

# 马铃薯茎尖脱毒培养中常见的污染问题及防范

梁贵秋

(广西蚕业技术推广总站,广西南宁 530007)

**摘要** 总结了马铃薯茎尖脱毒培养过程中常见的污染问题并提出相应的防范措施,以期马铃薯脱毒核心种苗的获得提供参考依据。

**关键词** 马铃薯;脱毒培养;污染;防范

**中图分类号** S336 **文献标识码** B **文章编号** 1007-5739(2008)22-0091-02

马铃薯又名土豆,原产于秘鲁和智利的高山地区,在我国已经有近400年的栽培历史。马铃薯是粮菜兼用的高产作物,具有单产高、适应性强、用途广、营养丰富等特点,是非常有价值的食品,既是我国南北城市周年供应中淡季蔬菜的主供种类,又是农产品深加工与淀粉工业的原料,还可作粮食、饲料,鲜薯制成的薯条、薯片等是快餐业的主要原料,马铃薯全粉是重要的食品加工业添加剂,马铃薯变性、糊化等淀粉是纺织、造纸、粘结剂合成、食品加工和降解塑料等轻工业的重要原料。马铃薯菜粮兼用,耐储运,营养丰富,加工升值高,容易发展成为产业化生产经营。目前,随着中国农业种植结构的调整和种薯商品薯市场需求的不断增加,中国马铃薯种植面积迅速扩大,所需脱毒种薯也越来越多。20世纪50年代蓬勃发展起来的植物组织培养技术,由于其具有周期短、增殖率高及生产不受季节限制等特点,加上培养材料和试管苗的小型化,可使有限的空间培养出大量的植物,在短期内培养出大量的幼苗。因此,植物组织培养技术不仅成为生物科学的一个广阔领域,而且在马铃薯脱毒种薯生产中也是一个不可缺少的必要环节。马铃薯茎尖脱毒培养成功与否是能否获得脱毒核心种苗的关键。鉴于目前我国很多地方马铃薯脱毒种薯都不能普及,市场上供不应求,为了更好地实现马铃薯产业健康、持续的发展,马铃薯脱毒种薯的生产越来越受到人们的重视。如今许多科研单位和种薯生产企业都已经组建了自己的组织培养室。然而,在马铃薯的茎尖脱毒培养过程中常会出现污染问题,这不仅影响了工作的正常开展,还会造成不同程度的经济损失。可以说,目前制约着马铃薯组培苗生产的数量和质量的主要因素之一就是污染问题。因此,解决好马铃薯组织培养中的污染问题将是获得马铃薯脱毒核心种苗的重要技术环节。

## 1 主要污染源

常见的污染情况有细菌污染和真菌污染两大类,它们相应的污染源也就是细菌和真菌。

## 2 污染产生的原因

### 2.1 细菌污染

若在接种前发现培养基污染,可能是培养瓶不干净而带有不易被杀死的耐高压、高温的杂菌,或者是培养基灭菌不彻底造成的;若在接种后外植体周围发现细菌污染,则证明是植物材料本身带菌引起的,很可能是由于使用了没有消毒好的接种工具以及操作者操作不规范造成的,或者是

接种者未能及时发现污染苗,在接种过程中由于交叉感染造成的。

### 2.2 真菌污染

若在接种前培养基表面存在大量真菌污染,多数情况是由于培养瓶瓶口封得不严或培养基存放的环境中真菌孢子浓度过大;培养基内部存在大量真菌污染,则可能是母液储备液已经被污染。接种后培养基表面存在真菌污染而且位置不定,如果是初期,可能是因为接种室内真菌孢子浓度过大或超净工作台的滤网已经不干净,如果接种时间较长,主要是因为封口不严或是培养材料本身就携带有内生菌;在培养过程中发现外植体周围出现真菌污染,可能是因为外植体材料本身就带有菌,只是菌源太小,在接种时肉眼无法识别,当接种到培养基以后才能引起感染;若在培养基中发现污染的真菌是零星的分散在培养基中,则可以确定是人为因素造成的,如培养基灭菌不彻底、超净工作台长时间不更换滤膜、接种器具灭菌不彻底、操作不规范等。

### 2.3 外植体灭菌不彻底

在室外采集回来的材料,由于生长环境不干净而带有许多杂菌,如果灭菌处理方法不当,造成灭菌不彻底,在接种培养2~3d后就会表现出外植体周围长满细菌或真菌,或者两种菌都有。这样不但得不到预想中的结果,同时还会因为带菌而影响培养室内的其他培养材料,造成交叉感染。

## 3 防范措施

### 3.1 严格消灭污染源

要确保培养基灭菌彻底,同时应定期清理消毒接种室和培养室,保持环境高度清洁,保证所用容器洁净,培养基及接种器具要彻底灭菌,培养基母液要在冰箱中保存,保持室内干净;对已经被真菌污染的材料要经过高压灭菌后扔掉,即使仅形成菌丝也应该处理后扔掉。

### 3.2 严格无菌操作

接种室要经常用紫外线灯消毒灭菌,工作人员在进行接种前要换工作服并戴口罩,接种前用75%酒精仔细擦手,方可进行下一步工作;同时工作人员在接种过程中要严格按照无菌操作要求进行材料转接,尽量少走动、不说话,以减少空气震动和流动,减少污染。工作台面及台壁也要用75%酒精消毒;接种所用的剪刀和镊子等也要进行彻底的消毒。

### 3.3 用正确的灭菌方法进行灭菌

对在室外采集回来的马铃薯基础材料或是用马铃薯薯块诱导所得的芽,要先在水龙头下冲洗干净,同时拿柔软的

毛刷轻刷表面,最后在超净工作台上进行灭菌处理。对马铃薯基础材料的灭菌材料,一般可以用10%次氯酸钠溶液或0.1%升汞溶液进行灭菌。在植物组织培养中对材料进行的灭菌,采用复合灭菌剂处理比使用单一灭菌剂处理灭菌效果更好。因此,在马铃薯组织培养中,为了增强灭菌效果,可采用混合的消毒液或进行多次消毒,即用10%次氯酸钠溶液灭菌处理2~3min,再用0.1%升汞溶液灭菌处理2~3min,这样可以取得很好的灭菌效果。

### 3.4 保证用于转接的材料无污染

在马铃薯继代培养过程中,用于扩大繁殖的马铃薯材料本身有无污染是直接影响到接种后污染率高低的关键因素,如果使用了有污染的马铃薯材料转接继代培养则会全部污染。因此,在马铃薯核心种苗的扩繁接种过程中,特别是在转继代培养过程中,对所转接的马铃薯材料一定要在灯光下仔细观察,确认无污染的材料才能使用。接种前用酒精擦瓶子外壁及瓶盖,防止附在瓶子上的杂菌带入接

(上接第89页)

量。据测定<sup>[1]</sup>,茉莉花渣中水分粗蛋白18.95%,粗脂肪4.45%,粗纤维10.10%,还含有丰富的氨基酸和许多维生素、叶黄素及花粉中所特有的一些未知因子。而且花渣带有浓厚的茉莉花香味,为天然香料,可改善饲料品味,防止饲料霉变,延长饲料储藏时间。茉莉花经用于熏制花茶后剩下的花渣,目前当地通常作饲料和肥料,有的甚至拉去倒掉,附加值很低,未能充分发挥茉莉花的价值,造成很大的资源浪费。在当前我国资源匮乏的今天,理应再开发利用,赋予新的用途。

### 3.5 茉莉花食品

茉莉花、叶和根都可药用,具有辛、甘、凉、清热解表、利湿作用,但目前开发成饮品、食品的较少。黄丽等<sup>[2]</sup>在实验室开发研制出茉莉花香海带汁饮料,张小平等<sup>[3]</sup>对茉莉花茶酸奶进行了研制,取得了一定成果。但茉莉花饮品及食品至今未见上市,有待于我们进一步的研究和开发。

### 4 茉莉花资源利用的意义

由于茉莉花茶生产成本将不断提高,农资、人工管理成本加大,也促使茉莉花价格维持在较高水平。另外,茉莉鲜

(上接第90页)

(1) 培育壮苗,增强抗冷性。秧苗质量不同,在同一低温条件下其适应能力不同,受害程度也有很大差异。一般苗壮,抗冷性强。为此,育苗应精选种子,选饱满成熟度好的种子适时播种。播种后到定植前温度管理要掌握“二高三低”,即出苗前高,移苗后缓苗期高,出土后低,缓苗后低,定植前低。在一天中也要掌握温度变化,适当加大昼夜温差,采取大温差育苗,培育壮苗。

(2) 低温锻炼。蔬菜对低温的抵抗是一个适应锻炼的过程,预先给以适当的低温处理,以后即可经受更低温度的影响而不受害。番茄、黄瓜苗定植前1周经10℃低温锻炼,定植后可忍耐短时间0℃低温。番茄苗可抗5℃左右低温,黄

种室。

### 3.5 严格接种后的管理

在材料的培养阶段,应定期清理消毒培养室,保持培养室内空气洁净。定期用甲醛溶液、米醋或臭氧机熏蒸培养室,非工作人员应尽量少进入培养室内。一旦发现污染要及时处理;如果是真菌污染,必须对污染的苗用高压锅灭菌后销毁;如果是细菌污染,而且被污染的材料是比较稀少且珍贵的,可以对所污染的材料进行挽救,具体做法是:将被污染的整瓶材料拿出培养室,用酒精棉将污染处盖住,将植株顶部剪下再次进行灭菌处理后转接到干净的培养基中。

### 3.6 防止内生菌污染

内生菌由于其潜伏得较深,表面消毒往往无法将其消灭。有时在外植体的初级培养中也不易被发现,随着继代次数的增加,菌量慢慢累积发展才在培养基上表现出来。遇到这种情况时可通过在培养基中添加一些抑菌剂或抗生素如青霉素、链霉素等,来防止和减少内生菌的污染。

花的劳动强度大,采花都在烈日下进行,如果价格过低,花农的生产积极性将会下降。如果在茉莉花的综合利用方面,重点研究茉莉花在食品、饮品和医药方面等的应用,可不断提高花农生产茉莉花的积极性,从而提高花农的收益。

### 5 参考文献

- [1] 朱石金,李平途,叶树范.茉莉花多糖的提取及含量测定[J].海峡药学,2007,19(6):53-54.
- [2] 罗建华,蒙春越,张丽丹,等.茉莉花植物总黄酮的超声波提取及鉴别[J].微量元素与健康研究,2007,24(5):49-50.
- [3] 刘海洋,倪伟,袁敏惠,等.茉莉花的化学成分[J].云南植物研究,2004,26(6):687.
- [4] 黄锁义,罗建华,张丽丹,等.茉莉花茎总黄酮提取及对羟自由基清除作用[J].时珍国医国药,2008,19(3):592-593.
- [5] 张丽霞,王日为.茉莉花香气研究进展[J].福建茶叶,1999(2):4-7.
- [6] 何春茂,梁忠云,刘雄民.超临界CO<sub>2</sub>萃取桂花和茉莉花浸膏的研究[J].精细化工,1998,15(2):22-24.
- [7] 叶耀辉,王金宝,杨文高.茉莉花渣饲喂育肥猪试验[J].饲料研究,1989(1):24-25.
- [8] 黄丽,翟彩麟,苏钰妍.茉莉花香海带汁饮料加工技术研究[J].食品研究与开发,2006,27(11):138-141.
- [9] 张小平,李海榕.茉莉花茶酸奶的研制[J].乳业科学与技术,2004(4):156-158.

瓜苗可抗3~5℃低温。

(3) 合理施肥。菜株生长速率与抗寒性强弱呈负相关。菜株稳生稳长,组织结实,呼吸速率适中,这种生长状态的菜株对低温有一定的适应准备,较能抵抗低温。反之,菜株对低温全无适应准备,就经受不住低温袭击。所以,在低温来临之前,适当增施磷肥和钾肥,少施速效氮肥,有助于提高蔬菜抗低温能力。有人利用氯化钾、磷酸铵、硼酸的混合液喷施瓜类蔬菜叶片,可减轻或避免低温冷害。

(4) 激素处理。细胞分裂素、脱落酸、多效唑、2,4-D等生物调节物质,都有提高蔬菜抗冷性的作用。特别是2,4-D、番茄灵、番茄丰产剂二号等用于蘸花,对防止花期低温所造成的落花、落果效果明显。