

ICS 65.020.40

CCS B 66

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 564—2023

金线莲共生萌发繁育技术规程

Technical code of practice for symbiotic seed germination and breeding
of *Anoectochilus roxburghii*

2023 – 09 – 22 发布

2023 – 09 – 28 实施

广西标准化协会 发 布

前 言

本文件参照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。

本文件由广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所、桂林保林生物技术有限公司、广西正能农林健康产业有限公司。

本文件主要起草人：付传明、赵有林、黄宁珍、何金祥、卢凤来、冼康华、苏江、刘宝骏、崔保登、邱桂翔、李吉生、田华丽、甘祥鸿。

金线莲共生萌发繁育技术规程

1 范围

本文件界定了金线莲共生萌发繁育涉及的术语和定义，规定了种子选择、菌剂制备、共生萌发育苗的操作指示，描述了生产档案的追溯方法。

本文件适用于广西境内金线莲的共生萌发繁育。

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。

GB 20287 农用微生物菌剂

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

金线莲 *Anoectochilus roxburghii*

原植物为兰科（Orchidaceae）开唇兰属（*Anoectochilus*）的金线兰 [*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.]。

3.2

共生萌发 *sybiotic seed germination*

植物种子在萌发菌侵染下，依靠菌株提供能量和营养物质进行萌发的过程。

3.3

原球茎 *protocorm*

兰科植物种子萌发过程中突破合点断种皮形成球形或椭圆形结构的一种形态学结构。

4 种子选择

选择褐色丝状种子，在3℃~5℃温度下储藏备用。

5 菌剂制备

5.1 菌根真菌分离

选取野生金线莲健壮幼苗根状茎的突起部位，洗掉表面污物，用体视显微镜观察，筛选有菌丝团定植的根部组织作为菌根真菌分离的材料，然后在超净工作台上用75%酒精溶液表面消毒10 s~30 s，再选用有效氯含量为3%的NaClO溶液消毒5 min~10 min，无菌水冲洗5次，切成1 mm~2 mm的小片，接种于马铃薯200 g/L+葡萄糖20 g/L+琼脂10 g/L~15 g/L培养基上，置于25℃~28℃温度下暗培养，直至边缘处长出真菌菌丝。

5.2 菌根真菌纯化

挑取最外侧菌丝接种于马铃薯200 g/L+葡萄糖20 g/L+琼脂10 g/L~15 g/L培养基上，25℃~28℃温度下暗培养，获得单菌落。

5.3 有效菌根真菌筛选

5.3.1 培养基质

壳斗科树叶、杂木木糠与米糠以按照35:35:30的质量比例均匀混合，加去离子水调整至60%~65%含水量。

5.3.2 有效菌根真菌筛选

将金线莲种子撒播在5.3.1的基质上共生暗培养，观察金线莲种子的萌发情况，筛选有效菌根真菌。筛选出的真菌产品技术指标应符合GB 20287 的要求。

5.3.3 菌剂贮存

在3℃~5℃无污染的环境贮存。

6 共生萌发育苗

6.1 菌种活化

将贮存的菌种转接到马铃薯200 g/L+壳斗科树叶10 g/L~50 g/L+蔗糖5 g/L~15 g/L培养基上，制备成液体共生菌种备用。

6.2 共生萌发培养

6.2.1 共生培养基

共生培养基配比同5.3.1，在121℃、 10^5 Pa条件下灭菌20 min~30 min，冷却备用。

6.2.2 共生萌发方法

将液体菌种接种到6.2.1的培养基上，待真菌长满基质表面后，再切开金线莲果荚，将种子均匀撒播在培养基上，在温度23℃~27℃、空气相对湿度60%~70%条件下暗培养60 d~70 d，种子萌发形成原球茎，原球茎逐步分化成具叶、根的小苗。

6.3 壮苗培养

小苗置于光照度1500 lx~2000 lx，光照时间10 h/d~14 h/d，温度23℃~27℃，空气相对湿度60%~70%条件下培养，小苗逐渐长高形成健壮种苗。种苗规格指标见表1。

表1 种苗规格指标

项目	指标	
	合格苗	优质苗
性状	生长健壮、无污染、无病害	
叶片，片	≥3	≥4
株高，cm	≥5.0	≥7.0
茎粗，mm	≥2.0	≥2.5
整齐度	基本均匀	均匀

7 生产档案

建立金线莲共生萌发育技术档案，档案内容包括繁育时间、种子形态与数量、菌株形态、种苗大小等。档案记录保存2年以上。

中华人民共和国团体标准
金线莲共生萌发繁育技术规程
T/GXAS 564—2023
广西标准化协会统一印制
版权专有 侵权必究