

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2005)02-0102-02

西吉县马铃薯脱毒试管苗切断扩繁技术规程

刘慧萍¹, 刘淑芳², 白建平¹

(1. 宁夏西吉县马铃薯生产研究所, 宁夏 西吉 756200; 2. 西吉县种子繁育管理站, 宁夏 西吉 756200)

随着马铃薯脱毒、良种繁育及示范推广技术体系在我县的建立、逐步完善以及马铃薯加工产业在我县的蓬勃发展, 各级政府部门、科研院所进一步加强对马铃薯的重视和投入, 极大地推动了我县马铃薯科研和生产的发展。近几年来, 我们就马铃薯脱毒试管苗切断扩繁技术进行了探索研究与实践, 总结出了一套比较完善的技术规程, 以供马铃薯脱毒工作者参考。

1 洗 瓶

切断扩繁的苗瓶可用三角瓶或小罐头瓶, 按需要量准备充足。用清洁热水加入适量的洗衣粉, 用试管刷刷洗苗瓶, 并换水冲净, 达到瓶壁水珠分布非常均匀, 透明感强, 然后倒置于网架上凉干水珠待用。

2 配制培养基

2.1 药品及用量

用托盘天平称琼脂(按7 g 琼脂+1L 蒸馏水)、蔗糖(按加20~30 g 蔗糖+1L 蒸馏水), 用光电分析天平按配方称药品并编号。

MS 配方 化合物)	mg·L ⁻¹ 蒸馏水含标准量
(1) KNO ₃ 硝酸钾)	1900
(2) NH ₄ NO ₃ 硝酸铵)	1650
(3) KH ₂ PO ₄ 磷酸二氢钾)	170
(4) MgSO ₄ ·7H ₂ O 7 水硫酸镁)	370
(5) MnSO ₄ ·H ₂ O 1 水硫酸锰)	22.3
(6) ZnSO ₄ ·7H ₂ O 7 水硫酸锌)	8.6

收稿日期: 2004-11-26

作者简介: 刘慧萍 (1969-), 女, 宁夏西吉县马铃薯生产研究所农艺师, 主要从事马铃薯脱毒、繁育及推广工作。

(7) H ₃ BO ₃ 硼酸)	6.2
(8) KI 碘化钾)	0.83
(9) Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O 2 水钼酸钠)	0.25
(10) CoCl ₂ ·6H ₂ O 6 水氯化钴)	100
(11) CuSO ₄ ·5H ₂ O 胆矾)	0.025
(12) 肌醇	100
(13) 甘氨酸	2
(14) B ₁	0.4
(15) B ₆	0.5
(16) 烟酸	0.5
(17) Na ₂ EDTA(乙二胺四乙酸二钠)	37.3
(18) FeSO ₄ ·7H ₂ O 7 水硫酸亚铁)	27.8
(19) CaCl ₂ ·2H ₂ O 2 水氯化钙)	440
(20) CaCl ₂ (氯化钙)	332.2
(21) B ₉	500

(1)~(4) 编号为 I, (5)~(11) 编号为 II, (12)~(16) 编号为 III, (17)~(18) 编号为 IV, (19)~(20) 编号为 V, (21) 编号为 VI。

2.2 配母液

将称量的药品分类按排号溶在器皿的蒸馏水中, 蒸馏水能充分溶解药品为宜, 药品加入的顺序为: 大量元素以先单价后双价加入, 最后加入钙盐, 即配成母液 1(I)~(V), 母液 2(II), 母液 3(III), 母液 4(IV), 母液 5(VI)。

2.3 制作培养基

(1) 首先用量筒量出所需的蒸馏水, 用大铝锅盛装, 将称得的琼脂浸在大铝锅的蒸馏水中, 然后将大铝锅边加热边搅动, 使琼脂充分溶解后再加入蔗糖使其溶解。

(2) 在充分溶解的琼脂和蔗糖溶液中分别加入母液 1、母液 2、母液 3、母液 4、母液 5, 用小火

继续加热, 使其充分溶解, 再用沸蒸馏水定容。

(3) 调节培养基 pH 值。用 pH 试纸检验显酸性时, 用滴管滴加 NaOH 或 KOH; 显碱性时滴加磷酸或盐酸溶液, 直至 pH 试纸测得 pH 值为 5.7 时为宜, 即培养基已配制完备。

3 装苗瓶

将配制好的培养基分别装在洗净的苗瓶中, 每瓶定容 8~15 mL, 然后用封口膜封口, 将其送到消毒室待消毒。

4 高压消毒

用高压灭菌锅进行灭菌消毒。在 120~140℃ 下, 消毒 20 min 即可, 停止加热后约 20~30 min 取出苗瓶, 冷却待用。

5 无菌操作室内消毒灭菌

5.1 操作前消毒

消毒是试管苗切断扩繁工作中的重中之重, 如果消毒不彻底, 其它一切工作都是徒劳。操作前消毒必须分两步进行。

(1) 熏蒸 无菌室刚开始工作或间隔 2~3 个月未进行消毒时, 首先要熏蒸消毒。熏蒸按每 m^3 空间计算, 即 1 m^3 空间按 10:7 的比例即 10 g 甲醛液, 7 g 高锰酸钾混放盆中, 马上关闭门窗, 间隔 1~2 d 后即可在室内工作。

(2) 紫外线消毒 将工作服、口罩、拖鞋、盛装 75% 的酒精瓶、剪刀、镊子、酒精灯、苗源瓶、扩繁瓶、封口膜、线绳或皮筋、干净纱布等无菌室所需物品放在无菌室固定位置, 启动超净工作台, 通风杀菌, 并将室内紫外灯打开消毒, 工作人员快速离开无菌室, 灭菌 25~30 min 即可。

5.2 操作中消毒

工作人员按无菌操作程序进入无菌室, 穿戴好消毒服装, 用 75% 的酒精将双手消毒, 再用酒精浸湿干净的纱布擦拭超净工作台面、苗源瓶、扩繁瓶, 将剪刀、镊子插入酒精瓶, 就可进行切断接苗, 并且剪刀和镊子每次使用前都应在酒精灯外焰上烧烤消毒。

6 组培苗切断扩繁技术方法

工作人员就坐于超净工作台前, 关闭超净工作台杀菌开关, 点燃酒精灯, 取掉扩繁瓶的封口膜, 瓶口稍斜, 离酒精灯芯 0.5 cm 用手轻轻转动, 直至瓶底以上部分全部消毒一遍, 然后放在超净工作台的右边, 再取掉苗源瓶的封口膜, 用同样的方法在酒精灯上消毒一遍, 防止小苗被烧伤, 然后放在超净工作台的左边, 最后把剪刀和镊子从盛 75% 的酒精瓶内取出放在离酒精灯灯芯 0.5 cm 处上下转动消毒一遍, 稍凉片刻, 用镊子将苗源瓶中的小苗夹出瓶口, 只留根部在瓶内, 用剪刀剪掉根部, 然后再用镊子夹小苗离扩繁瓶口 1~2 cm (注意不要让小苗挨上扩繁瓶瓶口, 以防感染), 剪带一片小叶的茎放在扩繁瓶中, 一般一个扩繁瓶可接 10~15 个茎段。封口膜在酒精灯上稍消毒后封口, 然后在苗瓶外壁上注明品种 (品系) 名称及扩繁日期。

7 在组培室内培养试管 (瓶) 苗

把切断接好苗的扩繁瓶送到培养室, 置于试管架上培养。培养室温度控制在 25℃ 左右, 光照强度 2000~3000 lx, 相对湿度保持在 75%~80% 之间。切断扩繁后 3~4 d 如果发现有污染瓶, 必须马上将其移离培养室, 然后, 每隔 7 d 检查一次, 如果发现新的污染瓶, 应立即移离培养室。健康苗 40~50 d 就可再扩繁或作扦插用的基础苗。

欢迎订阅 2005 年《中国马铃薯》杂志

《中国马铃薯》杂志是由中国作物学会马铃薯专业委员会和东北农业大学主办的国内唯一马铃薯专业科技期刊。它以繁荣我国马铃薯事业为办刊宗旨, 报道我国有关马铃薯的学术研究、科研成果, 介绍本专业的实用技术及最新进展。该刊设有学术园地、研究简报、经验交流、综述、薯类加工、病害防治、知识介绍、新品种介绍等栏目。

本刊国内外公开发刊, 双月刊, 大 16 开本, 彩色封面, 每期定价 6.00 元, 全年 36.00 元, 哈尔滨市邮局发行, 全国各地邮局订阅, 邮发代号: 14-167。为了减少中间环节, 请读者直接汇款至编辑部。本刊承揽广告业务, 欢迎各界广为利用。

通讯地址: 哈尔滨市东北农业大学《中国马铃薯》编辑部

邮 编: 150030 电 话: 0451-55190739 55190003