

T/ZLDZSW

庄浪县电子商务协会团体标准

T/ZLDZSW 002—2025

庄浪县草莓脱毒种苗组培快繁技术 规程

Technical Regulation for Tissue Culture and Rapid Propagation of
Virus-free Strawberry Seedlings in Zhuanglang

2025-09-16 发布

2025-09-16 实施

庄浪县电子商务协会发布

目 次

前 言	2
1 范围	1
2 规范性应用文件	1
3 术语和定义	1
3.1 茎尖	1
3.2 外植体	1
3.3 脱毒种苗	1
4 组培室的要求	1
4.1 组培室设置	2
4.2 设施、设备及药品的要求	2
4.3 培养基的配方	2
4.4 卫生要求	2
5 外植体的选择	3
6 茎尖脱毒	3
7 接种	3
8 初代培养	3
9 增殖培养	3
10 生根培养	3
11 组培苗移栽	3
11.1 炼苗	4
11.2 移栽	4
11.3 水肥管理	4
12 组培种苗出圃要求	4
13 病毒检测	4
附件 A 组培设施、设备及药品 10 生根培养	5
附录 B 草莓组培培养基配置表移栽	6

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。

本文件由庄浪县电子商务协会提出。

本文件由庄浪县电子商务协会归口。

本文件起草单位：庄浪县农业技术推广中心、庄浪县电子商务协会、南湖镇农业农村综合服务中心、南坪镇农业农村综合服务中心。

本文件主要起草人：周爱爱、崔艳艳、朱爱玲、陈红燕、王艳霞、徐佩、文美玲、王通童、张彩萍、贾丹萍、谢文斌、石玉章、万婷丽、朱建勋、崔雯、柳志华。

庄浪县草莓脱毒种苗组培快繁技术规程

1 范围

本文件规定了庄浪县组培室的要求,包括草莓脱毒种苗组培快繁技术的外植体选择、茎尖剥离、接种、初代培养、增殖培养、生根培养、组培苗移栽、组培种苗出圃要求及病毒检测技术操作规程。

本文件适用于庄浪县草莓脱毒种苗的组织培养扩繁过程。

2 规范性应用文件

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。

NY/T 406 脱毒草莓种苗病毒检测技术规程

NY/T 2306 花卉种苗组培快繁技术规程

NY/T 3032 草莓脱毒种苗生产技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 茎尖

芽顶端部分(0.1-1.0mm)其中包括分生组织(0.05-0.1mm)及芽原基和正在生长发育的叶原基。

3.2 外植体

植物组织培养中作为离体培养材料的器官或组织的片段。

3.3 脱毒种苗

通过组织培养脱毒处理或直接引进,经检测后确认不携带草莓斑驳病毒(Strawberry mottle virus, SMoV)、草莓镶脉病毒(Strawberry vein banding virus, SVBV)、草莓皱缩病毒(Strawberry crinkle virus, SCV)、草莓轻型黄边病毒(Strawberry mild yellow edge virus, SMYEV)等病毒的种苗。

4 组培室的要求

组培室建设时周围应无污染源,与大田生产隔离,选择向阳、干燥、通风、清洁的环境。组培

室应功能齐全具有独立的生产空间。

4.1 组培室设置

庄浪县马铃薯组培室周围采用密闭玻璃，通过特定的大门和通风橱与外界相连。组培室内设有接种室、制备室、光照培养室、检测室、储藏室等功能区，各功能区布局应遵循方便消毒、减少污染的原则。培养室采用人工光源和全自然光两种，采用全自然光时，培养室宜选用玻璃和阳光板，培养室通过空调调节温度，缓冲间设有水池和消毒槽。

4.2 设施、设备及药品的要求

4.2.1 生产组培苗的设施、设备、药品见附件 A

4.3 培养基的配方（见附录 B）

4.4 卫生要求

4.4.1 基本要求

组培室各功能间应保持干净、整洁，每周用 84 消毒液清洁工作台面、窗台及地面。

4.4.2 接种室

定期用 84 消毒液对培养室内培养架和窗台擦拭、紫外灯消毒，每次灭菌 40-60min，每周开启 1-2 次。

4.4.3 培养室

应定期使用 84 消毒液擦拭培养架和窗台，每周开紫外灯 1-2 次，每次灭菌 40-60min。

4.4.4 超净工作台

每次使用前，应提前 30min 打开缓冲间、培养室、超净工作台的紫外灯，用 75%的酒精擦拭工作台面。

4.4.5 接种工具

每台超净工作台应备三套接种工具轮流使用。接种前将使用的镊子、剪刀及茎尖剥离的解剖刀、解剖针插入高温灭菌器中灭菌，冷却后备用。

4.4.6 接种操作人员

进入接种室前，鞋底喷施酒精消毒后，换上无菌鞋，用肥皂或洗手液洗净双手，换上无菌服，戴好口罩、手套和一次性医用帽子，每转接完一盒基础苗后，用 75%的酒精擦拭双手和台面，并将

镊子、剪刀插入灭菌器消毒至少 14s。

4.4.7 污染苗处理

组培苗培养期间,应经常观察组培苗的生长状态,发现污染应及时清除,将污染瓶苗深埋处理。

5 外植体的选择

选择品种纯正、生长势强、无病虫害的健壮草莓植株,取带有生长点的 5 cm~10 cm 匍匐茎,置于保鲜盒带回实验室。

6 茎尖脱毒

匍匐茎表面用自来水冲洗干净,用吸水纸吸干。于超净工作台上切取带生长点的茎段 1 cm~2 cm, 去掉外面的苞叶,置于 75%的酒精中浸泡 30 s,取出后无菌水冲洗 3~5 次,然后用 2%的次氯酸钠浸泡 8 min~10 min,再用无菌水冲洗 3~5 次,用无菌滤纸吸干,在解剖镜下剥取 0.2 mm~0.5 mm 的茎尖。

7 接种

接种前环境及接种器械灭菌按照 NY/T 2306 执行。将剥离后茎尖接种于诱导培养基上(培养基配方参见表 1),每盒 3 个(培养瓶内径 5 cm),分布均匀,并标注品种名和接种日期。

8 初代培养

初始接种的茎尖暗培养 2 d,之后置于常规培养室内培养。培养室温度为 22 ℃~26 ℃,光照强度为 2000 lx~3000 lx,光照时间每天 15 h~16 h,培养 60 d~90 d。

9 增殖培养 (培养基配方参见表 2)

无菌条件下,挑选至少有 3 个小叶、生长健壮、3 cm~5 cm 的单芽移入生根培养基,暗培养 7 d 后转入光培养 14 d~28 d,当 5 条幼根长至根长 1.5 cm~3 cm 时开始炼苗。

10 生根培养 (培养基配方参见表 3)

无菌条件下,挑选至少有 3 个小叶、生长健壮、3 cm~5 cm 的单芽移入生根培养基,暗培养 7 d 后转入光培养 14 d~28 d,当 5 条幼根长至根长 1.5 cm~3 cm 时开始炼苗。

11 组培苗移栽

将冲洗好的材料用酒精消毒 30s,无菌水冲洗 3 次,再用 2%~4%的次氯酸钠溶液浸泡 15min,无菌水冲洗 3 次,无菌滤纸吸干。

11.1 炼苗

将组培苗移到温室中炼苗 2 d，松开封口炼苗 2 d，开盖炼苗 3 d，温室每天 10:00~15:00 需要进行遮阴处理，温度控制在 23 ℃~30 ℃。

11.2 移栽

基质的准备按照 NY/T 3032 执行。炼苗后取出组培苗，洗去根部的琼脂，移入基质中。移栽在晴天的傍晚或阴天进行，深度以“深不埋心，浅不露根”为准，移栽后立即浇透水。

11.3 水肥管理

移栽 7 d 内，搭建小拱棚保湿，保证土壤持水量在 70%~90%。7 d~14 d，保证土壤持水量在 50%~70%。之后的水肥管理按照 NY/T 3032 执行。

12 组培种苗出圃要求

组培苗达到 3 叶 1 心、短缩茎粗 0.5 cm 以上、不定根达到 5 条以上（包括 5 条）时即达到出圃标准。

13 病毒检测

组培苗和田间苗均可进行病毒检测，取样部位为叶片。病毒检测方法按照 NY/T 406 执行。

附件 A

组培设施、设备及药品

1 组培设施和设备

- 1.1 防酸碱台面的试验台
- 1.2 冰箱
- 1.3 药瓶柜
- 1.4 器械柜
- 1.5 高压灭菌锅
- 1.6 全自动培养基制备机
- 1.7 空调和降温设施
- 1.8 超净工作台
- 1.9 培养架(人工光源培养室里装有日光灯)
- 1.10 浸泡洗涤水槽和冲洗水槽
- 1.11 培养瓶、培养瓶控水架
- 1.12 全自动封口机
- 1.13 0.1 g 电子天平、0.0001g 电子天平
- 1.14 磁力搅拌机
- 1.15 酸度计
- 1.16 蒸馏水器
- 1.17 不锈钢锅
- 1.18 电磁炉
- 1.19 各种规格的容量瓶、棕色细口瓶、棕色广口瓶、移液枪、量筒、玻璃棒、吸管、试剂勺等
- 1.20 试管、三角瓶、培养瓶
- 1.22 瓶盖、封口膜、线绳
- 1.23 紫外灯
- 1.24 高温灭菌器
- 1.25 镊子、剪刀、手术刀、解剖针、解剖刀
- 1.26 温、湿度仪

2 药品

- 2.1 高锰酸钾
- 2.2 次氯酸钠
- 2.3 95%酒精
- 2.4 84 消毒液
- 2.5 pH 试纸
- 2.6 琼脂、卡拉胶
- 2.7 食用白糖、蔗糖

附录 B 草莓组培培养基配置表 (表 1-表 3)

表 1 诱导培养基配方

成分	化学试剂	质量浓度 mg/L
大量元素	硝酸钾 (KNO ₃)	1900
	硝酸铵 (NH ₄ NO ₃)	1650
	磷酸二氢钾 (KH ₂ PO ₄)	170
	硫酸镁 (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	370
	氯化钙 (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	440
微量元素	硫酸锰 (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	22.3
	硫酸锌 (ZnSO ₄)	8.6
	硼酸 (H ₃ BO ₃)	6.2
	碘化钾 (KI)	0.83
	钼酸钠 (NaMoO ₃ ·2H ₂ O)	0.25
	硫酸铜 (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0.025
	氯化钴 (CoCl ₂ ·6H ₂ O)	0.025
铁盐	乙二胺四乙酸二钠 (Na ₂ ·EDTA·2H ₂ O)	37.3
	硫酸亚铁 (Fe ₂ SO ₄ ·7H ₂ O)	27.8
有机物质	肌醇	100
	甘氨酸	2
	盐酸硫胺素 (B)	0.1
	盐酸吡哆醇 (B)	0.5
	烟酸	0.5
激素	6-苄基氨基腺嘌呤 (6-BA)	0.5
	吲哚丁酸 (IBA)	0.1
糖	食用白糖 (蔗糖)	30
其他	琼脂粉	7

表 2 增殖培养基配方

成分	化学试剂	质量浓度 mg/L
大量元素	硝酸钾 (KNO ₃)	1900
	硝酸铵 (NH ₄ NO ₃)	1650
	磷酸二氢钾 (KH ₂ PO ₄)	170
	硫酸镁 (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	370
	氯化钙 (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	440
微量元素	硫酸锰 (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	22.3
	硫酸锌 (ZnSO ₄)	8.6
	硼酸 (H ₃ BO ₃)	6.2
	碘化钾 (KI)	0.83
	钼酸钠 (NaMoO ₃ ·2H ₂ O)	0.25
	硫酸铜 (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0.025
	氯化钴 (CoCl ₂ ·6H ₂ O)	0.025
铁盐	乙二胺四乙酸二钠 (Na ₂ ·EDTA·2H ₂ O)	37.3
	硫酸亚铁 (Fe ₂ SO ₄ ·7H ₂ O)	27.8
有机物质	肌醇	100
	甘氨酸	2
	盐酸硫胺素 (B)	0.1
	盐酸吡哆醇 (B)	0.5
	烟酸	0.5
激素	6-苄基氨基腺嘌呤 (6-BA)	0.5
	吲哚丁酸 (IBA)	0.05
糖	食用白糖 (蔗糖)	30
其他	琼脂粉	7

表3 生根培养基配方

成分	化学试剂	质量浓度 mg/L
大量元素	硝酸钾 (KNO_3)	950.00
	硝酸铵 (NH_4NO_3)	825.00
	磷酸二氢钾 (KH_2PO_4)	85.00
	硫酸镁 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	185.00
	氯化钙 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	220.00
微量元素	硫酸锰 ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	11.15
	硫酸锌 (ZnSO_4)	4.30
	硼酸 (H_3BO_3)	3.10
	碘化钾 (KI)	0.42
	钼酸钠 ($\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.13
	硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.01
	氯化钴 ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.01
铁盐	乙二胺四乙酸二钠 ($\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	18.65
	硫酸亚铁 ($\text{Fe}_2 \text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	13.90
有机物质	肌醇	50.00
	甘氨酸	1.00
	盐酸硫酸素 (B)	0.05
	盐酸吡哆醇 (B)	0.25
	烟酸	0.25
激素	吲哚丁酸 (IBA)	0.1
糖	食用白糖 (蔗糖)	30
其他	琼脂粉	7