

四种蔬菜食用器官提取物对植物组培污染细菌的抑制作用

李 白¹ 高广春² 方 琪² 李 军^{1*}

(1. 浙江省嘉兴市农业科学研究院(所) 浙江 嘉兴 314016; 2. 嘉兴学院 医学院 浙江 嘉兴 314001)

摘 要: 以生姜、洋葱、大蒜和苦瓜果的食用器官为提取材料, 分别用热水浸提、水超声提取、乙醇超声提取和挥发油提取的方法获得植物粗提物, 探讨这些提取物对组培生产中污染细菌的抑制作用。抑菌试验结果表明, 4种植物粗提物对分离的组培污染细菌均有一定的抑制效果, 单种植物提取物不能抑制试验中所有细菌, 不同提取方法获得的粗提物抑菌效果也有差别。热水浸提、水超声提取和乙醇超声提取方法中, 乙醇超声提取物抑菌效果较好。大蒜和生姜挥发油对假单胞菌属(B2)及肠杆菌属(B11)菌株有显著抑菌效果, 而其他提取方法无显著效果。最小抑菌浓度(MIC)结果表明, 大蒜乙醇超声提取物 MIC 值较其他提取物低, 生姜和大蒜挥发油效果较好, 其对应的鲜质量也较高。这一结果可为植物组培污染菌的防治提供参考。

关键词: 植物提取物; 组织培养; 细菌; 最小抑菌浓度

中图分类号: S188

文献标志码: A

文章编号: 1004-1524(2017)11-1854-08

Inhibition of four vegetable edible organ extracts on bacterial contamination in plant tissue culture

LI Bai¹, GAO Guangchun², FANG Qi², LI Jun^{1*}

(1. *Jiaxing Academy of Agricultural Sciences, Jiaxing 314016, China*; 2. *School of Medicine Science, Jiaxing University, Jiaxing 314001, China*)

Abstract: Plant extracts were obtained from four vegetable edible organs including ginger rhizome, onion bulb, garlic bulb and bitter melon fruit. The extraction methods were hot water extraction, ultrasonic wave extraction with water, ultrasonic wave extraction with ethanol, volatile oil extraction. Inhibition of these extracts on bacterial contamination in the production of tissue culture were discussed. The results showed that the crude extracts from the four plants had inhibition on the bacteria while single plant extracts could not inhibit all the bacteria. Crude extracts obtained by different extraction methods had different antimicrobial effects. Ultrasonic wave extraction with ethanol had the best anti-bacterial effect among the three solvent extraction methods. The essential oil from garlic and ginger could significantly inhibit *Pseudomonas* (B2) and *Enterobacter* (B11), and other extracts had no significant inhibition. Minimum inhibitory concentration results showed that the MIC value of crude extract from garlic using ultrasonic wave extraction with ethanol was lower than those of other extracts, ginger and garlic essential oil had low MIC value and higher fresh weight. This research could provide references for the prevention and control of bacterial contamination in plant tissue culture.

收稿日期: 2017-05-19

基金项目: 嘉兴市科技计划项目(2016BY26005)

作者简介: 李白(1986—)男, 浙江温州人, 硕士, 农艺师, 主要从事植物生物技术研究。E-mail: libaia@yeah.net

* 通信作者 李军, E-mail: lijunj1@163.com

Key words: plant extracts; plant tissue culture; bacteria; minimum inhibitory concentration

植物组织培养的污染问题是影响组培生产的最大障碍之一,它直接影响生产成本和珍贵外植体材料的保全。植物组培污染微生物主要为细菌和真菌,其中细菌占50%以上,主要为芽孢杆菌属和假单胞杆菌属^[1]。为控制细菌污染,除在组织培养操作过程中控制人为及环境因素外,在培养基中添加抗生素等抑菌剂也是常用的手段。然而,抗生素的药物残留及环境污染问题,尤其是在食用材料组织培养中的添加,一直是极具争议的问题。

植物源抑菌剂易降解,靶生物不易产生抗性,对人畜等非靶标生物毒性低,符合现代农业发展要求,在替代抗生素及减少抗生素应用方面具有很大应用价值,近年来成为国内外研究的热点^[2-6]。目前,植物源抑菌剂在植物上的应用主要侧重于对植物病原真菌的防治,对植物组培污染防治方面的研究较少。崔刚等^[7]在国内较早采用植物提取液作为抑菌剂,开展开放组培的研究,建立了葡萄茎段的开放组培体系,获得的组培苗根系较传统方式发达。张薪薪^[8]比较了5种中草药提取物对植物组培污染菌的抑制作用,发现苦参提取物对细菌的抑制作用最强。陈瑞丹等^[9]以植物源混合粗提液作为抑菌剂,初步建立了梅花茎段的开放式启动培养体系。在组培过程中,植物源抑菌剂毒副作用小,抗菌的同时可以确保安全,在控制植物组培污染方面具有较大应用价值^[10]。

为研究植物源抑菌剂对植物组培污染细菌的抑制作用,本研究以生姜、洋葱、大蒜及苦瓜4种蔬菜的食用器官为材料,采用不同的提取方法获得植物提取物,研究不同植物及不同提取方法获得的提取物对组培生产中污染细菌的抑制效果,筛选有效的植物源抑菌剂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植物组培污染细菌采集自嘉兴中瑞生物科技有限公司植物组培间,由本实验室分离鉴定后,-80℃保存,供试细菌菌株见表1。大蒜、苦

表1 植物组培污染细菌

Table 1 Pollution bacteria in plant tissue culture

编号 No.	细菌菌属 Bacteria genera	菌株颜色 Color of strains
B1	类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i>	黄绿色 Yellow-green
B2	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	黄绿色 Yellow-green
B3	不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	黄绿色 Yellow-green
B4	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	黄色 Yellow
B5	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	橙色 Orange
B6	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	黄绿色 Yellow-green
B7	寡养单胞菌属 <i>Stenotrophomonas</i>	黄绿色 Yellow-green
B8	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	黄色 Yellow
B9	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	黄色 Yellow
B10	埃希氏菌属 <i>Escherichia</i>	黄绿色 Yellow
B11	肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>	黄绿色 Yellow-Green
B12	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	黄色 Yellow

瓜、生姜、洋葱于超市采购。

1.2 试验方法

1.2.1 提取物制备

水超声提取:取新鲜大蒜鳞茎、苦瓜果实、生姜根茎、洋葱鳞茎,分别切碎后加适量纯水,用闪式提取器处理(80 V 2 min);40 KHz 100 W 超声处理 30 min,处理液 3 000 g 离心 10 min,沉淀加 100 mL 纯水重复超声处理 30 min,合并上清液;80℃浓缩至稠浸膏,称量 4℃保存。

乙醇超声提取:提取方法同水超声处理,提取溶剂为 80% 乙醇。

热水浸提:取新鲜大蒜鳞茎、苦瓜果实、生姜根茎、洋葱鳞茎,分别切碎后加适量纯水,用闪式提取器处理(80 V 2 min);沸水浴回流提取 2 h,处理液 3 000 g 离心 10 min,取上清液;80℃浓缩至稠浸膏,称量 4℃保存。

挥发油提取:取新鲜大蒜鳞茎、苦瓜果实、生姜根茎、洋葱鳞茎,分别切碎后加适量纯水,用闪式提取器处理(80 V 2 min);转入 500 mL 圆底烧瓶中,利用挥发油提取装置,提取收集挥发油,计量 4℃保存。

水超声提取、乙醇超声提取及热水浸提物用纯水溶解配置成 10% (m/V) 抑菌剂,挥发油用 0.5% tween-20 配置成 1% (V/V) 抑菌剂。抑菌剂均用 0.22 μm 滤膜过滤除菌。提取物种类见表 2。

表 2 提取物种类编号

Table 2 No. of plant extracts

编号 No.	植物材料 Plant material	提取方法 Extraction method	编号 No.	植物材料 Plant material	提取方法 Extraction method
Ga1	大蒜 Garlic	水超声提取 Ultrasonic wave extraction with water	G11	生姜 Ginger	水超声提取 Ultrasonic wave extraction with water
Ga2	大蒜 Garlic	热水浸提 Hot water extraction	G12	生姜 Ginger	热水浸提 Hot water extraction
Ga3	大蒜 Garlic	乙醇超声提取 Ultrasonic wave extraction with ethanol	G13	生姜 Ginger	乙醇超声提取 Ultrasonic wave extraction with ethanol
Ga4	大蒜 Garlic	挥发油提取 Volatile oil extraction	G14	生姜 Ginger	挥发油提取 Volatile oil extraction
On1	洋葱 Onion	水超声提取 Ultrasonic wave extraction with water	Go1	苦瓜 Bitter gourd	水超声提取 Ultrasonic wave extraction with water
On2	洋葱 Onion	热水浸提 Hot water extraction	Go2	苦瓜 Bitter gourd	热水浸提 Hot water extraction
On3	洋葱 Onion	乙醇超声提取 Ultrasonic wave extraction with ethanol	Go3	苦瓜 Bitter gourd	乙醇超声提取 Ultrasonic wave extraction with ethanol
On4	洋葱 Onion	挥发油提取 Volatile oil extraction	Go4	苦瓜 Bitter gourd	挥发油提取 Volatile oil extraction

1.2.2 抑菌活性测定

牛津杯法测定抑菌活性: 牛津杯规格 $\Phi 7.8$ mm \times 6.0 mm \times 10.0 mm(外径 \times 内径 \times 高), 121 $^{\circ}$ C 高压灭菌, 烘干冷却备用。将组培污染细菌(表 1) 分别涂布在固体 LB 培养基表面, 每个平皿含有 200 μ L 10^6 cfu \cdot mL $^{-1}$ 测试细菌。将牛津杯放入各个培养基表面, 取抑菌剂溶液(表 2) 200 μ L 加入牛津杯 30 $^{\circ}$ C 培养 48 h。每组 3 个重复, 测定抑菌圈直径大小, 取平均值。

液体倍比稀释法测定最低抑菌浓度 (minimum inhibition concentration, MIC): 将抑菌剂用 LB 液体培养基分别稀释成 2 \times 、4 \times 、8 \times 、16 \times 、32 \times 、64 \times 浓度, 终体积为 2 mL, 用 2 mL LB 液体培养基作阳性对照, 2 mL 2 \times 稀释浓度抑菌剂作

阴性对照。取对数生长期污染细菌悬液 40 μ L 加入倍比稀释培养基及阳性对照培养基, 30 $^{\circ}$ C、120 r \cdot min $^{-1}$ 培养 24 h。每组设 3 个重复, 以完全没有菌生长的最低提取物浓度为最低抑菌浓度 (MIC)。

2 结果与分析

2.1 植物提取物制备

提取物制备结果(表 3) 表明, 生姜、洋葱、大蒜和苦瓜 4 种植物中, 大蒜粗提浸出物最多, 洋葱提取物次之, 生姜提取物最少, 大蒜提取物质量达到生姜提取物的 10 倍。乙醇超声提取方法最好, 提取效果好于水超声提取, 浸出物质量最大,

表 3 植物粗提物的提取效果

Table 3 Extraction effect of crude extracts from plants

植物 Plants	水超声提取 Ultrasonic wave ex- traction with water		乙醇超声提取 Ultrasonic wave extraction with ethanol		热水浸提 Hot water extraction		挥发油提取 Volatile oil extraction	
	提取物 质量	1 mL 10% 抑菌剂 含鲜质量	提取物 质量	1 mL 10% 抑菌剂 含鲜质量	提取物 质量	1 mL 10% 抑菌剂 含鲜质量	挥发物 体积	1 mL 1% 抑菌剂 含鲜质量
	Extract	Fresh weight in 1 mL weight/g	Extract	Fresh weight in 1 mL weight/g	Extract	Fresh weight in 1 mL weight/g	Volatile volume	Fresh weight in 1 mL 1% bacteriostatic agent/g
大蒜 Garlic	37.42	0.53	55.20	0.36	43.37	0.46	1.25	8.00
生姜 Ginger	3.71	5.39	5.48	3.65	3.86	5.18	0.85	11.76
洋葱 Onion	12.27	1.63	17.71	1.13	15.38	1.30	38.00	2.63
苦瓜 Bitter gourd	5.83	3.43	5.29	3.78	5.14	3.89	21.00	4.76

注: 热水浸提、水超声提取、乙醇超声提取各样品鲜质量均为 200 g, 挥发油提取各样品鲜质量均为 1 000 g

Note: Fresh weight of all the samples extracted by hot water extraction, ultrasonic wave extraction with water or ethanol were 200 g, and fresh weight of all the samples extracted by volatile oil were 1 000 g

200 g 大蒜样品通过乙醇超声提取可获得 55.20 g 提取物。挥发油提取中,大蒜和生姜均获得少量植物精油,本试验未从洋葱和苦瓜中获得植物精油,其挥发物溶解于水相中。

2.2 提取物抑菌活性

提取物抑菌活性测定时,水超声提取、乙醇超声提取及热水浸提物配制成 10% (m/V) 浓度,挥发油配制成 1% (V/V) 浓度;由于大蒜提取物最多,具有抑菌活性的抑菌剂含鲜质量也最低(表 3)。4 种植物粗提物抑菌活性测定结果(表 4)表明,大蒜乙醇超声提取物、生姜乙醇超声提取物、洋葱乙醇超声、洋葱热水浸提物、苦瓜水超声提取物、苦瓜乙醇超声提取物对 4 株芽孢杆菌属菌株具有较强抑制效果;生姜热水浸提物、洋葱乙醇超声提取物对 2 株假单胞菌属菌株具有较强抑制效果;洋葱提取物、苦瓜超声提取物、生姜挥发油、大蒜挥发油对 2 株肠杆菌属菌株具有较强抑菌效果。B1、B2、B3、B7 菌株对 4 种植物提取物敏感性均较低。4 种植物中,洋葱提取物能有效抑制 5 种细菌生长,包括 3 种芽孢杆菌属菌株、1 种假单胞菌、1 种肠杆菌。生姜挥发油、大蒜挥发油对假单胞菌属(B2)及肠杆菌属(B11)细菌有显著抑菌效果,而其他粗提物的抑菌效果不显著。图 1 为部分植物提取物的抑菌

效果。

2.3 最低抑菌浓度测定

根据提取物抑菌活性结果,选取 4 种植物乙醇超声提取物及生姜挥发油、大蒜挥发油,测定抑制效果较好的细菌菌株的 MIC。结果(表 5)表明,大蒜和生姜挥发油的 MIC 值最低,在稀释倍数分别为 1 600 倍[浸出物 0.0625% (V/V),鲜质量含量 0.5 g·mL⁻¹]和 800 倍[浸出物 0.125% (V/V),鲜质量含量 1.47 g·mL⁻¹]时,对肠杆菌属 B5 仍具有抑菌效果,较低稀释倍数下对其他试验菌株也有一定抑制效果。若以鲜质量为参考标准,则大蒜粗提物 MIC 值较低,稀释倍数为 40 倍(浸出物 0.025 g·mL⁻¹,鲜质量含量 0.12 g·mL⁻¹)和 20 倍(浸出物 0.05 g·mL⁻¹,鲜质量含量 0.23 g·mL⁻¹)时,分别对 B8、B6 和 B9 具有抑制作用。与挥发油 MIC 值相比,生姜、大蒜、洋葱乙醇超声提取物的 MIC 值较高,原因可能是挥发油提取物样品的浓缩倍数高,且挥发油中含有的化合物抑菌作用较强。比较 MIC 与抑菌活性试验结果可知,除洋葱外,其他抑菌剂 MIC 与抑菌活性试验结果较一致,而洋葱乙醇超声提取物在抑菌活性试验中具有较强的抑菌效果,但在 MIC 试验中,抑菌效果达不到预期,这可能与培养基的物理形态改变有关,尚需进一步研究。图 2 为

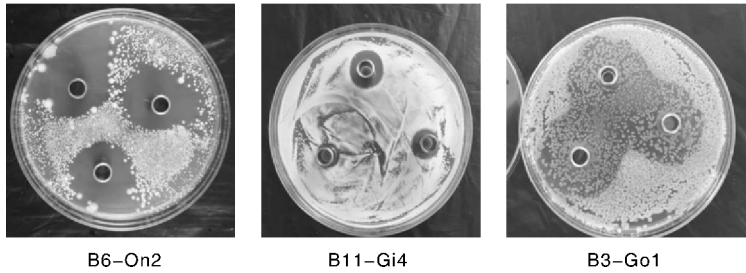
表 4 植物提取物的抑菌活性

Table 4 Antibacterial activity of plant extracts

菌株 Bacterial strains	提取物抑菌活性 Antibacterial activity of plant extracts																
	Ga1	Ga2	Ga3	Ga4	Gi1	Gi2	Gi3	Gi4	On1	On2	On3	On4	Go1	Go2	Go3	Go4	
B1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
B2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
B4	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B5	-	-	+++	+++	-	-	-	++	+	++	+	-	-	-	-	-	-
B6	-	+	++	-	-	-	++	-	-	++++	+++	-	++	-	-	-	-
B7	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B8	-	-	++	-	-	-	+	+	+	+	+	++	-	-	++	-	-
B9	+	-	-	++	-	-	-	+	-	-	++	-	+	-	++	-	-
B10	-	-	+	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	++	-	+	+	+
B11	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	+	-	-	-

“-” 抑菌圈直径 < 9 mm, 不敏感 “+” 抑菌圈直径 9 ~ 10 mm, 轻度敏感 “++” 抑菌圈直径 10 ~ 15 mm, 中度敏感 “+++” 抑菌圈直径 15 ~ 20 mm, 高度敏感 “++++” 抑菌圈直径 > 20 mm, 极敏感。

“-”, Diameter of inhibition zone is less than 9 mm, insensitivity “+”, Diameter of inhibition zone is 9 - 10 mm, slight sensitive “++”, Diameter of inhibition zone is 10 - 15 mm, moderately sensitive “+++”, Diameter of inhibition zone is 15 - 20 mm, highly sensitive “++++”, Diameter of inhibition zone is more than 20 mm, extremely sensitive.



B6、B11 及 B3 为分离到的植物组培污染细菌,详见表 1; On2、Gi4 及 Go1 为植物提取物,详见表 2

B6, B11 and B3 were bacteria isolated from plant tissue culture, as shown in Table 1; On2, Gi4 and Go1 were plant extracts, as shown in Table 2

图 1 部分植物提取物的抑菌效果

Fig. 1 Bacteriostatic effect of partial plant extracts

表 5 提取物对部分菌株的最低抑菌浓度

Table 5 Minimum inhibitory concentration of plant extracts against to partial bacterial strains

g·mL⁻¹

菌株 Bacterial strains	植物提取物最低抑菌浓度 Minimum inhibitory concentration of plant extracts					
	Ga3	Ga4	Gi3	Gi4	On3	Go3
B1	—	—	—	—	—	0.025(0.97)
B5	—	0.000625(0.50)	—	0.00125(1.47)	—	—
B6	0.05(0.23)	0.005(4.00)	0.05(>2.59)	0.005(>5.88)	0.05(>0.65)	0.025(0.97)
B8	0.025(0.12)	—	0.025(1.30)	—	—	0.0125(0.49)
B9	0.05(0.23)	0.005(4.00)	—	0.005(5.88)	0.05(>0.65)	0.025(0.97)
B11	—	0.0025(2.00)	—	0.005(5.88)	—	—
B12	—	0.005(4.00)	—	—	0.05(>0.65)	—

Ga4、Gi4 最低抑菌浓度为体积比; “—”为未进行试验 “>”为 MIC 超过本试验浓度上限; () 内数值为最低抑菌浓度对应的样品鲜质量浓度。

MIC of Ga4 and Gi4 were displayed by volume ratio; “—” indicated experiment was not carried out “>” indicated MIC was above test concentration limit; Data in () ” was the sample fresh weight concentration corresponded to the MIC.

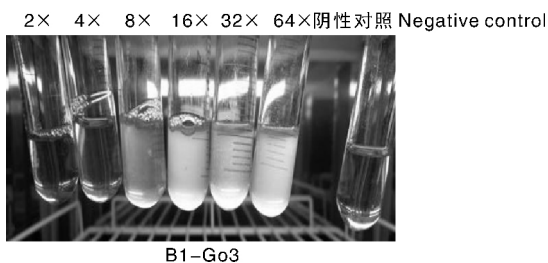


图 2 Go3 提取物对 B1 菌株最低抑菌浓度测定

Fig. 2 Determination of minimum inhibitory concentration of Go3 extract against to B1 strain

Go3 提取物对 B1 菌株最低抑菌浓度的测定。

3 讨论

3.1 植物源抑菌剂的优势

植物组织培养中细菌污染主要通过接触污染,如外植体带菌、人员操作不当或器械消毒不

严格等。控制植物组培细菌污染除了定期严格的人员、环境消毒、操作流程的规范以及选择无菌的外植体等途径外,在培养基中添加一定浓度的抗生素,如青霉素、链霉素、四环素及硫酸庆大霉素等也能获得一定的抑菌效果^[11-12]。然而,抗生素残留、环境污染、部分抗生素价格昂贵、伤害组培苗等问题一直制约着植物组织培养中抗生素的添加。

与抗生素相比,植物源抑菌剂具有低毒、低残留、对组培苗伤害小及与环境相容等优势。王赵玉等^[13]研究表明,适当浓度的大蒜素与代森锰锌均能降低组培试验污染率,且不会对植物产生不利影响。曾云英等^[14]发现植物源与化学合成的抑菌剂在矮牵牛开放组培中均有良好作用,化学合成抑菌剂较植物源抑菌剂效果强,但对植物伤害较大。据报道,国内外有 1 000 余种植物被检测出有杀菌活性,国内的研究热点主要集中

在连翘、板蓝根、苦参及鱼腥草等中草药植物。本研究以生姜、洋葱、大蒜和苦瓜为提取材料,4种植物材料相对于中草药具有低成本及材料易获取等优势。目前,植物源抑菌剂的应用主要集中在对植物病原真菌的防治,有关植物组培污染细菌防治方面的研究较少,本研究为植物源抑菌剂在植物组培污染细菌防治方面的应用提供了参考。

3.2 四种植物提取物的抑菌活性

据报道,生姜、洋葱、大蒜和苦瓜4种植物对多种植物病原菌及细菌具有较好的抑制效果。国淑梅等^[15]研究发现,大蒜及生姜提取液对平菇生产中常见的3种芽孢杆菌属细菌均有抑制作用。杨敏等^[16]测定了大蒜、洋葱和葱茎挥发物及提取液对26种主要植物病原真菌和卵菌的抑制活性,发现大蒜、洋葱和葱茎的挥发物和浸提液具有广谱抗植物病原真菌和卵菌的活性。文良娟等^[17]研究表明,苦瓜70%乙醇提取物对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌的抑制作用明显。

本研究抑菌试验结果表明,大蒜乙醇超声粗提物、大蒜挥发油和生姜挥发油对污染菌株具有较好的抑制效果,生姜、洋葱、苦瓜的乙醇超声提取物较水超声提取、热水浸提法的综合抑菌效果强。洋葱粗提物对12个菌株中的9个菌株有抑制效果,抗菌谱较生姜、大蒜、苦瓜提取物广。不同菌株对不同抑菌剂的敏感程度不同,复配使用可以提高效果^[18-19]。本研究结果表明,单种植物抑菌剂对不同菌株抑制作用存在差异,不同植物抑菌剂的抗菌谱存在互补作用,因此,在植物组培中采用单一抑菌剂可能达不到最佳效果,如果将其复配成混合抑菌剂,可以提升抗菌谱范围,增强抑菌效果。

3.3 提取方法对抑菌活性的影响

不同提取方法对提取物抑菌活性具有显著影响。穆可云^[20]研究了大蒜水提取物、乙醇提取物及酸性水溶液提取物对蜡样芽孢杆菌的抑制效果,发现3种提取物都有抑制效果,并且抑菌效果依次增强。温度稳定性试验结果表明,高温处理会降低洋葱粗提物的抑菌能力^[21-22]。本研究表明,生姜挥发油对假单胞菌属(B2)有抑制效果,而生姜水超声提取、热水浸提、乙醇超声提

取粗提物对假单胞菌属(B2)均无抑制效果,这说明提取方式影响植物抑菌活性物质的溶解性或稳定性。本试验中,乙醇超声提取较热水浸提、水超声提取方法更能溶解出抑菌物质,挥发油与溶剂提取物具有不同的抑菌谱。联合不同方法综合提取抑菌物质,可以更大潜力地发掘植物抑菌物,如溶剂提取同时联合挥发物收集装置,可获得更多抑菌活性物质,其抗菌谱也更广。

与前人研究相比,本研究中抑菌剂的MIC值偏高^[23-24],可能是提取物浓缩过程破坏了部分抑菌物质,尤其是苦瓜粗提物浓缩后再溶解不完全,沉淀明显,也可能是本研究的菌株是从被污染组培植物中分离的,这些菌株可能对部分植物源抑菌物不敏感。后续研究可进一步明确植物源抑菌剂的作用机理,开发联合提取方法,采用复配抑菌剂,将扩大植物抑菌剂的抗菌谱,提升抑菌效果。

参考文献(References):

- [1] 方丽,王连平,茹水江,等. 植物组培过程中污染微生物种类及其季节性的变化[J]. 浙江农业学报,2013,25(2): 284-287.
FANG L, WANG L P, RU S J, et al. Varieties and seasonal characters of pollution microflora in plant tissue culture[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2013, 25(2): 284-287. (in Chinese with English abstract)
- [2] 钱昆,周涛. 植物源天然防腐剂应用和机理研究的最新进展[J]. 中国食品添加剂,2006(5): 100-103.
QIAN K, ZHOU T. Advanced research on the application and mechanisms of natural food preservatives[J]. *China Food Additives*, 2006(5): 100-103. (in Chinese with English abstract)
- [3] SIDANA J, ROHILLA R K, ROY N, et al. Antibacterial sideroxylonals and loxophlebal A from *Eucalyptus loxophleba* foliage[J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(7): 878-883.
- [4] LUO W, ZHAO M M, YANG B, et al. Antioxidant and anti-proliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthus emblica* L. fruit[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(1): 277-282.
- [5] 李少华. 细辛对番茄早疫病菌的抑制作用及其活性成分的分离[J]. 中国农业大学学报,2011,16(3): 67-71.
LI S H. Antifungal activities and active compounds of the extracts from *Asarum himalaicum* against *Alternaria solani* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2011, 16(3): 67-71. (in Chinese with English abstract)
- [6] 鲁晓晴,王莎莎,邱真真,等. 一种新型复方中草药消毒

- 剂的性能研究[J]. 中国消毒学杂志, 2013, 30(10): 907-909.
- LU X Q, WANG S S, QIU Z Z, et al. Research on the performance of a compound Chinese herbs disinfectant [J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2013, 30(10): 907-909. (in Chinese with English abstract)
- [7] 崔刚, 单文修, 秦旭, 等. 植物开放式组织培养研究初探[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2004, 35(4): 529-533.
- CUI G, SHAN W X, QIN X, et al. The preliminary study on plant open-tissue-culture [J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2004, 35(4): 529-533. (in Chinese with English abstract)
- [8] 张薪薪. 抑菌剂筛选及对组培污染防治的初步研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2006.
- ZHANG X X. Screening of bacteriostatic agents and preliminary study on the prevention and control of tissue culture pollution [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2006. (in Chinese with English abstract)
- [9] 陈瑞丹, 孙文薇. 梅花品种‘淡丰后’茎段开放式启动培养的初步研究[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(增刊1): 30-34.
- CHEN W D, SUN W W. Preliminary studies on the poen initiation culture of *Prunus mume* ‘Dan Fenghou’ [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2007, 29(Supp. 1): 30-34. (in Chinese with English abstract)
- [10] 戴聪杰, 林培庆. 白花败酱草乙醇提取液的抑菌作用及其稳定性研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(6): 157-159.
- DAI C J, LIN P Q. Study on antimicrobial actions and stability of *Patrinia villosa* charantia extractive [J]. *Food & Machinery*, 2011, 27(6): 157-159. (in Chinese with English abstract)
- [11] 陈云凤, 吴玉婷. 抗生素在植物组织培养中抑制污染应用研究[J]. 宜春学院学报, 2014, 36(3): 102-104.
- CHEN Y F, WU Y T. Studying antibiotics in prevention of contamination during plant tissue culture [J]. *Journal of Yichun College*, 2014, 36(3): 102-104. (in Chinese with English abstract)
- [12] 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.
- WANG Z C, LIU M X, YI Z L. Preliminary study on controlling contamination of plant tissue culture by bactericide [J]. *Journal of Changsha University of Electric Power (Natural Science)*, 2004, 19(1): 82-84. (in Chinese with English abstract)
- [13] 王赵玉, 张健雄, 户新宇, 等. 抑菌剂在开放式植物组织培养中的应用研究[J]. 北方园艺, 2012(18): 125-127.
- WANG Z Y, ZHANG J X, HU X Y, et al. Application study on antibacterial agents in open plant tissue culture [J]. *Northern Horticulture*, 2012(18): 125-127. (in Chinese with English abstract)
- [14] 曾云英, 万强, 马存琛. 抑菌剂及接种条件在矮牵牛开放式快速繁殖中的效果[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(5): 79-80.
- ZENG Y Y, WAN Q, MA C S. Effects of bacteriostatic agents and inoculation conditions on open rapid propagation of *Petunia hybrid* [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(5): 79-80. (in Chinese with English abstract)
- [15] 国淑梅, 牛贞福, 黄贤举, 等. 大蒜、生姜提取液对平菇上3种芽孢杆菌的抑制作用及其对平菇生长的影响[J]. 中国植保导刊, 2015, 35(2): 17-20.
- GUO S M, NIU Z F, HUANG X J, et al. Inhibition of garlic and ginger extracts against 3 *Bacillus* bacteria of oyster mushroom and effect on mushroom growth [J]. *China Plant Protection*, 2015, 35(2): 17-20. (in Chinese with English abstract)
- [16] 杨敏, 梅馨月, 廖静静, 等. 三种葱属作物挥发物和提取液对植物病原真菌和卵菌的抑菌活性[J]. 植物保护, 2013, 39(3): 36-44.
- YANG M, MEI X Y, LIAO J J, et al. Antimicrobial activity of volatiles and extracts of 3 *Allium* crops to plant pathogenic fungi and oomycetes [J]. *Plant Protection*, 2013, 39(3): 36-44. (in Chinese with English abstract)
- [17] 文良娟, 张元春, 李英军, 等. 苦瓜提取物的抑菌活性研究[J]. 食品工业, 2009(4): 33-35.
- WEN L J, ZHANG Y C, LI Y J, et al. Study on the antimicrobial activities of *Momordica Charantia* L. [J]. *The Food Industry*, 2009(4): 33-35. (in Chinese with English abstract)
- [18] 孔庆芳, 程科萍, 王长娴, 等. 四种复方抑菌剂抑菌效果及毒性初步探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(23): 5385-5386.
- KONG Q F, CHENG K P, WANG C X, et al. Preliminary study of antibacterial effects and toxicity of four kinds of compound antibacterial agents [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2016, 26(23): 5385-5386. (in Chinese with English abstract)
- [19] 潘晓倩, 张顺亮, 乔晓玲, 等. 复配抑菌剂对两种腐败菌抑制效果评价[J]. 中国食物与营养, 2015, 21(9): 48-52.
- PAN X Q, ZHANG S L, QIAO X L, et al. Evaluation on bacteriostatic effect of compound bacteriostatic agent on two spoilage bacteria [J]. *Food and Nutrition in China*, 2015, 21(9): 48-52. (in Chinese with English abstract)
- [20] 穆可云. 大蒜提取物对蜡芽孢杆菌的抑制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- MU K Y. Studies on the inhibitory effect of *Allium sativum*

- extracts against *Bacillus cereus* [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013. (in Chinese with English abstract)
- [21] 贺菊萍,隋玉杰,陈学红,等. 洋葱醇提物抑菌效果及其热稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2010 (12): 153 - 155.
HE J P, SUI Y J, CHEN X H, et al. Study on bacteriostasis and thermal stability of *Allium cepa* L. ethanol extract [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2010 (12): 153 - 155. (in Chinese with English abstract)
- [22] 郭继平. 洋葱原汁抑菌活性的研究[J]. 中国调味品, 2012, 37(12): 21 - 23.
GUO J P. Study on antibacterial activity of raw onion juice [J]. *China Condiment*, 2012, 37(12): 21 - 23. (in Chinese with English abstract)
- [23] 张平平,刘金福,王昌禄,等. 苦瓜提取物的抑菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008 (20): 721 - 724.
ZHANG P P, LIU J F, WANG C L, et al. Study on the antimicrobial activities of the extracts from *Momordica charantia* L. [J]. *Natural Product Research and Development*, 2008 (20): 721 - 724. (in Chinese with English abstract)
- [24] 林标声,张婷婷,沈绍新. 蒜、姜、辣椒乙醇提取物抑菌活性的研究[J]. 龙岩学院学报, 2009, 27(5): 85 - 88.
LIN B S, ZHANG T T, SHEN S X. Research on antimicrobial activities of ethanol extracts from ginger, garlic and hot pepper [J]. *Journal of Longyan University*, 2009, 27(5): 85 - 88. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑 侯春晓)