

ICS 65.020.20

B 05

备案号：

DB42

湖北省地方标准

DB42/T 1405—2018

湖北主要药用植物石斛组培育苗技术规程

Technical regulations of tissue culture for the main medicinal Dendrobium in Hubei

2018-09-04 发布

2018-11-24 实施

湖北省质量技术监督局 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 种类选择	1
5 种苗繁育	2
5.1 蒴果采收	2
5.2 消毒播种	2
5.3 增殖培养	2
5.4 分化培养	2
5.5 生根培养	2
6 炼苗与健化	2
6.1 搭建荫棚	2
6.2 炼苗	2
6.3 健化	3
7 病虫害防治	3
7.1 防治原则	3
7.2 主要病害及防治方法	3
7.3 主要虫害及防治方法	3
8 种苗出圃	3
8.1 出圃时间	3
8.2 种苗规格	4
8.3 出圃要求	4
附录 A (资料性附录) 药用石斛主要病害防治方法	5
附录 B (资料性附录) 药用石斛虫害防治方法	6

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由湖北省林业科学研究院提出。

本标准由湖北省林业厅归口管理。

本标准起草单位：湖北省林业科学研究院、湖北宗坤石斛科技发展有限公司、英山县药材和茧丝绸产业化办公室、英山县科技局。

本标准主要起草人：陈慧玲、刘宗坤、杨彦伶、张新叶、刘正言、庞宏东、李振芳、刘涛、陈华超、马林江、彭婵。

湖北主要药用植物石斛组培育苗技术规程

1 范围

本标准规定了湖北主要药用植物石斛组培育苗的术语与定义、种类选择、种苗繁育、炼苗与健化、病虫害防治及种苗出圃。

本标准适用于湖北省范围内主要药用植物石斛的组培育苗生产。

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。

- GB/T 8321.1 农药合理使用准则(一)
- GB/T 8321.2 农药合理使用准则(二)
- GB/T 8321.3 农药合理使用准则(三)
- GB/T 8321.4 农药合理使用准则(四)
- GB/T 8321.5 农药合理使用准则(五)
- GB/T 8321.6 农药合理使用准则(六)
- GB/T 8321.7 农药合理使用准则(七)
- GB/T 8321.8 农药合理使用准则(八)
- GB/T 8321.9 农药合理使用准则(九)
- GB/T 8321.10 农药合理使用准则(十)
- NY/T 1276 农药安全使用规范 总则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

石斛菌根共生菌 *Dendrobium mycorrhiza symbiotic fungus*

一种或几种侵染石斛属植物根部，与之共生的内生真菌，石斛属植物种子萌发、幼苗生长的碳源、水源以及成年植株部分营养均依赖这些真菌来获取。

3.2

石斛菌根共生菌液 liquid of *Dendrobium mycorrhiza symbiotic fungus*

药用植物石斛进行组织培养时，在其培养基中添加的由石斛菌根共生菌经无菌分离培养后得到的液体菌剂。

3.3

炼苗 hardening off

采取通风、降温、适当控水等措施对设施培育的幼苗进行强迫锻炼，提高抗性，使其定植后能够迅速适应陆地的自然环境条件的过程。

4 种类选择

选择霍山石斛 (*Dendrobium huoshanense* C.Z.Tang et S.J.Cheng)、铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)、细茎石斛 (*Dendrobium monilifolme*(L.) Sw)为主要栽培种。

注：石斛属植物约1500种，中国有75种2个变种，湖北有8种，以上3种在湖北栽培表现好。

5 种苗繁育

5.1 蒴果采收

对现有种子园中多糖含量高、高产的2 a~3 a健康植株进行人工授粉后精心管理，于9月~11月采收无病虫害、无机械损伤的成熟蒴果，以果皮绿黄色未开裂为宜。

5.2 消毒播种

5.2.1 消毒

在超净工作台上将蒴果表面用70 %酒精棉球擦拭干净后，浸泡于70 %酒精中30 s，再用0.1 %升汞消毒15 min，无菌水冲洗5次后用无菌滤纸吸干表面水分。

5.2.2 播种

在超净工作台上用灭菌手术刀沿中缝线纵向切开消毒好的蒴果，刮出种子于适量的无菌水中分别制成悬浮液，摇匀悬浮液后，吸取适量悬浮液加入装有1/2 MS +1 %石斛菌根共生菌液培养基的培养瓶中，并使之均匀分布，用封口膜封口。

5.2.3 培养条件

将已播种的培养瓶放入温度为(25±1)℃，光照10 h~12 h、光照强度1500 lux~2000 lux组培室培养。

5.3 增殖培养

30 d后将培养基上萌生的原球茎转接到MS + 2.0 mg/l 6-BA + 0.2 mg/l NAA + 10 %香蕉汁 + 1 %石斛菌根共生菌液的增殖培养上培养，培养条件参照本标准5.2.3执行。

5.4 分化培养

60 d后将增殖的原球茎转接到MS + 0.6 mg/l 6-BA + 1.2 mg/l NAA + 10 %香蕉汁的分化培养基上培养，培养条件参照本标准5.2.3执行。

5.5 生根培养

60 d后将分化的丛生芽转接到1/2 MS + 1.0 mg/l NAA + 15 %马铃薯 + 2 %石斛菌根共生菌液的生根培养基上培养，培养条件参照本标准5.2.3执行。

6 炼苗与健化

6.1 搭建荫棚

选择地势平坦处搭建长40 m~50 m、宽8 m、高3.3 m的钢架大棚，覆盖避雨薄膜和遮光度75%~80%的遮阳网，棚内安装微喷雾设备。

6.2 炼苗

组培苗生根培养60 d后即可开瓶炼苗移栽。将苗高3 cm~4 cm、长小叶5片~8片，根4条~5条的试管苗带培养瓶一起移至荫棚内，进行常温闭瓶炼苗，7 d后再开瓶炼苗3 d~7 d。炼苗温度宜15℃~30℃，光照小于7000 Lux。

6.3 健化

6.3.1 健化基质准备

采用树皮 + 花岗岩瓜米石的双层基质作为健化基质，上层为厚度2 cm发酵过的1 cm大小碎松树树皮，下层为厚度2 cm的粒径0.5 cm~1.0 cm花岗岩瓜米石，基质在组培苗健化前用高温蒸汽消毒后装入育苗盘。

6.3.2 组培苗健化前预处理

将已进行炼苗处理的生根组培苗从培养瓶中取出，先用清水将根系上的琼脂冲洗干净，再用5%甲基托布津1000倍液浸根3 min~5 min，放在阴凉通风处晾至根系呈白色后即可进行组培苗健化。

6.3.3 健化方法

用42 cm×42 cm×5 cm的育苗盘，按10 cm×10 cm密度进行健化，每个育苗盘栽种16莖，每莖5株~6株丛植，移栽时基质含水量控制在30%~40%。

6.3.4 健化管理

健化种苗需喷雾保持幼苗相对湿润，10 d~15 d后，开始用自制石斛营养液和磷酸二氢钾1000倍~2000倍液交替喷施，每隔15 d喷1次。

7 病虫害防治

7.1 防治原则

病虫害防治遵循“预防为主，科学防控，依法治理，促进健康”的16字方针，实行生物、物理、化学防治相结合的综合防治措施。

7.2 主要病害及防治方法

药用植物石斛主要病害有石斛黑斑病 *Dendrobium alternaria*、石斛炭疽病 *Dendrobium anthracnose disease* 和石斛煤污病 *Dendrobium sooty blotch*。预防病害发生应保持生长环境卫生，增强环境通风透光，及时清除有病植株、杂草及残枝落叶。主要的防治方法见附录A。

7.3 主要虫害及防治方法

药用植物石斛主要虫害有蛞蝓*Agriolimax agrestis* Linnaeus、蜗牛*Fruticicolidae*和石斛菲盾蚧*Phenacaspis dendrobii* Kuwana。预防虫害发生应及时捕捉害虫，同时利用生物农药防虫，及时清除有虫植株、杂草及残枝落叶，改善环境条件。主要的防治方法见附录B。

8 种苗出圃

8.1 出圃时间

种苗在荫棚内健化1 a~2 a后才能出圃上山定植，以春季3月~5月为宜。

8.2 种苗规格

单株苗高4 cm~5 cm，叶片浓绿，叶数5片~8片，根数4条~5条，根长2.5 cm~3.5 cm，每蔸8株~10株。

8.3 出圃要求

起苗前2 d~3 d应喷水保证基质湿润，减少起苗伤根。种苗要求生长健壮、无感染、无黄化，无检疫性病虫，无病虫害。根系发达，分布均匀，无机械损伤。

附 录 A
(资料性附录)
药用植物石斛主要病害防治方法

表A.1规定了药用石斛主要病害防治方法。

表A.1 药用植物石斛主要病害防治方法

病害名称	危害部位	发生时间	防治方法
石斛黑斑病	叶片	3月~5月	① 50%的多菌灵 1000 倍液喷雾，每隔 14 d 喷 1 次，连续 3 次。用量为 1 kg/ha~1.8 kg/ha。② 75 %百菌清 400~600 倍液喷洒喷雾，每隔 7 d 喷 1 次，连续 4~5 次。用量为 2.25 kg/ha~3.0 kg/ha。
石斛炭疽病	叶片及茎枝	1月~5月	① 50%多菌灵 1000 倍液或 50%甲基托布津 1000 倍液喷雾每隔 14 d 喷 1 次，连续 3 次。用量为 1 kg/ha~1.8 kg/ha。②炭福美可湿性粉剂 500 倍液喷雾，每隔 7 d~10 d 喷 1 次，连续 3 次。用量为 1 kg/ha~1.8 kg/ha。
石斛煤污病	叶片及植株	多雨季节	① 50 %多菌灵稀释 1000 倍喷雾，每隔 14 d 喷 1 次，连续 3 次，用量为 1 kg/ha~1.8 kg/ha。② 45 %石硫合剂 500 倍液喷雾，每隔 7 d 喷 1 次，连续 2 次，用量 3.0 kg/ha~3.75 kg/ha。
注：农药的合理使用应符合 GB/T 8321.1、GB/T 8321.2、GB/T 8321.3、GB/T 8321.4、GB/T 8321.5、GB/T 8321.6、GB/T 8321.7、GB/T 8321.8、GB/T 8321.9 和 GB/T 8321.10 标准及 NY/T 1276 标准的规定要求。			

附 录 B
(资料性附录)
药用植物石斛主要虫害防治方法

表B.1规定了药用石斛主要虫害防治方法。

表B.1 药用植物石斛主要虫害防治方法

虫害名称	危害部位	发生时间	防治方法
蛴螬	新芽或根尖	多雨季节	① 在蛴螬多发季,使用 1:(4~5) 茶枯浸出液对苗盘进行短暂浸泡杀灭。每隔 14 d 浸泡 1 次;② 用 50 %杀螺胺乙醇可湿性粉剂 400 倍~500 倍液喷雾,每隔 14 d 喷 1 次,用量 2.25 kg/ha~3.0 kg/ha。
蜗牛	幼嫩茎叶和花	多雨季节	① 注意环境清洁卫生,及时清除枯枝落叶。② 用麸皮拌 10 %螺枯威颗粒剂或白僵菌粗孢粉诱杀。③ 在栽培区喷洒撒生石灰或饱和食盐水。
石斛菲盾蚧	叶片	5 月下旬	人工清除虫害枝并集中烧毁。
注:农药的合理使用应符合 GB/T 8321.1、GB/T 8321.2、GB/T 8321.3、GB/T 8321.4、GB/T 8321.5、GB/T 8321.6、GB/T 8321.7、GB/T 8321.8、GB/T 8321.9 和 GB/T 8321.10 标准及 NY/T 1276 标准的规定要求。			