

植物种苗组培快繁技术规程

Technical regulation for plant micropropagation

2022 - 05 - 17 发布

2022 - 06 - 17 实施

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 植物组培工厂建设 1

5 设备、器材及试剂 2

6 组培车间管理 2

7 组培苗生产流程 3

8 无菌接种操作及注意 6

9 组培苗移栽和穴盘苗生产 7

10 出苗、包装、运输 8

附录 A（资料性） 植物组培工厂所需仪器和设备 9

附录 B（资料性） 植物组培工厂所需器皿及器材 13

附录 C（资料性） 植物组培常用试剂 16

附录 D（资料性） 植物组织培养常用基本培养基成分 20

附录 E（资料性） MS 培养基母液配制表 22

附录 F（资料性） 植物组培常用植物生长调节剂母液配制 23

附录 G（资料性） 植物种苗组培快繁流程示意图 24

附录 H（资料性） 温室育苗常见病虫害及防治 25

前 言

本标准按照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。

本标准代替DB33/T 752—2009《植物种苗组培快繁技术规程》，与DB33/T 752—2009相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- a) 增加了规范性引用文件(见第2章)；
- b) 修改了部分术语和定义(见第3章，2009版第2章)；
- c) 修改了组培工厂建设(见第4章和第5章，2009版第3章)；
- d) 修改了组培车间管理(见第6章，2009版第5章、7.1、7.2、7.3和第10章)；
- e) 修改了组培苗生产流程(见第7章，2009版第4章、第6章和第8章)；
- f) 修改了无菌接种操作及注意(见第8章，2009版第9章)；
- g) 修改了组培苗移栽和穴盘苗生产(见第9章，2009版第11章)；
- h) 删除了质量标准(见2009版第11章)；
- i) 删除了附录A和附录C(见2009版附录A、附录C)；
- j) 修改了部分附录结构及内容(见附录A、B、C、D、E、F和附录G，2009版附录D、E、F、G、H、I和附录B)；
- k) 增加了温室育苗常见病虫害及防治(见附录H)。

请注意本标准的某些内容可能涉及专利。本标准的发布机构不承担识别专利的责任。

本标准由浙江省农业农村厅提出并组织实施。

本标准由浙江省种植业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：浙江省农业科学院。

本标准主要起草人：陈剑平、陈志、汪一婷、吕永平、牟豪杰、李海营、K. B Kumar、王燕。

本标准的历次版本发布情况为：

——DB33/T 752—2009；

——本次为第一次修订。

植物种苗组培快繁技术规程

1 范围

本标准规定了植物种苗组培快繁的术语和定义、植物组培工厂建设、设备、器材及试剂、组培车间管理、组培苗生产技術流程、无菌接种操作、组培苗移栽和穴盘苗生产及包装、标签、运输等内容。

本标准适用于植物种苗组培快繁。

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标准必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB/T 191 包装储运图示标志

GB 50009 建筑结构荷载规范

NY/T 2306 花卉种苗组培快繁技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

继代

植物材料经过一段时间培养后，培养材料从原培养基中转出，在无菌条件下经过切割后转接到新鲜培养基中继续增殖培养的过程。

3.2

外植体

从活体植物上获取的用于植物组培生产的组织或器官。

3.3

组培苗

利用植物组织培养方式生产获得的苗。

4 植物组培工厂建设

4.1 工厂选址

厂址宜选择地势较高、排水良好，远离污染源，通水通电，交通便利的位置。

4.2 厂房建设

地基宜高出地面30厘米以上；地面、外部墙体和顶层宜作防潮、防水、防渗、保温和隔热相关处理，内部墙壁光滑，防水；厂房为2层以上的建筑时，应安装物流电梯；地面和多层结构的楼面均布活荷载、雪压、风压荷载系数按GB 50009中书库建设指标。

4.3 功能区规划及要求

4.3.1 组培车间

组培车间包括洗涤室、培养瓶晾干室、试剂室(称量室)、培养基配制室、灭菌室、培养基储存室、更衣室、接种室、培养室、出苗室和储物室功能区等。各功能区域应根据生产工艺流程次序，设计为连续、有序、通畅和合理的流水线。厂房为多层建筑时，培养室设在二楼及以上楼层，其余功能区设在一楼；组培室净道、污道分离，人、物流分开。接种操作区按100级净化标准设计；培养基储存室、接种室、培养室按10万级净化标准设计；试剂室(称量室)、培养基配制室、灭菌室、更衣室和出苗室等按30万级净化标准设计；储物室、洗涤室、培养瓶晾干室防尘、防潮，通风良好；不同级别洁净区出入口处安装风淋装置；洁净区域内配置消毒灭菌设备、空气净化和洁净新风补偿系统。

4.3.2 管理区

管理区包括办公室、会议室和其它必要工作空间等。

4.3.3 温室

温室包括母本保存圃、组培苗驯化区和组培苗培育区等。

5 设备、器材及试剂

5.1 设备

植物组织培养所需设备包括灭菌设备、培养设备、实验设备、办公设备和消防设施等，具体参见附录A。

5.2 器材

植物组织培养所需器材包括各类器材、器皿以及其它常用消耗品等，具体参见附录B。

5.3 试剂

植物组织培养所需的无机盐类、有机物类、植物生长调节剂、消毒剂等，各类试剂的品名、纯度等级和储存方法参见附录C。

6 组培车间管理

6.1 污染容器灭菌

污染的容器在未打开的情况下，在0.10 MPa~0.11 MPa、121℃条件下，灭菌30分钟~40分钟。

6.2 培养容器的清洗

清空培养容器内部材料和培养基后放入洗洁精或洗衣粉溶液中浸泡，浸泡时间不应少于1小时，然后清洗掉容器内、外壁附着物后，再用自来水冲洗内、外壁3遍~5遍。清洗干净后，培养容器后倒扣于组培用托盘中沥水、晾干备用。清洗干净的培养容器壁不挂水珠，晾干的培养容器内外壁无明显的斑点、污迹。

6.3 人员管理

组培车间人员换鞋、穿工作服后，经风淋除尘进入车间。进出随手轻轻关门。

6.4 清洁及消毒

车间内部每周用消毒液(0.1%新洁尔灭溶液等)清洁车间内部地面、门窗等。每两周用紫外灯照射30分钟或臭氧发生器消毒60分钟。紫外灯按每平方米配置2瓦的比例进行配置，臭氧消毒时，内部空间保持70%~80%相对湿度，温度保持在25℃~35℃，臭氧浓度为10毫克/立方米~20毫克/立方米。定期检查培养室内漏雨及墙壁长霉情况，发现有霉菌时应及时去除，并用防菌涂料粉刷墙壁。

6.5 污染检查

培养材料污染应有专人检查、清理，并做好记录。发现污染瓶，不应在培养间及走道内开启，立即转移至洗涤间，按照6.1进行灭菌，然后正常清洗，并对处理情况作记录。污染率若超过3%，应及时反馈给操作人员及管理人员，协同进行原因分析，采取相应的措施。

6.6 设备管理

空调设备出风口每年至少应进行一次清洗和消毒处理；整体净化组培室每半年更换高效过滤装置，清洁通风管道；定期检查各种设备使用状况，发现异常应及时进行处理。

6.7 厂房外部清洁

厂房外部保持清洁、无堆积杂物，定期清理厂房周边杂草。

7 组培苗生产技术流程

7.1 母液配制

7.1.1 母液种类

母液的配制根据培养材料及培养目的选择合适的基本培养基和植物生长调节剂种类及浓度配比，常见基本培养基成分见附录D。

7.1.2 化学试剂选择

母液配制应选择纯度符合要求且在有效期内的试剂，使用前目测应无异物、异色或者吸湿结块。

7.1.3 水质要求

母液配制应用蒸馏水或去离子水。

7.1.4 配制方法

母液配制时，不同试剂分开称量，单独溶解，再逐步混合后定容。配置好的母液应无色透明(铁盐黄色透明)，无浑浊、沉淀。MS基本培养基母液配制及保存方法见附录E，其它基本培养基母液配制可参考该方法；植物生长调节剂的母液配制及保存方法见附录F。

7.1.5 过滤灭菌试剂母液配制

将需要过滤灭菌的试剂按照附录F配制成溶液，超净工作台上，用无菌的过滤器(滤膜孔径为0.22微米)进行过滤灭菌，滤液用1.5毫升~50.0毫升无菌离心管进行分装，可现配现用，也可配好后密封冻存。冻存前注明试剂名称、浓度及灭菌日期后在-20℃保存，冻存时每管试剂体积不超过最大容量80%；冻存试剂解冻使用后若有剩余试剂不可再次冷冻保存和使用。

7.1.6 标签及保存

母液配好后盛装容器外表面应贴好标签，注明名称、浓度、配制日期，保存方法参照附录E和附录F。

7.2 培养基配制

7.2.1 配制前准备

使用前应先检查各种母液及试剂是否符合要求，对于不符合要求的母液或试剂应重新配制或购买。根据培养材料及培养目的选择合适的基本培养基和植物生长调节剂种类并准备好各类容器、蒸馏水(或纯净水)、琼脂(或其他类型凝固剂)、蔗糖(或白砂糖)等。

7.2.2 培养基配制

以配制1升培养基为例。按比例加入各种母液并充分搅拌均匀，再加入蔗糖或白砂糖(一般为30克/升，具体用量根据培养的目标而定)，加蒸馏水至300毫升~400毫升(所需配制培养基体积的30%~40%)，搅拌，使糖充分溶解。另取容器，加入蒸馏水400毫升~500毫升(所需配制培养基体积的40%~50%)，再加入琼脂6克~9克，加热搅拌使琼脂溶化(如更换琼脂生产公司及批次，在培养基配制前须取少量琼脂测试适用量)。将配制好的各种母液混合液加入到融化的琼脂中，搅拌均匀，加蒸馏水定容，用1 mol/L的HCl或1 mol/L的NaOH调节培养基pH至要求值(一般为pH 5.5~pH 6.0)，然后根据不同需要定量分装，培养基厚度以高于瓶底1.0厘米~1.5厘米为宜，分装时培养基不得沾在培养瓶口周围及外壁。分装好后即盖上瓶盖，密封瓶盖旋紧后稍微回旋拧松瓶盖；有透气孔瓶盖无需回旋；也可用组培专用封口膜封口，用棉线或橡皮筋扎紧瓶口。

7.2.3 培养基、接种器械灭菌及存放

培养基封口后，0.1 MPa~0.11 MPa、121℃环境下，灭菌18分钟~20分钟，灭菌完成后待灭菌锅内温度低于90℃时，将培养基及时取出，拧紧瓶盖；若用组培专用封口膜封口则无需拧紧。灭菌后的培养基应注明编号及配制日期，储存于培养基储藏室内。为检验灭菌效果，宜将配制好的培养基放置3天~5天后再用，但存储时间不应超过15天。培养基当天配制当天灭菌。接种器械用纸或布包好后，在1.1 kg·cm⁻²~1.2 kg·cm⁻²、121℃条件下，灭菌30分钟~40分钟。接种器械当天灭菌当天使用。

7.2.4 特殊培养基配制

液体培养基加好母液及所需试剂后直接定容，然后调整培养基pH，后续步骤与固体培养基配制同。对于使用无需加热凝固剂的培养基，配制方法与液体培养基配制同，调整pH后，加入凝固剂，在分装过程中充分搅拌均匀，后续步骤与固体培养基配制同。添加不耐高温植物生长调节剂的培养基配制时，将

植物生长调节剂经过滤灭菌或母液解冻，然后在超净工作台上加到经高温灭菌后温度降至50℃～55℃的培养基中，充分混匀、分装，封口、冷却并存储。

7.3 母本材料引进及保存

从境外或国内跨区域引进植物材料，应有原产地有效检疫证明，并按植物检疫隔离观察要求种植在隔离区内，检疫合格后，可投入组培生产，也可根据母本材料生长特性在温室内培养或露地栽培保存；以种子形式引进的新品种，按照所附的保藏和播种育苗技术说明处理，若无说明可低温干燥保存，待气候条件适宜即可进行播种；珍稀植物种子或种子数量较少时可将种子直接通过组织培养方式进行快繁、保存。保护品种商业生产需获得品种权授权。

7.4 外植体采集

外植体选择在不同植物生长旺盛季节进行采集，以茎、叶、芽等为外植体时，宜在晴天午后或植物表面露水干后采集。

7.5 外植体消毒

外植体清洗干净表面附着物后，切至适合尺寸（一般2厘米～3厘米），种子剥去硬质种皮。预处理好的外植体，用洗洁精等中性洗涤剂加少许吐温溶液浸泡并振荡清洗10分钟～20分钟，然后在自来水下流水冲洗干净表面残留洗涤液。将冲洗干净的外植体在准备好的超净台上移至无菌锥形瓶中，倒入体积比70%～75%酒精溶液并没过外植体表面0.5厘米～1.0厘米，轻摇锥形瓶以除去植物材料表面气泡，30秒～60秒后将酒精倒出，然后用有效氯浓度0.25%～2.00%的次氯酸钠溶液浸泡经酒精溶液处理的植物材料，浸泡时间一般为10分钟～30分钟（次氯酸钠浓度及浸泡时间根据材料类型而异），期间不断轻摇锥形瓶以除去外植体表面气泡。消毒结束后，倒出次氯酸钠溶液，植物材料用无菌水清洗材料3遍～5遍，待用。酒精消毒后，可用质量比0.1%氯化汞溶液代替次氯酸钠溶液进行表面消毒，时间一般为5分钟～15分钟，然后清洗，待用，氯化汞废液按NY/T 2306处理。

7.6 初代培养

在超净工作台上，将经消毒的外植体取出放在接种盘内或无菌纸上，稍晾干表面水分，1瓶接种1个外植体接种在培养瓶内。1套工具1次取3个～5个植物材料，同一批接种完毕后更换接种工具、接种盘或无菌纸。接种完成后统一贴上标签，注明植物品种、接种日期、接种培养基等信息，放在托盘内，送入培养室进行培养。培养室的温度一般控制在25℃±5℃，同一培养层内底部光照强度 $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ～ $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，光照时间每天10小时～16小时，每天早上、中午、下午各检查一次培养室照明、温度情况并做好记录。

7.7 继代培养

经诱导形成的不定芽、愈伤组织等材料转接到增殖培养基中进行培养，培养周期一般为3周～8周，培养代数宜控制在30代以内。

7.8 分化培养

愈伤组织通过调整培养基及培养环境环境，分化出不定芽、不定根或体细胞胚。

7.9 生根培养

从增殖培养或分化培养的符合生根要求的不定芽或体细胞配，分成单株接种在生根培养基中进行生根培养。培养周期一般为3周～8周。幼苗基部长出3条～5条1厘米～2厘米长的不定根即可进行炼苗移栽。

增殖培养形成的芽个体较小时，可将接种到壮苗培养基中进行培养，促进芽长高、长壮。培养周期一般为3周~8周。

8 无菌接种操作及注意

8.1 接种前准备

准备好体积比70%~75%酒精溶液、无菌脱脂棉或纱布、接种器械等。打开超净工作台(或洁净无菌接种室)电源，开启超净工作台的风机，若使用电热灭菌器，同时打开电热灭菌器电源。用体积比70%~75%酒精溶液擦拭超净工作台内壁，打开超净工作台、接种室、更衣室及缓冲室的紫外灯30分钟；紫外灯关闭30分钟后方可进入室内。

8.2 接种人员除尘、消毒

接种人员洗净双手，在更衣室更换接种服，戴上帽、口罩，并换穿拖鞋等，经风淋除尘后方可进入接种室，上超净工作台后用70%~75%的酒精溶液擦拭手部(包括手腕)，然后在超净工作台内吹干双手。

8.3 培养基和母瓶的准备

进入接种室前，仔细检查培养基和母瓶，若发现污染立即剔除，按6.1灭菌、清洗。接种材料和培养基通过传递窗进入接种室，用体积比70%~75%酒精溶液喷雾培养基和母瓶表面，放于超净工作台旁备用。

8.4 接种盘(纸)的取放

从布(纸)包里取出接种盘(纸)，接种盘口朝下放在超净工作台面上，注意手不能接触接种盘的边缘，盘口与超净工作台桌面接触的接种盘不可用，与超净工作台接触的接种纸也不可用。

8.5 接种器械灭菌

在超净工作台上，接种器械 $250\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌3分钟以上，取出充分冷却待用，一台超净台一般配备3套接种器械，交替灭菌、冷却和接种。

8.6 接种及封口

无菌接种盘(纸)放置在超净工作台内离台面边缘10厘米~20厘米。打开母瓶瓶盖，瓶口略倾斜向超净工作台内壁，取出无菌苗放于无菌接种盘内或无菌纸上面；一次取苗不宜太多，以免风干。切苗过程中，手术刀和镊子应在接种盘(纸)后斜上方操作；切苗过程中产生的废弃物可放置在接种盘内的一侧，不能散落在工作台面。材料切割好后，打开新培养基瓶盖，瓶盖口朝上或封口膜口朝下放置在无菌接种盘内，放置瓶盖或封口膜的接种盘一般接种3瓶~5瓶后需要更换；组培苗在瓶内应分布均匀、整齐；接种深度以组培苗不倒为宜；组培苗基部不应与瓶底接触；接苗时镊子及苗均不应碰到培养瓶瓶口或外壁；接苗完成后及时盖紧瓶盖或用封口膜封口并扎紧，接种器械用70%~75%酒精溶液清洗后，按8.5灭菌，循环使用。

8.7 记录及培养

将植物品种、培养基、接种人及接种日期等信息标示到培养瓶上。从传递窗传出接种室，送至培养室进行培养培养，培养室光照强度、培养温度及管理同7.6。

8.8 关机

熄灭酒精灯或关闭电热灭菌器电源。清理干净超净工作台面，并用体积比70%~75%酒精溶液擦拭超净工作台面，台面上物品摆放整齐，关闭超净工作台电源。接种过程中所产生的废弃物应交由专人处理。

8.9 接种人员的注意事项

接种人员应注意个人卫生，勤剪指甲。接种过程中手上无佩戴物，接种人员的头、胳膊肘以上肢体，不应探入超净工作台内；带好口罩、帽子（长发不外露），不应攀谈。

8.10 接种操作的安全管理

8.10.1 灭菌器械注意

酒精灯点燃时应远离盛酒精溶液的容器；器械灼烧后不应立即插入盛有酒精溶液的容器中；酒精灯点燃后，不可用酒精溶液喷洒超净工作台。接种人员手上酒精溶液未干时，不应点燃酒精灯或靠近点燃的酒精灯。

8.10.2 险情应急处理

一旦发生火情，应立刻切断灭菌器械、工作台及接种室电源，火源小时，用水浸透的布覆盖灭火；若火势较大，用灭火器扑灭；更大火情应立即疏散人员并报警。

9 组培苗移栽和穴盘苗生产

9.1 炼苗

将符合移栽要求的组培瓶苗放置在有散射光($60\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\sim 100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)的温室中，温度宜控制在 $15\ ^\circ\text{C}\sim 35\ ^\circ\text{C}$ ，培养3天以上。

9.2 移栽

移栽基质用广谱性杀菌剂溶液处理。轻轻取出组培苗，洗净表面培养基，置于阴凉处。将表面稍干的组培苗栽于育苗容器中，栽入后稍压紧，以基质不压苗芯、幼苗不倒为宜，标记好品种、移栽日期。

9.3 管理

移栽2周~4周内用薄膜小拱棚保湿，相对湿度控制在80%~95%，当第一片新叶完全张开后，逐渐降低薄膜小拱棚内湿度，4周~6周后完全打开小拱棚，大棚相对湿度保持在60%~80%。移栽4周内，薄膜拱棚内的光照强度控制在 $60\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\sim 100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ，之后逐渐增大光照强度。室外光照强度大于 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，应进行遮光，温度高于 $35\ ^\circ\text{C}$ 时应降温。

9.4 肥水管理

根据不同植物品种生长特性进行水肥管理。

9.5 病虫害防治

移栽4周后，每周喷施75%百菌清可湿性粉剂或80%多菌灵可湿性粉剂1000倍~1250倍液1次；移栽8周后，追施2.8%阿维菌素乳剂2000倍液防治线虫。温室内宜均匀悬挂25厘米×40厘米的黄色诱虫板，悬挂高度应高于穴盘苗15厘米，密度以每20平方米悬挂1张为宜。温室育苗常见病虫害及防治方法参见附录H。

10 包装、标签、运输

10.1 包装

达到出圃标准的种苗包装应符合客户要求，如无特殊要求，可用泡沫箱或纸板箱进行包装，做好保温、防水、防压和防震。

10.2 标签

每箱应贴上标签，注明品种、等级、规格、数量、产地、出苗日期、目的地、联系人、注意事项等。包装运输图示标志应符合GB/T 191要求。

10.3 运输

种苗运输过程中应避免倒置、挤压、日晒、雨淋，温度保持10℃~25℃，相对湿度保持60%~90%为宜，出圃后3天内定植。

附 录 A
(资料性)
植物组培工厂所需仪器和设备

表A.1给出了植物组培工厂所需仪器和设备。

表A.1 植物组培工厂所需仪器和设备

仪器设备名称	规格型号	用途说明
灭菌设备、器械		
立式高压灭菌锅	—	培养基灭菌
卧式高压蒸汽灭菌锅	—	培养基灭菌
电热干燥箱	—	玻璃器皿灭菌、干燥
紫外灯	—	房间消毒
臭氧机	—	房间消毒
过滤灭菌器	过滤器滤膜孔径 0.22 μm	灭菌不能高温灭菌的试剂
接种设备及器械		
超净工作台	水平或垂直送风；100 级洁净度	接种，过滤灭菌等
电热灭菌器	灭菌温度可调	接种器械灭菌
枪状镊	25 cm~30 cm，不锈钢材质	接种用
石英玻璃珠	Φ2.0 mm~2.5 mm	电热灭菌器导热、保温
手术刀柄	不锈钢材质	接种用

表 A.1 植物组培工厂所需仪器和设备（续）

仪器设备名称	规格型号	用途说明
手术刀片	—	植物材料切割
手术剪	—	材料剪切
接种器械搁置架	不锈钢材质	搁置、冷却热的、已灭菌的接种器械
接种盘	不锈钢材质	盛装，切割植物材料
培养设备和容器		
光照培养箱	光照强度、光照时间可调，温度 5℃～50℃可调；温度变幅±1℃	组培试验用
组培用托盘	可高温灭菌	放置培养瓶
空调	—	培养室温度控制
培养架	喷塑角钢，每层 2 支灯管	放置培养瓶，植物培养
晾瓶架	喷塑角钢	洗净培养瓶晾干
培养瓶	玻璃、高透塑料容器	组培用瓶
电子分析天平	最小分度值 0.1 mg	精确称量微量元素及生长调节物质等
电子精密天平	最小分度值 0.1 g	称量大量元素及蔗糖、琼脂等用量大的物品
蠕动泵及分配器	—	培养基分装
小型去离子水设备	—	母液配置用水

表 A.1 植物组培工厂所需仪器和设备（续）

仪器设备名称	规格型号	用途说明
磁力搅拌器	—	配置母液、培养基
标准 pH 计	—	培养基 pH 测试
照度计	—	测量培养室光照强度
冰箱	—	药品、母液存储
微波炉	—	溶液加热
体视显微镜	—	植物茎尖剥离
显微照相系统	可拍照体式显微镜；配套照相设备分辨率 1 000 万像素及以上； 配套拍摄软件及高性能电脑	植物材料显微拍照
玻璃温度计	测量范围 0~100 ℃	测量培养室温度
微量移液器	量取范围 0~1 000 μ l/0~5 000 μ l	配置培养基时量取用量少的母液
移液架	—	搁置微量移液器
单层推车	面板尺寸大于组培框	放置组培专用托盘、用于晾干、运送培养瓶
双层推车	不锈钢材质，台面尺寸大于组培框	接种、配制培养基时放置培养瓶
实验台	板式结构，耐腐蚀理化处理板面，带水池	配置母液、培养基
称量台	板式结构，坚固耐压、不变形，耐腐蚀理化处理板面	放置天平
药品柜	—	放置试剂、药品

表 A.1 植物组培工厂所需仪器和设备（续）

仪器设备名称	规格型号	用途说明
玻璃器皿柜	—	放置玻璃器皿
试验椅	带靠背，可升降	接种人员用
办公设备		
电脑	—	办公记录
电话机	—	对外联系
传真机	—	对外联系
打印机	—	文件打印
复印机	—	文件复印
办公桌、椅	—	办公人员用
消防设备		
消防栓	—	消防安全
灭火器	—	消防安全
报警装置	—	消防安全
应急设备		
备用电源	—	应急供电
应急灯	—	应急照明

附 录 B
(资料性)
植物组培工厂所需器皿及器材

表B.1给出了植物组培工厂所需器皿及器材。

表B.1 植物组培工厂所需器皿及器材

器皿名称	规 格	用途说明
烧杯	50 ml/100 ml/250 ml/500 ml/1 000 ml/2 000 ml	配母液、培养基用
试剂瓶	250 ml/500 ml/1 000 ml/2 000 ml	存储母液用
量筒	10 ml/25 ml/50 ml/100 ml/250 ml/500 ml/1 000 ml	配培养基用
容量瓶	100 ml/250 ml/500 ml/1 000 ml/2 000 ml	配母液用
玻璃棒	—	配母液、培养基用
棕色滴瓶	—	配培养基用
塑料洗瓶	—	配母液、培养基用
塑料烧杯	500 ml/1 000 ml/2 000 ml/5 000 ml	配培养基用
电饭煲	—	配培养基用
电水壶	—	配培养基用
塑料筐	—	组培室生产周转
塑料大盆	—	洗瓶用
称量纸	75 mm×75 mm; 100 mm×100 mm; 150 mm×150 mm	配母液及培养基用
pH 试纸	pH 5.4~pH 7.0	配培养基用

表 B.1 植物组培工厂所需器皿及器材（续）

器皿名称	规格	用途说明
定性滤纸	Φ90 mm，中速，100 张/包。	外植体接种用
试管刷	各式规格	洗瓶用
乳胶手套	—	洗瓶用
棉布	—	包接种盘用
工作服	大号/中号/小号	洁净区人员用
接种三防工作服	分体式，全套三件	接种用
实验帽	—	洁净区人员用
凉拖鞋	—	洁净区人员用
棉拖鞋	—	洁净区人员用
垃圾箱	—	个人使用垃圾收集
打码机	—	编码打码用
标签纸	—	编码打码用
定时器	—	记录时间
一次性手套	PE 塑料薄膜手套	接种用
一次性口罩	—	接种用
一次性鞋套	—	临时人员出入用
医用脱脂棉	—	接种人员用
垃圾袋	—	接种人员用

表 B.1 植物组培工厂所需器皿及器材（续）

器皿名称	规格	用途说明
记录本	—	记录用
中性笔	—	记录用

附 录 C
(资料性)
植物组培常用试剂

表C.1给出了植物组培常用试剂。

表C.1 植物组培常用试剂

药品中文名称	英文名称	分子式	分子量	级别	保存方法
无机盐类—大量元素					
硝酸铵	Ammoniumnitrate	NH_4NO_3	80.05	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
硝酸钾	Potassium nitrate	KNO_3	101.11	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
二水合氯化钙	Calcium chloride dihydrate	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	147.02	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
无水氯化钙	Calcium chloride	CaCl_2	111.02	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
七水合硫酸镁	Magnesium sulfate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246.47	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
磷酸二氢钾	potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4	136.09	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
硫酸铵	ammonium sulfate	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132.13	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
一水合磷酸二氢钠	Sodium dihydrogen phosphate monohydrate	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	138.00	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
磷酸二氢钠	sodium dihydrogen phosphate anhydrous	NaH_2PO_4	120.05	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
四水合硝酸钙	Calcium nitrate tetrahydrate	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236.15	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
七水合硝酸钙	Calcium nitrate heptahydrate	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	290.20	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
氯化钾	Potassium chloride	KCl	74.55	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
硫酸钠	Sodium sulfate	Na_2SO_4	142.04	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好

表 C.1 植物组培常用试剂 (续)

药品中文名称	英文名称	分子式	分子量	级别	保存方法
无机盐类—微量元素					
四水合硫酸锰	Manganese(II) sulfate tetrahydrate	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	223.01	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
一水合硫酸锰	Manganese sulfate monohydrate	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	169.02	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
七水合硫酸锌	Zinc sulfate heptahydrate	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287.55	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
硼酸	Boric Acid	H_3BO_3	61.83	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
碘化钾	Potassium iodide	KI	166.01	AR	室温、干燥、避光、通风良好
二水合钼酸钠	Sodium molybdate dihydrate	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	241.95	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
五水合硫酸铜	Copper(II) sulfate pentahydrate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	249.68	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
六水合氯化钴	Cobalt(II) chloride hexahydrate	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	237.93	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
无机盐类—铁盐					
七水合硫酸亚铁	Iron(II) sulfate heptahydrate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278.03	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
硫酸铁	Iron(III) sulfate	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	399.88	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
乙二胺四乙酸二钠	Disodium ethylenediamine tetraacetic acid	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	372.25	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
有机物					
甘氨酸	Glycine	$\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$	75.07	BR 99.5 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
盐酸硫氨酸 HCl	Thiamine hydrochloride (VB1)	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}$	337.27	BR 99.6 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
盐酸吡哆醇	Pyridoxine hydrochloride (VB6)	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$	205.64	BR 99.7 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
烟酸	Nicotinic acid (VB5)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	123.11	BR 99.8 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
肌醇	Myo-inositol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	180.16	BR 99.9 %	室温、干燥、避直射光、通风良好

表 C.1 植物组培常用试剂 (续)

药品中文名称	英文名称	分子式	分子量	级别	保存方法
水解酪蛋白	Casein hydrolysate acid(CH)	—	—	BR	冷藏(4℃), 避光
水解乳蛋白	Lactalbumin hydrolysate (LH)	—	—	BR	冷藏(4℃), 避光
蔗糖	Sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342.30	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
葡萄糖	Glucose	$C_6H_{12}O_6$	180.00	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好
琼脂	Agar	$(C_{12}H_{18}O_5)_n$	凝结强度 $1\ 200\ g\cdot cm^{-2}\sim 1\ 300\ g\cdot cm^{-2}$		室温、干燥、避直射光、通风良好
植物生长调节剂					
6-苄基嘌呤	6-Benzyl aminopurine (6-BA)	$C_{12}H_{11}N_5$	225.25	BR	室温、干燥、避直射光、通风良好
6-糖氨基嘌呤(激动素)	6-Furfuryl aminopurine (Kinetin, KT)	$C_{10}H_9N_5O$	215.21	BR	室温、干燥、避直射光、通风良好
玉米素	Zeatin(ZT)	$C_{10}H_{13}N_5O$	219.24	BR 99 %	冷冻(-20℃), 避光
噻苯隆	Thidiazauron(TDZ)	$C_9H_8N_4OS$	220.32	BR 99 %	冷藏(4℃), 避光
N6-异戊烯基腺嘌呤	N6-(2-Isopentenyl) adenine 6-(γ, γ-Dimethylallylamino) purine (2iP)	$C_{10}H_{13}N_5$	203.24	BR	冷藏(4℃), 避光
α-萘乙酸	1-Naphthylacetic acid (NAA)	$C_{12}H_{10}O_2$	186.21	BR	室温、干燥、避直射光、通风良好
吲哚乙酸	Indole-3-acetic acid (IAA)	$C_{10}H_9NO_2$	175.19	BR	冷冻(-20℃), 避光
吲哚丁酸	Indole-3-butyric acid (IBA)	$C_{12}H_{13}NO_2$	203.23	BR	冷藏(4℃), 避光
2, 4-二氯苯氧乙酸	2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid(2, 4-D)	$C_8H_6Cl_2O_3$	221.04	BR	室温、干燥、避直射光、通风良好
腺嘌呤	Adenine(A)	$C_5H_5N_5$	135.13	BR	室温、干燥、避直射光、通风良好
赤霉素	Gibberellin acid(GA)	$C_{19}H_{22}O_6$	346.38	BR 99 %	冷藏(4℃), 避光

表 C.1 植物组培常用试剂（续）

药品中文名称	英文名称	分子式	分子量	级别	保存方法
乙烯利	Ethrel (Et)	C ₂ H ₆ ClO ₃ P	144.50	BR 95 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
脱落酸	Absciscic acid (ABA)	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264.32	BR	冷冻(-20 ℃)，避光
消毒剂					
乙醇	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.07	CP 95 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
新洁尔灭溶液 (苯扎溴铵溶液)	Bromo geramine	C ₂₁ H ₃₈ BrN	384.44	5 %	室温、干燥、避光、通风良好
次氯酸钠溶液	Sodium hypochlorite	NaClO	74.44	AR; 5.2 %	室温、干燥、避直射光、通风良好
氯化汞	Mercuric chloride	HgCl ₂	271.5	AR	室温、干燥、避光、通风良好
吐温-20	Tween-20	C ₁₈ H ₃₄ O ₆ · (C ₂ H ₄ O) _n	—	CP	冷藏(4 ℃)，避光
洗涤剂					
洗衣粉	—	—	—	中性	室温、干燥、避直射光、通风良好
洗洁精	—	—	—	中性	室温、干燥、避直射光、通风良好
其他					
活性炭	Activated carbon	C	12	AR; 粉状	室温、干燥、避直射光、通风良好
盐酸	Hydrochloric acid	HCl	36.46	AR	低温、干燥、避直射光、通风良好
氢氧化钠	Sodium hydroxide	NaOH	40.01	AR	室温、干燥、避直射光、通风良好

附 录 D
(资料性)
植物组织培养常用基本培养基成分

表D. 1给出了植物组织培养常用基本培养基成分。

表D. 1 植物组织培养常用基本培养基成分 (mg/L)

培养基成分	培养基种类						
	Murashige & Skoog (MS) (1962)	Gamborg (B5) (1968)	朱至清等 (N6) (1974)	Linsmaier & Skoog (LS) (1965)	Woody plant medium (WPM) (1980)	White (1963)	曹孜义等 (GS) (1986)
大量元素							
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	—	134	463	—	—	—	67
NH_4NO_3	1 650	—	—	1 650	400	—	—
KNO_3	1 900	2 500	2 830	1 900	900	80	1 250
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	166	400	96	—	150
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	185	370	370	720	125
KH_2PO_4	170	—	400	170	170	—	—
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	—	150	—	—	—	—	—
Na_2HPO_4	—	—	—	—	—	16. 5	175
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	—	—	—	—	556	—	—
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	—	—	—	—	—	300	—
KCl	—	—	—	—	—	65	—
Na_2SO_4	—	—	—	—	—	200	—
微量元素							
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22. 3	10	4. 4	22. 3	22. 5	7	—
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8. 6	2	3. 8	8. 6	8. 6	3	1
H_3BO_3	6. 2	3	1. 6	6. 2	6. 2	1. 5	1. 5

表 D.1 植物组织培养长阳基本培养基成分(mg/L) (续)

培养基成分	培养基种类						
	Murashige & Skoog (MS) (1962)	Gamborg (B5) (1968)	朱至清等 (N6) (1974)	Linsmaier & Skoog (LS) (1965)	Woody plant medium (WPM) (1980)	White (1963)	曹孜义等 (GS) (1986)
KI	0.83	0.75	0.8	0.83	—	0.75	0.375
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25	—	0.25	0.25	—	—
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	—	0.025	0.25	—	0.0125
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	—	0.025	—	—	0.0125
有机成分							
甘氨酸	2.0	—	2.0	—	2.0	3.0	—
盐酸硫胺素 (VB1)	0.1	10.0	1.0	0.4	1.0	0.1	10.0
盐酸吡哆酸 (VB6)	0.5	1.0	0.5	—	0.5	0.1	1.0
烟酸 (VB5)	0.5	1.0	0.5	—	0.5	0.5	1.0
肌醇	100	100	—	100	100	100	25
铁盐							
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	27.8	27.8	27.8	27.8	—	13.9
Na_2EDTA	37.3	37.3	37.3	37.3	37.3	—	18.65
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	—	—	—	—	—	2.5	—
糖源							
蔗糖	30 000	20 000	50 000	30 000	30 000	20 000	15 000
pH							
	5.8	5.5	5.8	5.8	5.7	5.5	5.8

附 录 E
(资料性)
MS 培养基母液配制表

MS培养基母液配制见表E. 1。

表E. 1 MS 培养基母液配制表

母液种类	试剂名称	标准重量 (mg/L)	扩大倍数	称取重量 (mg/L)	保存方式
大量元素	KNO ₃	1 900	20×	38 000	冷藏(4 ℃)，避光保存
	NH ₄ NO ₃	1 650		33 000	
	KH ₂ PO ₄	170		3 400	
	MgSO ₄ • 7H ₂ O	370		7 400	
	CaCl ₂ • 2H ₂ O	440		8 800	
微量元素	KI	0. 83	200×	166	冷藏(4 ℃)，避光保存
	ZnSO ₄ • 7H ₂ O	8. 6		1 720	
	MnSO ₄ • 4H ₂ O	22. 3		4 460	
	H ₃ BO ₃	6. 2		1 240	
	Na ₂ MoO ₂ • 2H ₂ O	0. 25		50	
	CoCl ₂ • 6H ₂ O	0. 025		5	
	CuSO ₄ • 5H ₂ O	0. 025		5	
有机成分	VB1	0. 1	100×	10	冷藏(4 ℃)，避光保存
	VB5	0. 5		50	
	VB6	0. 5		50	
	Gly	2		200	
	Myo-inositol	100		10 000	
铁盐	FeSO ₄ • 7H ₂ O	27. 8	100×	2 780	冷藏(4 ℃)，避光保存
	Na ₂ . EDTA	37. 3		3 730	

附 录 F

(资料性)

植物组培常用植物生长调节剂母液配制

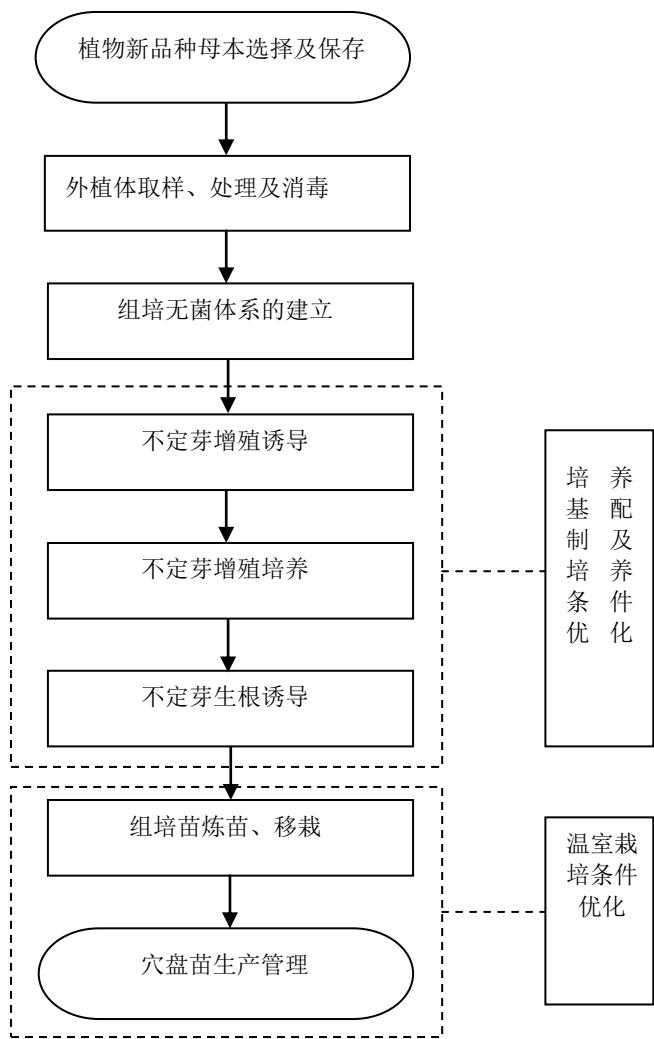
植物组培常用植物生长调节剂母液配制见表F.1。

表F.1 植物组培常用植物生长调节剂母液配制

类别	名称	配制方法	存储方式	常用浓度 (mg/L)
细胞分裂素	6-苄基嘌呤 (6-BA)	先用适量 0.1 M 的盐酸(HCl)充分溶解, 然后加入去离子水定容, 常用母液浓度为 0.1 mg/ml、0.5 mg/ml、1.0 mg/ml	冷藏(4 ℃), 密封, 避光保存	0.1~3.0
	激动素(KT)			0.1~3.0
	玉米素(ZT) ^a			0.05~1.0
	腺嘌呤(Adenine)			0.1~3.0
	异戊烯基腺嘌呤(2iP) ^a		过滤灭菌、现配现用或过滤后小包装-20 ℃保存	0.1~2.0
	噻苯隆(TDZ) ^a	0.05~0.5		
生长素	吲哚乙酸(IAA) ^a	先用适量 95 %酒精或无水乙醇充分溶解, 然后加入去离子水定容, 常用母液浓度为 0.1 mg/ml、0.5 mg/ml、1.0 mg/ml	冷藏(4 ℃), 密封, 避光保存	0.1~1.0
	吲哚丁酸 IBA			0.1~1.0
	萘乙酸(NAA)			0.1~1.0
	2, 4-二氯苯氧乙酸(2, 4-D)			0.1~3.0
赤霉素	赤霉素(GA) ^a	先用适量 95 %酒精或无水乙醇充分溶解, 然后加入去离子水定容, 常用母液浓度为 0.1 mg/ml	过滤灭菌、现配现用或过滤后小包装-20 ℃保存	0.01~0.5
脱落酸	脱落酸(ABA) ^a	先用适量 95 %酒精或无水乙醇充分溶解, 然后加入去离子水定容, 常用母液浓度为 0.1 mg/ml、0.5 mg/ml、1.0 mg/ml		0.1~3.0
^a 不应经过高温灭菌。				

附 录 G
(资料性)
植物种苗组培快繁流程图

图G.1 为植物种苗组培快繁流程图。



图G.1 植物种苗组培快繁流程图

附 录 H

(资料性)

温室育苗常见病虫害及防治

H.1 基腐病

H.1.1 症状表现

基腐病症状如图 H.1 所示, 主要出现在组培苗驯化期, 在近土表的幼苗茎基部叶鞘呈水浸状, 茎基部或根颈部变为褐色至红褐色缢缩、腐烂, 后期有恶臭味, 温度在 15℃ 以上时易发病。



图 H.1 基腐病症状

H.1.2 防治措施

主要措施包括:

- a) 选择植株健壮的组培苗;
- b) 移栽基质使用前用 0.1% 高锰酸钾水溶液进行消毒;
- c) 合理安排种植密度, 定植时避免栽苗过深;
- d) 合理控制驯化湿度, 发病时要适当减少湿度, 加强通风;
- e) 发病时可以用 3% 甲霜 噁霉灵 800 倍液进行灌根。

H.2 灰霉病

H.2.1 症状表现

灰霉病发病症状如图 H.2 所示, 在 11 月~次年 4 月均会出现, 最早在叶尖出现灰白色霉层, 逐渐扩展至整个植株, 浸染部位呈水渍状, 最后植株腐烂死亡。低温高湿及连续阴雨时易发病。



图 H. 2 灰霉病症状

H. 2. 2 防治措施

主要措施包括：

- a) 合理控制温室湿度，发病时温室湿度控制在 85 % 以下，并加强温室通风；
- b) 发病初期尽可能将温室温度提高到 25 ℃ 以上，同时增强温室内光照，减缓发病速度；
- c) 发病时用百菌清烟剂熏棚，晴天时可用 65 % 甲霜灵可湿性粉剂 1 000 倍液防治。

H. 3 种蝇(地蛆)

H. 3. 1 症状表现

种蝇主要危害是其幼虫蛀食植株地下部分，导致腐烂或枯死，在 3 月～9 月都有发生，危害症状如图 H. 3 所示。



图 H. 3 种蝇危害植物表现症状

H. 3. 2 防治措施

主要措施包括：

- a) 控制基质湿度，浇水要见干浇水，基质长期湿润，易引来种蝇产卵；
- b) 温室内每 10 平方米～15 平方米挂黄色诱虫板诱杀成虫；
- c) 用 50 % 辛硫磷乳剂 800 倍液灌根杀幼虫；
- d) 成虫较多时用 2.5 % 溴氰菊酯 3 000 倍液喷杀。

H. 4 红蜘蛛

H. 4. 1 症状表现

红蜘蛛危害症状如图H. 4所示，症状主要聚集在叶、茎等部位，红蜘蛛通过吸取植物的茎叶汁液，使叶表面呈现密集苍白的小斑点，严重时植株发生黄叶、焦叶、卷叶、落叶和死亡等现象，一般情况下5月中旬达到盛发期，7月~8月是全年的发生高峰期，天气炎热干旱，尤其在连日晴热无雨的情况下，发病严重。



图 H. 4 红蜘蛛危害植物表现症状

H. 4. 2 防治措施

主要措施包括：

- a) 在高温干燥时，给植株喷水，降低温室温度，增加温室湿度，降低红蜘蛛的繁殖速度；
- b) 虫害发生时用 1.8 %阿维菌素 1 000 倍液喷杀。