

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1657—2008

花卉脱毒种苗生产技术规程 ——香石竹、菊花、兰花、补血草、满天星

Rules for the production technology of virus-free flower stock
—Carnation, chrysanthemum, orchid, statice, gypsophila

2008-07-14 发布

2008-08-10 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

花卉病毒病是严重影响花卉产量和质量病害,其系统防治的核心是制备脱毒种源,生产及使用无毒种苗,从源头上切断病毒的传播。我国对花卉种苗脱毒方面已有不少研究成果,但在花卉脱毒种苗生产中却缺少规范的操作。本标准旨在通过总结各方面的研究成果,对花卉脱毒种苗生产流程和操作给出统一的技术规范,以保证花卉脱毒种苗的质量。

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位:农业部花卉产品质量监督检验测试中心(上海)。

本标准主要起草人:林大为、戴咏梅、池坚、孙强、郁春柳、姚红军、顾梅俏、衡辉。

花卉脱毒种苗生产技术规程

——香石竹、菊花、兰花、补血草、满天星

1 范围

本标准规定了香石竹、菊花、兰花、补血草和满天星五种花卉脱毒种苗生产技术规程,适用于我国花卉种苗生产。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 18247.5—2000 主要花卉产品等级

3 定义

3.1

试管脱毒苗 virus-free tissue-cultured plantlet

应用茎尖或其他组织培养技术获得再生的试管苗,经病毒检测,确认不带该种花卉的有害病毒,可认定为试管脱毒苗。

3.2

脱毒种苗 virus-free stock

试管脱毒苗经由种苗繁殖体系逐代繁殖生产符合质量要求的种苗。根据用途和繁殖代数可分为三级:原种苗、母本苗和生产种苗。

3.3

原种苗 nuclear stock

用试管脱毒苗在生物隔离条件下,繁殖生产出来的不带该种花卉有害病毒的种苗。原种苗用于生产母本苗。

3.4

母本苗 propagation stock

在防虫设施条件下,用原种苗生产繁殖的种苗。母本苗用于繁育生产种苗。

3.5

生产种苗 certified stock

用母本苗于防虫设施条件下生产出符合种苗质量标准(见 GB/T 18247.5—2000)的种苗。

3.6

花卉脱毒种苗繁育组织 organization for propagating and producing virus-free flower stock

经国家或省(直辖市、自治区)有关部门核准,由不同单位共同组成的,完成花卉脱毒种苗生产的各层次、各环节任务的组织。

4 花卉脱毒种苗繁育组织的运行

4.1 花卉脱毒种苗的繁育和生产,必须根据《中华人民共和国种子法》有关条例实施。

4.2 花卉脱毒种苗繁育组织应包括花卉原种苗生产单位和花卉种苗生产单位。

4.2.1 花卉原种苗生产单位主要承担花卉种苗的脱毒,原种苗、母本苗的生产繁殖,原种苗的保存,和向花卉种苗生产单位提供花卉母本苗的任务。

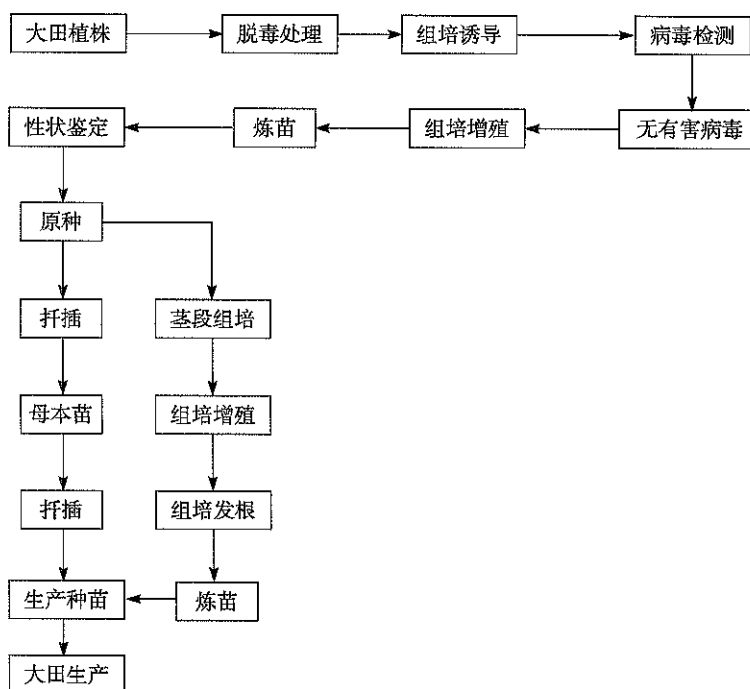
4.2.2 花卉种苗生产单位用花卉原种苗生产单位提供的母本苗建立母本圃,或实施组织培养,生产合格的生产种苗。

4.3 花卉原种苗生产和保存单位及花卉种苗生产单位必须持有生产经营许可证,由县(区)以上政府农林主管部门审核,报省、市级农林主管部门批准。

5 脱毒种苗病毒检测

脱毒种苗病毒检测应由通过国家计量认证并具有该种病毒检测能力的检测部门实施。

6 花卉脱毒种苗生产流程



6.1 香石竹、菊花繁育生产种苗遵循原种扦插途径。

6.2 兰花、补血草、满天星繁育生产种苗遵循脱毒后茎段组培途径。

7 脱毒苗的培育

7.1 待脱毒材料

7.1.1 凡准备进行脱毒处理的品种均应是通过合法途径引进的,签署有关专利保护方面的协议,或者经自己选育而成具有知识产权的品种。

7.1.2 选取大田植株中具有某品种典型特性且无明显病虫害症状、生长健壮的单株,作为脱毒材料的母本。

7.1.3 待脱毒母本植株,可以直接通过病毒检测筛选确定为原种。

7.2 脱毒处理

7.2.1 热处理脱毒:见附录 A。

7.2.2 茎尖培养脱毒:见附录 A。

7.2.3 热处理结合茎尖培养脱毒:见附录 A。

7.3 脱毒材料的病毒检测

7.3.1 需检测的病毒见表 1。

表 1 认定花卉原种苗所需检测的病毒一览表

花卉种类	需检测病毒	认定原种的要求
香石竹	香石竹斑驳病毒(Carnation mottle virus)	2 种方法检测呈阴性
	香石竹蚀环病毒(Carnation etched ring virus)	1 种方法检测呈阴性
	香石竹潜隐病毒(Carnation latent virus)	2 种方法检测呈阴性
	香石竹坏死斑点病毒(Carnation necrotic fleck virus)	1 种方法检测呈阴性
	香石竹脉驳病毒(Carnation vein mottle virus)	1 种方法检测呈阴性
	香石竹环斑病毒(Carnation ringspot virus)	1 种方法检测呈阴性
	南芥菜花叶病毒(Arabis mosaic virus)	1 种方法检测呈阴性
	烟草环斑病毒(Tobacco ringspot virus)	2 种方法检测呈阴性
菊 花	菊花 B 病毒(Chrysanthemum virus B)	2 种方法检测呈阴性
	番茄不孕病毒(Tomato aspermy virus)	2 种方法检测呈阴性
	番茄斑萎病毒(Tomato spotted wilt virus)	2 种方法检测呈阴性
	菊花矮化类病毒(Chrysanthemum stunt viroid)	1 种方法检测呈阴性
兰 花	建兰花叶病毒(Cymbidium mosaic virus)	2 种方法检测呈阴性
	齿兰环斑病毒(Odontolossus ringspot virus)	2 种方法检测呈阴性
补血草	黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus)	2 种方法检测呈阴性
	芜菁花叶病毒(Turnip mosaic virus)	2 种方法检测呈阴性
满天星	黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus)	2 种方法检测呈阴性

7.3.2 经脱毒处理后获得的材料,如仍带病毒应予淘汰,确认不带需检测的病毒后,可以进一步繁育。

7.4 脱毒苗的扩繁

7.4.1 增殖扩繁

脱毒苗确认后,可以直接通过组织培养方式进行扩繁,其继代次数控制在 10~15 代。在配制增殖培养基时,应注意控制细胞分裂素和生长素的浓度,使增殖比例控制在 2.5~3.5 倍之间。

7.4.2 诱导生根

将增殖后的组培苗不定芽分别切割后,转接至生根培养基中进行生根培养,15 d~20 d 可长出新根。

7.4.3 炼苗

以泥炭加珍珠岩(1:1)为基质,铺于育苗床或穴盘内。

将组培生根苗开瓶置于光亮处锻炼 2 d~3 d,将瓶内组培苗倒出,洗去根部黏附的琼脂培养基后,种至苗床或穴盘内,浇足水,覆盖塑料薄膜保湿,并应加以遮荫,10 d 后揭去薄膜逐步恢复通风透光。20 d~25 d 后可每周浇 1/4~1/8 浓度的 MS 营养液以促进生长。温度控制在 15℃~25℃。最低不低于 10℃,最高不超过 30℃,因此,以春季或秋季炼苗较为适宜。

7.5 原种苗的确认及繁育保存

7.5.1 原种苗的确认

将脱毒苗的每个无性系取 5~10 株分别种植,旁边种同一品种的母株作对照,直至开花,观察比较其主要生物性状,若无差异,则可确认为原种,如有差异,则整个无性系应予淘汰。

7.5.2 原种苗的繁育和培养

7.5.2.1 组织培养繁育

具体方法见附录 A 的 A. 2。

7.5.2.2 扦插繁殖

7.5.2.2.1 香石竹、菊花可采用扦插繁殖。

7.5.2.2.2 栽培苗床:宽 1.0 m~1.2 m,深 0.2 m~0.3 m,底部离地,有排水孔,高度以适合人工操作为度,材质应用水泥预制板、PV 板、铝合金、木板等。

7.5.2.2.3 环境要求:选择地势高、干燥避风处,并适当远离与脱毒花卉相似作物的地块建造温室,温室通风处必须安装 40 目的防虫网,入门处应留有缓冲室,并设有鞋具足底消毒槽和洗手槽。

7.5.2.2.4 栽培基质:采用泥炭加珍珠岩的混合基质,体积比为 1:1。使用前进行蒸汽消毒或药物消毒。pH 5.8,电导率值 0.8~1.2。

7.5.2.2.5 定植:取生长良好的脱毒苗,按每平方米 30~36 株的密度进行定植,要求浅栽,栽后浇足水,第二天再复浇,并用遮阳网遮荫,遮光率 70%。

7.5.2.2.6 管理:浇水方面,宜保持基质持水量的 65%~70%;施肥方面,应结合浇水施 0.15%浓度的专用营养液,定期测定土壤 pH 值、电导率值并及时调整;防病治虫方面,应加强检查,以防为主,防治结合。

7.5.2.2.7 摘心:香石竹幼苗长至 5~6 对叶时应摘心,留 3~4 对叶;菊花幼苗长至 5~6 张叶时应摘心,留 3~4 张叶。

7.5.2.3 原种苗的保存

将原种试管苗转接到 MS 琼脂培养基上,置于 10℃~15℃的光照培养箱或光照培养室内保存,每 3 个月取分枝转接 1 次。

7.6 扦插繁殖

7.6.1 插穗的采收:插穗应选取生长粗壮的分枝,在第三至四对叶下方节间处掰断,25~30 枝集成一束。

7.6.2 插穗的冷藏:插穗放入打孔的塑料薄膜袋中,不密封,然后直立置于瓦楞纸板箱内放入冷风库,冷藏温度 2℃~5℃。

7.6.3 扦插苗床的排水畅通。

7.6.4 扦插基质用珍珠岩、岩棉灰、泥炭混合配制,11 月至 5 月扦插用体积比为 6:3:1,5 月至 10 月扦插用体积比为 7:2:1。

7.6.5 扦插时,插穗基部沾上生根粉,扦插深度 2 cm~2.5 cm,扦插密度为每平方米 1 200~2 000 株。

7.6.6 扦插后 2 周内应遮荫或半遮荫,并注意喷雾保湿,温度控制在 15℃~25℃。

7.6.7 苗床期间及时防病,起苗前喷杀菌剂。

7.6.8 发根后要及时出圃,以新根繁茂、根长 1 cm 时移栽最佳。

7.7 母本圃的建立

7.7.1 设施条件:保护地栽培,宜在防虫温室内,离地苗床栽培或地栽。

7.7.2 土壤或基质要经蒸汽或药剂消毒,定植前施颗粒有机肥 1 kg/m²,pH6.0~7.0、电导率值 0.8~1.2。

7.7.3 定植和管理见 7.5.2.2.5 至 7.5.2.2.7。

7.8 生产种苗的生产

7.8.1 生产种苗的扦插繁殖见 7.6.1 至 7.6.7。

7.8.2 生产种苗的确认参照 GB/T 18247.5—2000 抽样检查,确定种苗的质量等级。

8 包装

8.1 香石竹、菊花、满天星、补血草生产种苗的包装

种苗先用种苗袋包装,种苗袋用0.05 mm~0.08 mm透明塑料薄膜制成大小35 cm×35 cm,袋上打12~16个直径5 mm透气孔,每袋装种苗50~100棵,装袋时须将带基质的根部朝下、茎叶部朝上整齐排列。然后再装入专用种苗箱,种苗箱需用具有良好承载能力和耐湿性好的瓦楞卡通纸板制成,宽40 cm,长60 cm,高20 cm~22 cm,纸箱两侧留有透气孔。袋装苗装箱时,应直立排放,一箱放500~1 000株。装箱后用胶带封好箱口。

8.2 兰花生产种苗的包装

种苗先用种苗袋包装,种苗袋规格见8.1,每袋装苗30~50株。装袋后再装入种苗箱,种苗箱规格与8.1相同,每箱装300~500株,放时应直立,避免挤压。装箱后封好箱口。

9 贮存和运输

9.1 香石竹、菊花、满天星、补血草生产种苗的贮存和运输

9.1.1 必要时,上述四种花卉种苗可在2℃~5℃冷风库内贮存,贮存时间不超过7d。

9.1.2 上述四种花卉种苗的运输中如超过3d,则应采用控温于4℃~6℃的冷藏车。

9.2 兰花种苗的贮存和运输

9.2.1 必要时,花卉种苗可在10℃~15℃的冷风库内短期贮存,时间不超过5d。

9.2.2 长途运输超过3d路程,必须用控温10℃~15℃的冷藏车。

附录 A
(规范性附录)
花卉种苗的脱毒处理技术

A.1 热处理脱毒

A.1.1 脱毒材料准备

于大田中选取生长健壮,外观无明显病虫害症状,品种特性比较典型的种苗,挖出根系,抖尽宿土,定植于装有灭菌基质的花盆内,植后浇足水,适当遮荫,确保成活。

A.1.2 热处理

待脱毒种苗成活并长出新叶后,移入人工气候箱内,先将温度控制在 $28^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$,3 d~5 d后,将温度调至 $38^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$,进行热处理并开始计时。

A.1.3 热处理后复原

热处理 28d 后,将种苗移至防虫温室内继续培养,采其新枝扦插或组织培养,育成正常种苗。

A.1.4 病毒检测

把新育成的正常种苗分株系进行病毒检测,淘汰带毒苗,未检测出病毒的其余种苗,1 个月后再检测一次,确认无病毒可直接作为原种苗保存和繁殖。

A.2 茎尖培养脱毒

A.2.1 脱毒材料准备

于田间选择生长健壮,外观无明显病虫害症状,具品种特性典型的植株,先予以摘心,促进分枝生长,待分枝长至 3~4 对叶时,采摘下最靠近根基部的分枝,冲洗后,剥去茎干上的叶片,切取 1 cm~2 cm 长的嫩梢。

A.2.2 脱毒材料的表面消毒

将整理好的脱毒材料,用肥皂粉溶液浸泡 15 min 后,自来水流水冲洗 1 h,然后转到无菌室内进一步处理,在超净工作台中,将冲洗干净的嫩梢,用 75%酒精浸渍 0.5 min,然后用 5%浓度的次氯酸钠溶液灭菌 10 min,无菌水冲洗 3~5 遍后备用。

A.2.3 剥取茎尖

在超净工作台上操作,于解剖镜下,将材料置于消毒的滤纸片上,用经消毒的手术刀和镊子剥离外层幼叶,切取 0.3 mm~0.5 mm 直径大小、带 1~2 个叶原基的茎尖组织,接种于经过高温消毒的分化培养基上,注意茎尖的上下面不能颠倒。

A.2.4 分化培养

接种好的茎尖应分别编号,置于 $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 1 500 lx~3 000 lx、每天光照 10 h~12 h 的条件下培养,2~3 个月后可分化出新芽。

A.2.5 增殖培养

采用增殖培养基,将分化长出的丛生苗切割成单株转接至培养基上,培养条件与分化培养相同,待单株苗又生丛生苗时,可取样进行病毒检测,带毒无性系整瓶淘汰,无病毒无性系可继续转接增殖,20 d~30 d 转接一次,2~3 代后再测一次病毒,确认不带病毒后继续增殖,否则仍需淘汰。

A.2.6 诱导生根

不带毒样品上切取 1.5 cm~2 cm 嫩梢接入适宜的生根培养基中,在 $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 和光照 $1\,500\text{ lx}\sim 3\,000\text{ lx}$ 条件下培养 15 d~20 d 即可长出新根。

A.2.7 炼苗和移栽

将生好根的瓶苗置于强光下,开瓶锻炼 2 d~3 d,洗净根部黏附的培养基后,栽入泥炭和珍珠岩 (1:1) 的混合培养基中,浇透水,盖上塑料薄膜保湿并遮荫,10 d 后逐渐通风透光,每周浇一次 $1/4\sim 1/8$ MS 溶液促进生长。2~3 个月后可以进行品种特性测试栽培,如无变异可作为原种繁殖和保存。

A.3 热处理结合茎尖培养脱毒

A.3.1 先将选取的植物材料进行热处理(见 A.1.1 至 A.1.3),剥取热处理过程中长出的新梢顶端 0.3 mm~0.5 mm 的茎尖进行组织培养(见 A.2.1 至 A.2.3)。

A.3.2 按 A.2.4 和 A.2.5 的方法培养,分化成丛生苗,经切割转接,于 $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养室扩繁培养。

A.3.3 对每个芽扩繁而成的组培苗统一编一个号,每个编号经培养成苗后都应取样进行病毒检测,确认不带病毒后方可进一步扩繁,带病毒者则整个编号的苗予以淘汰。