

花卉组织培养中污染的发生与防治

屈云慧, 杨春梅, 蒋亚莲

(云南省农业科学院 花卉研究所, 云南 昆明 650205)

摘要:组织培养是花卉种苗快繁的重要手段。现就多年从事花卉组培快繁技术研究及规模化生产组织中所遇到的问题和工作经验, 论述组培中污染的发生与防治方法。

关键词:花卉; 组织培养; 污染

中图分类号:S 68.03.6 **文献标识码:**B

文章编号:1001-0009(2007)08-0188-02

近年来, 植物组织培养技术在许多国家已广泛应用于花卉的快速繁殖及种苗生产, 组培快繁技术的规模化应用在我国花卉产业的发展进程中起到了重要的作用。但在花卉组培技术的应用中, 污染是难以防治的问题, 很多组培室常常由于培养材料污染的原因, 造成植株生长不正常和生产成本的提高, 从而严重影响正常种苗的快繁生产。

1 污染的来源及可能的传播方式

在组织培养过程中, 常造成污染威胁的菌类, 称为培养菌类。污染后, 常使培养基的 pH 降低, 植物无法生长或产生有毒物质, 使得植物生长缓慢, 有的污染源干脆就在植物上生长。常见的污染源主要有:

真菌:真菌会产生孢子, 随着空气飘散。一旦落于适当的环境下, 一粒小小的孢子便会扩大成一个菌落, 污染整个培养瓶。污染的来源于空气。

植物病原细菌:存在于空气或外植体的伤口。常分布在外植体表面或内部, 经人力、气流、水及昆虫等传播。

病毒和类病毒:常存在植物内部, 并利用机械或载体传播。

螨或蓟马:具有活动能力, 喜欢吃菌丝。来源于培养间墙壁、角落。使用较久的组培室中常出现这种问题。

2 污染形成的原因及表现的形式

2.1 外在污染源

由螨或空气中微生物造成的污染, 表现的方式是散乱的, 不集中于某一个地方, 占的百分比也不一定, 呈机率性。一般情况下, 这种污染除了外植体本身带来的

外, 最有可能来源于操作间。在接种操作过程中, 没有经过过滤的空气带有大量的微生物, 会随操作人员和植株接触时污染培养瓶。所以在组培快繁生产的过程中, 操作间的空气清洁度至关重要。需要定期进行杀菌处理, 以保证没有易培养的微生物和为害作物的主要病原菌存在。

2.2 灭菌设施或技术不完善

由于灭菌设施或灭菌技术不完善导致的污染, 表现为带状性。即表现为一批培养材料、一批培养容器污染或某个操作台所

生产的植株都被污染。

2.3 人员

在整个组培操作间中, 操作人员是最大的带菌者。毛发、衣服、手等都隐藏着大量的细菌。所以在进入操作间前, 操作人员必须进行清洁处理, 换上拖鞋、工作服, 并勤洗手。

2.4 细缝的存在

操作间中细缝的存在, 会使外界气体直接流入, 使空气中的菌数增加。

2.5 无菌操作台

操作台的滤网因为使用过久或保养不当, 会直接造成滤网损坏; 工作台的风速达不到要求或电压不稳, 都可能产生更多的污染。

2.6 接种过程中污染

在接种过程中, 培养瓶外和外界气体交换时, 会有污染进入。污染机率取决于空气中带菌密度与组培瓶空气交换率。

3 污染种类的鉴别及防治方法

3.1 在培养基中有可见的菌落

一些容易培养的菌类生长迅速, 会很快蔓延整个组培瓶。这类污染可在工作人员每天的检查中及时发现并随时销毁, 对整批植株生产造成的威胁并不大。

3.2 潜藏的菌落(潜在性污染)的来源

在组织培养中有些不易培养或是在植物内部寄生或共生的菌类或病原菌, 由于在继代培养时没有表现出来, 或只有很微弱的表现不易被察觉出来, 对整批植株的培养会造成重大的威胁。这需要检查的工作人员有较丰富的经验和辨别能力, 以便及早发现, 及时处理。

3.3 针对污染源常使用的防治方法及防治效果

3.3.1 利用抗生素 这是目前较常用的方法。使用抗生素时, 需注意下列事项: 需对症下药。要决定最小抑制浓度, 以降低成本。要确定抗生素不会对植物造成病

第一作者简介:屈云慧(1972-), 女, 云南大理人, 副研究员, 一直从事花卉组织培养及花卉生物技术育种研究。E-mail: quyunhui@yahoo.com.cn.

基金项目:云南省自然科学基金资助项目(2003C0028Q)。

收稿日期:2007-03-09

大理百合 (*Lilium taliense* Franch) 为百合科百合属植物, 多年生草本, 为中国特有种。花白色, 有紫色斑点, 花被片反卷。一般百合花顶成总状花序, 通常 1~4 朵, 大理百合单株着花量多达 30~40 朵, 在百合中堪称出类拔萃。大理百合既可食用, 也可观赏, 同时还具有药用价值, 它含多种活性多糖, 具有镇静、消炎、抗疲劳、改善呼吸功能、增强机体免疫功能^[1]。目前, 绝大多数百合以鳞茎繁殖, 不仅繁殖速度慢, 而且影响百合的食用品质和观赏价值。采用百合组织培养快繁技

术, 有利于大理百合的离体保存, 可使其复壮, 脱毒。关于百合的组织培养, 国内外已进行了大量的研究。最早的是 Dobreaux 等 (1950) 用纯白百合花蕾成功诱导出小

第一作者简介: 张艺萍 (1977-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事组织培养技术和病害控制方面的研究。E-mail: blackfarinj@126.com。

基金项目: 云南省科技计划资助项目 (2006 NG14)。

收稿日期: 2007-03-28

害或突变。确定抗生素在培养基上是否有作用。使用时, 常因需要而多种混合或交替使用。

3.3.2 分生组织培养 主要是针对在植物内部寄主的病原菌。植株顶芽分生组织生长速度较快, 一般没有病原菌的存在。所以由分生组织培养的再生植株可有效避免潜在性污染。

3.3.3 利用培养基中高盐或高糖的浓度 在培养基中有一些高盐或高糖的浓度可抑制微生物生长, 或使用单宁酸也可以达到抑制效果。

3.3.4 利用水浸 在外植体处理过程中, 用流水清洗植株并短时间浸没, 以避免上面污染源的四处扩散。

3.3.5 抽样检测 对培养植株进行定期抽样检测, 将污染严重的个体去除。

4 在组织培养过程各个阶段所应注意事项

先做好一小批产品, 再进入批量生产, 最好每一单位为瓶, 使其各自为独立环境, 在发生污染时所造成的伤害不大。在各培养阶段应注意以下事项。

建立无菌体系: 只要在外植体进瓶阶段, 确保无菌体系的建立, 在培养后期污染的来源就只是来自技术上

大理百合组织培养和快速繁殖

张艺萍, 屈云慧, 吴学尉, 熊 丽

(云南省农业科学院 花卉研究所, 云南 昆明 650205)

摘要: 以大理百合的鳞片切块为外植体, 置于不同激素配比的培养基中培养, 结果表明, 诱导不定芽的培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+GA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 不定芽增殖的最佳培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 诱导不定芽结小鳞茎的培养基为 MS+NAA 1.0 mg/L。

关键词: 大理百合; 鳞片; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 682.1⁺9 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-0009(2007)08-0189-02

鳞茎, 随后 Robb (1957) 进行了两种百合鳞片组培研究。迄今, 国内外组织培养成功的百合种及品种已超过数百个。现以大理百合的鳞片作外植体进行离体培养, 获得了小鳞茎和再生植株^[2]。试验还通过瓶内结球技术, 得到了围径约 3 cm 大小的小鳞茎, 解决了百合试管苗过渡成活率低的问题。通过组织培养技术, 可以加速批量繁殖小鳞茎, 将其培植到适当大小, 部分回到原产地栽植, 还能寻找最适宜该种生长的环境, 建立新的种群基地、保护区, 同时还可对大理百合的开发利用提供一定的基础。

的失误, 容易进行控制。因此在外植体灭菌阶段要将病株去除, 选取幼嫩的组织是较好的选择。

在初期培养过程中, 发现的污染可能会蔓延整瓶培养基, 所以必须及时发现、及时清除。

在继代培养过程中, 及时清除污染的植株, 并重复分生组织的培养。

在每次繁殖操作前需对每瓶培养材料进行仔细观察, 根据污染的发生状况决定操作方法。必要时对培养材料进行取样检查。

5 讨论

在组织培养的过程中, 上流的技术会影响到下流的产量, 污染问题常在整个生产过程中占有较大的比例。污染的有效控制, 与建立一个良好的工作环境, 训练素质优良的员工和无菌体系的建立有直接的联系。

参考文献

- [1] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 138.
- [2] 裘向尚. 花卉试管繁殖 [M]. 台湾: 五洲出版社, 1992: 112-116.
- [3] 熊丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产 [M]. 北京: 化工出版社, 2003: 92, 120-122.