

组培苗光合速率测量系统的研制与试验

徐志刚, 崔 瑾, 焦学磊, 丁为民, 李式军

(南京农业大学农学院, 南京 210095)

摘 要: 光合生长模型是组培微环境调控的依据, 组培苗光合速率测量系统是定量研究生长模型所必备实验装置。现有成熟的植物光合速率测量系统, 如 Li-6400 不能适用于组培苗的测量。该文在综合分析国外现有测量系统的基础上, 兼顾国内在大型组培育苗设施类型选择上的经济可行性, 采用 CO₂ 传感器和自动控制技术, 研制了半开放式组培苗光合速率测量系统。该系统自动化程度高, 能够实现整个生长过程在线连续测量, 测量误差小, 不干扰组培微环境, 数据真实性好, 所建立的光合模型可以直接应用于半开放式组培设施环境的调控系统。以阶段 III 甘薯组培苗为实验材料, 采用本测量系统对其第 8 d 的光合速率进行了测定, 并建立了 CO₂ 浓度和光合光子通量密度的 2 因子光合生长模型。

关键词: 组织培养; 光合速率; 测量系统

中图分类号: S123; S625.5⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2003)04-0238-03

1 引 言

传统育苗设施及其环境阻碍了组培苗商品化生产和规模化应用。运用大型育苗设施和综合环境调控工程技术, 组织工厂化、规模化生产, 是实现组培苗成为商品普遍应用于农业生产的必要前提。基于组培苗生长过程的设施环境控制包括控制要求和控制方法。控制要求是指能够满足组培苗各生长阶段要求的适宜环境参数组合, 即光合生长模型。控制方法以控制要求为基础, 寻求以工程手段实现光合模型所确立的环境条件。组培苗生长在独特的无菌环境中, 现有成熟的植物光合速率测量系统, 如 Li-6400 不能适用。由于测量装置的局限, 组培苗光合速率的定量研究还很粗糙, 多以定性研究为主, 规模化组培育苗设施及其环境调控仍处于初步的阶段, 控制以经验为主, 还没有做到以光合模型为依据的精准型自动化控制。建立光合模型是目前亟待解决的基础性工作, 需要生物和工程学科的协同攻关, 首先应研制出满足建模要求的光合速率测量系统。

迄今大致有密闭性、开放性和半密闭性 3 种组培苗光合速率测量系统^[1]。Matthieu Falane 等^[2]分别设计了密闭性测量系统, 该系统在测量过程中对组培微环境的扰动大, 误差积累多, 且不能获得稳定状态时的光合速率 (P_n), 不能真实反映组培苗光合作用情况, 故不适用于作长期连续测量, 测量结果也不宜用于定量分析, 较适宜于获取关于组培苗生长活动的片面信息^[3], 如光饱和点值、光补偿点值等。Fujiwara 和 Kira 等^[4]设计了开放性测量系统, 该系统要求环境气体必须流动, 使得为测量所营造的环境不再是组培苗生长的真实环境条件, 因此, 所测量得到的 P_n 值不能真实反映组培苗光合作用情况^[3]。Niu Genhua 和 Kozai 等^[5]对 Fujiwara 和 Kira 等使用的开放性测量系统作了改进, 设计成半开放性测量系统, 但该系统所需气体流量仍不能小于 0.3 L

$\cdot \text{m} \cdot \text{min}^{-1}$, 造成扰动和误差重复累积, 测量值不能正确反映组培苗光合作用的真实状况, 测量次数越多、持续时间越长, 误差积累越大。

大型育苗设施有开放式^[6,7]和半开放式^[1]2 种类型, 半开放式较适宜于目前的经济和设备条件^[1]。本研究以前人工作为基础, 设计一种半开放式光合速率测量系统, 为建立组培苗光合模型和研制半开放式组培育苗设施及其综合环境调控系统提供测试设备和工作基础。

2 光合速率测量系统的设计

2.1 光合速率 P_n 的测量原理

光合速率 P_n 是指单位时间内单位叶面积 (或单位干重) 同化 CO₂ 毫克数的能力。通常测得的光合速率是指净光合速率^[8]。光合速率的测试方法有 2 种^[9], 一是测定 CO₂ 吸收的速率, 即某时段内的 CO₂ 下降量, 进而计算出光合速率。二是测定光合产物 (干物质量) 的增加量。

在半开放式组培设施内生长的组培苗, 因光合作用造成内环境 (组培容器内) 的 CO₂ 浓度 (C_{in}) 下降, 于是外环境 (组培箱内) 中的高浓度 (C_0) CO₂ 气体就经由封口材料扩散进入内环境。当由于光合作用导致的 C_{in} 下降量等于外环境扩散进入的补充量时, C_{in} 也处于动态稳定状态。若此时测量系统将 C_0 保持在相对稳定状态, 则内外环境的 CO₂ 浓度差 ($\Delta C = C_0 - C_{in}$) 也是稳定的, 外环境扩散进入内环境的 CO₂ 量就等于 ΔC , 也就是组培苗对 CO₂ 的净吸收量。所以, 只需测量得到 C_0 和 C_{in} , 就可以计算得到组培苗的光合速率 P_n 。封口材料的透气率 (E 值) 对 ΔC 有重要的影响, 在稳定状态时, E 值越大, ΔC 就会越小; 反之, ΔC 越大, 应该考虑封口材料 E 值的影响。组培苗每单位干物重的光合速率 P_n 计算公式^[1]如下

$$P_n = \frac{V \times E \times (C_0 - C_{in}) \times 10^{-6} \times 44.01}{(273.16 + T) \times 0.0819 \times W_d} \quad (1)$$

式中 P_n ——组培苗的光合速率, (CO₂)mg · (DW)mg⁻¹ · h⁻¹ (括号中的 DW 指干物质量); V ——组培容器的净容积, mL; E ——封口材料的透气率, 次/h; C_0 ——外环境 (即培养箱内) 气体中的 CO₂ 浓度,

收稿日期: 2002-08-26 修订日期: 2003-03-24

基金项目: 国家自然科学基金资助 (39830230)

作者简介: 徐志刚, 副教授, 工学博士, 南京市卫岗 南京农业大学农学院, 210095

$\mu\text{L/L}$; C_{in} ——内环境气体中的 CO_2 浓度, $\mu\text{L/L}$;
 W_d ——组培苗的茎叶干质量, mg ; T ——环境温度,
 ; 44.01 是 CO_2 的摩尔质量。

2.2 系统结构与工作原理

系统结构如图 1, 由培养箱、组培容器、箱内 CO_2 浓度控制系统^[1]、数据记录及处理系统等组成。系统控制程序采用 Visual C++ 编制。整个测量系统安放在光、温可控的实验平台中^[1], 可将温度控制在 $25\sim 27$, 并有 9 种光合光量子通量密度 (PPFD) 供测定选择。培养箱采用高透光材料制成, 容积 151 L, 可放置 50 只组培容器, 容器都用透气材料封口, 内置培养基和组培苗, 在 3 只侧面钻孔的容器中分别安放 3 只 CO_2 传感器 (安装前用无水酒精消毒传感器并接受紫外线照射, 必需保证安装孔处的密封), 用以检测容器的 CO_2 浓度

(C_{in})。 CO_2 浓度控制系统可将箱内 CO_2 浓度 (C_o) 控制在设定值的 $+0.2\% \sim -1.2\%$ ^[1], 包括 CO_2 气瓶、混合罐、压力传感器、流量传感器、 CO_2 传感器 I、气泵和电磁阀。其工作过程是: 当 CO_2 传感器 I 检测到箱内 CO_2 浓度下降到设定值的 1.5% 时, 程序计算出箱内所需的换气量 Q , 并指令电磁阀 1 和 2 及循环气泵开启, 箱内低浓度气体经流量传感器 II 计量后抽出箱外, 同时高浓度气体从混合罐经流量传感器 I 计量后进入箱内, 当 2 只传感器的流量累积先后达到 Q 后, 程序指令先后关闭循环气泵、电磁阀 3 和电磁阀 2, 此时, 箱内气体的 CO_2 浓度已达到设定值附近。混合罐用于稀释 CO_2 气体, 罐内 CO_2 浓度和气压依据压力传感器信号控制^[1]。传感器的信号经 A/D 卡传至计算机记录并处理, 输出信号经 A/D 卡后传至固态继电器进而驱动电磁阀和气泵。

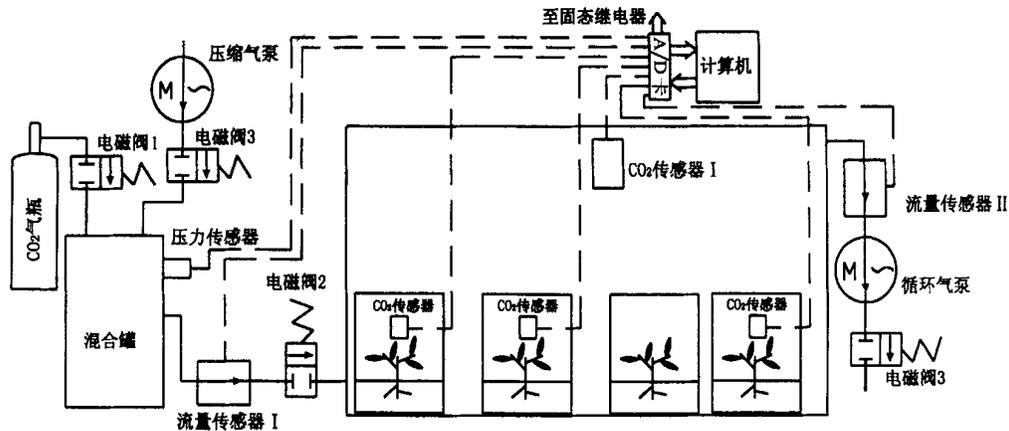


图 1 组培苗光合速率测量系统示意图

Fig. 1 Sketch of measuring system for photosynthesis rate

2.3 系统特点与测量误差分析

与已有的测量装置相比, 本系统具有如下特点: 1) 采用半开放式系统类型, 因此依据该系统测量数据所建立的光合作用模型可直接用于大型半开放式组培育苗系统的环境控制, 而该类型育苗系统是目前最适宜采用的; 2) 采用 CO_2 传感器监测内环境中 CO_2 浓度变化。已有的测量系统都采用 CO_2 红外分析仪, 该仪器至少需要 $0.3\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 的气体流量才能进行测量, 而组培小容器的容积至多为 500 mL。所以本系统对所测对象环境的扰动少, 现场真实性高。3) 本系统可实现连续在线监测, 监测点数可按需设定, 数据自动保存。4) 外环境 CO_2 浓度自动化控制, 控制点可按需设定。

本系统的测量误差主要来源于多只 CO_2 传感器之间的一致性差异。因此, 在测量前和测量后, 都必需采用 CO_2 红外分析仪对传感器作一致性校正测量, 建立一致性回归关系, 并据此对测量数据进行修正。由于 CO_2 传感器会受环境的影响, 因此在任一次测量实验前后都必需作这样的一致性校正。

3 系统应用与测量试验

3.1 材料与方法

采用处于阶段 III 的叶用甘薯组培苗, 310 mL 组培

容器和 40 mL 无糖培养基; 封口材料为 4 层硫酸纸 ($E = 0.4$)。培养箱内放置含苗组培瓶 42 只, 每只瓶内置有 4 株组培苗。

PPFD 分别设定为 46、86、138 和 $250 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 4 种状态, 在每个 PPFD 下, C_o 分别调节为 5 种不同的浓度值。由于 C_o 无法重复控制在某些固定的数值点上, 所以 C_o 的实际值由相应的 CO_2 传感器读出。观察 C_{in} 的变化, 待其进入稳定状态后, 以其后连续 10 min 内采集到的读数值, 计算得到的平均值, 作为 C_o 和 C_{in} 的传感器测量值, 其中 C_{in} 的值取 3 只容器内传感器读数的平均值。测量第 8 d 的光合速率, 在次日早晨未开始光照前, 从培养箱内随机抽取 4 瓶, 测量鲜质量和干质量, 单瓶内组培苗茎叶部分的鲜质量和干质量平均值分别为 942 mg 和 74 mg。 P_n 的计算采用式 (1), $T = 27$, $V = 310 - 40 = 270 \text{ mL}$, $W_d = 74 \text{ mg}$ 。

3.2 结果与分析

根据测量所得的数据, 预先将测量整理得到的 4 只 CO_2 传感器一致性关系和式 (1), 计算整理得到最终结果如表 1 所示。

设自变量 I 表示 PPFD 值, 自变量 C 表示 C_o 值, 因变量 P_n 表示光合速率, I 表示光量子通量密度。将表 1 的数据输入数据处理软件 M athcad2000, 作二元二次多

项式回归, 得到的回归方程 $P_n \sim (C, I)$ 如下

$$P_n = - 1.842 \times 10^{-7} \times C^2 + 1.156 \times 10^{-3} \times C - 4.035 + 0.066 \times I - 2.18 \times 10^{-4} \times I^2 + 8.248 \times 10^{-6} \times C \times I \quad (2)$$

式(2)是阶段III叶用甘薯组培苗在第8d的2因子光合作用模型, 其生物学意义是: 1)一次项为正数, 且系数很大, 二次项为负数, 表明在一定范围内, 随着CO₂

浓度和光合光子通量密度的上升, P_n 随之提高, 但当CO₂ 浓度或光合光子通量密度超过极值后, P_n 下降, 出现负效应; 2)二次项为负数, 表明该方程的极值为极大值; 3)CO₂ 浓度和光合光子通量密度的相交交互项为正数, 表明随着CO₂ 浓度增高, 光合光子通量密度对 P_n 的促进作用也增强; 反之亦然。

表1 不同PPFD和C_o(μL/L)时的P_n值((CO₂)mg·(DW)mg⁻¹·h⁻¹)

Table 1 Values of P_n in different PPFD and C_o

	PPFD/μmol·m ⁻² ·s ⁻¹																			
	46	46	46	46	46	86	86	86	86	86	138	138	138	138	138	250	250	250	250	250
C _o	520	1061	1567	2012	2897	564	1104	2487	4419	5351	636	1221	2496	4362	7215	670	1203	2541	4409	9925
C _{in}	498	897	1346	1799	2870	212	324	623	2408	3894	193	212	381	1259	3919	166	177	324	916	5147
C _o -C _{in}	22	164	221	213	27	352	780	1864	1911	1457	443	1009	2115	3103	3296	504	1026	2217	3493	4751
P _n	0.058	0.431	0.582	0.557	0.071	0.942	2.035	4.872	5.00	3.812	1.154	2.640	5.522	8.112	8.616	1.314	2.675	5.792	9.125	12.441

4 结 论

1) 在综合分析国外各类光合速率测量系统性能的基础上, 结合现有组培育苗设施的特点, 设计研制了半开放式组培苗光合速率测量系统。实际应用表明: 该系统自动化程度高, 运行可靠。运用该测量系统所测数据建立的光合模型, 在半开放式大型组培育苗设施的自动化环境调控系统中取得了良好的应用效果^[1]。

2) 运用本测量系统做了CO₂ 浓度和PPFD 2因子的光合速率实验。组培苗的光合速率是CO₂ 浓度、PPFD、相对湿度和温度4个因子综合作用的结果。由于本系统安放在温、光可控的实验平台上, 所以本系统能做4因子或任意3因子、2因子的光合速率实验。

[参 考 文 献]

[1] 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
 [2] Matthieu F, Daniel C, Rose G. A method for the study of CO₂ exchanges in vitro cultured vitis rupestris plantlets

[J] Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1991, 27: 175 ~ 181.
 [3] Desjardins Y. Photosynthesis in vitro——On the factors regulating CO₂ assimilation in micropropagation systems [J] Acta Hort, 1995, 359: 45~ 57.
 [4] Niu G, Kozai T, Kubota C. A system for measuring the situation CO₂ exchange rate of in vitro plantlets [J] HortScience, 1998, 33(6): 1076~ 1078
 [5] Kozai T, Oki H, Fujiwara K. Photosynthetic characteristics of Cymbidium plantlet in vitro [J] Plant Cell, Tissue and Organ Cultere, 1990, 22: 205~ 211.
 [6] 古在丰树 植物组织培养的新阶段(日文) [M] 日本东京: 农山渔村文化协会, 1998
 [7] 丁永前 组培微生态环境中的CO₂ 控制的研究 [D] 南京: 南京农业大学, 2000
 [8] 张其德, 赵福洪, 许春辉 光合作用 [M] 北京: 人民教育出版社, 1986
 [9] 李朝茂 植物生理学 [M] 北京: 中国林业出版社, 1985

Design and trial on the measuring system for photosynthesis rate of plantlets in vitro

Xu Zhigang, Cui Jin, Jiao Xuelei, Ding Wein, Li Shijun

(College of Agronomy Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract The photosynthetic growth model for plantlets in vitro is the basis for its micro-environment control, the measuring system for photosynthesis rate of plantlets in vitro is the vital equipment for developing the growth model. There are some existing measuring systems for photosynthesis rate of plants, such as Li-6400, but they cannot be used for plantlets in vitro. In this paper, based on the analyses of the existing equipment and the consideration of the feasibility in type choice in the large-scale facilities for plant tissue culture, a half-opened measuring system for photosynthesis was designed and developed. It can work in real time automatically and reliably and continuously, and has no disturbance to the micro-environment. The data from the system can reveal the plantlets growth in truth, and so it can be used directly in micro-environmental control system. By using the system, the photosynthetic rate on 8th day for the *Ipomoea batatas* (L.) lam plantlets on stage III in vitro was measured, and then, the photosynthetic growth model related to 2 factors of CO₂ concentration and photosynthetic photon flux density was developed.

Key words: plant tissue culture; photosynthetic rate; measuring system

