

组培育苗设施环境调控技术

福建农林大学园艺学院 陈 菁

【摘要】通过对常规组培环境阐述的基础上,比较一些组培环境条件因子调控及其影响效果,并综述了组培设施和环境控制技术的研究进展,揭示了将常规组培技术和新型培养技术相结合,利用高效组培设施、自动化环境控制等技术会给组培种苗的生产注入新的生机与活力。

【关键词】组织培养 环境控制 无糖组培

植物组织培养技术是加快作物繁殖速度的重要手段,同时它也是现代作物育种科学研究的基础工具,具有其他育苗方法无法比拟的优势,是生物技术应用子遗传育种研究的必由之路。但目前仍沿用实验室的试管技术进行生产,在自动化生产方面还不成熟,其中很重要的一个原因就是设施及环境控制技术的相对滞后。组培育苗过程的自动化和操作机器人化能够提高生产率,减少劳动力的投入量,可进一步降低组培苗的生产成本。在国外,许多学者也认为组培的环境控制技术是获得优质种苗及降低成本的必要技术^[1]。因此,开展对组织培养设施及环境自动控制方面的研究有着重要意义。

1 常规组培环境

1.1 培养基内的生长

1.1.1 培养基

常用的是固体培养基和液体培养基,基质内的水分和养分扩散不均匀容易造成空间分布不一致,液体培养基则易使小植株呈水浸状,培养基所含糖类又易产生杂菌污染。

1.1.2 光照

光环境是影响组培苗光合作用和生长的内在因素^[2]。通常为光照为1500~2000LX,光照时间为12 h/d。光环境包括光量、光质和光周期3个因子。培养器内的光量子束,因培养器塞帽种类及培养器与照明灯的相对位置而有很大差异。显然,还随容器的种类、架面的光学性质、周围培养基的配置而有所不同。

1.1.3 温度

整个组培过程中温度均控制在 $(25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,组培室温度在空间和时间上的分布不均匀。

1.1.4 湿度

培养器内相对湿度近于100%,以致造成小植株的

表皮角质层不够发达,从而导致驯化阶段苗成活率降低。培养器内空气的水势大大高于培养器外,因而小苗蒸腾量小,对小苗的光合作用不利^[3]。

气体因培养器内 CO_2 浓度低,限制了小植株的光合作用,而使净同化率降低。容器内的气体流动状况如图1所示,气体流动速度为0~25mm/s,流速过慢会使 CO_2 气体和水蒸气的扩散能力减弱,抑制组培苗的光合作用和蒸腾作用。气流方式还受外环境的气流速度、容器的形状和大小以及组培苗本身的影响^[4]。

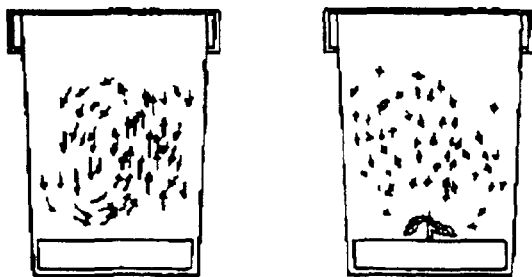


图1 组培容器内的气体流动状态

空气几乎不流动以及乙烯的浓度过大,在这种条件下植株生长纤弱,叶片上调节蒸腾速度的气孔开闭功能极不发达,抑制了发根,也抑制了植株从培养基中吸收水分,蜡质层形成困难,植株徒长,叶绿素含量低,植株光合能力低,生理代谢缓慢异常。

1.2 驯化阶段

常规驯化方法,一般是在温室栽培床上铺聚乙烯薄膜,上盖箱形聚乙烯薄膜,再罩上遮阴网(棉纱网、塑料网等)遮光。用薄膜密闭和遮光的目分别在于保持箱内高湿度,抑制因水分损失和培养基溶质渗透压升高所导致的死苗现象。两者同时抑制组培苗的光合作用,是驯化期间组培苗生育环境的重要问题。若按小苗的生育要求进行温、光、水、 CO_2 和养分等环境控

制来驯化,会培养出粗壮的组培苗^[5]。

2 组培环境的调控

2.1 去糖

培养基中含有糖是各种微生物生殖繁衍的温床,一旦被微生物感染,将很快在培养基上繁殖,造成污染,使培养基干枯、植株死亡,使组培苗的成本上升,还不利于组培苗的规模化生产。另外,小植株长期靠糖进行培养,导致叶片表层结构发育不良,气孔开闭功能差,叶片小,叶绿素含量降低,使其丧失光合作用能力或光合作用受到抑制^[6]。因此可以打破常规加糖技术,辅助以增施 CO₂ 作为其碳源。

2.2 增施 CO₂

在组培条件下生长的小苗具有一定的光合能力,而光照期间组培容器中 CO₂ 得不到及时补充使得组培苗长期处于 CO₂ 饥饿状态,且组培苗长期处于高湿、弱光条件下,严重影响了光合作用,低 CO₂ 浓度限制了小植株的光合作用,净同化率低,小植株呈半自养或完全异养生长状态,不利于小苗在培养瓶内及炼苗阶段乃至定植后的生长^[5]。组培苗较大田苗生长要细弱得多,增施 CO₂ 还可促进侧枝的形成,提高增殖率^[7]。可使试管苗提早生根,提高生根率^[8]。高浓度的 CO₂ 和低浓度的 CO₂ 能够降低组培苗的光呼吸作用,提高组培苗的净光合率^[4]。

通过增施 CO₂ 使组培苗具有更优良的生物学性状:抽叶多,植株健壮,节间距短,根系发达,干物质积累多,繁殖系数大,净光合率提高,植株整体发育进程加快。

2.3 改变培养基材料

传统上采用凝胶剂(如:琼脂、卡那胶)作为组培苗常用的支撑材料,小苗根系弱,容易在移栽时候受伤,而用蛭石、珍珠岩、砂、塑料泡沫、石棉、陶棉、纤维素等多孔的无机材料作培养基质。由于其良好的透气性,使植物的根区环境中具有较高的氧浓度,从而促进了植株根系的发育,而且多孔的无机材料较价格昂贵的琼脂成本低^[9]。

2.4 光照条件的改善

采用自然光,或者改善人工光源,组培室用稀土元素粉白色荧光灯、卤素粉白色荧光灯以及植物生长灯,同一种光源在不同的植物中会产生不同的效果。然而光照强度和温度对组织培养的形态建成有着重要的调控作用,并且这两个因素又是相互联系的。例如:在采

用 2500LUX ~ 3000LUX,光照 13h,室温 (25 ± 2)℃,培养物只能存活 6 个月;若以弱光照(850LUX)左右,较低温度(15 ± 2)℃,则可以使培养物存活延至 17 个月左右,表明降低温度和弱光照条件对培养物保存有利^[10]。

2.5 移栽过渡阶段

可利用全光喷雾技术,可适度采光、降低温度、减少病虫害发生,使组培苗生长快,根系发达,苗体健壮,缩短过渡栽培的时间,提高移栽的成活率。一般 7d 内 0.5h 喷雾 1 次,喷雾 30min,7d 后可 1h 喷雾 1 次,每 3d 喷洒 1 次营养液,营养液的配方多种多样,一般将 1/2MS 稀释 10 倍后喷洒^[11]。

3 环境调控的设备及其应用

对组培环境的调控所采取的措施,国内外也都进行了相应的研究,开发利用了一些设备和技术对其环境进行适当的改善。

3.1 无糖组培技术

无糖组培技术是日本千叶大学古在丰树教授研究开发的一种新的植物组培技术。他首先研究发现容器中的小植株也具有光合自养能力,从而考虑改变植株的营养方式,以 CO₂ 作为植株的碳源,同时改善植株的生理和能量代谢,使植株更好的发挥自身的光合能力,降低生产成本^[12]。

3.1.1 应用现状

昆明环境科学研究所肖玉兰等人自行研究了全套无糖组培快繁装置,对非洲菊等多种植物进行了无糖培养技术的研究,开发了大型的培养容器和 CO₂ 强制性供气系统应用于生产,并取得了一定的效果。

云南省农业科学院园艺作物研究所在取得相关技术专利使用权后,进行了 140m² 无糖培养室的改造。以百合、蝴蝶兰、红掌、非洲菊、情人草、勿忘我、彩色马蹄莲等昆明当地常规组培种苗生产种类为材料,对无糖培养技术原材料使用、环境控制、光能利用率、生产工序、生产成本、生长速度、生产效率、移栽成活率等进行了验证及实验^[9]。

丁永前等也自行设计了用于无糖组培的 CO₂ 增施监控系统,运用这系统突破组培苗有糖培养的限制,促成组培苗光合自养,在一定规模下对组培苗的无糖培养进行了实践。硬件包括微机系统、监控设备、组培箱和气源组件等部分(图 2、图 3、图 4)。微机系统主要完成数据的采集、处理和发出控制指令。组培箱提供一个 CO₂ 适时增施的组培苗生育环境,气源则提供一

定浓度的 CO_2 空气混合气体,传感器将从组培箱内检测到的 CO_2 浓度值以模拟信号的形式传递给多功能转换卡,经 A/D 转换后被计算机读取并经控制程序分析运算后将控制指令返回给多功能卡,通过功能卡的 D/O 口向继电器发出控制指令,进而控制电磁阀的开闭达到控制组培箱内 CO_2 浓度的目的^[13]。

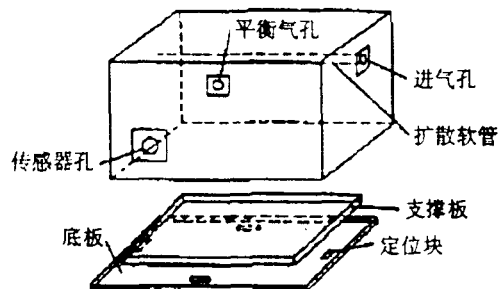


图2 组培箱

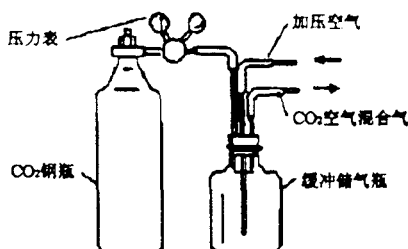


图3 气源组件

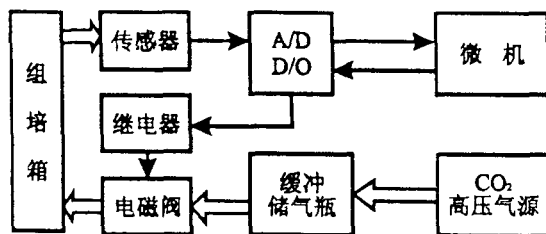


图4 控制系统结构

在此基础上徐志刚等人设计了新型组培育苗气体微环境自动综合调控系统,对组培气体环境中 CO_2 浓度和相对湿度实施适宜参数组合调控,克服了前人设计的系统中存在的无法实现自动化调控的缺点,同时还增加了调控湿度的功能并以叶用甘薯组培苗为实验材料作对比实验,实验结果表明系统工作稳定,组培苗生长健壮发育正常^[14]。

3.1.2 发展前景

在无糖培养模式中,为了确保植株的健壮生长,进行培养箱内 CO_2 浓度、湿度、温度、光照强度的自动监

测及综合调控,是确保植株的健壮生长的关键。通过培养基质配比、不同培养阶段的培养条件如温湿度、光照强度、 CO_2 浓度、通气时间、气流速度等相关因子的调控可生产出优于常规组培的种苗。在此基础上,采用可进行温、湿、光、 CO_2 控制和具备灌溉系统及其它先进设备的可控温室进行优质组培种苗的专业化生产是可行的。

无糖组培的发展需进一步与产业化生产相结合,开发温室自控无糖培养生产工艺及成套设施设备,通过温室环境控制系统,充分利用自然光,进行温度、湿度、 CO_2 浓度调控,仅在组培室内进行组培增殖以前的操作程序,开展组培苗微型扦插技术的研究,实现组培生根苗的一次性成苗生产。从而使这项技术真正向规模化、自动化、低成本、易操作且适合我国国情的产业化方向发展。常规组培技术和无糖培养技术的结合,将给组培种苗的生产注入新的生机与活力^[9]。

3.1.3 存在问题

3.1.3.1 前期投入大,对设备要求高

3.1.3.2 培养容器的面积有限

在一个培养周期内,一个培养箱最多成苗 1500 ~ 2000 株,一个 28m^2 的无糖培养室一个月内最多可生产种苗 10 万多株,难以适宜产业化生产;室内培养空间有限,植株在培养苗盘内采用密植的方式,培养 20d 左右生根后,需进行移栽。

3.1.3.3 无糖技术隔离操作规程较为繁琐

无糖技术原理及箱式培养容器的发明,主要是针对植物组培快繁阶段的环境调控,所以在技术操作过程中,强调培养容器、培养基质、操作器具、通入气体及培养外界环境的无菌要求,隔离操作规程较为繁琐。

3.1.3.4 箱式培养容器相对密闭,温度不易调控

在一定范围内进行控制成本较高;在箱式培养的初期,设想到了培养容器的相对无菌性,在大多数情况下不宜打开容器。但在实际的操作中,种苗的不同生长阶段需人工进行温湿度的调控,现有的无糖培养设施未考虑到相关设备,苗期管理不便^[9]。

3.2 综合监控器

目前我国研制了植物组培环境计算机自动监控网络系统,实现了多点温度、湿度、光照,以及环境 CO_2 浓度的远距离自动集中监控。由多参数智能仪表为前端机组成的环境参数自动监控计算机集散系统,用于试管香蕉苗培养环境的监控,监测两个假植苗大棚及继代芽、生根苗等 3 个培养室的环境参数,并对培育室环境参数实现控制^[15]。

植物生长在不同时期的温度、湿度、光照、CO₂ 浓度的要求不同,只需通过键盘输入相应的参数,能对不

同物理条件下的植物的生长环境进行监控,在应用中具有相当的灵活性。

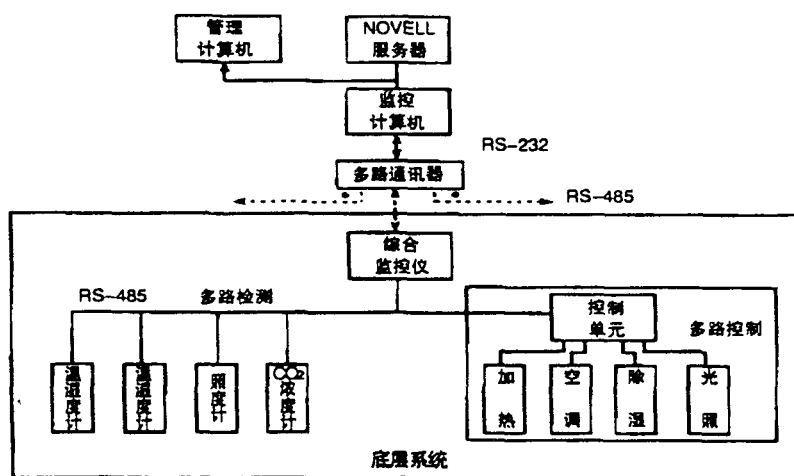


图5 植物组培环境计算机自动监控网络系统

曹同坤等对一大型的组培苗生产实验装置及环境测控系统进行了研究,该实验装置及环境测控系统改变了以往的小型试管生产的模式,环境测控自动化程度较高,能够实现组培苗的批量生产,提高组培苗的生产效率,是对组培苗生产方式的一次有益探索,对以后

组培苗的生产将起到积极影响^[16]。

3.3 驯化机器

古在等研制了一种驯化装置(图6),以期达到加强组培苗对环境的适应能力,提高光合能力,增加成活率,缩短驯化时间的目的^[5]。

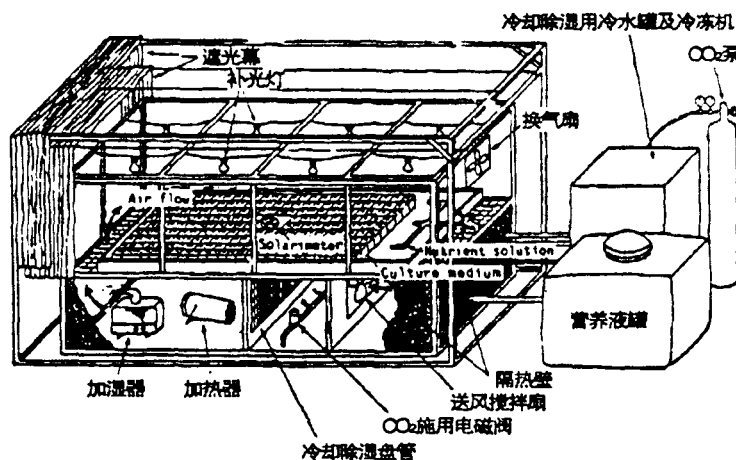


图6 驯化装置模式

上部为生育室(2×1.5×0.5m²),下部为环境控制室

利用上述驯化装置及方法驯化的草莓组培苗的枯死率仅为3.5%,而常规法达20.3%,但是驯化期间施用CO₂使生长受到促进,根、株高和叶面积增加,但气孔阻抗也增加,从而使组培苗在驯化结束后栽到外界时生长受到限制,抑制程度随CO₂施用浓度而异。

4 结论

组培育苗的环境控制已经成为利用组织培养技术进行大规模工厂化生产中不可忽视的问题,控制环境能够促进组培苗作光合自养型生长,进而为组培苗的规模化、工厂化生产提供有利条件。新型高效组培设

施、自动化环境控制等技术的进步及其在组培育苗产业中的广泛应用是降低组培苗成本的基础性手段和主要途径,将常规组培技术和新的培养技术相结合,会给组培种苗的生产注入新的生机与活力,这也是今后组培生产发展所要特别关注的问题。

参 考 文 献

- [1] Toyoki Kozai and Mary. Ann Lila Smith Environmental control in plant tissue culture—general introduction and overview Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture 荷兰: Kluwer Academic Publisher, 1995, 301—318
- [2] Desjardins Y. Factors affecting CO₂ fixation in striving to optimize photoautotrophy in micropropagated plantlets. Plant Tissue Culture and Biotechnology. 1995, 1(1): 13—25
- [3] 古在 等. 农业气象[J]. 1986, 42(2): 119
- [4] 徐志刚, 丁为民, 丁永前 等. 规模化组培苗设施环境与控制的研究进展[J]. 农业机械学报, 2002, 33(1): 106—110
- [5] 史跃林. 组培苗的生育环境与调节[J]. 植物生理通讯, 1990, (3): 65—67
- [6] 蔡能, 易自力, 李祥. 改善植物大规模组织培养条件的研究进展[J]. 植物学通报, 2003, 20(6): 745—751
- [7] 李晓玲, 由继红, 杨文杰. “萃博一号”梨试管苗的光自养生长和光混合营养生长[J]. 特产研究, 2000, 22(1): 11—12
- [8] 陈文龙, 冯学赞, 刘立秋. 试管苗气培生根法的研究及其在工厂化育苗中的应用[J]. 生态农业研究, 1993, 1(2): 84—88
- [9] 屈云慧, 熊丽, 吴丽芳 等. 无糖组培技术的应用及发展前景[J]. 中国种业, 2003, 12
- [10] 王立 等. 茶种质资源室内保存技术研究—茶树茎切段试管苗保存技术[J]. 茶叶科学, 1996, 16(1): 37—42
- [11] 史靖, 郑伟珍, 王超. 全光喷雾技术在组培苗过渡栽培中的应用[J]. 河北林业科技, 2001, 4(2)
- [12] 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)
- [13] 丁永前, 丁为民, 崔瑾 等. 组培环境 CO₂ 增施监控系统的设计与试验[J]. 农业工程学报, 2002, 18(1)
- [14] 徐志刚, 崔瑾, 王立文 等. 组培育苗气体微环境自动调控系统的研制与试验[J]. 农业工程学报, 2003, 19(6)
- [15] 龙庆华, 陈天钧, 叶穗红 等. 植物组培环境计算机自动监控网络系统[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 1998, (3): 70—75
- [16] 曹同坤, 阚建文. 大型组培苗生产实验装置的研究[J]. 山东工程学院学报, 2001, 15(4)

作者简介

陈菁: 福建农林大学 05 级茶学硕士研究生。