

降低马铃薯脱毒试管苗污染的几个关键措施

蒙蕊学¹, 田振荣², 刘晓云¹, 何亚兰¹

(宁夏西吉县马铃薯生产研究所, 宁夏 西吉 756200)

利用组织培养技术进行马铃薯脱毒试管苗快繁时, 常常会发生污染情况, 特别是在高温高湿的情况下更为突出, 污染瓶苗的菌类主要是细菌和真菌两大类, 细菌污染在接种 1~2 d 即可出现, 表现为黄色、粉液状半透明膜状。菌原主要是材料本身或培养基灭菌不彻底造成污染。真菌污染在初期如针状的雾斑, 以后长出菌丝, 多是培养环境不清洁, 接种人员操作不规范造成。

1 严格无菌操作

要清除菌源, 要求工作人员必须严格无菌操作。带菌物一般是未经物理化学因素处理和与其它物品接触过, 放置在不清洁的地方时间较长, 灭过菌的器皿和培养基放置时间长了同样表面带有菌。无菌的一般是经火焰高温灼烧或彻底灭菌过的或用物理、化学方法处理后的是无菌的。分清这些后, 在操作过程中尽量将有菌的物品处理为无菌的, 这在组织培养中尤为重要。

2 接种前消灭污染菌源

(1) 消灭容器杂菌: 所用容器保证清洁, 瓶壁不挂水珠, 取拿容器尽量不接触内壁。

(2) 消灭水质杂菌: 配制培养基所用的蒸馏水必须是无色透明、无悬浮物, 以减少菌源和避免杂菌滋生蔓延。

(3) 培养基灭菌: 培养基装入高压灭菌锅内灭菌时, 待锅内压力升到 $0.5 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 时打开放汽阀, 将冷空气充分放尽, 否则易造成相对高压、低温现象, 达不到灭菌的目的。然后再关闭放汽阀使压力稳定在

$1.1 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$, 温度为 120°C 下 20 min 灭菌。

(4) 选择无污染培养基: 把高温高压灭菌的培养基置于无菌室在 10°C 条件下 2~3 d, 挑除耐高温高压杂菌污染的培养基后接种。

(5) 接种室杀灭菌源: 每次接种前工作台及室内用紫外线灯照射 20~30 min, 每隔 5~7 d 用甲醛和高锰酸钾按 3:1 熏蒸 10~12 h, 杀灭空气中的污染菌源。

3 接种时操作步骤要规范

(1) 用酒精布擦拭待转瓶苗的外壁消除附着在瓶外壁, 上的杂菌后转入无菌室。

(2) 每次接种时无菌室作降尘处理, 防止尘粒落入瓶口, 工作人员进入无菌室时要洗手换衣并戴口罩, 工作台面及台壁用 75% 的酒精擦拭消毒。

(3) 接种所用镊子、剪刀、支架——从正到反、从外到内在酒精灯的外焰上来回消毒冷即后待用。

(4) 接种时瓶口靠近酒精灯火焰, 每接一瓶所用器械消毒一次。

(5) 台面上尽量少放瓶子保证气流畅通。

4 接种后控制杂菌传播途径

(1) 严禁吸烟和非工作人员出入, 工作人员入内时必须穿戴清洁工作服并套鞋套, 以控制外界杂菌传入无菌区。

(2) 接种后的瓶口用线绳扎紧, 减少瓶内与室内空气的对流, 控制气流传菌途径。

(3) 培养室内光照控制在 2000~3000 lx, 每天 16 h, 温度在 $18\sim25^\circ\text{C}$, 每隔 2~3 d 用甲醛溶液或百菌清洒地消毒一次。

(4) 及时挑除培养室的污苗及污菌, 对污菌集中远距离深埋, 对污苗用高压锅灭菌, 消灭再侵染菌源。

收稿日期: 2006-01-16

作者简介: 蒙蕊学(1972-), 女, 农艺师, 主要从事马铃薯脱毒繁育与推广工作。