

# 马铃薯试管苗快繁过程中的污染及解决办法

陈远达，辛国斌

(重庆北碚区勉仁生物公司，重庆 400700)

中图分类号：S532

文献标识码：B

文章编号：1672-3635 (2003) 04-239-01

试管苗在组织培养快繁体系中常常发生污染情况，轻者影响繁殖计划，影响当季的马铃薯生产，重者造成珍贵的脱毒品种丢失，组培室体系的瘫痪。故试管苗污染这一问题一直是困扰工厂快繁工作的关键，特别在高温高湿的夏天，尤为重要。作者根据多年的生产实践及研究大量相关资料，总结以下心得，以供同仁相互交流借鉴。

从污染产生的病原来看主要是真菌与细菌两类。细菌污染的培养基表面是接种 1~2 d 即可发现，呈黄色粘液状或半透明膜状，主要是由于材料本身带菌或培养基灭菌不彻底造成成批接种材料被污染。另外也可能因接种人员的不慎造成细菌污染。真菌污染特点病征表现时间较长，初期有如针状的霉斑，造成真菌污染的原因多是培养环境不清洁，接种人员操作不当造成。

要解决污染问题，首先组织培养人员必须分清哪些物品或部位是有菌的，那些物品或部位算是无菌的，这样才能使组培工作人员心中有数，才能做到严格的无菌操作。有菌的一般指：凡首先暴露在空气中的物品（未经处理的），曾经接触过自然水源的物品，这些毫无例外都是带菌的。针对组织培养而言，未灭菌的培养基及器皿与灭菌后从蒸气锅取出的器皿表面以及各种未作处理的双手和外植体均是带菌的。而无菌的一般指：经过火焰高温灼烧或彻底灭菌过后的物体，经其他物理的或化学的灭菌方法处理后物体是无菌的。就这两个范围来讲，组织培养过程中尽量将有菌的物体经处理转化为无菌的物体，这是组织培养的一大特点。

现在，笔者就依据组织培养快繁流程如何尽量做到无菌培养。

首先，在采取外植体时，可以将外植体用自来水反复冲洗干净后插入无糖的营养液或自来水中并放置于干净处。让其抽出新枝条，再将新抽嫩枝（芽）作为外植体，另外在晴天的下午采外植体也可以明显减少污染。

其次，在处理外植体时，应注意药品的选用和使用方法：先用自来水作长时间冲洗，然后用 75% 的酒精，滴加几滴吐温，进行浸润 10~30 s，然后用无菌水冲洗 3~5 次，再根据材料老嫩用 0.1% HgCl 浸泡 4~10 s。最后用无菌水反复冲洗 5 次，便可以接种了。

第三，培养基及器皿的灭菌也很关键。首先，应保证器皿的清洁，瓶壁不挂水珠，干热灭菌后取拿器皿尽量不接触器皿内壁。如培养基器皿的壁厚或容量大者应适当延长 5 min；其次，在灭菌时，冷空气应充分放尽，否则易造成相对高压低温现象，从而达不到灭菌的目的。为了防止高压锅内气流冲脱封口膜（牛皮纸），故应当扎紧瓶口。尽管培养基在高压锅内是无菌的，但一离开高压锅，许多空气细菌就会附着在高湿的器皿上，故一定要看封口膜（牛皮纸）是否有破损之处，有则，毫不吝惜地扔掉。拿出高压锅的器皿会“惹”上病菌，故可放在紫外线下照射 20 min，以减少病菌量。

第四，接种室及其接种操作是无菌培养即减少污染的关键之关键。首先，应形成清洁卫生的好习惯，用固定专用拖鞋及其衣服，可避免因走动引“菌雾”，另外应该定期对组培室、接种室进行熏蒸（高锰酸钾+甲醛），喷雾（酒精+HgCl），其次，在接种操作时，预先鼓风 30 min，用以吹散工作台的有菌空气，并且，工作台上堆码的物品不宜过

收稿日期：2002-11-20

中国知网 <http://www.cnki.net> 陈远达，辛国斌，主要从事马铃薯组织培养研究。

# 马铃薯组织培养苗的标准化培育

李清萍

(甘肃省定西地区旱农科研推广中心, 定西 743000)

中图分类号: S532

文献标识码: B

文章编号: 1672-3635 (2003) 04-240-02

## 1 前言

马铃薯组织培养苗(组培苗)应用于生产, 由于它具有繁殖速度快, 生长整齐一致, 高产优质, 性状稳定和便于运输等优点, 所有生产马铃薯的主要国家都采用这一技术。为了长期保持优良品种的生产潜力, 生产无病毒基础种, 其组培苗的培育是种薯生产的基础, 并可源源不断地为生产提供优质种薯。因此种苗的发展增长迅速, 生产厂家也相应的不断涌现, 大到科研院所, 小到私人企业, 生产的种苗出现混乱, 质量无法保证。为确保种植者和生产组培苗厂家的利益, 充分且持续利用马铃薯组织培养苗的优点来加速实现我国马铃薯良种繁育体系的完善, 标准化、规格化、规范化培育马铃薯组培苗是急需解决的问题。

## 2 马铃薯组培苗的培育技术标准化

在马铃薯组培苗商品化生产过程中, 必须定时、定量的为种植户提供优质种苗, 所以必须把生

产种苗的整套技术用数量化指标表示出来, 形成标准化的培育生产技术。整套的生产技术包括: 外植体部位、消毒方法、培养基成分、单位培养材料所需培养基量、切割转移技术、培养条件、继代培养周期和增殖倍率, 经过多年的研究、实践和商品化生产基础上, 我们总结了马铃薯标准化组织培养快繁技术。

**外植体:** 剪取经过热处理的发芽块茎的茎尖 1~2 cm, 清水漂洗, 剥去外面叶片。

**消毒方法:** 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 8~10 min, 无菌水冲洗 4~5 次。

**诱导培养基:** MS + GA<sub>3</sub> 0.2 + NAA 0.55 + BA 0.5。

**生根培养基:** MS 基本培养基。

**检测培养植株脱毒效果:** 电子显微镜检测、血清学检测或指示植物接种检测。

**快繁所需培养基:** 1.7 ml/每个芽。

**继代培养周期:** 20~30 d。

**快繁切割技术:** 以带一个腋芽的茎段为一个单位, 剔除异常芽。

**繁殖系数:** 3~4/继代周期。

**培养条件:** 温度: 25~27 °C, 光照强度: 2000~3000 lx, 每日光照: 10~12 h。

收稿日期: 2003-01-20

**作者简介:** 李清萍 (1969-), 女, 农艺师, 从事马铃薯组培苗快繁生产工作。

多, 否则会影响超净工作台工作无菌气流。接种时先用酒精擦洗双手与超净工作台, 然后进行操作。为了加快接种速度又能达到无菌操作, 可以采用两套接种工具——镊子与剪刀。一套在接种时另一套在酒精火焰上灼烧。操作时, 转接瓶及被转接瓶等应紧挨酒精灯, 而且, 手千万不要在器皿上方晃动, 否则可能会有不安分的病菌飞入器皿, 造成污染, 另外, 使用镊子时一定要让其烧烫, 并且镊子

在接种的过程中不要上下滑动, 以免手上的细菌掉入瓶中。更重要的是不管超净工作台是平行风还是垂直风, 一定要在下风方向操作, 那样就可最大限度避免病菌顺风飘入器皿。

以上是在组培室应该注意的问题, 如果每步都做到细心有效操作, 在快繁中污染问题将得到良好解决, 但如一步不慎的话, 可能会带来严重的后果。所以一定要慎重每一环节, 切实做到无菌操作。