|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020.20 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png GXAS |   B 31 |

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

冬凤兰组培繁育技术规程

Technical code of Practice on Tissue Culture and Propagation of Cymbidium dayanum

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西标准化协会  发布

1. 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农业科学院提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区农业科学院、广西雅长兰科植物国家级自然保护区管理中心、广西亚热带园林植物研究中心有限责任公司。

本文件主要起草人：曾艳华、卜朝阳、何荆洲、范继征、李秀玲、罗亚进、龙蔷宇、邓振海、韦妙琴。

冬凤兰组培繁育技术规程

* 1. 范围

本文件确立了冬凤兰组培苗生产的程序，规定了外植体选择与处理、初代培养、继代增殖培养、根芽分化、生根壮苗培养、组培苗移栽和管理等阶段的技术操作。

本文件适用于冬凤兰组培苗的生产管理全过程。

* 1. 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/T 8321（所有部分） 农药安全使用标准

NY/T 2306 花卉种苗组培快繁技术规程

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

变异率 variation rate

形态、遗传特性显著有别于原品种的变异株数与植株总数的比率。

原球茎 protocorm

种子萌发过程中的形态学结构，种子的幼胚吸水膨胀，中部的胚细胞分裂增殖，突破合点端种皮形成球形或椭球形的芽状结构。

4 组织培养繁育技术

4.1 母株的选择

选择品种纯正、农艺性状优良、生长健壮、无病虫害的植株作为母株。

4.2 果实的获取

通过人工授粉获得蒴果。

4.3 种子灭菌

参照NY/T 2306的规定，将授粉足8个月未开裂的冬凤兰蒴果用75%的酒精擦拭干净，擦拭干净的蒴果置于超净工作台内，将蒴果用浓度为75％的酒精浸泡30s，再用0.1%的升汞表面消毒15min，无菌水冲洗4次，干净后用无菌滤纸吸干水分待用。

4.4 种子预处理

用消毒刀片切掉蒴果两头，纵剖开蒴果，将种子取出置于尺寸为4cm×6cm的环保茶袋中，将茶袋抽绳拉紧，整个泡进0.2mol/L NaClO中浸泡15min进行预处理。

4.5 接种

将预处理过的种子用无菌水冲洗两遍，用接种勺播种于诱导培养基上（见附录A.1.1），滴加1～2滴无菌水摇匀，让种子均匀分布在培养基表面。

4.6 培养条件

培养室温度25℃±2℃，湿度40％～60％，种子播种后遮光培养，待萌发后光照强度500LX，生根壮苗光照强度2000LX，每天光照时间10h～12h。

4.7 原球茎增殖培养

种子萌出原球茎以后，将其分割成0.5cm3左右小块，分别接种到增殖培养基（见附录A.1.1），培养30d，原球茎大量增殖。增殖代数应在10代以内。

4.8 根芽分化培养

在超净工作台上，切割初代或继代培养诱导的原球茎，切割成0.5cm3左右小块，转接至根芽分化培养基上（见附录A.1.1），每瓶接种5块～8块，培养20d～30d，原球茎分化出叶芽和少量根，部分原球茎继续继代增殖，增殖代数应在10代以内。

4.9 生根壮苗培养

在超净工作台上，将苗高3cm～5cm，生长健壮、长势一致的无根组培苗转接至生根培养基中（见附录A.1.1），630ml～650ml规格培养瓶，每瓶接种10苗～15苗，培养30d～40d，诱导生根和壮苗。组培生根苗质量要求见表1。

1. 组培生根苗的质量要求

|  |  |
| --- | --- |
| 类目 | 指标值 |
| 株形 | 植株健壮，叶片正常伸展 |
| 根系 | 不定根≥3条，根长2cm～4cm，根浅绿色 |
| 苗高 | 8cm～10cm |
| 叶色及数量 | 叶中绿，叶片数3片～5片 |
| 变异率 | 变异率≤2％ |

5 组培苗移栽

5.1 炼苗

将生根组培苗转移至遮光度为50％～70％，温度为28℃±2℃的温室中炼苗10d～15d。

5.2 清洗

从容器中取出组培苗，用清水洗去根部培养基，用50％多菌灵可湿性粉剂2000倍液浸泡10s，置于阴凉通风处晾干水分。

5.3 移栽

5.3.1 环境条件

温度20℃～28℃，空气湿度70%～80%，光照强度3000LX～5000LX。

5.3.2 基质

选择干净、透气保水的基质（树皮:珍珠岩=2:1）

5.3.4 容器

塑料穴盘54cm×28cm，50穴/盘，或8cm×8cm塑料营养杯。

5.3.5 灭菌

移栽前用50％多菌灵可湿性粉剂2000倍液喷洒容器和基质。

5.3.6 定植

定植前用水将基质泡透，沥净多余的水分，按每穴1～2株将小苗种植于基质中，隔天浇透定根水。

5.4 移栽后管理

5.4.1水分和光照

移栽成活前15d～20d宜阴养，遮光率50％～70％。移栽成活后常规温室管理，定期淋水，保持基质湿润。

5.4.2 施肥

移栽成活长出新叶后每隔7d～10d喷施1次叶面复合肥（N:P2O5:K2O =15:15:15）500～1000倍液。

5.4.3 温度

温度应控制在20℃～30℃。

5.4.4 病虫害防治

冬凤兰主要病害为：白绢病、炭疽病，每隔10d～15d喷施3％甲霜灵噁霉灵水剂750倍液，或50％多菌灵可湿性粉剂1000倍液，或72％霜脲锰锌可湿性粉剂750倍液进行防治。主要虫害为：介壳虫、蓟马、红蜘蛛，每隔10d～15d喷施1.8％阿维菌素乳油1000倍液，或20％阿维螺螨酯悬浮剂3000倍液，或5％阿维啶虫脒微乳剂1500倍液。轮换用药，避免产生抗性。化学药剂的使用应符合GB/T 8321（所有部分）的要求。

2. （资料性）  
   培养基配制
   1. 培养基配制
      1. 培养基配方

培养基宜用1mol/L HCl溶液或NaOH溶液调整pH值为5.5～5.8，不同培养基配方见表A.1。

* 1. 冬凤兰组培苗生产不同阶段参考培养基

|  |  |
| --- | --- |
| 培养阶段 | 培养基配方 |
| 诱导培养 | KC+NAA0.6mg/L+6-BA1.5mg/L+椰汁100mL/L+活性炭1g/L |
| 继代增殖培养 | MS+NAA0.2mg/L+6-BA1.2mg/L+椰汁100mL/L |
| 根芽分化培养 | MS+NAA0.2mg/L+6-BA2mg/L+椰汁100mL/L |
| 生根壮苗培养 | 1/2MS+IBA0.3mg/L+NAA0.2mg/L+香蕉泥100g/L+活性炭2g/L |
| 1. 不同阶段培养基蔗糖含量均为20g/L，琼脂含量4.7g/L～5.0g/L。 | |

* + 1. 培养基分装

培养基分装量以占培养容器的1/4～1/3为宜，分装时培养基不应沾在瓶口周围。宜采用具有透气性的材料密封培养容器，广口瓶采用透气瓶盖，三角瓶采用棉塞外包牛皮纸。

* + 1. 培养基灭菌

置于温度为121℃，压力为1.1kg/cm2～1.3kg/cm2的灭菌锅，高压灭菌20min～25min。配制的培养基应12h内完成灭菌。

