ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

|  |
| --- |
|  |

DB4414

梅州市地方标准

DB 4414/ T  —

|  |
| --- |
|  |

蝴蝶兰组培育苗技术规程

Technical speciflcation on tissue culture seeding of phalaenopsis

|  |
| --- |
|  |
|  |

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

  梅州市市场监督管理局   发布

前  言

本文件按照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。

本文件由梅州市农业农村局提出并归口。

本文件起草单位：梅州市农林科学院花卉研究所。

本文件主要起草人：陈瑞珍、宋勇强、李翠玲、李艳梅、林新莲、刘文泉、黄静兰、钟云东、罗小忠。

蝴蝶兰组培育苗技术规程

1 范围

本文件规定了蝴蝶兰组培育苗的仪器设备、培养基配制、外植体准备、外植体接种、组培苗分级、炼苗、档案管理。

本文件适用于梅州地区蝴蝶兰组培苗的生产。

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。

NY/T 2306 花卉种苗组培快繁技术规程。

DB42/T 1116 观赏花卉 蝴蝶兰盆花设施栽培生产技术规程。

3 仪器设备

3.1 灭菌设备

高压灭菌锅，小推车，不锈钢筐，微波炉等。

3.2 洗涤设备

水槽，塑料筐，塑料桶，晾瓶架，毛刷等。

3.3 称量设备

电子精密天平，电子天平等。

3.4 药品室设备

药品柜、通风橱、易制爆储存柜、易制毒储存柜、冰箱等。

3.5 配置室设备

纯水机，试管架，三角烧瓶，烧杯，量筒，组培瓶，剪刀，容量瓶，移液管，药勺，玻璃棒，实验台等。

3.6 接种室设备

超净工作台，镊子消毒器，臭氧发生器，紫外线杀菌灯，工作服，接种专用盘，解剖刀，镊子，接种针，乳胶手套，口罩，鞋套，专用记号笔，脱脂棉，脱脂纱布等。

3.7 培养室设备

培养架，紫外线杀菌灯，温湿度计，定时器，臭氧发生器等。

4 培养基配制

4.1 水质要求

培养基配制用水，水质应符合NY/T 2306-2013表B.1(续)的要求。

4.2配制

按照表A.1蝴蝶兰组织培养配方表配置相应培养基，定容后搅拌均匀，以0.1 mol/L的NaOH、HCl溶液调整pH值。

4.3 分装

培养基煮沸后分装至培养瓶中，诱导培养基30 ml~50 ml，增殖培养基30 ml~50 ml，生根培养基50 ml~70 ml，复壮培养基30 ml~50 ml。标明编号、配制日期等信息。

4.4 灭菌

高温高压灭菌压力9.8×104 Pa~10.8×104 Pa，温度(121±2) ℃，灭菌时间15 min~25 min。

4.5 储存

灭菌后的培养基按编号归类层叠堆放，平置冷却，存储温度不高于25 ℃，尽量避光避粉尘，存储时间不超过30 d。

5 外植体处理

5.1 外植体采集

在温室大棚采集生长健壮、无病虫害、观赏性状好的蝴蝶兰花梗作为外植体材料，采集前，宜选择晴朗天气，控水5 d~7 d。

5.2 预处理

用消毒过的剪刀将花梗分节剪取，剪成1 cm~2 cm的小段，每段保留1个节间，放置装有洗衣粉溶液的瓶子中浸泡3 min~5 min后，用自来水冲洗至无泡沫出现，然后用蒸馏水冲洗2次。

5.3 消毒

在接种室的超净工作台操作，先倒入75%酒精至放置外植体的烧杯，轻轻摇晃烧杯，30 s后倒掉烧杯中的酒精，再用无菌水清洗烧杯中外植体2次，倒入0.1%氯化汞溶液浸泡消毒，消毒时间根据不同品种、不同成熟性的花梗而定，一般8 min~40 min，消毒完成后无菌水清洗外植体4次~6次。

6 外植体接种

6.1 接种前准备

开启超净工作台的紫外灯和风机30 min，开启镊子和解剖刀消毒器。操作人员进入接种室前首先清洗双手，再换上个人专用的工作服、鞋套、帽子等。操作台、器具和双手用75 %酒精消毒。

6.2 诱导培养

6.2.1 接种

采用诱导培养基（见表A.1），切除消毒完成的外植体两端，顶段平切，底端斜切，长度1 cm~1.5 cm，插入诱导培养基，使腋芽垂直于培养基，应均匀地分布在培养瓶中，每个培养瓶接种3个~5个外植体。

6.2.2 诱导培养条件

接种完成后转入培养室先进行暗培养7 d~10 d，培养温度22 ℃±2，待芽萌发后进行光照培养，设置光照强度1500 Lx~2000 Lx，光照时间8 h/d~10 h/d，培养温度24 ℃±2。

6.3 增殖培养

6.3.1 转接

采用增殖培养基（见表A.1），在诱导培养基培养30 d~60 d后，筛选出高度1.5 cm~3 cm、叶片开始展开的丛生芽进行增殖培养，切除叶片和接触培养基部分，根据丛生芽的长势分切，转接到增殖培养基。

6.3.2 增殖培养条件

转接完成后转入培养室光照培养，设置光照强度1500 Lx~2000 Lx，光照时间10 h/d~12 h/d，培养温度25 ℃±2。

6.4 壮苗培养

6.4.1 转接

采用壮苗培养基（见表A.1），将瓶内培养时间大于2个月、芽体长势较差、高度小于2.5 cm的芽体进行壮苗培养，按芽体大小分级转接到壮苗培养基。

6.4.2 壮苗培养条件

设置光照强度2000 Lx~3000 Lx，光照时间10h/d~12 h/d，培养温度25 ℃，壮苗培养的时间为35 d~45 d，壮苗培养后，达到生根培养条件后进入生根培养。

6.5 生根培养

6.5.1 转接

采用生根培养基（见表A.1），切除褐化组织、黄叶，注意不要弄伤健壮叶片，筛选生长健壮、长势均匀、高度大于2.5 cm、叶片数量2片~3片的芽体进行生根培养。

6.5.2 生根培养条件

转接完成后转入培养室光照培养，设置光照强度2000 Lx~3000 Lx，光照时间8 h/d，培养温度25℃±2。

7 组培苗分级

根据叶片颜色深浅、叶片张开幅度、苗高等，将蝴蝶兰组培苗分为小苗、中苗、大苗，通常小苗苗高 2.5 cm~3 cm，中苗苗高 3 cm~4 cm，大苗苗高 4 cm以上。根据不同品种不同等级分类整齐摆放。

8 炼苗

8.1 大棚消毒

炼苗前7 d~10 d，对温室大棚内环境喷施50%多菌灵可湿性粉剂800倍液消毒。

8.2炼苗标准

当组培苗高2.5 cm~4cm，且具有3片~4片叶、2条~4条健壮根时，可进行炼苗。

8.3炼苗条件

在温室大棚内进行，光照强度5000 Lx~8000 Lx，光照时间8 h/d~10 h/d，炼苗温度25 ℃~28 ℃，湿度70 %~80 %。

8.4出圃

炼苗15 d~20 d天可出圃。

9 档案管理

记录外植体采集时间，培养基配置信息，诱导培养至炼苗移栽各个环节的相关信息，应覆盖整个生产管理周期，所有记录真实、准确、规范。

附 录 A

（资料性附录）

表A.1 蝴蝶兰组织培养配方表

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 药品类别 | 药品名称 | 诱导培养基（mg.L-1） | 增殖培养基（mg.L-1） | 生根培养基（mg.L-1） | 壮苗培养基（mg.L-1） |
| 大量元素 | 硝酸钾 | 1900 | 1900 | 950 | 1900 |
| 硝酸铵 | 1650 | 1650 | 825 | 1650 |
| 磷酸二氢钾 | 170 | 170 | 85 | 170 |
| 七水合硫酸镁 | 370 | 370 | 185 | 370 |
| 钙盐 | 无水氯化钙 | 440 | 440 | 220 | 440 |
| 微量元素 | 碘化钾 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.83 |
| 硼酸 | 6.2 | 6.2 | 6.2 | 6.2 |
| 一水合硫酸锰 | 22.3 | 22.3 | 22.3 | 22.3 |
| 七水合硫酸锌 | 8.6 | 8.6 | 8.6 | 8.6 |
| 二水合钼酸钠 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| 五水合硫酸铜 | 0.025 | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| 六水合氯化钴 | 0.025 | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| 铁盐 | 乙二胺四乙酸二钠 | 37.3 | 37.3 | 37.3 | 37.3 |
| 七水合硫酸亚铁 | 27.8 | 27.8 | 27.8 | 27.8 |
| 有机成分 | 肌醇 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 甘氨酸 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 盐酸硫胺素 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 盐酸吡哆醇 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 烟酸 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 激素 | 6-BA | 1~3 | 1~3 | 0 | 0 |
| IBA | 0 | 0 | 1~2 | 0 |
| NAA | 0.2~0.4 | 0.2~0.4 | 0.05~0.3 | 0.05~0.3 |
| 凝固剂 | 卡拉胶 | 7000 | 7000 | 7000 | 7000 |
|  | 糖 | 20000 | 20000 | 30000 | 30000 |
|  | 活性碳 | 0 | 0 | 1000 | 1000 |
|  | PH | 5..2-5.8 | 5..2-5.8 | 5..2-5.8 | 5..2-5.8 |

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_