



中华人民共和国林业行业标准

LY/T 2698—2016

铁皮石斛杂交育种技术规程

Technical regulations for crossbreeding of *Dendrobium officinale*

2016-07-27 发布

2016-12-01 实施

国家林业局 发布

中 华 人 民 共 和 国 林 业
行 业 标 准
铁皮石斛杂交育种技术规程
LY/T 2698—2016

*

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)68533533 发行中心:(010)51780238

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 0.5 字数 10 千字
2017 年 4 月第一版 2017 年 4 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-31525 定价 14.00 元

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由贵州省林业厅提出。

本标准由全国林木种子标准化技术委员会(SAC/TC 115)归口。

本标准负责起草单位：贵州师范大学、贵州亿龙生物科技有限公司。

本标准主要起草人：乙引、龚记熠、黎瑞源、徐小蓉、张宇斌、张习敏、洪鲲、汤晓辛、王绍东。

铁皮石斛杂交育种技术规程

1 范围

本标准规定了铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)杂交育种亲本的选择与栽培、杂交技术、F1 代无菌苗的生产、子代测定、优良单株扩繁以及谱系档案管理等内容。

本标准适用于人工控制下的铁皮石斛杂交育种。

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。

- LY/T 2289 林木种苗生产经营档案
- LY/T 2547 铁皮石斛栽培技术规程
- 中华人民共和国药典(2010 版)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

柱头窝 stigma nest
铁皮石斛合蕊柱柱头中间凹陷的部位。

3.2

茎粗值 stem diameter
铁皮石斛顶芽与土痕中间部位茎的直径值。

4 亲本选择及培育

4.1 亲本的选择

亲本选择糖含量高于 30%、抗寒能力强、生长势好、萌蘖能力强的优良品种作为父母本。

4.2 亲本栽培

种植大棚宜选择简易竹木框架或钢架拱形大棚,大棚高度 4 m,宽度 4 m,长度视地形而定,棚内需通风良好,并设有遮荫网、防虫网和塑料布。苗床距离地面高度 15 cm~20 cm,宽 100 cm~150 cm,长度根据大棚情况而定,上铺栽培基质,厚度 20 cm 以上。床间通道宽 50 cm~60 cm。其余栽培及管理事项参照 LY/T 2547 执行。

5 杂交技术

5.1 花粉采集

铁皮石斛开花时间为每年 3 月至 6 月,在父本即将开放前的早晨选择无露珠的花朵采集花粉。采

LY/T 2698—2016

集前准备洁净干燥的玻璃瓶、镊子和取样针备用,采集时一只手小心将花朵唇瓣朝上,另一只手去除唇瓣,然后用镊子小心朝唇瓣方向去掉药帽,用取样针顶端放到药室内轻轻将花粉粒粘起,送入准备好的授粉花朵或者干燥瓶内。

5.2 花粉保存

将装有花粉的干燥瓶密封,并在 4 ℃ 冰箱保存,存放时间不超过 10 d。

5.3 授粉

授粉时间选择在母本开花第 2 d~5 d 内进行,授粉前将取样针或牙签高温消毒备用,授粉时用取样针顶端将花粉粒粘起,送至母本柱头窝内。同一支取样针只能给一朵花授粉,更换父母本时都需要更换取样针。

5.4 标记

授粉后及时挂牌做好标记和记录。

5.5 授粉后管理

授粉后子房开始膨大时疏果,每株保留果实 2 个~3 个。其余管理事项参照 4.2 执行。

5.6 蒴果采收及保存

5.6.1 蒴果采收

杂交后 8 个~9 个月,当蒴果表皮由绿色转为黄色且尚未开裂时带柄采集。

5.6.2 蒴果保存

采集后的蒴果放置在 4 ℃ 冰箱保存备用。

6 F1 代无菌苗培育

6.1 材料灭菌

铁皮石斛蒴果表面用 75% 酒精消毒 30 s,无菌水冲洗 3 次,再用 10% 次氯酸钠溶液消毒 30 min,无菌水漂洗 3 次。

6.2 培养基制备

种子萌发培养基采用 1/2MS 培养基,添加 NAA 0.5 mg/L,蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH 5.4~5.8。

6.3 无菌播种

将消毒后蒴果置于无菌的培养皿中,用消毒的解剖刀切开蒴果,将种子均匀分布于萌发培养基表面。

6.4 培养条件

接种后的培养基置于温度 25 ℃ ± 2 ℃,光照 12 h/d,光强为 1 000 lx~1 500 lx 培养室培养。

6.5 炼苗

不定根长至 1 cm~2 cm 时,进行炼苗,炼苗温度控制在 20 ℃~30 ℃,在自然光下闭口炼苗 7 d~10 d,开口炼苗 5 d~7 d。

6.6 幼苗移栽

用清水洗净根部培养基,移栽至种植大棚内,移栽后前 7 d 注意遮光,疏松基质,保持空气湿度 80%~85%。

6.7 移栽后管理

管理方法参照 4.2 执行。

7 子代测定

7.1 茎粗值测定

移栽后 10 个月,用数显游标卡尺测量茎粗值。

7.2 多糖的测定

7.2.1 样品采集

移栽 10 个月后采集健康植株茎秆,用双蒸水洗净,在 40 ℃烘箱种烘至恒重。

7.2.2 测定方法

测定方法参照《中华人民共和国药典》(2010 版)的方法测定多糖含量。

8 优良单株选择

优良单株的选择采用 Kung 育种值评估法对各性状进行指标评定。以茎粗值 Z 值>0.3 为入选标准,同时选出多糖含量高于父母本的单株,确认为优良单株。Kung 育种值计算方法见式(1):

$$Z = y + c(y - \bar{y}) \dots\dots\dots(1)$$

式中:
 y ——测试家系的观测均值;
 c ——校正值, $c = 1 - 1/F$, F 为方差分析 F 值;
 $\bar{y}$ ——所有家系的总体观测均值。

9 优良单株扩繁

9.1 材料采集与灭菌

在春季选择优良单株的幼茎或嫩叶为材料。灭菌参照 6.1 执行。

9.2 培养基制备

培养基采用 MS 培养基,添加 6-BA1.0 mg/L,NAA0.5 mg/L,20%马铃薯提取液,蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH5.4~5.8。

LY/T 2698—2016

9.3 无菌接种

将消毒后外植体材料置于培养皿中,用消毒的镊子将外植体材料均匀分布于培养基表面。

9.4 培养条件

培养条件参照 6.4 执行。

9.5 原球茎分化

原球茎分化培养基及添加物参照 9.3 培养基制备执行。原球茎增殖及分化代数不超过 6 代。

9.6 生根与壮苗

幼苗长至 2 片~3 片叶时进行生根培养,生根培养基选择 1/2MS,添加 IBA0.5 mg/L,NAA0.3 mg/L,香蕉汁 10%,蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH5.4~5.8。幼苗壮苗培养基选择 MS,添加 6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,香蕉汁 30%,蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH5.4~5.8。培养条件参照 6.4 执行。

9.7 炼苗

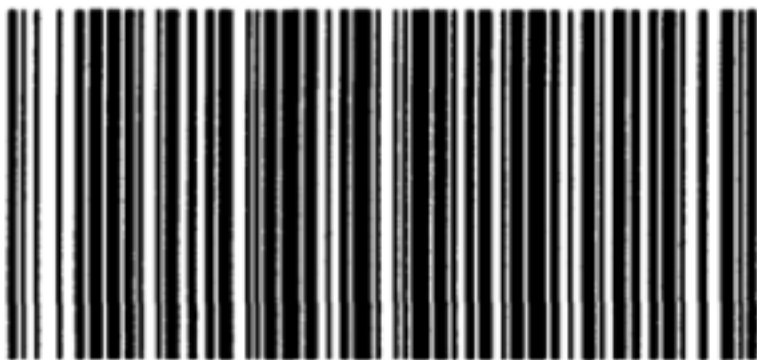
参照 6.5 执行。

9.8 幼苗移栽与管理

移栽参照 6.6 执行,管理方法参照 4.2 执行。

10 档案管理

参照 LY/T 2289 执行。



LY/T 2698-2016

书号:155066 • 2-31525

定价: 14.00 元