ICS 65.020.01
CCS B 61

# DB21

# 辽 宁 省 地 方 标 准

DB21/T XXXXX-2023

# 文冠果组织培养育苗技术规程

2022-xx-xx 发布 2022-xx-xx 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

# 目　次

前言 ..... III
1 范围 ..... 1
2 规范性引用文件 ..... 1
3 术语和定义 ..... 1
4 外植体采集 ..... 1
4.1 选取部位 ..... 1
4.2 取材季节 ..... 2
4.3 取材标准 ..... 2
5 培养基配制 ..... 2
5.1 接种器具和培养基灭菌 ..... 2
5.2 初代培养基配方 ..... 2
5.3 继代培养基配方 ..... 2
5.4 生根培养基配方 ..... 2
6 外殖体处理 ..... 2
6.1 处理 ..... 2
6.2 消毒灭菌 ..... 2
6.3 准备 ..... 2
7 初代培养 ..... 2
7.1 培养环境条件 ..... 2
7.2 培养方法 ..... 3
8 继代培养 ..... 3
8.1 培养环境条件 ..... 3
8.2 培养方法 ..... 3
9 生根培养 ..... 3
9.1 培养环境条件 ..... 3
9.2 培养方法 ..... 3
9.3 生根 ..... 3
10 组培苗移栽 ..... 3
10.1 移苗季节 ..... 3
10.2 移苗前准备 ..... 3
10.3 移栽 ..... 4
10.4 移栽后管理 ..... 4
11 技术档案 ..... 4

附录A（资料性） 文冠果穴盘苗培养的管理措施 ..... 5
附录B（资料性） 文冠果苗期病虫害防治药剂及使用方法 ..... 6
附录C（资料性） 文冠果组织培养苗木质量分级 ..... 7

# 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。

本文件由辽宁省林业和草原局提出并归口。

本文件起草单位：大连民族大学、上海培林生物科技有限公司、大连市自然资源事务服务中心、国有阜新蒙古族自治县林业科技示范林杨。

本文件起草人：阮成江、都小绪、任丽娜、闫晓芳、丁健、杜维、高岩、张辉、李颖群、李贺、王莉、李景滨、赵思阳、姜鑫、姜艺、周慧、程彦博、常婧、林晓坤。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省林业和草原局（沈阳市和平区太原北街2号），联系电话：024-23448927。

文件起草单位通讯地址：大连民族大学（大连市金普新区辽河西路18号），联系电话：0411-87652536。

# 文冠果组织培养育苗技术规程

## 1 范围

本文件规定了文冠果（*Xanthoceras sorbifolium* Bunge）组织培养育苗过程中外植体采集、配养基配制、外殖体处理、初代培养、继代培养、生根培养、组培苗移栽和技术档案等技术要求。

本文件适用于辽宁省行政区域内文冠果组织培养育苗。

## 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/T 6001 育苗技术规程

LY/T 1882 林木组织培养育苗技术规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

**文冠果** *Xanthoceras sorbifolium* Bunge

无患子科文冠果属的多年生落叶乔木。

3.2

**初代培养 primary culture**

又称诱导芽培养，外植体接种到培养基上以后，一般先放在培养室进行弱光培养，首先要得到无菌的材料，然后逐渐促进材料的分化和生长，这是试管苗的第一代，称初代培养。

3.3

**继代培养 subculture**

又称分化培养，初代培养以后通过不断调试培养基和转接试管苗，使试管苗数量很快扩大，这种不断转接增殖的过程称为继代培养。

3.4

**生根培养 rooting culture**

大量继代增殖以后能形成无根的芽苗，在培养基上，利用从茎表皮细胞分裂形成突起的根原基，进一步从表皮培养形成根的过程。

## 4 外植体采集

### 4.1 选取部位

选取文冠果茎尖、茎段。

### 4.2 取材季节

在春季芽开始萌发或正萌发生长时取材。

### 4.3 取材标准

选取当年半木质化枝的嫩芽、嫩枝段做材料；茎尖、茎段长0.5 cm～1.0 cm，每段留芽1个～2个。

## 5 培养基配制

### 5.1 接种器具和培养基灭菌

接种器具和培养基灭菌参照LY/T 1882。

### 5.2 初代培养基配方

初代培养基：S+6-苄基腺嘌呤1 mg/L+吲哚-3-丁酸0.1 mg/L+山梨酸钾20 mg/L+糖30 g/L+琼脂6 g/L。

### 5.3 继代培养基配方

继代培养基:减少200 mg/L硝酸铵的MS培养基+6-苄基腺嘌呤0.5 mg/L+萘乙酸0.1 mg/L+糖30 g/L+琼脂6 g/L。

壮苗培养基：减少200 mg/L硝酸铵的MS培养基+6-苄基腺嘌呤0.1 mg/L+萘乙酸0.1 mg/L+维生素B1 2 mg/L+糖30 g/L+琼脂6 g/L。

### 5.4 生根培养基配方

文冠果组织培养的生根培养基：1/2 MS培养基+吲哚-3-丁酸1 mg/L+维生素C 150 mg/L+糖30 g/L+琼脂6 g/L。

## 6 外殖体处理

### 6.1 处理

用消毒过的剪刀，采集文冠果半木质化嫩枝作为外植体，用清洁水漂洗1 h～2 h，再用流水冲洗干净，标记好编号。将外植体叶片剪掉，留1 cm～2 cm的叶柄，用流水冲洗10 min～30 min，剪成3 cm～5 cm带芽茎段。

### 6.2 消毒灭菌

将洗干净的外植体拿到超净台内，用75%酒精冲洗30 s～60 s，无菌水冲洗3次，再用次氯酸钠溶液消毒3 min～10 min，无菌水洗4次水洗,间隔不少于5 min，冲洗次数以水清澈为准。

### 6.3 准备

将已灭菌的枝条去掉顶端和底部，切成0.5 cm～1 cm带芽茎段、茎尖。

## 7 初代培养

### 7.1 培养环境条件

培养室温度23 ℃～25 ℃，湿度20%～30%，光照强度2200 lx～2500 lx，整齐摆放在培养架上。

### 7.2 培养方法

在超净工作台上将准备好的外植体接种在初代培养基上。暗培养 3 d 后转入光培养，培养 25 d～35 d 茎段上萌发出不定芽。

## 8 继代培养

### 8.1 培养环境条件

培养室温度23 ℃～25 ℃，湿度20%～30%，光照强度2 200 lx～2 500 lx，整齐摆放在培养架上。

### 8.2 培养方法

外植体长满培养瓶，就需转入到新的继代培养基中，在超净工作台上，用接种剪子和镊子剪成1.0 cm～1.2 cm茎段插入培养瓶内，每瓶10段～15段。继续培养25 d～30 d，待其长满瓶后转入壮苗培养基中继续培养，重复操作。文冠果扩繁方法为分株繁殖方式，扩繁继代过程的扩繁系数为6。

## 9 生根培养

### 9.1 培养环境条件

培养室温度18 ℃～25 ℃，湿度20%～30%，光照强度2 200 lx～2 500 lx，整齐摆放在培养架上。

### 9.2 培养方法

采用培养基瓶内一步生根法生根。在无菌超净工作台上，从壮苗培养后的芽丛中切割单株，用接种剪子和镊子剪成1.0 cm～1.2 cm茎段插入培养瓶内，每瓶插10株～15株。在黑暗环境中培养8 d～10 d，根原基开始萌动后，开始正常培养。

### 9.3 生根

生根过程为25 d～30 d，根数1条～5条，颜色白色，吸收力强，移栽成活率高。

## 10 组培苗移栽

### 10.1 移苗季节

组培苗移入温室全年均可进行，最佳时间为早春。

### 10.2 移苗前准备

#### 10.2.1 清除培养基

组培苗从瓶中取出，放在20 ℃左右的清水中，将附着在根上的培养基进行彻底清洗，注意不能伤根；对长度超过5 cm的根进行适当修剪。最后蘸根宝3号生根剂1 000倍液～2 000倍液促进生根。

#### 10.2.2 穴盘准备

采用5×10的穴盘。将基质添加入穴盘的每一个穴位。基质要求排水性和透气性良好，同时有一定的保水性；可采用草炭和沙子按照比例1:1进行混合，然后用敌克松500倍液～800倍液均匀喷洒进行消毒。

### 10.3 移栽

采用穴盘移栽文冠果组培苗。栽植标准为：苗木根系舒展，上不埋心，下不露根，并轻轻镇压，栽植后用细喷雾器喷水，冲掉叶面上沾着的基质，使根系与基质密切接触。

### 10.4 移栽后管理

#### 10.4.1 穴盘苗培养

穴盘苗培养的管理措施见附录A。

#### 10.4.2 钵苗培养

组培苗在穴盘中生长30 d后，根系与基质已经形成根团，即可移栽至可降解营养钵中。移栽时要求基质不散落，移栽后及时浇水。每7 d～10 d喷布一次杀菌剂多抗霉素1000倍液、异菌多菌灵1500倍液（或恶霉灵1 000倍液）、阿维菌素1 500倍液～2 000倍液，防治根腐病、灰霉病、红蜘蛛。具体防治药剂及配制方法见附录B。

### 10.5 苗木出圃

文冠果组培苗在营养钵中生长40 d后，达到苗木等级Ⅰ、Ⅱ级，即成苗、出圃。详见附录C。

## 11 技术档案

按GB/T 6001-1985要求，建立相应育苗技术管理档案。

# 附 录 A
（资料性）
文冠果穴盘苗培养的管理措施

表 A.1 文冠果穴盘苗培养的管理措施

| 条件 | 10 d之内 | 10 d～19 d | 20 d～30 d |
|---|---|---|---|
| 温度 | 20 ℃～25 ℃ | 20 ℃～25 ℃ | 20 ℃～25 ℃ |
| 湿度 | 控制在80%～90%，最好用间歇喷雾保湿，也可用塑料拱棚保湿。 | 逐渐降低到40%～50%，采用拱棚保湿的，可逐渐打开。 | 逐渐降低到40%以下。 |
| 光照 | 采用拱棚时，棚内控制在3 000 lx～5 000 lx。 | 采用拱棚时，棚内逐渐增强至8 000 lx～10 000 lx。 | 温室内控制在10 000 lx以上。 |
| 通风 | 每天早晚各通风一次，每次通风以湿度降到60%～70%为宜。 | 拱棚与温室保持时时通风换气。 | 与温室内空气保持一致。 |
| 杀菌剂 | 每7 d～10 d喷布一次杀菌剂多抗霉素1000倍液、异菌多菌灵1500倍液（或恶霉灵1000倍液），防治根腐病、灰霉病。 | 每7 d～10 d喷布一次杀菌剂多抗霉素1000倍液、异菌多菌灵1500倍液（或恶霉灵1000倍液），防治根腐病、灰霉病。 | 每7 d～10 d喷布一次杀菌剂多抗霉素1000倍液、异菌多菌灵1500倍液（或恶霉灵1000倍液），防治根腐病、灰霉病、红蜘蛛。 |

# 附 录 B
（资料性）
文冠果苗期病虫害防治药剂及使用方法

表 B.1 文冠果苗期病虫害防治药剂及使用方法

| 药剂名称 | 剂型 | 病害及虫害 | 用药量 | 备注 |
|---|---|---|---|---|
| 敌克松 | 粉剂 | — | 400倍液～1 000倍液 | 基质消毒 |
| 异菌多菌灵 | 悬浮剂 | 根腐病、灰霉病 | 1 000倍液～1 200倍液 | 移栽后喷布 |
| 多抗霉素 | 水剂 | 根腐病、灰霉病 | 1 600倍液～1 800倍液 | 移栽后喷布 |
| 恶霉灵 | 99%粉剂 | 根腐病、灰霉病 | 800倍液～1 200倍液 | 移栽后喷布 |
| 阿维菌素 | 5%乳油 | 红蜘蛛 | 1 200倍液～1 800倍液 | 移栽后喷布 |

# 附 录 C
（资料性）
文冠果组织培养苗木质量分级

**表 C.1 文冠果组织培养苗木质量分级**

| 名称 | 种类 | 苗龄 | 苗木等级 | | | | | | | | | | 综合控制指标 | Ⅰ、Ⅱ级苗百分率 | 适用范围 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Ⅰ级 | | | | | Ⅱ 级 | | | | | | | |
| | | | 地径 cm | 苗高 cm | 根系 | | 叶 | 地径 cm | 苗高 cm | 根系 | | 叶 | | | |
| | | | | | 长度 cm | 根数（条） | 叶片数（个） | | | 长度 cm | 根数（条） | 叶片数（个） | | | |
| 文冠果 | 组培苗 | 1-0 | ≥0.30 | ≥40 | ≥15 | ≥15 | ≥5 | 0.15～0.29 | 20～39 | 10～15 | 10～15 | 3～5 | 枝叶完整，无损伤、无病虫害，生长健壮 | 90 | 辽宁省行政区域内 |

注 1：1-0表示1年生组培苗，未经移植。

注 2：营养钵Φ7×h7～15。