

中图分类号: S532; S482.6; R282 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2010)01-0043-04

苍术和艾叶用于马铃薯组培室熏蒸的研究

邹曾硕, 刘国凤, 唐 伟, 段宏伟

(四川省凉山州马铃薯良种繁育推广中心, 四川 西昌 615013)

摘 要: 通过苍术、艾叶与甲醛的熏蒸效果比较, 探索中药在组培室消毒中的可行性。试验结果表明: 苍术的平均灭菌率为 44.8%(真菌)、77.9%(细菌), 艾叶的平均灭菌率为 68.4%(真菌)、44.1%(细菌)。甲醛熏蒸平均灭菌率为 70.2%(真菌)、68.8%(细菌)。由于苍术对细菌的灭菌效果优于真菌, 而艾叶对真菌的灭菌效果优于细菌, 可根据组培真、细菌污染的实际情况选择二者之一作为熏蒸剂。两种中药熏蒸剂对人体和试管苗均无伤害, 且与甲醛熏蒸效果相近, 可用于马铃薯组培室的消毒杀菌。

关键词: 苍术; 艾叶; 甲醛; 熏蒸; 马铃薯组培

Research on Atractylodes and Argy Wormwood Leaves Used for Fumigation in Potato Tissue Culture

ZOU Zengshuo, LIU Guofeng, TANG Wei, DUAN Hongwei

(Seed Potato Multiplication and Extension Center in Liangshan Yi Autonomous Prefecture, Xichang, Sichuan 615013, China)

Abstract: To overcome the disadvantages of traditional fumigation in tissue culture, the feasibility of Chinese medicine was studied by comparing the effects of argy wormwood leaves, atractylodes, and formaldehyde on the fumigation in potato tissue culture room. The results showed that the sterilized rates of argy wormwood leaves were 44.8% (fungi) and 77.9% (bacteria), respectively, the sterilized rates of atractylodes rhinome were 68.4% (fungi) and 44.1% (bacteria), respectively, and the sterilized rates of formaldehyde (control) were 70.2% (fungi) and 68.8% (bacteria), respectively. Because the effects of the two kinds of Chinese medicine on sterilization for fungi and bacteria were different, one of them could be selected for fumigation according to the types of contaminations. Because argy wormwood leaves and atractylodes belong to the traditional Chinese medicine, they have no harms to human and in-vitro plantlets; meanwhile, they have the similar effects to formaldehyde, thus they can be widely used for sterilization in potato tissue culture room.

Key Words: atractylodes, argy wormwood leaf, formaldehyde, fumigation, potato tissue culture

收稿日期: 2009-12-03

作者简介: 邹曾硕(1983-), 男, 农艺师, 主要从事马铃薯脱毒种薯生产研究和推广应用。

施, 对晚疫病的平均防治效果分别为 56.3%、79.5% 和 84.3%, 且对马铃薯安全无药害。每公顷 50% 氟吗啉·代森锰锌 WP 1 200 g、1 600 g 喷施防效显著优于对照药剂 20% 氟吗啉 WP 1 000 g 和 70% 代森锰锌 WP 1 428.6 g。生产上建议每公顷用量为 1200~1 600 g 于发病初始, 间隔 7~10 d, 连续喷施 3 次。

试验结果表明, 复配型杀菌剂对晚疫病的防效明显优于单剂。代森锰锌为传统杀菌剂, 由于价格较低, 在马铃薯生产田已连续多年应用, 使病原菌产生了一定的抗性。建议作为保护性杀菌剂与一些

新型内吸性杀菌剂交替或混合应用, 做到科学合理搭配, 以延缓抗药性的产生, 提高晚疫病防治效果。

[参 考 文 献]

- [1] 王晓丹, 李学湛, 刘爱群, 等. 黑龙江省马铃薯晚疫病研究进展与综合防治[J]. 中国马铃薯, 2008, 22(6): 357-360.
- [2] 刘金成, 许长敏, 陈清云. 马铃薯晚疫病药剂防治筛选试验[J]. 农药, 2002, 41(2): 31-32.
- [3] 艾仁孝, 吴双清, 颜学明, 等. 替代甲霜灵防治马铃薯晚疫病的药剂筛选[J]. 植物保护, 1999, 25(5): 40-41.
- [4] 农业部农药鉴定所生测室. 农药田间药效试验准则[M]. 北京: 中国标准出版社, 2001: 141-143.

马铃薯脱毒试管苗在生产上的应用, 解决了马铃薯病毒病危害造成减产的主要问题^[1]。但是微生物(真细菌)污染一直是困扰马铃薯脱毒试管苗生产的大问题, 个别月份(夏秋季节)污染率甚至高达 40%。污染直接影响到生产效率、生产成本, 甚至打乱生产计划。污染与培养环境的洁净度直接相关, 而培养室空气流通少、湿度大, 易导致各种菌类滋生, 空间洁净度差。传统的灭菌方法是使用紫外灯照射、甲醛熏蒸、过氧乙酸等, 这些方法都有一定的消毒灭菌效果, 但均有一定缺陷。紫外线对组培材料和人体有害; 甲醛消毒效果较好, 但残存时间长, 对组培材料和人体也有害, 甲醛原浆毒物质能与蛋白质结合, 吸入高浓度甲醛后, 人体会出现呼吸道的严重刺激和水肿、眼刺痛、头痛。皮肤直接接触甲醛, 可引起皮炎、色斑、坏死, 经常接触少量甲醛, 能引起慢性中毒, 出现黏膜充血、皮肤刺激症、过敏性皮炎等, 甲醛还是基因毒性物质, 可导致基因突变, 实验室证实可致癌; 过氧乙酸降尘除菌, 容易引起培养室湿度升高且刺激味强^[2-6]。

采用新型中药材灭菌剂苍术和艾叶, 通过与甲醛熏蒸效果作比较, 克服组培生产传统消毒方法的缺点, 以期能实现马铃薯试管苗工厂化大规模生产

的安全、高效、无毒害副作用、降低污染率、降低生产成本、提高生产效率和经济效益的目的, 并探求苍术、艾叶熏蒸在马铃薯脱毒试管苗组培生产上是否适用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为中药铺采购的苍术成品块茎和干燥艾叶, 甲醛, 高锰酸钾, 马铃薯脱毒试管苗继代培养基。

1.2 试验设计

2009 年于凉山州马铃薯良种繁育推广中心组培室完成该试验。试验设置 9 处采样点, 分别为靠近组培室边缘的 8 个点(平均分布)和中央的 1 个点, 熏蒸选取组培室平均分布的 3 个点。苍术、艾叶和甲醛熏蒸分别选取两间组培室同时进行。

1.3 试验方法

1.3.1 熏蒸灭菌

(1) 苍术、艾叶熏蒸选取一间组培室(体积 56 m³), 用量为 2.0 g·m⁻³。艾叶经干燥后直接点燃, 苍术先用 95% 酒精浸泡 24 h, 熏蒸时以酒精为助燃剂点燃。在培养室按 3~5 个点均匀分布, 点燃后密闭培养室熏蒸 1 h。

表 1 苍术在组培室的熏蒸效果

Table 1 Fumigation effects of atractylodes in potato tissue culture laboratory

| 处理 Treatment | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 平均数 Average |
|--------------------------------------|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|
| 真菌 Fungi | | | | | | | | | | | |
| 熏蒸前 Before fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 5 | 3 | 3 | 2 | 5 | 7 | 7 | 4 | 2 | 4.2 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 319 | 191 | 191 | 127 | 319 | 446 | 446 | 255 | 255 | 283a |
| | 培养基菌落数 Colonies on medium | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 3 | 2 | 1 | 2.4 |
| 熏蒸后 After fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 3 | 2 | 1 | 2.4 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 191 | 127 | 127 | 127 | 191 | 255 | 191 | 127 | 64 | 156b |
| | 培养基菌落数 Colonies on medium | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 3 | 2 | 1 | 2.4 |
| 灭菌率(%) The ratio of sterilization | | | | | | | | | | | 44.8 |
| 细菌 Bacteria | | | | | | | | | | | |
| 熏蒸前 Before fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 2 | 1 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 3 | 1 | 2.6 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 127 | 64 | 191 | 191 | 127 | 255 | 255 | 191 | 64 | 163a |
| | 培养基菌落数 Colonies on medium | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0.56 |
| 熏蒸后 After fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0.56 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 0 | 0 | 64 | 64 | 0 | 64 | 64 | 64 | 0 | 36b |
| | 培养基菌落数 Colonies on medium | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0.56 |
| 灭菌率(%) The ratio of sterilization | | | | | | | | | | | 77.9 |

(2) 甲醛熏蒸选取大小一致的组培室，用量为甲醛 $2 \text{ mL} \cdot \text{m}^{-3}$ 加高锰酸钾 $1 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ ，将甲醛溶液倒入盛装高锰酸钾的容器后立即撤离，并关闭门窗。

1.3.2 菌落检测与统计

采用自然沉降法测定菌落数量：打开培养皿盖暴露 10 min，分别在熏蒸前和熏蒸后 3~4 d 各采样 1 次，在室温下培养 2 d，然后按霉菌、细菌进行菌落数分类统计。

采样方法：分别在组培室的四周(距墙 50 cm 左右)及中间 1~2 个点进行采样。

1.3.3 统计方法

根据奥氏公式计算培养室空气含菌数($\text{cfu} \cdot \text{m}^{-3}$)，再计算出消毒灭菌率，分析其灭菌效果。

空气菌落总数 ($\text{cfu} \cdot \text{m}^{-3}$) = $50\,000 N / A \times T$

公式中 A 为培养皿面积(cm^2)，T 为培养皿暴露时间(min)，N 为培养皿平均菌落数($\text{cfu} \cdot \text{皿}^{-1}$)。

2 结果与分析

2.1 苍术的熏蒸效果

从表 1 统计可以看出，苍术熏蒸后马铃薯组培室空气细菌含量与熏蒸前差异达到显著水平($P <$

0.05)，从苍术对真细菌的灭菌率差异来看，对细菌的灭菌率明显高于对真菌的灭菌率。

2.2 艾叶的熏蒸效果

从表 2 统计分析可以看出，艾叶熏蒸后马铃薯组培室空气真菌含量与熏蒸前差异达到显著水平($P < 0.05$)，从艾叶对真细菌的灭菌率差异来看，对真菌的灭菌率明显高于对细菌的灭菌率。

2.3 甲醛的熏蒸效果

从表 3 统计分析可以看出，甲醛对真细菌灭菌效果基本一致，且熏蒸前后组培室空气含菌量差异显著($P < 0.05$)，这证实了甲醛在空气消毒上的实际效果。

表 1~3 显示，组培室的各个空间位置的含菌量各不相同，处于靠墙的角落含菌量最高，其他边缘次之，中央的含菌量最低。且苍术、艾叶在熏蒸后有浓郁的中药气味，而且残留时间较长，可对环境进行稳定控制，虽有中药气味，但不会对人体造成伤害，较其它熏蒸药剂(甲醛)安全可靠。通过对熏蒸后组培室马铃薯试管苗的生长状况进行观察，此中药材熏蒸对试管苗生长无影响，不会对其造成不良反应。

表 2 艾叶在组培室的熏蒸效果

Table 2 Fumigation effects of argy wormwood leaf in potato tissue culture laboratory

| 处理 Treatment | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 平均数 Average |
|----------------------------|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|
| 真 菌 Fungi | | | | | | | | | | | |
| 熏蒸前 Before fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 6 | 3 | 6 | 2 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 4.2 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 382 | 191 | 382 | 127 | 319 | 319 | 319 | 191 | 191 | 269a |
| 熏蒸后 After fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1.3 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 127 | 64 | 127 | 64 | 0 | 127 | 127 | 64 | 64 | 85b |
| 灭菌率(%) | | | | | | | | | | | 68.4 |
| The ratio of sterilization | | | | | | | | | | | |
| 细 菌 Bacteria | | | | | | | | | | | |
| 熏蒸前 Before fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 4 | 5 | 2 | 2 | 2.8 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 127 | 127 | 191 | 127 | 191 | 255 | 319 | 127 | 127 | 177a |
| 熏蒸后 After fumigation | 培养基菌落数 Colonies on medium | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1.2 |
| | 空气菌落总数 Colonies in air | 64 | 64 | 64 | 64 | 127 | 191 | 191 | 64 | 64 | 99b |
| 灭菌率(%) | | | | | | | | | | | 44.1 |
| The ratio of sterilization | | | | | | | | | | | |

表 3 甲醛在组培室的熏蒸效果
Table 3 Fumigation effects of formaldehyde in potato tissue culture laboratory

| 处理 Treatment | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 平均数 Average |
|--------------------------------------|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|
| 真 菌 Fungi | | | | | | | | | | | |
| 熏蒸前 Before fumigation | 培养基菌落数 | 5 | 3 | 5 | 3 | 4 | 6 | 7 | 2 | 2 | 4.1 |
| | Colonies on medium | | | | | | | | | | |
| | 空气菌落总数 | 319 | 191 | 319 | 191 | 255 | 382 | 446 | 127 | 127 | 262a |
| 熏蒸后 After fumigation | 培养基菌落数 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1 | 1.2 |
| | Colonies on medium | | | | | | | | | | |
| | 空气菌落总数 | 64 | 64 | 127 | 64 | 64 | 127 | 127 | 0 | 64 | 78b |
| 灭菌率(%) The ratio of sterilization | 培养基菌落数 | | | | | | | | | | |
| | Colonies on medium | | | | | | | | | | |
| | 空气菌落总数 | | | | | | | | | | |
| 细 菌 Bacteria | | | | | | | | | | | |
| 熏蒸前 Before fumigation | 培养基菌落数 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 2 | 3 | 3.2 |
| | Colonies on medium | | | | | | | | | | |
| | 空气菌落总数 | 127 | 191 | 191 | 191 | 255 | 255 | 319 | 127 | 191 | 205a |
| 熏蒸后 After fumigation | 培养基菌落数 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 |
| | Colonies on medium | | | | | | | | | | |
| | 空气菌落总数 | 0 | 64 | 64 | 64 | 127 | 64 | 127 | 0 | 64 | 64b |
| 灭菌率(%) The ratio of sterilization | 培养基菌落数 | | | | | | | | | | |
| | Colonies on medium | | | | | | | | | | |
| | 空气菌落总数 | | | | | | | | | | |

3 讨 论

试验结果表明，苍术、艾叶适用于马铃薯组培室的消毒灭菌，而且中药气味残留时间较长，可对环境进行持续稳定的控制，虽有中药气味，但属安全无毒气体，不会对人体造成伤害，较甲醛安全可靠。甲醛已经被世界卫生组织确定为一类致癌物，并且认为甲醛与白血病发生之间存在着因果关系，熏蒸后具有强烈的刺激味道，残留时间长，影响了生产进度。植物组培室灭菌不仅要考虑对人体的安全影响，同时也要考虑是否对植物试管苗的生长发育造成不良影响，只有对人体和试管苗均无损害的熏蒸制剂才可用。通过对熏蒸后组培室马铃薯试管苗的生长状况进行持续观察，此中药材熏蒸对试管苗生长无影响，不会对其造成不良反应。

苍术、艾叶分别对真菌和细菌有特效，苍术对细菌的灭菌效果优于真菌，而艾叶对真菌的灭菌效果优于细菌，所以在使用过程中可以针对污染情况的不同采取不同熏蒸方式，既避免材料的浪费又达到灭菌效果，这将对马铃薯试管苗组培室真、细菌污染做出针对性灭菌提供依据。从苍术、艾叶与甲醛的熏蒸效果比较，此新型中草药熏蒸制剂适用于

马铃薯组培室的消毒灭菌，克服了传统消毒方法缺点，安全、高效、无毒害副作用、降低污染率，在马铃薯脱毒试管苗工厂化大规模生产中，降低生产成本、提高生产效率和经济效益。

在真细菌数量记录中发现组培室的细菌含量比真菌含量要低，这与前人研究结果有所不同^[7]，原因是在平时生产过程中我们着重于防治细菌污染，所以组培室的细菌含量相对较低。

[参 考 文 献]

[1] 苏云芳. 马铃薯组培苗工厂化生产中降低污染率的有关措施[J]. 云南农业, 2004(7):29.
[2] 隋慧雪, 史玉兰, 黄凯. 4 种空气消毒方法效果观察[J]. 河南预防医学杂志, 2008, 19(4):254-259.
[3] 黄美华, 吕卫群, 胡桂根, 等. 艾叶与苍术熏蒸空气消毒效果观察[J]. 护理学杂志, 2008, 23(10):54-55.
[4] 王锦军, 黄兆文, 李瑶瑶. 艾叶化学成分的研究[J]. 药学服务与研究, 2008, 8(6):465-466.
[5] 周景明, 李平, 孟维珊. 福尔马林熏蒸消毒十注意[J]. 中国动物保健, 2009(7):62-63.
[6] 崔晓彪, 邵方晓, 庞树和, 等. 中药空气消毒剂研究综述[J]. 中国保健营养·临床医学学刊, 2009, 18(4):104-105.
[7] 邹瑜, 林贵美, 韦华芳, 等. 艾叶、苍术在香蕉组培苗工厂化生产车间的空气消毒应用研究[J]. 广西农业科学, 2008, 39(6):767-770.