

抗生素在植物组织培养中控制污染的应用

* 王黎波, 李晓燕

(辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

摘要:综述了近年来抗生素在植物组织培养污染防止中应用的研究进展。主要对植物组织培养中对外植体的处理、培养基中添加抗生素后对植物的影响等方面进行探讨,开发出既可作为污染菌抑制剂又可对植物生长进行调控的抗生素将是一个很有潜力的研究方向。

关键词:抗生素;组培;污染控制

中图分类号:Q813.12

文献标识码:B

抗生素是微生物在代谢过程中产生的,在低浓度下就能抑制它种微生物的生长和活动,甚至杀死它种微生物^[1]。自抗生素发现以来,以其高效低毒广泛应用于临床医学和作为动物饲料添加剂,但在植物上的应用甚少。随着人们对抗生素作用机理的了解,抗生素也开始应用于植物,并取得了显著效果。尤其是医用抗生素在防止植物组织培养中的污染问题方面,应用得更为广泛。目前,国内外对植物组培污染防止方面的研究成果都比较丰富。本文将有关抗生素对防止植物组织培养污染问题做一综述,以为今后的研究提供参考。

1 抗生素对外植体的预处理

组织培养中对外植体的处理是非常重要的,它直接影响到试管苗的污染程度。Reuveni 等用 300 mg/L 的利福平溶液预处理从温室中采下的番木瓜侧芽,再按常规顺序进行表面消毒,有效减少了外植体污染,且对番木瓜的生长无毒副作用^[2]。李春燕等用 400 或 600 万单位的青霉素无菌水溶液分别浸泡银白杨污染苗 60 min 或 40 min,可有效防治组培中的细菌污染,继代培养时不再出现污染,且处理过的苗体分化能力强,生长健壮、根系发达、移栽成活率高^[3]。朱光廉在接种相思树的芽和茎段前,先用皂液刷洗和乙醇杀菌,后转入含 2 g/L 苯菌灵和 2 g/L 链霉素的混合溶液中,在摇床上振荡过夜后再用 80% 乙醇和

1 g/L HgCl₂ 分别消毒 1 min 和 15 min,获得了较理想的杀菌效果^[4]。周俊辉等用不同抗菌素对外植体进行预培养,以抑菌剂 ANB1 和 ANB2 的抑菌效果较好,其中 ANB2 处理后的未污染率达到 76.7%^[5]。Singh 等用含聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、抗坏血酸、多菌灵、氨苄青霉素或氯霉素的混合液,对宽叶紫荆木的茎段进行预处理减少了细菌、霉菌的污染^[6]。张桂芳等试验发现用 0.1% 升汞消毒 6 min 和 50 mg/L 的头孢噻肟浸泡 30 min 组合消毒效果最好^[7]。

2 在培养基中添加抗生素

王春在马铃薯培养基中添加一定浓度的医用抗生素可有效抑制细菌对培养基的侵染。硫酸庆大霉素和盐酸林可霉素对马铃薯试管苗的生长有明显抑制作用,不宜选用;氨苄西林钠和硫酸链霉素的抑菌控制在 20 mg/L 左右时,完全可以抑制组培苗的细菌性侵染,且对马铃薯试管苗的生长发育无不良影响,对马铃薯基础苗的保存有很高的利用价值^[8]。在绿巨人组培中发现先锋霉素较青霉素钠和庆大霉素抑菌效果好,且继代后无变异苗出现^[9]。王亦非等发现,200 mg/L 青霉素可对彩色海芋内生菌的生长有效抑制,且不影响其增殖系数^[10]。Bistrichanov 等在离体培养大绣球时发现,10 mg/L 的阿霉素可在有效控制细菌

* 收稿日期:2007-04-10

作者简介:王黎波,(1970-),男,汉族,辽宁东港人,辽宁师范大学生命科学学院实验师。

污染的同时对培养物生长不发生抑制作用^[11]。Levin 等用 30 mg/L 利福平有效控制了合果芋丛生芽继代培养中出现的污染菌^[12]。薄荷试管苗培养基中污染的细菌,可用链霉素有效地消除^[13]。黄小荣等用 300 mg/L 青霉素在香水白掌继代培养有效抑菌革兰氏阳性菌的污染,但去除青霉素后,菌体会再度出现^[14]。由上可知,抗生素对组培细菌污染的防治很有效果,但抗生素使用的种类和浓度变化很大,这可能是由植物的种类不同和植物所污染的细菌种类不同造成的。

在培养基中加入两种或两种以上的抗生素,可以更加有效的防止细菌产生抗药性,其效果比单独使用效果更佳。周俊辉等在防止玛丽安万年青茎段组培污染中,应用 25 mg/L 利福平和 50 mg/L 氯霉素或 50 mg/L 利福平和 50 mg/L 氯霉素混合液处理,未污染率分别达到 78.46% 和 85.16%,效果极显著高于单独使用 50 mg/L 利福平处理^[15]。对红掌的抑菌实验中,使用 300 mg/L 青霉素和 180 mg/L 链霉素混合液,效果也好于单独使用 1 000 mg/L 链霉素^[16]。黄树莓组织培养中出现的红色杆状细菌,在培养基中添加 40 ug/ml 链霉素和 55 ug/ml 氯霉素就可有效抑制,且对植株生长的影响较小^[17]。

3 抗生素应用存在的问题及展望

抗生素虽然在植物组培中应用广泛,在使用中还存在以下问题:(1)抗生素制菌谱不一,尚没有一种抗生素对所有的细菌都有效,而且药效期短;(2)抗生素一般不稳定,遇酸、碱或加热都易分解而失去活性;(3)单一抗生素抑菌,易产生抗药性,一旦停止使用,污染率又显著上升;(4)高浓度的抗生素会影响植物的生长。但现今研究表明某些医用抗生素对高等植物的生长发育和生理生化具有明显的调控作用,这预示着抗生素也有可能可以作为一种新型的植物生长调节剂使用。因此开发出既可作为污染菌抑制剂又可对植物生长进行调控的抗生素将是一个很有潜力的研究方向。

参考文献:

[1] 王镜岩,朱圣庚,徐长法.生物化学[M].北京:高等教育出

版社,2002.

- [2] Reuveni O, Shlesinger D R, Laviu. In vitro propagation of dioecious *Carica papaya* L [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1990, 20(3): 41 ~ 46.
- [3] 李春燕,李颖.组织培养中青霉素对细菌污染的控制作用[J].东北林业大学学报,2000,28(5): 97 ~ 98.
- [4] 朱广廉.植物组织培养中的外植体灭菌[J].植物生理学通讯,1996,32(6): 444 ~ 449.
- [5] 周俊辉,刘花全,罗慧君,谢海佳,黄树行.玛丽安万年青茎段培养的污染防止[J].仲恺农业技术学院学报,2002,15(4): 43 ~ 48.
- [6] Singh H P, Sanjay Singh, Saxena R P, et al. Pretreatment of nodal segments for in vitro establishment and bud activation of *Madhuca latifolia* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry New Delhi*, 1992, 19(2): 116 ~ 122.
- [7] 张桂芳,贺红.广佛手组织培养中的污染及防治研究[J].中医药学刊,2005,23(2): 296.
- [8] 王春.医用抗生素在马铃薯组织培养中的抑菌效应研究[J].甘肃农业科技 2004, (10): 15 ~ 16.
- [9] 韩美丽,陆荣生,黄华艳,等.绿巨人组培苗继代过程中玻璃化苗及细菌污染的消除方法研究[J].广西林业科学研究, 1999, 28(1): 16 ~ 19.
- [10] 王亦菲,陆瑞菊,周润梅,等.彩色海芋组织培养过程中内生菌的抑制[J].上海农业学报,2001,17(2): 82 ~ 83.
- [11] Bistrichanov S, Haralampieva V, Kaloyanova N. Testing of different types of antibiotics against bacterial contamination in *Hydrangea hortensis* in vitro [J]. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 1997, 3(6): 749 ~ 753.
- [12] Levin R, Stav R, Alper Y, et al. In vitro multiplication in liquid culture of *Syngonium* contaminated with *Bacillus* spp. and *Rathayibacter tritici* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1996, 45(3): 277 ~ 280.
- [13] Reed BM, Buckley PM, DeWilde TN. Detection and eradication of endophytic bacteria from micropropagated mint plants [J]. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant*, 1995, 31(1): 53 ~ 57.
- [14] 黄小荣,杨开太.香水白掌的组织培养[J].广西林业科技,2001,30(1): 39 ~ 40.
- [15] 周俊辉,杨妙贤,李春霞,宋苑芬.在培养基中加入抗生素防止万年青茎段培养污染研究[J].广西植物,2005,25(3): 233 ~ 235.
- [16] 简兴,王米力,石大兴.红掌组培苗继代过程中细菌污染的防治试验[J].亚热带植物科学,2003,32(2): 52 ~ 54.
- [17] 董玉芝,王晓炜,蒋萍.树莓组织培养及植株再生[J].新疆农业大学学报,2003,26, (1): 28 ~ 30.