

氯化汞防治组培苗污染的研究

彭广霖, 于咏梅, 薛元霞, 张志芬, 史淑一

(中国农业大学 烟台研究院, 山东 烟台 264670)

摘要:以大花萱草和切花菊组培苗为试材,在 MS 培养基中分别加入 0.005、0.010、0.030、0.050、0.070 mg/L 氯化汞,研究抑菌剂氯化汞对污染组培苗的消除污染效果。结果表明:当浓度在 0.010 mg/L 时,经过 2、3 次的转接后,能明显地消除污染。当浓度在 0.030 mg/L 时,1 次转接即能对污染起到较好的抑制效果,并且随浓度的增加,抑制效果越好。但浓度超过 0.080 mg/L 时,组培苗迅速出现脱绿死亡现象。综合分析认为,氯化汞的浓度在 0.030~0.070 mg/L 是防治大花萱草和切花菊组培苗污染的最佳浓度。

关键词:污染组培苗;氯化汞;消除污染

中图分类号:Q 943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)15-0131-03

组织培养是提高种苗繁殖系数的一个重要手段,在生产上得到越来越广泛的应用,但是在外植体初代培养到继代培养过程中,均易出现污染,并且污染后的组培苗生长缓慢,甚至死亡^[1]。这种现象尤其是对一些名贵材料资源的保存,造成无法挽回的损失,同时也会贻误组培苗的生产用苗。

组培污染一般由二方面原因造成,一方面是材料内部带菌所引起的污染,这种污染不能被一般的消毒方法所清除,在继代培养中意义不大,只能被淘汰^[1]。另一方面是组织培养过程中操作不当引起污染,并且随着继代培养的时间延伸,污染率不断增加,甚至无法控制^[2-3]。因此,控制污染是植物组培苗工厂化生产中重要的技术环节。

对于组培苗污染防治,科研人员做了大量的研究。于福科等^[2]在玫瑰组培污染防治研究中发现,污染的组培苗,尤其是由内源细菌引起的污染,用表面消毒方法不能彻底消除,但可通过在培养基中加入抗菌剂来防治。周俊辉等^[3]对细菌抑制的研究表明,丙酸钠、磷酸钠均能耐高温高压,0.3%的丙酸钠有较好的抑菌效果,在应用于美铁芋的快速繁殖上,发现 0.5%的丙酸钠对外植体的生长影响不大。许婉芳等^[4]将多菌灵添加到金线莲培养基中,起到较好的抑菌促生作用。在组培育

苗过程中,将广谱杀菌剂氯化汞添加在培养基中能否起到较好的污染清除效果,尚未见到有关报道。因此,现以大花萱草和切花菊为试材,研究氯化汞对组培污染的防治效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为大小一致的大花萱草与切花菊组培苗。大花萱草组培苗已出现污染但尚未出现腐烂水渍状,切花菊组培苗为无菌、长势良好苗木。

1.2 试验方法

于 2008 年开始在中国农业大学烟台研究院组培研究中心进行。试验共设 5 个处理,每个处理 5 瓶,3 次重复,同时安排空白处理。在 MS 基本培养基中,添加适宜的激素,调节其 pH 5.8。在此基础上,分别添加浓度为 0.005、0.010、0.030、0.050、0.070 mg/L 氯化汞溶液。将选取的大花萱草组培苗直接转接到已备好的培养基中。切花菊组培苗分株,蘸取适量枯草菌,再转接到已备培养基上,每瓶 3 株。培养条件:温度 24℃、光照强度 2 000~3 000 lx、光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同浓度氯化汞对大花萱草的抑菌效果

由表 1 和图 1 可知,不同浓度的氯化汞对大花萱草组培苗污染产生不同的抑制效果,对照处理 3 d 后开始出现可见污染。在 0.005~0.070 mg/L 浓度范围内,随处理浓度增加,消除污染的能力逐渐越强。氯化汞浓度为 0.050 mg/L 时,经过 1 次接转处理后污染基本可以消除。而氯化汞浓度为 0.030 mg/L 时,需经过 2 次接转,污染才能消除。虽然氯化汞的浓度越高抑菌能力越强,但是当浓度超过 0.008~1.000 mg/L 时,导致组培苗

第一作者简介:彭广霖(1959-),男,本科,讲师,现主要从事农业经济及作物栽培等研究工作。E-mail: ytpgl1959@163.com.

责任作者:史淑一(1964-),女,本科,高级讲师,现主要从事应用气象研究工作。E-mail: ssy19640723@yahoo.com.cn.

基金项目:中国农业大学(烟台)校级课题资助项目(yt2008.16)。

收稿日期:2012-05-07

短时间内脱绿死亡。在 0.050~0.070 mg/L 范围内除污效果好。

2.2 不同浓度氯化汞对切花菊组培苗的抑菌效果

氯化汞对切花菊组培苗消除污染效果见表 2 和图 2。虽然氯化汞对切花菊组培苗的抑菌效果与大花萱草相似,但同种浓度氯化汞对切花菊组培苗的消污效果不

及大花萱草,分析其原因,大花萱草组培苗的生长势比切花菊强,抵抗污染的能力也强。氯化汞浓度在 0.005~0.030 mg/L 时,切花菊苗分别培养 3、5、7 d 后,其污染率略高于同种处理的大花萱草苗,菌落直径稍大,长势也较差。当氯化汞浓度增加到 0.050 和 0.070 mg/L 时,对污染的清除效果比较理想。

表 1 不同浓度氯化汞对大花萱草的抑菌结果

| Table 1 | | The inhibition effect of mercuric chloride at different concentrations on hemerocallis seedling | | | | |
|--------------------|---|---|--------------|-----------|-----------|-----------|
| 调查项目 | 氯化汞浓度 Concentration of mercuric chloride/mg · L ⁻¹ | | | | | |
| investigation item | 0 | 0.005 | 0.010 | 0.030 | 0.050 | 0.070 |
| 3 d 后污染率 | 20%轻微污染 | 未污染 | 未污染 | 未污染 | 未污染 | 未污染 |
| 5 d 后污染率 | 60%污染加重 | 20%轻微污染 | 20%轻微污染 | 星点污染 | 未污染 | 未污染 |
| 1 周后污染率 | 100%污染,菌落蔓延 | 50%污染,细菌形成菌落 | 50%污染,细菌出现菌落 | 10%轻度污染 | 未污染 | 未污染 |
| 菌落直径/cm | 2~3 | 0.8~1.0 | 0.8~1.0 | 0.2~0.3 | 未污染 | 未污染 |
| 苗的长势 | 组培苗根部出现水渍状,生长状况较差 | 组培苗生长状况一般 | 组培苗生长状况一般 | 组培苗生长状况良好 | 组培苗生长状况良好 | 组培苗生长状况良好 |

表 2 不同浓度氯化汞对切花菊组培苗的抑菌效果

| Table 2 | | The inhibition effect of mercuric chloride at different concentrations on cut chrysanthemum seedling | | | | |
|--------------------|---|--|--------------|---------|--------|--------|
| 调查项目 | 氯化汞浓度 Concentration of mercuric chloride/mg · L ⁻¹ | | | | | |
| Investigation item | 0 | 0.005 | 0.010 | 0.030 | 0.050 | 0.070 |
| 3 d后污染率 | 30%轻微污染 | 未污染 | 未污染 | 未污染 | 未污染 | 未污染 |
| 5 d后污染率 | 70%污染加重 | 30%轻微污染 | 30%轻微污染 | 10%轻微污染 | 未污染 | 未污染 |
| 1 周后污染率 | 100%污染,菌落蔓延 | 80%污染,细菌形成菌落 | 55%污染,细菌出现菌落 | 20%轻度污染 | 未污染 | 未污染 |
| 菌落直径/cm | 3~4 | 1.0~1.5 | 1.0~1.5 | 0.3~0.5 | 未污染 | 未污染 |
| 苗的长势 | 生长状况差 | 生长状况差 | 生长状况差 | 生长状况一般 | 生长状况良好 | 生长状况良好 |

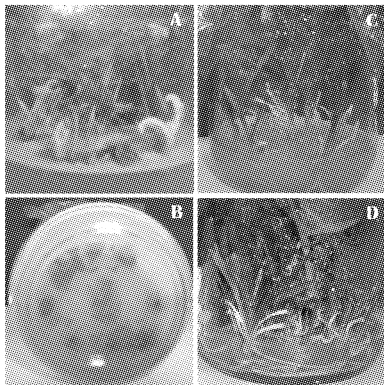


图 1 氯化汞消除大花萱草污染效果

注:A、B 为对照瓶侧面和底部;C 氯化汞浓度为 0.050 mg/L;D 抑菌剂处理后再接转后生长状态。

Fig. 1 The elimination effect of mercuric chloride on hemerocallis seedling pollution

Note: A, B is side and bottom of controls bottle; C chlorinated mercury concentrations is 0.050 mg/L; D. The growth state after antibacterial agent processing.

3 结论

在防治组培苗被污染的过程中,抗菌剂浓度的选择非常重要,浓度低了效果差,而浓度高又容易对作物产生毒害。该研究发现,氯化汞浓度在 0.050~0.070 mg/L,对大花萱草和切花菊苗的抑菌效果最好,

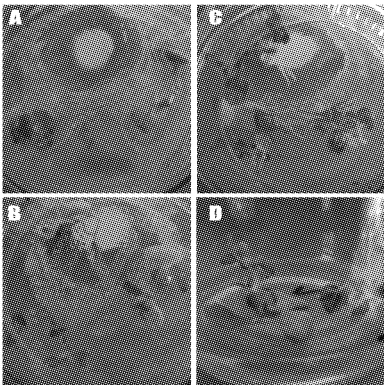


图 2 氯化汞消除切花菊组培苗污染效果

注:A、B 浓度分别为 0.005、0.010 mg/L;C、D 分别为浓度 0.070 mg/L 的底部和侧面。

Fig. 2 The elimination effect of mercuric chloride on cut chrysanthemum seedling pollution

Note: A and B concentrations were 0.005, 0.010 mg/L; C and D is bottom and sides respectively of 0.070 mg/L concentration.

对苗木的生长无大的不良影响。

植物组织培养中污染现象经常发生。因此,在组织培养操作过程中每一步都要严格按照无菌操作程序进行,将其贯穿始终。虽然抑菌剂能降低污染的发生,但控制污染是关键。

吉林抚松人参遗传多样性的 SSR 分析

栾树昆, 杨广顺, 孙春玉, 张美萍, 王 义

(吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:利用 SSR 技术对吉林省抚松地区的 78 份人参样品进行了亲缘关系分析研究。结果表明:同一地区的人参种质资源也存在较大差异,这一差异主要是由其遗传因素决定的;25 对引物共扩增 227 条带,其中多态性的条带 206 条,多态性 90.75%。

关键词:人参;遗传关系;SSR 分析

中图分类号:S 567.5⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)15-0133-04

人参(*Panax ginseng* C A Mey)属五加科(Araliaceae)多年生草本植物,是我国传统中药材之一,历来被视为百草之王。吉林省是我国人参的主要产区,产量占全国的 85%,占世界产量的 70%,居世界之首^[1]。随着时间的推移和自然、人工的选育,人参已经形成了许多具有稳定性状的农家品种,但由于受其特殊的生长条件和生长周期的影响,人参出现了许多不同的农艺性状,造

成了不同品种间的准确辨别难度较大,人参类型间的遗传背景也不明确。

随着分子标记技术的不断发展,越来越多的学者开展了人参种质资源亲缘关系、遗传多样性等方面的研究。赵寿经等^[2]在对人参农家类型农艺性状的遗传分析研究中发现,几种人参的亲缘关系以及不同农家品种人参的产量与遗传因素有关,李欣等^[3]用 RAPD 技术研究发现,人参各品系内的遗传多样性存在较大差别;马小军等^[4]用 RAPD 技术对 5 个人参农家类型共 40 个个体进行了遗传多样性检测;杨广顺等^[5]利用 SSR 分子标记技术对 9 种人参类型进行了遗传多样性分析,分析了吉林省 5 个人参产区人参种质资源存在的差异性,但未见有关吉林省人参遗传背景的详细报道。该试验利用 SSR 分子标记技术对吉林省主要人参产区之一抚松

第一作者简介:栾树昆(1986-),男,硕士,研究方向为植物分子生物学与基因工程。

责任作者:王义(1964-),男,博士,教授,硕士生导师,现主要从事植物分子生物学与基因工程的教学与科研工作。

基金项目:吉林省科学厅科研资助项目(200905107)。

收稿日期:2012-05-07

参考文献

- [1] 田新平. 培养基污染防治方法研究[J]. 现代农业科技, 2010(13):11-13.
[2] 于福科, 张广军. 玫瑰组织培养污染控制技术措施[J]. 陕西农业科学, 2002(11):47-48.

[3] 周俊辉, 周厚高, 刘花全. 植物组织培养中的内生菌污染问题[J]. 广西植物, 2003(23):41-47.

[4] 许婉芳, 龚福生, 萧华山. 杀菌剂对金线莲组织培养中微生物污染的抑制作用[J]. 福建果树, 1999(4):6-7.

Research on the Prevention of Tissue Culture Seedling Pollution by Mercuric Chloride

PENG Guang-lin, YU Yong-mei, XUE Yuan-xia, ZHANG Zhi-fen, SHI Shu-yi
(Institute of Yantai, China Agricultural University, Yantai, Shandong 264670)

Abstract: Chosen hemerocallis and cut chrysanthemum seedlings as materials, mercuric chloride at the rate of 0.005, 0.010, 0.030, 0.050 and 0.070 mg/L was added into culture medium, respectively, the effects of mercuric chloride on the pollution prevention of tissue culture seedling were studied. The results showed that mercuric chloride could significantly eliminate pollution at 0.010 mg/L concentration by 2 to 3 switches. As mercuric chloride contents were between 0.030 and 0.070 mg/L, the pollution was markedly inhibited and a positive relationship was found between inhibition effect and concentrations. 0.080 mg/L mercuric chloride was unfavorable for tissue culture seedlings indicted by leaf chlorosis and plant death. It was concluded that concentrations between 0.030 and 0.070 mg/L may be the better choice to prevent pollution for hemerocallis and cut chrysanthemum seedlings.

Key words: polluted tissue culture seedling; mercuric chloride; clear pollution