

HNNY

# 湖南省农业技术规程

HNNY 473-2025

## 龙山百合节本增效繁育技术规程

Code of practice for saving cost and increasing efficiency in  
seedling propagation of Longshan Lilium

2025-12-26 发布

2025-12-26 实施

湖南省农业农村厅发布

目 次

前言 .....1

1 范围 ..... 2

2 规范性引用文件 ..... 2

3 术语和定义 ..... 2

4 组培条件优化 ..... 3

5 脱毒处理 ..... 4

6 组培苗繁育 ..... 5

7 苗期管理 ..... 5

8 出圃 ..... 6

9 废弃物处理 ..... 6

10 档案管理 ..... 6

附录 A 龙山百合培养基配方表 ..... 7

附录 B MS 培养基成分表 .....8

附录 C 龙山百合节本增效繁育档案 ..... 9

## 前 言

本文件按《湖南省农业技术规程制定与发布管理规范》相关规定起草。

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。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会提出并技术归口。

本文件起草单位：湘西土家族苗族自治州农业科学研究院、湖南农业大学、湖南致晟农业开发有限公司、怀化学院、凤凰县农业农村局、永州职业技术学院、湖南省中医药研究院、湖南中医药大学、湖南果乐农业科技股份有限公司、湘西爱德立农业科技有限公司、湖南淳芝宝药业有限责任公司、湖南保强农业开发有限公司、湖南翱康生物科技股份有限公司、溆浦县绿康源农业科技发展有限公司、浏阳市普迹镇五丰村经济合作社、浏阳市普迹镇书院新村股份制经济合作社、湖南高山玉竹生态农业有限责任公司。

本文件起草人：肖雅、肖深根、左小义、伍奕、吴茜、熊绍军、李永芬、刘君、肖聘、张丽、陆训、卜晓云、王志国、孙菊、陈阳峰、李自强、邱小燕、戴桂金、谢亚为、匡伟明、钟灿、王志辉、韩志超、刘子琳、王晓雅、周尤群、谭佩佳、吉璇、王亚梅、谭淼、向亚丽、张竹山、徐晓丽、余保、王依清、吴超、周美辉、郑钢、赵品河。

# 龙山百合节本增效繁育技术规程

## 1 范围

本文件规定了龙山百合节本增效繁育的组培条件优化、脱毒处理、组培苗繁育、苗期管理、出圃、废弃物处理、档案管理等内容。

本文件适用于龙山百合节本增效繁育。

## 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。

GB 5749	生活饮用水卫生标准
GB/T 6682	分析实验室用水规格和试验方法
NY/T 1744	切花百合脱毒种球
DB14/T 1515	食用百合脱毒试管苗繁育技术规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 龙山百合 Longshan Lilium

在龙山百合地理标志产品保护范围内种植的，以“粗多糖、百合皂苷”为主要品质特征的百合科植物卷丹(*Lilium lancifolium* Thunb.)。

### 3.2 外植体 explant

从龙山百合活植物体上切取下来作为离体培养的器官、组织、细胞或原生质体。

### 3.3 鳞片 scale

着生在龙山百合短缩茎盘上的肉质变态叶。

### 3.4 鳞茎 bulb

着生在龙山百合短缩茎盘上的肉质变态器官。

## 4 组培条件优化

### 4.1 组培室设施

组培室分为配药室、洗涤灭菌室、缓冲间、无菌操作室、培养室等功能区。

组培室所需设备有：冰箱、天平、高压灭菌锅、灭菌器、超净工作台、接种器械、日光灯照明的培养架、空气净化器、自动控时器、空调、温湿度计、除湿机等。

### 4.2 炼苗设施

包括低温冷库和温室大棚。

### 4.3 培养基配制

#### 4.3.1 培养基配方优化

组培苗繁育采用暗培养法，优化的培养基包括茎尖诱导小鳞茎培养基、鳞茎膨大培养基、增殖培养基，其优化配方见附录 A。

#### 4.3.2 基本培养基母液配制

选用 MS 培养基为基本培养基。按照附录 B 的成分表分别配制 MS 大量元素母液、微量元素母液、有机母液、铁盐母液。配制母液时将各成分加热溶解后混合，冷却后定容，铁盐母液需贮于棕色试剂瓶。各母液配制好后均放置在冰箱中 4℃ 条件下保存备用。有条件的可以选择商品化 MS 培养基。

#### 4.3.3 植物生长调节剂母液配制

植物生长调节剂配制浓度为 0.5 mg/mL~1.0 mg/mL 的母液。配制时，用 1 mL~2 mL 95% 乙醇溶解 NAA 或 0.1 mol/L 的 HCl 溶解 6-BA，再用无菌蒸馏水定容，摇匀后贮于棕色试剂瓶中，贴好标签，置于 4℃ 冰箱中保存备用。无菌蒸馏水应符合 GB/T 6682 中三级水的要求。

#### 4.3.4 优化培养基配制

优化培养基是由 MS 培养基、蔗糖、琼脂及植物生长调节剂或抗病毒药物组成，按照附录 A 所示配方进行配制。其中，蔗糖浓度添加量因培养基配方而异，琼脂用量为 5 g/L~7 g/L。配制时，将 MS 培养基母液、糖和琼脂放入蒸煮锅内煮开，再分别加入不同浓度需用量的各种植物生长调

节剂或抗病毒药物,定容后用 0.1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 调节 pH 值至 5.6~5.8,分装于规格 240 mL 玻璃组培瓶中,每瓶倒入 30 mL 培养基。配制培养基的水应按照 GB 5749 生活饮用水卫生标准。

#### 4.3.5 灭菌

将分装好的培养基放入高压蒸汽灭菌锅中进行灭菌。灭菌压力宜为 0.105 MPa,温度宜为 121 ℃,灭菌时间宜为 20 min。灭菌后,取出放置培养室中冷却备用。室温摆放 3 d,以便观察培养基灭菌情况,无污染后可进行接种使用。灭菌后的培养基贮存时间不超过一个月。

### 5 脱毒处理

#### 5.1 种鳞茎选择

选择当年新采收的生长健壮、无病虫害、无机械损伤、无腐烂霉变的龙山百合鳞茎作为种鳞茎。

#### 5.2 热处理

将龙山百合种鳞茎置于人工气候箱中,40 ℃恒温热处理 7 d。

#### 5.3 茎尖脱毒

##### 5.3.1 消毒处理

接种环境及接种器械灭菌按照 DB14/T 1515 标准执行。

接种前,提前 30 min 开启无菌室室内和超净工作台紫外灯照射消毒,关灯后 15 min~20 min 工作人员方可进入室内操作。室内若有浮尘,可用 75%乙醇喷雾降尘。每天工作结束后,清扫地面,可用有效氯含量 5%~6%的次氯酸钠溶液(84 消毒液)500 mg/L~1000 mg/L 进行地面消毒。接种服、工作帽、口罩、拖鞋等在消毒柜中消毒或用紫外灯照射消毒。操作所用的镊子、解剖刀、解剖针、培养皿等均需用纱布或牛皮纸包裹后,经过高压蒸汽灭菌,培养皿及滤纸可用牛皮纸包好置于鼓风干燥箱内 200 ℃下灭菌 2 h。

##### 5.3.2 外植体处理

将经过热处理的龙山百合鳞茎剥去外层鳞片,切掉鳞茎盘,在自来水下冲洗干净。在超净工作台上 75%酒精浸泡 30 s,再用无菌水冲洗 1 遍,再用 0.1%升汞浸泡 10 min~15 min,最后用无菌水冲洗 5 遍,待用。

### 5.3.3 茎尖剥离与接种

在超净工作台上，在 40 倍的解剖镜下，用解剖刀剥除外部鳞片漏出生长点，用解剖针挑取 0.5 mm~0.8 mm 大小的茎尖生长点接种到添加了病毒唑的茎尖诱导小鳞茎培养基上，每瓶接种 1 个，并标注品种名和接种日期。

### 5.3.4 茎尖培养

将接种的茎尖 25℃ 遮光暗培养 7 d~10 d，再转光培养，光照 12 h~16 h，强度 2500 lx~3500 lx，每 30 d 更换一次培养基。每个茎尖单独培养，60 d~90 d 后可获得小鳞茎。

## 5.4 病毒检测

将脱毒处理获得的小鳞茎采用多重 RT-PCR 法进行病毒检测，主要检测病毒包括黄瓜花叶病毒、百合无症病毒、百合斑驳病毒、南芥菜花叶病毒、百合 X 病毒等，检测方法及标准参照 NY/T 1744 执行。

## 6 组培苗繁育

### 6.1 组培苗选择

根据检测结果，选择脱毒成功的样品相对应的株系作为脱毒组培苗繁育材料，进行扩繁。

### 6.2 鳞茎膨大暗培养

将脱毒组培苗繁育材料接种于鳞茎膨大培养基。暗培养条件：温度 25℃、遮光，培养 50 d~60 d，每 30 d 更换一次培养基。当鳞茎直径达到 1.2 cm~1.5 cm 供增殖培养用。

### 6.3 增殖暗培养

选择已培养好的膨大鳞茎，剥下外层 1 层~3 层鳞片，进行增殖暗培养。培养时先在每个鳞片四周切一切口，凹面向上接种于增殖培养基，暗培养条件与鳞茎膨大暗培养一致，培养 50 d~60 d，直径达到 1.2 cm~1.5 cm 的鳞茎结束增殖暗培养。剥离留下的内层鳞茎可按 6.2 鳞茎膨大暗培养操作继续培养。

## 7 苗期管理

### 7.1 低温培养

将结束增殖暗培养的鳞茎转至 2℃~4℃冷库中，低温培养 60 d，打破休眠。

## 7.2 炼苗

移栽前将打破休眠的鳞茎置于温室大棚中炼苗 2 d~3 d。

## 7.3 移栽

### 7.3.1 移栽基质

移栽基质配方为泥炭：珍珠岩：壤土=1：1：1。

### 7.3.2 移栽方法

温室移栽时，用清水将鳞茎根部的培养基冲洗干净，植入移栽基质中，种植密度为 50 粒/m<sup>2</sup>~80 粒/m<sup>2</sup>，移栽后浇透水。移栽成活后，可作为脱毒籽球进行田间繁育或直接定植于大田。

## 8 出圃

当鳞茎大于 10 g、根系发达、植株完整时即可出圃。

## 9 废弃物处理

农业投入品废弃物应集中分类，无害化资源化处置。

## 10 档案管理

应建立龙山百合节本增效繁育档案，包括但不限于病毒检测记录表，见附录 C，保存时间 3 年以上。



附 录 A  
(规范性)  
龙山百合培养基配方表

A.1 龙山百合培养基配方  
龙山百合培养基配方见表 A.1

表 A.1 龙山百合培养基配方表

培养基名称	培养基配方	pH 值
茎尖诱导小鳞茎培养基	MS, 6-BA 1.5 mg/L, NAA 0.5 mg/L, 病毒唑 10 mg/L, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 5-7 g/L	5.8~6.0
鳞茎膨大培养基	MS, 蔗糖 90 g/L, 琼脂 5 g/L	5.8~6.0
增殖培养基	MS, 6-BA 1.0 mg/L, NAA 0.1 mg/L, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 5 g/L	5.8~6.0

附 录 B  
(规范性)  
MS 培养基成分表

B.1 MS 培养基成分  
MS 培养基成分见表 B.1

表 B.1 MS 培养基成分表

母液	成分	用量 (mg)	母液用量 (ml)
大量元素(20×), 500ml	KNO <sub>3</sub>	19,000	50
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16,500	
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	3,700	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,700	
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	4,400	
微量元素(200×), 200ml	MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	892	5
	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	344	
	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	1	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	248	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	10	
	KI	33.2	
	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1	
Fe 盐(100×), 100ml,(棕色瓶装)	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	278	10
	Na <sub>2</sub> EDTA · 2H <sub>2</sub> O	373	
有机成分(100×), 100ml	肌醇	1,000	10
	烟酸	5	
	盐酸吡哆醇 (VB <sub>6</sub> )	5	
	盐酸硫胺素 (VB <sub>1</sub> )	1	
	甘氨酸	20	

附 录 C  
(资料性)  
龙山百合节本增效繁育档案

C.1 病毒检测

病毒检测记录见表 C.1

表 C.1 龙山百合病毒检测记录表

日期 (年 月 日)	检测 批次	检测类目					检测人	备注
		黄瓜花叶 病毒	百合无症状 病毒	百合斑驳 病毒	南芥菜花叶 病毒	百合 X 病毒		