

植物源杀菌剂对马铃薯组织培养中青霉菌的抑菌效果

宿飞飞¹, 马纪¹, 胡林双¹, 王绍鹏¹, 刘尚武¹, 李勇¹, 刘伟婷², 吕典秋¹

(1. 黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要:在马铃薯脱毒试管苗工厂化快繁过程中,为了抑制试管苗中的真菌污染,减少损失,采用平板生长抑制法用3种植物源杀菌剂苦参、中草药和黑农一号,对植物组织培养中青霉菌抑菌效果进行研究。结果表明:在培养基中加入黑农一号抑菌剂抑制青霉菌的效果最好,浓度在2.0%时,抑菌率达100.0%。

关键词:马铃薯;青霉菌;污染;植物源抑菌剂

中图分类号:S532

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)03-0081-03

随着马铃薯产业化发展,马铃薯脱毒试管苗快繁已逐步形成大规模工厂化扩繁体系。在试管苗工厂化扩繁过程中,常因各种原因出现真菌污染,因污染物如青霉菌等增殖迅速,且易传播,如果处理不当会造成毁灭性灾害。这种真菌污染可直接侵入到试管苗组织内部,用一般的消毒方法很难处理,在扩繁过程中易造成大面积的扩散,

且扩散后继代苗仍全部表现为真菌污染,给生产带来巨大损失。国内外学者在这方面进行了一些研究和报道^[1-2]。近年来植物源杀菌剂已被广泛地应用,但关于植物源杀菌剂对于真菌的影响国内外还未见报道。该试验针对马铃薯组织培养生产中遇到的青霉菌污染问题,采用平板生长抑制法检测了几种植物源杀菌剂对植物组织培养中青霉菌的抑菌作用。进行不同抑菌剂处理的效果试验,筛选出最佳的抑菌剂及浓度,为控制马铃薯脱毒试管苗快繁中真菌污染的发生提供一种新的方法。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试植物源杀菌剂为苦参、中草药和黑农一号;培养基采用马铃薯葡萄糖培养基(PDA)^[3]

收稿日期:2011-12-29

基金项目:黑龙江省科技厅资助项目(GA08B102、GB07B105);马铃薯产业创新体系资助项目(NCYTX-15);2011年黑龙江省农业科学院科技创新工程重点资助项目

第一作者简介:宿飞飞(1977-),女,黑龙江省肇东市人,在读博士,助理研究员,从事马铃薯组织培养及试管苗脱毒快繁技术的研究及应用。E-mail:xufeifei03@yahoo.com.cn。

通讯作者:吕典秋(1973-),黑龙江省绥化市人,男,博士,副研究员,从事马铃薯栽培与病害防治研究。E-mail:smallpotatoes@126.com。

Biological Characteristics and Its Control Countermeasures of Purple Elm Leaf Beetle in Jiamusi

LIU Qin-ling

(Garden Landscape Management in Jiamusi City, Jiamusi, Heilongjiang 154002)

Abstract: The survey on Jiamusi harm garden plants purple elm leaf beetle was conducted, it is a typical single-feeding insects, specific food take elm, it rampant occurred recent years in Heilongjiang, the garden area and the ecological environment were public hazards to a certain extent, chemical prevention was difficult to achieve the desired effect. So, the morphological characteristics and biological characteristics of elm leaf beetle purple were described. Then according to its occurrence and habits, practical technique for the control was put forward.

Key words: purple elm leaf beetle; biological characteristics; drug prevention and treatment; practical technique for the control

(1 000 mL):去皮马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,pH 自然;供试菌种为青霉菌(*Penicillium duclauxi*),从被污染的试管苗培养基分离纯化获得。

1.2 方法

1.2.1 污染青霉菌的分离 从被青霉菌污染的马铃薯组培苗中分离到污染霉菌,进行划线分离,挑取单菌落,接种到斜面 PDA 培养基上,于 28℃ 恒温培养 7 d 左右后,接种到平面培养基上培养,长满平皿后备用。

1.2.2 制 PDA 抗性培养基 吸取 20 mL 药液与 100 mL 培养基趁热用力摇匀,倒入培养皿中,每皿约 15 mL,制得抗性培养基。

1.2.3 污染青霉菌的鉴定 用 PDA 培养基在 28℃ 条件下培养 3 d。比较各菌株的群体形态特征和个体形态特征,进行初步鉴定^[4]。继续培养至 15 d 后,进一步鉴定。

1.2.4 抑菌试验方法 将苦参、中草药和黑农一号分别配制成不同浓度梯度的药液,对照为不加植物源杀菌剂的培养基,经高温高压灭菌后,准确量取一定量的药液加入到热的培养基中(保持 50℃,一般以 1 mL 药液加入到 9 mL 培养基为宜),混合均匀后倒入直径为 9 cm 的培养皿内冷

凝即带药培养基(或对照)。

在无茵条件下,用灭过茵的直径为 2 cm 的不锈钢打孔器在培养好的茵落外缘切下带茵培养基柱——茵饼。接种针将茵饼反面(有茵丝的一面)向下和培养基贴合)移植到带药培养基上,一个培养皿接 2 个茵饼,每种浓度重复 3 次。置于 25℃ 温箱内,5 d 后检查。

1.2.5 数据处理方法 对获得数据进行处理,用 SAS9.0 进行数据分析^[5]。

根据茵落直径求抑制生长的百分率,其计算公式^[6]为:

$$\begin{aligned} \text{茵落直径/cm} &= 2 \text{ 次直径平均数} \\ \text{生长直径} &= \text{茵落的平均直径} - \text{茵饼直径} \\ \text{抑制生长百分率/\%} &= \\ & \frac{\text{对照生长直径} - \text{处理生长直径}}{\text{对照生长直径}} \times 100 \end{aligned}$$

2 结果与分析

2.1 镜检鉴定结果

对分离纯化的菌株镜检,初步鉴定青霉菌。主要的形态特征是茵丝为有隔茵丝,茵丝被分隔成多个细胞,有非常明确的分生孢子梗,分生孢子成串。

由表 1 可以看出,3 种植物源杀菌剂对青霉

表 1 植物源杀菌剂对青霉菌生长的影响

Table 1 Effect of herbal fungicide on the growth of penicillium

杀菌剂种类 Microbicides kinds	浓度/% Concentration	茵落直径/cm Colonies diameter	差异显著性 Significant differences		相对抑菌率/% Relative antibacterial rate
			0.05	0.01	
苦参 <i>Sophora flavescens</i>	2.0	1.13	b	B	43.5
	1.6	1.18	b	B	41.0
	0.8	1.08	b	B	46.0
	0.4	1.12	b	B	44.0
	0.2	0.34	c	C	83.0
	0.1	1.09	b	B	45.5
对照 CK	0	2.00	a	A	0
中草药 Chinese medicinal herb	2.0	1.11	c	C	44.5
	1.6	1.09	c	C	45.5
	0.8	1.09	c	C	45.5
	0.4	1.23	b	B	38.5
	0.2	1.14	c	C	43.0
	0.1	1.10	c	C	45.0
对照 CK	0	2.00	a	A	0
黑农一号 Heinong No. 1	2.0	0	h	H	100.0
	1.6	0.21	g	G	89.5
	1.2	0.43	f	F	78.5
	0.8	0.75	e	E	62.5
	0.4	0.84	d	D	58.1
	0.2	1.01	c	C	49.4
0.1	1.12	b	B	44.0	
对照 CK	0	2.00	a	A	0

注:表中数据均为培养 5 d 后 3 次重复的平均值。

Note: The data were average of three times after cultured 5 days.

菌的菌丝生长都有一定的抑制作用。苦参各处理浓度与对照均呈极显著差异,在浓度 0.2% 时,菌落直径极显著低于对照和其它处理。中草药处理浓度与对照均呈极显著差异。黑农一号各处理的菌落直径与对照均呈极显著差异,且黑农一号各处理菌落直径随着浓度的增加菌落直径逐渐减小,黑农一号在浓度为 2.0% 时,菌落直径最小。

由表 1 还可看出,对照为不加抑菌剂的培养基,青霉菌的存活率 100.0%。苦参和中草药对青霉菌都有一定的抑制作用,但效果不明显,其中苦参在 0.2% 浓度时的抑菌率较高,为 83.0%。黑农一号浓度为 2.0% 时,对青霉菌菌丝的抑制率为 100.0%,且随着植物源杀菌剂黑农一号浓度的升高,抑菌作用加强。

3 结论与讨论

试验结果表明,黑农一号植物源杀菌剂的抑菌效果最好,在浓度为 2.0% 时,抑菌率达 100.0%,它是根据中药配伍理论,从多种中草药中提取的具有杀菌、抗菌的大分子活性物质成分,具有广谱性的抑菌作用。苦参的抑菌效果次之,

抑菌率高达 83.0%。目前,还没有植物源杀菌剂抑制青霉菌的相关报道。在该试验中,植物源杀菌剂对组织培养中出现的真菌(青霉菌)具有不同的抑制作用。但随着化学农药带来的环境污染问题、有害生物抗药性问题的产生,植物源农药的开发日益引起重视,在生产中应用植物源杀菌剂不仅避免了化学农药带来的一系列问题,而且安全、有效和持久,已经发展成为植病防治中十分重要且日益得到重视的有效措施之一。

参考文献:

- [1] 李英慧,王关林,李艳. 杀菌剂抑制苹果和草莓试管苗青霉菌效果试验[J]. 中国果树,2002(1):26-28.
- [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,2006,24(3):40-43.
- [3] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,1998.
- [4] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979.
- [5] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [6] 薛婷,陈丽,李喜宏,等. 7 种杀真菌剂对蒜薹灰霉菌抑制效果研究[J]. 河南农业科学,2006(3):92-96.

Impact of Herbal Fungicide on Inhibiting Penicillium in Medium of Potato Tissue Culture

XV Fei-fei¹, MA Ji¹, HU Lin-shuang¹, WANG Shao-peng¹, LIU Shang-wu¹, LI Yong¹, LIU Wei-ting², LV Dian-qiu¹

(1. Virus-free Seedlings Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to inhibit fungal contamination of virus-free potato in vitro plants in rapid propagation and reduce the loss, plating medium inhibition was applied to study the impact on inhibiting penicillium with three kinds of herbal fungicides, including *Sophora flavescens*, Chinese medicinal herb and Heinong No. 1 during tissue culture to inhibit the contamination in test tubes and realize rapid propagation. The results showed that penicillium was inhibited best in medium added with Heinong No. 1. The inhibition rate reach 100.0%.

Key words: potato; penicillium; contamination; herbal fungicide