

DB

辽 宁 省 地 方 标 准

DB 21/ XXXXX—XXXX

刺龙牙组培快繁技术规程

Technical regulation for Tissue Culture of Aralia elata

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

— XX — XX 发布

XXXX — XX — XX 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

目 次

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 培养基制备 1

5 外植体采集及处理 2

6 诱导培养 2

7 继代培养 2

8 生根培养 3

9 炼苗及移栽 3

10 苗木质量分级 4

11 包装和运输 4

附录 A （规范性附录） MS 基本培养基配方 5

附录 B （资料性附录） 刺龙牙组织培养苗木质量分级 6

前 言

本规程的编制规则依据GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由辽宁省林业厅提出并归口。

本标准起草单位：辽宁省森林经营研究所。

本标准起草人：林晓坤、姜冬、常婧、张群野、宋诗雨、张利萍。

本标准发布实施后,任何单位和个人如有问题和意见建议,均可以通过来电和来函等方式进行反馈,我们将及时答复并认真处理,根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省林业和草原管理局（沈阳市和平区太原街2号），联系电话：024-23448927。

文件起草单位通讯地址：辽宁省森林经营研究所（辽宁省丹东市金山开发区新建街600号），联系电话：0415-82241813。

本标准的附录A为规范性附录。

本标准的附录B为资料性附录。

刺龙牙组培快繁技术规程

1 范围

本标准规定了刺龙牙组织培养的术语和定义、培养基制备、外植体采集及处理、诱导培养、继代培养、生根培养、炼苗及移栽、苗木质量分级及包装和运输等要求。
本标准适用于刺龙牙组织培养育苗生产。

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，仅所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。
LY/T 1882 林木组织培养育苗技术规程

3 术语和定义

LY/T 1882 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 丛芽苗

培养材料在培养基上分化的多个基部相连的带芽小苗。

3.2 过滤灭菌

对不耐高温的植物生长调节物质，采用滤膜过滤消除杂菌的方法。

4 培养基制备

4.1 培养基配方

4.1.1 基本培养基

采用MS培养基，具体成分见附录A。

4.1.2 诱导分化培养基

MS+6-BA 0.5mg/L+蔗糖30g/L。

4.1.3 增殖培养基

MS+6-BA 1.5mg/L+IAA 0.6mg/L+GA₃ 0.2mg/L+蔗糖30g/L。

4.1.4 生根培养基

1/2MS+IAA 0.2mg/L+蔗糖30g/L。

4.2 培养基配制

培养基配制方法参照LY/T 1882。

4.3 培养基灭菌

4.3.1 高压灭菌

将培养基放入高压蒸汽灭菌器内灭菌，灭菌温度 121℃，灭菌时间 20 min。

4.3.2 过滤灭菌

添加GA₃的培养基，应在高压灭菌后，待培养基冷却至50℃左右，在超净工作台加入经过滤灭菌的GA₃。

4.4 培养基保存

灭菌后的培养基在干净、阴凉的室内常温平放保存备用。

5 外植体采集及处理

5.1 母株选择

外植体的供体母株应是刺龙牙良种的优树原株或其无性系分株。

5.2 外植体采集

选择无病虫害、生长健壮的植株，以当年生长度 30 cm～ 50 cm的越冬枝条为材料，晴天下午将材料剪回，于温室水培至刚刚萌发，用刀切下嫩芽（带一块木质部），放在容器中，用流水冲洗干净。

5.3 外植体消毒

外植体在超净工作台先用 75% 乙醇溶液浸泡消毒 15 s，无菌水冲洗3次，再用 0.1% 升汞消毒 10 min，期间不断摇晃，用无菌水冲洗 4次～5 次，最后无菌滤纸吸干水分，置于无菌不锈钢小盘上。

6 诱导培养

6.1 外植体接种

在超净工作台上，用已灭菌的镊子和解剖刀剥去外植体鳞片和大部分幼叶，接种于已准备好的诱导分化培养基中，数量为4个/瓶。将瓶口封好，备注材料名称、编号、接种日期等，置于培养室培养30d～35d。

6.2 芽诱导

在诱导培养基中诱导出不定芽后转接至继代增殖培养基。

6.3 培养条件

温度:25±2℃，光照强度:1500 lx～2000 lx，光周期:12h～14h。

7 继代培养

7.1 外植体继代培养

进行不定芽诱导培养的外植体，转接到新的诱导分化培养基中继代培养30d~35d，继代1次~2次，产生丛芽苗。

7.2 芽苗继代培养

7.2.1 继代接种

外植体诱导出的芽或者继代培养产生的丛芽苗进行切分，每块愈伤组织至少带有一个芽，接入增殖培养基，一般4块/瓶。

7.2.2 继代周期

每隔30d~35d将继代苗转接至新鲜增殖培养基，继代培养控制在8代内，培养条件见6.3。

8 生根培养

将生长健壮、高度3 cm左右的丛生芽苗切分成单株，自基部切除全部愈伤组织，转接至生根培养基，接种数量10株/瓶，培养21d。

9 炼苗及移栽

9.1 选苗

选择苗高3 cm~4 cm、具3片~5片绿叶、根数大于5、根长2cm以上、生长健壮的组培瓶苗进行炼苗。

9.2 炼苗

在温室或者大棚内进行炼苗，温度控制在 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光照强度20000 lx~30000 lx，去除培养瓶的封口材料，开瓶锻炼2 d~4 d。

9.3 移栽容器及基质

9.3.1 容器规格

组培苗移栽容器选用规格为上口径3.4cm，底部1.5cm，深度4.0cm的穴盘。

9.3.2 基质

移栽基质为草炭：蛭石：珍珠岩按照3:1:1的比例混合，装满穴孔，浇透水。

9.4 洗苗

将组培瓶苗取出，用室温清水洗去根部培养基，整齐码放在泡沫箱中，保湿备用。

9.5 移栽

用直径0.5cm木棍在穴盘上插孔，镊子扯住幼苗根部轻置于孔底，让根系尽量舒展，摆正小苗，用基质覆盖至组培苗基部，稍微压实，固定根系。

9.6 管理

9.6.1 温湿度

将穴盘苗整齐摆放在遮阴50%的简易拱棚中，每天喷雾，保证拱棚内空气湿度90%以上，白天温度控制在23℃~30℃，夜间温度不低于15℃。移栽10d~14d即缓苗期过后逐渐揭膜通风，减少喷雾次数，20d后可除去拱棚薄膜。

9.6.2 施肥

移栽30d后可向幼苗喷施0.2%的尿素或磷酸二氢钾1次。

10 苗木质量分级

组培瓶苗移栽至穴盘40d左右，达到苗木等级Ⅰ、Ⅱ，即可移至露地苗床定植。详见附录B。

11 包装和运输

11.1 包装

穴盘苗分层固定在塑料箱内，每箱装4张~5张穴盘，高温季节箱内最好加冰袋。

11.2 标签

每箱应贴上标签，注明品种、规格、数量、产地、出苗日期、目的地、联系人、注意事项等。

11.3 运输

装车时切勿倒置，用厢式货车运输以避免日晒、雨淋，运输中温度保持10℃~25℃。

附 录 A
(规范性附录)
MS 基本培养基配方

母液种类及倍数	试剂	配方规定量 (mg/L)	配1L母液称取量 (mg)	配1L培养基吸取量 (mL)
大量元素 (50x)	KNO ₃	1900	9500	20
	NH ₄ NO ₃	1650	82500	
	MgSO ₄ •7H ₂ O	370	18500	
	KH ₂ PO ₄	170	8500	
	CaCl ₂ •2H ₂ O	440	22000	
铁元素 (500x)	Na ₂ •EDTA•2H ₂ O	37.3	18650	2
	FeSO ₄ •7H ₂ O	27.8	13900	
有机物 (500x)	盐酸硫胺素	0.1	50	2
	盐酸吡哆醇	0.5	250	
	烟酸	0.5	250	
	甘氨酸	2	1000	
	肌醇	100	50000	
微量元素 (500x)	MnSO ₄ •4H ₂ O	22.3	11150	2
	ZnSO ₄ •7H ₂ O	8.6	4300	
	H ₃ BO ₃	6.2	3100	
	KI	0.83	415	
	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0.25	125	
	CuSO ₄ •5H ₂ O	0.025	12.5	
	CoCl ₂ •6H ₂ O	0.025	12.5	

附 录 B
(资料性附录)
刺龙牙组织培养苗木质量分级

穴 盘 苗	苗木等级								综合控制 指标
	I 级苗				II 级苗				
	地径 (mm)	苗高 (cm)	根长 (cm)	复叶数 (个)	地径 (mm)	苗高 (cm)	根长 (cm)	复叶数 (个)	
	≥1.3	≥5.0	≥4.0	≥5	0.9~1.2	3.5~4.9	2.7~3.9	4~5	苗健壮， 叶完整， 无损伤， 无病虫害。