

中华红叶杨外植体消毒方式影响因素研究

李 树 丽

(山东省滨州职业学院, 山东 滨州 256603)

摘 要:选用氯化汞、次氯酸钠和抗生素溶液分别对中华红叶杨的茎段和叶片进行消毒,在消毒过程中,3种消毒剂分别设置了不同的消毒时间,接种于同种培养基上,统计其污染率并观察其生长状况。结果表明:对于茎段和叶片,氯化汞的消毒效果都优于其它2种,次氯酸钠次之,抗生素最差。

关键词:中华红叶杨;外植体;消毒方式;影响

中图分类号:S 792.119 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)20-0120-03

中华红叶杨(*Populus×euramericana* cv. Zhonghua-hongye)是近几年才发展起来的一个杨树新品种,是从‘中林 2025 杨’的一个芽变培育而得,而‘中林 2025 杨’属黑杨派速生品种,其生长速度较快。中华红叶杨不仅保持了‘中林 2025 杨’的速生特性,而且其叶色随季节呈现不同的变化,很具观赏性,是集观赏与用材于一身的优良树种^[1]。

中华红叶杨由于发展晚,苗木数量很少,但由于其优良的特性,市场需求量很大,采用常规的繁殖方法短时间内很难满足市场需求。组织培养是实现快速繁殖的一种有效途径,已实现了多种苗木的快速繁殖。但由于中华红叶杨外植体消毒困难,影响了其组织培养体系的建立,因此该试验就这个问题进行了探索。

1 材料与方法

1.1 试验材料

中华红叶杨选自惠民红叶杨发展公司的红叶杨生产基地。外植体茎段,取自中华红叶杨当年生枝条上较幼嫩的部分;叶片取自中华红叶杨上部较幼嫩的叶片。

1.2 试验方法

1.2.1 不同消毒剂对茎段的处理 不同处理污染率的比较:设置3组处理,每组处理分别接种10瓶,3次重复。3组处理分别先用75%的酒精浸泡10 s,无菌水冲洗1次,然后处理(1)加入0.15%的氯化汞分别浸泡7、10、15、20、30 min,无菌水冲洗5次以上;处理(2)加入2%的次氯酸钠溶液分别浸泡7、10、15、20、30 min,无菌

水冲洗3次以上;处理(3)加入30 mg/L的抗生素溶液分别浸泡7、10、15、20、30 min,无菌水冲洗3次以上。3种处理都接种于同种培养基中观察。污染率的计算:污染率(%)=污染的瓶数/接种的总瓶数×100。不同处理生长状况的比较:将中华红叶杨的茎段先用75%的酒精浸泡10 s,无菌水冲洗1次,然后分别用0.15%氯化汞消毒10 min、2%次氯酸钠消毒20 min、30 mg/L的抗生素溶液消毒30 min后分别接种,每种处理接种10瓶,每7 d观察1次,3次重复。

1.2.2 不同消毒剂对叶片的处理 不同处理污染率的比较:设置3组处理,每组处理分别接种10瓶,3次重复。3组处理分别先用75%的酒精浸泡10 s,无菌水冲洗1次,然后处理(1)加入0.15%的氯化汞分别浸泡4、6、8、12、20 min,无菌水冲洗5次以上;处理(2)加入2%的次氯酸钠溶液分别浸泡4、6、8、12、20 min,无菌水冲洗3次以上;处理(3)加入30 mg/L的抗生素溶液分别浸泡4、6、8、12、20 min,无菌水冲洗3次以上。3种处理都接种于同种培养基中观察。污染率的计算方法同上。不同处理生长状况的比较:将中华红叶杨的叶片先用75%的酒精浸泡10 s,无菌水冲洗1次,然后分别用0.15%氯化汞消毒8 min、用2%次氯酸钠消毒12 min、用30 mg/L的抗生素溶液消毒20 min后分别接种,每种处理接种10瓶,每7 d观察1次,3次重复。

2 结果与分析

2.1 不同消毒剂对茎段污染率的影响

由表1可知,同种外植体应用不同的消毒剂处理,其结果相差很大:氯化汞在10 min内就基本上达到了消毒的效果;而次氯酸钠消毒20 min,污染率仍高达85%;抗生素在30 min内,基本上起不到消毒的效果。3种消毒剂相比,氯化汞效果最好,所用时间最短;次氯酸钠效

作者简介:李树丽(1974-),女,硕士,讲师,现主要从事植物与植物培养工作。E-mail: bzlishuli@163.com.

收稿日期:2012-05-17

果次之,所用时间中等;抗生素消耗时间最长,效果最差。

表 1 不同消毒剂、不同消毒时间对茎段处理污染率的比较

消毒剂	污染率/%				
	7 min	10 min	15 min	20 min	30 min
0.15%氯化汞	100	5	0	0	0
2%次氯酸钠	100	100	100	85	0
30 mg/L 抗生素	100	100	100	100	100

由表 2 生长状况来看,经次氯酸钠消毒的外植体,其生长状况优于经氯化汞消毒的外植体,原因可能是氯化汞消毒时间过长而对外植体造成了伤害,也可能是由于氯化汞残留较重而影响了外植体生长。用抗生素消毒的外植体后期死亡。

表 2 不同消毒剂对茎段处理生长状况的比较

消毒剂	生长状况			
	7 d	14 d	21 d	28 d
0.15%氯化汞	+	+	++	++
2%次氯酸钠	+	++	++	++
30 mg/L 抗生素	+	+	—	—

注:“—”表示外植体死亡;“+”表示外植体呈绿色,但无生长;“++”表示外植体有生长。表 4 同。

将污染率和生长状况综合起来看,氯化汞消毒时间短,消毒效果好,生长状况良好,应是首选的消毒剂,但为了获得长势较好的无菌苗,也可考虑用次氯酸钠做消毒剂;抗生素不适宜做中华红叶杨外植体的消毒剂。

2.2 不同消毒剂对叶片污染率的影响

由表 3 可知,3 种消毒剂对叶片的消毒效果不同,用氯化汞消毒 8 min,污染率就很低;用次氯酸钠消毒 12 min,污染率仍较高;抗生素在 20 min 内,起不到消毒的效果。从污染率及消毒时间来看,氯化汞的效果较好,次氯酸钠次之,抗生素最差。从表 3 可以推测出,不同消毒剂对叶片消毒应选的时间范围,氯化汞应在 6~12 min 之间选择适宜的时间,次氯酸钠消毒时间应在 12 min 或以上,而抗生素的消毒时间不应低于 20 min。

表 3 不同消毒剂、不同消毒时间对叶片处理污染率的比较

消毒剂	污染率/%				
	4 min	6 min	8 min	12 min	20 min
0.15%氯化汞	100	85	10	0	0
2%次氯酸钠	100	100	100	75	0
30 mg/L 抗生素	100	100	100	100	100

由表 4 可知,用氯化汞消毒的叶片,其生长状况较好,在 28 d 时长出了愈伤组织;用次氯酸钠消毒的叶片在此时间下大部分污染,没有污染的表现出生长状况良

表 4 不同消毒剂对叶片处理生长状况的比较

消毒剂	生长状况			
	7 d	14 d	21 d	28 d
0.15%氯化汞	+	+	+	++
2%次氯酸钠	+	+	++	++
30 mg/L 抗生素	+	+	—	—

好,长出了愈伤组织,而且其愈伤组织的生长早于用氯化汞消毒的叶片;用抗生素消毒的叶片由于在此时间内绝大部分污染,因此导致叶片后期死亡。

综合考虑,氯化汞所用消毒时间最短,污染率较低,生长状况良好;用次氯酸钠消毒的叶片在无污染的情况下表现出了较好的生长势,但消毒 20 min 污染率较高,可适当延长次氯酸钠的消毒时间,从而降低污染率。

3 讨论

外植体的消毒是植物组织培养的第一步,也是关系到能否建立无菌繁殖体系的重要的一步。不同的植物其选用的外植体不同,则适宜的消毒剂和消毒时间也各不相同。对中华红叶杨的茎段来说,氯化汞的消毒时间短,消毒效果好,生长状况也较好,是比较适宜的消毒剂。刘文萍等^[2]在山新杨组织培养快繁技术的研究中也有类似的报道。德庆措姆等^[3]用 1% 升汞对嫩茎的消毒试验说明嫩茎的不同部位,其消毒时间不同。用次氯酸钠消毒虽然污染率较高,但外植体的生长状况优于用氯化汞消毒的外植体;而抗生素则不适宜做中华红叶杨外植体的消毒剂。孙宇飞等^[4]在欧美 107 杨组织培养再生系统的建立中也选用了氯化汞溶液和次氯酸钠溶液作为表面消毒剂。胡延生等^[5]在银中杨的组织培养试验中建议用次氯酸钠或戊二醛进行消毒。

中华红叶杨的茎段对氯化汞较敏感,适宜的时间范围比较小,如消毒 7 min,污染率为 100%,稍微延长消毒时间,消毒 10 min,污染率大大降低,仅为 5%,但对外植体的伤害较大,大部分外植体死亡。因此适宜的消毒时间是建立无菌繁殖体系非常关键的因素。叶片的消毒情况类似茎段。

参考文献

- [1] 朱延林,王新建,程相军,等. 中华红叶杨生物学及光合特性的研究[J]. 上海农业学报,2005,21(4):9-12.
- [2] 刘文萍,韩玉琴,南相日,等. 山新杨组织培养快繁技术研究[J]. 中国农学通报,2005,21(2):101-102.
- [3] 德庆措姆,布穷. 银白杨组织培养中外植体消毒时间初探[J]. 辽宁林业科技,2000(4):29.
- [4] 孙宇飞,高秀华,赵彦修,等. 欧美 107 杨组织培养再生系统的建立[J]. 山东师范大学学报(自然科学版),2004,19(2):85-87.
- [5] 胡延生,闫向东. 银中杨的组织培养试验[J]. 吉林农业科技学院学报,2007,16(2):3-4.

高温季节提高花椰菜成苗率关键措施

麻继仙^{1,2}, 木万福^{1,2}, 杨长楷^{1,2}, 李思武^{1,2}, 陈光平¹, 杨长风²

(1. 云南热区生态农业研究所, 云南 元谋 651399; 2. 云南思农公司, 云南 元谋 651399)

中图分类号: S 635.3 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2012)20-0122-01

云南元谋素有“天然温室”之称, 冬春季气候温暖、少雨、干燥、霜期短、蜂源充足, 花椰菜中早熟品种在这里生产时花期蜂源充足, 种子成熟期干燥无雨, 采收的种子光泽好, 发芽率符合国家标准, 现已成为十字花科、瓜类、豆类、叶葱等冬季蔬菜种子生产的重要区域。因此, 花椰菜育苗成功与否, 就成为了制约花椰菜制种的关键。7~9月份的元谋, 高温干燥, 最高气温可达 38℃, 穴盘内基质的温度可达 34℃, 导致花椰菜成苗率低, 影响了花椰菜杂交制种的生产, 所以如何提高花椰菜育苗成苗率是花椰菜杂交制种的重要环节。经过几年的试验, 现总结出提高杂交制种花椰菜成苗率的 8 项措施。

措施 1: 播种前进行原种的发芽率检测, 发芽率高于 90% 每穴可播种 1 粒。如果发芽率低于 90%, 可进行一穴 1 粒, 一穴 2 粒, 依次重复“1-2-1”的播种, 以提高出苗率。

措施 2: 播种后用珍珠岩覆盖种子, 改变用基质覆盖的传统, 出苗率比用基质覆盖的提高了 1%~2%。

措施 3: 播种后至出苗前, 苗床上方 2 m 高处用遮阳网遮荫(遮阳网的遮荫度在 75%~90%), 防止因高温影响而导致的出苗率较低的问题, 保证较高的出苗率。通过 2010~2011 年的试验, 盖遮阳网较不盖遮阳网的出苗率提高了 10%~15%。

措施 4: 出苗后适当遮荫, 保证晴天正午遮荫, 雨天、阴天要揭开, 气温高于 30℃ 时进行遮荫, 低于 30℃ 时可不遮荫; 待第 1 片真叶出来后, 逐渐减少遮荫时间, 增强光照, 培育壮苗。

措施 5: 幼苗心叶出后, 可用亮盾 1 500~3 000 倍液淋浇或喷雾, 4~5 d 喷雾处理 1 次, 可有效防止猝倒病或霜霉病的发生。

措施 6: 苗期及时补充氮肥 1~2 次, 花椰菜苗第 1 片真叶出来后, 可用 300 倍的高钙钾宝或复合肥(N:P:K=18:10:20)溶液淋浇, 浇后及时喷洒适量清水, 防止烧苗。

措施 7: 苗期水分管理时, 严格防旱和防涝, 晴天见干浇水, 阴天适当控水, 防止植株徒长。

措施 8: 浇水采用人工浇水和喷灌浇水相结合, 1 d 人工浇, 1 d 喷灌浇, 即保证了花椰菜苗的用水量, 又保证了棚内有足够的湿度, 减少了植株的生理性病害。

通过以上技术措施, 可使花椰菜出苗率从 80%~85%, 提高到 95%, 成苗率从 70%~75% 提高到 85%~90%。

第一作者简介: 麻继仙(1974-), 女, 本科, 副研究员, 现主要从事蔬菜制种技术研究工作。E-mail: snmjx@126.com.

责任作者: 杨长楷(1969-), 男, 本科, 副研究员, 现主要从事蔬菜制种技术研究工作。

基金项目: 云南省科技富民计划资助项目(2009EB077); 云南省社会发展计划资助项目(2010BB013)。

收稿日期: 2012-08-27

Research on the Effect of Factor of Disinfectors Method for the Explant of *Populus × euramericana* cv. Zhonghuahongye

LI Shu-li

(Binzhou Polytechnic Shandong Province, Binzhou, Shandong 256603)

Abstract: Selecting mercuric chloride, sodium hypochlorite and antibiotic solution respectively disinfection on leaves and the stem of Zhonghuahongye, in the experiment three kinds of disinfectants were respectively used with different sterilization time, inoculated in the same medium, the statistics of the rate of contamination and observing the condition of growth. The results showed that for stem and leaf, mercuric chloride was better than that of the others, sodium hypochlorite was the second, antibiotics was the worst.

Key words: *Populus × euramericana* cv. Zhonghuahongye; explant; disinfectors method; effect