



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106069748 B

(45)授权公告日 2018.06.01

(21)申请号 201610397201.9

审查员 马彧博

(22)申请日 2016.06.07

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106069748 A

(43)申请公布日 2016.11.09

(73)专利权人 江苏东郁园林科技有限公司

地址 214196 江苏省无锡市锡山区安镇街
道无锡高科技农业示范园内

(72)发明人 胡春宏 常莘 王婷婷 季翔

(74)专利代理机构 上海金盛协力知识产权代理
有限公司 31242

代理人 罗大忱

(51)Int.Cl.

A01H 4/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书7页

(54)发明名称

美国红枫十月辉煌的商用组织培养种苗繁育方法

(57)摘要

本发明提供了一种美国红枫“十月辉煌”的商用组织培养种苗繁育方法,包括如下步骤:(1)选择苗木个体嫩梢,除去叶片及过长叶柄,消毒,切除死亡部分;(2)接种于启动培养基中培养;(3)将萌发的腋芽,沿茎段纵向切成单个芽,接种于固体增殖培养基中增殖培养;(4)将增殖出的团芽,分割后转移到壮苗培养基中进行壮苗培养;(5)将经过壮苗培养的组培苗,切除底部茎段,茎段插入生根培养基中诱导生根培养;(6)将进行生根培养的组培苗在温室中驯化移栽,获得商品种苗。本发明为一种经济可行,性状稳定、种苗整齐的、能够应用于大规模商业生产的木本植物组织培养方法,能够满足商业化苗木生产的需求。

1. 美国红枫“十月辉煌”的商用组织培养种苗繁育方法,其特征在於,包括如下步骤:

(1) 选择生长年限为3~4年苗木个体的春季自然萌发的未木质化的苗木个体嫩梢,嫩梢取材长度为10~15cm,具3~4节间;除去叶片及过长叶柄,消毒后,切除叶柄及茎段上下切口死亡部分,保留形态学上端0.8~1.2cm,下端1.0~2.0cm;

(2) 将消毒好的外植体接种于启动培养基中培养;

培养方法如下:20~30℃暗光培养40~60小时,然后给光照1200~1800LUX,光周期12~20/8h,培养2~4周,休眠腋芽萌发;

所述的启动培养基,以水为溶剂,含有如下配比的组分:

WPM 1~2g/L

TDZ 0.005~0.01 mg/L

GA₃ 2.5~3.5 mg/L

蔗糖 15~30g/L

琼脂 5.5~7.0g/L

PH值为5.50~6.00;

(3) 将启动培养萌发的腋芽,沿茎段纵向切成单个芽,接种于固体增殖培养基中培养,获得增殖出的团芽;

培养方法如下:20~30℃暗培养40~60小时,然后给光照,1200~1800LUX,光周期12~20/8h,培养3~5周,获得增殖出的团芽;

每4周将增殖出的团芽分割成单个芽,并重新接种于增殖培养基中,扩量增殖;

所述的固体增殖培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

1/2WPM 1~2g/L

TDZ 0.0025~0.01mg/L

IAA 0.1~0.5mg/L

KT 0.01~0.1mg/L

蔗糖 20~30g/L

琼脂 5.0~7.0g/L

PH值为5.50~6.00;

(4) 将在增殖培养基中增殖出的团芽,分割后转移到壮苗培养基中,培养获得壮苗培养的组培苗;

培养方法如下:光照2000~3000LUX,光周期12~20/8h,20~30℃培养5~7周,获得壮苗培养的组培苗;

所述的壮苗培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

1/2WPM 1~2g/L
蔗糖 20~30g/L
琼脂 5.0~7.0g/L
PH值为5.50~6.00;

(5) 将经过壮苗培养的组培苗, 切除茎段底部3~5mm的茎段, 茎段竖直插入生根培养基培养8~10mm, 光照2000~3000LUX, 光周期12~20/8h, 20~30℃, 培养2~5周, 获得生根培养组培苗;

所述的生根培养基, 以水为溶剂, 包括如下配比的组分:

WPM 2~3g/L, 优选 2.7g/L
IBA 0.5~1.0mg/L
AC 0.5~1.0g/L
蔗糖 15~30g/L
琼脂 5.0~7.0g/L

PH值为5.50~6.00;

(6) 将进行生根培养的组培苗在温室中驯化, 获得商品种苗;

驯化方法如下, 覆盖85%遮光率遮阳网, 覆盖两层, 保持5~10天, 然后遮盖1层85%遮光率遮阳网5~10天。

2. 根据权利要求1所述的方法, 其特征在于, 步骤(1)中, 所述的消毒方法, 包括如下步骤: 用酒精棉擦拭外植体表面灰尘, 然后置于1:2.5~3.5, 中漂洗10~20分钟, 然后置于无菌水中漂洗2~4次, 静置1~3分钟, 再吸干表面明水;

或者, 消毒方法包括如下步骤:

采用双氧水或次氯酸钠消毒, 消毒条件为: 双氧水重量浓度为5%~15%, 消毒时间为10~30分钟, 次氯酸钠重量浓度为2%~15%, 消毒时间为5~30分钟, 吸干表面明水。

3. 根据权利要求1或2所述的方法, 其特征在于, 还包括移栽步骤(7):

移栽前2~4天, 通风, 保持温室内温度为13~35℃;

将步骤(6)经过驯化的组织培养种苗移栽于林木托盘中, 移栽介质配置为珍珠岩: 蛭石为1:1体积比;

移栽完成后, 立即550~650目, 喷头浇透水, 覆盖塑料薄膜和95%遮阳网2~4天, 移除塑料薄膜, 覆盖单层90%遮阳网再培养3~7天;

然后移除遮阳网, 550~650目, 喷头补肥水进行叶面施肥, 叶面肥用20-20-20速效肥, EC值为0.6ms/cm, 晴天每天上午10点喷施一次, 半个月后正常养护。

美国红枫十月辉煌的商用组织培养种苗繁育方法

技术领域

[0001] 本发明涉及美国红枫“十月辉煌”商业大规模组织培养的种苗繁育方法。

背景技术

[0002] 美国红枫“十月辉煌”, *Acer rubrum* 'October Glory' 是一种槭树科槭树属红花槭木类的木本植物植物, 是美国红枫改良园艺种中的一种。是落叶大乔木, 生长最快, 适应性极强, 耐寒、耐旱、耐湿。酸性至中性的土壤使秋色更艳。对有害气体抗性强, 尤其对氯气的吸收力强。被广泛应用于公园、小区、街道栽植, 既可以园林造景又可以做行道树, 深受人们的喜爱, 是近几年引进的美化、绿化城市园林的理想珍稀树种之一。也是唯一可以用做行道树的彩叶树种。目前, 可通过扦插繁殖和播种繁殖途径获得美国红枫“十月辉煌”种苗, 随着近些年园林绿化和城市景观的发展, 其在城市景观中用作降尘植物作用日益突出, 苗木使用量越来越大。

[0003] 植物组织培养技术最早引进是由我国各大学科研机构从国外引进, 经过将近50年的科学研究, 特别是近20年以来, 随着对种子种苗质量要求的提高, 特别是在观赏草本植物领域获得大力推广, 并迅速商业化, 目前我国年产组培种苗(种球)超过30亿株(粒), 但主要集中在草本观赏园艺植物、马铃薯、草莓等草本经济作物方面。

[0004] 由于木本植物更长的生理年限, 更多的染色体数、高度的皮层与木质部分化, 以及科研教育体制等因素, 我国众多研究单位进行的大量研究成果脱离于商业生产的经济可行性, 性状稳定性、种苗整齐度等各项指标, 无法应用于大规模商业生产。利用木本植物组织培养技术进行种苗繁育的商业活动只在最近几年随着市场对批次整齐、性状一致的商业苗木需求量持续增加才刚刚开始。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种美国红枫十月辉煌的组织培养种苗繁育方法, 以克服现有技术存在的缺陷, 满足商业种苗繁育领域发展的需要。

[0006] 本发明的方法, 包括如下步骤:

[0007] (1) 外植体选取: 选择生长年限为3~4年苗木个体的春季自然萌发的未木质化的嫩梢, 嫩梢取材长度为10~15cm, 具3~4节间;

[0008] 除去叶片及过长叶柄, 消毒;

[0009] 优选的, 所述的消毒方法, 包括如下步骤:

[0010] 用酒精棉擦拭外植体表面灰尘, 然后置于1:2.5~3.5, 优选1:3的漂白水(商品漂白水: 无菌水, 体积比)中漂洗10~20分钟, 优选15分钟, 期间轻轻摇晃3~5次, 然后置于无菌水中漂洗2~4次, 静置1~3分钟, 再用无菌滤纸上吸干表面明水, 切除叶柄及茎段上下切口死亡部分, 保留形态学上端0.8~1.2cm, 优选1cm, 下端1.0~2.0cm, 优选1.5cm;

[0011] 或者, 消毒方法包括如下步骤:

[0012] 采用双氧水或次氯酸钠消毒, 消毒条件为: 双氧水浓度为5%~15%, 消毒时间为

10~30分钟,次氯酸钠重量浓度为2%~15%,消毒时间为5~30分钟,再用无菌滤纸上吸干表面明水;

[0013] (2) 启动培养:将消毒好的外植体接种于启动培养基中,并转移到培养室中,20~30℃,优选25℃,暗光培养40~60小时,优选48小时,然后给光照1200~1800LUX,优选1500LUX,光周期12~20/8h,优选16/8h,进行启动培养2~4周,优选3周,休眠腋芽萌发,启动培养完成;

[0014] 所述的启动培养基,以水为溶剂,含有如下组分:

WPM 1~2g/L, 优选 1.35g/L

TDZ 0.005~0.01 mg/L

[0015] GA₃ 2.5~3.5 mg/L

蔗糖 15~30g/L

琼脂 5.5~7.0g/L

[0016] PH值5.50~6.00,优选5.80;

[0017] 该配方能够快速打破腋芽休眠,促进腋芽萌发,同时能够有效避免愈伤组织的产生。

[0018] 所述的WPM来源于市售预制好的WPM成品,含各种化学营养成分和微量元素,但不含蔗糖及琼脂;1/2WPM指的是称量1/2质量的市售WPM成品;

[0019] 所述的TDZ来源于市售进口分装TDZ(中文名“噻苯隆”药品,分析纯),烈性细胞分裂素类物质;

[0020] 所述的GA₃来源于市售进口分装GA₃(中文名赤霉素),是赤霉素类物质的一种,植物生长调节剂的一种,主要用于打破植物休眠。

[0021] (3) 增殖培养:将启动培养萌发的腋芽,沿茎段纵向切成单个芽,接种于固体增殖培养基中,20~30℃,优选25℃,暗培养40~60小时,优选48小时,然后给光照,1200~1800LUX,优选1500LUX,光周期12~20/8h,优选16/8h,增殖培养3~5周,优选4周,增殖倍率达3倍,获得增殖出的团芽,优选的,每4周将增殖出的团芽分割成单个芽,并重新接种于增殖培养基中,扩量增殖;

[0022] 所述的固体增殖培养基,以水为溶剂,含有如下组分:

WPM 1~2g/L, 优选 1.35g/L

TDZ 0.0025~0.01mg/L

IAA 0.1~0.5mg/L

[0023]

KT 0.01~0.1mg/L

蔗糖 20~30g/L

琼脂 5.0~7.0g/L

- [0024] PH值为5.50~6.00,优选5.80;
- [0025] 所述的IAA来源于市售进口分装IAA药品,中文名为吲哚乙酸,分析纯;
- [0026] 所述的KT来源于市售进口分装KT药品,中文名为激动素,分析纯;
- [0027] 该配方能够保障腋芽增殖人为可控,增殖倍率为3--4倍,且芽体健壮,玻璃化率低于0.1%;
- [0028] (4) 壮苗培养:将在增殖培养基中增殖出的团芽,分割后转移到壮苗培养基中,光照2000~3000LUX,优选2500LUX,光周期12~20/8h,优选16/8h,20~30℃,优选25℃,培养5~7周,优选6周,单个芽生长健壮,并且生长高度达到3cm,获得壮苗培养的组培苗;
- [0029] 所述的壮苗培养基,以水为溶剂,含有如下组分:
- [0030] WPM 1~2g/L,优选1.35g/L
- [0031] 蔗糖 20~30g/L
- [0032] 琼脂 5.0~7.0g/L
- [0033] PH值为5.50~6.00,优选5.80;
- [0034] (5) 生根培养:将经过壮苗培养的组培苗,切除茎段底部3~5mm的茎段,茎段插入生根培养基8~10mm,竖直插入,光照2000~3000LUX,优选2500LUX,光周期12~20/8h,优选16/8h,20~30℃,优选25℃,培养2~5周,优选3周,每株植株具有有效健壮根2~5条,根长20~40mm,无侧根,获得生根培养组培苗;
- [0035] 所述的生根培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:
- WPM 2~3g/L, 优选 2.7g/L
- IBA 0.5~1.0mg/L
- [0036] AC 0.5~1.0g/L
- 蔗糖 15~30g/L
- 琼脂 5.0~7.0g/L
- [0037] PH值为5.50~6.00,优选5.80;
- [0038] 所述的IBA来源于市售进口分装IBA药品,中文名为吲哚丁酸,分析纯;
- [0039] AC来源于市售进口分装AC药品,中文名为活性炭,超细粉末,竹炭;
- [0040] 该配方能够促进植物产生的根与植物体结构相连,避免从愈伤组织上产生假性根,且生长出的根粗壮、无侧根,能够在移栽时降低损伤、快速成活。
- [0041] (6) 驯化:将进行生根培养3周的组培苗转移到温室中,覆盖85%遮光率遮阳网,覆盖两层,保持5~10天,优选7天,然后遮盖1层85%遮光率遮阳网5~10天,优选7天,即可促使美国红枫“十月辉煌”的组培苗适应变温及自然光照环境,即可获得种苗;
- [0042] 优选的,还包括步骤(7) 移栽:
- [0043] 移栽前2~4天,优选3天,通风,保持温室内温度为13~35℃,优选18--26℃;
- [0044] 将步骤(6) 经过驯化的组织培养种苗移栽于72穴林木托盘中,移栽介质配置为珍珠岩:蛭石为1:1体积比;
- [0045] 移栽完成后,立即550~650目,优选600目喷头浇透水,覆盖塑料薄膜和95%遮阳网2~4天,优选3天,移除塑料薄膜,覆盖单层90%遮阳网再培养3~7天,优选5天;

[0046] 然后移除遮阳网,550~650目,优选600目喷头补肥水进行叶面施肥。叶面肥用20-20-20速效肥,EC值为0.6ms/cm,晴天每天上午10点喷施一次,半个月后正常养护。

[0047] 20-20-20速效肥所述的速效肥为美国peters品牌20-20-20水溶性均衡肥

[0048] 本发明的有益效果是:为一种经济可行,性状稳定性、种苗整齐的、能够应用于大规模商业生产的木本植物组织培养方法,能够满足商业化苗木生产的需求。

具体实施方式

[0049] 实施例1

[0050] (1) 外植体选取:选择温室生长年限为4年生苗木个体的春季自然萌发的未木质化的嫩梢,嫩梢取材长度为15cm,具4节间;去除叶片及过长叶柄,消毒;消毒方法如下:

[0051] 用酒精棉擦拭外植体表面灰尘,然后置于1:3的漂白水(商品漂白水:无菌水,体积比)中漂洗15分钟,期间轻轻摇晃4次,然后置于无菌水中漂洗3次,静置2分钟,再用无菌滤纸上吸干表面明水,切除叶柄及茎段上下切口死亡部分,保留形态学上端1cm,下端1.5cm;

[0052] (2) 启动培养:将消毒好的外植体接种于启动培养基中,并转移到培养室中,25℃,暗光培养48小时,然后给光照1500LUX,光周期16/8h,进行启动培养3周,休眠腋芽萌发,启动培养完成。

[0053] 所述的启动培养基,以水溶剂,包括如下配比的组分:

WPM 1.35g/L

TDZ 0.005mg/L

[0054] GA₃ 2.5 mg/L

蔗糖 30g/L

琼脂 6.5g/L

[0055] PH值5.80。

[0056] (3) 增殖培养:将启动培养萌发的腋芽,沿茎段纵向切成单个芽,接种于固体增殖培养基中,25℃,暗培养48小时,然后给光照1500LUX,光周期16/8h,增殖培养4周,获得增殖出的团芽,或者每4周将增殖出的团芽分割成单个芽,并重新接种于增殖培养基中,扩量增殖。

[0057] 所述的固体增殖培养基,以水溶剂,包括如下配比的组分:

[0058] WPM 1.35g/L

TDZ 0.005mg/L

IAA 0.1mg/L

[0059] KT 0.01mg/L

蔗糖 30g/L

琼脂 6.5g/L

[0060] PH值为5.80。

[0061] (4) 壮苗培养:将在增殖培养基中增殖出的团芽,分割后转移到壮苗培养基中,光照2500LUX,光周期16/8h,25℃,培养6周,单个芽生长健壮,并且生长高度达到3cm,获得壮苗培养的组培苗。

[0062] 所述的壮苗培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

[0063] WPM 1.35g/L

[0064] 蔗糖 30g/L

[0065] 琼脂 6.5g/L

[0066] PH值为5.80。

[0067] (5) 生根培养:将经过壮苗培养的组培苗,切除茎段底部3mm的茎段,茎段插入生根培养基8—10mm,竖直插入,,光照2500LUX,光周期16/8h,25℃,培养6周,每株植株具有有效健壮根2条,根长10—30mm,无侧根,获得生根培养组培苗。

[0068] 所述的生根培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

WPM 2.7g/L

[0069] IBA 0.5mg/L

AC 1.0g/L

蔗糖 20g/L

[0070]

琼脂 6.5g/L

[0071] PH值为5.80。

[0072] (6) 驯化:将进行生根培养6周的组培苗转移到温室中,覆盖85%遮光率遮阳网,覆盖两层,保持7天,然后遮盖1层85%遮光率遮阳网7天,即可促使美国红枫“十月辉煌”的组培苗适应变温及自然光照环境。

[0073] (7) 移栽:

[0074] 移栽前3天,通风,保持温室内温度为18—26℃;

[0075] 将步骤(6)经过驯化的组织培养种苗移栽于72穴林木托盘中,移栽介质配置为珍珠岩:蛭石为1:1体积比;

[0076] 移栽完成后,立即600目喷头浇透水,覆盖塑料薄膜和95%遮阳网3天,移除塑料薄膜,覆盖单层90%遮阳网再培养4天;

[0077] 然后移除遮阳网,600目喷头补肥水进行叶面施肥。叶面肥用20:20:20速效肥,EC值为0.6ms/cm,晴天每天上午10点喷施一次,半个月后正常养护。

[0078] 实施例2

[0079] (1) 外植体选取:选择生长年限为3年苗木个体的春季自然萌发的未木质化的嫩梢,嫩梢取材长度为10cm,具3节间;

[0080] 除叶片及过长叶柄,消毒;消毒方法如下:

[0081] 用双氧水消毒,消毒条件为:双氧水浓度为10%,消毒时间为20分钟,再用无菌滤纸上吸干表面明水;

[0082] (2) 启动培养:将消毒好的外植体接种于启动培养基中,并转移到培养室中,25℃,暗光培养48小时,然后给光照1500LUX,光周期16/8h,进行启动培养3周,休眠腋芽萌发,启动培养完成。

[0083] 所述的启动培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

WPM 1.35g/L

TDZ 0.005mg/L

[0084] GA₃ 2.5 mg/L

蔗糖 30g/L

琼脂 6.5g/L

[0085] PH值5.80。

[0086] (3) 增殖培养:将启动培养萌发的腋芽,沿茎段纵向切成单个芽,接种于固体增殖培养基中,25℃,暗培养48小时,然后给光照1500LUX,光周期16/8h,增殖培养4周,获得增殖出的团芽,或者每4周将增殖出的团芽分割成单个芽,并重新接种于增殖培养基中,扩量增殖。

[0087] 所述的固体增殖培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

WPM 1.35g/L

TDZ 0.005mg/L

IAA 0.1mg/L

[0088]

KT 0.01mg/L

蔗糖 30g/L

琼脂 6.5g/L

[0089] PH值为5.80。

[0090] (4) 壮苗培养:将在增殖培养基中增殖出的团芽,分割后转移到壮苗培养基中,光照2500LUX,光周期16/8h,25℃,培养6周,单个芽生长健壮,并且生长高度达到3cm,获得壮苗培养的组培苗。

[0091] 所述的壮苗培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

[0092] WPM 1.35g/L

[0093] 蔗糖 30g/L

[0094] 琼脂 6.5g/L

[0095] PH值为5.80。

[0096] (5) 生根培养:将经过壮苗培养的组培苗,切除茎段底部3mm的茎段,茎段插入生根培养基8—10mm,竖直插入,,光照2500LUX,光周期16/8h,25℃,培养6周,每株植株具有有效健壮根2条,根长10—30mm,无侧根,获得生根培养组培苗。

[0097] 所述的生根培养基,以水为溶剂,包括如下配比的组分:

WPM 2.7g/L

IBA 0.5mg/L

[0098] AC 1.0g/L

蔗糖 20g/L

琼脂 6.5g/L

[0099] PH值为5.80。

[0100] (6) 驯化:将进行生根培养6周的组培苗转移到温室中,覆盖85%遮光率遮阳网,覆盖两层,保持7天,然后遮盖1层85%遮光率遮阳网7天,即可促使美国红枫“十月辉煌”的组培苗适应变温及自然光照环境。

[0101] (7) 移栽:

[0102] 移栽前3天,通风,保持温室内温度为18—26℃;

[0103] 将步骤(6)经过驯化的组织培养种苗移栽于72穴林木托盘中,移栽介质配置为珍珠岩:蛭石为1:1体积比;

[0104] 移栽完成后,立即600目喷头浇透水,覆盖塑料薄膜和95%遮阳网3天,移除塑料薄膜,覆盖单层90%遮阳网再培养4天;

[0105] 然后移除遮阳网,600目喷头补肥水进行叶面施肥。叶面肥用20-20-20速效肥,EC值为0.6ms/cm,晴天每天上午10点喷施一次,半个月后正常养护。