

# 微波灭菌对 MS 培养基的影响及效果

高 岳, 朱旭东, 司文会, 阙小峰

(苏州农业职业技术学院, 江苏 苏州 215008)

**摘 要:**分析测定了不同微波灭菌时间对 MS 培养基的温度、失水率、pH 的影响并进行灭菌效果的比较,以期探讨 MS 培养基微波灭菌效果。结果表明:随着灭菌时间的增加,MS 培养基的温度和失水率都随之上升,pH 降低,灭菌时间达到 2 min 后,MS 培养基彻底灭菌,无杂菌生长;且 pH 变化很小,营养成分破坏少。

**关键词:**MS 培养基;微波灭菌;pH 值;灭菌效果

**中图分类号:**Q 943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)23-0129-03

MS 培养基是目前植物组织培养中使用最普遍的培养基,众所周知,培养基的灭菌效果会直接影响培养材料的生长,接种材料需在无菌条件下培养很长时间,如果培养基被微生物所污染,便达不到培养的预期效果。因此,培养基的灭菌是植物组织培养中十分重要的环节。一般情况下,实验室里均采用高压蒸汽灭菌法,此法虽然灭菌彻底且不易污染,但却费工、费时,效率太低。

微波对微生物的杀灭机理是利用微波辐射的热效应和非热效应的协同作用使微生物死亡。微波热效应与其它加热机制一样,会引起微生物细胞蛋白质、核酸等物质的变性,及细胞膜的破坏。非热效应包括电磁场效应、量子效应和超导作用等,会引起微生物细胞膜穿孔、破裂,细胞内活性物质被破坏,而导致微生物死亡<sup>[2]</sup>。据 Olsen 报道,在面包等食品上生长的霉菌孢子,经微波照射 2 min 后,温度升至 65℃,其上接种的孢子都彻底死亡。而用一般的常规加热方法,其温度在上升到 65℃之后再加热 2 min,也没有达到同样的效果<sup>[3]</sup>。Jory H 和 Will C 研究数据表明,曲霉和青霉的热死点是在 68~71℃的范围内保持 2 min,而用微波处理面包 5 min,其最高温度可以达到 68℃左右,可以在比较长的保存时间内不长霉<sup>[4]</sup>。为寻找方便、快捷、可靠和低成本的灭菌方法,现在董洪梅等<sup>[1]</sup>的研究基础上,采用家用微波炉对 MS 培养基进行灭菌,并与高压蒸汽灭菌法进行比较,探讨了微波灭菌对 MS 培养基的灭菌效果和对 MS

培养基温度、pH 及失水率等的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

MS 固体培养基的配制:MS 培养基母液(按 1 L 培养基的量吸取),蔗糖 20 g,琼脂 8 g,水 1 000 mL,pH 调至 5.8。将配好的培养基趁热分装于 200 mL 培养瓶中,每只 30 mL,盖上瓶盖,备用。

格兰仕微波炉(G7020SLII-2W,700 W,2 450 MHz),PHS-3C 精密 pH 计(雷磁),德国 Sartorius BT323S 电子天平,日本三洋 MLS-3020 压力蒸汽灭菌器,温度计。

### 1.2 试验方法

将分装于培养瓶中供试验用的 MS 培养基用 2 种方法进行灭菌。对照组:用高压灭菌器于 0.1035 MPa,121℃灭菌 20 min;试验组:3 瓶一组置于微波炉内,用中高火档分别灭菌 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 min。灭菌后立即取出,各处理组取 3 瓶培养基,立即用温度计测定培养基的温度,在培养基温度降至 50℃时用酸度计测定其酸碱度,在温度降至室温时称重,计算失水率。并另取上述灭菌处理各组 3 瓶在 37℃条件下培养 24 h 观察并记录其灭菌效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 微波灭菌时间对 MS 培养基灭菌效果的影响

由表 1 可知,在微波灭菌 2 min 后,经 37℃培养 24 h 后观察 MS 培养基,发现其表面无杂菌生长,室温情况下放置 7 d 后仍无杂菌生长。

表 1 微波灭菌时间对 MS 培养基灭菌效果的影响

灭菌时间/min											
1.0			1.5			2.0			2.5		
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

注:“+”表示培养基灭菌不彻底,有杂菌生长;“-”表示培养基灭菌彻底,无杂菌生长。

**第一作者简介:**高岳(1979-),男,江苏苏州人,硕士,讲师,研究方向为生物技术及农产品加工检测。

**基金项目:**2011 年苏州农业职业技术学院院级资助项目(NS1111);2010 年苏州市农业科技支撑计划资助项目(SN201009)。

**收稿日期:**2012-07-20

## 2.2 微波灭菌时间对 MS 培养基温度的影响

由图 1 可知,在微波灭菌时间 1~3.5 min 的情况下,微波灭菌处理后 MS 培养基的平均温度随时间的增加而升高,分别为 58.8、74.2、84.7、88.5、90.4 和 92.6℃。

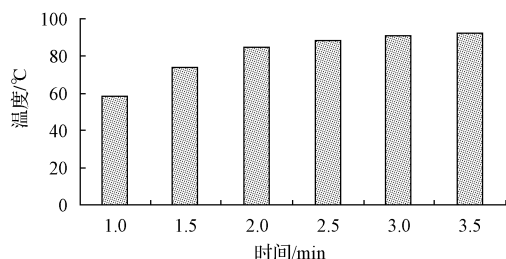


图 1 微波灭菌时间对培养基温度的影响

## 2.3 微波灭菌时间对 MS 培养基 pH 的影响

由图 2 可知,在微波灭菌时间 1~3.5 min 的情况下,MS 培养基冷却到 50℃,微波灭菌处理后培养基的平均 pH 随着灭菌时间的增加而下降,其 pH 分别为 5.78、5.72、5.68、5.64、5.61 和 5.56。而对照组在 0.1035 MPa、121℃ 高压蒸汽灭菌后培养基的 pH 平均为 5.10<sup>[5]</sup>。

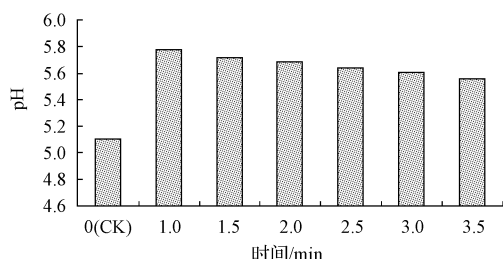


图 2 微波灭菌时间对培养基 pH 的影响

## 2.4 微波灭菌时间对 MS 培养基失水率的影响

由图 3 可知,在微波灭菌 1~3.5 min 后,MS 培养基冷却到室温的情况下,微波灭菌处理后培养基的平均失水率与灭菌时间呈正相关,分别为 0.27%、1.72%、5.08%、10.47%、13.70% 和 17.91%。而在 0.1035 MPa、121℃ 高压蒸汽灭菌的情况下 MS 培养基的失水率平均为 5.20%。

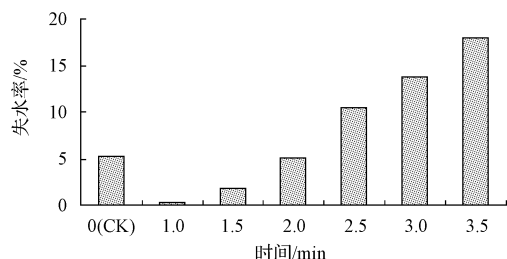


图 3 微波灭菌时间对培养基失水率的影响

## 3 讨论

MS 培养基采用微波灭菌,可以在相对较短的时间内达到很好的灭菌效果(表 1)。在试验中发现,一般情况下,微波灭菌时间达到 2 min 就可以获得比较满意的灭菌效果。虽然随着灭菌时间的增加,培养基的温度不断升高,但最高温度仍只有 92.6℃,远低于高压蒸汽灭菌法所达到的 121℃,可在一定程度上避免高温对 MS 培养基的理化性质造成影响。

传统的高压蒸汽灭菌法,会使培养基的 pH 出现较大幅度的下降,Ball 认为在高压蒸汽灭菌过程中,培养基中的蔗糖会水解成葡萄糖及果糖,而葡萄糖会进而转变成葡萄糖酸,这样就使得培养基的 pH 下降<sup>[6-7]</sup>。该试验中,经高压蒸汽灭菌后,MS 培养基的 pH 由灭菌前的 5.78 降至灭菌后的 5.10,降幅达到 0.68。而由图 2 可知,微波灭菌前后 MS 培养基的 pH 变化不明显,试验中在达到彻底灭菌时(灭菌时间为 2 min),其 pH 为 5.68,降幅仅为 0.12。因此认为采用微波灭菌对 MS 培养基的 pH 影响较小,可不考虑微波灭菌对 pH 的影响。

微波灭菌与常规的高压蒸汽灭菌相比,其培养基的失水率与灭菌时间呈正相关,但当达到最佳灭菌效果时,即灭菌时间为 2 min 时,失水率仅为 5.08%,而常规高压蒸汽灭菌也会使 MS 培养基造成 5.20% 左右的失水率,二者并无明显差异。因此,当微波灭菌时间为 2 min 时,在保证灭菌效果的同时,可不考虑失水率的影响。

对 MS 培养基进行微波灭菌时,当灭菌时间为 2 min 时,可达到良好的灭菌效果,与传统的高压蒸汽灭菌法相比,微波灭菌时间短、温度低,灭菌后 pH 变化小。且方便,成本低,是值得推广的高效灭菌方法。

## 参考文献

- [1] 董洪梅,王新风. PDA 培养基的微波灭菌研究[J]. 北方园艺,2005(1):71-72.
- [2] 刘钟栋. 微波技术在食品工业中的应用[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998.
- [3] 王鲁嘉. 微波灭菌试验及分析[J]. 云南大学学报(自然科学版),1998,20(1):34-36.
- [4] 杨华明,丁兰英,刘育京. 微波杀菌规律的研究[J]. 中国消毒学杂志,1996,13(2):65.
- [5] 陈永勤. MS 培养基凝固效果和高温灭菌后 pH 值变化的研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版),2001,23(3):280-283.
- [6] Ball E. Hydrolysis of sucros by autoclaving media-aneglected aspect in the technique of culture of plant tissues [J]. Bell Torrey Bot Club,1953,80:409-411.
- [7] 王子宇. 微波技术基础[M]. 北京:北京大学出版社,2003.

# 三个基因型黄瓜品种未授粉子房胚状体诱导及植株再生研究

李建欣, 葛桂民, 庞淑敏, 方贯娜, 吴小波, 周海霞

(郑州市蔬菜研究所, 河南 郑州 450015)

**摘要:**以3个品种黄瓜的未授粉子房为外植体,进行胚状体诱导和植株再生研究。结果表明:3个品种都获得了再生植株。不同品种、不同热处理时间和不同TDZ浓度以及外植体的切割方式对胚状体诱导率都有影响。不同品种及不同6-BA和NAA浓度组合对植株的再生率有影响。热处理3 d,外植体为条状,TDZ浓度在0.06~0.08 mg/L时这3个品种的胚状体诱导率较高。NAA浓度为0.05 mg/L,6-BA浓度为0.4~0.6 mg/L时有利于胚状体分化植株。

**关键词:**黄瓜;未授粉子房;胚状体;再生植株

**中图分类号:**S 642.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)23-0131-04

在黄瓜常规杂交育种中,杂交后代自交系的纯合往往需要5~7 a,而利用未授粉子房培养快速获得纯系是加速黄瓜育种的有效途径。对黄瓜未授粉子房培养的研究国内外已有成功的报道。Gémes-Juhász等<sup>[1]</sup>研究表明,35℃热激处理有利于胚状体的发生,并得到了再生单倍体植株。杜胜利等<sup>[2]</sup>研究认为黄瓜未授粉子房培养体系单倍体植株的再生频率为25%。陈小鹏等<sup>[3]</sup>报道了黄瓜未授粉子房培养的一些影响因素,如蔗糖浓度、取样时间和TDZ浓度对胚状体发生的影响。刁卫平等<sup>[4]</sup>研究结果表明处于开花前2~3 d的子房胚发生

率相对较高,达到83.8%,对子房进行35℃热激处理3 d的胚状体的发生率较高,诱导培养基中添加AgNO<sub>3</sub>可以提高胚发生率,并获得了单倍体植株。王璐等<sup>[5]</sup>研究认为25℃下启动雌核发育的最适TDZ浓度为0.02 mg/L,反应率可达90.1%,该试验在以上研究的基础上对黄瓜未授粉子房胚状体的诱导和植株的再生进行研究,以期为其在育种上的应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为3个黄瓜杂交种:“津优3号”、“津绿21”、“夏炎”,均由郑州市蔬菜研究所黄瓜课题组提供。

### 1.2 试验方法

试验于2011年春季和秋季在郑州市蔬菜研究所内进行。

1.2.1 外植体的准备与培养 黄瓜为异花授粉作物,花朵开放之前处于闭合状态,开花前1~3 d的雌花绝少有

**第一作者简介:**李建欣(1975-),女,硕士,助理研究员,现主要从事蔬菜生物技术育种研究工作。E-mail:lijianxin1007@163.com.

**责任作者:**庞淑敏(1964-),女,硕士,研究员,现主要从事马铃薯脱毒与生物技术研究工作。E-mail:psmm9508@126.com.

**基金项目:**郑州市科技创新团队资助项目(096SYJH17093)。

**收稿日期:**2012-07-20

## Study on Influence and Effect of Microwave Sterilization on MS Medium

GAO Yue, ZHU Xu-dong, SI Wen-hui, QUE Xiao-feng

(Suzhou Polytechnic Institute of Agriculture, Suzhou, Jiangsu 215008)

**Abstract:** The effect of different microwave sterilizations on the temperature, water loss rate, pH of MS medium were detected, and the sterilization effect was compared to investigate sterilization effect of MS medium. The results showed that with the increase of sterilization time, MS medium temperature and water loss rate rised, pH value reduced. When sterilization time reached 2 min, MS medium was thoroughly sterilization. There was no bacterial growth, and the pH value changed small, the nutrients of MS medium were damaged a little.

**Key words:** MS medium; microwave sterilization; pH value; sterilization effect