

组培袋在组织培养中的应用

张军云¹, 冯斌²

(1.玉溪市农业科学研究所, 云南 玉溪 653100; 2.中国农业展览馆, 北京 朝阳区 100026)

1 国内外塑料制品在组织培养中的应用情况

传统的植物组织培养虽有其自身的强大优势,但也存在诸多不利之处,如由于采用高度实验化方法费用高,为了对每个品种获得最适宜的效果,需要不断研究;需要先进技术、专用仪器设备和容器,特别是培养容器要求严格,为了适应植物快繁的需要,目前较多采用耐高温高压的玻璃制品如罐头瓶或 PVC 材料培养瓶,前者易破损,后者材料昂贵购买成本高,其优点是开口大,便于操作,空间大,气体条件好,利于植物生长。

各种不同类型的容器都可用来培养植物材料,在有些情况下容器的选择取决于实验性质和生产用途,另一些情况下则是取决于是否方便及研究、生产工作者的爱好。一般的组培工厂中玻璃培养瓶是广泛应用的容器,各种大小的广口瓶、牛奶瓶、罐头瓶等均可在生产中利用。但在组培中只应使用硼硅酸盐玻璃容器,钠玻璃对某些植物材料组织可能是有毒的,重复使用更加明显。

目前在很多组培工厂内,玻璃培养容器和制备培养基所需的其他玻璃器皿都被塑料器皿取代,有些塑料容器可以进行高压灭菌,有些塑料容器(特别是用于原生质体、细胞培养的容器)在出厂时即是无菌的,这种一次性消耗品在国外已得到普遍应用,在国内也有生产应用。在培养中,使用塑料容器或带帽的玻璃瓶除具有方便的优点之外,还具有可重复使用无需另外配盖的优点。而现在生产中使用罐头瓶并用塑

料或塑料盖封口以橡皮圈箍扎虽是一种经济有效的方法,但这种封口方法费时费事,不利于提高效率。近几年在国内外流行一种新型的聚丙烯透明塑料袋,该塑料袋可进行高压灭菌,可作为组培容器使用。为此,我们购进聚丙烯组培袋进行有关组培试验应用。

2 聚丙烯组培袋在组织培养中的应用

2.1 聚丙烯组培袋

该组培袋由耐高温高压的聚丙烯材料生产而成,国内有专门的企业生产,目前广东、海南香蕉组培生产企业使用较多,它具有使用方便,操作简单,方便运输的优点,规格有 12 cm×15 cm、14 cm×20 cm、10 cm×15 cm 等,可根据自己的要求定做。

2.2 培养基分装与高压灭菌

2.2.1 培养基分装

按传统的方法将配好的培养基分装到培养容器中,关键是控制培养基的厚度,不宜过厚或过薄,具体用量根据培养时间和培养容器容积确定,一般培养时间 25~30 天,容积 200 ml 的罐头瓶,分装培养基的量为 30 ml。组培袋分装培养基时,先将袋口搓开,用胶管进行灌装,将胶管引入袋底注入培养基,由于塑料组培袋薄软分装后难于固定,因此灭菌时先装入

表 1 组培袋培养基分装量试验对比

分装量 (ml/袋)	分装 (袋/L)	灭菌效果	培养效果
10	100	良好	材料生长弱, 培养基被吸收干
15	66	培养基浸出较少	正常
20	50	培养基浸出较多	正常

注:培养时间为 25 天。

合适的容器中固定密封后灭菌。

由表 1 可知,培养基分装量以 15 ml/袋为宜,有利于灭菌且培养基不浸出组培袋,也不影响植物材料的正常生长。

通过使用组培袋,每升培养基的分装量比使用玻

表 2 组培袋与玻璃容器培养基配制环节对比

项目	培养基分装量(袋、瓶/L)	培养基灭菌(袋、瓶/锅)	培养基准备的劳动量(袋、瓶/人/天)
组培袋	66	320	1 280
玻璃容器	33	102	816

璃罐头瓶分装量增加 1 倍,灭菌量可提高 3 倍,培养基配制准备时每人每天的劳动效率增加 1.57 倍(见表 2)。

2.2.2 培养基高压灭菌

要防止微生物污染,应将培养瓶置于高压灭菌锅中,在 1.1 kg/m² 压力下 (121℃) 消毒才能达到杀菌作用,灭菌作用取决于温度而不直接取决于压力。培养基高压灭菌的时间由容器体积而定。通常 200~300 ml 的培养瓶需杀菌 20~30 分钟。灭菌时间要严格控制,不宜过长,否则培养基不能凝固或导致一些成分失效。

高压灭菌在组培快繁中既费时又耗电,但却是不可忽视的步骤,从高压锅的培养基灭菌量看,使用组培袋后既不影响灭菌效果又可使效率提高 4 倍,节约耗电 75.05%,因此在培养基灭菌这一环节可减少高压灭菌锅的设备投入和节省耗电,明显降低组培设备投资费用(表 3)。

2.3 培养环节

培养室是放置培养物的场所,是组培苗的培育车间,培养室内整齐地安放若干个培养架,培养架的高度可根据培养室的高度或使用的方便来设定,由于培养期间不需太多照看,这样可充分利用空间。通常架子高度以不用站凳子手能拿到瓶子为宜,一般每个架

表 3 组培袋与瓶装培养基灭菌效果比较

项目	灭菌量(袋、瓶/锅)	耗电量(度/瓶、袋)	灭菌效果
瓶装培养基	80	0.0 938	凝固正常无菌
组培袋培养基	320	0.0 234	凝固正常无菌,少浸出
组培袋效率(倍)	+ 4.0	- 4.0	

注:玻璃瓶体积 300 ml,灭菌计时 25 分钟。- 表示降低, + 表示节省或提高。

高 200 cm, 设 6 层, 每 35 cm 为一层, 最下层离地 15~20 cm, 架宽 50 cm, 长度 100~130 cm, 架上安装 1~2 盏日光灯, 占地 0.5 m²。每层架可放置 200 ml 的罐头瓶 6~7 行, 每行 12~13 瓶, 总计 72~91 个瓶子。这样一个 20 m² 的培养室除去管理过道后, 可放置 15~18 个培养架, 能放置 9 828 个瓶子。而采用组培袋后, 每层可放置袋子 10 行, 每行 30 个袋子, 总计可达 300 袋, 每个培养室最多可放置 32 400 袋(见表 4)。可见使用组培袋可减少 2/3 的培养空间或培养架使用。

同时, 通过使用组培袋后能有效地控制污染, 污染率明显下降, 在冬春季气温较低的少雨季节污染可控制在 10% 以内, 而在夏秋季高温多雨季节也不超过 16%, 污染率明显降低 6.42~29.82 个百分点, 大大提高了组培生产效率。虽然增殖倍数(率)略有下降, 但由于污染减少足以弥补增殖率的下降, 因此组培袋在高温季节对控制污染是较有利的措施(见表 4)。

2.4 生产成本

组培繁殖中使用大量培养器皿, 少则数千, 多则上万, 投资大, 加上这些器皿易损耗, 故费用较大。据有关报道, 此项开支占成本的 1/6~1/4。如使用三角瓶, 每个按 0.60~0.80 元计算, 用 10 000 个则需投资 0.6~0.8 万元, 使用过程中会损坏, 在生产季节每月按 5% 损耗计算, 每年损耗 20%~30% 计算, 费用达 0.18~0.24 万元。大量使用三角烧瓶, 无疑是成本过高

表 4 组培袋与罐头瓶在培养室中各项参数对比

项目	增殖培养效果(增殖倍数)	污染率(%/周期)	培养室耗电(度/m ²)	每层放置增殖苗(袋、瓶)	生根苗移栽成活率(%)	容器数量/20 m ² 培养室(袋、瓶)
组培袋	1.93~2.28	8.87~15.98	0.027	300	89.7	32 400
玻璃容器	1.95~2.55	15.29~45.8	0.087	91	93.5	9 828
组培袋比玻璃容器	- 0.02~0.27	- 6.42~29.82	- 2.22 倍	+ 2.30 倍	- 4.8	+ 2.30 倍

注: 培养周期以 25 天为 1 周期。- 表示降低, + 表示节省或提高。

做强蚕业科技 促进蚕业发展

丁善明, 夏培康, 丁志伟

(云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所, 云南 蒙自 661101)

1 云南蚕业科技发展现状

云南蚕业科技推广的骨干为各级蚕桑站, 目前全省有蚕桑站 26 个, 管理和技术服务从业人员 6 000 多人, 其中高级技术人员 60 人, 中级技术人员 316 人, 其他人员 5 512 人。共有普种场 4 个, 家蚕原种场 1 个, 缫丝企业 12 家, 从事蚕桑研究的科研单位主要

有云南省农科院蚕蜂所 (也是云南省唯一的专业研究所); 有云南农大和楚雄农校 2 个教学单位, 形成了较为完整的科技服务体系, 具备了一定的科技人才基础。“十五”期间, 全省推广优良家蚕品种 210 多万张, 产鲜茧 6 万多 t; 推广优良桑品种 3.2 万 hm²; 推广了大蚕活动蚕台育、方格簇上簇、桑园杂交桑嫁接快速成园法等一批适用新技术, 为云南蚕业稳步发展作出了贡献。

云南省农科院蚕桑蜜蜂研究所立足于自主创新, 以市场为导向, 加大对科研和产业化开发的研究力

收稿日期: 2007-05-25

表 5 不同组培容器快繁种苗生产比较

项目	组培袋		玻璃容器	
	费用 (元/袋)	占生产成 本比例 (%)	费用 (元/瓶)	占生产成 本比例 (%)
工资	0.144	44.2	0.144	37.2
水电费	0.027	8.3	0.096	24.8
仪器折旧费	0.115	35.2	0.115	29.7
培养基	0.016	4.9	0.025	6.5
培养瓶、袋	0.024	7.4	0.007	1.8
合计	0.326		0.387	

注: 培养瓶费用是一次投资 120 个月的分摊计算。同样产量下工资和折旧费是相同的。

的因素之一, 现在有些单位改用 250~500 ml 的果酱瓶、收购的旧罐头瓶, 其成本仅为三角瓶的 1/8~1/15, 但由于瓶子在灭菌中又有少量会破损, 仍然是一项较大的消耗。

水电费特别是电费在试管苗总的生产成本中占较大比重, 据报道少则占 1/8, 多则占 1/3, 最高达 2/3; 玉溪市农科所的中心实验室目前有 1 台高压锅, 1 个培养室有 10 个培养架共有日光灯 35 盏和 3 000W

的电炉, 每 3 天的耗电量是 100 度, 每月 1 000 度, 则每月电费合计为 400 元; 同样在玉溪市农科所的香蕉试管苗生产基地则用电量更大, 每月均在 1 200~1 500 元, 与 5 个人工工资的费用是一样的, 因此, 节省水电开支也是降低成本的重要问题。

经比较, 组培袋除工资、折旧占 80% 外, 其余部分中组培袋与培养瓶相比电费所占成本减少 16.5 个百分点, 培养基减少 1.6 个百分点, 但容器成本增加 5.6 个百分点, 原因是计算时培养瓶是一次性投资后进行分摊所形成, 但组培袋为一次性使用, 因此成本比例较大, 但总成本由培养瓶的 0.387 元减至组培袋的 0.326 元, 减少 15.76% (表 5)。表 5 仅从投入生产的费用考虑, 实际生产中若把减少的污染损失部分 (6.42~29.82 个百分点) 的成本计算在内, 这部分的增殖或成苗都将形成效益。由此可见, 每个月培养规模在上万袋或瓶的生产车间, 将有较大的降低成本的空间。

3 结束语

试验结果表明, 组培袋能够实现组培苗的批量生产, 提高组培苗的生产效率, 是对组培苗生产方式的一次有益探索, 对以后组培苗的生产将起到积极影响。