

不同 CO₂ 浓度对大空间液体培养无糖菊花组培苗生长特性的研究

宋越冬, 马明建

(山东理工大学 轻工与农业工程学院, 山东 淄博 255049)

摘要: 在自行研制的大空间组培苗栽培系统内测定了不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗生长的影响。结果表明: 适当加施 CO₂ 对无糖菊花组培苗的生长有促进作用, CO₂ 浓度为 1 600 μmol/mol 最为适宜。

关键词: 开放空间; 无糖; 组培苗; 液体培养; CO₂ 浓度

中图分类号: S 682.1⁺ 1; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0062-03

传统的植物组织培养方法是將植物培养在密闭的容器中, 达到了栽培环境无菌的目的。但是由于环境密闭, 跟外界不能进行气体交换, 所以培养容器白天 CO₂ 浓度低夜间却过高, 同时存在光照弱湿度高等问题, 这些都限制了植株进行光合作用^[1-3], 迫使植物转作异养或兼养生长, 为此必须在培养基内添加外源糖以提供生长所需的碳源, 而糖又会产生光合抑制效应^[4]。可见, 组培苗的生长方式受到微环境的强烈影响。若能改善 CO₂ 浓度, 并且培养基中不加糖, 使得组培苗的光合自养能力得到发展, 设计制作专门的组培环境装置以改善组培苗的生长环境, 满足组培苗光合自养的需求, 提高成品苗的生产效率, 降低组培成本, 实现大规模无糖培养, 是近年来各国组培工作者面临的新研究课题^[5,6]。该研究采用课题组自行研制的开放空间组培系统, 分析了在无糖培养条件下, 调节 CO₂ 浓度, 研究其对菊花生长的影响, 为实现无糖大空间组培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

采用山东理工大学轻工与农业工程学院工厂化农业研究中心培养的菊花组培苗为试材。

1.2 方法

选择生长状态一致的菊花瓶苗切段, 每段带 2 个节间, 接种在自行研制的开放空间组培系统内, 系统主要结构如图 1 所示。系统采用液体培养, 培养液为 1/2MS 培养基, 不加任何激素; 定植采用的基质为珍珠岩, 将珍珠岩装入直径为 3 cm, 高为 5 cm 的营养钵中, 将营养钵放入培养系统中的培养槽中, 株行距为 5 cm×5 cm。同

时, 用传统方法接种 20 瓶组培苗做对照(CK), 对照培养基为 MS 培养基, 不加任何激素, 蔗糖为 20 g/L, 琼脂为 7 g/L, 培养容器为透明的玻璃瓶, 其中灌入 50 mL 的培养液, 剩余空气容积为 300 mL, 口密封, 消毒后每培养瓶接种 5 个; 将对照一并放入开放空间组培系统内培养。

开放空间内的组培苗的 CO₂ 浓度设为 5 个水平, 分别为 700、1 000、1 300、1 600、1 900 μmol/mol; 调控从 9~15 时, 其余时间的 CO₂ 浓度取决于系统的自然状态, 控制系统不再对其调控; 系统的 CO₂ 浓度在线每 1 min 采集一次数据, 并根据情况在线调节; 每处理做 25 株, 重复 3 次。

培养期间, 温度白天控制在 24~28℃, 夜间控制在 18~20℃之间, 相对湿度白天保持在 70%~80%之间, 夜间在 90%~95%之间, 光照强度为 3 500 lx, 光照周期为 12 h/d; 营养液的供给由系统根据栽培箱内的湿度、温度、培养基质情况采用模糊控制法进行调控。培养 21 d 后, 测量各处理的株高、开展度、根数、根长、茎粗、叶片数、节间长度、叶面积、植株鲜重和干重; 叶面积和茎粗由该研究系统在线图像数据采集得到。处理组和对照组各随机取 7 株测量, 重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗根系的影响

不同浓度的 CO₂ 对菊花组培苗的根数和根长度都有影响(见图 2)。从图 2 中可以看出, 根数方面, 所有的 5 个处理的数目都比对照要多, 最高的(1 600 μmol/mol) 是对照的 3.62 倍, 最低的(1 900 μmol/mol) 根数目是对照的 2.58 倍; 而对于 5 个处理, 随 CO₂ 浓度的增加, 根的数目在增加, 但是当浓度达到 1 900 μmol/mol 时, 根数目却比 1 600 μmol/mol 时减少, 说明 CO₂ 浓度并非越高越好。根长度方面, 变化规律跟数目方面相似, 随外加浓度的增加根长度在增加, 当浓度为 1 600 μmol/mol 时根长度达到最大值, 是对照的 2.1 倍, 随后继续增加浓度

第一作者简介: 宋越冬(1968-), 女, 硕士, 实验师, 现从事植物组织培养研究工作。E-mail: songyuedong68@qq.com。

基金项目: 山东省自然科学基金专项资助项目(2003ZX10)。

收稿日期: 2008-08-10

却出现了根长度降低现象;但是研究中发现,虽然对照的根数目和长度都比处理低,可是其根比对照要粗壮,只是颜色灰暗,没有分支,缺少根毛,而5个处理的根色白净,密布细小的根毛,同时有大量的分支,这反映出对照根吸收能力弱或者根本就没有吸收能力。

2.2 不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗叶的影响

不同浓度的 CO₂ 对菊花组培苗叶片影响情况如表 1 所示。叶片植物进行光合作用的器官,叶片的数量和面积直接影响到植株自养的能力。从表 1 看出,试验中,增加 CO₂ 浓度,对菊花组培苗的叶片面积有作用,随着 CO₂ 浓度的增加植株的叶片面积也在增加,但是并不是浓度越大越好,当浓度到 1 900 μmol/mol 时,植株的叶片面积却比 1 600 μmol/mol 小,但是方差分析没有差异,当浓度为 1 600 μmol/mol 时,植株的叶片面积甚至达到了对照的 3.1 倍还多,最差的(700 μmol/mol)处理

也是对照的 1.5 倍之多;但是对于叶片数目上,所有的 5 个处理跟对照没有差异,这与文献 [7] 报道不同。

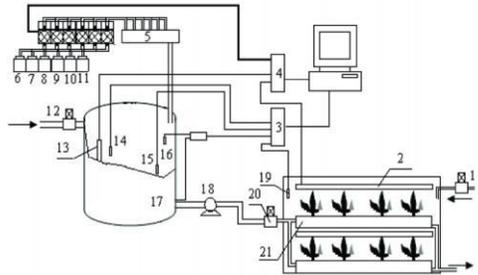


图 1 开放空间组培苗培养系统结构空间图

Fig. 1 The constructional diagram of micropropagation system for open space
注 1. 二氧化碳阀; 2. 日光灯; 3. 数据采集板卡; 4. 控制板卡; 5. 营养液消毒设备; 6~11. 营养液调控罐; 12. 回液管道; 13. 加热棒; 14~16. 营养液性状传感器; 17. 储液罐; 18. 供液泵; 19. 环境传感器; 20. 电磁阀; 21. 培养槽。



图 2 不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗根系的影响

Fig. 2 The effect of different CO₂ concentration on roots of micropropagation
注 A: 根数目 the number of roots; B: 根长 the length of roots.

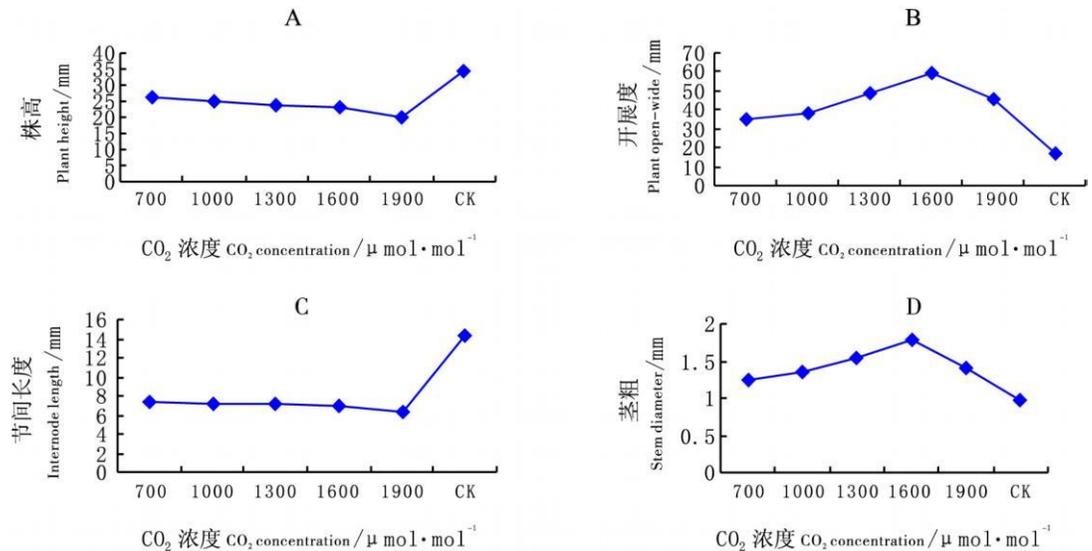


图 3 不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗开展度、株高、茎粗和节间长度的影响

Fig. 3 The effect of different CO₂ concentration on internode length, height stem diameter and open-wide of micropropagation
注: A: 株高 plant height; B: 开展度 plant open-wide; C: 节间长度 internode length; D: 茎粗 stem diameter.

2.3 不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗株高、开展度、节间长度和茎粗的影响

不同浓度的 CO₂ 对无糖菊花组培苗株高、开展度、节间长度和茎粗的影响见图 3。

不同浓度的 CO₂ 对大空间无糖液体培养的菊花组培苗的株高、开展度、节间长度和茎粗有作用。开展度方面, 所有的处理比对照开展度都要大, 并且随浓度的加大开展度也在加大, 但是当浓度超过 1 600 μmol/mol 之后开展度却出现了变小的趋势, 说明并不是浓度越大越好。茎粗方面, 随浓度的增加茎粗在增加, 但是当浓度超过 1 600 μmol/mol 之后出现了变细, 这个跟开展度的变化规律相似。增施 CO₂ 在株高和节间长度方面的表现是植株矮壮, 节间短, 所有的 5 个处理比对照都有差异, 但是不同浓度之间差异不是很明显。产生这样的原因是由于增施了 CO₂, 植株光合作用原料充分, 光合作用加强, 使得植株更加健壮。说明开放空间内施加 CO₂ 可以使植株健壮, 并能提高培育的组培苗适应自然环境的能力。

表 1 不同 CO₂ 浓度对菊花组培苗叶的影响

Table 1 The effect of different CO₂ concentration on foliage of micropropagation

CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration /μmol·mol ⁻¹	叶片数 Number of leaves/片·株 ⁻¹	叶面积 Leaves area/cm ² ·株 ⁻¹
700	6.3±0.1a	2.90±0.04a
1 000	6.5±0.2a	3.47±0.02b
1 300	6.4±0.3a	4.80±0.01c
1 600	6.3±0.2a	5.83±0.01d
1 900	6.1±0.3a	5.51±0.03d
CK	6±0.1a	1.86±4e

注: 不同小写字母表示新复极差测验显著差异 (P<0.05)。

Note: Figures followed by different small letters are significantly different at P<0.05 levels.

2.4 不同 CO₂ 浓度对无糖菊花组培苗植株重量的影响

不同浓度的 CO₂ 对无糖组培菊花苗重量的影响见表 2。从表 2 中可以看出, 所有的处理都表现出差异显著, 规律为随浓度的增加, 植株的鲜重和干重都增加, 当浓度增加到 1 600 μmol/mol 时, 发现植株无论鲜重还是干重都达到了最大值, 之后浓度增加植株的重量却变轻, 这说明过高的浓度对植株生长不利; 所有的 5 个处理在鲜重和干重方面比对照都高, 鲜重方面, 最高(1 600 μmol/mol) 是对照的 2.62 倍, 最低(700 μmol/mol) 是对照的 1.32 倍, 而干重方面的效果更加明显, 最高(1 600 μmol/mol) 是对照的 3.1 倍, 最低(700 μmol/mol) 是 1.47

倍; 这是由于开放空间下, 由于 CO₂ 浓度加大, 使得植株进行光合作用的原料充足, 加强了植物的光合作用, 从而使得植株干物质积累增加, 表现出植株重量比对照明显增加。

表 2 对植株重量的影响

Table 2 The effect on plant weight

CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration /μmol·mol ⁻¹	鲜重 Fresh weight /mg·株 ⁻¹	干重 Dry weight /mg·株 ⁻¹
700	328.3±0.4a	24.9±0.2a
1 000	457.6±0.1b	34.3±0.1b
1 300	576.3±0.3c	46.7±0.3c
1 600	649.8±0.1d	52.6±0.1d
1 900	483.9±0.2e	38.8±0.4e
CK	247.9±0.3f	16.9±0.1f

注: 不同小写字母表示新复极差测验显著差异 (P<0.05)。

Note: Figures followed by different small letters are significantly different at P<0.05 levels.

3 讨论

CO₂ 是植物进行光合作用的原料之一, 通过开放空间无糖菊花组培苗施加 CO₂ 研究可以看出, 得到的苗子植株矮壮, 跟自然培育的苗子类似, 各项生长指标已经完全不同于传统组培苗, 可以直接应用于大田生产。该研究的成功, 为组培苗的工厂化生产提供了实践依据。对于其他植物的无糖组培苗的研究将在以后工作中开展。

参考文献

- [1] Kozai T, Fujwara K, Kitaya Y. Modeling measurement and control in plant tissue culture[J]. Acta Hort, 1996 393:63-73.
- [2] Dube S, Vidar W. Photosynthetic competence of plants grown in vitro[J]. Physiol Plant, 1992, 84: 409-416.
- [3] Buddendorf Joosten J M G, Woltering E J. Components of the gaseous environment and their effect on plant growth and development in vitro[J]. Plant Growth Reg 1994 15: 1-16.
- [4] Desjardins Y. Photosynthesis in vitro: On the factors regulating CO₂ assimilation in micropropagation systems[J]. Acta Hort, 1995 359:45-57.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.

Studies of CO₂ Concentration on Growth Characteristics of Sugar-free Micropropagation with Liquid Culture in Open-space of Chrysanthemum Plantlets

SONG Yue-dong, MA Ming-jian

(Light Industry and Agriculture Engineering College, Shandong Science and Technology University, Zibo, Shandong 255049, China)

Abstract: The growth rate of sugar-free micropropagation of chrysanthemum plantlets was observed by the plant tissue culture system. The effects of different CO₂ concentration on growth characteristic of chrysanthemum plantlets was analyzed. The results showed it was efficient to promote the growth of sugar-free tissue culture of chrysanthemum appropriately enhancing CO₂, the growth rate of the plantlets was significantly enhanced when the CO₂ concentration was 1 600 μmol·mol⁻¹.

Key words: Open-space; Sugar-free; Plant tissue culture; Liquid culture; CO₂ concentration