



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108142284 A

(43)申请公布日 2018.06.12

(21)申请号 201611110432.3

(22)申请日 2016.12.06

(71)申请人 四川七彩林业开发有限公司

地址 636611 四川省巴中市南江县东榆镇
槐树村六社

(72)发明人 栗丹 曹亚琼 邓亨宁 刘少奎

曾俊 李飞 罗琳

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

11227

代理人 王学强 罗满

(51)Int.Cl.

A01H 4/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书10页

(54)发明名称

一种五小叶槭的组培快繁方法

(57)摘要

本发明公开一种五小叶槭的组培快繁方法,包括以下步骤:(1)外植体选取及灭菌:取五小叶槭枝条清洗,灭菌,切取带芽茎段得到外植体;(2)初代培养:将所述步骤(1)得到的外植体接种到初代培养基中进行初代培养,诱导腋芽生成;(3)继代培养:将所述步骤(2)得到的腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,诱导不定芽生成;(4)生根培养:继代培养:将所述步骤(3)得到的不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,得到生根苗。所用培养基配方简单,组培流程简便,培养时间短,增殖频率高,降低了人工成本,易于操作,可进行产业化生产。

1. 一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 外植体选取及灭菌:取五小叶槭枝条清洗,灭菌,切取带芽茎段得到外植体;

(2) 初代培养:将所述步骤(1)得到的外植体接种到装有初代培养基的培养瓶中进行初代培养,腋芽生成,初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.05~0.5mg/L 6-BA、0.02~0.2mg/L TDZ、10~40g/L蔗糖、4~7g/L琼脂;

(3) 继代培养:将所述步骤(2)得到的腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,不定芽生成,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.05~0.5mg/L 6-BA、0.2~1.0mg/L CPPU、10~40g/L蔗糖、4~7g/L;

(4) 生根培养:将所述步骤(3)得到的不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,得到生根苗,生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.2~1.0mg/L NAA、10~40g/L蔗糖、4~7g/L。

2. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述外植体选取及灭菌过程具体:取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的带芽茎段得到所述外植体。

3. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述初代培养过程光照强度为800~1200Lux,光照时间为14h/d.,培养温度为23~27℃。

4. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述继代培养过程和所述生根培养过程光照强度为1300~1800Lux,光照时间为14h/d.,培养温度为23~27℃。

5. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述初代培养时间为4~5周。

6. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述继代培养时间为4~5周。

7. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述生根培养时间为3~5周。

8. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.05~0.2mg/L 6-BA、0.02~0.1mg/L TDZ、10~30g/L蔗糖、4~6g/L琼脂。

9. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.05~0.2mg/L 6-BA、0.2~1.0mg/L CPPU、10~30g/L蔗糖、4~6g/L琼脂。

10. 根据权利要求1所述的一种五小叶槭的组培快繁方法,其特征在于,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.2~1.0mg/L NAA、10~30g/L蔗糖、4~6g/L琼脂。

一种五小叶槭的组培快繁方法

技术领域

[0001] 本发明涉及植物组培育苗技术领域,具体涉及一种五小叶槭的组培快繁方法。

背景技术

[0002] 五小叶槭(*Acer pentaphyllum* Diels)是槭树科槭属落叶乔木,是我国特有的国家一级保护植物。分布仅限于四川雅砻江及其支流(木里、九龙、卡拉和麦地龙)海拔2200~3000m的河谷地带。人畜活动严重威胁到五小叶槭的生存,按照世界自然保护联盟(IUCN)濒危等级标准(IUCN 1994),已属于极危物种,面临灭绝的边缘,急需抢救性保护。五小叶槭对研究槭树科植物的起源和演替具有非常重要的意义,同时也是不可多得的城镇园林景观树种。

[0003] 目前,对五小叶槭的繁育方式研究主要为种子繁殖育苗技术。该方法繁殖时间较长,材料成本较高,大量繁殖存在一定的局限性。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本申请提供一种五小叶槭的组培快繁方法,所用培养基配方简单,组培流程简便,培养时间短,增殖频率高,幼苗整齐,便于后期统一的移栽和种植管理,降低了人工成本,能保证所长出的幼苗植株在形状上的一致性,易于操作,可进行产业化生产。

[0005] 一种五小叶槭的组培快繁方法,包括以下步骤:

[0006] (1) 外植体选取及灭菌:取五小叶槭枝条清洗,灭菌,切取带芽茎段得到外植体;

[0007] (2) 初代培养:将所述步骤(1)得到的外植体接种到装有初代培养基的培养瓶中进行初代培养,生成腋芽,初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.05~0.5mg/L 6-BA、0.02~0.2mg/L TDZ、10~40g/L蔗糖、4~7g/L琼脂;

[0008] (3) 继代培养:将所述步骤(2)得到的腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,生成不定芽,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.05~0.5mg/L 6-BA,0.2~1.0mg/L CPPU,10~40g/L蔗糖,4~7g/L琼脂;

[0009] (4) 生根培养:将所述步骤(3)得到不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,得到生根苗,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.2~1.0mg/L NAA、10~40g/L蔗糖、4~7g/L琼脂。

[0010] 优选的,所述外植体选取及灭菌过程具体:取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0011] 优选的,所述酒精体积百分数为75%。

[0012] 优选的,所述升汞质量百分数为0.1%。

[0013] 优选的,所述初代培养过程光照强度为800~1200Lux,光照时间为14h/d.,培养温度为23~27℃。

[0014] 优选的,所述初代培养过程光照强度为1000Lux。

- [0015] 优选的,所述初代培养过程培养温度25℃。
- [0016] 优选的,所述继代培养过程和所述生根培养过程光照强度为1300~1800Lux,光照时间为14h/d.,培养温度为23~27℃。
- [0017] 优选的,所述继代培养过程和所述生根培养过程光照强度为1500Lux。
- [0018] 优选的,所述继代培养过程和所述生根培养过程培养温度为25℃。
- [0019] 优选的,所述初代培养时间为4~5周。
- [0020] 优选的,所述继代培养时间为4~5周。
- [0021] 优选的,所述生根培养时间为3~5周。
- [0022] 优选的,所述生根培养时间为4周。
- [0023] 优选的,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.05~0.2mg/L 6-BA、0.02~0.1mg/L TDZ、10~30g/L蔗糖、4~6g/L琼脂。
- [0024] 优选的,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1~0.2mg/L6-BA、0.05~0.1mg/L TDZ、20~30g/L蔗糖、6g/L琼脂。
- [0025] 优选的,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、6g/L琼脂。
- [0026] 优选的,所述初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5。
- [0027] 优选的,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.05~0.2mg/L 6-BA、0.2~1.0mg/L CPPU、10~30g/L蔗糖、4~6g/L琼脂。
- [0028] 优选的,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.1~0.2mg/L 6-BA、0.5~1.0mg/L CPPU、20~30g/L蔗糖、6g/L琼脂。
- [0029] 优选的,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、6g/L琼脂。
- [0030] 优选的,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.2~1.0mg/L NAA、10~30g/L蔗糖、4~6g/L琼脂。
- [0031] 优选的,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加0.5~1.0mg/L NAA、10~20g/L蔗糖、6g/L琼脂。
- [0032] 优选的,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、6g/L琼脂。
- [0033] 本申请所述WPM基本培养基为木本植物用培养基(WPM,woody plant medium),无机盐浓度适中,其它营养成分充足。能够满足植物细胞生长的营养和生理需要,特别适用于木本植物的组培快繁。
- [0034] MS基本培养基具有较高的无机盐浓度,能够保证组织生长所需的矿质营养,还能加速愈伤组织的生长,是较稳定的离子平衡溶液,它的硝酸盐含量高,其养分的数量和比例合适。本申请所述1/2MS基本培养基是MS基本培养基大量元素减半,其它成分不变。具有无机盐浓度较低,但能够保证组织生长所需的矿质营养,满足植物细胞的营养和生理需要,常用于植物组织培养。
- [0035] 本申请所述6-BA为6-苄氨基腺嘌呤,是一种植物生长调节剂,其主要作用是促进芽的形成,也可以诱导愈伤组织发生,促进细胞分裂,促进非分化组织分化,促进生物体内物质的积累,促进侧芽发生,防止老化,是植物组织和细胞培养中最常用的一种细胞分裂

素。

[0036] 所述TDZ是一种植物生长调节剂,具有很强的细胞分裂素活性,可以促进植物芽的再生和繁殖,打破芽的休眠,促进种子萌发,促进愈伤组织生长,延缓植物衰老等,可以通过对其它的植物调节剂和生理活性物质的作用来调节植物的生长发育过程,可用作植物组织培养。

[0037] 本申请所述NAA为萘乙酸,是一种植物生长调节剂,在植物使用扦插法繁殖时使用,也可用于植物组织培养,能促进细胞分裂与扩大,诱导形成不定根。

[0038] 本申请所述CPPU为氯吡脲,是一种高活性的苯基脲类衍生物,是一种全新型高效的植物生长调节剂,具有细胞分裂素活性。有促进细胞分裂和扩大、器官形成和蛋白质的合成、提高光合作用效率、增强抗逆性、延缓衰老、可促进植物花芽分化,保花保果,提高坐果率、促进果实膨大等作用。

[0039] 本申请与现有技术相比,其详细说明如下:本申请技术方案提供了一种五小叶槭的组培快繁方法,包括外植体的选取及灭菌、初代培养、继代培养、生根培养的步骤,通过对初代培养基、增殖培养基、生根培养基的筛选,得到最佳的培养基组分和配比,采用前述植物生长调节剂配比形成的培养基,配方简单,培养基成本低,配合各阶段的培养条件,得到的幼苗繁殖时间短,培养流程简便,提高了五小叶槭繁殖的效率,增殖系数可达3.0~5.0,成活率高,能快速获得遗传性状一致的五小叶槭苗,利用组织培养技术,进行外植体培养,可不受季节气候变化、自然灾害的影响,可进行大规模的工业化育苗及深加工。

具体实施方式

[0040] 为了使本领域的技术人员更好地理解本发明的技术方案,下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

[0041] 实施例1

[0042] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0043] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L 6-BA、0.05mg/L TDZ、10g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0044] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、10g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0045] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、10g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0046] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为14天,32天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为21天,32天时继代培养结束时,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,15天开始生

根,21天时根生长至3~5cm,生根率为87%。

[0047] 实施例2

[0048] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0049] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0050] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0051] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0052] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为14天,28天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为18天,28天时继代培养结束,不定芽生长至3~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,14天开始生根,21天时根生长至3~5cm,生根率为87%。

[0053] 实施例3

[0054] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0055] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、40g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0056] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、40g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0057] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、40g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0058] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为16天,30天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为21天,30天时继代培养结束,不定芽生长至3~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,16天开始生根,25天时根生长至3~5cm,生根率为80%。

[0059] 实施例4

[0060] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌

水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0061] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、4g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0062] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、4g/L琼脂,生成不定芽。

[0063] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、4g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0064] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为21天,29天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为21天,32天时继代培养结束,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,14天开始生根,22天时根生长至3~5cm,生根率为87%。

[0065] 实施例5

[0066] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0067] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、7g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0068] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程中光照强度为1500,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、7g/L琼脂,生成不定芽。

[0069] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、7g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0070] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为21天,30天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为22天,33天时继代培养结束,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,14天开始生根,23天时根生长至3~5cm,炼苗移栽生根率为85%。

[0071] 实施例6

[0072] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0073] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程光照强度为

800Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ 30g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0074] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程中光照强度为1300Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0075] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程光照强度为1300Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0076] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为23天,32天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为23天,35天时继代培养结束,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,13天开始生根,24天时根生长至3~5cm,生根率为87%。

[0077] 实施例7

[0078] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0079] 将得到的所述外植体接种到所述装有初代培养基的培养瓶中进行初代培养,培养过程光照强度为1200Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0080] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程中光照强度为1800Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0081] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程中光照强度为1800Lux,光照时间为14h/d,培养温度为25℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0082] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为21天,29天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为21天,30天时继代培养结束,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,11天开始生根,24天时根生长至3~5cm,生根率为85%。

[0083] 实施例8

[0084] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0085] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程中光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为23℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0086] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为23℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0087] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为23℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0088] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为21天,32天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为23天,33天时继代培养结束,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,16天开始生根,26时根生长至3~5cm,生根率为85%。

[0089] 实施9

[0090] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0091] 将得到的所述外植体接种到所述初代培养基中进行培养,培养过程中光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d,培养温度为27℃,所述初代培养基组成包括:1/2MS基本培养基,附加0.1mg/L6-BA、0.05mg/L TDZ、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,初代培养基灭菌前pH为5.5~6.5,生成腋芽;

[0092] 将所述得到的所述腋芽接种到增殖培养基中进行继代培养,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为27℃,所述增殖培养基组成包括:WPM基本培养基,补充0.1mg/L 6-BA、0.5mg/L CPPU、30g/L蔗糖、6g/L琼脂,生成不定芽。

[0093] 不定芽接种到生根培养基中进行生根培养,培养过程光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为27℃,所述生根培养基组成包括:WPM基本培养基,附加NAA0.5mg/L、20g/L蔗糖、6g/L琼脂,得到生根苗,进行炼苗移栽。

[0094] 本实施例中,初代培养过程中,第一个腋芽生成的时间为21天,29天时初代培养结束,腋芽生长至2.5~3.5cm;继代培养过程中,第一个不定芽生成的时间为20天,30天时继代培养结束,不定芽生长至2~5cm,增殖系数为3.0~5.0;生根培养过程中,15天开始生根,24天时根生长至3~5cm,生根率为87%。

[0095] 实施例10

[0096] 初代培养基中植物生长调节剂成分和浓度对五小叶槭腋芽生长的影响

[0097] 取五小叶槭幼嫩枝条,去除叶片,用体积百分数为75%的酒精振荡处理30s,无菌水清洗1次,再用升汞振荡处理6~10min,无菌水清洗3~5次,无菌滤纸吸去水分,剪切成1~2cm的所述带芽茎段得到所述外植体。

[0098] 取生长情况一致的外植体若干,经过灭菌晾干后接种到初代培养基上,培养过程中光照强度为1000Lux,光照时间为14h/d培养温度为23~27℃。其中初代培养基采用1/2MS基本培养基,附加6-BA、NAA、蔗糖、琼脂。在1/2MS基本培养基,附加的蔗糖,琼脂均相同的条件下,根据植物生长调节剂的成分和浓度进行分组,观察并记录接种4~5周后培养基中外植体的培养情况,具体分组及培养结果见表1。

[0099] 表1初代培养基中植物生长调节剂成分和浓度对五小叶槭腋芽生长的影响结果

[0100]

分组	6-BA(mg/L)	TDZ(mg/L)	接种数(个)	分化(个)	分化率(%)	平均腋芽长度(cm)
1	0.05	-	30	22	73.33	1.5
2	0.1	-	30	25	83.33	2
3	0.15	-	30	23	76.67	1.6
4	0.2	-	30	23	76.67	1.7
5	0.5	-	30	20	66.67	1.4
6	-	0.02	30	18	60	1
7	-	0.05	30	19	63.33	1.2
8	-	0.07	30	19	63.33	1.1
9	-	0.1	30	17	56.67	1.1

[0101]

10	-	0.2	30	10	33.33	0.8
11	0.05	0.02	30	25	83.33	2.2
12	0.1	0.05	30	29	96.67	3
13	0.15	0.07	30	28	93.33	2.7
14	0.2	0.1	30	27	90	2.7
15	0.5	0.2	30	21	70	1.6

[0102] 从上表可以看出,6-BA和TDZ同时使用比二者任一单用时的分化率普遍要高,平均腋芽长度也更长;6-BA为0.01mg/L,TDZ为0.05mg/L时,分化率最高,为初代培养基的最适合的植物生长调节剂组成条件。

[0103] 实施例11

[0104] 增殖培养基中植物生长调节剂成分和浓度对五小叶槭增殖的影响

[0105] 取生长情况一致的经过初代培养的腋芽若干,接种到增殖培养基上培养4~5周,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为23~27℃。其中增殖培养基采用WPM基本培养基,附加6-BA、CPPU、蔗糖、琼脂;在WPM基本培养基,附加的蔗糖,琼脂均相同的条件下,根据植物生长调节剂的成分和浓度进行分组,观察并记录培养基中腋芽的培养情况,具体分组及培养结果见表2。

[0106] 表2增殖培养基中植物生长调节剂成分和浓度对增殖的影响结果

[0107]

分组	6-BA(mg/L)	CPPU(mg/L)	接种数(个)	增殖数(个)	增殖系数	平均不定芽株高(cm)
1	0.05	-	30	30	1	1
2	0.1	-	30	35	1.17	1.5
3	0.15	-	30	38	1.27	2
4	0.2	-	30	37	1.23	2
5	0.5	-	30	35	1.17	1.6
6	-	0.2	30	45	1.5	2
7	-	0.5	30	60	2	3
8	-	0.8	30	50	1.67	2.5
9	-	1	30	47	1.57	2
10	0.05	0.2	30	90	3	3
11	0.1	0.5	30	150	5	5

[0108]

12	0.15	0.8	30	120	4	4
13	0.2	1	30	90	3	4
14	0.5	1	30	60	2	3

[0109] 从上表可以看出,6-BA、CPPU同时使用比二者任一种单独使用时的增殖率要高得多,平均株高也更高;二者同时使用,6-BA为0.1mg/L, CPPU为0.5mg/L时,其增殖率最高,为增殖培养基的最适合的植物生长调节剂组成条件。

[0110] 实施例12

[0111] 生根培养基中植物生长调节剂浓度对生根的影响

[0112] 取生长情况一致的经过增殖培养的不定芽的单株若干,接种到生根培养基上培养3~5周,培养过程中光照强度为1500Lux,光照时间为14h/d,培养温度为23~27℃。其中生根培养基采用WPM基本培养基,附加NAA,蔗糖,琼脂。在WPM基本培养基,附加的蔗糖,琼脂均相同的条件下,根据植物生长调节剂的浓度进行分组,观察并记录培养基中不定芽的培养情况,并将不定芽生根培养得到的生根苗进行炼苗移栽。记录生根率,具体分组、培养结果和生根率见表3。

[0113] 表3生根培养基中植物生长调节剂成分和浓度对生根的影响结果

[0114]

分组	NAA(mg/L)	接种数(个)	生根数(个)	平均生根数(条/株)	平均根长(cm)	生根率(%)
1	0.2	30	24	3	3	80
2	0.5	30	26	5	5	87
3	0.7	30	24	4	4	80
4	1	30	25	3	3	83

[0115] 从上表可以看出,NAA浓度为0.2~1mg/L时,能有效生根,NAA浓度为0.5mg/L时,其生根率达到87%,且长势较好,平均生根数和平均根长均较高,为生根培养基的最适合的植

物生长调节剂浓度。

[0116] 以上仅是本发明的优选实施方式,应当指出的是,上述优选实施方式不应视为对本发明的限制,本发明的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明的精神和范围内,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。