

ICS 65.020.40

B 61

备案号:

# DB62

# 甘肃省地方标准

DB62/T 2013-2011

---

## 楸树无性系组培快繁技术规程

2011-01-11 发布

2011-02-20 实施

---

甘肃省质量技术监督局 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准附录A、附录B、附录C、附录D为资料性附录。

本标准由甘肃省林业厅提出。

本标准起草单位：甘肃省小陇山林业实验局林业科学研究所。

本标准主要起草人：于永明、马建伟、张宋智。

# 楸树无性系组培快繁技术规程

## 1 范围

本标准制定了楸树无性系组织培养快繁苗木的一般原则，包括术语和定义、外植体采集与处理、培养基配制、接种操作、初代培养、继代增殖培养、生根培养、试管苗炼苗移栽、大田栽植、苗木出圃与组培苗培育生产管理等方面。

本标准适用于甘肃省中、东、南部楸树无性系组培苗木的繁育生产。

## 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。

GB/T 6001 育苗技术规程

LY/T 1000 容器育苗技术

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

#### 植物组织培养

指在无菌条件下，将离体的植物器官（根、茎、叶、花、果实、种子等）、组织（如形成层、花药组织、胚乳、皮层等）、细胞（体细胞和生殖细胞）以及原生质体，培养在人工配制的培养基上，给予适当的培养条件，以形成再生植株，或培养新的育种材料的生物技术。

### 3.2

#### 外植体

用于无菌培养的植物活体，包括完整植株、胚胎或从植物体上切取的器官、组织、细胞、原生质体等一切材料。

### 3.3

#### 污染

培养过程中培养基或培养材料生长有真菌或细菌等微生物的现象。

### 3.4

#### 增殖培养

离体芽苗、愈伤组织或悬浮培养细胞不断倍增的培养过程。

### 3.5

### 初代培养

初代培养旨在获得无菌材料和无性繁殖系，即外植体接种后，最初的几代培养。

### 3.6

#### 生根培养

诱导无根离体芽苗产生根培养出生根试管苗的过程。

### 3.7

#### 母液

为称量准确与方便，用培养基的部分成分配制制成一定浓度和比例的溶液或混合溶液。

### 3.8

#### 培养基

由水、无机盐类、有机物质、蔗糖、植物生长调节剂及琼脂等组成的培养基质。

### 3.9

#### 试管苗

通过植物组织培养获得的离体小植株。

### 3.10

#### 试管苗炼苗

将组培试管苗移出培养室，置于近自然环境，随培养时间的推移使其逐渐接近外界环境，以提高苗木的木质化程度，增强试管苗对自然光照和温差的变化适应能力。

### 3.11

#### 移栽

将组培苗从培养容器中移出，栽植于温室或苗圃，使苗木逐渐适应自然条件的过程。

## 4 外植体采集与处理

### 4.1 外植体采集

采集外植体的母树应是经审（认）定的良种无性系原生株和早期无性系分株。

### 4.2 外植体的选取

选择健壮、无病虫害的植株为母树，当年3月份采一年生枝条。

### 4.3 外植体的培养

将枝条截成50cm长的茎段，置于温室中水培催芽，保持每天换水，发芽长约10cm左右后采取。

### 4.4 外植体的处理

4.4.1 去除芽上的所有叶片，于漂白粉液（1%~10%）中漂洗1min~2min，用自来水冲洗干净。

4.4.2 在超净工作台内用0.1%的氯化汞消毒5min（茎尖）~6min（茎段），再用无菌水漂洗4次~5次。

4.4.3 使用后的氯化汞液应按照国家有关剧毒化学药物使用的法规进行处理。

## 5 培养基的配制

不同无性系的培养基配方有所不同，需要调整大量元素组分、植物生长调节剂等。以楸树优良无性系1-4为例，诱导、增殖和生根培养基配方见5.2.1、5.2.2，基础培养基见附录A。

### 5.1 母液配制

#### 5.1.1 成分药品

按各归类称量并溶于蒸馏水中，配制成规定体积，放置在4℃冰箱保存备用。

#### 5.1.2 激素

6-BA用 $1.0\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶解后用蒸馏水定容至规定体积，IBA、NAA用95%酒精溶解后用蒸馏水定容至规定体积，放置在4℃冰箱保存备用。

### 5.2 培养基制备

5.2.1 初代、继代培养基配方： $\text{DKW} + 6\text{-BA } 1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{IBA } 0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 25\text{g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (pH=5.8)。

5.2.2 生根培养基配方： $1/2\text{MS}$  (大量减半) +  $\text{IBA } 0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (pH=5.8)。

5.2.3 按各配方要求量称取琼脂、蔗糖，放入煮开的蒸馏水中，将琼脂与蔗糖完全溶解。

5.2.4 按各配方要求提取母液、激素并加入琼脂已溶解的制备液中，定容至配制体积。

5.2.5 用 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠液调节pH值至5.8。

5.2.6 将调配好的培养基分装于培养瓶中，加入培养基至培养瓶的 $1/4\sim 1/3$ 左右。

5.2.7 在高压灭菌锅中灭菌，在压力 $0.11\text{MPa}$ 、温度 $121\text{℃}$ 灭菌 $20\text{min}$ ，待灭菌锅压力降至0后排气开锅，取出培养基平置待自然冷却。

5.2.8 灭菌锅的使用和检测按照劳动部门的法规执行。

## 6 接种

### 6.1 接种室环境要求

6.1.1 定期打扫卫生，每半月或一月用甲醛和高锰酸钾熏蒸1次。

6.1.2 定期清洁超净工作台的过滤膜。

6.1.3 接种室用的操作器具与工作服尽量避免在室外使用，以减少污染。

6.1.4 禁止非操作人员随意出入。

### 6.2 接种前准备

6.2.1 操作前 $30\text{min}$ 先用75%的医用酒精喷雾降尘消毒，随后打开紫外灯杀菌 $30\text{min}$ 。

6.2.2 关闭紫外灯 $20\text{min}$ 后进行接种操作，以免臭氧损伤呼吸道。

6.2.3 开启超净工作台，打开风机通风 $15\text{min}$ 。

6.2.4 打开干热灭菌器，将接种器具（剪刀、镊子）插入干热灭菌器，待温度升至250℃5min后使用，接种器具应于接种前在高压灭菌锅中消毒。

6.2.5 用75%的医用酒精将超净工作台内喷雾消毒。

6.2.6 操作人员应穿工作服、戴上帽子和口罩，清洗手臂，不留长指甲。

### 6.3 接种操作

6.3.1 用75%的医用酒精对操作人员手臂表面消毒。

6.3.2 取出干热灭菌器内消毒灭菌的剪刀、镊子、解剖刀等接种工具，置于镊子架上，待其冷却。

6.3.3 在无菌的接种盘或其它器皿中，按各培养阶段的要求将培养材料剪切，接入培养基中，均匀分布，深浅适中，不直接接触瓶底。

6.3.4 转接完成后，在刚接入的培养瓶上标示接种日期、无性系编号或材料来源，以追踪统计。

6.3.5 接种过程，操作人员避免正对操作台说话，禁止非操作人员出入。

6.3.6 每次操作完毕，应清理操作现场，并用75%的医用酒精喷雾对接种室消毒。

## 7 初代培养

接种操作见6。

7.1 将处理好的外植体（见4.4）剪成1.5cm~2.0cm长的茎段，保证每个茎段上都有腋芽，茎段上部剪切口离腋芽0.2cm左右。

7.2 将剪好的茎段接入初代培养基中（配方见5.2.1），茎段插入培养基深度为离瓶底0.2cm左右，保持竖直，不要平置。

7.3 培养温度为22℃~26℃，光照为2000lx，光照时间为14h·d<sup>-1</sup>。

7.4 培养初期（1d~15d）每天观测检查试管苗的污染状况，一旦有污染的，及时拿出培养室处理后清洗。

## 8 继代增殖培养

接种操作见6。

8.1 将初代培养成功的茎段，剪成1cm左右带1个~2个叶片的茎段接入培养基（配方见5.2.1）。

8.2 培养温度为22℃~26℃，光照为2000lx，光照时间为14h·d<sup>-1</sup>。

8.3 培养初期（1d~10d）每天观测检查试管苗的污染状况，一旦有污染的，及时拿出培养室处理后清洗。

8.4 定期转接培养，达到增殖扩繁的目的。

## 9 生根培养

接种操作见6。

9.1 以继代培养的试管苗为材料，剪成带一个叶片的茎段，叶片离上部剪切口0.2cm左右，茎段长度为1.5cm左右。

- 9.2 避免插入培养基（配方见5.2.2）部位有腋芽，以致腋芽萌发营养生长旺盛而抑制茎段发根。
- 9.3 培养温度、光照强度、光照时间同增殖培养。
- 9.4 污染的生根试管苗应废弃。

## 10 炼苗移栽

### 10.1 温室内试管苗炼苗

- 10.1.1 将生根试管苗置于温室床架上，避免阳光直射，每天12:00~15:00上覆遮阳网。
- 10.1.2 3d后松动瓶盖，5d后将瓶盖处于半盖状态，7d时将瓶盖完全打开，不再覆遮阳网。
- 10.1.3 每天10:00、12:00、14:00、16:00喷雾状水，保持温室内空气湿度，以免试管苗叶片失水萎蔫，10d后移栽。

### 10.2 移栽基质配制及装盆

- 10.2.1 移栽前15d配制基质并装于营养钵中，营养钵规格为8cm×8cm，基质为泥炭土与珍珠岩，体积比例4:1，配制时加入多菌灵（5g·m<sup>-3</sup>），对容器与基质的要求见LY/T 1000。
- 10.2.2 营养钵装入基质以离营养钵口4cm左右为宜，将营养钵置于育苗盘上，育苗盘规格为30cm×80cm，每盘放置40个。
- 10.2.3 将育苗盘放置于温室床架上，浇透水，上覆棚膜以保湿。

### 10.3 试管苗移栽

- 10.3.1 取出试管苗，用自来水清洗干净根部培养基，之后将根系在0.1%多菌灵液中漂洗后立即移栽。
- 10.3.2 栽植时将根系以根尖生长方向平铺于营养钵基质上，上覆珍珠岩，厚度为2cm左右。
- 10.3.3 每个营养钵栽植一株，以育苗盘为单位，栽满一个育苗盘后立即喷雾状水，直至营养钵底部渗出水为宜。
- 10.3.4 在温室床架上做长1.5m~2.0m的小拱棚，将移栽苗放置其中。
- 10.3.5 覆膜保湿。

### 10.4 温室内幼苗管理

- 10.4.1 每天10:00~15:00上覆遮阳网，避免阳光直射。
- 10.4.2 7d后开始松动棚膜，使棚内外空气流动，每天11:00~14:00覆遮阳网。
- 10.4.3 10d后将棚膜处于半覆状态，保持拱棚四面通风，基质干时适当浇水，每天11:00~14:00覆遮阳网。
- 10.4.4 15d后取掉棚膜，每天喷雾状水，每天11:00~15:00继续覆遮阳网。
- 10.4.5 20d后处于温室内正常管理，不再覆遮阳网，开始追肥促进生长，施用1‰的尿素溶液，每3d喷施一次，保持基质湿度，苗高7cm~10cm时置于温室外炼苗。

### 10.5 温室外炼苗

- 10.5.1 根据炼苗数量的多少，做简易拱棚。

- 10.5.2 将幼苗置于棚内，每日9:00~17:00上覆遮光率为75%的遮阳网。
- 10.5.3 在10:00、12:00、14:00、16:00喷雾状水，保持叶面湿度，避免阳光直射造成叶片灼伤。
- 10.5.4 7d后11:00~15:00继续覆遮阳网，12:00、14:00继续喷水。
- 10.5.5 15d后取掉遮阳网，在自然环境下过渡5d后，往大田移栽。

## 11 大田栽植

### 11.1 整地做床

- 11.1.1 栽植前7d将有机肥（鸡粪 $0.25\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ）、锌拌磷（ $0.01\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ）和百菌清（ $0.5\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ）混匀后均匀撒于地面。
- 11.1.2 深翻35cm~40cm，做成1.5m宽（长根据圃地而定）的床，整理床面，使床面平整、无大颗粒，对苗圃地的要求见GB/T 6001。

### 11.2 幼苗移栽

- 11.2.1 选择阴天栽植。
- 11.2.2 从营养钵取苗时在营养钵下部轻捏，拽住营养钵，从苗基部往上稍提。
- 11.2.3 尽量避免根部基质松散，以影响成活率。
- 11.2.4 栽植株行距为30cm×40cm，栽植深度以埋住基质表面1.0cm~1.5cm即可。
- 11.2.5 栽植后稍摁苗周边，以紧实土层，避免浇水时下陷。
- 11.2.6 栽植后立即浇水，一次浇透。

### 11.3 苗期管理

- 11.3.1 栽植后10d松土，待苗长出新叶，加强肥水管理，促进苗木生长。
- 11.3.2 生长期以施N肥为主，每两周施尿素（ $0.15\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\sim 0.2\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ）一次。
- 11.3.3 7月~8月中旬，混施复合肥（ $0.3\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\sim 0.4\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ）与尿素（ $0.15\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\sim 0.2\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ），一般10d~15d一次。
- 11.3.4 8月下旬后不再施肥。
- 11.3.5 施肥后立即浇水，以免烧苗。
- 11.3.6 每次施肥浇水3d后锄草松土1次。
- 11.3.7 生长期，苗木主要虫害有蚜虫、红蜘蛛等。虫害初期用50%辛硫磷乳油2000倍液与20%螨死净可湿性粉剂2000倍液混用防治。

## 12 苗木出圃

楸树组培苗生产流程图参见附录B。

- 12.1 翌年3月左右（依当年气温而定，在芽未萌发前）起苗。
- 12.2 苗高大于1m，地径大于1.45cm，苗干无冻梢可用于造林。
- 12.3 每20株一把捆束，挂标签及系号。



12.4 装车外运过程中避免苗木受冷干风吹，以免造成苗木枯干。

12.5 常规车辆运输时间不宜超过 2d，以避免苗木失水或发霉。

### 13 组培苗培育生产管理

应制定包括苗木生产计划（继代试管苗繁殖计划、生根试管苗生产计划、试管苗炼苗移栽计划、田间栽植计划）、劳动定额、材料消耗、育苗成本等内容的作业设计，针对苗木生产中的关键问题，开展新配方、新方法、新技术、生产设备改良和更新等实验活动。生产管理的部分表格可参照附录C、附录D执行。

附录 A  
(资料性附录)

楸树无性系1-4组培快繁基础培养基母液表

附录A给出了基础培养基配方的药品成分、规定量、扩大倍数及提取量等。

表 A.1 MS培养基

母液	成分	规定量 (mg)	扩大倍数	称取量 (mg)	母液体积 (ml)	配 1L 培养基 提取量 (ml)
大量元素	KNO <sub>3</sub>	1900	10	19000	1000	100
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	10	16500		
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	370	10	3700		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	10	1700		
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	440	10	4400		
微量元素	MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	22.3	100	2230	1000	10
	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	8.6	100	860		
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	100	620		
	KI	0.83	100	83		
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.25	100	25		
	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.025	100	2.5		
	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.025	100	2.5		
铁盐	Na <sub>2</sub> -EDTA	37.3	100	3730	1000	10
	FeSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	27.8	100	2780		
有机	甘氨酸	2	100	200	1000	10
	盐酸硫胺素	0.1	100	10		
	盐酸吡哆醇	0.5	100	50		
	烟酸	0.5	100	50		
	肌醇	100	100	10000		
注：配制铁盐时将各成分分开溶解后再混合在一起，制成络合物						

表 A.2 DKW培养基

母液	成分	规定量 (mg)	扩大倍数	称取量 (mg)	母液体积 (ml)	配 1L 培养基 提取量 (ml)
大量元素	KSO <sub>4</sub>	1559	50	77950	1000	20
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	740	50	37000		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	265	50	13250		
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1416	50	70800		
钙盐	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1968	50	98400	1000	20
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	149	50	7450		
微量元素	MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	33.5	50	1675	1000	20
	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	17	50	850		

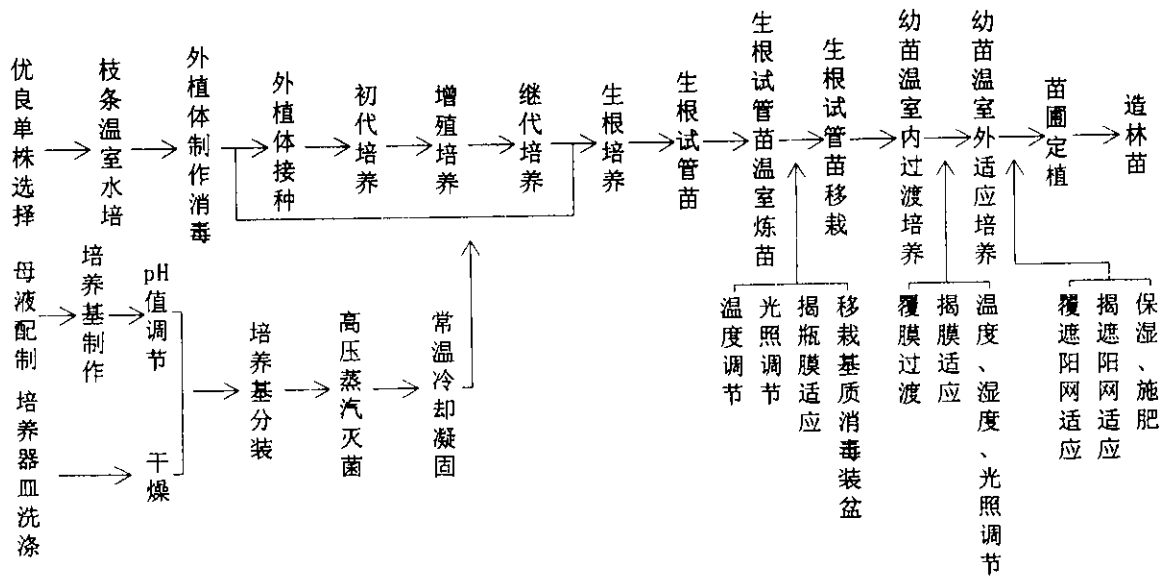
表 A.2 DKW培养基 (续)

母液	成分	规定量 (mg)	扩大倍数	称取量 (mg)	母液体积 (ml)	配 1L 培养基提 取量 (ml)
微量 元素	H3BO3	4.8	50	240	1000	20
	Na2MoO4 · 2H2O	0.39	50	19.5		
	CuSO4 · 5H2O	0.25	50	12.5		
盐 铁	Na2-EDTA	45.4	50	2270	1000	20
	FeSO4 · 4H2O	33.8	50	1690		
有 机	甘氨酸	2	50	100	1000	20
	盐酸硫胺素	2	50	100		
	烟酸	1	50	50		
	肌醇	100	50	5000		
注：配制铁盐时将各成分分开溶解后再混合在一起，制成络合物						

附录 B  
(资料性附录)

附录B给出了楸树组培苗生产操作步骤。

楸树组培流程图



附录 C  
(资料性附录)  
苗木生产计划设计表

附录C给出了组培苗生产繁殖各阶段计划表。

表 C.1 继代试管苗繁殖计划表

年 月 日

无性系	转接时间	接种芽数(个)	污染率(%)	培养天数(d)	下次转接时期

统计员:

表 C.2 生根试管苗生产计划表

年 月 日

无性系	转接时间	接种苗数(个)	污染率(%)	出试管苗数(株)	生根率(%)	苗均高(cm)	出瓶时期

统计员:

表 C.3 试管苗炼苗移栽计划表

年 月 日

无性系	炼苗时期	移栽时期	移栽数量 (株)	成活率 (%)	平均苗高 (cm)

统计员:

表 C.4 田间栽植计划表

年 月 日

无性系	栽植日期	栽植苗均高 (cm)	栽植数量 (株)	成活率 (%)	出圃数 (株)	苗均高 (cm)	苗平均地径 (cm)	出圃时期

统计员:

**附录 D**  
**(资料性附录)**  
**耗材、耗电及用工表**

附录D给出了组培苗生产繁殖各阶段耗材、耗电及用工表。

**表 D.1 试管苗耗材耗电表**

年 月 日

苗木生产量/ (株)	培养基所用成分		耗水量		耗电量				其他					
	名称	每株苗用量 (g / 株)	合计 /g	每株苗用量 (g / 株)	合计 /g	制作培养基 (KW · h / 株)	接种 (KW · h / 株)	培养室补光 (KW · h / 株)	空调 (KW · h / 株)	合计	名称	用途	每株苗用量	合计

统计员:

**表 D.2 苗木移栽田间栽植耗材表**

年 月 日

苗木生产量/ 株	移栽基质		肥料		药物			其他				
	每株苗用量 (g/株)	合计 /g	名称	每株苗用量 (g/株)	合计 /g	名称	每株苗用量 (g/株)	合计 /g	名称	用途	每株苗用量	合计

统计员:

表 D.3 用工计划表

年 月 日

苗木生产量/株	试管苗生产用工					大田栽植用工				起出苗圃	其他用工	合 计 工		工 价	工 价 合 计	
	培养瓶清洗	培养基制备	接种操作	试管苗炼苗	试管苗移栽	整地	栽植	浇水施肥	病虫害防治			起苗	分级包装			每株苗用量

统计员:

\_\_\_\_\_