

T / NAIA

# 团体标准

T/NAIA ××—2025

## 番茄组培快繁体系技术规程

Technical specification for the tomato rapid propagation  
system

××××-××-××发布

××××-××-××实施

# 番茄快繁体系技术规程

## 前 言

本标准的编写格式符合GB/2020《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写》的要求。

本标准由宁夏大学提出

本标准由宁夏回族自治区农业农村厅归口

本标准主要起草单位：宁夏大学

本标准主要起草人：张雪艳、李浩、王欣怡、滑玲仪、石元敏、熊依伶、杨睿骐、马福平

# 番茄快繁体系技术规程

## 1 范围

本标准规定了番茄快繁脱毒体系的种子预处理、无菌苗诱导、愈伤组织诱导、不定芽诱导、继代增殖、生根培养及炼苗驯化等关键技术流程与操作规范。

本规程适用于宁夏地区设施条件下番茄品种的组织培养快繁与脱毒种苗生产,也可为其它地区番茄品种及茄果类作物的组培繁殖提供技术参考。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB16715.3-2010 瓜菜作物种子 茄果类

GB/T 32741-2016 植物离体培养术语与定义

NY/T 2236-2012 植物组培苗工厂化生产技术规程

NY/T 5010-2016 无公害农产品 种植业产地环境条件

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 番茄快繁体系

以番茄为材料,利用植物组织培养技术,在无菌条件下,通过种子脱毒、愈伤诱导、不定芽诱导、继代增殖、生根培养及炼苗驯化等环节,实现番茄健康种苗高效扩繁的技术体系。该体系具备脱毒彻底、周期短、增殖快、成苗一致性强等特点,适用于设施农业、育种及大规模苗木供应。

### 3.2 愈伤组织诱导

指在适宜的培养基和植物激素条件下,诱导番茄茎尖或胚轴等组织形成愈伤组织,为后续的不定芽诱导及苗木快繁提供基础材料。

### 3.3 不定芽诱导

指通过调控外源激素浓度,使愈伤组织中的潜在细胞重新启动分裂过程,形成具有再生

能力的不定芽簇，是快繁过程中实现多倍增殖的关键步骤。

### 3.4 继代培养

指在组培过程中，将已形成的不定芽或苗条按一定节段切取后，转接至相同或优化后的培养基中继续生长或繁殖的过程。通过多轮继代操作可实现苗木的指数级扩繁，是快繁体系中提高增殖倍数的关键环节。

### 3.5 炼苗驯化

将组培苗移出无菌环境，逐步适应外界自然条件的过渡过程。包括瓶口开启、去除培养基残留、移栽至基质盆栽和控制温湿光等措施，促进组培苗根系发育与功能恢复，提高田间移栽的成活率和适应性。

## 4 生产场地选择

应选择具备良好水源、地势平坦、通风良好、远离污染源的场地，具有稳定电源和温湿光调控条件的组织培养实验室。组培驯化阶段应配备标准温室或炼苗设施，满足苗木脱瓶、生根缓苗、田间移栽等关键过程的环境控制与管理要求。

## 5 生产技术管理

### 5.1 材料的来源

中国农业科学院蔬菜花卉所

### 5.2 材料及设备

原味一号番茄种子、75%酒精、10%NaClO、MS 培养基、洗洁精、各类植物生长调节剂、烧杯、枪状镊、手术剪刀、高压蒸汽灭菌锅、无菌脱脂纱布、解剖镜

### 5.3 消毒培养基的选择

分别使用无菌脱脂纱布、育苗基质以及 MS 为基本培养基，以 10%次氯酸钠为消毒剂，消毒 8-10 分钟，探究不同培养基类型和不同消毒时间对番茄种子萌发和生长状况，筛选出最适培养基。

**纱布培养基：**将无菌脱脂纱布根据培养瓶大小剪下，用消毒过的镊子夹取 3 层在无菌水中浸湿后，置于瓶子底部并铺平，转移至高压蒸汽灭菌锅中，121℃灭菌 30 分钟后放凉备用。

**基质培养基：**将消毒过的育苗基质平铺在组培瓶底部，并用无菌水中浸湿，转移至高压蒸汽灭菌锅中，121℃灭菌 30 分钟后放凉备用。

**MS 培养基：**将配置好的 MS 到于瓶子底部，转移至高压蒸汽灭菌锅中，121℃灭菌 30 分钟后放凉备用。

#### 5.4 种子预处理

挑选当年优良饱满的‘原味一号’番茄种子，将其放入洗洁精溶液中搅拌 15 分钟后用无菌水清洗 5 遍，采用温汤浸种浸泡 30 min。消毒完毕后用消毒过的镊子夹取种子放入灭菌后的烧杯中，注入少量无菌水保湿，放入超净工作台内，以备接种使用。

#### 5.5 接种

以上准备完毕后，于紫外灭菌灯灭菌 30 min 的超净工作台中进行操作，将培养瓶、75%酒精、盛种子的烧杯均用 75%酒精消毒后，置于台面，滤纸吸干种子后，75%酒精处理 30 s，再用无菌水冲洗 2~3 次，0.1%次氯酸钠溶液灭菌 8-10 min，无菌水冲洗 5~6 次，置于消毒烧杯中，用灭菌的镊子将种子转移至培养瓶中，数量由组培瓶大小决定，种子间距 0.5 mm 以上。每次接种前后瓶口一定要灼烧灭菌。

#### 5.6 种子脱毒培养

培养阶段培养室温度控制在 25~28 °C，每天光照 12 小时。光照强度 3000lux，一般接种后 2d 时，种子萌发率 30%，5d 时，萌发率可达 90%以上，进而发育成无菌幼苗。

#### 5.7 愈伤组织诱导培养

剪取适当高度的无菌幼苗，在解剖镜下剥离出茎尖生长点，置于 MS 培养基+6-BA (1.5~2.5mg/L) +IBA (0.25~0.3mg/L) 中进行愈伤诱导，将剥离出的生长点接种到培养皿，每个组合 3 个重复，每个培养皿接种 14 个茎尖。置于温度 25 °C，光照 12 小时，光照强度 3000 lux 环境中，15 天后观察诱导情况。

#### 5.8 不定芽诱导

将诱导出带一定数量芽点的黄绿色愈伤组织。切成小块(注意不要伤到芽点)后转入 MS 培养基+6-BA (2.5~3mg/L) +NAA (0.05~0.15mg/L) 进行培养，每个组合 3 个重复，每个培养皿接种 3 个芽点。置于温度 25 °C，光照 12 小时，光照强度 3000 lux 环境中，15d 后，观察每个芽点的生长状况。

#### 5.9 继代培养

将初代苗剪成带腋芽的茎段转入 MS+IBA (0.05~0.15mg/L) 中继代生根培养，15d 后可生长成株高 10-13cm 的脱毒苗，增殖倍数 可达 4~5 倍，后续不断切分转入同一培养基中增殖即可。

#### 5.10 炼苗驯化

在炼苗驯化前，首先对炼苗场地进行彻底消毒处理，以预防外界病原微生物对组培苗的侵染。选用有效氯含量为 500–1000 mg/L 的次氯酸钠溶液或 0.1%高锰酸钾溶液，对炼苗

温室或驯化室的操作台面、墙壁、地面及育苗器具进行喷洒或擦拭，之后关闭空间闷蒸 2 小时，再通风晾干。组培瓶在进入炼苗阶段前需将瓶口松动并随着时间逐步打开，置于无直射光、温度 22-25℃、相对湿度 80% 以上的环境中进行驯化，为期 3-5 天，使苗体逐渐适应从无菌、高湿到常规外界环境的转变。期间需注意避免强光和气流直吹，以防组培苗水分失衡而萎蔫。

炼苗完成后，选取生根健壮的植株，用无菌镊子取出组培苗，轻轻洗去其根部残留的琼脂培养基，使用无菌蒸馏水或流动清水漂洗，以减少微生物污染和促进根系呼吸。洗净后，将苗体移栽至预先消毒的一次性育苗杯中，基质可选择泥炭：珍珠岩=3:1 的混合基质，并喷施适量多菌灵溶液以预防根部病害。移栽后置于通风良好、光照柔和的环境中，覆盖透明塑料盖或育苗箱保湿，维持昼温 25℃、夜温 18-20℃，相对湿度 85% 左右，逐渐减少覆盖时间，促使苗体适应常规外界生长环境，完成驯化过渡。

## 附录 A

(规范性附录)

## 番茄快繁体系常见问题及应对措施

A.1 番茄快繁体系常见问题及应对措施见表A.1。

表A.1 番茄快繁体系常见问题及应对措施

问题类型	发生规律	表现症状	应对措施
污染污染率高	种子携带内外源微生物、瓶具灭菌不完全或接种过程中手套、器具接触未消毒面，且瓶内湿度大、温度高导致微生物易快速繁殖蔓延	瓶内出现白色棉絮状霉层、黑色球状霉斑或灰绿色斑块，常分布于瓶底、苗基部或培养基表面，严重者苗体腐烂倒伏	(1) 严格执行种子多步消毒流程，包括酒精、次氯酸钠等化学处理，并用无菌水充分漂洗；(2) 所有操作器具高压蒸汽灭菌 121°C/15min；(3) 操作台需每日 75%酒精清洁并紫外照射 30 分钟，操作者穿戴灭菌手套与口罩，防止人源污染；(4) 培养瓶封口使用封口膜，培养环境保持洁净、湿度控制在 60%左右。
褐化	激素尤其 6-BA 或 IAA 浓度过高时，诱导组织中酚类物质大量积累，在酚氧化酶作用下产生褐变，缺乏光照也易加剧酚类代谢紊乱	组织表面或内部褐变，早期为浅褐色斑块，后期变深变黑，失去膨大与分化能力，最终形成干枯死组织或液化斑	(1) 降低激素使用浓度，特别是 6-BA、IAA 等敏感激素；(2) 在培养基中添加抗氧化剂如抗坏血酸或活性炭；(3) 愈伤诱导前期控制光照强度或短期避光，促进内部抗氧化系统建立；(4) 一旦褐化组织出现应及时剔除，避免连带周围组织氧化扩展。
玻璃化	瓶内长期高湿环境 (RH>80%)、培养基水分偏高或通气受阻，易使组织水分过度积聚、细胞间隙含水率上升，引起细胞壁变薄失去支撑	苗体呈半透明状，叶片肿胀光亮、质脆无弹性，茎部柔软下垂，根系发育受限，炼苗时极易失水萎蔫	(1) 使用封口膜部分通气，日常逐步开盖通风，每天 10~15 分钟，逐日递增；(2) 培养基中减少氨态氮含量，避免水分富集；(3) 调节培养室湿度至 60%~70%，过高会导致持续玻璃化；(4) 出瓶炼苗时应避光驯化并严格控水，防止组织破裂或失水萎蔫。
畸形苗	激素配比失衡、继代频率过快造成植物极性丧失或顶端优势紊乱，诱导异常分裂结构或胚状芽体畸形，部分与遗传变异相关	苗体扭曲弯曲，节间过短或拉长，叶片卷曲、裂叶、双头顶或生长点异常扩增，分枝无序，影响继代质量	(1) 优化 6-BA 与 NAA 的使用比例，如控制在 2~3:0.1~0.3 mg/L 之间；(2) 每代继代培养周期不超过 3~4 周，总继代次数控制在 5 代以内；(3) 选取生长均衡、无异型分化的芽体继续继代；(4) 适当添加钙镁微量元素提高细胞分裂稳定性。
不定芽诱导率低	使用的愈伤组织老化或褐化严重，激素	愈伤组织白化、膨大不明显或边	(1) 选择白色、质地紧实的愈伤组织，避免褐化、玻璃化组织；(2)

	浓度不足或诱导阶段光照、温湿度不适, 均会影响愈伤组织中原生组织的激活与再分化	缘褐变, 芽点形成缓慢甚至未分化, 部分组织液化或转化为根状突起结构	适度提高 6-BA 与 NAA 浓度至有效诱导水平; (3) 保持 12~14 小时光照, 促进光信号诱导芽点启动; (4) 使用植物来源激素如椰乳可增强细胞分化能力。
生根率低或生根慢	根原基诱导依赖于激素信号、外植体生理状态及营养配比, 若培养基碳氮比失衡或激素浓度过低, 诱导效率明显下降	瓶内苗体下胚轴部位膨大但无根伸出, 或形成不规则瘤状结构, 根长时间不能突破表皮, 部分根尖褐化、变短	(1) 使用 1/2MS 基础培养基, IBA 浓度在 0.05~0.2 mg/L 之间; (2) 进行预处理: 可在根诱导前用低浓度 IAA 短时浸泡 (如 10 mg/L×2 h); (3) 暗培养 2~3 天后转为正常光照, 有利于根原基膨大与极性生根; (4) 生根后适时移栽, 避免过老根系劣化。
继代后苗黄化	长期继代或光照不足会导致叶绿素合成抑制及光系统 II 受损, 同时矿质元素缺乏 (如铁、镁) 造成光合色素代谢障碍	幼叶发黄或黄白交错, 叶脉间失绿, 老叶失绿脱落, 新叶小而脆, 整株萎缩生长缓慢, 光合速率下降	(1) 提高光照强度至 3000~4000 lx, 每天照射 12~14 小时; (2) 培养基中补充 Fe-EDTA、MgSO <sub>4</sub> 等元素; (3) 可添加糖源如蔗糖至 30 g/L, 提升碳源供给; (4) 适当延长继代时间会导致能量消耗, 应 3 周内转接完成。
炼苗失败	瓶苗脱瓶后环境变化剧烈, 如光照强烈、空气干燥、温度波动, 易造成苗体蒸腾失衡及根系无法及时吸收水分	移栽 2~3 天内叶片失水软塌、叶缘干枯, 生长点萎缩, 根系浅白无毛根, 移栽成活率低于 60%	(1) 炼苗分阶段进行, 前期开瓶通风 2~3 天逐步增加通气时间; (2) 移栽基质使用疏松透气的泥炭+珍珠岩+蛭石 (2:1:1), 并用 100 倍缓释肥营养液灌根; (3) 控温 22~25℃, 遮荫 50%~70%; (4) 移栽初期每日喷水保湿, 提高成活率。
愈伤组织诱导失败	外植体切取位置不当、老化程度高或木质化严重, 使得诱导激素无法有效传导并激活分生组织, 培养基激素组合欠缺分化诱导效力	培养后外植体不增厚、不膨大, 周缘组织变褐或收缩, 未见明显细胞分裂痕迹, 部分外植体干枯或粘连基面	(1) 选取生长活跃的茎尖或下胚轴, 避免叶片及纤维化组织; (2) 6-BA 与 IBA 组合浓度适中诱导细胞脱分化; (3) 前 7 天避光或弱光培养促进内源激素累积 (4) 培养基调节 pH 至 5.8, 利于激素吸收。
苗体萎蔫	培养温度日夜波动剧烈或瓶中氧气长期不足会影响蒸腾调控与气体交换, 造成苗体代谢紊乱、水分失衡	幼苗叶片下垂呈疲软状, 颜色变暗或褪绿, 茎基部无力, 根尖发黄或褐化, 瓶苗恢复缓慢甚至坏死	(1) 保持培养温度 22~25℃、湿度 60%~70%; (2) 短时间逐日开瓶通风利于气体交换; (3) 避免培养基过湿造成根部缺氧; (4) 移栽炼苗前先用 0.1% 吲哚丁酸溶液促进根系恢复。
瓶内水汽凝结	培养基水分偏高或灭菌后未冷却缓慢密封, 导致瓶内温差积水, 液滴凝聚在瓶	瓶壁水珠密集, 底部有积水现象, 影响苗体光合效率, 增加病原滋	(1) 调整培养基液体体积控制在瓶容积的 1/3~1/2; (2) 培养基冷却前应自然降温后加盖密封; (3) 灭菌后取出冷却需避开冷风直吹; (4)

	壁或瓶盖下部干扰 苗体光照和通气	生风险，部分瓶 底发霉	保持培养室恒温恒湿环境，避免冷凝 水形成。
继代增殖 系数低	激素浓度过低或继 代材料分化能力衰 退，难以持续高效增 殖，顶端优势丧失或 侧芽形成率低	单瓶苗条数目逐 代减少，新生芽 点小、生长慢、 角度乱，组织颜 色偏浅，整体生 物量不足	(1) 更新活性强的继代材料，保留 顶端优势强的苗条；(2) 补充 0.1 mg/L GA <sub>3</sub> 可促进新芽快速伸长；(3) 每代继代控制在 3 周内完成，防止材 料老化。
培养瓶爆 瓶	装液量过多、灭菌前 未拧松瓶盖导致高 压下气体无法释放， 瓶内压力聚集导致 玻璃炸裂	灭菌后发现瓶体 破裂或瓶塞冲出， 瓶外有液体渗漏， 影响下一批灭菌 与培养室安全	(1) 控制每瓶装液量不超过瓶体的 1/2~2/3；(2) 灭菌前松开瓶盖 1/4 圈，灭菌结束后再密封；(3) 使用 玻璃厚壁培养瓶，避免微裂纹或划痕 集中应力爆裂；(4) 灭菌温度 121℃，持续时间不超过 25 分钟。
培养基失 水干裂	瓶盖通风时间长或 室内湿度过低造成 持续水分蒸发，尤其 靠近瓶口的培养基 最先干裂，影响外植 体供水	培养基表面下陷、 收缩、边缘脱离 瓶壁，表面泛白 甚至龟裂，影响 接种组织吸水发 根	(1) 使用封口膜或丁基橡胶塞密封 瓶口，减少水分挥发；(2) 调整培 养室湿度至 65%左右，避免空气干燥 (3) 每 2~3 周检查一次培养基水分 状况；(4) 必要时适当增加培养基 初始加水量。
玻璃瓶污 染复发	使用次数过多的瓶 子因划痕或材料疲 劳残留污染源，反复 灭菌难以彻底清除 瓶壁附着微生物	污染常发生在相 同瓶批次、瓶底 或瓶壁边缘，菌 落类型重复，瓶 盖或塞内壁发霉 明显	(1) 每次使用后彻底清洗，使用中 性或碱性洗瓶液浸泡 24 h，再刷洗； (2) 高压灭菌 121℃/25min，严格灭 菌时间与温度控制；(3) 定期淘汰 划痕明显或老化瓶体；(4) 瓶内加 铝箔或硅胶盖提升密封性。
组织变性 黑腐	激素超量刺激下部 分组织形成高活性 区后突然细胞崩解， 或伴随细菌/真菌感 染造成细胞崩溃性 坏死	组织表面初期膨 大迅速，后期变 黑软塌，有腥臭 味，结构松散破 碎，瓶中有异味、 菌丝生长	(1) 降低激素浓度，避免 6-BA 或 IAA 超过 3.0 mg/L；(2) 筛选健康 无机械损伤外植体进行培养；(3) 操作中确保无菌操作，防止真菌、细 菌交叉感染；(4) 发现变性组织应 及时剔除，并更换新鲜培养基重复接 种。