

文章编号: 100226819(2001)0620090203

植物组织培养新技术: 光独立培养法

曲英华¹, 胡秀婵², 吴毅明²

(1. 中国农业大学; 2 中国农业科学院气象所)

摘要: 该文介绍了近年来日本学者开发的光独立营养培养法(无糖培养法), 在快繁阶段, 导入大型容器, 去掉培养基中的糖分, 增施 CO₂, 并对组培环境进行调控, 为组培苗的产业化生产提供了可能性。但培养容器内环境因子对培养植物的生长及形态的影响, 还有很多问题有待进一步研究。光独立营养培养的大型培养容器或小型设施以及机械化、自动化系统也有待进一步的开发。

关键词: 组织培养; 光独立营养培养法(无糖培养法)

中图分类号: Q 813.1⁺2 **文献标识码:** B

近几年来, 我国对种苗的需求量大大增加, 仅仅靠目前传统的育苗方法远不能满足日益增长的需要, 种苗生产逐渐开始了专业化、产业化的生产。从世界规模来看, 种苗生产企业的数量在不断增加。穴盘育苗和组培苗生产逐渐普及。利用穴盘和组织培养的方法培育出来的优质苗, 可以减少后期栽培中农药、肥料的施用量, 减轻人工管理的劳力, 达到增产、增收的目的。

一般来说, 穴盘苗容易适应栽培环境, 可使产量和品质得到提高。20 世纪 80 年代中期, 我国引进穴盘育苗技术, 该技术在“八五”和“九五”期间都被农业部 and 科技部列为国家重点科研项目。可以说, 无论从美国、荷兰, 还是日本这些发达国家的经验来看, 目前穴盘育苗是实生苗(即用种子育苗)种苗生产产业化的最有效的方法。

另一方面, 对于无性繁殖苗木, 则多采用组织培养的育苗方法。组培苗可大量生产具有优良遗传性状, 而且不被病原菌污染的种苗, 但目前由于组培苗的生产成本较高, 除利用价值较高的园艺作物外, 普及率还不是很。

除人工费用以外, 培养植物生长缓慢, 培养及驯化过程中植株死亡率高, 形态及生理异常多等都是造成组培苗生产成本高的原因。这主要是由于目前的组培方法使用了含糖培养基, 杂菌很容易侵入培养器和在培养基中繁殖。为了减少因杂菌繁殖造成

的培养植物损失, 必须采用无菌条件下的小型培养器的手工操作。

由此可知: 小型培养容器的有糖培养, 也就是我们现在所使用的常规培养, 具有以下特点:

1) 由于培养基中含有糖, 一旦被微生物(杂菌)侵染, 将很快在培养基上繁殖, 造成污染, 使培养植株枯死。

2) 由于培养容器是密闭的, 所以容器内相对湿度很高, 一般都在 96% 以上, 甚至达到 100%, 培养容器内壁经常结露。在这种相对湿度高和弱光环境下(一般组培容器内的光照度只有 3 000 lx, 远低于室外和温室内)植株生长纤弱, 叶片上调节蒸腾速度的气孔开闭机构极不发达, 叶表面基本没有形成充分的蜡质层, 植株徒长, 严重的还会出现水浸状。而且培养植物的蒸腾弱, 抑制了植物从培养基中吸水, 也抑制了植物的发根, 因此从培养容器中移出后, 容易引起植物体的过度蒸腾, 使生育延缓或枯死。

3) 由于培养容器是密闭的, 所以在照明开始 1 ~ 2 h 之内, CO₂ 浓度迅速下降, 基本在 100 μL/L 以下, 这个浓度从植物生理学上来讲, 几乎接近了 CO₂ 浓度的补偿点, 即净光合速度等于零。培养植物的光合成明显受到抑制, 植株生长缓慢。

4) 由于容器内的空气几乎不流动, 所以乙烯浓度和暗期的 CO₂ 浓度较高, 造成植株生理代谢异常。

为解决以上问题, 从 1992 年开始日本千叶大学古在丰树教授的研究小组进行了无糖培养法(光独立营养培养法)的开发和研究。他们首先注意到在温

收稿日期: 2000212207 修订日期: 2001205223

作者简介: 曲英华, 博士, 副研究员, 北京市海淀区清华东路 中国农业大学东校区 195 信箱, 农业部设施农业生物环境工程重点开放实验室, 100083

室内或露地栽培的植物,即使开始只有米粒大小的叶片,也能长成一棵很大的植株,实验证明,只要具有 20 mm^2 含有叶绿素的叶片,就能够独立地进行光合作用。植物组织培养的快繁阶段,基本上使用的是带有一段茎及一片或数片叶片的植物片。也就是说在这一阶段,即使不在培养基中加糖,植物片也应该能够进行光合作用,自养生长。如果把培养基中的糖去掉,污染就可以大大减轻,就没有必要密闭得那样严实,这样组培的气相环境就可以得到改善。而且如果污染问题得到了解决,还可以在大型容器内或设施内进行培养,增加光照,补充 CO_2 , 以达到提高植物生长速度,缩短培养时间,降低成本的目的。

光独立营养培养法(无糖培养法)主要引进了以下新技术:

1) 去除培养基中的糖,导入大型培养容器

去除了培养基中的糖后,减少了污染的机会,使大型培养容器得以导入。大型培养器内的 CO_2 、相对湿度、气流速度等环境因子可以比较容易地进行调节。另外,使用大型培养容器还可以减少人工操作的工作量,为实现自动化、机械化操作提供条件。比如:东芝公司开发的机械手,可以利用高解像度的摄像机,从培养植物的三维立体形态上判断茎、节、叶的位置,决定获得植物组织切断的位置,然后从上方用镊子夹起,用剪刀切断,再用镊子移植到新的培养基中。大型培养容器还可以利用蛭石、成型岩棉等多孔性支持材料作为培养基,装入穴盘放在大型培养器内。

2) 调节培养容器内的 CO_2 浓度

实验证明,在光照期间培养容器内的 CO_2 浓度如果接近大气中的 CO_2 浓度($350\text{ }\mu\text{L/L}$),即使培养基中不加糖,绿色植物也能正常生长。与在弱光下有糖培养基上培养的植物相比,在强光下施用 CO_2 的无糖培养基上培养的植物叶片大而且厚,呈浓绿色,如果给予适当的光合作用条件,其培养植物的净光合速度可提高数倍。这样就没有必要在培养基中加糖类,而且大多情况下也没有必要添加维生素和氨基酸,从而可以降低成本。还有报道证明,如果提高培养期间培养器内的 CO_2 浓度不仅可以促进培养植物的生长,还可以提高培养植物从容器内移出后

的成活率。

3) 调节培养容器内的相对湿度

通过换气,降低培养器内的相对湿度可提高气孔开闭机能,从而使生理及形态异常的培养植株明显地减少,保证移栽后的正常生长。

4) 提高光照度

光照度、光质、光照射方向以及明暗周期,都会对培养植物的光合作用及生长、形态产生影响。在提高培养容器内 CO_2 浓度的前提下,提高光照度,培养植物的净光合速率也将随之增大。

经光独立营养培养法(无糖培养法)培养出来的植株具有以下优点:

1) 生长速度快,生长发育均匀。

2) 减少了因高湿、弱光等引起的生理及形态的异常。

3) 可以简化或省略驯化过程。

4) 减少了因污染引起的植物损失。

5) 光合成和发根得以促进,可减少生根植物生长调节剂的使用。

由此可知,为降低组培苗的生产成本,改善组培苗的质量,组培环境调控是很重要的,目前,培养容器内环境因子对培养植物的生长及形态的影响,还有很多问题没有弄清楚,有待进一步的研究;光独立营养培养的大型培养容器、设施以及机械化、自动化系统也有待开发。

[参 考 文 献]

- [1] 陈殿奎 发展穴盘育苗,推进蔬菜种植业现代化 发展中的中国工厂化农业[C] 北京:北京出版社,2000,(9):167~171
- [2] 中山卫,古在丰树,渡部一郎 培养基中糖的有无及培养器的换气方法对马铃薯二氧化碳浓度-净光合速度的影响[J] 日本植物组织培养,1991,8(2):105~109
- [3] 古在丰树,关本克宏 培养器的换气次数和光照强度对培养器内的二氧化碳浓度和草莓培养植株生长的影响[J] 日本生物环境调节,1988,26(1):21~29
- [4] 古在丰树 植物组织培养的新阶段[M] 日本农文协出版,1998,(3):1~172
- [5] 古在丰树 闭锁型苗生产体系的开发和利用[M] 日本养贤堂出版,1999,(3):1~179

New Technique of Plant Tissue Cultivation Photoautotrophic Micropropagation

Qu Yinghua¹, Hu Xiuchan², Wu Yiming²

(1. China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Institute of Agronomy, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100083, China)

Abstract: The technique of tissue cultivation used in seedling micropropagation still remains at laboratory level at present. In recent years, the Japanese scholars exploited photoautotrophic micropropagation (sugar free micropropagation), led into large vessels, taken away sugar in medium, enriched CO₂ in micropropagation and controlled the environment inside vessels. It may provide the tissue cultural seedling micropropagation production possibility. But lots of problems exerting effect on the cultural plant growing need further studying including the photoautotrophic large cultural vessels along with mechanization and automation system.

Key words: tissue cultivation; photoautotrophic micropropagation (sugar free micropropagation)

温室番茄无土栽培单株结果 6959 个

中国农业大学黄之栋教授带领宋卫堂、张树阁两位博士生,与朝阳兴华轧钢厂合作,设计建造了新型结构的温室,利用先进的营养液“深液流无限生长型特高产无土栽培技术”,于近日栽培出三株番茄“树”,最多的一株结果 6959 个,此项成果在我国尚属首次。日前,该项科研成果已经通过了蔬菜栽培、农业工程、农业气象等有关专家的中期评审。

看似简单的一株番茄“树”,却包含了农业研究领域的很多学科,如:遗传育种、园艺栽培、植物营养、小气候、农业生物环境工程、植物保护、植物生理、自动化、微生物等。同时更需要很多高新技术来支持,如:产量高、耐储存的品种;新型的温室结构;温室内温度、湿度、光照、气流等环境因子的检测与自动控制;CO₂ 肥料的监测与补充;营养液中各离子(N、P、K、Ca、Mg、S、Cu、Fe、Mn、Zn、Mo、B 等)浓度的优化、监测与控制;营养液的 EC 值、pH 值、液温、溶氧量、消毒等;非常规栽培管

理的方法与模式,等等。

该项研究选用的是以色列 R144 中等果品种,于 2001 年 3 月 1 日播种育苗,4 月 25 日定植。经过半年的栽培,9 月初结果约 4000 个,10 月 28 日测得结果为:成熟果 5621 个,未熟果 1338 个,平均单果重 122 g。同时该番茄的营养品质较高(如可溶性糖 5.75%,每 100 g 含茄红素鲜质量 5.90 mg,矿物质 K 含量 275.7 mg),硝酸盐、亚硝酸盐和有机磷的含量均符合国家绿色食品的标准。

营养液“深液流无限生长型特高产无土栽培技术”,实现了在可控环境条件下,最大限度地将其某些蔬果作物的遗传潜力变为现实的生产力,可作为旅游观光农业园区极好的选择项目。通过展示作物遗传学的最大潜力,对于人们解放思想,进一步探寻、挖掘同类蔬菜作物的生产潜力具有一定的理论与现实意义。

(本刊辑)