

# 不同抗生素对生姜组织培养中姜芽脱菌效果的研究

薛寒青<sup>1,2</sup>, 周淑兰<sup>1,2</sup>

(1. 青海省农林科学院 生物研究所, 青海 西宁 810016 2 青藏高原生物技术教育部重点实验室 青海 西宁 810016)

**摘 要:**以 PDA 和 Plate Count Agar 作为基本培养基, 外加不同浓度配比 抗菌素进行脱菌。结果表明:以 PDA125 mL 作为基本培养基外加 1 g/L 黄连素 10 mL、1 g/L 卡那霉素 10 mL 和外加 1 g/L 黄连素 10 mL、1 g/L 多菌灵 10 mL, 姜块脱菌试验染菌率为 0 脱菌效果良好。以 PDA125 mL 作为基本培养基外加 1 g/L 青霉素 10 mL、1 g/L 卡那霉素 10 mL, 姜芽脱菌试验染菌率为 0 脱菌效果良好, 另外整个试验过程姜芽的脱菌效果均优于姜块的脱菌效果。

**关键词:**生姜; 脱菌; 抗生素

**中图分类号:** S 632.503.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)06-0045-03

生姜以地下根状茎无性繁殖为主, 其繁殖系数较低, 并且易通过带病种姜传播病害, 尤其是姜青枯腐烂病, 又称姜瘟, 在世界各生姜产区均有发生, 发病地块一般减产 10%~20%, 重者达 50%以上<sup>[1]</sup>, 其致病菌为青枯假单胞杆菌。随着组织培养脱菌快繁技术应用于生姜的生产, 通过生姜茎尖培养脱菌和离体快繁技术研究, 不仅有效地克服生姜的上述缺点, 而且达到提高产量的目的。有关生姜的快繁应用技术研究报道较少<sup>[3]</sup>。从现有的资料来看, 尽管生姜组织培养中的脱菌培养近些年来取得了一些进展, 但仍不能广泛的应用, 其原因主要有诱导频率和分化成苗率低, 可重复性差, 很难利用; 组织培养中的脱菌试验效果有待进一步的研究; 脱菌试验中的染菌的问题; 生姜组织培养脱菌的试验可能导致植株变异; 各类脱菌素对生姜组织培养的作用, 还不十分清楚, 目前还有一定的盲目性。

通过该试验为生姜组织培养无毒苗奠定良好的基础, 保证了生姜的正常供应和销售, 还可以有效的控制生姜价格的稳定和品质, 提高种植农户的经济收入, 为扩大生姜栽培规模以及提高生姜产量提供了可能。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

山东莱芜片姜(简称片姜)、黄苗生姜(简称黄苗)来源于山东省农业科学院。

### 1.2 试剂

0.1%升汞(HgCl<sub>2</sub>)、1%次氯酸钠(NaClO)。抗生素: 1 g/L 青霉素、1 g/L 卡那霉素、1 g/L 黄连素。75%乙醇(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)1g/L 多菌灵。PCA 真菌培养基、PDA

真菌培养基。

### 1.3 姜催芽

将供试品种的姜块在自来水下冲洗干净后, 置于 25℃的恒温箱内, 保持相对湿度在 70%~80%的条件下进行催芽, 待姜芽达到 1.0~2.0 cm 长时取用。

### 1.4 姜芽的灭菌

剪取 4 g 等量的姜芽, 洗干净后, 在自来水下冲洗 30 min, 后切成大小 0.5 cm 的方块分别放入 100 mL 的锥形瓶, 加入 2 滴 Tween-20 和 50 mL 次氯酸钠(1%), 放置在摇床上以 120 r/min 速度处理 20 min 后, 用无菌水冲洗 2 遍, 加入 40 mL 升汞(0.1%)浸泡 10 min, 然后再用适量的无菌水冲洗 3 遍后待用。

### 1.5 姜芽的接种

在超净工作台将已灭菌的姜芽放在灭过菌的研钵中充分研磨成匀浆, 加入 50 mL 无菌水进行稀释, 用无菌移液枪吸取姜芽的上清液 0.5 mL, 分别转接到培养皿中, 每个样处理 4 个重复, 用封口膜封口培养 10~15 d 观察菌落的生长状况(菌落的颜色、形状及大小), 调查姜芽外植体的培养的染菌率。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCA 培养基+不同配比脱菌素对生姜组织脱菌效果的影响

在 PCA 培养基加入不同配比的脱菌素(表 1), 接种培养观察。先加入不同量 1 g/L 青霉素, 培养 15 d, 结果显示姜芽全部染菌。如加入不同量 1 g/L 青霉素和 1 g/L 卡那霉素混合液, 进行姜芽脱菌试验培养 15 d, 结果显示, 随着培养基中混合液由 2.5 mL 提高到 10 mL, 染菌率由 25%降低至 0%。同样用 1 g/L 黄连素和 1 g/L 多菌灵混合液, 试验结果显示, 采用单一 1 g/L 青霉素或 1 g/L 卡那霉素, 其脱毒培养全部被污染, 而采用 2 种脱菌素的混合液, 脱菌试验只有部分被污染或未污染。

第一作者简介: 薛寒青(1965-), 女, 硕士, 研究员, 现主要从事蔬菜和花卉的组织培养和脱毒研究工作。E-mail: hanqx77@sina.com。  
收稿日期: 2009-01-16

可见在生姜组织培养中进行脱毒试验时,应综合考虑,选用合理的脱菌素浓度配比以达到最佳的脱毒效果。

PCA 培养基外加单一脱菌素和混合脱菌素,进行生姜外植体 15 d 的脱菌试验,结果如图 2 空白对照处理和单一脱菌素处理,其染菌率在 75%~100%之间,而加入

混合脱菌素的处理,染菌率在 0%~25%。由此可见,在生姜组织培养过程中,采用混合脱菌素脱菌效果要优于单一脱菌素脱菌效果。如在不影响生姜组织培养的正常分化和生长的情况下,可以在基础培养基中加入适宜浓度的混合脱菌素,以达到预期的脱菌效果。

表 1 不同量的脱菌组合对生姜组织脱菌试验的影响

Table 1 The commensurability does not escape the fungus combination to escape the fungus experiment to the ginger organization the influence			
序号	PCA 培养基+不同配比脱菌素	姜芽染菌数	姜芽染菌率
Serial number	different allocated Proportion escapes the rhizomorph	Ginger bud contamination number	Ginger bud contamination/ %
1	PCA 125 mL	4	100
2	PCA 125 mL+1 g/L 青霉素 1.25 mL	4	100
3	PCA 125 mL+1 g/L 青霉素 2.5 mL	4	100
4	PCA 125 mL+1 g/L 青霉素 5 mL	4	100
5	PCA 125 mL+1 g/L 卡那霉素 10 mL	4	100
6	PCA 125 mL+1 g/L 卡那霉素 15 mL	4	100
7	PCA 125 mL+1 g/L 卡那霉素 20 mL	4	100
8	PCA 125 mL+1 g/L 黄连素 2.5 mL+1 g/L 卡那霉素 2.5 mL	3	75
9	PCA 125 mL+1 g/L 黄连素 3.75 mL+1 g/L 卡那霉素 3.75 mL	3	75
10	PCA 125 mL+1 g/L 黄连素 10 mL+1 g/L 卡那霉素 10 mL	3	75
11	PCA 125 mL+1 g/L 青霉素 2.5 mL+1 g/L 卡那霉素 2.5 mL	1	25
12	PCA 125 mL+1 g/L 青霉素 3.75 mL+1 g/L 卡那霉素 3.75 mL	0	0
13	PCA 125 mL+1 g/L 青霉素 10 mL+1 g/L 卡那霉素 10 mL	0	0
14	PCA 125 mL+1 g/L 黄连素 2.5 mL+1 g/L 多菌灵 2.5 mL	2	50
15	PCA 125 mL+1 g/L 黄连素 3.75 mL+1 g/L 多菌灵 3.75 mL	2	50
16	PCA 125 mL+1 g/L 黄连素 10 mL+1 g/L 多菌灵 10 mL	2	50

注:姜芽均接种时,每个处理水平 4 个重复。

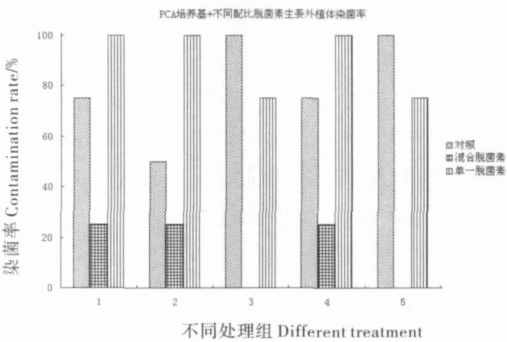


图 1 PCA 培养基+不同配比脱菌素生姜外植体染菌率  
Fig. 1 PCA culture medium + the different allocated proportion escapes outside the rhizomorph ginger to plant the body contamination rate

2.2 PDA 培养基+不同配比的脱菌素对生姜组织脱菌试验的影响

在 PDA 培养基加入不同配比的脱菌素(表 2),接种生姜外植体培养观察。加入 1 g/L 青霉素和 1 g/L 卡那霉素混合液,培养 15 d,结果显示,随着培养基中混合液由 2.5 mL 提高到 10 mL,姜块脱菌试验,染菌率由 75%降低至 25%。姜芽脱菌试验没有污染现象。用 1 g/L 黄连素和 1 g/L 多菌灵混合液,进行姜芽的脱菌试验,培养 15 d,其结果显示,随着培养基中混合液加入量由 2.5 mL 提高到 10 mL,染菌率由 25%降低至 0%。进行姜块脱菌试验没有发生污染现象。用 1 g/L 黄连素和

1 g/L 卡那霉素混合液,加入培养基培养 15 d,随着脱菌素的量由 2.5 mL 提高到 10 mL,姜块脱菌试验未发生污染现象,姜芽脱菌试验,染菌率由 25%降至 0%。同样如果采用单一青霉素或卡那霉素,其脱毒培养部分污染,不能有效抑制细菌繁殖,污染数目并不随着抗菌素浓度的增高而降低,因而在生姜组织培养脱毒试验时,应综合考虑,选用合理的脱菌素浓度配比,以 PDA 作为基础培养基进行培养,总体观察结果,其染菌率要明显低于以 PCA 为基础培养基的染菌率。

2.3 PDA 培养基+单一脱菌素和混合脱菌素脱菌效果比较

PDA 培养基外加单一脱菌素和混合脱菌素,进行生姜外植体 15 d 的脱菌试验(见图 2),空白对照处理和单一脱菌素处理,其染菌率在 50%~100%之间,而加入混合脱菌素的处理,染菌率在 0%~25%。同样与 PCA 作为基本培养基,进行生姜外植体脱菌培养效果相同,采用混合脱菌素脱菌效果要优于单一脱菌素脱菌效果。

3 讨论与结论

试验采用多种抗菌素(1:1)的混合液或着单一溶液,添加到培养基进行脱菌试验取得了较好的结果。试验结果显示:用表面消毒与脱菌素相结合的方式有效地降低了的染菌率。在生姜组织培养的过程中,用 1 g/L 次氯酸钠处理 20 min,最后再用 0.1 g/L 升汞处理 10 min<sup>[14]</sup>。灭菌剂对材料只能进行表面灭菌,采用先剥离后消毒,消毒比较彻底,又可明显降低生姜外植体消毒后,培养过程中微生物的再污染。经过培养后,结果

以 PDA 125 mL 作为基本培养基外加 1 g/L 黄连素、10 mL 的 1 g/L 卡那霉素 10 mL 和外加 1 g/L 黄连素 10 mL、1 g/L 多菌灵 10 mL 的培养基, 姜块脱菌试验染菌率为零, 脱菌效果良好。

表 2 不同量的脱菌组合对生姜组织脱菌试验的影响

Table 2 Commensurabilities do not escape the fungus combination to escape the fungus experiment to the ginger organization the influence

序号	PCA 培养基+不同配比脱菌素 PCA culture medium + the	姜芽染菌数	姜芽染菌率
Serial number	different allocated Proportion escapes the rhizomorph	Ginger bud contamination number	Ginger bud contamination/ %
1	PDA 125 mL	3	75
2	PDA 125 mL+1 g/L 青霉素 2.5 mL	0	0
3	PDA 125 mL+1 g/L 青霉素 5 mL	1	25
4	PDA 125 mL+1 g/L 青霉素 10 mL	2	50
5	PDA 125 mL+1 g/L 卡那霉素 10 mL	1	25
6	PDA 125 mL+1 g/L 卡那霉素 20 mL	0	0
7	PDA 125 mL+1 g/L 卡那霉素 40 mL	2	50
8	PDA 125 mL+1 g/L 黄连素 2.5 mL+1 g/L 卡那霉素 2.5 mL	1	25
9	PDA 125 mL+1 g/L 黄连素 3.75 mL+1 g/L 卡那霉素 3.75 mL	0	0
10	PDA 125 mL+1 g/L 黄连素 10 mL+1 g/L 卡那霉素 10 mL	0	0
11	PDA 125 mL+1 g/L 青霉素 2.5 mL+1 g/L 卡那霉素 2.5 mL	0	0
12	PDA 125 mL+1 g/L 青霉素 3.75 mL+1 g/L 卡那霉素 3.75 mL	0	0
13	PDA 125 mL+1 g/L 青霉素 10 mL+1 g/L 卡那霉素 10 mL	0	0
14	PDA 125 mL+1 g/L 黄连素 2.5 mL+1 g/L 多菌灵 2.5 mL	1	25
15	PDA 125 mL+1 g/L 黄连素 3.75 mL+1 g/L 多菌灵 3.75 mL	0	0
16	PDA 125 mL+1 g/L 黄连素 10 mL+1 g/L 多菌灵 10 mL	0	0

注 姜芽和姜块均接种时 每个处理水平 4 个重复

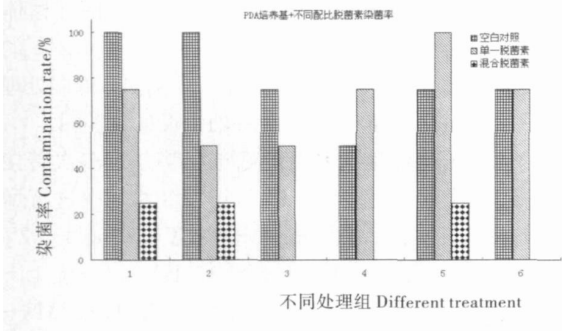


图 2 PDA 培养基+不同配比脱菌素生姜外植体染菌率

Fig.2 PCA culture medium + the different allocated proportion escapes outside the rhizomorph ginger to plant the body contamination rate

以 PDA 125 mL 作为基本培养基外加 1 g/L 青霉素 10 mL、1 g/L 卡那霉素 10 mL 的培养基, 姜芽脱菌试验染菌率为零脱菌效果良好。以PDA为基础培养基的脱

菌效果要优于 PCA 培养基的脱菌效果。染菌率随着脱菌素量的提高而降低与前人的研究结果一致。该试验为进行生姜组织培养无毒苗生产就外植体脱菌方面进行了一些基础研究。要进行生姜组织培养无毒苗生产在这些方面还需要做大量的试验工作。组织培养方法培养的生姜无毒苗具有脱毒率高和繁殖率高、适应性强、抗姜瘟病、高产、品质好和商品率高的优点<sup>[2]</sup>。但是在生产上要大面积应用生姜脱毒组培苗还存在一定的问题, 因为组培苗的生产成本过高, 在生产上直接利用成本也高, 必须将其种植成原种姜再在生产上利用才能降低成本, 这方面需作进一步的研究与探索。

参考文献

[ 1 ] 赵德婉, 徐坤, 艾然珍. 生姜高产栽培[ M ]. 北京: 金盾出版社, 2000: 12-25.  
[ 2 ] 杭玲, 黄卓忠, 江文, 等. 生姜组织培养快繁技术研究与应用[ J ]. 江苏农业科学, 2006(5): 125-127.

Different Antibiotics on Taking off Germs in Ginger’s Tissue Fostering Experiment

XUE Han-qing<sup>1,2</sup>, ZHOU Shu-lan<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Biology Qinghai Academy of Agriculture and Forestry, Xining Qinghai 810016 China; 2. Key Laboratory of Biotechnology in Qinghai-Tibet Plateau, Ministry of Education, Xining Qinghai 810016 China)

**Abstract:** The experiments were to taking off germs with the fundamental culture medium of PDA and Plate Count Agar, in addition with antibiotics of different concentrations. The first experiment results in that the rate of germ pollution of the ginger and 125 mL PDA culture medium was 0, in which there was an admixture with 10 mL berberine and 10 mL Kanamycin of the same concentrate of 1 g/L and another admixture with Carbendazim and berberine of the same concentrate and volume, while the other experiment had the same result based on the same culture medium in which there was an admixture with 10 mL Penicillin and 10 mL Kanamycin of the same concentrate of 1 g/L, otherwise the bud had a better effect on taking off germs than the ginger itself in the whole experiment Q1.

**Key words:** Ginger; Taking off germs; Different antibiotics