|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65 |
| 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 |   B61 |

团体标准

T/GXAS XXXX—XXXX

山葡萄组培苗生产技术规程

Technical code of practice for tissue culture seedling production of Vitis amurensis

（征求意见稿）

（2023.06.15）

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西标准化协会  发布

目次

[1 范围 1](#_Toc137741896)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc137741897)

[3 术语和定义 1](#_Toc137741898)

[4 外植体采集和处理 1](#_Toc137741899)

[4.1 外植体来源 1](#_Toc137741900)

[4.2 外植体采集 1](#_Toc137741901)

[4.3 外植体处理 1](#_Toc137741902)

[5 诱导培养 2](#_Toc137741903)

[5.1 诱导培养基 2](#_Toc137741904)

[5.2 培养条件 2](#_Toc137741905)

[5.3 外植体接种 2](#_Toc137741906)

[6 增殖培养 2](#_Toc137741907)

[6.1 增殖培养基 2](#_Toc137741908)

[6.2 培养条件 2](#_Toc137741909)

[6.3 接种 2](#_Toc137741910)

[6.4 继代培养 2](#_Toc137741911)

[7 生根培养 2](#_Toc137741912)

[7.1 生根培养基 2](#_Toc137741913)

[7.2 培养条件 2](#_Toc137741914)

[7.3 生根转接 2](#_Toc137741915)

[8 炼苗移栽 2](#_Toc137741916)

[8.1 炼苗 2](#_Toc137741917)

[8.2 育苗容器 3](#_Toc137741918)

[8.3 基质 3](#_Toc137741919)

[8.4 洗苗 3](#_Toc137741920)

[8.5 移栽 3](#_Toc137741921)

[9 苗期管理 3](#_Toc137741922)

[9.1 水分 3](#_Toc137741923)

[9.2 光照 3](#_Toc137741924)

[9.3 施肥 3](#_Toc137741925)

[9.4 病虫害防治 3](#_Toc137741926)

[10 苗木出圃 3](#_Toc137741927)

[10.1 苗木分级 3](#_Toc137741928)

[10.2 起苗 4](#_Toc137741929)

[10.3 包装运输 4](#_Toc137741930)

[11 档案管理 4](#_Toc137741931)

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林业科学研究院提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区林业科学研究院、广西壮族自治区农业科学研究院葡萄与葡萄酒研究所、南宁市翔林生物科技有限公司。

本文件主要起草人：张晓宁、吴代东、肖玉菲、朱慧、林东、李洪艳、魏秋兰、韦荣福、张烨、周思泓、覃玉凤、成果、覃子海、钟连香、陈博雯。

山葡萄组培苗生产技术规程

* 1. 范围

本文件规定了山葡萄（*Vitis amurensis* Rupr）外植体采集和处理、诱导培养、增殖培养、生根培养、炼苗移栽、苗期管理、苗木出圃、档案管理等技术和要求。界定了山葡萄组培苗生产技术的术语和定义。

本文件适用于广西境内山葡萄组培苗生产。

* 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 6000 主要造林树种苗木质量分级

GB/T 15776 造林技术规程

LY/T 1000 容器育苗技术规程

* 1. 术语和定义

GB/T 20000.界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

外植体 explants

植物组织培养过程中，从供体植物上取下来用于培养的细胞、组织或器官。

植物生长调节剂 Plant growth regulator

具有调节植物生长发育作用的有机化合物。

芽诱导 buds induction

将培养材料放入诱导培养基中进行培养，分化出不定芽的过程。

* 1. 外植体采集和处理
     1. 外植体来源

选择枝条茂盛、健康、无病虫害的山葡萄优良单株。

* + 1. 外植体采集

每年的春夏季节，在连续3天没有雨水的晴朗的中午，采集当年萌发的半木质化的茎段。

* + 1. 外植体处理
       1. 预处理

将采集的山葡萄茎段用湿毛巾包裹带回实验室，剪去叶片，置于洗洁精溶液中浸泡30min，并用流动自来水冲洗60min，剪掉枝条切口部分，剪成带腋芽1个～2个、长2.0cm～3.0cm的茎段，用0.1％多菌灵浸泡5min。用无菌水冲洗3次～4次。

* + - 1. 消毒

在超净工作台上，用75％乙醇溶液浸泡外植体20s，无菌水迅速漂洗5次～6次，再用0.1％升汞溶液浸泡外植体20min，无菌水漂洗5次～6次，将消毒好的外植体两端组织剪去约0.2cm，再用无菌滤纸将枝条表面的水分吸干备用。

* 1. 诱导培养
     1. 诱导培养基

诱导培养基配方：改良MS+1.5mg/L6-BA+0.2mg/LNAA + 30g/L蔗糖+4g/L琼脂,pH值为5.8。

* + 1. 培养条件

培养温度为25℃±2℃。光照强度1500Lx～2000Lx，光照时间10h/d～12h/d,空气湿度40%～50%。

* + 1. 外植体接种

将外植体修剪为2cm的带芽茎段，茎段基部垂直接种到诱导培养基中，立稳。

* 1. 增殖培养
     1. 增殖培养基

增殖培养基配方：改良MS + 2.0mg/L6-BA + 0.4mg/LNAA + 0.1mg/LTDZ + 30 g/L蔗糖 + 4.0 g/L琼脂，pH值为5.8。

* + 1. 培养条件

同5.2。

* + 1. 接种

外植体诱导培养至萌芽长度大于3.0cm后，剪取萌芽接种于继代培养基上。

* + 1. 继代培养

增殖培养10d～20d后，将增殖芽分株为单芽或小丛，继续转入继代培养基。继代转接代数不宜超过30代。

* 1. 生根培养
     1. 生根培养基

生根培养基配方：1/2MS培养基 + 0.2mg/LIBA + 0.4mg/L NAA + 15g/L 蔗糖 + 4g/L琼脂，pH值为5.8。

* + 1. 培养条件

同5.2。

* + 1. 生根转接

将生长健壮、长度大于3cm的继代增值芽丛分切为单芽茎段，剪去基部老叶，接种到生根培养基中，10d左右即可生根，培养15d～20d。

* 1. 炼苗移栽
     1. 炼苗

选取生长健壮、根数3条以上、根长1cm以上的组培生根苗，移到遮光度60％～70％，环境温度20℃～28℃的大棚内，炼苗10d～15d。移栽前3d～5d松开培养瓶盖。

* + 1. 育苗容器

无纺布育苗袋（规格9cm×3cm或10 cm×12 cm）。

* + 1. 基质

基质由黄心土:珍珠岩:河沙=2:1: 2的体积配比混匀而成。在移栽前3d内用0.1％高锰酸钾（K2MnO4）溶液将基质淋透消毒，1d后再用清水淋洒洗去药液。

* + 1. 洗苗

选取苗高≥3cm，根系≥1cm，叶色浓绿、健壮的瓶苗，打开培养瓶盖，轻轻将培养基及幼苗倒出，用清水洗净幼苗根部的培养基，保持根系完整湿润。

* + 1. 移栽

清水淋透基质，用直径1cm木棍在容器杯的中心插一小孔，将苗植入容器基质中间，轻压根部，淋透定根水。

* 1. 苗期管理
     1. 水分

每天喷（淋）水1次～2次，保持基质湿度80％～90％。

* + 1. 光照

移栽后一周内，透光度保持在30％～40％，一周后逐渐增加光照到50%左右，一个月后透光度增至70％～80％。

* + 1. 施肥

宜在傍晚进行。组培苗长出新叶后，每10d喷施1次0.1％～0.3％复合肥（N:P:K=15:15:15）溶液，施肥后立即用清水冲洗叶面，出圃前10d停止施肥。

* + 1. 病虫害防治
       1. 苗期主要病虫害

病虫害防治遵循预防为主，综合防治的原则。苗期病虫害较少，主要有霜霉病、白粉病、蝼蛄、地老虎、葡萄天蛾及黑豆病。

* + - 1. 防治方法

见附录A。

* 1. 苗木出圃
     1. 苗木分级

1. 苗木等级表

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 苗木种类 | 苗龄 | 合格苗 | | |  | 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) | 地径（cm） | 苗高(cm) |
| 容器组培苗 | 0.25年 | ≥0.20 | ≥30 | 0.10～0.15 | 20～30 | 根系发达，长势好，苗干直，无机械损伤，无病虫害 | 80％ |

* + 1. 起苗

起苗时间应与栽植季节一致。起苗前1d～2d浇透水，起苗时尽量避免损伤苗根和苗干，不得用手提苗茎。

* + 1. 包装运输

按GB/T 15776的规定执行。

* 1. 档案管理

按LY/T 1000规定执行。

2. （资料性）  
   山葡萄苗期主要病虫害防治

见表A.1。

表A.1 山葡萄苗期主要病虫害防治

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 病虫害名称 | 危害部位 | 防治方法 |
| 霜霉病 | 嫩枝、叶 | 预防：病害发生前，喷施78%科博600～800倍液。每隔10d～15d喷一次。叶片出现霜霉病症状时，可喷施50%烯酰吗啉粉剂3000～4000倍液，每隔7天喷1次。 |
| 白粉病 | 嫩枝、叶 | 发芽前喷1次波美3～5度石硫合剂；发芽后喷波美0.2～0.3度石硫合剂，或50%甲基托布津可湿性粉剂500倍液；病初用50%丙环唑乳油10mL加水100kg喷雾，或40%氟硅唑乳油600倍液。 |
| 葡萄虎天牛 | 枝条 | 根据出现的枯萎新梢，在折断处附近寻杀幼虫。发生量大时，在成虫盛发期喷布50%[杀螟松](https://baike.so.com/doc/6024853-6237850.html" \t "https://baike.so.com/doc/_blank)乳油1000倍液或20%杀灭菊脂3000倍液。或用棉花蘸50%[敌敌畏](https://baike.so.com/doc/3618202-3803778.html" \t "https://baike.so.com/doc/_blank)乳油200倍液堵塞虫孔。成虫产卵期喷500倍的90%敌百虫或1000倍的50%敌敌畏乳油。 |
| 球坚介壳虫 | 叶片、枝条 | 各种介壳虫以每代初龄若虫孵化后，尚未形成介壳之前及时喷药防治，效果最好。药剂可选择0.3波美度石硫合剂，50%辛硫磷乳油1000倍，80%敌敌畏乳油800～1000倍液，50%马拉松乳油1000倍液，20%灭扫利乳油3000倍液，20%速灭杀丁乳油3000倍液，20%螨蚧克乳油800～1200倍液等。 |
| 卷叶象鼻虫 | 叶片 | 用绿色威雷200～300倍液于成虫羽化前喷1次,或在下午至黄昏喷施80%敌敌畏、90%敌百虫、50%马拉硫磷、50%倍硫磷、50%辛硫磷、90%杀螟丹800~1000倍液，或10%天王星3000～3500倍液。 |

