

# 简化免消毒 MS 培养基研究初报

毛彦芝

(黑龙江省农业科学院克山分院, 克山 161606)

**摘要:** 通过几种抑菌剂的筛选、药剂浓度试验、药剂混合使用试验, 筛选出了一种混剂能有效控制 MS 培养基中杂菌药剂, 使马铃薯脱毒苗扩繁过程省时、消耗少、提高扩繁工作效率。

**关键词:** 免消毒; 培养基

中图分类号: Q813.1<sup>+</sup>2

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2008)06-0013-02

## Primary Sudy on the Culture Medium of Free Disinfection

MAO Yan-zhi

(Keshan Sub-academy of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Keshan 161606)

**Abstract:** After several kinds of bacteriostats screening, concentration experiment, a kind of admixture that could effectively control fungi and bacteria of MS culture medium was screened, which could make the process of virus-free tube potato plantlets procreation save time, consume less and improve the efficiency of work.

**Key words:** free disinfection; culture medium

马铃薯是一种分布广泛、适应性强、产量高、营养丰富、粮菜兼用的作物,但在大田生产中极易受到病毒的侵染,导致马铃薯品质下降和产量降低。目前,主要采用茎尖剥离组织培养的方法得到无毒试管苗,然后继代扩繁获得一定量的基础苗,最后在网棚种植才可得到脱毒种薯。茎尖剥离和继代扩繁都需要严格的无菌操作,灭菌过程复杂、繁琐,还需要必须的设备如:超净工作台、高压灭菌器等,而且消耗大量电能,这些既增加了组培成本,又降低了生产效率,限制了组培技术的推广和经济效益的提高。更严重的是如果灭菌过程稍有疏忽就会造成严重的污染,而且还有可能导致组织培养过程的中断,造成无可挽回的损失。我们在工作中收集实际操作过程中污染的培养基,从菌落外观上看大致有四种:培养基表面绿色霉菌,深入培养基内部的为红棕色;培养基表面为黑色和白色菌丝,培养基内部为褐色;黄色浓状细菌;培养基表面绿色菌丝伴有浓状细菌。目前使用的农药中有很多广谱型药剂可抑制多种真、细菌的生长。本试验就是通过选择市场上杀菌谱广的抑制真菌的药剂和可以抑制多种细菌的药剂,筛选对 MS 培养基中杂菌有有效抑制效果药剂。

2006 年将初步把药剂配置成 10 倍的浓度药液直接倒入污染的试管苗中,看其抑菌效果。从七种真菌抑制剂中选择出两种效果较好的药剂。从三种细菌抑制剂中选择出一种较好的药剂。2007 年经多次多浓度梯度的药剂单一使用试验确定出一种效果最好的真菌抑制剂,一种效果最好的细菌抑制剂,并做的两种药剂混合使用试验。2008 年大致确定了两种药剂混合使用浓度。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验药剂:抑菌 A, 抑菌 B;培养基:MS 培养基;马铃薯为克新 1 号试管苗,克山分院保存。

### 1.2 试验方法

1.2.1 处理 (1)MS 培养基+0.6 g·L<sup>-1</sup> 抑菌 A +0.8 g·L<sup>-1</sup> 抑菌 B, (2)MS 培养基+0.4 g·L<sup>-1</sup> 抑菌 A+0.8 g·L<sup>-1</sup> 抑菌 B, (3)MS 培养基+0.8 g·L<sup>-1</sup> 抑菌 A+0.4 g·L<sup>-1</sup> 抑菌 B, 处理 4(对照为经高压灭菌的 MS 培养基)。

1.2.2 试验方法 配置 MS 培养基 500 mL。每个处理 30 只试管,每只试管内灌培养基 5 mL,10 只一组绑好直立在操作台上,培养基冷却后,即可扩繁。对照为经高压灭菌的 MS 培养基,每只试管内 5 mL 培养基,共 30 只。

免消毒培养基扩繁过程:灌好的培养基完全冷

收稿日期:2008-05-19

作者简介:毛彦芝(1979),女,黑龙江省巴彦人,学士,硕士,从事马铃薯脱毒、扩繁、病毒检测的研究。Tel:13845257748, 0452-8950242; E-mail: kshpotato@163.com。

却后,用酒精擦试验台、钩子、剪刀一次。即打开棉塞,切茎段,进行扩繁。每转一只试管,器材无须经过酒精灯灼烧,即可进行下只试管的操作,实验室内允许通风。

经高压灭菌培养基操作过程:接种室用 75%酒精做降尘处理。高压灭菌冷却后的培养基、酒精灯、钩子、剪刀、试管苗等放到超净工作台内,打开紫外线消毒灯照射 30 min,消毒完毕关灯,通风 30 min,进行扩繁。工作人员进入无菌室前要洗手,换上专门的工作服并带上口罩,工作台面及台壁用 75%的酒精擦拭,每转一次钩子、剪刀要沾上酒精在酒精灯上灼烧一次。操作时不允许有人走动,室内不允许通风。

1.2.3 培养条件 白天 23~25℃,夜间 16~20℃,光照 16 h,光强 2 000~3 000 lx。每隔 7 d 每个随机抽取 10 只试管调查一次,调查项目:污染率、平均株高、可用繁殖节数、平均根数、平均根长等。

2 结果与分析

从表 1 可以看出,三个处理均无污染,在此培养条件下常规消毒 MS 培养基,如果操作不严格就会出现真菌或细菌污染,可见此药剂组合在初期抑菌效果很好。

表 1 培养 1 周污染率调查

处理	1	2	3	4
污染率/%	0	0	0	0

表 2 培养 1 周植株生长情况调查

处理	平均株高/cm	平均节间数	平均根长/cm	平均根数/条
1	1.15	1.00	0	0
2	0.94	1.00	0	0
3	1.14	1.00	0	0
4	1.59	1.48	1.30	3.13

从表 2 可以看出,培养初期此药剂对马铃薯脱毒试管苗的生根有抑制作用,培养 1 周后处理 4(对照)的根长为 1.30 cm,但其他三个药剂处理都未生根,在调查时发现根部只是增粗了,略见突起。表现最差的处理 2 的平均株高要比处理 4(对照)矮 0.65 cm,节间数比处理 4(对照)的少 0.48 个。从总体的平均株高和平均节间数可以看出此药剂组合影响马铃薯植株的前期生长。

表 3 培养 2 周污染率调查

处理	1	2	3	4
污染率/%	0	0	0	0

从表 3 可见,培养 2 周此药剂抑菌效果很好,未见污染。

表 4 培养 2 周植株生长情况调查

处理	平均株高/cm	平均节间数	平均根长/cm	平均根数/条
1	2.01	2.55	0.22	2.80
2	2.41	2.51	1.15	3.99
3	2.15	2.41	0.34	2.19
4	3.54	2.47	1.64	3.60

由表 4 得知,培养 2 周后用药剂处理的培养基的植株可以生根,植株也可以正常生长,但三个处理的株高均低于处理 4(对照),三个处理中植株平均株高表现最好的处理 2 也比对照矮 1.14 cm。从三个处理的平均节间数可以看出三个处理中有两个处理的平均节间数略高于对照,可见此药剂对马铃薯植株节间生长无抑制作用。此培养基未经高温高压消毒处理,使某些营养成分可能会更好地发挥作用。

表 5 培养 3 周污染率调查

处理	1	2	3	4
污染率/%	3.33	10	3.33	0

从表 5 可见,培养 2 周后处理 2 的污染率达 10%,在常规的脱毒苗扩繁中,一般污染率为 5%左右,处理 2 长期抑菌效果不好。处理 1 和 3 的污染率为 3.33%,基本和常规高温高压消毒的一致。

从表 6 可以看出,在培养 3 周后处理 1 的平均株高表现最好,超过培养 2 周时表现最好的处理 2,但与对照相比要矮 3.17 cm,可见此药剂组合对马铃薯植株的生长抑制严重。从平均节间数可知,三个处理的平均节间数与处理 4(对照)相比相差不大,节间最少的处理 3 和对照相比相差 0.81 节。

表 6 培养 3 周植株生长情况调查

处理	平均株高/cm	平均节间数	平均根长/cm	平均根数/条
1	3.93	3.20	2.06	4.56
2	3.47	3.22	0.80	5.3
3	3.08	3.02	0.88	4.62
4	7.10	3.83	4.92	6.67

从表 7 可见三个处理中只有处理 3 的抑菌效果最好,在培养 4 周后污染率为 6.67%,基本上与常规高温高压灭菌的污染率相当。与本次试验的对照相比要高 3.34 个百分点,但这次试验每个处理的试管数只有 30 只,也就是比对照多污染一只试管,处理 3 还需要多做些试管继续验证其污染情况。

表 7 培养 4 周污染率调查

处理	1	2	3	4
污染率/%	30	50	6.67	3.33

马铃薯植株培养 4 周已成苗,作为需要再进行扩繁的脱毒苗,可以再进行下一次扩繁。从表 8 可见,总体上处理 3 的效果最好。但平均株高为 5.69 cm,而对照的为 7.60 cm,要比处理 4(对照)矮 2.09 cm。可以确定此药剂组合对马铃薯植株的株高的

# 鲁加 6 号柱型苹果生根的研究

张汝刚, 祝 军  
(青岛 农业大学, 青岛 266109)

**摘要:** 通过对影响生根的生长素种类和浓度等因素的研究, 确定了柱型苹果鲁加 6 号最佳生根生长素组合, 即:  $1/2MS+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IAA}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IBA}$ 。试验结果表明, 鲁加 6 号生根率可达 100%, 平均生根数达到 8.9 根。IAA 和 IBA 组合处理的组培苗生根质量明显比单一生长素处理好。正交试验结果表明, 影响鲁加 6 号生根的主次因素顺序为  $\text{IAA}>\text{IBA}>\text{NAA}$ 。

**关键词:** 柱型苹果; 鲁加 6 号; 生根

中图分类号: S661.1      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2008)06-0015-04

## Study of Rooting in Columnar Apple Lujia No. 6

ZHANG Ru-gang ZHU Jun  
(Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109)

**Abstract:** The hormone such as type and concentration on rooting has been studied in columnar apple Lujia No. 6. The optimal rooting medium of columnar apple Lujia No. 6 has been chosen, that was  $1/2MS+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IAA}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IBA}$ . The results indicated the treatment with combination of IAA and IBA was the best. In the

收稿日期: 2008-04-30  
第一作者简介: 张汝刚(1980-), 男, 山东省潍坊人, 硕士, 主要从事苹果转基因研究。E-mail: 7330500@163.com.

生长抑制严重。从平均根长可见处理 3 的平均根长要比处理 4(对照)短 1.63 cm, 平均根数也要比处理 4(对照)少 0.96 条, 茎粗也比处理 4(对照)细 0.017 mm。但处理 3 的平均节间数要比处理 4(对照)多 0.55 个, 这对进一步扩繁有重要的意义, 木质化程度要好于对照。

表 8 培养 4 周植株生长情况调查

处理	平均株高/ cm	平均节间数	平均根长/ cm	平均根数/ 条	茎粗/ mm	木质化程度
1	5.31	3.87	4.83	6.38	0.084	强
2	5.08	4.50	3.91	5.56	0.070	强
3	5.69	5.29	4.44	6.29	0.081	强
4	7.60	4.75	6.07	7.25	0.098	弱

注: 木质化程度指脱毒苗茎秆的硬度。

### 3 讨论

从整个马铃薯脱毒试管苗生长过程看, 由以上各调查表可知处理 3(MS 培养基+ $0.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  抑菌 A +  $0.4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  抑菌 B) 的抑菌效果较好, 但总体看此药剂组合对马铃薯脱毒试管苗的生长有抑制作用。从成苗的第四周调查(见表 8)可得出, 此药剂对马铃薯脱毒试管苗的节间的生长要好于常规的对照, 这对进一步试管苗扩繁有很大意义。木质化程度也好于对照, 这对假植有很大的意义。在常规的脱毒试管苗生产的过程中, 在假植前生长 4 周左右的试管苗都要进行处理, 提高木质化程度才可以假植, 药剂处理免消毒培养的试管苗木质化程度基本和处理后的常规试管苗的木质化

程度持平。这又可大大简化脱毒薯生产程序。

存在的问题: ①本试验是基本确定了有效抑菌剂的种类和大致使用浓度, 但参选的药剂不是很多, 还应参照有效药剂的有效成分, 继续筛选, 看是否有更好的药剂。②本试验一直用一个品种的马铃薯脱毒试管苗, 还应选择其它的马铃薯品种做进一步试验。验证此药剂组合是否对马铃薯品种有选择性。③本试验得出的有效浓度只是一个大致浓度, 还要做精确浓度试验。④试验中每个处理做的试管苗管数也不是很多。还应做处理 3 的大批量试验。⑤试验一直用马铃薯脱毒试管苗, 本身是无菌的。如果用免消毒方法继代繁殖下去, 杂菌侵入率逐渐升高, 污染率是否会提高也应探讨。