

# 温度和光照对‘红地球’葡萄试管苗光合特性的影响

陈佰鸿\*, 曹孜义, 赵长增, 毛娟, 苏小玲

(甘肃农业大学农学院, 兰州 730070)

**摘要:** 以‘红地球’葡萄 (*Vitis vinifera* L. ‘Red Globe’) 试管苗为试材, 采用密闭系统落差法研究了在不同温度和光照强度下培养 28 d 的试管苗的光合特性。结果表明: 培养温度在 20 ~ 30 之间, 试管苗的暗呼吸速率 ( $R_d$ ) 随温度的升高而升高, 但净光合速率 ( $P_n$ ) 以 25 最高, 30 次之, 20 最低; 而  $CO_2$  补偿点以 25 最低, 20 次之, 30 最高; 光照强度在 40 ~ 200  $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  之间, 葡萄试管苗的  $P_n$  随光照强度 (PAR) 的升高而升高,  $CO_2$  补偿点随 PAR 的升高而降低。在光照条件下, 容器内  $CO_2$  浓度迅速降低, 并接近  $CO_2$  补偿点,  $CO_2$  供应不足是影响试管苗同化能力的主要原因。在室内培养阶段, 采用弱光、昼夜变温和改善培养容器的通气性有利于提高试管苗的光合能力; 在移栽驯化过程中, 逐步提高光照强度和延长光照时间有利于试管苗同化产物的积累和培养壮苗。

**关键词:** 葡萄; 试管苗; 光合特性; 温度; 光照强度

**中图分类号:** S 663.1; Q 945.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 04-0571-06

## Effects of Temperature and Light Intensity on Photosynthetic Characters of ‘Red Globe’ Grape Plantlet in Vitro

CHEN Bai-hong\*, CAO Zi-yi, ZHAO Chang-zeng, MAO Juan, and SU Xiao-ling

(College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** By the ways of falling and airtighting, the research was made on the photosynthetic characters of grape (*Vitis vinifera* L. ‘Red Globe’) plantlets *in vitro* cultivated under different temperatures and photosynthetic availability radiations (PAR). The results showed that under the temperatures between 20 and 30, the dark respiration rate ( $R_d$ ) rose with the rise of the temperature, while the net photosynthesis rate ( $P_n$ ) reached the highest in 25, slowed in 30, and reduced to the lowest in 20. However, the compensation point of  $CO_2$  was the lowest in 25, rose in 20, and reached the highest in 30. When the PAR was between 40 and 200  $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ , the  $P_n$  of the grape plantlet rose with the increase of PAR, while the compensation point of  $CO_2$  decreased with the increase of the PAR. When PAR was available, the concentration of  $CO_2$  in the vessel reduced rapidly, almost close to the compensation point of  $CO_2$ . The insufficient supply of  $CO_2$  is the chief factor that affects the assimilation of the plantlets. In the stage of indoor cultivation, the weak light, temperature changes by day and night and the improvement of the ventilation of the cultivated vessels are advantageous to improving the photosynthesis of the plantlets. And in the process of transplantation and domestication, the gradual increase and extension of the light are advantageous to accumulating the products of the plantlet assimilation and generating the strong plantlets.

**Key words:** grape; plantlet; photosynthetic character; temperature; PAR

组织培养技术已广泛地应用于葡萄良种快繁和脱毒苗培育之中。在常规培养中, 试管苗处于一种自养与异养的混合状态 (Serret et al, 1997; Nguyen et al, 1999)。Kozai等 (1997) 认为, 含有叶

收稿日期: 2008 - 11 - 27; 修回日期: 2009 - 03 - 24

\* E-mail: bhch@gsau.edu.cn

绿素的试管苗大多数都可以在无糖条件下自养生长,表明试管苗具有较强的光合能力。因此优化组织培养体系对提高试管快繁效率和降低生产成本具有重要意义。光照和温度是组培中的两个重要环境因素,但二者是如何影响葡萄试管苗的光合与呼吸特性,如何从试管苗同化产物合成与积累的角度来研究和筛选组织培养的适宜环境条件,由于受常规光合测定仪自身的局限性,该方面的研究较少。

崔瑾等(2001)报道增施  $\text{CO}_2$  的葡萄组培苗生长健壮,发育提前,光合自养能力得到促进,驯化成活率高。陈佰鸿等(2004)研究了葡萄试管苗不同叶位叶片的光合与呼吸特性。但在葡萄组织培养中,处于相对封闭的培养容器内,多株试管苗的微群体光合与呼吸特性未见研究报道。因此,以单个培养容器为单元,研究不同培养温度和光照强度对试管苗的光合特性的影响,从而明确影响葡萄试管苗光合作用的主要环境因素,对优化葡萄组织培养条件具有重要的指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及其处理

试验于 2004—2005 年在甘肃农业大学农学院园艺植物组织培养室进行。试验材料为继代培养 30 d 的‘红地球’葡萄 (*Vitis vinifera* L. ‘Red Globe’) 试管苗。继代培养基为  $\text{GS} + \text{IAA } 0.2 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 6.0。

将继代 30 d 的试管苗剪切为长 1.5 cm 带 1 片叶的茎段,转接到 150 mL 的三角瓶中,每瓶转接 4 个带叶茎段。三角瓶用棉塞外包牛皮纸封口。用 RXZ 智能型人工气候箱(宁波江南仪器厂生产),在  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光照条件下,分别设定 20、25、30、35 4 个温度梯度。在 25 条件下,分别设 40、60、120、160、200  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  5 个光照强度处理。将接种后的三角瓶置于人工气候箱内培养,每个处理 40 瓶。光周期设定为 24 h,每天 8:00—0:00 设定为光照培养阶段,0:00—8:00 设定为暗期。培养箱内相对湿度为 70%~80%。

### 1.2 测定方法

培养 28 d 时测定试管苗的净光合速率 ( $P_n$ )、暗呼吸速率 ( $R_d$ )、叶绿素荧光动力学参数。

采用 CIRAS-2 型光合测定仪(英国)密闭系统落差法测定  $P_n$  和  $R_d$ 。光合测定仪与三角瓶闭合气路连接方法和测定步骤参照陈佰鸿等(2004)的方法。用注射器向三角瓶内注入 1 mL  $\text{CO}_2$  气体,封闭瓶口,置于相应温度和光照处理的人工气候箱内测定  $P_n$ ,待瓶内  $\text{CO}_2$  浓度降至 2 000  $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  时,每 30 s 记录 1 次  $\text{CO}_2$  浓度的落差,直到  $\text{CO}_2$  浓度相对恒定,此时瓶内  $\text{CO}_2$  浓度即为叶片的  $\text{CO}_2$  补偿点。然后关闭光照,测定叶片的  $R_d$ ,每 30 s 记录 1 次  $\text{CO}_2$  浓度的升值,直到瓶内  $\text{CO}_2$  浓度达到 2 000  $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  时停止测定。每处理重复测定 3 瓶。测定结束后,从三角瓶内取出试管苗,用 LI-3000C 便携式叶面积仪(美国)测定所有叶片的面积,取其和。 $P_n$  和  $R_d$  的计算公式参见赵世杰等(2002)的文献。将试管苗黑暗处理 1 h 后,在暗室内取叶片用 FM-2 调制式荧光仪(Hansatech 公司生产)迅速测定  $F_o$ 、 $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_m$ 、 $\psi_s$  等参数。用红外  $\text{CO}_2$  分析仪(芬兰 VA ISA 公司生产)检测人工气候箱内  $\text{CO}_2$  浓度。光照强度用 LI-250A 光照计(美国)测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养温度对葡萄试管苗光合特性的影响

#### 2.1.1 温度对净光合速率 ( $P_n$ ) 的影响

在  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的光照条件下,培养温度在 20~30 之间,  $P_n$  以 25 时最高,30 次之,20 最低(图 1)。温度从 20 升高到 25 时,平均  $P_n$  提高了 40.5%,而从 25 升高到 30 时,平均  $P_n$  降低了 19.3%。当培养温度达到 35 时,转接材料的叶片逐渐干枯死亡。

在不同培养温度条件下，葡萄试管苗的  $P_n$  均随培养容器内  $\text{CO}_2$  浓度的降低而降低。 $\text{CO}_2$  浓度在  $1\,500 \sim 700\,\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  之间， $P_n$  的下降幅度较小，在  $500 \sim 300\,\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  之间，下降幅度最大。尤其在  $30^\circ\text{C}$  条件下，当  $\text{CO}_2$  低于  $500\,\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  时， $P_n$  的下降幅度最大，在 3 个温度处理中最低（图 1）。

2.1.2 温度对暗呼吸速率（ $R_d$ ）的影响

在  $20 \sim 30^\circ\text{C}$  之间， $R_d$  随温度的升高而升高（图 2）。在相同培养温度条件下，培养容器内  $\text{CO}_2$  浓度对  $R_d$  有明显的抑制作用， $\text{CO}_2$  从  $100\,\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  升高到  $1\,500\,\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  时， $20^\circ\text{C}$ 、 $25^\circ\text{C}$  和  $30^\circ\text{C}$  试管苗的  $R_d$  分别降低到了 34.2%、39.1% 和 43.6%，温度越高， $\text{CO}_2$  的抑制效应越明显。

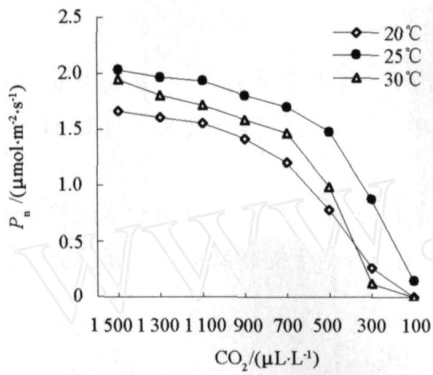


图 1 培养温度对葡萄试管苗净光合速率（ $P_n$ ）的影响

Fig 1 Effect of cultural temperature on  $P_n$  of grape plantlets

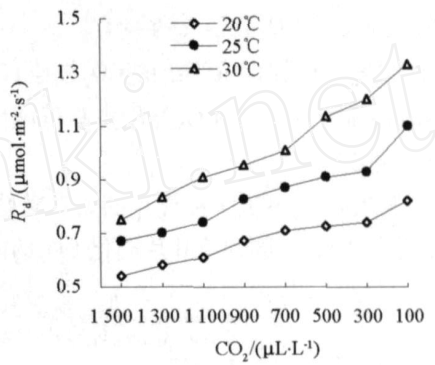


图 2 培养温度对试管苗呼吸速率（ $R_d$ ）的影响

Fig 2 Effects of cultural temperature on  $R_d$  of grape plantlets

2.1.3 温度对  $\text{CO}_2$  补偿点的影响

温度对试管苗  $\text{CO}_2$  补偿点有明显的影响，在  $25^\circ\text{C}$  时，试管苗  $\text{CO}_2$  补偿点最低，温度过高或过低都会使试管苗的  $\text{CO}_2$  补偿点升高。温度从  $20^\circ\text{C}$  升高到  $25^\circ\text{C}$  时， $\text{CO}_2$  补偿点降低了 42.3%；温度从  $25^\circ\text{C}$  升高到  $30^\circ\text{C}$  时， $\text{CO}_2$  补偿点升高了 103.6%（图 3）。

从不同温度下试管苗  $\text{CO}_2$  补偿点的变化规律看，温度对试管苗固定  $\text{CO}_2$  能力有明显影响。

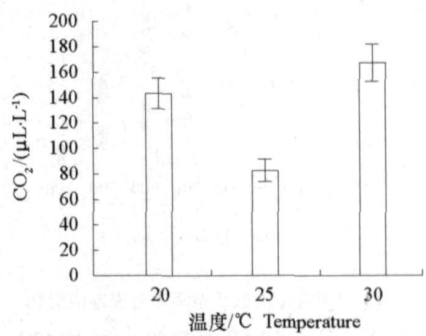


图 3 温度对葡萄试管苗  $\text{CO}_2$  补偿点的影响

Fig 3 Effect of temperature on  $\text{CO}_2$  compensation point of grape plantlets

2.1.4 温度对叶绿素荧光参数的影响

如表 1 所示，试管苗叶片最大光化学效率（ $F_v/F_m$ ）、最大荧光（ $F_m$ ）、光下最大荧光（ $F_m$ ）和实际光化学效率（ $P_s$ ）均以  $25^\circ\text{C}$  最高， $30^\circ\text{C}$  次之， $20^\circ\text{C}$  最低，说明  $25^\circ\text{C}$  条件下试管苗叶片光化学活性最高，较适宜试管苗的生长。 $F_v/F_m$  是衡量光抑制程度的重要指标，尽管不同温度处理之间存在差异，但均低于 0.85，说明葡萄试管苗光合作用处在相对较低的水平。

表 1 不同培养温度对葡萄试管苗部分叶绿素荧光参数（相对值）的影响

Table 1 Effects of cultural temperature on fluorescence parameters (relative values) in leaves of grape plantlets

温度 / Temperature	$F_o$	$F_m$	$F_v/F_m$	$F_m$	$P_s$
20	82.8 $\pm$ 7.2	364.2 $\pm$ 27.3	0.77 $\pm$ 0.01	351.3 $\pm$ 21.9	0.737 $\pm$ 0.01
25	73.5 $\pm$ 5.9	423 $\pm$ 34.6	0.83 $\pm$ 0.02	418.7 $\pm$ 25.6	0.779 $\pm$ 0.05
30	77.6 $\pm$ 6.2	389.7 $\pm$ 20.1	0.80 $\pm$ 0.02	387.7 $\pm$ 21.2	0.756 $\pm$ 0.03

## 2.2 光照强度对试管苗光合特性的影响

### 2.2.1 光照强度对净光合速率 ( $P_n$ ) 的影响

在 25℃ 培养温度下, 光照强度在  $40 \sim 200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  之间,  $P_n$  均随光照强度的增大而升高 (图 4)。在  $40 \sim 60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的弱光条件下,  $P_n$  较低, 且随  $\text{CO}_2$  浓度的降低,  $P_n$  的降低幅度较小。光照强度达  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以上,  $P_n$  明显增大, 随  $\text{CO}_2$  浓度的降低,  $P_n$  的降低幅度增大。在所有光照处理下, 试管内  $\text{CO}_2$  浓度降低到  $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  以下时,  $P_n$  随  $\text{CO}_2$  浓度的降低迅速下降。试管苗的  $P_n$  随  $\text{CO}_2$  浓度和光照强度的变化而发生相应的变化, 呈现出绿色植物光合作用的基本规律和特性, 说明葡萄试管苗具有一定的自养能力。

### 2.2.2 光照强度对 $\text{CO}_2$ 补偿点的影响

随光照强度的增加, 试管苗的  $\text{CO}_2$  补偿点呈现出下降趋势, 尤其是光强从  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  升高到  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $\text{CO}_2$  补偿点降低幅度最大, 从  $107.3 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  降低到  $83.1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , 降低了 22.4% (图 5)。

从光照强度与  $P_n$  和  $\text{CO}_2$  补偿点的关系来看, 在一定范围内随着光照强度的增加, 试管苗的  $P_n$  升高,  $\text{CO}_2$  补偿点降低, 试管苗叶片同化  $\text{CO}_2$  的能力增强, 强光照有利于提高试管苗的光合能力。

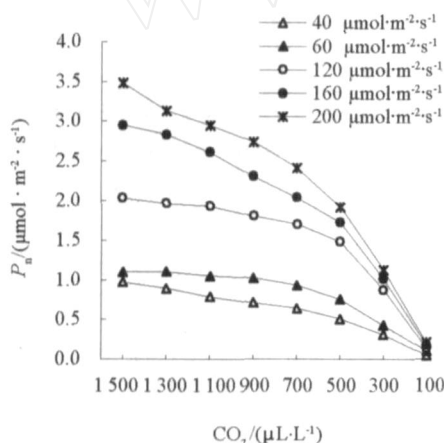


图 4 光照强度对试管苗净光合速率的影响

Fig. 4 Effect of PAR on  $P_n$  of grape plantlets

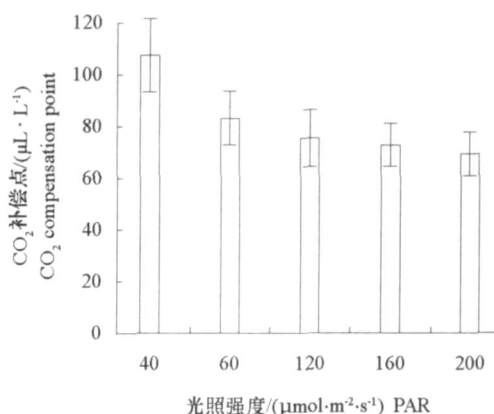


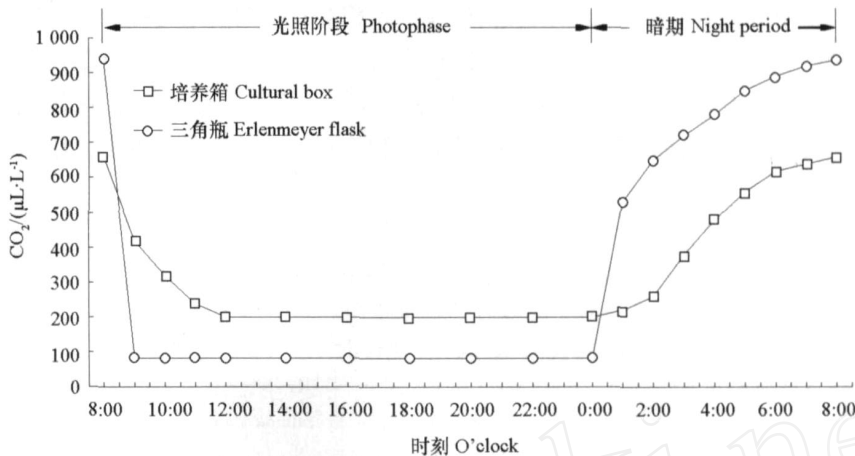
图 5 光照强度对试管苗  $\text{CO}_2$  补偿点的影响

Fig. 5 Effect of PAR on  $\text{CO}_2$  compensation point of grape plantlets

## 2.3 培养容器内 $\text{CO}_2$ 浓度的日变化规律

对培养 28 d 葡萄试管苗三角瓶内和人工气候箱内  $\text{CO}_2$  浓度日变化的检测表明, 培养温度为 25℃、光照强度为  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  时, 培养容器内  $\text{CO}_2$  浓度远低于大气中  $\text{CO}_2$  浓度, 尤其是三角瓶内  $\text{CO}_2$  浓度更低 (图 6), 是制约试管苗光合能力提高的主要因素。

从图 6 可以看出, 由于试管苗的光合作用, 人工气候箱内  $\text{CO}_2$  浓度从 8:00 的  $660 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  降到 12:00 的  $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , 之后保持相对稳定。0:00 光照停止后, 因试管苗的呼吸作用,  $\text{CO}_2$  浓度逐渐升高。三角瓶内  $\text{CO}_2$  浓度虽然也呈现出与培养箱内相似的变化动态, 但变化幅度比培养箱内的更明显。培养箱内  $\text{CO}_2$  浓度的最高值为  $660 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , 最低值为  $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , 在光照条件下从最高降到最低需要 4 h, 在黑暗条件下从最低升到最高需要 8 h, 上升变化幅度较为平缓。三角瓶内  $\text{CO}_2$  浓度的最高值为  $938 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , 最低值为  $82.6 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , 最高值高于培养箱内最高值, 最低值低于培养箱内的最低值; 从最高降到最低不到 1 h, 变化幅度明显高于培养箱; 在黑暗条件下从最低升到最高的过程中, 在第 1 小时内变化最为明显, 随后上升幅度趋于平缓。

图 6 葡萄试管苗培养容器内  $\text{CO}_2$  浓度的日变化动态Fig. 6 Dynamic change of  $\text{CO}_2$  concentration in cultural container of grape plantlets

### 3 讨论

#### 3.1 改善培养容器的通气性是提高试管苗光合能力的重要措施

在植物组织培养过程中, 温度和光照条件可以根据需要进行精确控制, 但由于培养容器相对封闭, 试管苗的光合作用和呼吸作用会在短期内使  $\text{CO}_2$  浓度发生很大变化, 难以对其进行精确控制, 所以从影响试管苗光合作用的环境因素来看, 主要是  $\text{CO}_2$  供应不足导致试管苗光合受阻 (图 6)。

由于三角瓶等培养容器封口材料的阻隔作用, 在光照条件下, 三角瓶内  $\text{CO}_2$  浓度过低, 基本保持在试管苗  $\text{CO}_2$  补偿点水平, 试管苗光合作用的碳源, 主要来源于试管苗自身呼吸代谢产生的  $\text{CO}_2$ , 严重制约试管苗自身同化能力的提高。这与 Fujiwara 等 (1987)、Kozai 等 (1988)、Solanova (1989) 的研究结果相似。因此, 在组织培养尤其在组培快繁当中, 提高环境  $\text{CO}_2$  浓度和改善培养容器封口材料的通气性, 使更多的外源  $\text{CO}_2$  能扩散到培养容器, 从而提高试管苗的光合能力和移栽成活率 (Desjardins et al, 1988; Figueira et al, 1991; Niu et al, 1998; Lian et al, 2002; Mosaleeyanon et al, 2004)。

#### 3.2 适宜的昼夜温差有利于提高试管苗的培养质量

从温度对试管苗光合速率和呼吸速率的影响来看 (图 1、图 2), 温度越高试管苗的呼吸速率越大, 而光合速率以 25℃ 最高, 过高和过低温度都会降低试管苗的光合速率。所以从优化葡萄试管苗的培养条件来看, 白天保持 25℃ 为宜, 晚上应降低培养环境温度, 通过降低试管苗的呼吸消耗提高植株碳素水平, 有利于培养壮苗。尽管提高光照强度能有效地提高试管苗的光合能力, 但在实际培养中光照过强并无利用价值, 一方面提高光照强度会增加试管苗的生产成本, 另一方面, 由于培养容器通气性较差, 影响试管苗光合作用的主要因素是  $\text{CO}_2$  供应不足, 而不是光照条件不足。因此, 在葡萄组织培养过程, 保持  $40 \sim 60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的光照强度已能完全满足试管苗光合作用对光的需求。

#### 3.3 较高的光照强度有利于试管苗移栽驯化过程中同化产物的积累

提高光照强度有利于提高试管苗的光合能力和自养能力 (Cui et al, 2000; 郭延平, 2000), 本试验结果也表现出葡萄试管苗的  $P_n$  随光照强度的增大而升高的趋势。但周明等 (2008) 对姜试管苗研究中认为, 随着培养光强升高, 试管苗的净光合速率没有增加, 甚至呈现降低趋势。出现这种结果的主要原因是在相对封闭的培养容器内, 气体与外界交换量很低, 在光照条件下容器内  $\text{CO}_2$  浓度迅速降低, 并达到或接近  $\text{CO}_2$  补偿点, 光合作用所需的  $\text{CO}_2$  主要靠试管苗呼吸代谢释放, 导致试管苗的净光合速率在一定光照强度以上呈现出静态。

试管苗移栽驯化一般在温室内进行, 试管苗处在一个相对开放的温室环境中, 与室内培养阶段相比,  $\text{CO}_2$  浓度保持在一个相对较高的水平, 在这阶段提高光照强度能有效提高试管苗光合速率 (图4)。因此, 在试管苗移栽驯化过程中, 逐步提高光照强度、延长光照时间, 有利于提高试管苗的自养能力和同化产物的积累, 对提高试管苗的移栽成活率和培育壮苗具有非常重要的作用。

## References

- Chen Bai-hong, Li Xin-sheng, Cao Zi-yi, Zhao Chang-zeng, Huang Yong-hong. 2004. Studies on photosynthetic and respiratory characters of different leaf positions in grape plantlet *in vitro*. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (5): 637 - 640. (in Chinese)
- 陈佰鸿, 李新生, 曹孜义, 赵长增, 黄永红. 2004. 葡萄试管苗不同叶位叶片光合与呼吸的特性. *园艺学报*, 31 (5): 637 - 640.
- Cui Jin, Ding Yong-qian, Li Shi-jun, Ding Weimin, Xu Zhi-gang, Yang Xu-dong. 2001. Effect of  $\text{CO}_2$  enrichment on the growth and photoautotrophic capability of grape (*Vitis L.*) plantlet *in vitro*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 24 (2): 28 - 31. (in Chinese)
- 崔瑾, 丁永前, 李式军, 丁为民, 徐志刚, 杨旭东. 2001. 增施  $\text{CO}_2$  对葡萄组培苗生长发育和光合自养能力的影响. *南京农业大学学报*, 24 (2): 28 - 31.
- Cui Y Y, Hahn E J, Kozai T, Peak K Y. 2000. Number of air exchanges, sucrose concentration, photosynthetic photo flux, and differences in photoperiod and dark period temperatures affect growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets *in vitro*. *Plant Cell Tissue & Organ Cult*, 62: 219 - 226.
- Desjardins Y, Lassier C, Gosselin A. 1988. Effect of  $\text{CO}_2$  enrichment and high photosynthetic photo flux on the development of autotrophy and growth of tissue-cultured strawberry, raspberry and asparagus plants. *Acta Hort*, 230: 45 - 53.
- Figueira A, Whipkey A, Janick J. 1991. Enriched  $\text{CO}_2$  and light promote *in vitro* shoot growth and development of *Theobroma cacao*. *Hort Sci*, 116: 585 - 589.
- Fujiwara K, Kazai T, Watanabe I. 1987. Measurements of carbon dioxide gas concentration in stoppered vessels containing tissue culture plantlets and estimates of net photosynthetic rates of the plantlets. *Agric Met*, 43: 21 - 30.
- Guo Yan-ping. 2000. Studies on photosynthesis of strawberry plantlets *in vitro*. *Journal of Fruit Science*, 17 (3): 202 - 206. (in Chinese)
- 郭延平. 2000. 草莓离体试管苗光合作用的研究. *果树科学*, 17 (3): 202 - 206.
- Kozai T, Sekimoto K. 1988. Effect of the number of air exchanges per hour of the closed vessel and the photosynthetic photo flux on the carbon dioxide concentration in side the vessel and the growth of strawberry plantlets *in vitro*. *Environ Control in Biol*, 26: 21 - 29.
- Kozai T, Kubota C, Jeong B R. 1997. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. *Plant Cell, Tissue & Organ Cult*, 51: 49 - 56.
- Lian M L, Murthy H N, Peak K Y. 2002. Culture method and photosynthetic photo flux affect photosynthesis, growth and survival of *Lin onium* 'Misty Blue' *in vitro*. *Sci Horticult*, 95: 239 - 249.
- Mosaleyanon K, Chaum S, Kirdanee C. 2004. Enhanced growth and photosynthesis of rain tree (*Samanea saman* Merr.) plantlets *in vitro* under a  $\text{CO}_2$ -enriched condition with decreased sucrose concentration in the medium. *Sci Horticult*, 103: 51 - 63.
- Nguyen Q T, Kozai T, Niu G, Nguyen U V. 1999. Photosynthetic characteristics of coffee (*Coffea arabusta*) plantlets *in vitro* in response to different  $\text{CO}_2$  concentrations and light intensities. *Plant Cell, Tissue & Organ Cult*, 55: 133 - 139.
- Niu G H, T kozai. 1998. Simulation of  $\text{CO}_2$  concentration in the culture vessel and growth of plantlets in micropropagation. *Acta Hort*, 456: 37 - 43.
- Serret M D, Trillas M I, Matas J, Araus J L. 1997. The effect of different closure types, light, and sucrose concentrations on carbon isotope composition and growth of *Gardenia jas inoides* plantlets during micropropagation and subsequent acclimation ex vitro. *Plant Cell, Tissue & Organ Cult*, 47: 217 - 230.
- Solova J. 1989. Photosynthesis of plant regenerants. Diurnal variation in  $\text{CO}_2$  concentration in cultivation vessels resulting from plantlets photosynthetic activity. *Photosynthetica*, 23: 100 - 107.
- Zhao Shi-jie, Shi Guo-an, Dong Xin-chun. 2002. The experimental instructor of plant physiology. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press: 67 - 68. (in Chinese)
- 赵世杰, 史国安, 董新纯. 2002. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社: 67 - 68.
- Zhou Ming, Guan Qiu-zhu, Wei Yu-xia, Zhang Zhen-xian. 2008. Effects of sucrose concentration and light intensity on growth and photosynthesis of ginger plantlets *in vitro*. *Chin J Appl Environ Biol*, 14 (3): 356 - 361. (in Chinese)
- 周明, 关秋竹, 韦玉霞, 张振贤. 2008. 蔗糖浓度和光照强度对姜试管苗生长和光合的影响. *应用与环境生物学报*, 14 (3): 356 - 361.