

枸杞组织培养中青霉素对细菌污染的抑制作用

罗青,李晓莺,巫鹏举,何军,曹有龙

(宁夏农科院枸杞发展工程技术研究中心,宁夏银川 750002)

摘要:针对枸杞组织培养过程中的污染问题,分别在分化培养基和生根培养基中加入不同浓度的青霉素,结果表明,当培养基中加入浓度为480mg/L的青霉素溶液抑菌效果可达到100%。

关键词:枸杞; 组织培养; 青霉素; 抑菌效果

中图分类号:S567.1*9; S336

文献标识码:A

文章编号:1002-204X(2006)03-0006-01

组织培养是提高枸杞繁殖系数的一个重要手段,但在继代培养和生根培养中常会出现污染,污染后的组培苗生长缓慢,也不能生根,甚至死亡。污染由二方面原因造成,一是材料内部所带的菌(简称内生菌)引起污染^[1],这种污染不能被一般的消毒方法所清除,另一方面,组织培养过程中操作不当引起污染。而青霉素对细菌污染有一定的抑制作用,为此我们在实验中采用在培养基中加入青霉素溶液的方法来抑制细菌污染^[2-4],同时观察培养基中加入青霉素后对分化和生根有多大影响。

1 材料和方法

1.1 材料

外植体采用大田枸杞树新长出来的嫩芽,用水冲洗干净后,剪去叶片,在超净工作台先用70%酒精消毒30秒,无菌水冲洗,再用0.1%升汞溶液消毒5分钟,无菌水冲洗3~4次,接种在以MS为基础附加6-BA、NAA组成的固体培养基上进行培养,经3代分化培养发生细菌污染,对污染材料进行防治试验。

1.2 方法

- 1)将蒸馏水装入三角瓶中,封口灭菌待用。
- 2)在药店购买青霉素,80万单位,相当于0.48g,在超净工作台配制好青霉素溶液。
- 3)制作分化和生根固体培养基,灭菌后待培养基温度降低至40℃左右时,加入所需浓度的青霉素溶液,使培养基中所含青霉素的浓度分别为120mg/L、240mg/L、480mg/L。
- 4)把有细菌污染的材料,去掉下部有污染的部分,将上部的材料切成带有2~3个腋芽的茎段,接种到含有不同浓度青霉素的分化和生根培养基上。培养室温度24℃,每天光照12小时培养。

2 结果与分析

2.1 青霉素的抑菌效果及对不定芽分化的影响

将污染的枸杞茎段接种在分化培养基上,30天后观察结果见表1。

表1 青霉素的抑菌效应及对不定芽分化的影响

青霉素浓度 (mg/L)	接种瓶数	污染瓶数	抑菌率 (%)	接种苗总数 (个)	分化苗数	不定芽分化率 (%)	玻璃苗
120	60	10	83.3	100	282	282	0
240	60	2	96.7	116	320	276	0
480	60	0	100	120	360	300	0

注:培养7d统计抑菌率,30d统计不定芽分化率。

表1显示,青霉素对当代污染细菌的抑制率随着浓度的增加而提高,当培养基中青霉素浓度达到480mg/L完全抑制污染细菌。

菌。不同浓度青霉素对组培苗不定芽的分化影响不显著,组培苗也没有出现玻璃化现象。

2.2 青霉素抑菌效果及对生根的影响

将污染的枸杞茎段接种在生根培养基上,15天后观察结果见表2。

表2 青霉素的抑菌效应及对生根的影响

青霉素浓度 (mg/L)	接种瓶数	污染瓶数	抑菌率 (%)	接种苗总数 (个)	生根苗数	生根率 (%)
120	60	8	86.7	260	229	88.1
240	60	2	96.7	290	258	88.9
480	60	0	100	300	267	89

注:培养7d统计抑菌率,30d统计生根率。

表2显示,青霉素对当代污染细菌的抑制率随着培养基中青霉素浓度的增加而提高,当培养基中青霉素浓度达到480mg/L时完全抑制污染细菌。不同浓度青霉素对组培苗生根没有影响。

3 讨论

枸杞枝条中心长有髓组织,其细胞间隙大、细胞壁薄,通常在外植体消毒时我们采用酒精和升汞,容易造成外植体髓细胞受到伤害从而使再生能力下降,严重影响了繁殖速度。我们在组培中使用青霉素,减少了使用酒精和升汞进行消毒的时间,保证了枸杞外植体的成活率,提高了繁殖速度,对快速繁殖枸杞新品种十分有益。

我们在培养基中加入青霉素后,即使出现细菌污染,菌斑也比较小,而且比不加青霉素的干燥,不容易流动,大大降低了污染率,提高了繁殖速度,同时也不太影响组培苗生根,证明在枸杞组织培养中使用青霉素是一种非常有效的消毒方法。

培养基中加入480mg/L青霉素后,当代抑菌率为100%,次代在不加青霉素的情况下是否污染,我们将进一步试验。

参考文献:

- [1] 周俊辉.植物组织培养中的内生细菌污染问题.广西植物,23卷
- [2] 李群.植物组织培养中污染控制技术研究[J].四川林业科技,1999,20(4):22~26
- [3] 吕校石,等.椴树组织培养中污染控制技术初步研究.河北林果研究,19(1)
- [4] 由翠荣,等.迷你玫瑰组织培养中细菌污染的防治.植物生理学通讯,40(1)

收稿日期:2005-11-29

责任编辑:褚庆芳