

杀菌剂对枸杞组织培养中真菌污染的控制作用

李晓莺, 罗青, 张曦燕, 何军, 曹有龙* (宁夏农林科学院枸杞工程技术研究中心, 宁夏银川750002)

摘要 [目的] 为解决枸杞组织培养中的真菌污染问题。[方法] 在枸杞继代培养物中加入不同浓度的农用杀菌剂(50%多菌灵可湿性粉剂、75%代森锰锌可湿性粉剂、25%甲霜灵可湿性粉剂)。经灭菌后,在光照12 h/d、光强2 000 lx、温度23℃的条件下,培养并观察材料的受污染与生长情况。[结果] 75%代森锰锌可湿性粉剂对枸杞组织培养过程中出现的真菌污染具有显著的防治效果,污染率仅10%,且枸杞培养物的生长情况良好。[结论] 找到了一种在枸杞组培快繁中既能有效防止真菌污染,又能在一定程度上促进组培苗生长发育的杀菌剂。

关键词 枸杞;组织培养;杀菌剂

中图分类号 S722.3+7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)36-15804-01

Control Effects on Fungal Pollution of Fungicide in Wolfberry Tissue Culture

LI Xiao-ying et al (Engineering and Technology Research Center of Ningxia Wolfberry, Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract [Objective] The study aimed to solve the problems of fungal pollution in wolfberry tissue culture. [Method] The agricultural fungicides were added to wolfberry in subcultured callus (50% carbendazim wettable powder, 75% mancozeb wettable powder, 25% metalaxyl wettable powder). Based on the light time was 12 h/d and light intensity was 2 000 lx by sterilizing, the situations of pollution and growth were cultured and observed. [Result] 75% mancozeb wettable powder has the significant control effect in wolfberry tissue culture, contamination rate was 10%, and wolfberry tissue has well growth condition. [Conclusion] A fungicide was found, which can effectively prevent fungal pollution and promote the growth of tissue culture seedling.

Key words Wolfberry; Tissue culture; Fungicide

枸杞(Lycium barbarum L.),茄科^[1],属落叶灌木,是重要的“药食同源”的功能型特产资源。枸杞耐盐碱、耐干旱、耐寒,是我国北方地区防风固沙、绿化与美化环境的优良树种,具有良好的发展前景。因此,研究枸杞的组织培养快繁技术具有现实意义。枸杞的组织培养过程中,在培养基中添加杀菌剂已成为防治污染的一种重要方法,并已得到广泛运用^[2]。但目前,该方面研究主要集中在防治细菌污染,如罗青等^[3]的研究,对真菌污染方面的研究较少。笔者通过在培养基中添加不同浓度的各种农用杀菌剂,探索出了一条控制枸杞组培快繁中真菌污染的有效途径,从而选用被污染枸杞组培苗的茎尖、基部腋芽和侧芽等为材料,培养获得再生植株,为今后枸杞的组培快繁技术提供一定科学依据与参考。

1 真菌污染产生的原因

1.1 培养材料污染 外植体材料带菌多,如果表面消毒不彻底,即杀菌剂使用不当或处理时间不适,未将病菌全部杀死,从而导致接种后病菌在培养基中扩大繁衍。

1.2 操作器具带菌 操作器械、器皿(镊子、剪子、刀片、三角瓶、培养皿、超净工作台、酒精灯)等未经严格的高温灭菌,则会产生污染。另外,器械在灭菌后的取放过程中不慎带菌也会造成污染。

1.3 培养基污染 经过灭菌的空白培养基有时也会出现污染。若菌落只存在于培养基表面,则有可能是封口不严或放置培养基环境中的病菌孢子过多所致;若有白色云雾状物质,且出现在培养基内部,则表明灭菌不彻底。另外,母液放置过久,也会造成培养基的污染。

1.4 培养物生长环境不洁 培养物的生长环境(组培室、接种室)不卫生,如门窗封闭不严,则蚊蝇、飞蛾、虫子易进出,有利于杂菌传播。同时,室内尘埃多,经常不清扫消毒,会使

菌落增多造成污染。

1.5 接种人员带菌 接种人员对自身消毒不严或无菌操作技术不熟练,容易造成组培苗的污染^[4]。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 培养物材料。枸杞继代培养中受真菌污染严重的部位,包括枸杞组培苗的茎尖、基部腋芽和侧芽等。

2.1.2 试剂。杀菌剂为50%多菌灵可湿性粉剂、75%代森锰锌可湿性粉剂、25%甲霜灵可湿性粉剂作为杀菌剂;分化培养基为MS+6-BA 0.01 ng/L+NAA 0.1 ng/L+蔗糖30 g/L+琼脂4 g/L,pH值5.8;无菌水(将蒸馏水装入三角瓶,封口,在121℃的高压灭菌锅中保持30 min,冷却后备用)。

2.1.3 仪器。高压灭菌锅(LDZX-40SD,上海申安科贸有限公司)、超净工作台(VS-1300,苏州工业园区鸿基洁净科技有限公司)、分析天平(德国赛多利斯集团)。

2.2 方法 在枸杞的分化培养基中,分别加入3种杀菌剂:50%多菌灵可湿性粉剂、75%代森锰锌可湿性粉剂、25%甲霜灵可湿性粉剂各1.5 g/L,对照(CK)则不加任何杀菌剂。按80 ml/瓶分装,经常规高温高压灭菌备用。再将受真菌污染的培养材料用无菌水震荡清洗3次,每次5 min左右,再转入已制备好的培养基中,每处理转接20瓶,每瓶1个污染材料。在光照12 h/d、光强2 000 lx和温度23℃的条件下,培养并观察培养材料的污染及生长情况。观察时间为2008年3月~6月。

3 结果与分析

由表1可知,在对枸杞组织培养过程中,75%代森锰锌可湿性粉剂的污染率较低,仅10%,即抑菌率较高,达90%,对真菌污染具有显著的防治效果,枸杞的生长情况良好,这表明75%代森锰锌对培养材料的生长未构成影响,反而对其具有一定的促进作用。其次,抑菌效果较好的杀菌剂为50%多菌灵可湿性粉剂,其有较明显的抑菌效果,污染率为15%,

(下转第15841页)

基金项目 宁夏回族自治区重大科技攻关项目(05GG10601)。

作者简介 李晓莺(1979-),女,宁夏银川人,助理研究员,从事枸杞组织培养及生物技术育种研究工作。* 通讯作者。

收稿日期 2008-07-28

表4 增糖剂与套袋结合处理对苹果梨内在品质的影响

Table 4 Effects of sugar promoter and and bagging treatment on the internal fruit quality of apple pear

处理 Treatment	可溶性固形物 % Soluble solids	可溶性糖 % Soluble sugar	可滴定酸 % Titratable acid	还原糖 % Reducing sugar	单宁 % Tannin	维生素C % Vitamin C	糖酸比 Suga-acid ratio	平均单果重 g Average weight per fruit
	13.58 abAB	9.63 bB	0.26 cC	8.37 cC	0.67 aA	6.32 aA	36.90 aA	331.30 cB
	13.12 cB	9.39 bcBC	0.29 bB	9.82 aA	0.60 bB	5.75 bB	28.83 bB	351.10 bAB
	13.79 aA	11.16 aA	0.31 aA	10.07 aA	0.69 aA	5.77 bB	35.88 aA	364.20 abA
	13.55 abAB	9.14 cC	0.31 aA	9.95 aA	0.67 aA	5.25 cC	29.11 bB	375.80 aA
CK	13.32 bcAB	9.46 bcBC	0.26 cC	9.41 bB	0.60 bB	5.24 cC	36.40 aA	356.20 bAB

3 结论

与不套袋的果实相比,套袋果外观品质明显改善,单宁含量降低($P < 0.05$),维生素C含量显著升高($P < 0.01$),但可溶性固形物、可溶性糖含量降低,还原糖、糖酸比显著降低($P < 0.01$),可滴定酸显著升高($P < 0.01$),果实风味变淡,内在品质下降,平均单果重降低。经增糖剂处理后,果实内在品质有提高的趋势,但外观品质无明显变化,且不同增糖剂的效果不同。其中,比大其梨膨大素表现最好,可溶性固形物、可溶性糖、还原糖含量均有显著提高($P < 0.01$),糖酸比略有提高,果实重量明显增加,风味浓郁。增糖剂与套袋结合处理后苹果梨内在品质远高于只套袋果实,不但可以明显改善苹果梨外观,而且可以提高其内在品质。综合各方面表现,比大其梨膨大素结合套袋处理为最佳组合,可溶性固形

(上接第15804页)

物、可溶性糖、还原糖含量以及糖酸比均达到理想状态。

参考文献

- [1] 张大勇. 苹果梨优质高产管理措施[J]. 农村科学实验, 2007(7): 20.
- [2] 朴宇. 浅谈延边州苹果梨发展对策[J]. 延边农业科技, 2004(1): 29-33.
- [3] 全相均, 王连君, 朴宁, 等. “苹果梨”套袋栽培技术研究[J]. 落叶果树, 2001(3): 9-11.
- [4] 辛贺明, 张喜焕. 套袋对鸭梨果实内含物变化及内源激素水平的影响[J]. 果树学报, 2003(20): 233-235.
- [5] 王家珍, 李俊才. 梨果套袋效应试验[J]. 北方果树, 2000(1): 11.
- [6] JU Z G. Relation among phenylalanine ammonia-lyase activity, simple phenol concentrations and anthocyanin accumulation in apple[J]. Scientia Horticulture, 1995, 61: 215-226.
- [7] 张阳梅, 尹克林, 冉志林, 等. 不同果袋套袋对霞玉梨果实品质的影响[J]. 中国南方果树, 2005(3): 55-56.
- [8] 张喜焕. 梨果实外观品质研究进展[C]// 都荣庭, 董启凤. 梨科研与生产进展. 全国梨优质高效生产学术研讨会, 辛集市. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 131-134.
- [9] 张琳, 赵思东, 石明旺, 等. 套袋对黄金梨和丰水梨果实品质的影响[J]. 中国南方果树, 2004(2): 55-56.

部死亡。因此,在各杀菌剂对枸杞组织培养中真菌污染的控制作用研究中,75%代森锰锌可湿性粉剂的杀菌效果最好,其次为50%多菌灵可湿性粉剂。

表1 杀菌剂对枸杞组织培养中真菌污染的抑制情况

Table 1 The inhibition situations of fungicides on the fungal contamination in the tissue culture of wolfberry

处理 Treatment	接种瓶数 瓶 Inoculated bottles	污染瓶数 瓶 Polluted bottles	污染率 % Pollution rate	材料生长情况 Growth situations of materials
25%甲霜灵可湿性粉剂 25% metaxyl wettable powder	20	5	25.5	一般
75%代森锰锌可湿性粉剂 75% mancozeb wettable powder	20	2	10.0	良好
50%多菌灵可湿性粉剂 50% carbendazim wettable powder	20	3	15.0	较好
对照 CK Control	20	20	100.0	死亡

4 结论与讨论

(1) 以往在枸杞继代培养中一旦出现真菌污染,就将材料丢弃,但对于较珍贵的材料会造成不可避免的浪费,笔者通过在培养基中加入3种常用的杀菌剂,对其抑菌效果进行比较,找到了一种在枸杞继代培养中既能有效防止真菌污染,又能在一定程度上促进组培苗生长发育的杀菌剂——75%代森锰锌可湿性粉剂,不仅成本低,而且污染远远小于升汞,对枸杞组培苗的生长无不良影响,对枸杞组织培养中防止真菌污染具有十分重要的意义。

(2) 在枸杞组织培养过程中,继代培养时的微生物污染,往往是真菌和细菌的混合污染或内源菌和外源菌的混合污染,情况较为复杂。因此,在培养基中添加杀菌剂抑制真菌外的同时,还应添加抗生素抑制细菌,但目前我国在这方面

的研究较少,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] DUAN LJ, ZHOU J, CAO YL. Preliminary study on the arther culture in Lycium barbarum L. [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 5: 130-135, 141.
- [2] 程逸宇, 郑建秋, 迟卉, 等. 植物组织培养中真菌污染防治方法研究[J]. 贵州科学, 2006(3): 40-43.
- [3] 罗青, 李晓莺, 巫鹏举, 等. 枸杞组织培养中青霉素对细菌污染的抑制作用[J]. 宁夏农林科技, 2006(3): 6.
- [4] 李红梅, 王义强. 植物组织培养中污染问题及其控制措施[J]. 甘肃农业科学, 2008(1): 84-85.
- [5] DUAN LJ, ZHOU J, CAO YL. Preliminary study on the arther culture in Lycium barbarum L. [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(5): 92-95.
- [6] 王志成, 刘明稀, 易自力. 杀菌剂防治植物组织培养污染的初步研究[J]. 长沙电力学院学报: 自然科学版, 2004, 19(1): 82-84.
- [7] CAO YL, LUO Q, ZHANG X Y, et al. Effects of different culture conditions on vitification of Lycium barbarum L. plantlets in tissue culture [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(2): 30-32, 115.