|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020.01 |
| CCS  | B 64 |

|  |
| --- |
| 21 |

辽宁省地方标准

DB21/TXXXX—2023

欧美杨组培育苗技术规程

Code of practice on tissue-cultured seedings of *Populus*×*euramericana*（Dode）Guinier

(征求意见稿)

2023-XX-XX发布

2023-XX-XX实施

辽宁省市场监督管理局  发布

目录

[前言 II](#_Toc136601505)

[1 范围 1](#_Toc136601506)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc136601507)

[3 术语和定义 1](#_Toc136601508)

[4 环境及器具灭菌 1](#_Toc136601515)

[5 培养基制备 2](#_Toc136601516)

[6 外植体选择及处理 2](#_Toc136601520)

[7 初代培养 2](#_Toc136601523)

[8 继代培养 2](#_Toc136601527)

[9 生根培养 3](#_Toc136601531)

[10 炼苗 3](#_Toc136601535)

[11 容器苗培育 3](#_Toc136601536)

[12 大田移栽与管理 3](#_Toc136601542)

[13 病虫害防治 4](#_Toc136601543)

[14 档案管理 4](#_Toc136601544)

[附录A（资料性）MS培养基配方 5](#_Toc136601545)

[附录B（资料性）欧美杨组培育苗病虫害种类及防治措施 6](#_Toc136601546)

1. 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管理。

本文件起草单位：辽宁省杨树研究所。

本文件主要起草人：矫丽曼、杨成超、冯连荣、纪纯阳、李晓宇、李晓鹏、梁立巍、张妍、李文颖。

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：辽宁省杨树研究所（辽宁省盖州市北海新区），联系电话：0411-7555835。

欧美杨组培育苗技术规程

* 1. 范围

本文件规定了欧美杨组培育苗的环境及器具灭菌、培养基制备、外植体选择及处理、初代培养、继代培养、生根培养、炼苗、容器苗培育、大田移栽与管理和病虫害防治等技术要求。

本文件主要适用于欧美杨组培育苗。

* 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 8321.10 农药合理使用准则（十）

LY/T 1882 林木组织培养育苗技术规程

LY/T 2280 林木种苗生产经营档案

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

* + 1.

欧美杨*Populus* × *euramericana*（Dode）Guinier

指欧洲黑杨与美洲黑杨的杂交品种及品种间优良杂种，又称欧美杨无性系。

* + 1.

外植体 Explant

用于植物组织培养的离体植物组织、器官、细胞以及原生质体。

* 1. 环境及器具灭菌
		1. 培养室灭菌

定期用消毒液（或75%酒精）对地面、组培架等室内设施进行消毒。

* + 1. 超净工作台灭菌

打开工作台通风系统，用75%酒精棉擦拭台面，再用75%酒精喷洒内部空间，关闭玻璃罩，紫外灯照射1 h，关闭紫外灯30 min后进入工作。

* + 1. 接种室灭菌

保持室内干净。接种前用75%酒精喷洒，紫外灯照射1 h，关闭紫外灯30 min后进入工作。

* + 1. 器具灭菌

将剪刀、镊子等接种器具清洗干净，用报纸包好，放于耐高温湿热灭菌袋中，121 ℃高压蒸汽灭菌30 min。使用前在超净工作台内用酒精灯外焰灼烧30 s，或用接种器具灭菌器直接灭菌。

* 1. 培养基制备
		1. 基本培养基

MS培养基，配方见附录A。

* + 1. 培养基配制、灭菌及保存

按LY/T1882有关规定执行。

* 1. 外植体选择及处理
		1. 外植体选择

3月，选择无病虫害、生长健壮的欧美杨1年生嫩枝，切枝水培，待芽展叶后，剪取萌发伸展长度在1 cm以上的幼叶和叶柄，用自来水冲洗干净。

* + 1. 外植体处理

在无菌条件下，外植体用75%的酒精浸泡30 s，倒出酒精立即用0.1%升汞溶液浸泡5 min，再用无菌蒸馏水冲洗3次，取出后沥干水分备用。

* 1. 初代培养
		1. 初代培养基

MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L～0.1 mg/L +蔗糖20.0 g/L+琼脂6.0 g/L，pH 6.5。

* + 1. 接种

在超净工作台内，叶片用无菌剪刀剪掉叶子边缘并在叶片中间与叶脉平行处剪开几个裂口；叶柄用无菌剪刀剪掉两端，无菌镊子夹取平铺于初代培养基中，每瓶接种3～4个。

* + 1. 培养条件和时间

培养温度25 ℃±1 ℃，光照强度2 000 Lux，光照时间12 h/d。待愈伤组织大于1 cm2或不定芽大于5个时进行继代培养。

* 1. 继代培养
		1. 继代培养基

MS+6-BA0.3 mg/L～0.5 mg/L +NAA 0.1 mg/L～0.2 mg/L +蔗糖25.0 g/L+琼脂6.0 g/L，pH值6.5。

* + 1. 接种

将初代培养诱导出的愈伤组织（含不定芽）剪成0.5 cm2小块转接于继代培养基中，每瓶接种2块。

* + 1. 培养条件和时间

培养条件同7.3。待不定芽长到2.0 cm～2.5 cm时进行生根培养。

* 1. 生根培养
		1. 生根培养基

1/2MS+IBA0.3 mg/L～0.4 mg/L +蔗糖20.0 g/L+琼脂6.0 g/L，pH6.0。

* + 1. 接种

选取生长长度2.0 cm～2.5 cm健壮不定芽，用无菌剪刀剪去下端的叶片，并在培养基上方剪下主茎，用无菌镊子夹出插入生根培养基中，插入深度1 cm，每瓶接种3个。

* + 1. 培养条件和时间

培养条件同7.3。待生根苗生根且苗高4 cm以上时进行炼苗移栽。

* 1. 炼苗

移栽前，选取苗高4 cm～5 cm、根长1 cm～2 cm、不定根5个以上的生根苗培养瓶，将瓶盖打开，室内放置2 d～3 d。

* 1. 容器苗培育
		1. 容器

塑料营养杯，上口径8 cm，底径6 cm，杯深12 cm。

* + 1. 基质

腐殖土、大田土、河沙按2﹕1﹕1比例混合均匀，经121 ℃，30 min高压灭菌后使用。

* + 1. 移栽与管理

选择根系发达、苗高4 cm以上的组培苗，用镊子轻轻从炼苗培养基中拔出，用清水洗去附着在根部的培养基，剪去较长的根系，室内移栽到营养杯中，使苗根在营养杯中均匀分布，并与土紧密接触，土装到营养杯口下1 cm处。

移栽完立即浇透水，并搭建塑料拱棚保持温湿度，定期喷水，保证空气湿度80%～95%、土壤湿度50%～60%。5 d后去掉拱棚，正常管理。待容器苗生长至10 cm以上时，转移至室外培养，定期浇水，保持土壤湿度50%～60%。

* 1. 大田移栽与管理

移栽时间为7月～8月阴天或傍晚，移栽前7 d大田灌足底水，选择苗高15 cm以上的容器苗，去掉营养杯，带营养基质栽植于圃地里，株行距20 cm×50 cm，栽完立即浇水。

移栽后根据降雨情况适当浇水，保持土壤湿度不低于40%。每隔15 d除草一次，定期松土，保持土壤通透性。

* 1. 病虫害防治

欧美杨组培育苗病虫害种类和防治措施见附录B，符合GB/T 8321.10有关规定。

* 1. 档案管理

按LY/T 2280有关规定执行。

附 录 A

（资料性）

MS培养基配方

表A列出了MS培养基配方。

表A MS培养基配方

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 类型 | 成分 | 母液浓度（g/L） | 培养基母液用量/mL | 培养基剂量（mg/L） |
| 名称 | 分子式 |
| 大量元素（20倍） | 硝酸铵 | NH4NO3 | 33.000 | 50 | 1650.00 |
| 硝酸钾 | KNO3 | 38.000 | 1900.00 |
| 磷酸二氢钾 | KH2PO4 | 3.400 | 170.00 |
| 硫酸镁 | MgSO4·7H2O | 7.400 | 370.00 |
| 氯化钙 | CaCl2·2H2O | 8.800 | 440.00 |
| 微量元素（200倍） | 硫酸锰 | MnSO4·H2O | 3.380 | 5 | 16.900 |
| 硫酸锌 | ZnSO4·7H2O | 1.720 | 8.600 |
| 硼酸 | H3BO3 | 1.240 | 6.200 |
| 碘化钾 | KI | 0.166 | 0.830 |
| 钼酸钠 | NaMoO4·2H2O | 0.050 | 0.250 |
| 氯化钴 | CoCl2·6H2O | 0.005 | 0.025 |
| 硫酸铜 | CuSO4·5H2O | 0.005 | 0.025 |
| 铁盐（200倍） | 硫酸亚铁 | FeSO4·7H2O | 5.560 | 5 | 27.800 |
| 乙二胺四乙酸钠 | Na2-EDTA·2H2O | 7.460 | 37.300 |
| 有机物（200倍） | 肌醇 |  | 20.000 | 5 | 100.00 |
| 盐酸硫胺素 |  | 0.020 | 0.100 |
| 盐酸吡哆素 |  | 0.100 | 0.500 |
| 烟酸 |  | 0.100 | 0.500 |
| 甘氨酸 |  | 0.400 | 2.000 |

附 录 B

（资料性）

欧美杨组培育苗病虫害种类及防治措施

表B列出了欧美杨组培育苗病虫害种类及防治措施。

表B 欧美杨组培育苗病虫害种类及防治措施

|  |  |
| --- | --- |
| 病虫害种类 | 防治措施 |
| 基腐病 | 组培苗移栽基质使用前灭菌，并用0.1%高锰酸钾水溶液进行消毒；发病时要适当减少湿度，加强通风，并用3%甲霜·噁霉灵800倍液进行灌根。 |
| 立枯病 | 用1000倍～1200倍液70%甲基硫菌灵或500倍～800倍液50%多菌灵喷施2次～3次，每次间隔7 d～9 d。 |
| 蚜虫 | 用20%灭蚜松可湿性粉剂1000倍～1500倍液、10%吡虫啉4000倍～6000倍液交替喷洒，每7 d～10 d喷1次，连喷2次～3次。 |

