

中图分类号: S532; S482.2 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2012)05-0260-04

不同抑菌剂对马铃薯试管苗生长的影响

陈亚兰*

(定西师范高等专科学校, 甘肃 定西 743000)

摘要: 为降低马铃薯组培苗的污染率, 试验对不同浓度的医用抗生素、防腐剂、化学农药的抑菌效果以及对马铃薯组培苗生长及生根的影响进行了研究。试验数据表明: 70%甲基硫菌灵可湿性粉剂和 50%多菌灵可湿性粉剂对马铃薯组培苗生产中最常见的青霉菌、细菌和酵母菌 3 种菌都具有较好抑制作用, 并且对马铃薯试管苗的生长以及生根产生的负影响最小。

关键词: 马铃薯组培苗; 培养基; 污染; 抑菌剂

Effects of Different Bacteriostatic Agents on Potato Plantlets *in vitro*

CHEN Yalan*

(Dingxi Teachers College, Dingxi, Gansu 743000, China)

Abstract: In order to reduce the contamination rate of potato plantlets *in vitro*, effects of various concentrations of medical antibiotics, antiseptics, and bactericide on bacteriostasis, growth and rooting of potato plantlets *in vitro* were tested. The experimental data showed that 70% Thiophanate-methyl WP and 50% Carbendazim WP had good inhibitory effects on penicillium, bacterium, and yeast of potato tissue culture, and had little negative effects on growth and rooting of potato plantlets *in vitro*.

Key Words: potato plantlets *in vitro*; medium; contamination; bacteriostat

随着马铃薯脱毒技术的广泛应用, 在脱毒马铃薯试管苗的扩繁生产中, 会出现试管苗培养基被细菌、霉菌、酵母菌、放线菌污染的现象, 这些微生物, 生长速度快, 将培养基中的有效养分先行利用, 使试管苗因缺少营养而枯死, 造成生产上的损失。如何大幅度地降低马铃薯试管苗以及脱毒种薯的生产成本, 为大面积推行脱毒种薯的应用、提高马铃薯的单产水平和整体推进马铃薯产业具有重大的现实意义。国内外学者在这方面进行了一些研究和报道^[1,2]。

本文对不同浓度的医用抗生素、防腐剂和化学农药降低马铃薯试管苗的污染进行了研究, 旨在为完善马铃薯标准化生产体系和大规模工厂化生产降低马铃薯试管苗的生产成本提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 组培污染的杂菌

试验用的青霉菌、细菌和酵母菌 3 种菌种分别从污染的组培苗中分析纯化获得。

1.1.2 抑菌类试剂

医用抗生素: 庆大霉素注射液(K-1, 8 万单位), 氯霉素注射液(K-2, 25 万单位), 链霉素可湿性粉剂(K-3, 100 万单位), 青霉素可湿性粉剂(K-4, 80 万单位), 四环素片剂(K-5, 0.25 g)。

防腐剂: 苯甲酸钠(F-1), 山梨酸钾(F-2), 丙二酸钠(F-3)。

化学农药: 70%甲基硫菌灵可湿性粉剂(N-1),

收稿日期: 2012-03-19

作者简介: 陈亚兰(1979-), 女, 遗传育种硕士, 讲师, 主要从事生物遗传育种教学。

* 通信作者(Corresponding author): 陈亚兰, E-mail: zj0932@126.com。

50%多菌灵可湿性粉剂(N-2)。

1.1.3 培养基

菌类生长培养基为 12 g/L 琼脂的 MS 培养基；试管苗生长培养基为 MS 培养基^[2-4]。

1.1.4 马铃薯组培苗

本试验采用‘陇薯 3 号’为试验材料，以未处理的‘陇薯 3 号’为对照。

1.2 试验方法

1.2.1 医用抗生素母液的配置以及使用

庆大霉素注射液(K-1)：5 剂 + 无菌水，定容至 80 mL。

氯霉素注射液(K-2)：2 剂 + 无菌水，定容至 100 mL。

链霉素可湿性粉剂(K-3)：1 瓶 + 无菌水，定容至 200 mL。

青霉素可湿性粉剂(K-4)：1 瓶 + 无菌水，定容至 100 mL。

四环素片剂(K-5)：1 粒(0.25 g) + 无菌水，定容至 100 mL。

使用浓度：采用液体倍比稀释法，其中最大浓度为 0.1 倍母液浓度，共 5 个浓度梯度。培养基经高温灭菌后直接用注射器注入该类抑菌物质，依浓度从小到大分别标记为：K-11，K-12，K-13，K-14，K-15；其余均用该方法标记。

1.2.2 防腐剂与化学农药母液配置以及使用

称取样品 0.5 g，无菌水溶解后定容至 100 mL 母液。

每升培养基中所加浓度梯度分别为：1 mL，10 mL，20 mL，30 mL，40 mL，依浓度从小到大分别标记，标记方法同医用抗生素类。

表 1 菌剂的类型及其代号

Table 1 Types of bacteriostatic agent and their code

抑菌剂类型 Types of bacteriostatic agent	抑菌剂名称及代号 Names of bacteriostatic agent and their code	抑菌剂的配置及代号 Concentration of antibacterial agent and their code
医用抗生素 Medical antibiotics	庆大霉素注射液 (K-1 8 万单位)	依浓度大小标记为 K-11 K-12 K-13 K-14 K-15
	氯霉素注射液 (K-2 25 万单位)	依浓度大小标记为 K-21 K-22 K-23 K-24 K-25
	链霉素可湿性粉 (K-3 100 万单位)	依浓度大小标记为 K-31 K-32 K-33 K-34 K-35
	青霉素可湿性粉剂 (K-4 80 万单位)	依浓度大小标记为 K-41 K-42 K-43 K-44 K-45
	四环素片剂 (K-5 0.25 g)	依浓度大小标记为 K-51 K-52 K-53 K-54 K-55
防腐剂 Preservative	苯甲酸钠 (F-1)	依浓度大小标记为 F-11 F-12 F-13 F-14 F-15
	山梨酸钾 (F-2)	依浓度大小标记为 F-21 F-22 F-23 F-24 F-25
	丙二酸钠 (F-3)	依浓度大小标记为 F-31 F-32 F-33 F-34 F-35
化学农药 Chemical bactericide	70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 (N-1)	依浓度大小标记为 N-11 N-12 N-13 N-14 N-15
	50%多菌灵可湿性粉剂 (N-2)	依浓度大小标记为 N-21 N-22 N-23 N-24 N-25

各种抑菌剂类型及其代号见表 1。

第 15 d、25 d 时分别测量马铃薯组培苗污染率、苗高和根数并记录数据。

菌类生长抑制率(%) = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径)/对照菌落直径] × 100

2 结果与分析

2.1 医用抗生素对培养基抑菌效果以及组培苗生长、生根的影响

试验数据显示(表 2)，医用抗生素类抑菌剂对组培苗污染物有一定的抑制作用，而且随着抑菌剂

浓度的加大抑菌效果也提高，但是较高浓度的抑菌剂对组培苗的生长有一定的抑制作用，如 K-15、K-24、K-25、K-35、K-45、K-54、K-55 的苗高及生根数都低于对照及其它低浓度的处理。试验表明：既能起到抑菌效果又对组培苗的生长影响较小的医用抗生素类抑菌剂的最大浓度处理分别为 K-13、K-22、K-34、K-43 和 K-52。

2.2 防腐剂对培养基抑菌效果以及组培苗生长、生根的影响

试验数据表明(表 3)，防腐剂类抑菌剂对组培苗污染物有很好的抑制作用，但是浓度过大时对组

表 2 医用抗生素的抑菌效果及对马铃薯组培苗生长生根的影响
Table 2 Effects of different medical antibiotics on growth and rooting of potato plantlets

处理 Treatment	污染率(%) Rate of contamination	苗高(mm) Seedling height	较对照增减(%) Comparison with CK	根数(条) Number of root
K-11	33.3	65.9	0.8	5.7
K-12	33.3	68.3	4.4	6.1
K-13	0	72.4	10.7	6.7
K-14	0	62.7	-4.1	5.2
K-15	0	33.3	-49.1	4.1
K-21	8.3	72.1	10.2	5.4
K-22	0	66.7	2.0	5.8
K-23	0	64.3	-1.7	5.3
K-24	0	32.4	-50.5	3.8
K-25	0	30.1	-54.0	4.2
K-31	8.3	67.4	3.1	5.4
K-32	8.3	58.9	-9.9	6.1
K-33	0	61.5	-6.0	5.8
K-34	0	69.1	5.7	6.3
K-35	0	28.7	-56.1	3.5
K-41	0	71.3	9.0	5.5
K-42	0	63.7	-2.6	5.7
K-43	0	68.5	4.7	6.2
K-44	0	62.9	-3.8	5.6
K-45	0	34.5	-47.2	4.9
K-51	8.3	63.8	-2.4	4.6
K-52	0	66.5	1.7	5.5
K-53	0	59.8	-8.6	5.2
K-54	0	35.3	-46.0	4.7
K-55	0	30.2	-53.8	4.4
CK	33.3	65.4	-	5.8

培苗有致死作用，也会抑制根的形成，如 F-13、F-14、F-15、F-23、F-24、F-25、F-35 的 7 个处理。既能起到抑菌效果又对组培苗的生长影响较小的防腐剂类抑菌剂的最大浓度处理分别为 F-11、F-21、F-32。

2.3 化学农药对培养基的抑菌效果以及组培苗生长、生根的影响

试验结果显示(表 4)，化学农药类抑菌剂对组培苗污染物有较好的抑制作用，但是浓度较大不仅对组培苗有抑制作用，而且过大的浓度会抑制根的形成甚至造成组培苗的死亡，如 N-13、N-14、N-15、

表 3 防腐剂的抑菌效果及对马铃薯组培苗生长生根的影响
Table 3 Effects of different preservatives on growth and rooting of potato plantlets

处理 Treat- ment	污染率(%) Rate of contamination	苗高 (mm) Seedling height	较对照增减 (%) Comparison with CK	根数(条) Number of roots	死亡率(%) Rate of death
F-11	0	70.1	2.0	4.8	0
F-12	0	66.9	-2.6	4.6	0
F-13	0	20.1	-70.7	0	60
F-14	0	11.2	-83.7	0	100
F-15	0	12.3	-82.1	0	100
F-21	0	67.4	-1.9	4.9	0
F-22	0	66.8	-2.8	4.3	0
F-23	0	18.4	-73.2	0	30
F-24	0	11.7	-83.0	0	80
F-25	0	10.3	-85.0	0	100
F-31	0	69.2	0.7	5.3	0
F-32	0	70.3	2.3	5.6	0
F-33	0	66.9	-2.6	4.7	0
F-34	0	68.1	-0.9	4.1	0
F-35	0	17.4	-74.7	0	60
CK	16.7	68.7	-	5.1	0

N-25 的 4 个处理均无生根，且苗高较对照减 80%以上。由表 4 中结果分析可知，既能起到抑菌效果又对组培苗的生长无影响的化学农药类抑菌剂的最大浓度处理为 N-11、N-23。

2.4 不同抑菌剂的抑菌效果比较分析

为了比较分析不同抑菌剂的抑菌效果，对组培苗抑菌效果试验中筛选出的既能起到抑菌效果又对组培苗的生长无影响的不同抑菌剂的最大使用浓度进行体外抑菌作用试验，试验中对所培养菌的菌落直径进行测量，并计算菌类生长抑制率。

结果显示(表 5)，70%甲基硫菌灵可湿性粉剂和 50%多菌灵可湿性粉剂对马铃薯组培苗生产中最常见的青霉菌、细菌和酵母菌 3 种菌都具有较好的抑制作用，且对青霉菌的生长抑制率均达到 80%以上。其它抑菌剂中，庆大霉素和四环素对青霉菌有较好的抑制作用，其菌落生长抑制率达到 50%以上；链霉素对细菌的生长抑制效果较明显；氯霉素、链霉素和山梨酸钾 3 种抑菌剂对酵母菌有较好的抑制作用，生长抑制率达到 60%以上。

表 4 化学农药的抑菌效果及对马铃薯组培苗生长生根的影响

Table 4 Effects of different chemical bactericides on growth and rooting of potato plantlets

处理 Treatment	污染率(%) Rate of contamination	苗高(mm) Seedling height	较对照增减(%) Comparison with CK	根数(条) Number of root
N-11	0	68.2	-4.3	4.7
N-12	0	66.9	-6.2	4.7
N-13	0	10.9	-84.7	0
N-14	0	11.1	-84.4	0
N-15	0	10.7	-85.0	0
N-21	16.7	70.3	-1.4	4.8
N-22	0	68.4	-4.1	5.1
N-23	0	72.1	1.1	5.9
N-24	0	65.4	-8.3	4.6
N-25	0	12.3	-82.7	0
CK	33.3	71.3	-	5.3

表 5 不同抑菌剂抑菌效果的比较分析

Table 5 Comparison of different bacteriostatic agent effects

抑菌剂 Bacteriostatic agent	菌落直径 (mm) Diameter of colonies			菌类生长抑制率(%)Inhibitory rate of bacteria growth		
	青霉菌 Penicillium	细菌 Bacterium	酵母菌 Yeast	青霉菌 Penicillium	细菌 Bacterium	酵母菌 Yeast
庆大霉素 Gentamicin	18.4	12.8	20.8	52.6	41.8	26.2
氯霉素 Chloromycetin	24.6	14.2	8.6	28.9	35.5	69.5
链霉素 Streptomycin	27.8	8.6	10.1	19.7	60.9	64.2
青霉素 Penicillin	26.1	10.7	26.4	24.6	51.4	6.4
四环素 Tetracycline	16.1	8.8	22.1	53.5	60.0	21.6
苯甲酸钠 Sodium benzoate	24.8	10.6	19.2	28.3	51.8	31.9
山梨酸钾 Potassium sorbate	28.4	9.8	9.3	17.9	55.5	67.0
丙二酸钠 Sodium malonate	26.2	12.4	18.7	24.3	43.6	33.7
70%甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl(70%)	6.2	7.2	7.1	82.1	67.3	74.8
50%多菌灵 Carbendazim(50%)	6.2	7.0	7.4	82.1	68.2	73.8
对照(CK)	34.6	22.0	28.2	-	-	-

3 讨 论

降低马铃薯组培苗生产中的污染率,可以大大降低马铃薯组培苗的生产成本,从而进一步推动马铃薯产业发展。在众多的抑菌剂类型中,可选择对马铃薯组培生产中最常见的 3 种菌都具有较好抑制作用的化学农药类抑菌剂,即 70%甲基硫菌灵可湿性粉剂和 50%多菌灵可湿性粉剂。

另有研究表明:马铃薯脱毒试管苗继代培养基中添加 20 mg/L 氨基西林钠或硫酸链霉素时,能有效抑制试管苗的细菌性侵染,并提高试管苗的生长势,缩短繁殖周期,加快繁殖速度^[45]。其次,在马铃薯组培苗污染的初步防治中,无法通过浸泡处理挽救已受污染的组培苗,而将菌杀保果、硫酸庆大霉素和

1229 消毒剂 3 种抑菌剂加入培养基能较好的防治组培苗发生污染^[6]。

[参 考 文 献]

- [1] 姚春兰, 梁铎. 安定区马铃薯产业发展现状、问题及建议[J]. 中国马铃薯, 2009(5): 313-314.
- [2] 康萍芝, 张丽荣, 沈瑞清, 等. 不同防腐剂对马铃薯脱毒试管苗污染的控制效果[J]. 中国蔬菜, 2012(2): 60-63.
- [3] 吴德寿, 张可理, 周学启. 解决试管苗污染的方法[J]. 中国马铃薯, 2001, 15(6): 317-318.
- [4] 王春. 医用抗生素在马铃薯组织培养中的抑菌效应研究[J]. 甘肃农业科技, 2012(10): 138.
- [5] 宿飞飞, 马纪, 胡林双, 等. 植物源杀菌剂对马铃薯组织培养中青霉菌的抑菌效果[J]. 黑龙江农业科学, 2012(3): 81-83.
- [6] 李春华, 王菊英, 和忠, 等. 马铃薯组培苗低成本高效生产技术试验[J]. 中国马铃薯, 2008, 22(3): 164-167.