ICS 65.020.40
B 64

LY

中华人民共和国林业行业标准

LY/T 2041—2012

黄藤和单叶省藤组培快繁技术规程

Tissue culture of *Daemonorops margaritae* Beccari and
Calamus simplicifolius Wei

2012-02-23 发布

2012-07-01 实施

国家林业局 发布

前 言

本标准由中国林业科学研究院提出。

本标准由全国竹藤标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国林业科学研究院热带林业研究所。

本标准主要起草人：曾炳山、刘英、李湘阳、裘珍飞、尹光天。

黄藤和单叶省藤组培快繁技术规程

1 范围

本标准规定了黄藤(*Daemonorops margaritae* Beccari) 和单叶省藤(*Calamus simplicifolius* Wei) 组培快繁的外植体、丛芽诱导、增殖培养、生根培养、瓶苗、容器苗培育、建档等技术要求。

本标准适用于黄藤和单叶省藤的无性系苗木生产。

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。

- GB 6000 主要造林树种苗木质量分级
- GB/T 6001 育苗技术规程
- LY/T 1000 容器育苗技术
- LY/T 1770 桉树无性系组培快繁技术规程
- LY/T 1882 林木组织培养育苗技术规程

3 术语和定义

LY/T 1770 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用,以下重复列出了 LY/T 1770 中的某些术语和定义。

3.1

分蘖芽 sucker

藤株根颈部萌发的扩张藤丛的嫩芽。

3.2

丛芽 shoot clump

由多个基部相连的离体小芽组成的一团芽。

3.3

瓶苗 tube seedling

通过植物组织培养产生的离体小植株。

3.4

瓶苗高 height of tube seedling

将瓶苗自然直立放置,最上部生根处至最高叶面的垂直距离为瓶苗高。

3.5

总根长 total length of roots

瓶苗茎至根尖的长度为根长,逐条根测定根长,累计为总根长。

3.6

苗高 height of seedling

育苗基质表面至最高叶面的垂直距离。

注:与 GB 6000 中苗高的定义不同。

4 外植体

4.1 母株的选取

应选取生长旺盛和无病虫害的藤株作为采集外植体的母株。

4.2 外植体采集

4.2.1 采集时间

在5月~10月选择连续晴天3天以上的天气采集外植体。

4.2.2 采集方法

4.2.2.1 应选取母株上健壮的分蘖芽做外植体。黄藤分蘖芽的适宜高度为15 cm~35 cm,单叶省藤为15 cm~45 cm,且尚未长出真叶。

4.2.2.2 将母株周围约20 cm厚的土壤挖开,用锯轻轻将分蘖芽从母株上锯断。采集完外植体后,覆土填平。

4.2.3 保存与运输

4.2.3.1 采集外植体时,应对每个母株的外植体加标签,标明藤种、母株或无性系编号、采集地点、采集时间等。

4.2.3.2 外植体宜当天采集,当天消毒。若需要长途运输或储藏2天~3天,宜用保湿材料包扎。

4.3 外植体消毒

4.3.1 消毒步骤

外植体消毒按以下步骤进行:

a) 用洗洁剂将外植体洗净,并用自来水冲洗15 min~20 min。

b) 剥去外植体的外层叶鞘1~2层。

c) 在超净工作台中,用75%酒精将外植体消毒5 s~10 s,无菌水漂洗1~2次。

d) 用0.1%氯化汞加3~5滴吐温-20的消毒液浸没外植体,轻微摇动,消毒5 min~10 min,后用无菌水漂洗3~4次,每次5 min~8 min。

e) 剥去外植体的叶鞘1~2层,按步骤d)的方法再进行一次消毒和漂洗,但氯化汞的消毒时间减为3 min~4 min,漂洗次数和时间不变。

f) 将消毒后的外植体修剪为4 cm~7 cm长,顶芽处于上部2/3位置。

4.3.2 使用后的氯化汞消毒液应按照国家有关剧毒化学药物使用的法规进行处理。

5 丛芽诱导

5.1 丛芽诱导培养基

黄藤的丛芽诱导培养基参见附录A,单叶省藤的丛芽诱导培养基参见附录B。根据所培养藤种的配方,按LY/T 1882的方法配制和消毒培养基。

5.2 培养条件

丛芽诱导培养的温度控制在24℃~28℃。培养器皿上部的光照强度为1 500 lx~3 000 lx,光照

时间每天 10 h~16 h。

5.3 接种与转接

5.3.1 将 4.3.1 修剪后的外植体接种到丛芽诱导培养基上诱导其基部的次级分蘖芽原基形成丛芽。

5.3.2 首次接种 5 天~7 天后应将外植体转接至新的丛芽诱导培养基,其后则每隔 25 天~30 天转接 1 次。

5.3.3 当外植体基部的丛芽达到 5~6 个芽时,将芽丛整体切离外植体,并转接到 6.1 增殖培养基上进行增殖培养。

6 增殖培养

6.1 增殖培养基

黄藤的增殖培养基参见附录 A,单叶省藤的增殖培养基参见附录 B。

6.2 培养条件

增殖培养的温度、光照强度及光照时间与丛芽诱导相同。

6.3 培养周期

黄藤的增殖培养周期为 25 天~35 天,单叶省藤为 30 天~40 天,及时将培养材料转接至新鲜的增殖培养基。

6.4 增殖转接

6.4.1 转接增殖丛芽时,应将大丛芽切分为 3~4 个芽组成的小芽丛。切分丛芽时应避免产生过多和过大的伤口。

6.4.2 污染、白化、玻璃化的增殖苗均应废弃,其中污染苗应杀菌后再废弃。

6.5 材料更新

增殖培养超过 60 代,应重新采集外植体更新培养材料。

7 生根培养

7.1 生根培养基

黄藤的生根培养基参见附录 A,单叶省藤的生根培养基参见附录 B。

7.2 生根芽苗

7.2.1 黄藤芽苗高度大于 3 cm、单叶省藤芽苗高度大于 4 cm 时可转入生根培养。

7.2.2 一次生根培养未生根的芽苗,宜将外部 1~2 层叶鞘除去,并进行再次生根培养。已生根但未达到移栽规格的芽苗应转接至无激素的生根培养基继续培养,直至达到田间移植所需的规格。

7.3 培养条件

7.3.1 生根培养的温度、光照强度和光照时间与丛芽诱导相同。

7.3.2 黄藤生根培养的容器高度应大于 14 cm,单叶省藤应大于 16 cm。

8 瓶苗

8.1 炼苗

8.1.1 生根培养后期应于遮阳率为80%~90%的温室炼苗10天~15天。

8.1.2 炼苗过程中,光照强度应控制为5 000 lx~10 000 lx和环境温度控制为15℃~30℃。

8.1.3 移植前2天~3天可适当松开或打开培养器皿,使芽苗逐步适应湿度小的自然环境。

8.1.4 炼苗过程中污染的生根芽苗宜废弃。

8.2 质量标准

8.2.1 合格黄藤瓶苗的规格:瓶苗高8.5 cm~12.0 cm,至少有1个叶片抽高长出,具1条根以上,总根长大于4.0 cm。叶色正常,无微生物污染。

8.2.2 合格单叶省藤瓶苗的规格:瓶苗高9.5 cm~14.0 cm,至少有2个叶片抽高长出,具1条根以上,总根长大于4.0 cm。叶色正常,无微生物污染。

8.3 清洗、包装和运输

8.3.1 清洗

8.3.1.1 炼苗结束后,轻轻从培养容器中取出芽苗,并用清水轻轻洗去粘附于苗上的培养基。

8.3.1.2 出苗后,按LY/T 1770的方法处理废弃培养基。

8.3.2 包装

8.3.2.1 用保鲜盒或塑料泡沫箱包装瓶苗,包装容器的内空高度应为苗木高度的3~4倍。

8.3.2.2 将清洗后的苗木直立装入包装容器,并避免挤压苗木。

8.3.2.3 装入苗木后,包装容器边缘应加胶带密封保湿,且在容器顶面加标签,标明藤种、品系、包装时间等。

8.3.3 运输

8.3.3.1 运输过程中避免剧烈颠簸或翻转包装容器。

8.3.3.2 运输过程中,环境温度应在15℃~30℃之间,并避免阳光照射。

8.3.3.3 从出瓶至移栽完毕,不应超过3天。

9 容器苗培育

9.1 基质

9.1.1 移苗基质可为黄心土、泥炭土、细沙、珍珠岩等,或为轻型基质。基质中宜添加1/1 000磷肥。

9.1.2 移栽前1天~2天,应用0.1%~0.2%高锰酸钾等消毒液将基质淋透消毒。

9.2 容器

营养袋规格宜为12 cm×16 cm或13 cm×18 cm。

9.3 移植

移植季节宜为春季、初夏和晚秋。移植圃的要求参见GB/T 6001和LY/T 1000。移栽动作要轻,

避免损伤和窝根。

9.4 苗木管理

9.4.1 移栽初期宜保持环境湿度 80%~95%。

9.4.2 移栽初期须控制光照强度小于 5 000 lx,并逐渐加强光照,最终稳定在 50%~60%的自然光照强度下培育苗木至出圃。

9.4.3 移栽 3 个星期后,每星期喷施或淋施 0.1%的复合肥溶液 1 次。

9.4.4 移植一个月内每 7 天轮流喷施多菌灵 1 000 倍液或百菌清 1 000 倍液,一个月后每 30 天轮流喷施。

9.4.5 及时防治白蚁、蝼蛄、蟋蟀等虫害和鼠害。

9.5 质量标准

合格苗的苗高 25.0 cm 以上,活叶片数 4 片以上,无病虫害。苗木质量分级的要求参见 GB 6000。

10 建档

应建立外植体采集与繁殖材料更新、作业设计任务书、苗木产量质量、苗木成本、消耗定额、科学实验设计与结果、田间病虫害调查等档案。外植体采集与繁殖材料更新表可参照附录 C。

附录 A
(资料性附录)

黄藤组培快繁培养基配方表

表 A.1

药品类别	药品名称	丛芽诱导培养基 mg/L	增殖培养基 mg/L	生根培养基 mg/L
大量元素	KNO ₃	2 850	2 850	633
	NH ₄ NO ₃	825	825	550
	KH ₂ PO ₄	425	425	57
	CaCl ₂ · 2H ₂ O	440	440	147
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	370	370	123
微量元素	MnSO ₄ · 4H ₂ O	22.3	22.3	22.3
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6	8.6	8.6
	H ₃ BO ₃	6.2	6.2	6.2
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25	0.25	0.25
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8	27.8	27.8
	NaEDTA	37.3	37.3	37.3
	KI	0.83	0.83	0.83
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025	0.025	0.025
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025	0.025	0.025
	有机质	氨基乙酸	3	3
盐酸硫胺素		1	1	0.1
盐酸吡哆醇		0.75	0.75	0.5
烟酸		0.5	0.5	0.5
肌醇		150	150	100
糖	蔗糖	40 000	40 000	20 000
防褐变剂	维生素 C	10		
	L-半胱氨酸	2		
激素	6-BA	4	2	
	IBA	0.25	0.125	0.5
	NAA			0.3
	2,4-D	0.75	0.375	
凝固剂	卡拉胶	9 200	9 200	9 200

注：FeSO₄ · 7H₂O 应先与 NaEDTA 配制络合物，而后才与其他溶液混合。

附录 B
(资料性附录)

单叶省藤组培快繁培养基配方表

表 B.1

药品类别	药品名称	丛芽诱导培养基 mg/L	增殖培养基 mg/L	生根培养基 mg/L
大量元素	KNO ₃	3 800	3 800	950
	NH ₄ NO ₃	825	825	825
	KH ₂ PO ₄	340	340	85
	CaCl ₂ · 2H ₂ O	664	664	166
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	740	740	185
微量元素	MnSO ₄ · 4H ₂ O	22.3	22.3	22.3
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6	8.6	8.6
	H ₃ BO ₃	6.2	6.2	6.2
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25	0.25	0.25
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8	27.8	27.8
	NaEDTA	37.3	37.3	37.3
	KI	0.83	0.83	0.83
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025	0.025	0.025
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025	0.025	0.025
	有机质	氨基乙酸	2	2
盐酸硫胺素		0.2	0.2	0.1
盐酸吡哆醇		0.75	0.75	0.5
烟酸		0.5	0.5	0.5
肌醇		100	100	100
糖	蔗糖	40 000	40 000	20 000
防褐变剂	维生素 C	10		
	L-半胱氨酸	2		
激素	6-BA	8	4	
	KT	0.5	0.25	
	IBA	1	0.5	2
	NAA	0.25	0.125	1
	2,4-D	0.4	0.2	
凝固剂	卡拉胶	9 200	9 200	9 200

注：FeSO₄ · 7H₂O 应先与 NaEDTA 配制络合物，而后才与其他溶液混合。