

降低梨外植体组培褐变途径的初步研究

①向见 ①包兵 ②黄小强

(① 重庆市园林绿化科学研究所 重庆 400038 ②遵义市林业局 563000)

摘 要 以苍溪梨为试材进行降低组培褐变实验。结果表明：(1) 在不同培养基上相比较，苍溪梨在
*****座尺寸 27.8×15.8×4.3m 设计。

2.6 送水泵房

一期送水泵房为半地下式矩形建筑，地下部分深度 3.3m，为钢筋结构，其建筑尺寸 18.0×9.0×9.3m。

泵房内设水泵 5 台，其性能如下：额定流量 720m³/h，H=49m，电机功率为 160kw，额定电压 380V，供电电源电压为 10kv，泵房内排水潜水泵自动排水，泵房内设电动悬挂式起重机，提升高度 10 米，泵房内左端设检修起吊平台 9×4.5m。

二期泵房建筑物尺寸大小基本和一期相同，只是水泵参数不同，二期是 3 台 250kw 的电机，流量是 1260m³/h，扬程是 50m，其中 2 台是变频调速。

3 自控

南郊水厂分一期、二期，其中一期后期是老生产线参照二期自控模式改造，二期全部设备德国进口，并由德方人员编程。

一、二期自动控制设备：SIMATIC S7 系列可编程控制器，采取典型的集散控制结构，通过以太网进行通讯。

中心控制（上位控制）设备：P4 工作站，配 19 寸显示器，喷墨打印机。

现场控制设备：SIMATIC S7—300 可编程控制器，DI 和 DO 及 AI 和 AO 容量为：800 个，满足系统容量要求。根据工艺特点，控制规模和厂区构筑物的布置情况设置了二期为三个现场控制站，即配水、沉淀、加药现场控制子站，滤池现场控制子站，送水泵房现场控制子站。一期为一个现场控制站，即沉淀、滤池

现场控制子站。厂级控制系统即中心控制室和现场控制站两级系统之间采用双绞屏蔽通讯电缆连接，各部分均能独立工作。

监控现场子站可编程控制器，实时接收 PLC 采集的设备及检测仪表数据，如：生产数据（浊度、流量、余氯、压力等），以不断更新的计测、计量参数提供给工作人员。

通过 PLC 的实时通讯，监视全厂所有设备数据，如：送水泵的手动、运行、停止、设备的机械故障、事故的报警。按照子站划分用状态图形和报警图形显示。显示内容包括：状态变化、报警设备号、时间、原因等。

根据公司调度指令向各现场控制站发出指令，开、停相应设备调整出水流量压力等。

显示全厂工艺主要流程和各现场控制站各部的动态模拟图形。

4 评价

以长期的情况看，南郊水厂基本达到了设计要求，净水构筑物布局合理，技术参数的选取符合规模和生产要求，在原水高浊、低浊以及低温低浊的情况下，结合运行中的管理经验，能达到设计供水能力和短时超负荷运行。该厂经扩建、改造后，工艺不落，设备运行良好稳定，取得较好的社会效益和经济效益。当然在运行中也有不足的地方，在今后的工作中需加强管理和重视，不断技术更新，根据原水水量的变化，增强蓄水能力，应变未来可能的旱情带来的水量问题，根据原水水质的变化，增设深度处理等工艺，使水厂发挥其应有的作用。

MS+1.0mg/LBA+0.02mg/LNAA 上生长分化,将芽在 0.002mol/L 的 8-羟基奎啉溶液作不同时间的处理,20min 处理更有利于防止褐变同时不阻碍梨芽生长,成活率高达 90%,2hr 处理时间成活率低至 0;(2)从 3 月到 5 月用相同的培养基进行培养,5 月下旬采集的材料的褐变率最低;(3)通过不同的预处理实验表明,在田间将采集的梨外植体进行低温处理,接种前作 20min 8-羟基奎啉和苯甲酸钠(浓度分别为 0.002mol/L 和 0.2mol/L)均有较为理想的效果。

关键词 苍溪梨 (*Pyruspyrifolia* Nakai) 培养基 8-羟基奎啉 时间

梨组培中褐变是个重要问题,鞠志国(1989)^[1]对梨果实内的总酚含量、多酚氧化酶活性及其与果实褐变是否密切相关作过研究。生长季节采集梨芽,梨芽组培最大的问题之一就是褐变,造成成活率低^[1,3],为了克服或减轻褐变,提高成活率,许多研究者都做过研究,结果很不理想^[4,5]。本研究从培养基、采样时间、8-羟基奎啉浸泡时间、外植体的不同前处理(低温和抗氧化剂的配合)等方面初步探讨其对降低褐变和提高外植体成活率的影响,以便为提高组培成活率和组培效率提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为苍溪梨(20 余年树龄)成龄树上一年生枝,单株定株采样。

1.2 方法

1.2.1 材料的消毒

材料用 75% 的酒精浸 30s,再用 1.5% 氯酸钠浸泡 15min,无菌水冲洗 3-4 次,再次用试剂浸泡或浸泡于无菌水内逐个剥芽接种或切取茎尖培养。

1.2.2 培养基的制备

对苍溪梨的诱导培养基分别采用:(1)MS+2BA+1IBA (mg/l 单位下同) (2) 1/2MS+1BA+0.02NAA (3) MS+1.0BA+0.02NAA,以上培养基加蔗糖 30%,琼脂 0.8%,PH 为 5.8,0.1Pa、121℃ 恒温灭菌 15min。

1.2.3 培养条件

培养室白天温控 22℃±2℃,用 30W 节能灯作光

源,每层 3 支灯,每天光照 14 小时。

1.3 试验处理

1.3.1 不同培养基的实验

试材消毒后用 1.0%Vc 溶液浸泡 20min,然后分别接种于不同培养基,下面的实验以此作依据,采用 3 号培养基。

1.3.2 8-羟基奎啉处理时间对梨芽褐变及成活影响

处理方法为,材料消毒后,分别浸泡于 0.002mol/L 的 8-羟基奎啉溶液中,时间分别为 20min,30min,1hr,2hr,然后再逐一剥芽接种。

1.3.3 采样时间对组培褐变成活率影响的研究

从 3 月 24 日到 5 月 31 日分别采样 5 次,采回的样品消毒后用 0.2mol/L 的苯甲酸钠溶液浸泡 20min 后剥芽接种。

1.3.4 不同预处理对苍溪梨梨芽的影响

采用 6 种处理,1. 水-水:田间采集样品立即放入常温水中,回室内放置 4hr,消毒后接种;2. 冰水-水:田间采集试材放于 0℃,回室内放在冰箱中(-4℃) 4hr,消毒后放在常温水中,接种;3. 冰 Vc-水:田间采集试材放于 0℃1.0%Vc 中回室内放在冰箱中(-4℃) 4hr,消毒,常温水中放置,剥芽接种;4. 冰水-Vc,田间采集试材放于 0℃水中,回室内放在冰箱中(-4℃) 4hr,消毒后置于常温 1.0%Vc 中 20min,剥芽接种;5. 冰水-8-羟基奎啉田间采集试材放于 0℃水中,回室内放在冰箱中(-4℃) 4hr,消毒后置于常温 0.002mol/L 8-羟基奎啉中 20min 剥芽接种;6.

冰水-苯甲酸钠, 田间采集试材放于 0℃ 水中, 回室内放在冰箱中 (-4℃) 4hr, 消毒后置于常温 0.02mol / L 苯甲酸钠中 20min 剥芽接种。

2 结果分析

2.1 不同培养基中的生长情况

苍溪梨在 3 种培养基中接入初呈浅褐色, 待 15 日后培养基 1 和 2 中所有外植体均变为深褐色, 培养基 3 中有 30% 的芽为绿色, 生长好, 有愈伤组织出现。结果显示, 在同等条件下, 苍溪梨在培养基 3 中更容易成活生长, 较培养基 1 和 2 更有利于苍溪梨的诱导分化 (见表 1)。

表 1 不同培养基对组培梨诱导分化成活 15d 后的调查结果

培养编号	培养(单位:mg/L)	接芽总数	褐变数	成活率(%)
1	MS+2BA+1IBA	10	10	0
2	1/2MS+1BA+0.02NAA	10	10	0
3	MS+1.0BA+0.02NAA	10	7	30

2.2 羟基奎啉处理时间对梨芽褐变及成活影响

接种 7 天后, 生长均良好, 呈绿色, 15 天后 8-羟基奎啉处理时间较长的 (30min, 1hr, 2hr) 便有大量外植体死亡, 2hr 全部死亡。结果显示, 可能是处理时间较长造成 8-羟基奎啉对梨芽内部生长

产生强烈抑制作用, 而 20min 与 30min 则有可能为时间界面转折点, 因而 20min 后有大量存活。在此次比较中既能抑制褐变同时又良好生长的条件是 20min 的 8-羟基奎啉处理, 该处理为最好的时间 (见表 2)。

表 2 8-羟基奎啉处理时间对梨芽褐变及成活影响

处理时间	接芽总数(个)	褐变数(个)	污染数(个)	成活率(%)
20min	10	1	0	90
30min	10	8	0	20
1hr	23	20	1	4.5
2hr	23	9	14	0

注: 8-羟基奎啉浓度为 0.002mol / L。2hr 污染较多是因为芽体本身带菌。

2.3 不同采样时间的影响

从 3 月 25 日到 5 月 31 日 5 次采样中的实验结果为: 3 月 24 日采样 24 芽, 成活 1 芽; 4 月 25 日全部

褐变; 5 月 14 日褐变减少; 5 月 24 日全部成活; 5 月 31 日大部分成活。结果显示: 4 月茎尖生长正是酶的活跃期, 3 月是芽即将生长的萌动期, 酶也逐渐活跃, 5 月芽生长渐饱满, 酶活性低于 4 月, 逐渐走向静态。因而, 在有药剂处理条件下, 褐变率降低 (见表 3)。

表3 不同采样时间对苍溪梨梨芽组培褐变率、成活率的影响

采样日期	外植体(个)	接种芽数(个)	褐变数(个)	成活率(%)	成活率(%)
3月24	芽	24	23	1	4.2
4月25	茎尖	10	10	0	0
5月14	芽	10	4	6	60
5月24	芽	10	0	10	100
5月31	芽	10	2	8	80

2.4 不同预处理对梨外植体的组培褐变影响

在5月下旬用6种前处理研究其对外植体褐变和成活的影响。在6个处理中,处理1作为对照成活率为20%,处理2、3、4成活率分别为40%、10%、20%,处理5和处理6成活率高达70%和80%。结果显示:处理1、3、4无明显差异,处

理2成活率稍高。处理5和6的效果较好,显示低温处理对降低褐变有一定作用。 0.002mol/L 的8-羟基奎啉与 0.2mol/L 苯甲酸钠作为褐变抑制剂,进行预处理可获得较高的成活率和较低的褐变率(见表4)。

表4 不同预处理对梨外植体的组培褐变影响

处理编号	处理	接芽总数	褐变数	成活芽数	成活率
1	水-水	10	8	2	20
2	冰水-水	10	6	4	40
3	冰 Vc-水	10	9	1	10
4	冰水-Vc	10	8	2	20
5	冰水-8-羟基奎啉	10	3	7	70
6	冰水-苯甲酸钠	10	2	8	80

3 讨论

本试验表明,对苍溪梨组培材料进行 0.002mol/L ,8-羟基奎啉浸泡处理,梨外植体褐变率降低,成活率提高。 $1.0\% \text{Vc}$ 与 0.2mol/L 的苯甲酸钠溶液不同时间和处理发现,20min-2hr处理之间的差异不大,它们对降低梨褐变的作用还需进一步研究; $1.0\% \text{Vc}$ 超过2hr对梨芽作浸泡处理时,对梨芽的生长抑制较大。对8-羟基奎啉的研究还可从浓度和时间的配合与变化做进一步研究,或许能找到更有效的降低梨外植体组培褐变的途径。

参考文献:

- [1] 鞠志国. 莱阳茡梨细胞中多酚氧化酶的分
布及其性质. 植物生理学通讯. 1998, (3): 33-55
- [2] 晏本菊等. 梨外植体褐变与多酚氧化酶及
酚类物质的关系. 四川农业大学学报, 1998, (3):
310-313
- [3] 战淑敏等. 莱阳茡梨成龄树茎尖培养的研
究. 莱阳农学院学报, 1992, 9 (2): 112-118
- [4] 赵惠祥等. 梨茎尖离体培养. 植物学报,
1982, 24: 392-394
- [5] 傅润民等. 果树瓜类生物工程育种, 农业
出版社, 1994