



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101953298 A

(43) 申请公布日 2011.01.26

(21) 申请号 201010263569.9

(22) 申请日 2010.08.26

(71) 申请人 中国科学院地球化学研究所  
地址 550002 贵州省贵阳市观水路 46 号

(72) 发明人 吴沿友 许文祥 李萍萍 刘莹  
刘丛强 王宝利

(74) 专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所  
52100

代理人 吴无惧

(51) Int. Cl.

A01H 4/00(2006.01)

A01G 7/02(2006.01)

G01N 33/00(2006.01)

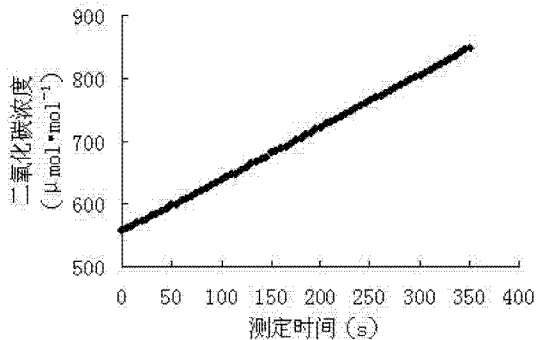
权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 2 页

## (54) 发明名称

动态测定植物组培苗自养能力的方法

## (57) 摘要

本发明公开了一种动态测定植物组培苗自养能力的方法,组培苗培养一段时间后进行初次测定;其步骤为将二氧化碳分析仪在无菌环境下连接到组培瓶上,计算出密封系统的空气体积;分别记录在培养光强下和黑暗下单位时间内组培瓶中的CO<sub>2</sub>浓度的变化;采用图像处理法获得组培苗的质量;根据组培瓶中的CO<sub>2</sub>浓度的变化构建模型,将CO<sub>2</sub>浓度的变化速率换算到标准浓度的变化速率;根据光下得到的标准浓度的变化速率和黑暗处得到的标准浓度的变化速率计算出组培苗绝对自养能力;将该瓶组培苗的绝对自养能力换算成单位质量的组培苗自养能力;每隔一段时间重复初次测定的步骤;最终获取不同时期的该组培苗的自养能力的动态信息。



1. 一种动态测定植物组培苗自养能力的方法,其特征在于:组培苗培养一段时间后进行初次测定;初次测定步骤为:将二氧化碳分析仪的进气口和出气口塞上抗菌过滤棉,并对接口、胶管和带孔的橡胶塞进行无菌处理,通过带孔的橡胶塞,在无菌环境下连接到组培瓶上,形成密封的系统,计算出密封系统的空气体积;分别记录在培养光强下和黑暗下单位时间内组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度的变化;采用图像处理法获得组培苗的质量;根据组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度的变化,构建二氧化碳浓度随时间变化的模型,依据各自模型,将  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率换算到标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率;根据光下得到的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率和黑暗处得到的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率计算出组培苗绝对自养能力;将该瓶组培苗的绝对自养能力换算成单位质量的组培苗自养能力;在培养过程中,每隔一段时间重复初次测定的步骤,获得不同时期的该瓶组培苗组培苗绝对自养能力和单位质量的自养能力;最终获取不同时期的该组培苗的自养能力的动态信息。

2. 根据权利要求1所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法,其特征在于:组培苗培养到10天后,开始第一次测定,即初次测定。

3. 根据权利要求1所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法,其特征在于:采用图像处理法获得组培苗的质量,是将待检测的组培苗加入到不同的已知质量的组培苗中间,获得彩色图像;将彩色图像转化为灰度格式,再将灰度格式的图像经过亮度和对比度调整,最后将图像进行反转,根据反转图像对各瓶组培苗进行像素点数的统计;已知质量的组培苗为内标,6-8个内标的质量和像素点进行线性回归,获得线性回归方程;将未知待测样品的像素点代入该方程,获得该瓶组培苗的质量。

4. 根据权利要求1所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法,其特征在于:构建二氧化碳浓度随时间变化的模型,是将组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度记为  $Y$ ,测定时间记为  $X$ ,组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  变化,逐渐增大或减小;组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐增大用

非线性双曲线方程 
$$Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X}$$

来拟合,组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐减小用非线性双曲线方程 
$$Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X}$$

来拟合;其中, $Y$  为即时  $\text{CO}_2$  浓度,单位为  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $X$  为测定时间,单位为  $\text{s}$ ,  $Y_0$  为  $t=0$  时的  $\text{CO}_2$  浓度; $a$ 、 $b$  均为拟合参数。

5. 根据权利要求1所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法,其特征在于:将  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率换算到标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率,是当组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐增大时,将  $Y$  为标准大气二氧化碳浓度值,即  $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  带入非线性

双曲线方程 
$$Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X}$$
, 计算出对应的时间  $X_b$  值, 
$$X_b = \frac{360 - Y_0}{a - 360 + Y_0} \cdot b$$
 ;将非线性双曲

线方程 
$$Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X}$$
 以  $Y$  对时间  $X$  求一阶导数,可得: 
$$Y' = \frac{a \cdot b}{(b + X)^2}$$
 ,将  $X_b$  值带入该式,

得到该时刻对应的标准  $\text{CO}_2$  浓度变化速率参数  $A_b$ , 
$$A_b = \frac{a \cdot b}{(b + X_b)^2}$$
 ;

当组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐减小时,将  $Y$  为  $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  带入非线性双曲线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X}$ , 计算出对应的时间  $X_b$  值,  $X_b = \frac{a - 360 + Y_0}{360 - Y_0} \cdot b$ ; 将非线性双曲线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X}$  以  $Y$  对时间  $X$  求一阶导数, 可得:  $Y' = \frac{a \cdot b}{(b + X)^2}$ , 将  $X_b$  值带入该式, 得到该时刻对应的标准  $\text{CO}_2$  浓度变化速率参数  $A_b$ ,  $A_b = \frac{a \cdot b}{(b + X_b)^2}$ 。

6. 根据权利要求 1 所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法, 其特征在于: 根据光下得到的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率和黑暗处得到的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率计算出组培苗绝对自养能力, 是组培苗绝对自养能力  $AT$  根据光下测定的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率  $A_l$  和黑暗处测定的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率  $A_b$  进行计算, 计算公式为  $AT = -(A_l - A_b) \times 1000V / 22.4$ , 单位为  $\text{nmol} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $V$  为密封系统的空气体积。

7. 根据权利要求 1 所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法, 其特征在于: 将该瓶组培苗的绝对自养能力换算成单位质量的组培苗自养能力, 是依据组培苗绝对自养能力  $AT$  和该瓶组培苗的质量  $M$ , 换算成单位质量的组培苗自养能力  $AT_{pm}$ , 换算公式为  $AT_{pm} = AT / M$ 。

8. 根据权利要求 1 所述的动态测定植物组培苗自养能力的方法, 其特征在于: 在培养过程中, 每隔 3 到 7 天, 重复初次测定的步骤, 进行组培苗的自养能力的测定。

## 动态测定植物组培苗自养能力的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种测定植物组培苗自养能力的方法,属于生物工程领域。

### 背景技术

[0002] 植物组织培养是指植物的离体器官、组织或细胞在人工控制的环境下培养发育再生成完整植株的技术。植物组织培养快繁技术比常规的繁殖技术有很多优越性,已经在农业、林业、园艺和医药等方面广泛地应用。在植物组织培养过程中,组培苗的生长方式有三种:一是小植株靠光合作用进行的自养生长;二是小植株靠培养基中的糖进行异养生长;三是小植株既靠培养基中的糖又靠人工光照,同时进行异养和自养的兼养生长。现在常规的植物组织培养快繁技术大多数是以第三种方式进行。小植株的自养能力的大小决定了组培苗生长的好坏,仅行异养生长的组培苗,将会导致植株生理、形态上的紊乱,造成生长发育延缓或死亡,引起玻璃苗、生根困难等问题。因此,动态测定植物组培苗自养能力,控制培养环境因子,对工厂化的苗木生产,具有重要的意义。

[0003] 首先,目前组培苗的光合速率的测定所涉及到的对象是大型容器(或组培箱)(徐志刚,崔瑾,焦学磊,丁为民,李式军,农业工程学报,2003,第19卷第4期,pp. 38-40;王立文,丁为民,丁永前,农业机械学报,2005,第36卷第5期,pp. 93-96),测定的原理是依据容器内的二氧化碳浓度的变化来获取二氧化碳交换速率的。这种方法,对无糖培养较适合,但不适合对于常规小容器培养的、同时进行异养和自养的兼养生长的组培苗的自养能力的测定。因为,组培苗一方面可以利用培养基中糖的分解,获取生长所需要的物质和能量,另一方面可以利用自身的光合作用生成有机物,供其生长发育所需。分解糖时,放出二氧化碳,进行光合作用时植株吸收二氧化碳。依据容器内的二氧化碳浓度的变化获取的二氧化碳交换速率,不能反映小植株的自养能力,这是因为呼吸作用(糖的分解)和光合作用都会受到内部和外部环境的影响。

[0004] 其次,目前组培苗的二氧化碳交换速率的测定都以容器内的植株或小植株的数目为单位进行测定。由于植株的大小不同,光合速率也不同,因此,用容器内的植株或小植株的数目为单位来度量光合能力,会有极大的误差。

[0005] 最后,目前为了获得准确的单位质量组培苗的二氧化碳交换速率,采用了破坏性获取小植株的质量,不是动态地测定组培苗的自养能力。

[0006] 因此,动态测定植物组培苗自养能力,必须在线获取组培苗的质量,既考虑到单位质量下的光合速率,又考虑到培养基中糖在分解过程中的二氧化碳的释放。

### 发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题是,提供一种动态测定植物组培苗自养能力的方法,该方法既考虑到单位质量下的光合速率,又考虑到培养基中糖在分解过程中的二氧化碳的释放,动态测定植物组培苗自养能力,以克服现有技术中存在的不适合对于常规小容器培养的、同时进行异养和自养的兼养生长的组培苗的自养能力的测定等不足。

[0008] 本发明采用以下技术方案:组培苗培养一段时间后进行初次测定;初次测定步骤为:将二氧化碳分析仪的进气口和出气口塞上抗菌过滤棉,并对接口、胶管和带孔的橡胶塞进行无菌处理,通过带孔的橡胶塞,在无菌环境下连接到组培瓶上,形成密封的系统,计算出密封系统的空气体积;分别记录在培养光强下和黑暗下单位时间内组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度的变化;采用图像处理法获得组培苗的质量;根据组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度的变化,构建二氧化碳浓度随时间变化的模型,依据各自模型,将  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率换算到标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率;根据光下得到的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率和黑暗处得到的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率计算出组培苗绝对自养能力;将该瓶组培苗的绝对自养能力换算成单位质量的组培苗自养能力;在培养过程中,每隔一段时间(3到7天,一般为5天)重复初次测定的步骤,获得不同时期的该瓶组培苗组培苗绝对自养能力和单位质量的自养能力;最终获取不同时期的该组培苗的自养能力的动态信息。

[0009] 所述的初次测定是当组培苗培养到10天后,开始第一次测定。

[0010] 所述的采用图像处理法获得组培苗的质量,是将待检测的组培苗加入到不同的已知质量的组培苗中间,获得彩色图像;将彩色图像转化为灰度格式,再将灰度格式的图像经过亮度和对比度调整,最后将图像进行反转,根据反转图像对各瓶组培苗进行像素点数的统计;已知质量的组培苗为内标,6-8个内标的质量和像素点进行线性回归,获得线性回归方程;将未知待测样品的像素点代入该方程,获得该瓶组培苗的质量。

[0011] 所述的构建二氧化碳浓度随时间变化的模型,是将组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度记为  $Y$ ,测定时间记为  $X$ ,组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  变化,逐渐增大或减小;组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐增大用非线性双曲线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X}$  来拟合,组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐减小用非线性双曲线方程

$Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X}$  来拟合;其中,  $Y$  为即时  $\text{CO}_2$  浓度,单位为  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $X$  为测定时间,单位为  $s$ ,  $Y_0$  为  $t=0$  时的  $\text{CO}_2$  浓度; $a$ 、 $b$  均为拟合参数。

[0012] 所述的将  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率换算到标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率,是当组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐增大时,将  $Y$  为标准大气二氧化碳浓度值,即  $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  带入非线性双曲线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X}$ , 计算出对应的时间  $X_b$  值,

$X_b = \frac{360 - Y_0}{a - 360 + Y_0} \cdot b$ ; 将非线性双曲线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X}$  以  $Y$  对时间  $X$  求一阶导数,可得:  $Y' = \frac{a \cdot b}{(b + X)^2}$ , 将  $X_b$  值带入该式,得到该时刻对应的标准  $\text{CO}_2$  浓度变化速率参数  $A_b$ ,

$$A_b = \frac{a \cdot b}{(b + X_b)^2};$$

当组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐减小时,将  $Y$  为  $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  带入非线性双曲线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X}$ , 计算出对应的时间  $X_b$  值,  $X_b = \frac{a - 360 + Y_0}{360 - Y_0} \cdot b$ ; 将非线性双曲

线方程  $Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X}$  以 Y 对时间 X 求一阶导数, 可得:  $Y' = \frac{a \cdot b}{(b + X)^2}$ , 将  $X_b$  值带入该式,

得到该时刻对应的标准  $CO_2$  浓度变化速率参数  $A_b$ ,  $A_b = \frac{a \cdot b}{(b + X_b)^2}$ 。

[0013] 所述的根据光下得到的标准二氧化碳浓度下的  $CO_2$  浓度的变化速率和黑暗处得到的标准二氧化碳浓度下的  $CO_2$  浓度的变化速率计算出组培苗绝对自养能力的获取, 是组培苗绝对自养能力 AT 根据光下测定的标准二氧化碳浓度下的  $CO_2$  浓度的变化速率  $A_L$  和黑暗处测定的标准二氧化碳浓度下的  $CO_2$  浓度的变化速率  $A_D$  进行计算, 计算公式为  $AT = -(A_L - A_D) \times 1000V / 22.4$ , 单位为  $nmol \cdot s^{-1}$ , V 为密封系统的空气体积。

[0014] 所述的将该瓶组培苗的绝对自养能力换算成单位质量的组培苗自养能力, 是依据组培苗绝对自养能力 AT 和该瓶组培苗的质量 M, 换算成单位质量的组培苗自养能力 ATpm, 换算公式为  $ATpm = AT / M$ 。

[0015] 所述的获取不同时期的该组培苗的自养能力的动态信息是在培养过程中, 每隔一段时间 (3 到 7 天, 一般为 5 天), 重复初次测定的步骤, 进行组培苗的自养能力的测定。

[0016] 本发明的原理是: 组培苗在黑暗下进行呼吸, 主要是利用培养基的糖, 这个过程是释放二氧化碳的过程; 组培苗在光下既有小植株自身的光合作用也有呼吸作用, 此时的二氧化碳交换是光合作用和呼吸作用综合表现。而植株的自养能力则是这光合作用的部分。

[0017] 本发明的优点如下:

1) 本方法能动态测定植物组培苗自养能力。

[0018] 2) 本方法能在线、无菌、动态的测定组培苗自养能力。

[0019] 3) 本方法测定的为标准状态下、组培苗单位质量的自养能力, 可为比较不同的组培苗的自养能力提供依据。

## 附图说明

[0020] 图 1 为在黑暗下组培苗 1 在培养 10 天时记录的组培瓶中  $CO_2$  浓度随测定时间的变化示意图;

图 2 为在光下组培苗 1 在培养 10 天时记录的组培瓶中  $CO_2$  浓度随测定时间的变化示意图。

## 具体实施方式

[0021] 本发明的实施例: 本发明包含以下过程:

第一、组培苗培养一段时间后 (一周至两周, 一般为 10 天) 进行初次测定; 初次测定步骤为:

1、光下和黑暗下单位时间内组培瓶中的  $CO_2$  浓度的变化。将二氧化碳分析仪如 Li-840 型  $CO_2/H_2O$  分析仪的进气口和出气口塞上抗菌过滤棉, 对接口、胶管和带孔的橡胶塞等进行无菌处理, 通过带孔的橡胶塞, 在无菌环境下连接到组培瓶上, 形成密封的系统, 计算出密封系统的空气体积 V, 单位为 L。分别记录在培养光强下和黑暗下单位时间内组培瓶中的  $CO_2$  浓度的变化。同时采用图像处理法获得该组培瓶中组培苗的质量 M, 单位为 g。

[0022] 2、构建二氧化碳浓度随时间变化的模型。将组培瓶中的  $CO_2$  浓度记为 Y, 测定时间

记为  $X$ 。组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  变化, 逐渐增大或减小。组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐增大用非线性双曲线方程(1)来拟合, 组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐减小用非线性双曲线方程(2)来拟合

$$Y = Y_0 + \frac{a \cdot X}{b + X} \quad (1)$$

$$Y = Y_0 + \frac{a \cdot b}{b + X} \quad (2)$$

其中,  $Y$  为即时  $\text{CO}_2$  浓度 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),  $X$  为测定时间 ( $s$ ),  $Y_0$  为  $t=0$  时的  $\text{CO}_2$  浓度;  $a$ 、 $b$  均为拟合参数。

[0023] 3、求出标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率。

[0024] 当组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐增大时, 将  $Y$  为标准大气二氧化碳浓度值, 即  $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  带入非线性双曲线方程(1), 计算出对应的时间  $X_b$  值。

$$[0025] \quad X_b = \frac{360 - Y_0}{a - 360 + Y_0} \cdot b \quad (3)$$

将非线性双曲线方程(1)以  $Y$  对时间  $X$  求一阶导数, 可得:

$$Y' = \frac{a \cdot b}{(b + X)^2} \quad (4)$$

将  $X_b$  值带入上式, 得到该时刻对应的标准  $\text{CO}_2$  浓度变化速率参数  $A_b$ 。

$$[0026] \quad A_b = \frac{a \cdot b}{(b + X_b)^2} \quad (5)$$

当组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度  $Y$  随时间  $X$  逐渐减小时, 将  $Y$  为标准大气二氧化碳浓度值, 即  $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  带入非线性双曲线方程(2), 计算出对应的时间  $X_b$  值。

$$[0027] \quad X_b = \frac{a - 360 + Y_0}{360 - Y_0} \cdot b \quad (6)$$

将非线性双曲线方程(2)以  $Y$  对时间  $X$  求一阶导数, 可得:

$$Y' = \frac{a \cdot b}{(b + X)^2} \quad (7)$$

将  $X_b$  值带入上式, 得到该时刻对应的标准  $\text{CO}_2$  浓度变化速率参数  $A_b$ 。

$$[0028] \quad A_b = \frac{a \cdot b}{(b + X_b)^2} \quad (8)$$

4、组培苗绝对自养能力的获取: 在光下测定的  $A_b$  等于光下测定的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率  $A_L$ , 在黑暗处测定的  $A_b$  等于黑暗处测定的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率  $A_D$ 。组培苗绝对自养能力  $AT = -(A_L - A_D) \times 1000V/22.4$ , 单位为  $\text{nmol} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

[0029] 5、组培苗的质量的获得。其具体方案为: 将待检测的组培苗, 加入到不同的已知质量的组培苗中间, 获得彩色图像。将彩色图像转化为灰度格式, 再将灰度格式的图像经过亮度和对比度调整, 最后将图像进行反转, 根据反转图像对各瓶组培苗进行像素点数的统计。已知质量的组培苗为内标, 6-8 个内标的质量和像素点进行线性回归, 获得线性回归方程。

将未知待测样品的像素点代入该方程,获得该瓶组培苗的质量  $M$ ,单位为  $g$ 。

[0030] 6、单位质量的组培苗自养能力。依据获取的组培苗绝对自养能力  $AT$  和该瓶组培苗的质量  $M$ ,换算成单位质量的组培苗自养能力  $AT_{pm}$ ,  $AT_{pm}=AT/M$ 。

[0031] 第二、组培苗单位质量的自养能力的动态信息的获取。每培养一段时间(3到7天,一般为5天),重复进行上述的初次测定的步骤,获得不同培养时期的该瓶组培苗的自养能力。如此,可以获取该组培苗的自养能力的动态信息。

[0032] 测定诸葛菜组培苗 1 的自养能力,操作实施如下:试验在人工气候室内进行,室内温度、湿度及  $CO_2$  浓度均可调。室内温度控制在  $25 \pm 0.5^\circ C$ ,  $CO_2$  浓度控制在  $360 \mu mol \cdot mol^{-1}$ , 空气湿度控制为 45%。供试材料为诸葛菜组培苗。组培瓶由玻璃制作的 150 ml 三角培养瓶,透光率等于 85%,经计算培养光强为  $308 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 。试验采用的是普通日光灯下培养的诸葛菜组培苗,光周期为光 14 h,暗 10 h,培养基为含 3% 蔗糖的 MS 附加  $0.1 mg \cdot L^{-1}$  NAA( $\alpha$ -萘乙酸)、 $10 mg \cdot L^{-1}$  6-BA(6-苄基嘌呤)的培养基。将 Li-840 型  $CO_2/H_2O$  分析仪的进气口和出气口塞上抗菌过滤棉,对接口、胶管和带孔的橡胶塞等进行无菌处理,通过带孔的橡胶塞,在无菌环境下连接到组培瓶上,形成密封的系统,算出密封系统的空气体积  $V=0.152 L$ 。分别记录在培养光强下和黑暗下单位时间内组培瓶中的  $CO_2$  浓度的变化。同时利用图像分析方法获取该组培瓶中的组培苗的质量  $M$ 。测定从培养 10 天后开始进行。每隔五天测定一次。

[0033] 依据组培瓶中的  $CO_2$  浓度随时间的变化,拟合组培瓶中的  $CO_2$  浓度随着时间变化模型。然后分别获取在光下测定的和在黑暗下测定的标准二氧化碳浓度下的  $CO_2$  浓度的变化速率。结果如表 1。

[0034] 表 1 培养不同时间的组培苗 1 的标准二氧化碳浓度下的  $CO_2$  浓度的变化速率

培养天数 (d)	组培苗的质量 $M$ (g)	光下标准二氧化碳浓度下的 $CO_2$ 浓度的变化 速率 $A_L$ $\mu mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$	黑暗下测定的标准二氧化碳浓度下的 $CO_2$ 浓度的变化 速率 $A_D$ $\mu mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
10	0.474	-0.079	0.778
15	0.767	-1.208	1.086
20	1.36	-1.182	1.362
25	1.737	-0.557	0.993
30	2.022	-0.328	1.362

依据表 1 可获得该瓶组培苗动态自养能力的信息如表 2。

表 2 不同培养时间的组培苗 1 的自养能力



培养天数 (d)	组培苗的质量M (g)	组培苗绝对自养能力 AT $\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}$	单位质量的组培苗自养能力 ATpm $\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$
10	0.474	5.82	12.28
15	0.767	15.57	20.29
20	1.360	17.26	12.69
25	1.737	10.52	6.06
30	2.022	6.71	3.32

测定诸葛菜组培苗 2 的自养能力,操作实施如下。试验在人工气候室内进行,室内温度、湿度及  $\text{CO}_2$  浓度均可调。室内温度控制在  $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  浓度控制在  $360\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 空气湿度控制为 45%。供试材料为诸葛菜组培苗。组培瓶由玻璃制作的 150 ml 三角培养瓶,透光率等于 85%,经计算培养光强为  $308\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。试验采用的是普通日光灯下培养的诸葛菜组培苗,光周期为光 14 h,暗 10 h,培养基为含 3% 蔗糖的 MS 附加  $0.1\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA( $\alpha$ -萘乙酸)、 $0.4\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA(6-苄基嘌呤)的培养基。将 Li-840 型  $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$  分析仪的进气口和出气口塞上抗菌过滤棉,对接口、胶管和带孔的橡胶塞等进行无菌处理,通过带孔的橡胶塞,在无菌环境下连接到组培瓶上,形成密封的系统,算出密封系统的空气体积  $V=0.152\ \text{L}$ 。分别记录在培养光强下和黑暗下单位时间内组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度的变化。同时利用图像分析方法获取该组培瓶中的组培苗的质量 M。测定从培养 10 天后开始进行。每隔五天测定一次。

[0035] 依据组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度随时间的变化,拟合组培瓶中的  $\text{CO}_2$  浓度随着时间变化模型。然后分别求出在光下测定的和在黑暗下测定的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率。结果如表 3。

[0036] 表 3 培养不同时间的组培苗 2 的标准二氧化碳浓度下的  $\text{CO}_2$  浓度的变化速率

培养天数 (d)	组培苗的质量M (g)	光下标准二氧化碳浓度下的 $\text{CO}_2$ 浓度的变化 速率 $A_L$ $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$	黑暗下测定的标准二氧化碳浓度下的 $\text{CO}_2$ 浓度的变化 速率 $A_D$ $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
10	0.624	-0.235	0.608
15	1.174	-0.418	1.064
20	2.642	-0.741	1.782
25	4.755	-1.061	1.516
30	4.834	-0.858	1.339

依据表 3 可获得该瓶组培苗动态自养能力的信息如表 4。

表 4 不同培养时间的组培苗 2 的自养能力

培养天数 (d)	组培苗的质量M (g)	组培苗绝对自养能力AT $\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}$	单位质量的组培苗自养能力ATpm $\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$
10	0.624	5.72	9.17
15	1.174	10.05	8.56
20	2.642	17.12	6.48
25	4.755	17.49	3.68
30	4.834	14.91	3.08

实施效果比较如下：

比较以上测定的诸葛菜组培苗 1 的自养能力和测定的诸葛菜组培苗 2 的自养能力的结果可以看出，组培苗 1 的单位质量的组培苗自养能力显著大于组培苗 2。这是因为组培苗 1 的培养基中激素配比中 6-BA (6-苄基嘌呤)  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  明显高于组培苗 2 培养基中激素配比中 6-BA (6-苄基嘌呤)  $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。这与细胞分裂素(6-苄基嘌呤)对光合作用具有明显地促进作用的事实相吻合。

[0037] 从以上测定的诸葛菜组培苗 1 的自养能力和测定的诸葛菜组培苗 2 的自养能力的结果还可以看出，并不是组培苗越大，光合自养能力越强。从组培苗绝对自养能力的数值来看，组培苗培养初期，绝对自养能力的数值低，随着培养时间的增加，培养到一定时期绝对自养能力的数值达到最大值，之后，绝对自养能力随着培养时间的增加，数值逐渐减小，呈现出两头低，中间高的情况。这是因为，组培苗培养的初期，营养充足，生长速度快，因此，随着植株的增长，组培苗的光合作用增强；但是，随着培养基的耗竭，光合作用减小。因此，本发明获取的组培苗的自养能力的信息与组培实践是相符的。

[0038] 本发明还能提供不同的组培苗的自养特征，通过本发明测得的自养能力反映了诸葛菜组培苗 1 和诸葛菜组培苗 2 的自养特征有明显不同。诸葛菜组培苗 1，单位质量的组培苗自养能力最大值出现在培养 15 天后，组培苗绝对自养能力最大值出现在 20 天；诸葛菜组培苗 2，单位质量的组培苗自养能力在培养 10 天后，随培养时间的增加而减小，组培苗绝对自养能力最大值出现在 25 天。本发明获取的不同组培苗的自养信息为培养基的筛选和环境控制提供科学依据。

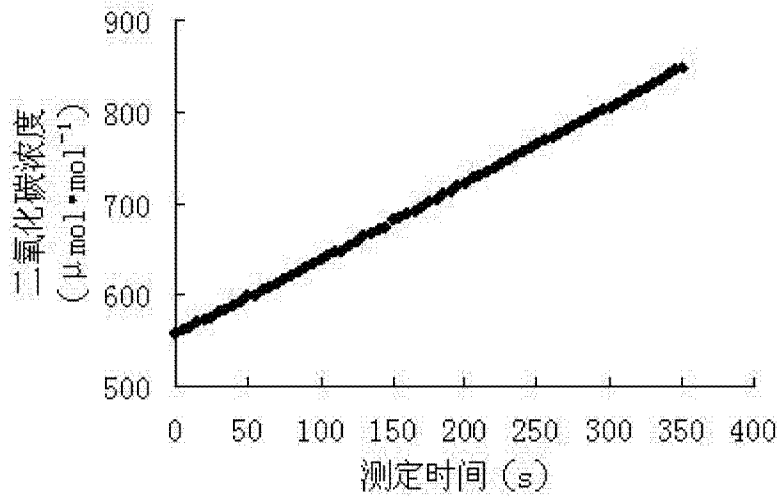


图 1

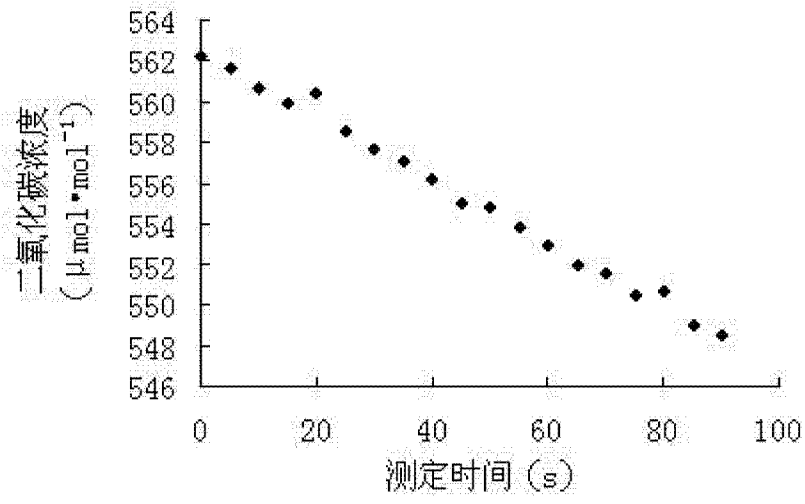


图 2