

蔓越莓组织培养育苗技术规程

(征求意见稿)

主要起草单位:黑龙江省科学院自然与生态研究所

联系人:陈菲

联系电话:13199530069

联系邮箱:zyscf@126.com

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

黑龙江省市场监督管理局 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。

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。

本文件由黑龙江省农业农村厅提出。

本文件起草单位：黑龙江省科学院自然与生态研究所、黑龙江农业工程职业学院、吉林农业大学、抚远红海植业有限公司。

本文件主要起草人：陈菲、曲彦婷、秦微娜、陈颖、李黎、孟凡娟、魏殿文、韩辉、吕品、熊燕、付俊生、杨舒畅、海鹏。

蔓越莓组织培养育苗技术规程

1 范围

本文件规定了蔓越莓（*Vaccinium macrocarpon*）组织培养育苗技术的环境与设备消毒、培养基制备、初代诱导培养、继代增殖培养、生根培养、炼苗移栽及生产档案。

本文件适用于蔓越莓组织培养育苗。

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

NY/T 2306 花卉种苗组培快繁技术规程

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 环境与设备消毒

4.1 接种室消毒

接种室定期采用移动臭氧发生器消毒，接种当日用紫外灯照射30 min~40 min，紫外灯关闭20 min后方可进入。

4.2 超净工作台消毒

超净工作台消毒采用垂直流风机送风，在台面形成无菌风幕，并配合使用超净工作台自带的紫外灯照射消毒。接种当日，在紫外灯灭菌后，还需用 75%酒精对操作平台表面进行擦拭。

4.3 培养室消毒

培养室消毒定期采用移动臭氧发生器消毒。

5 培养基制备

5.1 母液配制

培养基母液配制按 LY/T 1882 进行。

5.2 培养基配制

5.2.1 培养基配方

培养基配制成分如下：

- a) 初代诱导培养基：MS+ZT0.5mg/L+蔗糖30g/L+琼脂粉7g/L，pH值5.6~5.8；
- b) 继代增殖培养基：MS+6-BA2.0mg/L+NAA0.1mg/L+蔗糖30g/L+琼脂粉7g/L，pH值5.6~5.8；
- c) 生根培养基：1/2MS+IBA0.3mg/L+蔗糖30g/L+琼脂粉7g/L，pH值5.6~5.8。

5.2.2 培养基配制方法

培养基配制方法按LY/T 1882 进行。

5.3 培养基灭菌

培养基灭菌按NY/T 2306 进行。

6 初代诱导培养

6.1 外植体的选择

选择生长健壮无病虫害的枝条，分切茎尖、茎段2 cm~3 cm作为外植体。

6.2 外植体消毒处理

将外植体置于烧杯中，用洗洁精溶液浸泡，振荡5 min~10 min，然后用自来水冲洗2 h~4 h，倒净水，在超净工作台上用75%酒精浸泡消毒30 s，倒掉酒精，再用20% 次氯酸钠溶液浸泡20 min~25 min，期间不断轻轻摇动，消毒结束后，倒净氯化汞溶液，用无菌水冲洗6 次~7 次，放在接种盘内用无菌滤纸吸干表面水分备用。

6.3 初代诱导培养

将消毒处理后的外植体切成长1 cm~2 cm，接种在初代诱导培养基上进行初代诱导培养。

先将培养瓶的瓶盖取下，瓶口倾斜靠近酒精灯火焰，用无菌消毒处理过的镊子将外植体接种到初代诱导培养基上，将培养瓶瓶口在酒精灯外焰上旋转灼烧后封好瓶口。接种器械在酒精灯外焰上灼烧后备用，准备2套接种器械，交替灼烧灭菌、冷却、接种，在培养瓶外壁标注植物品种和接种日期，置于无菌培养间培养20 d~25 d。

7 继代增殖培养

外植体经初代诱导培养产生不定芽，将不定芽切割后转移到继代增殖培养基中进行培养，20d~25d 为1代，可按需求进行多次继代。

8 生根培养

继代增殖培养基中小苗高度 ≥ 3.0 cm时，将小苗转移到生根培养基中诱导生根，培养15d~20d，当组培苗基部长出3条~5条根长2cm~3cm健壮的不定根时，即可进行炼苗移栽。

9 培养条件

培养室白天的温度控制在 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，夜间不低于 15°C ，相对空气湿度控制在70%~80%，光照强度为2000 Lux~3000 Lux，光照时间为12 h/d~14h/d。

10 炼苗移栽

10.1 炼苗

将培养瓶转移到过渡培养室中，打开1/2瓶口，炼苗1 d~2 d，然后完全打开瓶口，再炼苗2 d~3 d，温度控制在22℃~25℃。

10.2 基质准备

基质选择珍珠岩、河沙和蛭石混合，体积比约为2:1:1，装入育苗盘中并稍压紧，用0.5%的高锰酸钾溶液浇透消毒24h后备用。

10.3 移栽

从培养瓶中取出生根的小苗，用水清洗根部培养基，避免伤根，将洗净的生根苗移栽至温室育苗盘中，移栽后要把苗周围的基质压实，然后浇透水，在苗盘外沿标注品种和移栽日期。

10.4 苗期管理

育苗水分管理按照 GB/T 6001 进行，保证幼苗水分供需平衡，移栽初期覆盖 50%遮阳网，5 d~7 d 后撤掉遮阳网，浇 1/2 MS 营养液 1 次。温室环境应保持清洁，温度控制在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，空气湿度保持在 60%~70%，光照强度为 2000 Lux~2500 Lux。

11 生产档案

应建立生产档案，内容包括：环境与设备消毒、培养基制备、初代诱导培养、继代增殖培养、生根培养、炼苗移栽等。
