

湖南省农业技术规程

HNZ175-2018

甘薯脱毒种薯繁育技术规程

Technical Regulations For Virus-free Seed Propagation

Technique Of Sweet Potato

湖南省农业农村厅发布

发布日期：2018年12月31日

甘薯脱毒种薯繁育技术规程

为规范甘薯脱毒种薯繁育技术，制订本规程。

1 脱毒组培苗快繁

1.1 脱毒组培苗的培育

1.1.1 选材

选用生产上主栽且具有品种特性的块根萌发的新芽或刚出土幼苗的茎尖、田间成株上的顶芽作茎尖剥离材料。

1.1.2 培养基的制备及灭菌

配制MS培养基（见附录），每升加6~BA1~2毫克、NAA0.1~0.5毫克、KT0.1~0.8毫克，然后按每瓶（或管）30~50毫升分装（视培养器皿体积而定，培养瓶或管内的培养基厚度约为1厘米），0.15MP压力、121℃灭菌20分钟，冷却备用。

1.1.3 茎尖剥离接种

a) 材料消毒

将入选材料放入纱布袋，用流动自来水冲洗1h。在无菌的超净工作台中，将已处理过的材料放入75%酒精中浸10~15秒，取出用无菌水冲洗2~3次，再用1%的次氯酸钠液（加1~2滴吐温60或者吐温80）振荡消毒4~8分钟（视材料幼嫩程度而定，材料越幼嫩，灭菌时间越短），用无菌水冲洗3~5次。

b) 茎尖生长点的剥离与接种

用培养皿中的无菌滤纸吸干材料表面水分，在体视解剖镜下（8~40倍）用手术刀和镊子，轻、准、快速地剥去幼叶，用解剖针挑取带1~2个叶原基，0.1~0.5毫米长的生长点。迅速接入准备好的培养瓶或管中，每瓶或管放1个生长点。培养瓶上注明品种、接种期和接种人。

c) 操作注意事项

解剖针、镊子和手术刀要蘸入90%酒精，并用火焰灼烧消毒。灼烧后的接种工具需冷却再用，以免烫伤茎尖。剥离茎尖时，应尽快接种，茎尖暴露的时间尽量缩短，以防茎尖变干。可在一个衬有无菌湿滤纸的培养皿内进行操作，有助于防止茎尖变干。

1.1.4 培养条件

将培养瓶置于光照培养室中，设定日温28℃、夜温20℃，光照时长每天14~16小时，光

照强度2000~3000lx。

1.2 病毒检测

采用相应的方法对甘薯主要病毒进行检测，检测方法及要求参照《脱毒甘薯种薯（苗）病毒检测技术规程》（NY/T 402-2000）。未检出病毒的组培苗即可进行扩繁生产。

1.3 脱毒苗组培扩繁

1.3.1 采用1/2MS培养基扩繁，培养基制备方法同1.1.2。

1.3.2 扩繁

将脱毒苗剪切成1厘米左右、带一叶一芽的茎段，接种于装有1/2MS培养基的培养瓶内，每瓶接种3~6个茎段。光照培养室培养25~30天（条件同1.1.4）后进行切段转接，如此反复继代培养繁殖。

1.3.3 扩繁苗病毒检测

抽检的数量不低于样本总数的10%，方法同（1.2）。

1.4 脱毒组培苗的保存

1.4.1 培养基

采用MS培养基接种保存，培养基制备方法同1.1.2。

1.4.2 接种

选用初次继代培养中生长健壮的扩繁脱毒组培苗，经切段处理后接种保存。每瓶接种3~5个茎段，每个茎段带一片叶。每个品种材料至少保存5个备份。

1.4.3 培养条件

按照1.1.4的条件培养，带茎段长根后，逐渐将培养室温度降到15~18℃（每天降低1~2℃）。维持此温度不变，同时将光照强度调节至1800 lx。每4~6个月转接一次，3~4年更新一次用于快繁的脱毒组培苗。

2 原原种生产

2.1 隔离网室的建立

2.1.1 环境及土地条件

选择四周无高大建筑物，水源、电源、交通便利且通风透光的地方建网室。选用无病原和多年未栽种过甘薯的土壤。

2.1.2 建设要求

选标准钢架大棚架设网室。网室内地表及网室四周2m内应建成水泥地面，网室周围10

HNZ175-2018

米范围内不能有其它可能成为甘薯病虫害侵染源或可能成为蚜虫和烟粉虱寄主的植物。严防网室内地表积水和网室外水流入。用于隔离的网纱孔径为60目以上。

2.2 炼苗

2.2.1 炼苗基质

将草炭、蛭石或珍珠岩、细沙按比例2:1:1混合装入32孔黑色PVC塑料育苗盘。

2.2.2 切段和栽插

在培养室内，待脱毒薯苗长到7~8片叶时，用镊子取出脱毒试管苗，剪为4~6厘米长的茎段。将茎段插入育苗盘中，一穴一苗。

2.2.3 放盘

将栽插好的育苗盘规范整齐的放置于防虫网室内。

2.2.4 浇水及盖膜

脱毒苗插好后，轻细均匀喷水，使基质充分饱和吸水，及时在基质上用拱棚盖膜。小拱棚内相对湿度保持70~80%，膜内温度以25~28℃为宜，最高不能超过35℃。

2.2.5 消毒

工作人员进出及所用物品都应进行消毒处理。

2.3 脱毒苗移栽及管理

2.3.1 移栽

脱毒薯苗生根成活（约栽插后7天）后及时撤掉拱棚。撤离拱棚后将脱毒薯苗（带有基质）移栽到防虫网室中（防虫网网孔密度在60目以上）。4月中下旬至6月下旬栽插，每亩栽插1.1~1.3万株。

2.3.2 施肥

每亩施用45%的三元复合肥50千克作基肥。根据苗情追施0.3%尿素+磷酸二氢钾叶面肥。

2.3.3 浇水

在早晨或傍晚进行浇水，田间最大持水量应保持在60%~80%。在甘薯收获前一个月要停止灌溉。

2.3.4 病虫害防治

除甘薯常见的病害外，还需重点防治蚜虫和烟粉虱。在网棚内每隔5~10米种植一些指示植物。每隔15天喷洒一次杀虫药剂，防治蚜虫粉虱，以防传毒。杀虫药最好多种药剂轮换使用，以免昆虫产生抗药性。

定期逐株观察薯苗的生长情况，一旦发现有病毒症状的薯苗病株要坚决拔除，同时棚内

繁殖的所有种薯应降级使用。

2.4 收获、贮存

2.4.1 收获

根据当地作物布局和耕作制度决定甘薯的收获期,湖南省多在10月下旬至11月上旬收获。收获宜在晴天上午进行,中午在田间晾晒。选取表皮光滑、薯型整齐,质量在50~150克的甘薯作为种薯。收获时避免机械损伤和品种混杂,剔除烂薯、病薯、伤薯及杂物。包装采用尼龙网袋,每袋约装70个。按品种装袋作好品种名标记,袋内袋外各一个标签。

2.4.2 贮存

专用储藏窖或仓库储存。种薯贮存前需用50%甲基托布津或50%多菌灵500倍或90%甲基托布津800倍浸种10分钟。

3 原种生产

3.1 选地

选择地势肥沃,3年以内未种过普通甘薯,无黑斑病、茎线虫病、根腐病等病原的砂壤土地。

3.2 整地与施肥

冬前深耕25~30厘米,施足有机肥料。4~5月整地作垄,垄宽90厘米、垄高30厘米左右,每亩施用45%三元复合肥50千克作基肥。

3.3 种薯准备

播种前取出原原种薯,剔除病薯、烂薯。

3.4 育苗

采用原原种薯,参照《甘薯栽培技术规程》(DB43/T 451-2009)育苗。

3.5 栽插

3.5.1 剪苗

薯苗长度一般要达到20~25厘米,具有5~6个展开叶,尽量使用第一段苗,切忌使用中段苗。

3.5.2 栽插方法

采用水平插法或斜插法栽插。栽插时顶芽要露出地面3~4厘米,并在地面留2~3片叶。

3.5.3 栽插时期及密度见2.3.1部分。

3.6 田间管理和收获

HNZ175-2018

参照甘薯栽培技术规程（DB43/T 451-2009）及2.3.2~2.4.2部分。

4 技术术语

4.1 脱毒组培苗

简称脱毒苗，是应用茎尖组织培养技术获得的、经检测确认不带SPCSV、SPFMV、SPLCV等病毒的再生试管苗，经过组织培养方法大量扩繁的且不带上述病毒和类病毒用于生产原原种的试管苗。

4.2 栽插苗

脱毒苗切段在网室栽插成活或甘薯试管薯直播于网室出苗后，剪取其主茎及侧枝顶端栽插成活的苗。

4.3 脱毒种薯

从繁殖脱毒苗开始，经逐代繁殖增加种薯数量的种薯生产体系生产出来的各级种薯。脱毒种薯分为原原种、原种、生产用种薯。

5 引用和参考资料

GB 4406-84 种薯

DB52/T 593-2010 无公害食品甘薯生产技术规程

DB52/T 594-2010 甘薯脱毒试管苗生产技术规程

GB 7413-2009 甘薯种苗产地检疫规程

DB43/T 451-2009 甘薯栽培技术规程

HNZ064-2014 湖南甘薯种苗繁育技术规程

NY/T 402-2000 脱毒甘薯种薯（苗）病毒检测技术规程

编写单位：湖南省作物研究所

编写人员：黄艳岚、张超凡、董芳、张道微、周虹、张亚

附录 MS 培养基及激素母液的配制

1 所需的试剂:

- 1) 无机盐及弱酸类试剂: 硝酸铵、磷酸二氢钾、硝酸钾、氯化钙、硫酸镁、硫酸锰、硫酸锌、硫酸铜、氯化钴、钼酸钠、碘化钾, 硫酸亚铁, 乙二胺四乙酸二钠, 硼酸;
- 2) 有机物: 盐酸硫胺素、盐酸吡哆醇、盐酸等(维生素); 甘氨酸、肌醇、蔗糖、琼脂等。
- 3) 植物生长调节剂: 生长素(NAA)、细胞分裂素(6-BA)、激动素(KT)
- 4) 无水乙醇、次氯酸钠(又名安替福民)

2 MS 培养基及激素母液的配制

为方便培养基的配置, 可以将 MS 培养基成分配置成大量元素母液、微量元素母液、铁盐母液、有机物母液和激素母液。称取适量药品(见表(1)-表(4)), 加入蒸馏水溶解, 容量瓶定容至 1000 毫升。4℃的冰箱中保存。具体配置方法如下:

(1) 大量元素母液 (10×)

药品名称	工作浓度 mg/L	10×母液 (g/L)	工作母液用量 (mL/L)
KNO ₃	1900	19	
NH ₄ NO ₃	1650	16.5	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	3.7	100
KH ₂ PO ₄	170	1.7	
无水 CaCl ₂	332	3.32	

(2) 微量元素母液 (100×)

药品名称	工作浓度 mg/L	100×母液 (g/L)	工作母液用量 (mL/L)
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3	2.23	
ZnO ₄ ·7H ₂ O	8.6	0.86	
H ₃ BO ₃	6.2	0.62	
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.025	10
KI	0.83	0.083	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.0025	
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.17	

HNZ175-2018

(3) 铁盐母液 (100×)

药品名称	工作浓度 mg/L	100×母液 (g/L)	工作母液用量 (mL/L)
Na ₂ EDTA	37.3	3.73	10
H ₃ BO ₃	6.2	0.62	

(4) 有机物母液 (100×)

药品名称	工作浓度 mg/L	100×母液 (g/L)	工作母液用量 (mL/L)
盐酸硫胺素 (VB1)	0.1	0.01	10
甘氨酸	2	0.2	
肌醇	100	10	
烟酸	0.5	0.05	
盐酸吡哆素 (VB6)	0.5	0.05	

(5) 激素母液 (1mg/ml)

药品名称	称取量 (mg)	溶解物	定容体积 (mL)	母液浓度
NAA	100	95%的酒精	100	1mg/ml
6-BA	100	0.1mol/LHCL		
KT	100	0.1mol/L HCL		

3 MS 培养基的配制 (1L)

(1) 配制 1L 工作液，烧杯中放入 700 毫升左右的蒸馏水，按顺序分别吸取大量元素母液 100 毫升，微量元素母液、铁盐母液和有机物母液各 10 毫升。

(2) 加入固体蔗糖 30g 溶解，加入琼脂粉 9g~10g。

(3) 将培养基煮沸，使琼脂粉充分溶解后定容至 1L。

(4) 用 0.1—1mol/L 的 HCl 或 NaOH 调整 pH 值为 5.7~5.8。

(5) 加入所需工作浓度的激素。

(6) 将未凝固的液体培养基倒入培养瓶或管等中，封口消毒。

(7) 高温高压消毒：于 120℃ 下，高压蒸汽灭菌 20 分钟。

(8) 灭菌结束后，将培养基置于水平桌面上，待培养基凝固后可用于后续实验。