

DB46

海南省地方标准

DB 46/ T ***—202*

油棕组织培养技术规程

Technical Regulations for Oil Palm Tissue Culture

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

(本稿完成日期：2019年12月12日)

— XX — XX 发布

XXXX — XX — XX 实施

海南省市场监督管理局 发布

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有可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由海南省林业局提出并归口。

本标准起草单位：中国热带农业科学院橡胶研究所。

本标准主要起草人：潘登浪、李炜芳、邹积鑫、曾精、曾宪海、林位夫、谢贵水、刘钊、李哲。

本标准为首次发布。

油棕组织培养技术规程

1 范围

本标准规定了油棕 (*Elaeis guineensis* Jacq.) 组织培养育苗技术的术语和定义、组织培养操作、苗圃育苗、苗木档案等技术要求。

本标准适用于海南省范围内油棕无性系组培苗的繁育。

2 规范性引用文件

下列文件对于本规程的应用必不可少。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适合本文件。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。

- LY/T 1000 容器育苗技术
- LY/T 1882 林木组织培养育苗技术规程
- LY/T 2280 林木种苗生产经营档案
- NY/T 2306 花卉种苗组培快繁技术规程
- LY/T 2428 杉木组织培养育苗技术规程
- DB46/T 316 油棕种苗繁育技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

侏儒株 juvenile form

叶片发育生长迟缓，持续无羽裂叶片出现的植株（见附录 A 中图 A1）。

3.2

直立株 upright form

叶片与茎干夹角小，不弯曲，呈直立状的植株（见附录 A 中图 A2）。

3.3

宽节株 wide internodes

小叶节间距离显著宽于相同龄正常植株的植株（见附录 A 中图 A3）。

3.4

羽叶 leather leaf

裂片多数，革质，呈线状披针形，深裂至中脉的羽状复叶。

4 组培工厂要求

参照 NY/T 2306 规定进行。

5 组织培养操作

5.1 外植体

5.1.1 母株选择

选择油棕优良品种中农艺性状优良、生长健壮、无病虫害的优异成龄单株或具有特异性状种质的成龄单株为母株，并逐株编号。

5.1.2 外植体采集

一周内无雨时可采集外植体。取材前，将母株生长点附件一侧的叶片铲掉，用铲刀将生长点上方的油棕芯叶整块取下，剥除其外侧叶柄，用 75% 的酒精对芯叶块表面进行消毒处理，待芯叶块表面干燥之后装入干燥封闭的容器内，带回实验室备用。

5.1.3 外植体无菌处理

用湿布擦洗芯叶块表面污垢，接着用 75% 的酒精擦洗其外部及两端切口，然后将心叶块置于超净工作台上，再用 75% 酒精擦洗 2min 后，剥去外层，依照此方法层层消毒，最后选留心叶块中较嫩的心叶块作为外植体。用刀将心叶块切分成 5 cm~6 cm 的小段并装入无菌组培瓶中备用。

5.2 培养基

5.2.1 培养基类别

培养基分为愈伤组织诱导培养基、体细胞胚诱导培养基、次生胚诱导与增殖培养基、芽诱导培养基、生根培养基，配方见附录 B。

5.2.2 培养基配制

培养基配制及其灭菌参照 LY/T 1882 规定进行。

5.3 接种

包括接种前准备和接种操作，具体要求参照 LY/2428。

5.4 培养过程

5.4.1 愈伤组织诱导培养

5.4.1.1 外植体接种

将心叶块切成 1cm×2cm 的薄片，接种到装有愈伤组织诱导培养基的培养皿中，每皿接种 5 片。

5.4.1.2 愈伤组织诱导

接种后，每 60d 更换 1 次愈伤组织诱导培养基，出现愈伤组织后，继代培养 1~2 次，选瘤状淡黄色或米色愈伤组织转到体细胞胚诱导培养基进行体细胞胚诱导。

5.4.1.3 培养条件

置于室温 $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，黑暗条件下培养。

5.4.2 体细胞胚诱导培养

5.4.2.1 体细胞胚诱导接种

将质量较好的瘤状愈伤组织转接到装有体细胞胚诱导培养基中进行体胚诱导。

5.4.2.2 体细胞胚诱导

接种后，每 60d 继代培养 1 次，继代培养 3 次后，将诱导获得的胚转至次生胚团诱导培养基进行次生胚诱导。未长胚的愈伤组织废弃。

5.4.2.3 培养条件

接种后，置于 $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照强度 3000lx，每天光照时间 12h。

5.4.3 次生胚团诱导与增殖培养

5.4.3.1 次生胚诱导与增殖接种

选未萌芽的初生胚接种到次生胚诱导与增殖培养基，在 250ml 培养瓶中接种 5 团。

5.4.3.2 继代周期

体细胞胚接种到次生胚诱导培养基培养 60~90d 后可形成次生胚团，次生胚团切成 1cm 团块转到新鲜培养基继续增殖培养，之后每 30d 继代一次。培养条件同 5.4.2.3。

5.4.3.3 次生胚团质量要求

次生胚团乳白色或浅绿色，鲜亮；无褐化和水浸状；增殖倍数在 2 左右；无污染。

5.4.3.4 继代培养代数

次生胚团继代应控制在 24 代以内。

5.4.4 丛芽诱导培养

5.4.4.1 丛芽诱导接种

将次生胚团增殖中产生的类似芽组织团切离次生胚团，转到芽诱导培养基，在 250ml 培养瓶中接种 5 团。

5.4.4.2 丛芽诱导

每 60d 更换新鲜培养基 1 次，培养 180d 左右形成丛生芽，丛芽中多数单芽具 2~3 片叶。将超过 2 片叶片健壮的芽切离丛芽转到生根培养基诱导生根，较小较弱的芽继续转到丛芽诱导培养基进行壮苗或废弃。

培养条件同 5.4.2.3。

5.4.5 生根诱导

长势健壮的单个芽具 2 片以上深绿全展叶片时可进入生根培养。将超过 2 片叶片健壮的单芽转接到

生根培养基；250ml 组培瓶每瓶接种量为 5-7 个单芽或每支试管（规格 18mm×200mm）接种一个芽，培养 60d 左右可获得生根油棕组培苗；培养条件为温度 $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照强度 3000lx，每天光照 16h。

5.5 无菌苗筛选

无菌苗阶段有以下形态之一的无菌苗应作淘汰：

- 1) 全展叶新叶比老叶小或大小相似；
- 2) 叶片厚、肉质且硬脆；
- 3) 植株顶端开花；
- 4) 根肉质粗短且僵褐，无次级侧根；
- 5) 假茎弯卷植株。

5.6 组培室环境维护

5.6.1 检查统计

定期检查和统计各阶段培养材料，发现愈伤组织诱导、体细胞胚诱导、次生胚诱导及增殖、丛芽诱导阶段和生根过程中有培养材料污染，及时将其清理出培养室并对其进行蒸煮灭菌；根系发达，具 3 片叶片以上的苗受污染，可以送往苗圃清洗消毒后移栽炼苗。

5.6.1.1 环境清洁灭菌和设备维护

参照 LY/T 2428 规定进行。

6 苗圃育苗

6.1 苗圃地条件与设施

6.1.1 苗圃地条件

苗圃地条件要求参照 LY/T 1000。

6.1.2 设施

炼苗移栽阶段的圃区宜建有可控温控光的温室，温室内设移动苗床或可数字化调控温湿度的育苗箱，地面铺设园艺地布，道路水泥硬化，安装有微喷系统，排水良好。大苗培育阶段的圃区地面宜铺园艺地布，安装有喷灌或滴管系统，排水良好。

6.2 炼苗移栽

6.2.1 出瓶苗木规格

具 3 片全展叶，有二级侧根的生根苗适宜出瓶移栽。

6.2.2 容器

32 孔林木专用穴盘（54 cm×28 cm）或一次性塑料营养杯（8 cm×8 cm）。

6.2.3 基质

腐熟椰糠和表土按体积比 2:1 混合均匀，然后填满育苗容器。

6.2.4 栽植操作

将生根苗取出试管，用清水漂洗3次后，轻轻取出幼苗，将根部全部埋于基质中，基质埋至根与茎连接处上方大约1cm处，栽植时避免根部损伤和弯折，栽植后淋透定根水。

6.2.5 炼苗移栽管护

6.2.5.1 温度

温度宜在20~32℃。

6.2.5.2 光照

移栽60d内，在双层遮阳网（每层遮阳网遮阳率为75%）的棚内培育；60~90d可在单层遮阳网（遮阳网遮阳率为50%）的棚内培养；之后可在露天培育。

6.2.5.3 湿度

炼苗过程空气湿度由95%（0~15d）降至75%（15~30d）再降至自然湿度（>30d）。

6.2.5.4 水肥管理

栽植30d内，结合环境和叶面保湿喷水，维持基质湿度；一般无需施肥，如植株叶片发黄，可叶面喷施稀释2000倍的尿素和磷酸二氢钾。之后，结合基质补水，大约每2周淋稀释800~1000倍的复合肥（15-15-15）溶液1次。

6.2.5.5 病虫害防治

期间有叶疫病、苗枯病、炭疽病、红蜘蛛、鳞翅目幼虫、蝗虫、蜗牛等危害。要求定期查看苗木病虫害发生情况，及时发现和防治病害和虫害。防治方法见附录C。

6.3 大苗培育

6.3.1 容器

育苗容器规格为25cm×25cm，或根据育苗目标规格适当增减容器大小。

6.3.2 基质

表土或用炼苗移栽阶段育苗基质，配置方法见6.2.3。

6.3.3 移植

栽植前，用基质填满容器，并按90cm×90cm×90cm等边三角形排列方式，露天摆放成行。当总全展叶5-6片时，将小苗从穴盘中带土（尽量保持土球完整不散）取出，栽植于育苗容器中，栽植后淋透定根水。

6.3.4 管护

6.3.4.1 水肥管理

及时查看基质湿度，表面发白即补水保湿。每30~60d在容器内距离植株5cm处穴施复合肥50g~100g，施肥后淋水。施肥时应避免肥料粘在叶片上。

6.3.4.2 杂草控制

每月人工拔除育苗容器中杂草，拔草后及时淋水。

6.3.4.3 病虫害防治

防治方法参照 DB46/T 316 规定执行。

6.3.4.4 鼠害防控

油棕苗圃常有鼠害，宜采取生物防治法如在苗圃饲养猫或无毒蛇等进行防治。

6.4 大苗筛除

苗圃育苗阶段有以下形态之一的种苗应给予淘汰：

- 1) 全展叶新叶比老叶小或大小相相似，树冠呈扁平状；
- 2) 叶片厚、肉质且硬脆；
- 3) 叶片锯齿状、天然脱枝；
- 4) 植株顶端开花；
- 5) 剔除侏儒株、直立株、宽节株。

6.5 出圃标准

8片羽叶以上、苗高大于80cm、健壮无病虫害、容器未损坏且基质结团，无6.4所列形态的苗木可出圃定植。

7 苗木档案

苗木档案内容及其管理参照 LY/T 2280 和 LY/T 2428 。

附 录 A
(资料性附录)
油棕侏儒株、直立株、宽节株苗木图



图 A.1 侏儒株



图 A.2 直立株



图 A.3 宽节株

附录 B

(资料性附录)

油棕组织培养培养基配方表

油棕组织培养各类培养基配方见表B.1。

表 B.1 油棕组织培养培养基配方表

培养基成分类别	培养基成分	愈伤组织诱导培养基mg/L	体胚诱导培养基mg/L	诱导与增殖培养基mg/L	丛芽诱导培养基mg/L	生根诱导培养基mg/L
大量元素	K_2SO_4		990	990	990	990
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	370	370	370	370
	NH_4NO_3	1650	400	400	400	400
	KH_2PO_4	170	170	170	170	170
	KNO_3	1900				
	$CaCl_2$	332.25	72.5	72.5	72.5	72.5
	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$		556	556	556	556
铁盐	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8	27.85	27.85	27.85	27.85
	Na_2-EDTA	37.3	37.3	37.3	37.3	37.3
微量元素	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3				
	$MnSO_4 \cdot H_2O$		22.4	22.4	22.4	22.4
	KI	0.83				
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025				
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6	8.6	8.6	8.6	8.6
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	0.25	0.25	0.25	0.25
	H_3BO_3	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
有机营养成分	肌醇	100	100	100	100	100
	烟酸	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	盐酸硫胺素	0.1	1	1	1	1
	盐酸吡哆醇	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	甘氨酸	2	2	2	2	2

表 B.1 (续)

营养成分类别	培养基成分	愈伤组织诱导培养基 mg/L	体胚诱导培养基 mg/L	诱导与增殖培养基 mg/L	丛芽诱导培养基 mg/L	生根诱导培养基 mg/L
植物生长调节剂	萘乙酸 (NAA)	2.0~3.0			0.1~0.5	0.1~5.0
	2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D)	2.0 ~10.0	1	0.1		
	噻苯隆 (TDZ)	2.0~10.0				
	6-苄基腺嘌呤 (6-BA)				1.0~2.0	
	多效唑					1
吸附剂	活性炭		500~2000	500~2000		1000
有机附加物	椰汁 (ml/L)			200		
碳源	蔗糖	30000	30000	30000~60000	30000	30000~60000
凝固剂	琼脂	6000	6000	6000	6000	6000
注:FeSO ₃ ·7H ₂ O 先与 Na ₂ -EDTA 配制成络合物,在配制培养基时添加。						

附 录 C

(资料性附录)

油棕炼苗移栽阶段病虫害及其防治方法

表C.1 油棕炼苗移栽阶段病虫害及其防治方法

名称	症状	防治措施
叶疫病	最早症状主要表现在芯叶基部，并造成叶基部腐烂，当枪叶展开后，叶片上的病区呈不规则形状的横条纹，病区最初失绿呈橄榄绿、水浸状，之后病区迅速干枯，颜色也逐渐变成灰色至白色，并有明显的紫色边缘，病区坏死组织极易破裂。	加强水肥管理，发现病株及时移除销毁，并用双硫胺钾酰(福美双) 50%可湿性粉剂1000倍稀释液全株喷施，每10 d 喷施 1 次，连续喷施 2~3 次。
苗枯病	叶面圆形或椭圆形黄斑，斑点扩大成灰色，中间凹陷，有明显橙黄色晕轮，最先浸染芯叶或新展开的两片叶通常情况下病斑分离，严重时病斑融合。	50%可湿性粉剂1000倍稀释液全株喷施，每10 d 喷施 1 次，连续喷施 2~3 次。
炭疽病	病斑圆形或不规则斑块，初期小斑浅黄色逐渐向周边扩大，并从中部颜色加深变成黄褐色。	用70%甲基硫菌灵超微可湿性粉剂1000~1200倍液喷雾，每7~10d喷1次，连续喷2~3次。
红蜘蛛	红蜘蛛刺吸叶片，使危害叶片上出现大量极小褪绿黄斑。	用哒螨灵20%可湿性粉剂3000倍稀释液喷雾防治，每7~10d喷1次，连续喷2~3次。
鳞翅目幼虫	取食油棕嫩叶。	使用2%阿维菌素乳油1000倍+1%甲维盐1000倍稀释液喷施防治，每7~10d喷1次，连续喷2~3次。
蝗虫	取食油棕嫩叶。	2.5%溴氯菊酯微乳剂2000倍稀释液喷雾防治每7~10d喷1次，连续喷2~3次。
蜗牛	取食油棕嫩叶。	四聚乙醛(有效成分6%颗粒剂)撒施于穴盘周围诱杀。