

邓明净, 卢伟红, 包岩, 等.  $Hg^{2+}$  对草莓组培苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 42-43.

# $Hg^{2+}$ 对草莓组培苗生长的影响

邓明净<sup>1</sup>, 卢伟红<sup>1</sup>, 包岩<sup>2</sup>, 谭忠亮<sup>3</sup>, 于海燕<sup>2</sup>, 吕燕杰<sup>2</sup>, 建德锋<sup>2</sup>, 刘希财<sup>2</sup>

(1. 保定职业技术学院, 河北保定 071000; 2. 吉林农业科技学院, 吉林吉林 132101;

3. 吉林省亮宇种业有限公司, 吉林镇赉 137300)

**摘要:** 以草莓组培苗为试验材料, 在培养基中添加不同浓度的  $HgCl_2$ , 分析  $Hg^{2+}$  对草莓组培苗生长的影响。结果表明: 低浓度的  $HgCl_2$  对草莓的生长影响不大, 表现为叶片数、株高、鲜重均超过对照, 叶绿素也能正常合成,  $HgCl_2$  的临界浓度为  $10 \mu g/mL$ ; 而当  $HgCl_2$  浓度超过  $150 \mu g/mL$  时, 植株死亡, 说明  $HgCl_2$  对草莓的致死浓度为  $150 \mu g/mL$ 。

**关键词:**  $Hg^{2+}$ ; 草莓组培苗; 生长; 叶绿素

**中图分类号:** S668.404+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0042-01

$Hg^{2+}$  是一种重金属离子, 极低的浓度就会对环境造成污染, 并对生物的生长产生非常大的影响。而在植物组培育苗过程中, 通常用  $HgCl_2$  进行外植体材料的消毒, 虽然消毒效果比较好, 但如果清洗不彻底, 残留的  $Hg^{2+}$  就会对植物的生长造成影响<sup>[1]</sup>; 但关于  $Hg^{2+}$  的有害浓度和具体影响的报道较少。因此本试验以草莓的组培苗为材料, 在培养基中添加不同浓度的  $HgCl_2$ , 分析  $Hg^{2+}$  对草莓组培苗生长的影响。

## 1 材料与与方法

### 1.1 供试材料

试验于 2012 年 5 月开始, 2012 年 9 月结束。草莓组培瓶苗由吉林农业科技学院花卉组培实验室培育, 挑选生长健壮、增殖良好、无污染的瓶苗作为试验材料。其他仪器、药品等材料也均有该实验室提供。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 培养基配方** 培养基配方采用 MS 为基本培养基, 添加  $1.5 \text{ mg/L KT} + 0.2 \text{ mg/L NAA}$ 、琼脂  $7 \text{ g/L}$ 、蔗糖  $30 \text{ g/L}$ , pH 值调整为  $5.6 \sim 5.7$ 。  $HgCl_2$  添加浓度依次为  $0$  (对照)、 $0.5$ 、 $1$ 、 $2.5$ 、 $10$ 、 $25$ 、 $50$ 、 $100$ 、 $120$ 、 $150$ 、 $180$ 、 $200 \mu g/mL$ <sup>[2]</sup>。

**1.2.2 材料处理** 在超净工作台上, 取出草莓组培瓶苗中的苗木, 切取苗芽, 大小为  $0.5 \sim 1.0 \text{ cm}$ , 迅速转入上述 13 种培养基中, 每种培养基配方接种 10 瓶, 每瓶接 3 块材料<sup>[3]</sup>。

**1.2.3 培养及观察** 接种后的苗木放入培养室中培养, 温度控制为  $23 \sim 26 \text{ }^\circ\text{C}$ , 光强控制在  $2000 \sim 2500 \text{ lx}$ , 光照时间  $10 \text{ h/d}$ , 相对湿度  $80\%$ <sup>[4]</sup>。接种后定期观察草莓的生长情况, 20 d 后测量每株组培苗的叶片数、株高、鲜重及叶绿素含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 $Hg^{2+}$ 对草莓组培苗叶片数、株高、鲜重的影响

由表 1 可以看出, 以  $10 \mu g/mL$  为分界点,  $HgCl_2$  浓度在  $10 \mu g/mL$  之下, 随着  $HgCl_2$  浓度的升高, 草莓试管苗叶片数、

株高、鲜重均呈上升的趋势;  $HgCl_2$  浓度在  $10 \mu g/mL$  之上, 试管苗叶片数、株高、鲜重均呈现下降的趋势; 在  $HgCl_2$  浓度达到  $150 \mu g/mL$  时, 叶片数没有增加;  $HgCl_2$  浓度大于  $150 \mu g/mL$  后, 瓶中组培苗均死亡。说明低浓度的  $HgCl_2$  对草莓试管苗叶片数、株高、鲜重的影响不大, 浓度高于  $10 \mu g/mL$  后, 会对草莓的生长起到抑制作用。

表 1  $Hg^{2+}$  对草莓组培苗叶片数、株高、鲜重的影响

$HgCl_2$ 浓度 ( $\mu g/mL$ )	叶片数 (张)	叶片数相 对值(%)	株高 (cm)	株高相 对值(%)	鲜重 (g)	鲜重相 对值(%)
0	3.50	100.0	2.35	100	0.753	100
0.5	3.53	100.8	2.36	100.4	0.756	100.3
1.0	3.54	101.1	2.36	100.4	0.759	100.7
2.0	3.56	101.7	2.39	101.7	0.775	102.9
5.0	3.57	102.0	2.42	102.9	0.782	103.8
10.0	3.64	104.0	2.46	104.7	0.816	108.6
25.0	3.52	100.6	2.18	92.8	0.685	90.9
50.0	3.41	97.4	2.07	88.1	0.496	65.8
100.0	2.47	70.5	1.22	51.9	0.234	31.1
120.0	1.53	43.7	0.78	33.1	0.192	25.4
150.0	0	0	0.56	23.8	0.116	15.4
180.0	0	0	0	0	0	0
200.0	0	0	0	0	0	0

### 2.2 $Hg^{2+}$ 对草莓组培苗叶绿素含量的影响

由表 2 可以看出,  $HgCl_2$  浓度在  $10 \mu g/mL$  以下时, 试管苗

表 2  $Hg^{2+}$  对草莓组培苗叶绿素含量的影响

$HgCl_2$ 浓度 ( $\mu g/mL$ )	$D_{645 \text{ nm}}$	$D_{663 \text{ nm}}$	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)	叶绿素总量
0	0.057	0.158	1.862 1	0.566 3	2.428 4
0.5	0.057	0.158	1.862 1	0.566 3	2.428 4
1.0	0.057	0.159	1.875 4	0.567 6	2.436 5
2.0	0.060	0.169	1.994 3	0.583 6	2.577 9
5.0	0.062	0.176	2.078 1	0.596 6	2.674 9
10.0	0.070	0.201	2.375 4	0.662 9	3.038 4
25.0	0.054	0.148	1.742 7	0.544 3	2.290 6
50.0	0.041	0.109	1.280 3	0.429 1	1.709 3
100.0	0.031	0.082	0.962 7	0.326 3	1.289 1
120.0	0.027	0.067	0.742 7	0.303 5	1.078 1

注: 叶绿素含量测量方法采用丙酮浸泡法, 叶绿素 a =  $12.72 \times D_{663 \text{ nm}} - 2.59 \times D_{645 \text{ nm}}$ ; 叶绿素 b =  $22.88 \times D_{645 \text{ nm}} - 4.67 \times D_{663 \text{ nm}}$ ; 叶绿素总量 =  $20.29 \times D_{645 \text{ nm}} + 8.05 \times D_{663 \text{ nm}}$ 。

收稿日期: 2012-10-22

作者简介: 邓明净 (1978—), 女, 河北正定人, 硕士, 讲师, 从事果树栽培、观赏园艺栽培、药用植物栽培方面的研究。E-mail: 82642444@qq.com。

戴金平, 宋贤勇. 基于 SSR 标记的“一管两步”法检测两系杂交稻种子纯度[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 43-44.

# 基于 SSR 标记的“一管两步”法检测两系杂交稻种子纯度

戴金平<sup>1</sup>, 宋贤勇<sup>2</sup>

(1. 江苏农林职业技术学院, 江苏句容 212400; 2. 江苏中江种业股份有限公司, 江苏南京 211500)

**摘要:** 利用 SSR 分子标记技术, 对两系杂交稻盐两优 888 的双亲及 F<sub>1</sub> 之间的多态性进行引物筛选及纯度检测技术体系优化研究。结果表明, 在已筛选的 48 对引物中有 2 对引物(RM208 和 RM225)表现出稳定的共显性, 即杂交种呈现父母本互补的带型, 采用“一管两步”简易法提取的 DNA 完全满足引物 RM208 纯度检测需要。利用 RM208 对 4 个盐两优 888 样品进行纯度鉴定, SSR 标记结果和田间鉴定结果差异不显著, 说明筛选的 SSR 分子标记能够快速、准确地鉴定盐两优 888 杂交种纯度。

**关键词:** 育性转换; SSR 标记; 盐两优 888

**中图分类号:** S511.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0043-03

两系法杂交稻育种是我国继三系法杂交稻育种之后水稻遗传育种上的又一重大科技创新, 它的优越性在于不育系的“一系两用”。该方法育性转换是基础, 环境条件影响育性的稳定性, 盛夏一定频率的低温, 不育系经过 3~4 代的繁殖, 部分植株的育性转换临界温度上升, 生产上易造成制种失败或种子纯度不达标<sup>[1]</sup>。田间小区种植鉴定是进行纯度鉴定的可靠方法, 但周期长, 受气候因素影响较大; 此外, 随着种子产业快速发展, 水稻品种数量大大增加, 表现型差异日渐缩小, 有时田间种植也难以满足鉴定的需求, 给种子及时收购、加工和销售造成一定困难。2009 年在盐城地区两系水稻授粉关键期遇到了短期的低温阴雨天气, 严重影响两系杂交稻制种纯度, 据湖北省种子管理站 SSR 分子标记检测结果可知, 2010 年市场上售卖的两系杂交稻种子纯度合格率仅为

67.7%, 杂株类型主要为不育系<sup>[2]</sup>, 可见利用 SSR 标记及时检测两系杂交稻种子的纯度对杂交稻安全生产具有重要意义。盐两优 888 属籼型两系杂交稻, 由江苏沿海地区农业科学研究所育成, 采用具有共显性的 SSR 引物, 以期能够简便、快速地鉴定杂交种纯度, 为杂交稻制种和良种及时销售提供依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 试验材料

水稻不育系盐 582S、恢复系盐恢 888、标准杂交种 F<sub>1</sub>、盐两优 888 样品均由江苏沿海地区农业科学研究所提供。试验所用的生化试剂、酶及缓冲液均购自南京基天生物技术有限公司。

杂交种 A 和 B 为 2009 年制种混合样品; 杂交种 C 和 D 为 2010 年制种混合样品, 代表数量为 25 000 kg, 随机抽取一定数量进行室内纯度分析和田间种植鉴定。

### 1.2 SSR 扩增程序优化方法

1.2.1 DNA 提取及扩增 一是参考 Liu 等的方法<sup>[3]</sup>采用 CTAB 方法提取亲本、标准杂交种 F<sub>1</sub> 和部分杂交种 DNA。二是采取简易法提取, 即随机剪取每株幼苗展开嫩叶 0.5 cm 3~4 段放入 96 孔 PCR 扩增板中, 加入 50 μL 提取液

收稿日期: 2012-11-14

基金项目: 江苏省农业三项工程项目[编号: SX(2009)32]。

作者简介: 戴金平(1965 年—), 男, 江苏姜堰人, 硕士, 副教授, 研究方向为作物栽培与良种推广。E-mail: djp9928@163.com。

通信作者: 宋贤勇, 硕士, 助理研究员, 主要从事作物分子育种。

E-mail: 13770693841@163.com。

无论是叶绿素 a、叶绿素 b, 还是叶绿素总量都比对照增加; 当 HgCl<sub>2</sub> 浓度大于 10 μg/mL 时, 试管苗叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量均较对照降低; 当 HgCl<sub>2</sub> 高于 150 μg/mL 之后, 植株全部死亡。叶绿素影响着植物的光合作用, 而光合作用又是植物非常重要的营养来源, 说明低浓度的 HgCl<sub>2</sub> 对草莓的生长影响不大, 浓度高于 10 μg/mL 后, 会对草莓的叶绿素合成起到抑制作用。

## 3 结论与讨论

通过对草莓组培苗的叶片数、株高、鲜重、叶绿素含量的测定结果分析, 可以看出, 低浓度的 Hg<sup>2+</sup> 对草莓的生长影响不大, 表现为叶片数、株高、鲜重均比对照增加, 叶绿素能正常合成, 说明低浓度的 Hg<sup>2+</sup> 对草莓试管苗细胞的分裂和伸长有促进作用; 但当 HgCl<sub>2</sub> 的浓度高于 10 μg/mL 时, 就会对草莓试

管苗的生长及叶绿素的合成起到抑制作用。所以说 HgCl<sub>2</sub> 对草莓的临界浓度为 10 μg/mL, 当 HgCl<sub>2</sub> 浓度达到 150 μg/mL 时, 草莓的叶片数不再增加, 超过 150 μg/mL 时, 植株会死亡, 说明 HgCl<sub>2</sub> 对草莓产生毒害的致死浓度为 150 μg/mL。

## 参考文献:

- [1] 杜兰芳, 沈宗根, 郁 达, 等. 汞胁迫对豌豆种子的毒害效应[J]. 西北植物学报, 2004, 24(12): 2266-2271.
- [2] 郭淑华. 氯化汞对南瓜组培苗生长影响的研究[J]. 潍坊学院学报, 2004, 8(6): 108-109.
- [3] 孙瑞芬, 李天然, 李 坤, 等. 草莓组培快繁及叶片诱导植株再生的研究[J]. 华北农学报, 2002, 17(3): 49-53.
- [4] 顾建新, 李芳艳, 王 蓉, 等. 草莓组培工厂化育苗大规模生产技术[J]. 新疆农业科学, 2008, 45(增刊1): 131-133.