



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119655171 A

(43) 申请公布日 2025. 03. 21

(21) 申请号 202510092620.0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2025.01.21

A01H 4/00 (2006.01)

(71) 申请人 四川省林业科学研究院(四川省林
产工业研究设计所)

地址 610081 四川省成都市星辉西路18号

申请人 四川农业大学
四川省林业工作总站

(72) 发明人 辜云杰 钱江红 余小晏 杨汉波
史亮 彭建 罗贤丹 刘闵豪
黄馨 李金武 张帅英 代林利
杨滨豪 王益 肖兴翠

(74) 专利代理机构 四川省方圆智云知识产权代
理事务所(普通合伙) 51368
专利代理师 严晓玲

权利要求书1页 说明书8页

(54) 发明名称

一种细叶楠种子萌发及组培快繁方法

(57) 摘要

本发明属于育苗技术领域,具体涉及一种细叶楠种子萌发及组培快繁方法。首先提供了一种细叶楠种子萌发方法,通过将细叶楠种子经NAA和AC的1/2MS培养基培养得到无菌苗,将种子萌发率提高至95%以上,解决了细叶楠种子保存难度大、播种出苗率低无法满足生产需求的问题。进而在上述种子萌发获得无菌苗的基础上,提出了一种细叶楠组培快繁的方法,通过在不定芽诱导培养、增殖培养、生根培养不同阶段添加不同浓度和种类的生长激素,使不定芽诱导成功率达到90%以上,增殖系数达到6.0以上,生根率达96%以上,同时解决了外植体诱导培养是容易褐化的问题,大大提高了组培快繁阶段的存活率和快繁效率。

1. 一种细叶楠种子萌发方法,其特征在于,包括如下步骤:
将预处理细叶楠种子经灭菌后置于包含NAA和AC的1/2MS培养基中培养,得到无菌苗。
2. 根据权利要求1所述种子萌发方法,其特征在于,所述NAA浓度为0.01mg/L,所述AC为0.2mg/L。
3. 根据权利要求1所述种子萌发方法,其特征在于,所述培养温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照强度2500lux,光照时长为12h/d,培养15-20d。
4. 一种细叶楠组培快繁方法,其特征在于,包括如下步骤:
不定芽诱导培养:将权利要求1-3任一所述种子萌发方法获得的无菌苗的子叶节作为外植体接种至不定芽诱导培养基上进行从芽诱导获得不定芽;
增殖培养:将不定芽剪切接种至增殖培养基中进行增殖培养得到增殖芽;
生根培养:切取增殖芽带芽茎段接入生根培养基中进行生根诱导培养,得到组培苗;
炼苗:将组培苗进行炼苗处理得到细叶楠幼苗。
5. 根据权利要求4所述组培快繁方法,其特征在于,所述不定芽诱导培养基为含6-BA和IBA的MS培养基,其中6-BA浓度为2mg/L,IBA浓度为0.05mg/L。
6. 根据权利要求4所述组培快繁方法,其特征在于,所述增殖培养基为含6-BA和IBA的MS培养基,其中6-BA浓度为3mg/L,IBA浓度为0.01mg/L。
7. 根据权利要求4所述组培快繁方法,其特征在于,所述生根培养基为含NAA、活性炭的1/2MAS培养基,其中NAA为0.01mg/L,活性炭为0.2g/L。
8. 根据权利要求7所述组培快繁方法,其特征在于,所述生根诱导培养温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照强度2500lux,光照时长为12h/d。
9. 根据权利要求4所述细叶楠组培快繁方法,其特征在于,所述炼苗为将装有组培苗的培养瓶移至室外进行强光闭瓶炼苗后再经自然光开瓶炼苗得到。

一种细叶楠种子萌发及组培快繁方法

技术领域

[0001] 本发明属于育苗技术领域,具体涉及一种细叶楠种子萌发及组培快繁方法。

背景技术

[0002] 细叶楠(*Phoebe hui*)是楠属(*Phoebe*)植物,主要分布在我国四川、重庆、湖南等地,四川是细叶楠的核心分布区。细叶楠木材颜色多呈黄色或浅黄褐色,优质大径级木材,因具有金黄色绢丝状光泽而被称为“金丝楠木”,是当前木材行业公认的“金丝楠木”的最优树种之一,在珍贵木材产业中具有广阔的市场和应用前景。中国林科院最新研究结果显示,我国古建筑故宫就是以细叶楠为主要木材材料建成的。由于细叶楠具有极高的经济、生态和观赏价值,种苗需求量不断增大,而目前市场上良种种苗极少,难以满足市场的需求,因此对细叶楠快繁的研究具有重要意义。目前细叶楠主要通过播种育苗繁殖,然而细叶楠种子难贮藏,“大小年”现象又非常严重,且实生苗变异较大,可能会失去母树的优良性状;此外细叶楠种子播种育苗出苗率低,不能满足造林生产对优质种苗的需求量,而且目前尚未有细叶楠扦插繁育技术,这些都严重制约了细叶楠种苗生产。

[0003] 基于上述问题,现有技术1(细叶楠穴盘育苗技术,林业实用技术,2012)公开了一种细叶楠穴盘育苗的方法,通过种子处理、基质选择和处理、穴盘选择、温室穴盘苗管理等技术措施,筛选得到细叶楠穴盘育苗的最佳育苗方案,但其最佳方案的种子萌发率仅54.9%,萌发率过低,无法满足生产需求;现有技术2(细叶楠种子休眠与萌发对低温层积的生理响应,植物科学学报,2022)研究了不同低温处理对细叶楠种子萌发率的影响,分析了低温层积对细叶楠种子萌发过程的生理生化变化,但仅提出了理论的研究结果,并未提出具体的技术操作方法。基于此,一种提高种子萌发率且快速获得细叶楠无菌苗及组织培养快繁技术方法,为本领域所需。

发明内容

[0004] 基于上述问题,本申请以细叶楠种子为外植体,采用从芽发生途径,建立了一种提高细叶楠种子萌发率的方法以及组织快繁技术,从而快速获得细叶楠无菌苗,实现细叶楠优良基因型的工厂化繁育,解决了细叶楠良种壮苗缺乏等现实问题。

[0005] 为达到上述目的,本申请的第一技术方案公开了一种细叶楠种子萌发方法,包括如下步骤:

[0006] 将预处理细叶楠种子经灭菌后置于包含NAA和AC的1/2MS培养基中培养,得到无菌苗。

[0007] 进一步的,所述NAA浓度为0.01mg/L,所述AC为0.2mg/L。

[0008] 优选的,所述培养温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照强度2500lux,光照时长为12h/d,培养15-20d。

[0009] 本申请的第二技术方案公开了一种细叶楠组培快繁方法,包括如下步骤:

[0010] 不定芽诱导培养:将权利要求1-3任一所述种子萌发方法获得的无菌苗的子叶节

作为外植体接种至不定芽诱导培养基上进行从芽诱导获得不定芽；

[0011] 增殖培养:将不定芽剪切接种至增殖培养基中进行增殖培养得到增殖芽；

[0012] 生根培养:将切取增殖芽带芽茎段接入生根培养基中进行生根诱导培养,得到组培苗；

[0013] 炼苗:将组培苗进行炼苗处理得到细叶楠幼苗。

[0014] 进一步的,所述不定芽诱导培养基为含6-BA和IBA的MS培养基,其中6-BA浓度为2mg/L,IBA浓度为0.05mg/L。

[0015] 进一步的,所述增殖培养基为含6-BA和IBA的MS培养基,其中6-BA浓度为3mg/L,IBA浓度为0.01mg/L。

[0016] 进一步的,所述生根培养基为含NAA、活性炭的1/2MAS培养基,其中NAA为0.01mg/L,活性炭为0.2g/L。

[0017] 进一步的,所述生根诱导培养温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照强度2500lux,光照时长为12h/d。

[0018] 进一步的,所述炼苗为将装有组培苗的培养瓶移至室外进行强光闭瓶炼苗后再经自然光开瓶炼苗得到。

[0019] 本发明具有以下有益效果:

[0020] 本申请提供了一种细叶楠种子萌发方法,通过将细叶楠种子经含有0.01mg/L的NAA和0.2g/L的AC的1/2MS培养基培养得到无菌苗,将种子萌发率提高至95%以上,解决了细叶楠种子保存难度大、播种出苗率低无法满足生产需求的问题。

[0021] 本申请在上述种子萌发获得无菌苗的基础上,提出了一种细叶楠组培快繁的方法,通过在不定芽诱导培养、增殖培养、生根培养不同阶段添加不同浓度和种类的培养基调节生长情况,使不定芽诱导培养阶段的不定芽诱导成功率达到90%以上,同时解决了外植体诱导培养是容易褐化的问题;使增殖培养阶段的增殖系数达到6.0以上,生根培养阶段的生根率达96%以上,大大提高了组培快繁阶段的存活率和快繁效率。

具体实施方式

[0022] 下面将结合本发明实施例,对本发明技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0023] 除非另外具体说明,否则在这些实施例中阐述的部件和步骤的相对布置、数字表达式和数值不限制本申请的范围。对于相关领域普通技术人员已知的技术、方法和设备可能不作详细讨论,但在适当情况下,所述技术、方法和设备应当被视为授权说明书的一部分。在这里示出和讨论的所有示例中,任何具体值应被解释为仅仅是示例性的,而不是作为限制。因此,示例性实施例的其它示例可以具有不同的值。

[0024] 为便于理解,首先对说明书中出现的技术术语进行解释。

[0025] 术语“MS培养基”为:Murashige and Skoog培养基,其中,1/2MS培养基为1/2Murashige and Skoog培养基;

[0026] 术语“NAA”为:萘乙酸;

[0027] 术语“AC”为:活性碳;

[0028] 术语“6-BA”为:6-苄氨基嘌呤;

[0029] 术语“IBA”为:吲哚丁酸。

[0030] 第一方面,本申请公开了一种细叶楠种子萌发方法,包括如下步骤:

[0031] 将预处理细叶楠种子经灭菌后置于包含NAA和AC的1/2MS培养基中培养,得到无菌苗。

[0032] 可理解,在本实施方式中,预处理细叶楠种子的获得包括种子的采集与处理,为本领域常规方法,本申请优选为:种子采集阶段,采集优选细叶楠优树(树干通直、无病虫害、结实量大)。

[0033] 采集之后对细叶楠种子进行预处理,预处理为本领域常规方案,本申请优选为用小刀切除外种皮,流水冲洗干净后挑选处种实饱满、无病虫害的种子,用解剖刀剥去包裹在种胚表面的内种皮(注意不要伤及种胚,以免无菌播种时诱导产生次生代谢物质影响无菌播种质量)。随后,将去除种皮的种子置于自来水下冲洗10分钟,加入适量洗洁精用清水浸泡10分钟,并用软毛刷清除种胚表面可见杂物,最后置于自来水下冲洗24小时。

[0034] 在优选实施方式中,本申请的培养温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照强度2500lux,光照时长为12h/d,培养15-20d。

[0035] 在进一步的实施方式中,本申请对细叶楠种子萌发阶段的生长激素的最佳用量进行了筛选,使得在最佳用量下,其种子萌发率可达到95%以上,具体为:

[0036] 实施例1细叶楠种子萌发实验

[0037] 实验方法:将经过去除种皮的种子置于自来水下冲洗10分钟,加入适量洗洁精用清水浸泡10分钟,并用软毛刷清除种胚表面可见杂物,最后置于自来水下冲洗24小时预处理的楠木种子置于超净工作台,用0.1%的升汞灭菌,其中灭菌时间设置为:0.5min、1min、1.5min、3min、5min、10min。无菌水涮洗6~8次后接种于含不同NAA和AC浓度配比的1/2MS培养基中培养,其中NAA浓度设置为0.005mg/L、0.01mg/L、0.02mg/L、0.03mg/L、0.04mg/L、0.05mg/L;AC浓度设置为0.2g/L。每个实验处理5次重复,每个处理接种20瓶,15-20d后对污染情况和种子萌发情况进行观察统计,污染情况统计如表1所示,种子萌发情况统计如表2所示。

[0038] 实验结果如表1、表2所示:由表1可以看出,不同灭菌时间对污染率和坏死率的影响有差别,当灭菌时间为1.5min时细叶楠种子的污染率为5.34%,坏死率为1.03%。综合比较不同灭菌时间对污染率和坏死率产生的效果进而筛选出细叶楠种子的最佳灭菌方法为:0.1%升汞灭菌1.5min。

[0039] 由表2可以看出,不同NAA浓度对细叶楠种子萌发的影响有显著差别,细叶楠种子的萌发时间随NAA浓度的增加呈现先降低再增加的趋势;萌发率随NAA浓度的增加呈现先增加后降低的趋势。由此可知,低浓度的NAA浓度促进细叶楠种子萌发,高浓度的NAA抑制种子萌发,当NAA浓度为0.01mg/L时萌发时间最短,萌发率最高,由此筛选出细叶楠种子萌发的最佳培养基配方为:1/2MS+0.01mg/LNAA+0.2g/LAC

[0040] 表1消毒灭菌时间对细叶楠种子萌发的影响

| 基础培养基 | NAA (mg/L) | AC (g/L) | 0.1%升汞处 理时间(min) | 污染率 (%) | 坏死率 (%) | 萌发 (%) |
|--------|---------------|-------------|---------------------|------------|------------|-----------|
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 0.50 | 70.45 | 0.34 | 97.23 |
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 1.00 | 34.64 | 0.84 | 96.34 |
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 1.50 | 5.34 | 1.03 | 95.45 |
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 3.00 | 2.43 | 4.34 | 82.34 |
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 5.00 | 1.53 | 17.34 | 74.53 |
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 10.00 | 0.00 | 32.95 | 50.32 |

[0042] 表2NAA浓度对细叶楠种子萌发的影响

| 基础培养基 | NAA (mg/L) | AC (g/L) | 发芽时间 (d) | 萌发率 (%) |
|--------|------------|----------|----------|---------|
| 1/2 MS | 0.005 | 0.2 | 30 | 75.40 |
| 1/2 MS | 0.01 | 0.2 | 7 | 95.45 |
| 1/2 MS | 0.02 | 0.2 | 23 | 82.43 |
| 1/2 MS | 0.03 | 0.2 | 20 | 74.93 |
| 1/2 MS | 0.04 | 0.2 | 21 | 70.54 |
| 1/2 MS | 0.05 | 0.2 | 17 | 63.23 |

[0044] 第二方面,本申请公开了一种细叶楠组培快繁方法,包括如下步骤:

[0045] 不定芽诱导培养:将上述种子萌发方法获得的无菌苗的子叶节作为外植体接种至不定芽诱导培养基上进行不定芽诱导获得不定芽;

[0046] 增殖培养:将不定芽剪切接种至增殖培养基中进行增殖培养得到增殖芽;

[0047] 生根培养:将切取增殖芽带芽茎段接入生根培养基中进行生根诱导培养,得到组培苗;

[0048] 炼苗:将组培苗进行炼苗处理得到细叶楠幼苗。

[0049] 需要说明的是,在上述组培快繁方法中,申请人通过对不同培养阶段添加不同浓度和种类的培养基调节生长情况,使不定芽诱导培养阶段的不定芽诱导成功率达到90%以上,同时解决了外植体诱导培养是容易褐化的问题;使增殖培养阶段的增殖系数达到6.0以上,生根培养阶段的生根率达96%以上,大大提高了组培快繁阶段的存活率和快繁效率。以下通过实施例详细说明了不同培养阶段的生长激素添加情况。

[0050] 实施例2不定芽诱导培养实验

[0051] 该实验包含对实施例1中得到的无菌苗的外植体材料选择以及培养基生长激素及浓度选择。

[0052] 试验1外植体材料选择

[0053] 实验方法:将由实施例1实验萌发得到的无菌苗作为外植体材料的来源,以MS培养基为基本培养基,该实验在培养基添加浓度为2.0mg/L的6-BA和0.05mg/L的IBA来进行外植

体材料的筛选。外植体材料来源于从无菌苗的不同部位,分别为无菌苗的子叶节、上胚轴、带顶芽茎段,该步实验共三个处理,每个处理5个重复,每个处理接种20瓶。

[0054] 实验结果如表3所示:由表3可以看出,当基本培养基和激素浓度相同时,不同外植体的不定芽诱导效果有所差异,其中子叶节诱导的平均不定芽个数为6个,上胚轴诱导的平均不定芽个数为3个,带芽茎段诱导的平均不定芽个数为1个。显然,相比之下,子叶节的诱导不定芽的效果优于上胚轴和带顶芽茎段的诱导效果。由此筛选出的最佳外植体材料为无菌苗的子叶节。

[0055] 表3不同外植体的不定芽诱导效果

| [0056] | 外植体 | 基础培 | 6-BA (mg/L) | IBA (mg/L) | 芽个数 (个) |
|--------|-------|-----|-------------|------------|---------|
| | | 培养基 | | | |
| | 子叶节 | MS | 2.0 | 0.05 | 6 |
| | 上胚轴 | MS | 2.0 | 0.05 | 3 |
| | 带顶芽茎段 | MS | 2.0 | 0.05 | 1 |

[0057] 试验2培养基生长激素及浓度选择

[0058] 实验方法:通过实验1筛选出子叶节作为外植体材料来进行下一步试验,该实验以MS为基本培养基来探究不同浓度的6-BA和IBA对不定芽诱导效果的差异。其中设置6-BA浓度分别为1.0mg/L、2.0mg/L、5.0mg/L,IBA浓度分别设置为0.01mg/L、0.05mg/L、1.0mg/L进行完全随机多因素设计实验,每个实验处理接种20瓶,5个重复。

[0059] 实验结果如表4所示,由表4可知6-BA和IBA的不同浓度配比对不定芽的诱导效果差异显著,不同激素浓度配比下不定芽的诱导率和不定芽的生长状况不一,其中当培养基中6-BA浓度为2.0mg/L和IBA浓度为0.05mg/L时对不定芽的诱导效果最佳,其不定芽的诱导率为89.34%,诱导的不定芽长势良好,芽体大且多生叶。

[0060] 表4不同激素浓度配比对不定芽诱导效果的影响

| [0061] | 基础培养基 | 6-BA (mg/L) | IBA (mg/L) | 诱导率 (%) | 生长状况 |
|--------|-------|-------------|------------|---------|----------------------|
| | | MS | 1.0 | 0.01 | 43.56 |
| | MS | 1.0 | 0.05 | 12.34 | 芽鲜绿且长势良好 |
| | MS | 1.0 | 0.1 | 22.45 | 侧芽鲜绿且长势良好,并生叶 |
| | MS | 2.0 | 0.01 | 24.34 | 侧芽发黄且芽体小 |
| | MS | 2.0 | 0.05 | 89.34 | 侧芽长势良好,芽体较大且生叶 |
| | MS | 2.0 | 0.1 | 54.34 | 侧芽长势良好并有叶片长出,但叶片尖端发黄 |
| | MS | 5.0 | 0.01 | 27.45 | 有侧芽生长,但芽体较小 |
| | MS | 5.0 | 0.05 | 11.54 | 芽鲜绿且长势良好 |
| | MS | 5.0 | 0.1 | 53.95 | 侧芽鲜绿且长势良好,芽体小且生叶 |

[0062] 实施例3增殖培养实验

[0063] 实验方法:待不定芽长至1cm~2cm,将其转接到增殖培养基中采取完全随机多因素设计实验探究只往培养基中添加不同种类及浓度的细胞分裂素或不同种类及浓度的生长素对不定芽增殖的影响。该步实验以MS为基本培养基,添加的细胞分裂素种类为6-BA、TDZ、2ip、ZT,设置细胞分裂素浓度为0.5mg/L、1.0mg/L、2.0mg/L、3.0mg/L;添加的生长素种类为IBA、NAA、IAA,设置生长素浓度为0.01mg/L、0.05mg/L、0.1mg/L。进一步的,通过实验筛选出适合细叶楠不定芽增殖的细胞分裂素和生长素后,继而设计实验探究细胞分裂素和生长素浓度配比对不定芽增殖效果的影响。每个实验处理接种20瓶,5个重复。

[0064] 实验结果如表5-表7所示,由表5显示,4种细胞分裂素对不定芽的诱导效果不一,其中以3mg/L的6-BA诱导效果最好,该浓度下的6-BA诱导的不定芽多而嫩绿,叶片舒展且增殖系数高达5.83,,由表6可知,3种生长素中,浓度为0.01mg/L的IBA相比其他种类和浓度的生长效果好,其增殖的不定芽嫩绿、粗壮、叶舒展,长势较好。通过以上实验的筛选,挑选出对增殖效果有较好影响的浓度为3.0mg/L的6-BA和浓度分别为0.005mg/L、0.01mg/L、0.05mg/L的IBA做进一步实验,实验结果如表7所示,当6-BA浓度固定为3.0mg/L时,增殖系数和有效芽个数随IBA浓度的增加呈现先增加后降低的趋势,当IBA浓度为0.01mg/L时增殖系数最大和有效芽个数最多,不定芽生长状况较好。由此,通过以上实验,筛选出适合细叶楠不定芽增殖的增殖培养基为

[0065] MS+3.0mg/LNAA+0.01mg/LIBA。

[0066] 表5不同种类及浓度的细胞分裂素对不定芽增殖的影响

| | 基础培养基 | 细胞分裂素 | 浓度(mg/L) | 增殖系数 | 有效芽数(个) | 生长状况 |
|--------|-------|-------|----------|------|---------|-------------|
| | MS | 6-BA | 0.5 | 0.87 | 1.86 | 芽嫩绿,部分叶片脱落 |
| | MS | 6-BA | 1.0 | 2.83 | 2.83 | 芽嫩绿,部分叶片脱落 |
| | MS | 6-BA | 2.0 | 2.87 | 2.86 | 芽嫩绿,部分叶片脱落 |
| | MS | 6-BA | 3.0 | 5.83 | 7.83 | 芽多且嫩绿,叶片展开 |
| [0067] | MS | TDZ | 0.5 | 1.07 | 2.06 | 芽细弱,部分叶片脱落 |
| | MS | TDZ | 1.0 | 2.53 | 3.53 | 芽嫩绿,部分叶片脱落 |
| | MS | TDZ | 2.0 | 3.39 | 4.39 | 芽嫩绿,部分叶片脱落 |
| | MS | TDZ | 3.0 | 1.44 | 2.44 | 芽小,基部少量愈伤组织 |
| | MS | 2ip | 0.5 | 0.13 | 1.13 | 芽小,基部少量愈伤组织 |

| | | | | | | |
|--------|----|-----|-----|------|------|--------------|
| | MS | 2ip | 1.0 | 2.25 | 3.25 | 芽嫩绿，但细小 |
| | MS | 2ip | 2.0 | 0.33 | 1.33 | 芽细小，基部少量愈伤组织 |
| [0068] | MS | 2ip | 3.0 | 0.17 | 1.17 | 芽少且细小 |
| | MS | ZT | 0.5 | 1.33 | 2.33 | 芽较多，但细弱 |
| | MS | ZT | 1.0 | 0 | 0 | / |
| | MS | ZT | 2.0 | 0 | 0 | / |
| | MS | ZT | 3.0 | 0.33 | 1.33 | 芽少且细弱 |

[0069] 表6不同种类及浓度的生长素对不定芽增殖的影响

| | 基础培养基 | 生长素 | 浓度 (mg/L) | 增殖系数 | 有效芽数 (个) | 生长状况 |
|--------|-------|-----|-----------|------|----------|-----------------|
| | MS | IBA | 0.01 | 1.93 | 1.87 | 芽嫩绿，粗壮，叶展开，长势较好 |
| | MS | IBA | 0.05 | 1.47 | 1.32 | 芽嫩绿，较粗壮，叶展开 |
| [0070] | MS | IBA | 0.1 | 1.11 | 1.02 | 芽嫩绿，长势一般，大量愈伤 |
| | MS | NAA | 0.01 | 1.56 | 1.32 | 芽嫩绿，长势一般 |
| | MS | NAA | 0.05 | 1.32 | 1.23 | 长势一般，轻微褐化 |
| | MS | NAA | 0.1 | 1.21 | 1.12 | 芽发黄，叶片脱落 |
| | MS | IAA | 0.01 | 1.13 | 1.04 | 芽嫩绿，长势一般 |
| | MS | IAA | 0.05 | 1.03 | 1.00 | 芽嫩绿，长势一般 |
| | MS | IAA | 0.1 | 1.00 | 1.00 | 芽嫩绿，长势一般，较多愈伤 |

[0071] 表7不同激素浓度配比下的增殖效果

| | 基础培养基 | 6-BA (mg/L) | IBA (mg/L) | 增殖系数 | 有效芽个数 (个) | 生长状况 |
|--------|-------|-------------|------------|------|-----------|------------------|
| [0072] | MS | 3 | 0.005 | 5.34 | 4.56 | 芽嫩绿，较粗壮，叶展开，长势较好 |
| | MS | 3 | 0.01 | 6.84 | 6.11 | 芽嫩绿，粗壮，叶展开，长势好 |
| | MS | 3 | 0.05 | 3.54 | 3.23 | 芽发黄，长势一般 |

[0073] 实施例4生根培养实验

[0074] 实验方法：以以上实验增殖而来的不定芽为材料，待不定芽长至2cm~3cm，剪取1.5cm左右的带芽茎段接入生根培养基，其中生根培养基以1/2MS培养基为基本培养基，往基本培养基加入0.2g/LAC和分别中加入不同浓度的NAA和IBA，其浓度梯度设置为0.01mg/L、0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L、0.5mg/L。实验采取完全随机多因素设计实验筛选出最佳生根培养基的激素种类和浓度。每个实验处理接种20瓶，5个重复。

[0075] 实验结果如表8所示：由表8的实验结果显示，生根率随着NAA和IBA浓度的增加呈

现逐渐降低的趋势,由此可知,低浓度的生长素促进根的诱导,而高浓度的生长素则抑制根的诱导。此外,由表8可知,生长素NAA对根的诱导效果较IBA的诱导效果好,当NAA的浓度为0.01mg/L时其生根率高达96.5%,由此可筛选出最佳诱导生根的培养基为:1/2MS+0.2g/LAC+0.01mg/LNAA。

[0076] 表8不同浓度的IBA和NAA诱导根

| 基础培养基 | 激素 | 浓度 (mg/L) | AC (g/L) | 生根率 (%) |
|--------|-----|-----------|----------|---------|
| 1/2 MS | NAA | 0.01 | 0.2 | 96.5 |
| 1/2 MS | NAA | 0.05 | 0.2 | 83.4 |
| 1/2 MS | NAA | 0.1 | 0.2 | 75.3 |
| 1/2 MS | NAA | 0.2 | 0.2 | 43.5 |
| 1/2 MS | NAA | 0.5 | 0.2 | 32.3 |
| 1/2 MS | IBA | 0.01 | 0.2 | 65.3 |
| 1/2 MS | IBA | 0.05 | 0.2 | 62.3 |
| 1/2 MS | IBA | 0.1 | 0.2 | 54.2 |
| 1/2 MS | IBA | 0.2 | 0.2 | 32.4 |
| 1/2 MS | IBA | 0.5 | 0.2 | 15.3 |

[0078] 最后,对培养得到的组培苗进行炼苗处理,优选为将生根培养基上获得的具备移栽条件的组培苗进行炼苗,先将培养瓶移到室外遮阴棚中进行强光闭瓶炼苗15天,遮荫度70%,随后,将培养瓶盖子打开,在自然光下炼苗5天,正午光强时用荫棚遮荫避免灼伤幼苗,炼苗完成后得到细叶楠幼苗。

[0079] 以上实施例仅为本申请的优选实施例,本申请实施范围并不局限于此,本发明中的实施例及实施例中的特征在不冲突的情况下,可以相互任意组合。任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应所述以权利要求的保护范围为准。