ICS 65.020.20
B 61

LY

中华人民共和国林业行业标准

LY/T 2428—2015

杉木组织培养育苗技术规程

Technical regulation for tissue culture of *Cunninghamia lanceolata*

2015-01-27 发布

2015-05-01 实施

国家林业局　发布

前　　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由福建省林业厅提出。

本标准由全国林木种子标准化技术委员会(SAC/TC 115)归口。

本标准起草单位:福建省林业科学研究院、南京林业大学、福建省洋口国有林场、福建省将乐国有林场。

本标准主要起草人:郑仁华、肖晖、施季森、黄金华、方禄明、李勇、谢汝根、叶代全、苏顺德、方扬辉。

杉木组织培养育苗技术规程

1 范围

本标准规定了杉木组织培养育苗技术的外植体、培养基、接种、组织培养、移栽与苗木管理、苗木调查和出圃、技术档案。

本标准适用于杉木组织培养育苗生产。

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/T 6001 育苗技术规程

LY/T 1000 容器育苗技术

LY/T 1882 林木组织培养育苗技术规程

3 外植体

3.1 母株选择

外植体的供体母株应是杉木良种的优树原株或其无性系分株。

3.2 外植体采集

3.2.1 采集时间

宜在春季或冬季晴好天气采集。

3.2.2 采集部位及方法

母株根颈部或经截干处理的干基部 15 cm 左右长的萌芽条，截取半木质化、生长健壮、无病虫害的萌芽条作外植体。

3.2.3 保藏

外植体采集后，宜用保湿材料包扎，用配备冰袋的塑料泡沫保鲜箱低温保藏，保藏期不宜超过 2 d～3 d。

3.3 表面灭菌

3.3.1 清洗

用中性洗洁剂溶液洗净外植体表面，用清水冲洗 30 min～60 min。

3.3.2 灭菌

在超净工作台中，用 75%酒精浸泡外植体 8 s～10 s，倒去酒精后用无菌水漂洗 1 次；再用 0.1%升

汞加 3 滴～5 滴表面活性剂吐温－20 浸没外植体，并不断轻摇以除去气泡，时间宜控制在 6 min～10 min，倒去升汞溶液后，用无菌水漂洗 4 次～5 次，每次 5 min。

4 培养基

4.1 培养基类别

培养基分为诱导培养基、继代培养基和生根培养基，配方见附录 A。

4.2 培养基配制

培养基配制方法见 LY/T 1882。

5 接种

5.1 准备

5.1.1 接种人员保洁

接种操作人员进入接种室前，在缓冲间更换拖鞋，穿接种服，戴帽子、口罩，用洗洁剂洗净手。

5.1.2 物品灭菌

接种器械、接种器皿、纱布等物品使用前应先进行湿热灭菌，在蒸汽压力为 0.105 MPa、温度 121 ℃的条件下，灭菌时间为 15 min～20 min。

5.1.3 接种室灭菌

按如下步骤进行接种室灭菌：

a) 接种人员先打开超净工作台、接种室和缓冲间的紫外灯进行灭菌 30 min，在关闭紫外灯 15 min 后人员方可进入接种室。
b) 接种人员对超净工作台上的工具、台面和两侧挡板用 75％酒精或 0.1％新洁尔灭进行擦拭灭菌，灭菌后对超净工作台开机通风 30 min。
c) 在开始接种前 15 min 打开接种用电热灭菌器。

5.1.4 母瓶和培养基准备

对母瓶进行检查，发现污染、裂瓶、裂盖立即剔除。母瓶和转接培养容器用 75％酒精表面擦拭灭菌后，置于超净工作台边备用。

5.2 接种操作

5.2.1 消毒

接种人员在接种操作前用 75％酒精对手部进行擦拭消毒。

5.2.2 灭菌

接种操作过程要对接种器械进行灭菌。使用过的器皿要更换，使用过的刀、剪、镊子等接种器械用 75％酒精浸湿的无菌纱布擦净后，重新灭菌后晾放备用，避免交叉污染。灭菌选用下列方法之一：

a) 使用酒精灯灭菌，接种器械在酒精灯火焰外焰上灼烧 10 s 以上。

b） 使用电热灭菌器灭菌，接种器械插入 280 ℃～290 ℃的导热石英珠中灭菌 15 s 以上。

5.2.3 接种方法

接种操作时接种器械在接种器皿的斜上方操作，将培养材料切割后接种到培养基上。接种材料与培养基要接触良好，深浅适中，分布均匀。接种后及时盖好容器盖，注明品种代号、培养基类型、人员编号和接种日期。

5.2.4 接种后处理

熄灭酒精灯或关闭电热灭菌器、清洁超净工作台和接种室，最后关闭超净工作台及电源。

6 组织培养

6.1 诱导培养

6.1.1 外植体接种

外植体灭菌后切成 1.0 cm～1.5 cm 茎段，垂直或斜插接种到诱导培养基。

6.1.2 芽诱导

在诱导培养基中诱导出芽后转接至继代培养基。

6.1.3 培养条件

培养室的温度控制在 25 ℃±2 ℃。接种后需暗培养 4 d～6 d，再转入光照培养。光照培养每天光照时间为 12 h～14 h，光照强度为 1 500 lx～2 000 lx。

6.2 继代培养

6.2.1 继代接种

将外植体诱导出的芽或继代增殖的芽切割后，接种到继代培养基；250 mL 培养瓶接种量为丛生芽不少于 6 丛/瓶或芽数不少于 12 个/瓶。

6.2.2 继代周期

每隔 30 d～35 d 将继代苗转接至新鲜培养基，培养条件见 6.1.3。

6.2.3 继代苗质量要求

继代苗质量要求如下：

a） 叶色墨绿或灰绿，茎叶无玻璃化、白化、褐化。
b） 继代增殖系数大于 2.0。
c） 茎叶切口无烫伤。
d） 无污染。

6.2.4 继代培养代数

继代培养控制在 25 代内。

6.3 生根培养

继代苗高度大于 2 cm 时可转入生根培养，将生长健壮的继代苗切割为 1.5 cm～2 cm 的单芽接种到生根培养基；250 mL 培养瓶接种量为每瓶 12 个单芽。培养条件见 6.1.3。

6.4 培养室环境维护

6.4.1 检查统计

定期检查和统计培养材料，发现污染及时清除。

6.4.2 设备维护

每天检查空调、照明、紫外灯等设备运行情况，每两周清洗空调过滤网 1 次。

6.4.3 清洁灭菌

每周用清水加含氯消毒液擦洗地板、门窗等，每两周用紫外灯或臭氧发生器灭菌 30 min。

6.5 炼苗

6.5.1 炼苗时间

当组培苗根长达 0.5 cm～1.0 cm 时开始炼苗，将瓶苗从培养室转移至炼苗温室或大棚，摆放在培养架上进行炼苗，时间为 15 d～30 d。

6.5.2 环境条件

采用自然散射光，环境温度为 15 ℃～35 ℃，避免强光直射和高温灼伤瓶苗。

6.5.3 生根苗质量要求

生根苗质量要求如下：

a) 半木质化，叶色墨绿或灰绿，茎叶无玻璃化、白化、褐化。
b) 苗高 3.0 cm～3.5 cm。
c) 根数 1 条以上，根长大于 1.0 cm。
d) 无污染。

6.6 洗苗、包装和运输

6.6.1 洗苗

炼苗结束后，从培养容器中取出生根苗，用 20 ℃～25 ℃清水洗净生根苗粘附的培养基，取苗和洗苗时避免损伤。

6.6.2 包装

用塑料封口袋分装，500 株/袋～1 000 株/袋，再装人规格为 57 cm×40 cm×32 cm 的塑料泡沫保鲜箱后密封。写好标签，注明品种代号、数量和洗苗日期。包装过程中避免挤压。

6.6.3 运输

运输时间不超过 2 d，运输过程中避免高温、曝晒、颠簸、翻转包装容器。

7 移栽与苗木管理

7.1 裸根苗培育

7.1.1 圃地选择与土壤管理

圃地选择、土壤管理等要求见 GB/T 6001。忌选用菜园地、前作是杉木和茄科等易感猝倒病作物的圃地。

7.1.2 基肥

在整地的同时施过磷酸钙 1 500 kg/hm^2、复合肥 450 kg/hm^2。

7.1.3 整地作床

苗床高 25 cm～30 cm，床面宽 110 cm～120 cm，床面上铺 2 cm～3 cm 厚的黄心土，床间步道宽 30 cm～40 cm。

7.1.4 土壤消毒

移栽前 2 d～3 d，用 0.3%～0.5%的高锰酸钾溶液将床面黄心土淋透消毒。

7.1.5 移栽

7.1.5.1 时间

宜在冬季或春季，选择风小、阳光弱的天气或时段进行移栽。

7.1.5.2 定植

在苗床或基质上打孔后将组培苗植入，深度为 1 cm～2 cm，株行距为 8 cm×8 cm 或 10 cm×10 cm。

7.1.5.3 浇水

移栽后及时浇透水。

7.1.5.4 遮光保湿

移栽后应立即搭建小拱棚，或在简易荫棚内移栽，覆盖塑料薄膜和遮光率为 75%遮阳网遮光保湿。移栽 15 d 后打开小拱棚两头的塑料薄膜，以后逐渐打开小拱棚两边的塑料薄膜，60 d 后可全部打开。

7.1.6 苗木管理

7.1.6.1 光照控制

移栽初期宜覆盖遮光率为 75%的遮阳网。移栽中后期逐渐加强光照强度直至全光育苗。

7.1.6.2 追肥

苗木恢复生长后，每 7 d～10 d 喷施或淋施 0.05%～0.1%的磷酸二氢钾或复合肥溶液 1 次。苗木封顶前 1 个月停止追肥。

7.1.6.3 病害防治

移栽后，即喷施杀菌剂1次，以后每隔7 d～10 d喷施杀菌剂1次。

7.1.6.4 抹芽除萌

苗木生长过程应及时抹除根颈部的萌芽。

7.1.6.5 其他管理措施

见GB/T 6001。

7.2 容器苗培育

7.2.1 容器

采用塑料薄膜容器，规格宜为8 cm×10 cm。采用无纺布网袋容器，规格宜为6 cm×10 cm。

7.2.2 基质

育苗基质采用塑料薄膜容器时，基质成分及比例宜为：火烧土30%～50%，腐殖质土或泥炭土10%～30%，黄心土30%～60%。采用无纺布网袋容器时，可用腐殖质土、泥炭土、珍珠岩、稻壳、椰糠、粉碎的杉木树皮和农作物秸秆等配制相适应的轻型基质。基质中宜添加1%～2%的过磷酸钙或缓释肥。

7.2.3 育苗地条件

育苗地条件要求见LY/T 1000。

7.2.4 基质消毒

移栽前2 d～3 d，用0.3%～0.5%的高锰酸钾溶液将基质淋透消毒。

7.2.5 移栽

在基质上打孔后将组培苗植入容器中央，深度为1 cm～2 cm，每个容器移栽1株。移栽后浇水见7.1.5.3，遮光保湿见7.1.5.4。

7.2.6 苗木管理

光照控制见7.1.6.1，追肥见7.1.6.2，病害防治见7.1.6.3，抹芽除萌见7.1.6.4，其他管理措施见LY/T 1000。

8 苗木调查与出圃

8.1 苗木调查

裸根苗调查方法见GB/T 6001，容器苗调查方法见LY/T 1000。

8.2 苗木质量分级

合格苗木分为Ⅰ级、Ⅱ级苗，分级指标见表1。

表 1 杉木组培苗木质量分级指标

组培苗	苗龄 d	苗木等级								综合控制指标	Ⅰ、Ⅱ级苗百分率 %
		Ⅰ级苗				Ⅱ级苗					
		地径 cm ≥	苗高 cm ≥	根系		地径 cm ≥	苗高 cm ≥	根系			
				长度 cm ≥	≥5 cm 长Ⅰ级侧根数			长度 cm ≥	≥5 cm 长Ⅰ级侧根数		
裸根苗	300	0.35	30.0	15.0	11	0.30	20.0	12.0	8	充分木质化，叶色紫红或灰绿	90
容器苗	210	0.25	20.0	8.0	8	0.20	15.0	6.0	6	充分木质化，叶色紫红或灰绿	90

8.3 苗木质量检验

裸根苗检验方法见 GB/T 6001，容器苗检验方法见 LY/T 1000。

8.4 苗木出圃

裸根苗出圃按 GB/T 6001 的规定，容器苗出圃按 LY/T 1000 的规定。

9 技术档案

9.1 建立技术档案

档案内容包括：组培车间设计施工图、苗圃位置、面积、自然条件、圃地规划和苗圃平面图、固定资产和人员管理等，外植体母株、外植体采集与繁殖材料更新、苗木无性繁殖生长发育情况，苗圃土地利用和耕作情况，各阶段采取的技术措施，各项作业的实际用工量和肥、药、物料的使用情况，以及苗木产量、质量和苗木流向，各项试验的田间设计和试验结果等。外植体母株情况表参见附录 B，外植体采集与繁殖材料更新表参见附录 C。

9.2 技术档案管理

技术档案要有专人记载，分阶段系统整理，由技术负责人审查存档，长期保存。

附 录 A
(规范性附录)
杉木组织培养培养基配方表

表 A.1 杉木组织培养培养基配方表

培养基成分类别	培养基成分	诱导培养基 mg/L	继代培养基 mg/L	生根培养基 mg/L
大量元素	NH_4NO_3	825	825	412.5
	KNO_3	950	950	475
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	185	185	92.5
	KH_2PO_4	85	85	42.5
	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	220	220	110
铁盐	$FeSO_3 \cdot 7H_2O$	27.8	27.8	27.8
	Na_2-EDTA	37.3	37.3	37.3
微量元素	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3	22.3	22.3
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6	8.6	8.6
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	0.025	0.025
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	0.25	0.25
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025	0.025	0.025
	KI	0.83	0.83	0.83
	H_3BO_3	6.2	6.2	6.2
有机营养成分	烟酸	0.5	0.5	0.5
	盐酸硫胺素	0.1	0.1	0.1
	盐酸吡哆醇	0.5	0.5	0.5
	甘氨酸	2.0	2.0	2.0
	肌醇	100	100	100
防褐变剂	抗坏血酸	10	10	10
植物生长调节物质	6-苄氨基嘌呤(6-BA)	0.3～0.8	0.3～0.5	
	吲哚丁酸(IBA)		0.1～0.3	0.5～1.0
	萘乙酸(NAA)			0.5～1.0
	吲哚乙酸(IAA)			0.2～0.5
	ABT 生根粉 1 号			0.5～1.0
糖	蔗糖	30 000	30 000	15 000
凝固剂	琼脂	6 000	6 000	7 000
注：$FeSO_3 \cdot 7H_2O$ 先与 Na_2-EDTA 配制成络合物，在配制培养基时添加。				

附 录 B
（资料性附录）
外植体母株情况表

表 B.1 外植体母株情况表

无性系编号	种源	选育单位	选育时间	选育地点	年均树高生长量 m/a	年均胸径生长量 cm/a	特性	鉴定、认定、审定情况

附 录 C
（资料性附录）
外植体采集与繁殖材料更新表

表 C.1 外植体采集与繁殖材料更新表

无性系编号	采集时间	采集地点	天气状况	母株状况	外植体状况	采集数量 条	表面灭菌方法	表面灭菌成功率 %	诱导率 %	采集人

LY/T 2428—2015

中华人民共和国林业

行业标准

杉木组织培养育苗技术规程

LY/T 2428—2015

*

中国标准出版社出版发行

北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)

北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 21 千字

2015年3月第一版 2015年3月第一次印刷

*

书号:155066・2-28424

LY/T 2428-2015