

组培环境 CO₂ 增施监控系统的设计与试验

丁永前, 丁为民, 崔 瑾, 李式军, 徐志刚, 汪小函

(南京农业大学)

摘 要: 为改善组培苗的生长发育环境, 探索 CO₂ 富集等环境因素的影响, 设计制作了 CO₂ 适时增施监控系统, 并以葡萄组培苗为对象, 利用本控制系统与传统组培方式进行了对比试验。结果表明: 系统工作稳定、正常, 能够有效地将 CO₂ 浓度控制在设定的 (800~1 200) IL_ä 范围内, 满足组培苗光合作用的需要; 在 CO₂ 富集环境中, 组培苗生长健壮、发育良好, 光合自养能力显著增强。

关键词: CO₂ 富集; 实时控制; 生物环境; 组织培养; 无糖培养

中图分类号: S625.5⁺

文献标识码: A

文章编号: 1002-2689(2002)01-0096-03

植物组织培养育苗是一种能获得大量同源母本基因幼苗的生物技术, 具有其他育苗方法所不具备的许多优点。但在传统的组培方式下, 由于组培容器的密闭性, 使组培苗经常处于 CO₂ 饥饿状态^[1]; 为了提供组培苗生长所需的能量, 必须在培养基中加糖作为碳源; 这又使得组培苗光合作用受到严重的抑制, 组培苗被迫作兼养或异养生长, 同时大大增加了组培苗受细菌污染的概率, 使组培苗的培育成本上升^[2~4], 且不利于组培育苗的规模化生产。

因此, 改善组培苗的生育环境, 适时提高组培环境的 CO₂ 浓度, 实施无糖或低糖培养, 促使组培苗作光合自养生长, 不仅能提高组培苗的品质, 降低培育成本, 也易于实现组培苗的规模化和工厂化生产。在组培育苗近百年的发展中, 生物技术一直是研究的重点, 而关于组培环境及其影响以及实现组培过程中微生态环境控制的研究则时间不长, 国内这方面的研究也刚刚起步^[5,6], 从总体上讲, 对组培微生态环境及其调控的研究尚未形成统一的观点和成熟的理论。针对这一状况, 作者运用工程技术手段, 设计制作了组培环境 CO₂ 适时增施监控系统, 运用这一系统, 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。旨在为建立组培苗微生态环境控制和管理模型、开发能够进行环境检测 and 控制的组培苗光合自养系统, 提供了理论和实验依据。

1 CO₂ 适时增施监控系统

系统由硬件和软件两部分组成。硬件包括微机

系统、监控设备、组培箱和气源组件等部分。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 CO₂ 空气混合气体。控制软件用 VC++ 6.0 编写。

1.1 微机系统

微机系统通过一台 PC 机和一块多功能数据转换卡进行数据的采集和处理。

1.2 监控设备

监控设备由 CO₂ 传感器、固态继电器和电磁阀构成。CO₂ 传感器的测量范围为 0~10 000 IL_ä, 测量精度 10 IL_ä。当微机系统向固态继电器输出高电平时, 电磁阀导通, 气源向组培箱增施 CO₂。

1.3 组培箱

组培箱结构见图 1。箱体采用上下组合式, 组合后箱体外壁和底板内缘之间留有间隙, 构成密封槽, 填入适当的密封剂能很好地起密封作用。支承板用来直接盛放培养基, 也可在其上放置敞口容器进行组培。组培箱采用透光率高、紫外线通过能力强的有机玻璃 PMMA 作为箱体材料^[7], 尺寸为 728 mm × 328 mm × 410 mm, 组培前用紫外线和 10% 的次氯酸钠溶液进行杀菌消毒。平衡气孔和进气孔都与一个滤膜孔径为 0.2 μm 的空气过滤器相连, 以保证组培期间箱体内的无菌环境。

1.4 气源组件

气源组件(图 2)的作用是向组培箱体内输送一定浓度和压力的 CO₂ 空气混合气体, 由 CO₂ 高压钢瓶(内储浓度 99% 的 CO₂)、压力表和缓冲储气瓶构成。为便于控制, 从高压钢瓶出来的高浓度 CO₂ 气体不能直接作为增施气源, 必须经过缓冲储气瓶减压和稀释后才能送往组培箱。

1.5 控制系统

控制系统的结构如图 3 所示。其控制流程为: 传

收稿日期: 2001205210 修订日期: 2001207223

基金项目: 国家自然科学基金项目(39830230)

作者简介: 丁永前, 硕士, 南京市浦镇 南京农业大学农业工程学院, 210032

感器将从组培箱内检测到的 CO₂ 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, 通过多功能卡的 D/A 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 CO₂ 浓度的目的。

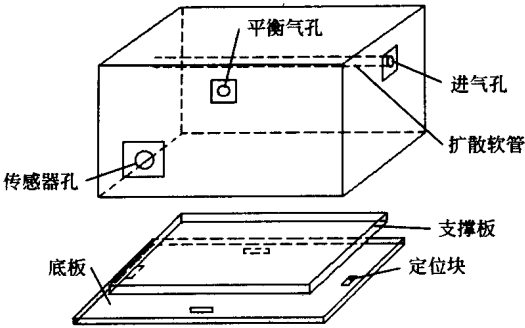


图 1 组培箱

Fig 1 The chest for tissue culture

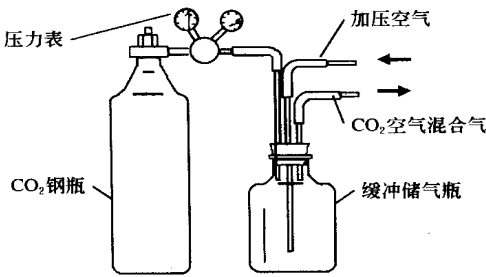


图 2 气源组件

Fig 2 The gas resource device

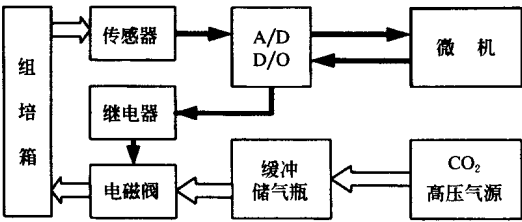


图 3 控制系统的结构

Fig 3 The structure of the control system

控制软件用 Visual C++ 6.0 编写, 按功能可分为 4 个模块: 初始化模块、实时监控模块、数据记录模块和数据处理模块, 各模块之间逻辑上相对独立, 通过特定的参数进行联系。控制软件能使硬件部分协调工作, 实现对 CO₂ 的监控和适时增施, 并自动存储和记录有关数据。

2 控制模型

控制模型主要用来控制向组培箱内增施一定量的 CO₂ 时电磁阀开启所需的时间。由于组培箱的体

积较小, 气源的 CO₂ 浓度和压力较高 (即使在缓冲气瓶内仍有较高的浓度和压力), 所以在实际控制中, 不能用 CO₂ 传感器直接控制浓度, 而是通过传感器测出 CO₂ 浓度值, 经过控制模型计算电磁阀的开启时间, 进行间接控制。控制模型根据多次重复实验得到的数据, 应用数学方法建立, 并考虑实际工作状况的影响, 用影响因子进行修正。经多次实验标定, 其平均控制精度达到 92%, 绝对误差 ± 50 IL μ l^[8]。控制模型的计算公式如下

$$t = \frac{M(T) + \$M - 6.7}{379}$$

(当 $(M(T) + \$M - 6.7) \leq 379$ 4 时)

$$t = 13.5 - \sqrt{\frac{221695.5 - 71.2[M(T) + \$M]}{35.6}} - T$$

(当 $(M(T) + \$M - 6.7) > 379$ 4 或 $T > 4$ 时)

其中

$$D = \frac{\$C_1 T_f}{\$M_1 T_p} \quad (\text{当 } \frac{\$M_1 T_p}{\$C_1 T_f} > 1 \text{ 时})$$
$$D = 1 \quad (\text{当 } \frac{\$M_1 T_p}{\$C_1 T_f} \leq 1 \text{ 时})$$

式中 t ——增施 CO₂ 所需的时间, s; T ——累计的 CO₂ 增施时间, s; $M(T)$ ——累计已增施的 CO₂ 量, IL μ l; $\$M$ ——需增施的 CO₂ 量, IL μ l; D ——影响因子修正量; T_p ——开灯时刻至最近一次增施时刻的时间, min; T_f ——最近一次增施时刻至关灯时刻的时间, min; $\$C$ —— T_p 时间内消耗的 CO₂ 量, IL μ l。

3 CO₂ 监控与增施试验

3.1 材料与方法

利用所设计的控制系统, 进行了组培环境 CO₂ 监控与增施试验, 研究组培苗在 CO₂ 富集环境下的生长发育以及光合自养能力。选用通过茎尖培养而成的“赤霞珠”(Carbernet sauvignon) 葡萄组培苗为试材, 接种在生根培养基上。将组培苗分成 4 组进行培养, 分别为有糖处理组 (A 组)、有糖对照组 (B 组)、无糖处理组 (C 组)、无糖对照组 (D 组), 其中处理组 (A、C 组) 增施 CO₂, 对照组 (B、D 组) 不施。A、B 组培养基成分中糖含量为 10 g μ l, C、D 组为 0 g μ l (无糖), 其余成分同生根培养基。A、C 组的葡萄组培苗放置在组培箱内, 容器敞开, 与组培箱贯通; B、D 组则放置在传统的组培架上, 容器口盖有硫酸纸和金属盖。与 A、C 组相比, B、D 组中除了 CO₂ 浓度不一致以外, 其余光、温、湿等环境条件基本一致 (侧向光照 65 $\text{Lmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 顶部光照 12 $\text{Lmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 底部光照 43 $\text{Lmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 温度 24 ± 1 , 相对湿度为 97%^[8])。每组各为 24 株

葡萄苗, 每个容器 3 株作为观察和测量对象。培养 28 d 后观察测量各项指标, 重复 3 次。

3.2 结果与分析

整个试验期间, 系统工作稳定、正常, 能够向组培装置提供适量的 CO₂, 并将浓度控制在设定的范围内。将 GMD 20öD 型 CO₂ 传感器分别插入组培容器中, 测得的不同组培方式下组培容器内 CO₂ 浓度的变化如图 4(光周期 12 h)。由此可见, 在传统方式下(对照组), 组培苗呼吸和光合作用引起的容器内 CO₂ 浓度的变化十分显著, 从 19: 00 熄灯至 24: 00, CO₂ 浓度从 210 IL öL 逐渐上升至 1800

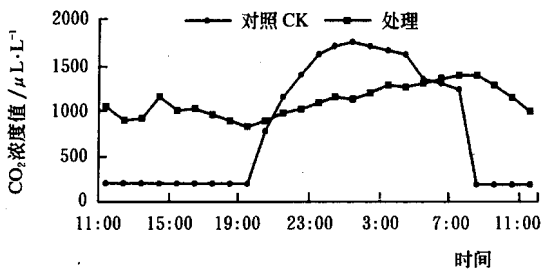


图 4 不同组培方式下组培容器内 CO₂ 浓度的变化
Fig 4 Change of CO₂ concentration in two kinds of tissue culture vessel during a day

IL öL; 上午 7: 00 开灯后, 组培苗接受光照, 7: 40 左右 CO₂ 浓度便从 1 500 IL öL 迅速下降到 210 IL öL, 比正常大气中 CO₂ 的浓度 330 IL öL 还低, 以后一直维持在这个较低的水平, 直到熄灯。而在处理方式下, 由于在光照期内进行 CO₂ 的适时增施, 组培箱内 CO₂ 浓度一直保持在 800~ 1 200 IL öL 范围内稳定地变化, 以满足组培苗光合作用的需要。

不同培养方式下组培苗生长发育的状况见表 1, 其中 A、C 两处理组与 B、D 对照组在株高、节间距、茎粗、鲜重、干重和叶面积等方面有明显差异。说明与对照的组培苗相比, 增施 CO₂ 培育的组培苗光合自养能力得到很大促进, 光合产物积累增加显著, 生长发育具有明显优势; A、C 组的株高和节间距小于 B 组, 表明增施 CO₂ 可抑制组培苗的徒长, 缩短节间距, 提高繁殖系数(葡萄组培苗继代培养时以带腋芽的茎节为外植体)。在试验中观察到^[9]: 增施 CO₂ 的两组组培苗, 叶片浓绿, 茎秆粗壮, 茎色深红, 主根长且粗, 侧根多, 黄白色; 而对照两组的组培苗茎细弱, 茎色浅绿, 根系不发达, 主根短, 侧根少, 根色灰白或褐色。说明通过 CO₂ 富集, 可提高作物的光合自养能力, 明显改善组培苗的生长发育状况。

表 1 不同培养方式下组培苗主要生长发育指标

Table 1 Comparison of growth indexes between different treatments

组培方式	叶片数	株高öcm	节间距öcm	茎粗öcm	鲜质量ög	干质量ög	叶面积öcm ²
A	7. 3 ^{aA}	6. 2 ^{bB}	0. 85 ^C	1. 15 ^A	1. 02 ^A	0. 134 ^A	2. 67 ^{aAB}
C	7. 5 ^{aA}	7. 0 ^{bB}	0. 93 ^{BC}	1. 13 ^A	0. 86 ^A	0. 079 ^B	2. 00 ^{abB}
B	6. 9 ^{aAB}	8. 7 ^{aA}	1. 26 ^A	0. 89 ^B	0. 59 ^{AB}	0. 047 ^C	2. 79 ^{aA}
D	5. 2 ^{bB}	5. 6 ^{bB}	1. 08 ^B	0. 65 ^C	0. 25 ^B	0. 020 ^C	1. 76 ^{bB}

注: 表中字母 A、B、C (或 a、b、c) 表示在 0. 01 (或 0. 05) 水平差异显著。

4 结 论

1) 所设计的 CO₂ 增施监控系统能够向组培装置提供适量的 CO₂, 有效地将 CO₂ 浓度控制在设定范围内, 系统工作稳定、正常, 说明本系统的设计及控制方法和控制模型是可行的。

2) 与传统组培方式相比, 通过增施 CO₂ 培育的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、干物重积累多, 光合自养能力增强, 植株整体发育进程加快。

〔参 考 文 献〕

[1] 吴毅明等. 国外设施园艺环境控制新技术的发展[J]. 农业工程学报, 1988, 4(3): 80~ 91.
[2] 史跃林. 组培苗的生育环境与调节[J]. 植物生理学通讯, 1990, 30(3): 65~ 67.
[3] Kozai T. Multiplication of potato plantlets in vitro with sugar free medium under high photosynthetic

photon flux[J]. Acta Horticulturae, 1988, (230): 121 ~ 127.
[4] Desjardins Y. Photosynthesis in vitro—on the factors regulating CO₂ assimilation in micropropagation systems[J]. Acta Horticulturae, 1995, (393): 45~ 61.
[5] 肖玉兰等. 非洲菊无糖培养技术的应用研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(4): 408~ 410.
[6] 李宗菊等. 加速组培小植株无糖培养技术[J]. 北方园艺, 1999(1):
[7] Fujiwara K. Development of a photoautotrophic tissue culture system for shoots and root plantlets at rooting and acclimatization stages [J]. Acta Horticulturae, 1988, (230): 153~ 158.
[8] 丁永前. 组培苗微生态环境中 CO₂ 控制的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2000.
[9] 崔瑾等. 增施 CO₂ 对葡萄组培苗生长发育和光合自养能力的影响[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(2): 28 ~ 31.

Ling Jian¹, Ma Chengwei¹, Lin Chong¹, Huang Zhidong¹, Shen Liming² (1. Key Laboratory of Agricultural Bioenvironment Engineering, Ministry of Agriculture P. R. China, China Agricultural University, Beijing 100083, China; 2 Shanghai Farm Green Engineering Co., Ltd., Shanghai 200090, China)

Abstract Heat preservation and energy saving experiment using aluminumized thermal screens in greenhouse was conducted. The temperatures inside greenhouse both with and without thermal screens were measured based on experiment. The experimental result showed that air temperature inside greenhouse under aluminumized thermal screens can be improved by 3~5 °C, and the air temperature at 40 cm above the screen was 8.8 °C higher than that at 40 cm under the screen. According to calculated results of the heating load of the greenhouse and the overall heat transfer coefficient of the roof with and without thermal screens, the average energy saving efficiency reached about 37%, which reveals excellent thermal performance of aluminumized thermal screens.

Key words: greenhouse; aluminumized film; thermal screen; energy saving

Preliminary Study on Calculating Dynamic Wind Pressure for Multi-span Greenhouse Structural Design (93)

Sun Defa, Miao Xiangwen, Cui Shaorong (Institute of Agricultural Bioenvironmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract Based on the contrast analysis of loads provided in foreign and Chinese standards, analysis and discussion are mentioned about the definition and estimation of dynamic wind pressures for multi-span greenhouse structural design in details. Meanwhile, taking advantage of past experience in greenhouse structural design a practical method which can be used in greenhouse design was given for wind load. Under the present conditions, it is unnecessary to make modification of statistical reappearing factor in calculation wind load/dynamic pressure when considering the coefficients of wind pressure depending on height and the gust factor according to Chinese architectural structure load standards (GBJ9287).

Key words: greenhouse; dynamic pressure; structural design

Design and Experiment of CO₂ Enrichment and Real-time Control System for Tissue Culture (96)

Ding Yongqian, Ding Weinan, Cui Jin, Li Shijun, Xu Zhigang, Wang Xiaohan (College of Agricultural Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210032, China)

Abstract In order to improve the environmental conditions of tissue culture in vitro and to investigate the function of CO₂ in the culture, a CO₂ enrichment and real-time control system was developed. Using this system, the growth experiment of subcultured grape (cabernet sauvignon) plantlets was carried out as compared with the traditional tissue culture method (non-CO₂ enrichment). The results indicated that the system worked well, the required ranges of CO₂ concentration [(800~1200) μL/L] could be obtained; and the CO₂ enrichment environment could promote the growth and photoautotrophic capability of the plantlets in vitro.

Key words: CO₂ enrichment; real-time control; biological environment; tissue culture; sucrose-free culture

Effects of Ambient Temperature and Relative Humidity on Physiological Parameters and Performance of Growing Pigs (99)

Wang Kaiying¹, Miao Xiangwen¹, Cui Shaorong¹, Coen M Hogenboom², R. Geers² (1. Institute of Agricultural Bioenvironment Engineering, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, China; 2. Zootechnical Centre, K. U. Leuven, Bijzondere weg 12, B-2360 Olenjoel, Belgium)

Abstract Responses of physiological parameters and activity to humidity and temperature were studied using DSI animal physiological parameters online telemetry system and environmental condition and animal activity detecting system. The results show that body temperature, heart rate of pigs raised under high room temperature in summer, and swine growing performance decreased, especially, under high humidity and temperature. A 10% increase in relative humidity was offset by 1 °C decrease in ambient