

ICS 11.120.10

B 38

中华人民共和国国家质量监督

检验检疫总局备案号：55502-2017

# DB53

## 云南省地方标准

DB53/T 838—2017

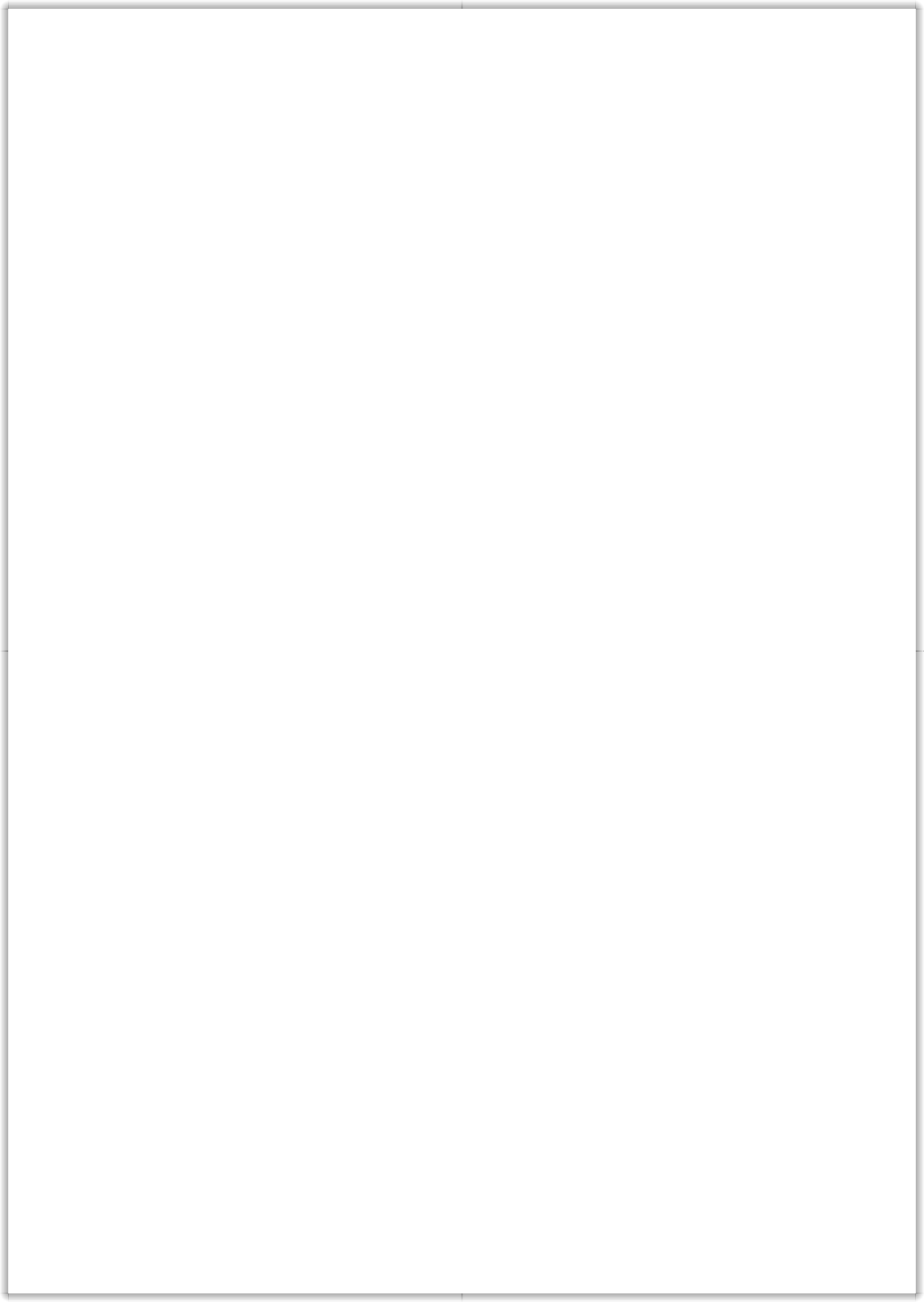
---

### 白及组织培养育苗技术规程

2017-08-10 发布

2017-11-01 实施

云南省质量技术监督局 发布



## 前 言

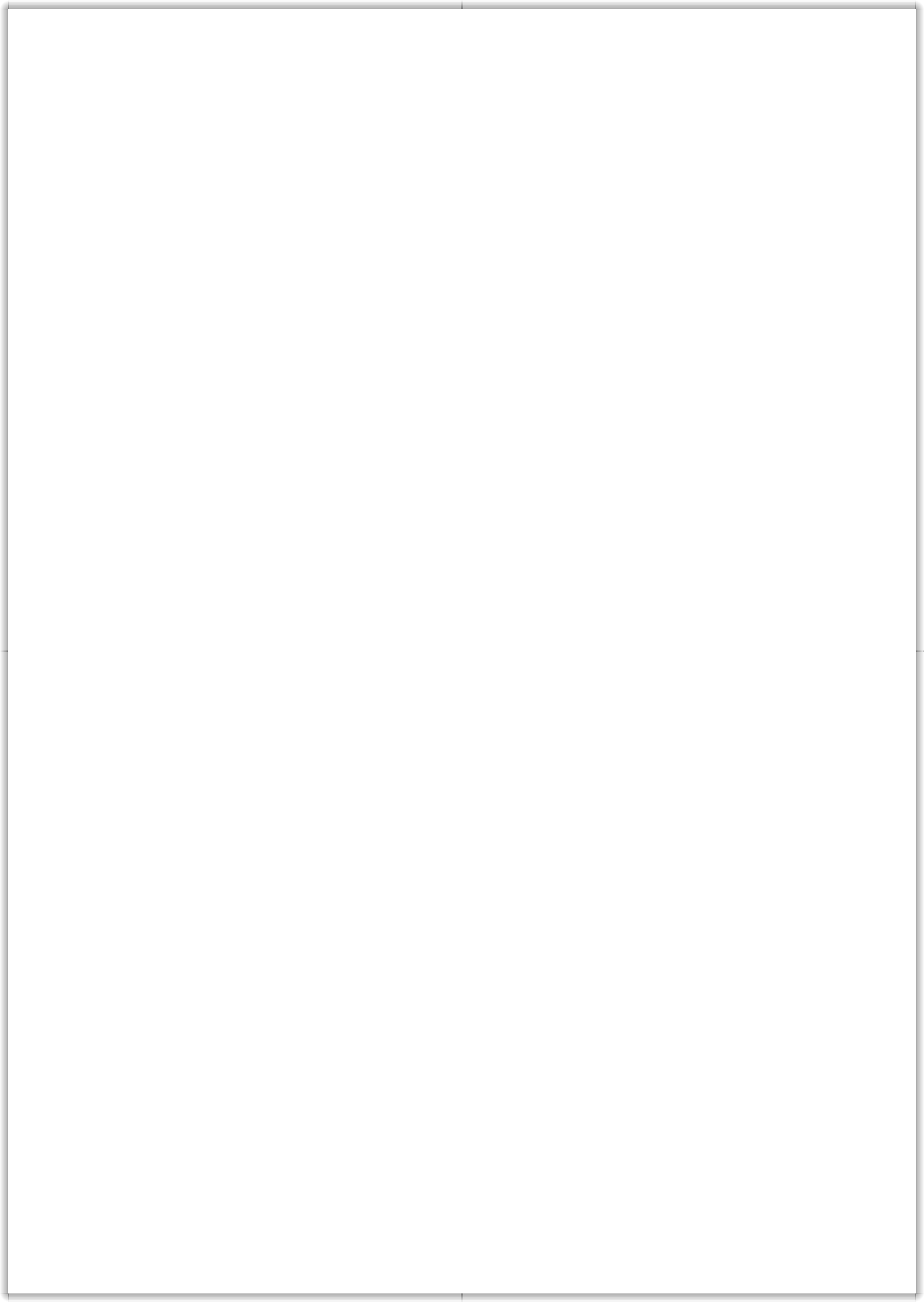
本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由云南省农业科学院药用植物研究所提出。

本标准由云南省花卉标准化技术委员会（YNTC 08）归口。

本标准起草单位：云南省农业科学院药用植物研究所、文山州杏林生物科技开发有限责任公司、云南拜勒提中药资源开发有限公司。

本标准主要起草人：张智慧、刘大会、朱新焰、王丽、王家金、马聪吉、石亚娜、王金园、胡建文。



# 白及组织培养育苗技术规程

## 1 范围

本标准规定了白及 (*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f.) 种子组织培养育苗的培养基配制、消毒灭菌、种子来源、播种培养、增殖培养、生根培养、炼苗等技术要求。

本标准适用于白及种子组培苗的繁育。

## 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。

NY/T 2306-2013 花卉种苗组培快繁技术规程

## 3 术语与定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

白及组培苗

特指以白及种子为外植体，采用组织培养技术生产的苗。

### 3.2

增殖

将培养材料转接到新鲜培养基中继续培养，使其增殖、生长、分化的过程。

### 3.3

炼苗

将组织培养获得的完整植株及培养容器一起移至温室等自然环境中培养，增强植株对自然光照和温差变化适应能力后，将组培苗从培养容器中取出移栽到基质中，采取通风、控温、控湿、遮光等措施，使幼苗成活达到移栽自然环境条件的过程。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

MS: Murashige and Skoog, 培养基发明人名字的缩写，是组织培养中常用的基本培养基。

1/2MS: 仅大量元素组分浓度为MS培养基的1/2，其余组分浓度不变。

6-BA: 6-Benzylaminopurine, 6-苄基腺嘌呤。

NAA: 1-Naphthylacetic acid,  $\alpha$ -萘乙酸。

## 5 培养基配制

### 5.1 培养基母液的配制和保存

MS 培养基母液的配制和保存<sup>注1</sup>参见附录 A 或执行 NY/T 2306-2013 附录 D、附录 F 和附录 G 的要求。

注1: 为方便标准的使用, 重复列为附录 A。

### 5.2 植物生长调节剂母液的配制和保存

植物生长调节剂母液配制和保存<sup>注2</sup>参见附录 B 或执行 NY/T 2306-2013 附录 D 和附录 H 的要求。

注2: 为方便标准的使用, 重复列为附录 B。

### 5.3 培养基配方

5.3.1 播种培养基:  $1/2MS + NAA 0mg \cdot L^{-1} \sim 0.5mg \cdot L^{-1}$ 。

5.3.2 增殖培养基:  $MS + 6-BA 0.5mg \cdot L^{-1} \sim 1.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.1mg \cdot L^{-1} \sim 0.5 mg \cdot L^{-1}$ 。

5.3.3 生根培养基:  $1/2 MS + NAA 0.1mg \cdot L^{-1} \sim 0.5mg \cdot L^{-1} +$  香蕉泥  $40g \cdot L^{-1} \sim 80g \cdot L^{-1} +$  土豆泥  $40g \cdot L^{-1} \sim 80g \cdot L^{-1} +$  活性炭  $2g \cdot L^{-1}$ 。

5.3.4 上述培养基为推荐配方, 均附加蔗糖  $30g \cdot L^{-1}$ , 琼脂粉  $4g \cdot L^{-1}$ , pH 值为 5.8。

## 6 消毒灭菌

对培养基、接种用具、环境等的消毒和灭菌执行 NY/T 2306-2013 的消毒灭菌要求。

## 7 种子来源

7.1 原植物应符合《中国植物志》记载的白及的植物特征和基源 (*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f.), 经过鉴定确认。

7.2 留种株应选择品种特性纯正、生长健壮的植株。

7.3 在 4~5 月份盛花期进行授粉, 母本在授粉后立即摘除唇瓣, 及时挂牌标志。

## 8 播种培养

### 8.1 蒴果的采集和保存

于晴天, 采集饱满、无病虫害, 果龄 5 个月以上, 尚未开裂的成熟蒴果; 自然阴干, 装于透气的容器中, 置于通风、凉爽、干燥的环境中保存, 保存时间不超过 12 个月为宜。

### 8.2 播种

采用酒精、次氯酸钠或氯化汞等对蒴果消毒, 切开蒴果, 将种子无菌撒于播种培养基表面。

### 8.3 培养条件

培养温度  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光照强度  $2000 \text{ lx} \sim 3000 \text{ lx}$ ，光照时间  $8\text{h/d} \sim 12\text{h/d}$ 。

## 9 增殖培养

### 9.1 接种

播种  $50\text{d} \sim 70 \text{ d}$ ，形成  $1 \sim 2$  片叶后，将聚集的小苗切分成小芽丛或单个壮芽无菌接种到新鲜的增殖培养基上继续培养。

### 9.2 培养条件

增殖培养周期为  $40\text{d} \sim 60\text{d}$ 。增殖培养的温度、光照强度和光照时间同 8.3。

## 10 生根培养

### 10.1 接种

将假鳞茎明显膨大且直径  $> 1\text{mm}$  的幼苗无菌接种到生根培养基中。

### 10.2 培养条件

生根培养的温度、光照强度和光照时间同 8.3。

## 11 炼苗

### 11.1 闭瓶炼苗

将初步形成假鳞茎和根系，叶片数  $\geq 2$  片的组培苗移至于栽培环境相近的环境中，透光率  $50\% \sim 70\%$ ，温度  $10^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ ，自然光闭瓶炼苗  $20\text{d} \sim 40\text{d}$ ，以使组培苗适应自然光照和昼夜温差。

### 11.2 移栽驯化

11.2.1 步骤：组培苗达到《白及组培苗质量等级》生根瓶苗合格苗质量标准（假鳞茎直径  $\geq 3\text{mm}$ ，株高  $\geq 6\text{cm}$ ，根  $\geq 3$  条，叶片  $\geq 2$  片，植株生长健壮）的苗即可移栽至基质驯化。小心从培养瓶中取出组培苗，清水漂洗干净，用 500 倍的 50% 多菌灵可湿性粉剂或 75% 百菌清可湿性粉剂浸泡约 5min，凉至根系发白，即可植入疏松、保水、透气的基质中驯化。

11.2.2 管理：光照强度不超过  $20000 \text{ lx}$ ，温度  $10^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ ，湿度  $65\% \sim 90\%$ 。新根萌动后可喷施叶面肥，氮、磷、钾比例分别为  $30 : 10 : 10$  和  $20 : 20 : 20$  的两种叶面肥 1000 倍液交替喷施，每  $7\text{d} \sim 10\text{d}$  一次。同时做好红蜘蛛、蜗牛等病虫害防治。

11.2.3 出圃标准：植入基质后达到《白及组培苗质量等级》三级组培驯化苗质量标准（假鳞茎直径  $\geq 6\text{mm}$ ，株高  $\geq 9\text{cm}$ ，根  $\geq 5$  条，叶片  $\geq 2$  片，茎粗  $\geq 1.0\text{mm}$ ，植株生长健壮）的苗即可出圃。

附录 A  
(资料性附录)  
MS 基本培养基母液配制

母液种类	化学试剂中文名称	分子式或英文名	规格	浓度 mg·L <sup>-1</sup>	扩大倍数	称取重量 mg·L <sup>-1</sup>	保存方式
大量元素	硝酸钾	KNO <sub>3</sub>	AR	1900	20	38 000	冷藏(4℃), 避光保存
	硝酸铵	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	AR	1650		33 000	
	磷酸二氢钾	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	AR	170		3 400	
	七水合硫酸镁	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	AR	370		7 400	
	二水合氯化钙	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	AR	440		8 800	
微量元素	碘化钾	KI	AR	0.83	200	166	冷藏(4℃), 避光保存
	七水合硫酸锌	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	AR	8.6		1 720	
	四水合硫酸锰	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	AR	22.3		4 460	
	硼酸	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	AR	6.2		1 240	
	二水合钼酸钠	NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	AR	0.25		50	
	六水合氯化钴	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	AR	0.025		5	
	五水合硫酸铜	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	AR	0.025		5	
有机成分	盐酸硫胺素 (维生素 B <sub>1</sub> )	Thiamine·HCl	BR99.6%	0.1	100	10	冷藏(4℃), 避光保存
	烟酸(维生素 B <sub>5</sub> )	Nicotinic acid	BR99.8%	0.5		50	
	盐酸吡哆醇 (维生素 B <sub>6</sub> )	Pyridoxine·HCl	BR99.7%	0.5		50	
	甘氨酸	Glycine	BR99.5%	2.0		200	
	肌醇	Myo-inositol	BR99.9%	100		10 000	
铁盐	七水合硫酸亚铁	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	AR	27.8	100	2 780	冷藏(4℃), 避光保存
	乙二胺四乙酸二钠	Na <sub>2</sub> ·EDTA	AR	37.3		3 730	



附录 B  
 (资料性附录)  
 植物生长调节剂的母液配制

化学试剂 中文名称	英文名	规格	配置方法	存储方式	常用母液浓度 mg·ml <sup>-1</sup>
6-苄基嘌呤	6-Benzyl aminopurine (6-BA)	BR	先用适量 1mol·L <sup>-1</sup> 的盐酸 (HCl) 充分溶解, 然后加去离子水定容。	冷藏(4℃), 密封, 避光 保存	0.1、0.5、1.0
α-萘乙酸	1-Nnphthylacetic acid (NAA)	BR	先用适量 95%酒精或 无水乙醇充分溶解, 然 后加去离子水定容。		

