

Vc 液和活性炭对中华红叶杨外植体褐变的影响

李树丽^{1,2}

(1. 滨州职业学院生物工程系, 山东滨州 256603; 2. 山东师范大学生命科学学院, 山东济南 250014)

摘要 [目的] 为中华红叶杨种苗的快速繁殖提供依据。[方法] 以红叶杨茎段为外植体, 经 Vc 液振荡处理 3 h 后进行常规消毒处理, 然后分别接种于附加不同含量活性炭的培养基上, 不经 Vc 液处理为对照, 研究 Vc 液处理和培养基中加入活性炭及二者综合应用对红叶杨外植体褐变的影响。[结果] Vc 液处理在外植体培养初期对褐变有一定的抑制作用, 随时间延长其抑制作用减弱; 当培养基中含 0.3% 的活性炭时, 2 周后可观察到绿色小芽点, 8 周后芽长达 2 cm 以上; 对照组无明显变化; Vc 液和活性炭综合应用对褐变的抑制效果最好, 外植体长出的芽达 0.9 cm 长。[结论] 用 Vc 液处理红叶杨外植体, 同时在培养基中加入 0.3% 的活性炭, 对外植体褐变有较好的抑制效果。

关键词 外植体; Vc 液; 活性炭; 褐变

中图分类号 S722.3⁺7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)26-11232-02

Effects of Vc Solution and Activated Carbon on Explant Browning of Chinese Hongye Poplar

LI Shu-li (Bioengineering Department, Binzhou Vocational Institute, Binzhou, Shandong 256603)

Abstract [Objective] The study was to provide a basis for the rapid propagation of the seedlings of Hongye poplar. [Method] With the stem of Hongye poplar as explant, they were treated by Vc solution vibrating for 3 h before the routine disinfection, then were inoculated in the medium adding the activated carbon with different content and that without Vc solution treatment was taken as CK. The effects of treatment of Vc solution and adding activated carbon into medium and their comprehensive application on explant browning of Hongye poplar were studied. [Result] The treatment with Vc solution had some inhibitive effects on browning in the initial stage of the explant culture, and the inhibitive effects were weakened with the time delay. The small green buds could be observed after 2 weeks and the bud length reached over 2 cm after 8 weeks when 0.3% activated carbon was added in the medium, and that in CK group had no obvious change. The inhibitive effect on browning was the best when Vc solution and activated carbon were comprehensively applied, and the bud of the explant was up to 0.9 cm in length. [Conclusion] The inhibitive effects on explant browning was good when the explant of Hongye poplar was treated by Vc solution and 0.3% activated carbon was added into the medium at the same time.

Key words Explant; Vc solution; Activated carbon; Browning

中华红叶杨 (*Populus deltoids* cv. *Zhonghua hongye*) 为杨柳科杨属落叶乔木, 又名中红杨、变色杨等。其树干通直圆满, 叶片颜色随季节变化显著, 叶面颜色三季四变, 且性状稳定, 是城乡绿化极其珍贵的树种。中华红叶杨是从一个芽变通过精心培育而成, 经过 5 年的封闭试验, 于 2006 年被确定为杨树的新品种^[1]。由于中华红叶杨是新发展起来的品种, 又集观赏与用材于一身, 因此苗木供不应求。应用组织培养的方法已实现了多种苗木的快速繁殖, 但在对中华红叶杨外植体的培养过程中, 发现褐变很严重, 直接影响了无性繁殖系的获得。因此, 笔者就 Vc 液和活性炭对红叶杨外植体褐变的影响进行了研究, 现介绍如下。

1 材料与方法

1.1 材料 所有外植体都采用红叶杨的茎段。

1.2 方法

1.2.1 外植体的 Vc 液处理^[2]。

(1) Vc 液的配制。称取 Vc 100 mg、AgNO₃ 1 mg、PVP(聚乙烯吡咯烷酮) 20 mg, 三者分别溶解后混合, 并定容至 1 L。

(2) 外植体的处理。先将采集到的外植体修剪至适当大小并清洗, 然后设置 2 个组, 每组 10 个重复。①组: 对照组, 外植体不经 Vc 液处理, 直接进行表面消毒与接种。②组: 将外植体放入配制好的 Vc 液中振荡处理 3 h, 处理完后进行常规消毒及接种。将二者接种于相同的培养基上, 放在相同的条件下进行培养, 观察结果。

1.2.2 培养基中加入活性炭^[3]。设置 4 个组, 每组 10 个重复。①对照组 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L; ②MS +

6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.1%; ③MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.3%; ④MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.5%。

1.2.3 Vc 液与活性炭二者综合运用。设置 4 个组, 每组 10 个重复。①对照组: 外植体经常规处理直接接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L 的培养基中; ②外植体先放入 Vc 液中振荡处理 3 h, 处理完后进行常规消毒, 接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L 的培养基中; ③外植体经常规处理接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.3% 的培养基中; ④外植体先放入 Vc 液中振荡处理 3 h, 处理完后进行常规消毒, 接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.3% 的培养基中。

2 结果与分析

2.1 Vc 液对外植体褐变的影响 培养 3 d 后观察: 对照组外植体周围的培养基中有很轻微的颜色变化; 而 Vc 液处理组外植体周围的培养基中观察不到颜色变化。培养 5 d 后观察: 对照组外植体周围的培养基中颜色渐深; 而 Vc 液处理组外植体周围的培养基中仍观察不到颜色变化。培养 7 d 后观察: 对照组外植体周围的培养基中出现淡褐色; 而 Vc 液处理组外植体周围的培养基中有轻微的颜色变化。培养 2 周后观察: 对照组外植体周围的培养基中呈现褐色; 而 Vc 液处理组外植体周围的培养基中也出现淡褐色现象。培养 4 周后观察: 对照组外植体周围的培养基中出现大面积的褐色; 而 Vc 液处理组外植体周围的培养基中也出现了大面积的褐色, 2 组相差不大。从以上现象看, Vc 液在外植体培养初期对褐变有一定的抑制作用, 表现为褐变现象出现得晚、褐变程度轻, 但随着时间的延长, 其抑制作用逐渐变弱, 表现为褐变现象逐渐加重。

作者简介 李树丽(1974-), 女, 山东沾化人, 讲师, 从事植物与植物组织培养的科研与教学工作。

收稿日期 2008-06-27

2.2 活性炭对外植体褐变的影响 由于培养基中加入了活性炭,外植体的褐变现象在培养基中的颜色变化不明显,因此无法通过颜色的变化来判别褐变程度的轻重,但外植体的生长状况与褐变有一定的关系,褐变重,对外植体的毒害作用就大,影响外植体的生长与分化,严重时还会导致死亡。因此可通过观察外植体的生长状况来判断褐变的程度。由表 1 可知,适宜浓度的活性炭对外植体的褐变有一定的抑制作用,表现为不含活性炭的对照组外植体均死亡,而含活性炭的处理组外植体表现出了一定的生长。培养基中的活性炭浓度不同,外植体生长状况也不同,培养基中含 0.1% 的活性炭,外植体无明显生长,说明活性炭的浓度低,吸附有害物质少,外植体的褐变还是较严重,因而影响外植体的生长;培养基中含 0.3% 的活性炭与含 0.5% 的活性炭相比,在培养前期,培养基中含 0.5% 的活性炭中的外植体生长较快,可能是因为活性炭浓度较高,吸附有害物质多,因而外植体生长得较快;在培养后期,培养基中含 0.3% 活性炭中的外植体生长较快,原因可能是随着培养时间的延长,培养基中的活性物质逐渐减少,此时高浓度的活性炭比低浓度的活性炭吸附了更多的活性物质,特别是激素,因而较高浓度的活性炭反而不利于外植体的生长,使植株表现出生长缓慢的现象。

表 2 Vc 液与活性炭综合应用对外植体褐变的影响

Table 2 Effects of comprehensive application of Vc solution and activated carbon on the browning of explants

组别 Group	1 周后观察 Observation after 1 week	2 周后观察 Observation after 2 weeks	4 周后观察 Observation after 4 weeks
①	培养基淡褐色,外植体无明显生长	培养基褐色,外植体无明显生长	培养基褐色面积增大,外植体无明显生长
②	培养基中有轻微的颜色变化,外植体无明显生长	培养基中出现淡褐色现象,芽体增大	培养基褐色面积增大,芽体稍有增大
③	外植体无明显生长	露出绿色小芽点(芽点较小)	芽长 0.7 cm
④	外植体无明显生长	露出绿色小芽点(芽点较大)	芽长 0.9 cm

注:① 外植体经常规处理接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L 培养基中; ② 外植体经 Vc 液处理后接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L 培养基中; ③ 外植体经常规处理后接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.3% 培养基中; ④ 外植体经 Vc 液处理后接种于 MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.3% 培养基中。

Note: ① Explants after conventional treatment were inoculated on MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L; ② Explants after Vc solution treatment were inoculated on MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L; ③ Explants after conventional treatment were inoculated on MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + activated carbon 0.3%; ④ Explants after Vc solution treatment were inoculated on MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + activated carbon 0.3%.

3 结论与讨论

(1) 当采用红叶杨的茎段作外植体时,经 Vc 液处理和培养基中加入活性炭都能一定程度地抑制褐变现象,促进外植体的生长。

(2) 活性炭对红叶杨外植体的褐变有一定的抑制作用,但须选择适宜的浓度,浓度过低,抑制作用弱;浓度过高会吸附很多活性物质,从而影响外植体的生长。在该试验中,0.3% 的活性炭对红叶杨外植体的褐变有较好的抑制效果。因此若在培养基中加入活性炭,可考虑适当提高激素的浓

表 1 外植体在含不同浓度活性炭的培养基上的生长状况

Table 1 Growth status of explants in culture medium with different concentrations of activated carbon

组别 Group	2 周后观察 Observation after 2 weeks	4 周后观察 Observation after 4 weeks	8 周后观察 Observation after 8 weeks
①	无明显变化	无明显变化	外植体渐死亡
②	无明显变化	无明显变化	外植体渐死亡
③	露出绿色小芽点	芽长 0.7 cm	芽长 2.0 cm
④	露出绿色小芽点	芽长 0.8 cm	芽长 2.3 cm

注:① MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L; ② MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.1%; ③ MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.3%; ④ MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + 活性炭 0.5%。

Note: ① MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L; ② MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + activated carbon 0.1%; ③ MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + activated carbon 0.3%; ④ MS + 6-BA 2 mg/L + 2,4-D 0.03 mg/L + activated carbon 0.5%.

2.3 Vc 液与活性炭综合运用对外植体褐变的影响 由表 2 可知,当外植体为茎段时,Vc 液与活性炭对褐变都有一定的抑制作用,但以活性炭的抑制作用较明显,当 Vc 液与活性炭二者综合运用时,效果较好。

度,或者分阶段培养,在不同阶段加入不同浓度的活性炭,能提高培养的效果。另外,如果褐变比较严重,可综合运用多种方法,以提高褐变抑制效果,促进外植体的生长。

参考文献

- [1] 田素华. 中华红叶杨的选育与试验研究[J]. 农业科技通讯, 2007(10): 112-113.
- [2] 王振龙. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2007.
- [3] 刘庆昌, 吴国良. 植物细胞组织培养[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.