

ICS

CCS 点击此处添加 CCS 号

DB 21

辽宁省地方标准

DB XX/T XXXX—2024

卷丹百合鳞片组培快繁技术规程

Technical regulations for scales tissue culture and rapid propagation of *Lilium lancifolium*

草案版次选择

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2024 - XX - XX 发布

2024 - XX - XX 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

目 次

前言	II
1 范围	3
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义	3
4 实验室设施与要求	4
5 培养基制备	4
5.1 MS 培养基粉称取与加热融化	4
5.2 植物生长调节剂配制与添加	4
5.3 调节 pH 值	4
5.4 分装	4
5.5 灭菌	4
5.6 存贮	4
6 组织培养过程	4
6.1 外植体选取及灭菌	5
6.2 外植体表面灭菌	5
6.3 接种	5
6.4 诱导培养	5
6.5 增殖培养	5
6.6 生根培养	5
7 炼苗	5
8 移栽	5

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意：本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由辽宁省林业和草原局提出并归口。

本文件起草单位：沈阳农业大学。

本标准起草人：孙红梅、李晓明、范馨月、宋胜利、王春夏、李宏宇、王锦霞。

卷丹百合鳞片组培快繁技术规程

1 范围

本标准规定了卷丹百合鳞片组培快繁过程中实验室设施与要求、培养基制备、外植体灭菌、接种、培养过程、炼苗移栽等技术措施要求。

本标准适用于辽宁省卷丹百合鳞片组培快繁生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

NY/T 2306-2013 花卉种苗组培快繁技术规程。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 卷丹百合 *Lilium lancifolium* Ker Gawl.

卷丹百合，别名卷丹、虎皮百合，为百合科百合属多年生球根草本植物，上部叶腋具珠芽，花下垂，花被片反卷，橙红色，具紫黑色斑点。无性繁殖，方式有分球繁殖、珠芽繁殖、鳞片扦插、鳞片组织培养等。

3.2 外植体 Explant

从自然生长的活体植物上获取的用于建立组培快繁体系的起始材料。

3.3 MS 培养基 MS Medium

MS 培养基是一种基本培养基，含大量元素、微量元素、维生素、氨基酸、糖类、琼脂、水。市售干粉形态分为 MS、MS+琼脂粉、MS+蔗糖、MS+琼脂粉+蔗糖等类型。

3.4 诱导培养 Induction culture

将鳞片经过表面灭菌处理后接种在诱导培养基中培养，使其在无菌条件下形成不定芽。

3.5 增殖培养 Proliferation culture

把经诱导培养获得的不定芽转接到增殖培养基中培养，使其不断分化产生新的不定芽或丛生苗。可经过多次增殖培养，获得大量芽苗。

3.6 生根培养 Rooting culture

芽苗增殖到一定数量后，转到生根培养基中诱导生根，使其转变成能够在温室或大田自养生存的植株。

4 实验室设施与要求

试验室设计与设施按照 NY/T 2036-2013 4.1.3 执行。

5 培养基制备

5.1 MS 培养基粉称取与加热融化

按照说明书，根据配制数量称取含蔗糖（3%）和琼脂（0.7%）的 MS 培养基粉，放入锅中，加入自来水，搅拌加热至充分融化。

5.2 植物生长调节剂配制与添加

植物生长调节剂的配制浓度为 6-BA 0.2~2.0 mg/mL，NAA 0.1~0.5 mg/mL。保存于 4℃冰箱中备用。

配制培养时，按照配方要求，量取配制好的植物生长调节剂，加入锅中，补足水，搅拌均匀。

5.3 调节 pH 值

用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液或 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值至 5.8。

5.4 分装

在超净台上，将配制好的培养基进行分装，规格为容量 240 ml 的培养瓶，每瓶分装 40 ml；规格为 100 ml 的三角瓶，每瓶分装 30ml。分装后立即用密封盖盖住。

5.5 灭菌

将分装好的培养瓶标明编号及日期，尽快进行高压灭菌，灭菌条件 121℃灭菌 20~25 min。

5.6 存贮

灭菌后的培养基冷却凝固后放置观察 2~3 d，按灭菌先后顺序使用，存储时间不超过一个月。

6 组织培养过程

6.1 外植体选取及灭菌

取田间收获的鳞片完整无病虫害的卷丹百合种球，用洗衣粉水清洗干净，去除最外层干瘪、破损鳞片，剥取中层饱满鳞片，放置于纱网袋中，在流水下冲洗 20~30 min。

6.2 外植体表面灭菌

在超净工作台上，将百合鳞片放在无菌瓶中，倒入 75% 酒精，持续搅拌 30~40 sec，倒出酒精。加入 10% 次氯酸钠溶液+500 μ L/L 吐温-20 摇晃 8~10 min 后倒出。用无菌水冲洗 4~5 次，控好水后，盖上瓶盖。

6.3 接种

在超净工作台上，用解剖刀将鳞片去掉尖部，横切成 2~3 块，放置于 MS+0.5~1.5 mg/L 6-BA+0.1~0.2 mg/L NAA 诱导培养基表面，凹面向上，每瓶接 2~3 块。接种完毕立即盖上瓶盖，标注日期。

6.4 诱导培养

接种后放入培养室内，在 25 $^{\circ}$ C、光照强度 2000~2500 Lx、16h 光照/8h 黑暗的条件下进行诱导培养。经过 20~30d，在外植体小块的边缘萌生出数个不定芽。

6.5 增殖培养

增殖培养基配方：MS+0.5~1 mg/L 6-BA+0.1~0.2 mg/L NAA。将诱导分化出的不定芽切成单株，接于增殖培养基中，继续培养。经过连续 2~3 次增殖培养，每次 30~35d，可获得大量组培苗。

6.6 生根培养

将小鳞茎直径 0.5~1 cm 的组培苗分成单株，接种于 1/2 MS+0.1~0.5 mg/L NAA 生根培养基上，培养 30~40 d 生根后，即可炼苗。

7 炼苗

当组培苗生长健壮、根数量达到 5~6 条、长度达到 1~2 cm 时，即可开始炼苗。首先将培养瓶放置在温室或大棚中，前 2~3 d 放在自然光下（低于 1.5 万 Lux，避免暴晒）闭瓶炼苗，后 2~3 d 打开瓶盖炼苗。开盖炼苗时要遮阳 50~75%。保持环境温度在 18~20 $^{\circ}$ C，空气相对湿度 80~90% 条件，防止温度过高、空气湿度太低植株失水萎蔫。

8 移栽

选择春季、秋季移栽，如果在夏季高温、高湿季节，需要通过设备降温、调湿、通风，避免植株腐烂。将组培苗从培养瓶中倒出，用清水洗净根部残留的培养基，在 50%多菌灵可湿性粉剂 1000 倍液+0.2 g/L 氯溴异氢尿酸溶液中浸泡根部 8~10 min 后，栽入至少深 15cm 的蛭石基质中。待长出 3~4 片真叶后，可直接定植在盆中或苗床，此时可适量施用复合肥做基肥。
