿（和空调联动）是在空调启动时才联动的一种加湿方式，可缓冲由于空调除湿造成的湿度控制值的急剧下降。实际上，由于空调启动时，除湿功能过大，仅靠辅助加湿难以弥补，采用应急加湿（和空调联动）是另外的手段之一。但是最好的方法是通过改变主加湿器自身的调节来进行，即通过改变加湿器控制方式来进行。此外，温度控制与湿度控制之间存在制约关系，其中包含两层意思。首先，众所周知，相对湿度是温度的函数，温度严重地影响着指定空间内的相对湿度。一般认为，温度每变化 $0.1^{\circ}\text{C}$ ，将产生 $0.5\%$ 的相对湿度变化。所以，在温度和湿度控制精度上，湿度控制精度是建立在温度控制精度的基础上的。测量湿度要比测量温度复杂的多，温度是个独立的被测量，而湿度却受其他因素（大气压强、温度）的影响。

★ **CO<sub>2</sub>浓度控制** 通过向空间释放纯CO<sub>2</sub>气体或者经过稀释的CO<sub>2</sub>气体（即CO<sub>2</sub>和空气的混合气体）来实现富集的。但对后一种方法而言，必需配备一定的消毒设备，否则常导致植株污染，造成损失。第一种方式可有效地避免污染的发生，但也存在着释放部位CO<sub>2</sub>浓度过大，不易控制密闭空间内CO<sub>2</sub>浓度的缺点。针对这一情况，在CO<sub>2</sub>浓度控制设计上，采用与洁净系统中空气循环结构组合的设计理念，使高浓度CO<sub>2</sub>气体在气体循环中被充分的稀释与混匀，很好地保证了控制的稳定性，提高了控制精度。不仅是CO<sub>2</sub>浓度控制，湿度和温度控制也是要借助于气体循环才能得到较高的控制效果。

★ **光照控制** 光照控制是实现组培室节能的重要部分，按照组培苗的生理需要做好的光照的控制可大大降低耗电量。节能灯具性能稳定，但不具备连续调节其光照度的性能。严格控制光照时间，通过增减照明灯具的数量，适当调整灯具的位置（或分布）控制光照周期，可很好地满足组培苗的生长需要。

★ **空气洁净度控制** 空气洁净度控制是保证组培苗正常生长，减少悬浮粒子和沉降菌密度过大而造成污染的主要手段。另外，良好的控制质量可使工作环境舒适，有利于保证操作人员的身体健康。虽然，与有糖培养相比，无糖培养本身能够有效地减少微生物

污染的发生频率和危害性，但由于人员的频繁操作，控制系统等的影响，有可能造成微生物的污染。因此，密闭系统中洁净度控制也是非常必要的。洁净系统一般通过风机、风道和多级过滤器组合系统来实现的，维护简单，成本不高，性价比适宜，适宜对规模化无糖培养室配置。另外，洁净系统中的气体循环也是控制系统所必须的，这使两系统有机地结合在一起，相得益彰。目前，我国的洁净研究只局限在控制上，无检测能力，只能凭经验进行控制。今后必需发展检测传感器和自动报警系统，按需及时启动洁净系统，节省能源，提高控制效率。

### 控制精度问题

触点控制和比例控制和PID（Proportional-integral-derivative）控制是目前应用的主要的控制方式。在控制精度上，后者优于前者。但是，精度高低是直接与成本相关联，而且需要合适的执行机构。以中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所研究发展的大型植物无糖培养容器环境控制系统进行分析，温度采用触点控制，湿度和CO<sub>2</sub>浓度采用比例控制。其控制精度可达到温度 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ，湿度可控制在 $\pm 5\%$ ，CO<sub>2</sub>可控制在 $\pm 50\mu\text{L/L}$ 范围内，控制性能很好。控制均匀度问题，即被控制空间中不同点位间环境因子的差异大小是控制效果的另一个重要方面。目前，还很难做到很高的均匀度，需要进一步研究改进措施。密闭式设计可有效地减少外界气候条件的影响。但在一定时期后，为了更新长期积累的室内空气，需要开启新风口进行气体交换。气体交换直接影响环境因子的控制。其原因是外界空气环境与室内差异往往很大，导致干预室内控制质量，引起温度、湿度和CO<sub>2</sub>的变化。

目前，控制系统中温度、湿度和CO<sub>2</sub>浓度控制的方向一般是单向的。即只能把温度、湿度和CO<sub>2</sub>浓度升高或降低，很难实现双向控制。从生物学角度来讲，环境因子的双向调节是很必要的，也能提高控制精度。但是，从节能和组培苗生理生态的需求来讲，实现双向控制也是不很必要。在单向控制条件下，很难使环境因子短周期平衡。以温度控制为例，温度一般是因为灯具照明而产生热量，可通过空调制冷降低到合理的范围内，如此循环达到控制目的。湿度只能加湿，即通过加湿机向组培室内输入超细雾滴，但不能除湿。CO<sub>2</sub>浓度的控制只能补加而不能主动降低，只能通过植株吸收消耗被动降低。因此，加湿达到高限、降温控制达到低限和CO<sub>2</sub>补加到高限时，只能靠气体循环消耗、荧光灯散热、内外气体交换和植株消耗等手段缓慢回升或降低。这一过程将持续较长的时间。在当前的条件下，可以实现双向的调节控制，但成本将成倍增加，其必要性有待探讨。

## 展望

控制系统与洁净技术的结合是无糖组织培养规模化、工厂化生产的必要工程技术措施。随着人们对控制系统不断深入研究，将开发出适合各种生产能力组培室的综合环境控制系统，必将推动无糖培养技术商业化应用，为农业尤其是设施园艺生产提供大量质量高、多品种、成本低的植物苗，推进产业发展。

■ 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所 100081