ICS

|  |
| --- |
|       |

DB43

湖南省地方标准

DB43/T—2022

|  |
| --- |
|       |

龙牙百合脱毒试管苗低成本繁育技术规程

Technical regulation for low cost propagation of virus free test tube seedlings of *Lilium brownii* Var. viridulum

|  |
| --- |
| （征求意见稿） |
|  |

2022 - XX - XX发布

2022 - XX - XX实施

湖南省市场监督管理局   发布

目  次

[前言 II](#_Toc84255966)

[1 范围 1](#_Toc84255967)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc84255968)

[3 术语和定义 1](#_Toc84255969)

[4 外植体消毒与选择 1](#_Toc84255970)

[5 培养基制备 2](#_Toc84255971)

[6 龙牙百合脱毒试管苗低成本生产技术 2](#_Toc84255972)

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。

本文件由湖南省市场监督管理局提出。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：湖南农业大学

本文件主要起草人：陈海霞、李玉帆、蒋辉。

龙牙百合脱毒试管苗低成本繁育技术规程

# 1 范围

本标准规定了龙牙百合（*Lilium brownii* Var. *viridulum* Baker）脱毒种苗低成本繁育技术的术语和定义、外植体选择、培养基制备、诱导培养、增殖培养和瓶外生根的技术。

本文件适用于龙牙百合脱毒试管苗低成本生产。

# 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。

DB15/T 1611-2019 细叶百合组织培养技术规程

# 3 术语与定义

龙牙百合（*Lilium brownii* Var. *viridulum* Baker）是百合科百合属多年生草本球根植物，是我国人工栽培的三大食用百合之一，其鳞片富含淀粉、蛋白质和脂肪，具有养阴润肺、止咳、清热、安神和利尿的功效。

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 接种

 在无菌条件下，将表面灭菌后的外植体或继代培养、增殖培养和生根培养的组培材料接入培养基的过程。

3.2 诱导培养

 将采集的外植体对其表面灭菌后接种，将其置于适宜条件下，启动生长、获得最初无菌培养材料的过程。

3.3 增殖培养

 将诱导出来的无菌材料接种，将其置于适宜条件下，使其形成丛生芽（苗）的过程。

3.4 瓶外生根法

 以无根组培苗为材料，直接种植在合适的基质中使其生根的方法。

# 4 外植体消毒与选择

4.1 外植体消毒

以脱毒龙牙百合商品球为外植体，将种球从外至里剥下所有鳞片，放入1L大烧杯中，自来水下流水冲洗30min，之后用蒸馏水洗10min；在超净工作台上，用已经配制好的0.1% Hgcl2中再浸泡消毒10min，再无菌水冲洗3-5次，每次冲洗5min，最后使用无菌滤纸吸干鳞片表面的水分。

4.2 外植体选择

将消毒完成的龙牙百合鳞片从中部横切，分成上下两段，备用。

# 5 培养基制备

5.1 培养基配方

5.1.1 诱导培养基：MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+食用白砂糖30g/L+琼脂7g/L，调整pH为5.8。

5.1.2 增殖培养基：MS+1.0 mg/L 6-BA +0.1 mg/L NAA+食用白砂糖30g/L+琼脂7g/L，调整pH为5.8。

5.2 培养基母液及培养基配制

 按照DB15/T 1611-2019执行。

5.3 培养基灭菌及保存

将封口好的培养瓶尽快放入高压灭菌锅内，121℃灭菌15-20min。灭菌完成后，切断电源，待灭菌锅内气压表降至0时再打开高压灭菌锅，取出培养基，并置于接种室冷却。

灭菌后的培养基，贮存时间不超过10d。

5.4 培养条件

 培养温度25±1℃，光照强度2500Lx，每天光照时间10-12h。

# 6 龙牙百合脱毒试管苗低成本生产技术

6.1 无菌接种

6.1.1 提前打开超净工作台的风机和紫外灯，通风15min。

6.1.2 首先将接种工具用酒精棉擦拭，然后置入已完成预热的电热消毒器中消毒1min，取出冷却后备用。

6.1.3 将消毒和处理完成的鳞片，接入培养基，每瓶接2-4个外植体，分布均匀，封好瓶口后，注明代号及日期等，放至培养室培养。

6.2 诱导培养

 将已消毒的鳞片接种至诱导培养基上，接种后15-20d时，在鳞片切口位置，萌出不定芽，上端鳞片的不定芽萌发数量和速度均优于下端鳞片；接种40d时，鳞片切口处不定芽数量多且生长健壮，并开始抽生新叶，叶片呈新绿色。

6.3 增殖培养

 在超净工作台上，将已经诱导培养出来的丛生芽切成单芽，接种到增殖培养基中进行培养，每瓶接种2-4个单芽，接种20d左右时，单芽逐渐长成丛芽；接种40d后在丛生芽形成小鳞茎，数量多，且长势旺盛。

6.4 瓶外生根培养

以清洁的河沙为基质，用1-2‰高锰酸钾溶液对基质进行消毒处理，种植前再使用0.1%多菌灵溶液喷施基质表面，覆膜保持适宜的湿度。当龙牙百合无根苗的小鳞茎直径大于1cm时，置于无强烈直射光的炼苗室内进行炼苗，4d后，将组培苗从瓶内取出，洗净残留的培养基，在300 mg/L NAA溶液中浸泡15min后，移栽到基质中，湿度控制在80%-90%，移栽温度以20-25℃为宜，并适度遮阴，30天后生根多且健壮。

6.5移栽

 将有3-4片真叶的幼苗进行移栽，混合基质为珍珠岩:蛭石:泥炭土=1 ：1 ：1，环境湿度控制在80%-90%，温度以20-25℃为宜，并适度遮阴；移栽2周后，幼苗渡过缓苗期，每周喷施一次1/2MS培养基溶液，促进幼苗生长。