



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102440130 A

(43) 申请公布日 2012. 05. 09

(21) 申请号 201110284473. 5

(22) 申请日 2011. 09. 22

(71) 申请人 澄思源生物科技(上海)有限公司
地址 200082 上海市杨浦区鞍山支路9号
296室

(72) 发明人 朱恩灿 魏渊源

(74) 专利代理机构 上海伯瑞杰知识产权代理有
限公司 31227

代理人 吴泽群

(51) Int. Cl.

A01G 1/00(2006. 01)

A01C 21/00(2006. 01)

C05G 3/00(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

一种铁皮石斛种子的自然繁殖方法

(57) 摘要

本发明公开了一种石斛种子的自然繁殖方法,具体是通过:1)果实的选择;2)培育基质的筛选;3)环境的综合控制;4)营养生理的研究与应用;5)微生态环境的控制来实现。通过本发明技术方案具有以下有益效果:石斛种子自然繁殖技术降低了种苗快繁成本,发挥石斛果实种子量大的优势,通过营养液喷施和微生态环境控制弥补种胚细小、发育不完全和无胚乳的缺点。依托现代设施栽培技术综合调控石斛生长最适的环境因素,提高种子萌发率,促进植株生长,实现种胚的培育从试管内走向试管外,以满足投资成本低、操作简单、开放式的种苗快繁途径,推动石斛产业发展。

1. 一种石斛种子的自然繁殖方法,其特征在于:具体步骤如下:

1) 果实的选择:我们选择果实饱满、100%成熟、自然开裂的种子;

2) 培育基质的筛选:利用木材加工的边皮废料或石棉瓦作底构建苗床,以锯木屑、碎树皮、珍珠岩作为基质。苗床高 10-15cm、床宽 1-1.2m、支架高 0.8-1.0m;基质厚度 5-10cm;

3) 环境的综合控制:生长温度白天为 16 ~ 21℃,夜间温度为 10 ~ 13℃,昼夜温差保持在 10 ~ 15℃;空气相对湿度保持 77-83%较适宜,忌干燥、积水;

4) 营养生理的应用:通过弥雾的方式给种胚补充萌发和生长所必需的营养元素,营养液为无土栽培的全价营养液培养,或者 MS 的去糖配方,激素可灵活添加;种子萌发期间,有光照的白天,每隔 1h 喷碳酸水和富氧水 1min,在整个育苗期内如此循环;种子萌发后幼苗期,有光照的白天用去糖 MS 培养液和 0.2 ~ 0.5mg/L 的 NAA 混合液,每 6h 喷洒一次;新芽初期,轮换每周喷施一次高磷钾肥和一次平衡肥;生长期,每周喷施一下平衡肥;生长后期,喷施平衡肥和高磷钾肥交替使用,在采收前 2 个月停止施肥,也可配合使用农家肥上清液或者采用缓释肥代替喷施叶面肥。

2. 根据权利要求 1 所述的一种石斛种子的自然繁殖方法,其特征在于:步骤 3) 中,以夏秋遮光 70%、冬季遮光 30 ~ 50%。

3. 根据权利要求 1 所述的一种石斛种子的自然繁殖方法,其特征在于:步骤 4) 中,所述的碳酸水的 CO₂ 浓度为 2400mg/kg,富氧水含氧量为 60mg/kg。

4. 根据权利要求 1 所述的一种石斛种子的自然繁殖方法,其特征在于:步骤 4) 中,新芽初期,所述的高磷钾肥的氮、磷、钾配比为 30 : 10 : 10,浓度为 2 克 / 升;所述的平衡肥的氮、磷、钾配比为 1 : 1 : 1,浓度为 2 克 / 升。

5. 根据权利要求 1 所述的一种石斛种子的自然繁殖方法,其特征在于:步骤 4) 中,生长期,所述的平衡肥的氮、磷、钾配比为 1 : 1 : 1,浓度为 2 克 / 升。

6. 根据权利要求 1 所述的一种石斛种子的自然繁殖方法,其特征在于:步骤 4) 中,生长期,若叶态黄,苗体弱则中间补施氮、磷、钾配比为 30 : 10 : 10 浓度为 2 克 / 升的高氮肥;若叶态浓绿,茎杆细长则中间补充 1 ~ 2 次氮、磷、钾配比为 15 : 20 : 25 浓度为克 / 升的平衡肥。生长后期,采用喷施氮、磷、钾配比为 1 : 1 : 1 的平衡肥和 15 : 20 : 25 的高磷钾肥交替使用,在采收前 2 个月停止施肥,也可配合使用农家肥上清液或者采用缓释肥代替喷施叶面肥。

一种铁皮石斛种子的自然繁殖方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种石斛的非试管快繁方法,具体为一种石斛种子的自然繁殖方法,属于生物技术领域。

背景技术

[0002] 石斛属 (*Dendrobium*) 是兰科第 2 大属,全球有 1500 多种,我国在原来 74 种 2 变种的基础上,增加了 10 个新种,即 86 种(变种),可供药用的有 50 多种。中药石斛始载于《神农本草经》,列为上品,具有益胃生津、滋阴清热、润肺止咳的功效。其中铁皮石斛的营养价值最高,其价格也是最高的。种苗快繁方式以组培快繁为主,分株、扦插和高芽繁殖为辅。但是,组培技术成本高、投入大、技术要求严格。针对这些问题,我们在各育苗方法对比调查研究的基础上,提出一种新的种苗快繁途径—铁皮石斛种子自然繁殖技术,它具有操作简单、移栽成活率高、培育成本低等优点。

[0003] 石斛种子自然繁殖技术即在开放式环境下,为石斛种胚的发育提供适宜的基质、共生真菌、温、光、气、热、营养、激素等环境,让种胚发育成为完整植株的一种新型育苗技术。植物非试管快繁技术是一项利用计算机自动控制技术为植物离体材料创造最佳的温、光、气、热、营养、激素环境,让植物组织的全息性、全能性得以表达,发育成为完整植物的技术。其最为显著的特点是在开放式环境下为植物离体材料的发育提供最佳的环境条件,既摒弃了试管快繁的高投入、难操作、易感染、炼苗难等缺点,又具备了繁殖材料省、繁殖系数高、操作工艺简单、易学实用等优点。目前,该技术在农业生产、园艺和药用植物的种苗快繁上已得到广泛应用。

[0004] 铁皮石斛种子细小,呈粉末状。每个蒴果含有数万至数十万粒种子,种子呈橄榄形,种皮为 1 层透明的薄壁细胞,有加厚的环纹,内有一细小的圆形胚,分化不明显,处于原胚阶段。种子长 200 ~ 450 μm ,宽 90 ~ 150 μm ,粒重 1 μg 左右。由于种胚的发育没有超过球形阶段,又缺乏胚乳组织,必须飘落到非常适宜的环境与真菌共生才能萌发,自然条件下的发芽率不及 5%,萌发的石斛种子生长发育十分缓慢,起初仅为一细小的绿珠,光合作用的面积很小,光合强度低,对生境条件要求十分严格。目前,主要在试管内进行种胚无菌播种,其萌发率较高,成熟种胚的萌发率可达 90% 以上。铁皮石斛的种胚无菌播种需要在培养基中加入蔗糖以满足种胚发育对碳源的需求,而加入糖后的培养基容易被污染,只能在密封的培养瓶里进行培养,并进行严格的消毒杀菌和繁琐的技术操作。其缺点主要表现在以下 4 个方面:①组培技术难度大,工作人员必须经过严格的培训方能操作。②要实现壮苗并提高移栽成活率有很多技术关键因素,需要不断优化条件和长期的探索,研究人员不愿将技术拱手让给别人特别是同行竞争者,缺少沟通和交流,技术保密性较强。③耗费巨大的人力、动力和空间,成本较高。④移栽成活率低,尽管石斛的组培技术有了突破性进展,但是行内技术层次不齐,很多生产商或药农的试管苗移栽成活率还有待提高。

[0005] 针对这些问题,我们在各育苗方法对比调查研究的基础上,提出一种新的种苗快繁途径——石斛种子自然繁殖技术,它具有操作简单、移栽成活率高、培育成本低等优点。

发明内容

[0006] 本发明的目的是为了提供一种石斛种子的自然繁殖方法,以解决现有技术的上述问题。

[0007] 本发明的目的可以通过以下技术方案来实现。

[0008] 一种石斛种子的自然繁殖方法,具体步骤如下:

[0009] 1) 果实的选择:我们选择果实饱满、100%成熟、自然开裂的种子;

[0010] 2) 培育基质的筛选:利用木材加工的边皮废料或石棉瓦作底构建苗床,以锯木屑、碎树皮、珍珠岩作为基质。苗床高 10-15cm、床宽 1-1.2m、支架高 0.8-1.0m;基质厚度 5-10cm;

[0011] 3) 环境的综合控制:生长温度白天为 16 ~ 21℃,夜间温度为 10 ~ 13℃,昼夜温差保持在 10 ~ 15℃;空气相对湿度保持 77-83%较适宜,忌干燥、积水;

[0012] 4) 营养生理的应用:通过弥雾的方式给种胚补充萌发和生长所必需的营养元素,营养液为无土栽培的全价营养液培养,或者 MS 的去糖配方,激素可灵活添加;种子萌发期间,有光照的白天,每隔 1h 喷碳酸水和富氧水 1min,在整个育苗期内如此循环;种子萌发后幼苗期,有光照的白天用去糖 MS 培养液和 0.2 ~ 0.5mg/L 的 NAA 混合液,每 6h 喷洒一次;新芽初期,轮换每周喷施一次高磷钾肥和一次平衡肥;生长期,每周喷施一下平衡肥;生长后期,喷施平衡肥和高磷钾肥交替使用,在采收前 2 个月停止施肥,也可配合使用农家肥上清液或者采用缓释肥代替喷施叶面肥;

[0013] 步骤 3) 中,以夏秋遮光 70%、冬季遮光 30 ~ 50%为宜。

[0014] 步骤 4) 中,所述的碳酸水的 CO₂ 浓度为 2400mg/kg,富氧水含氧量为 60mg/kg。

[0015] 步骤 4) 中,新芽初期,所述的高磷钾肥的氮、磷、钾配比为 30 : 10 : 10,浓度为 2 克 / 升;所述的平衡肥的氮、磷、钾配比为 1 : 1 : 1,浓度为 2 克 / 升。

[0016] 步骤 4) 中,生长期,所述的平衡肥的氮、磷、钾配比为 1 : 1 : 1,为 2 克 / 升。

[0017] 步骤 4) 中,生长期,若叶态黄,苗体弱则中间补施氮、磷、钾配比为 30 : 10 : 10 浓度为 2 克 / 升的高氮肥;若叶态浓绿,茎杆细长则中间补充 1 ~ 2 次氮、磷、钾配比为 15 : 20 : 25 浓度为克 / 升的平衡肥。生长后期,采用喷施氮、磷、钾配比为 1 : 1 : 1 的平衡肥和 15 : 20 : 25 的高磷钾肥交替使用,在采收前 2 个月停止施肥,也可配合使用农家肥上清液或者采用缓释肥代替喷施叶面肥。

[0018] 根据石斛种子的共生萌发特性,共生真菌的获得是技术成功的关键。我们通过内生真菌的分离、筛选,进行菌剂的研制,研发复合菌剂 EM 菌。试验证明该菌剂可以显著提高种子的萌发率,种子播种前采用 EM 菌浸种的方式处理,然后栽种于苗床的机制上。种子萌发成幼苗的阶段,采用 EM 菌剂定时喷洒的方式增加种子的萌发率。

[0019] 通过本发明技术方案具有以下有益效果:石斛种子自然繁殖技术降低了种苗快繁成本,发挥石斛果实种子量大的优势,通过营养液喷施和微生态环境控制弥补种胚细小、发育不完全和无胚乳的缺点。依托现代设施栽培技术综合调控石斛生长最适的环境因素,提高种子萌发率,促进植株生长,实现种胚的培育从试管内走向试管外,以满足投资成本低、操作简单、开放式的种苗快繁途径,推动石斛产业发展。

具体实施方式

[0020] 下面结合具体实施例进一步阐述本发明的技术特点。

[0021] 1) 果实的选择 :种胚无菌播种试验表明,成熟度越高,种子的萌发率越高。但为避免污染,组培快繁时多选择未破裂的果实作为外植体。但种子自然繁殖技术在试管外进行,因而我们选择果实饱满、100%成熟、自然开裂的种子。

[0022] 2) 培育基质的筛选 :石斛种子细小,其发育没有超过球形阶段,无胚乳。基质选择时需要保证种子能够附于基质上,并避免种子随水流失,或埋于基质深处难于萌发生长。另外,基质还需要满足铁皮石斛幼苗的根系生长所需的“通、漏、透”的条件。我们利用木材加工的边皮废料或石棉瓦作底构建苗床,以锯木屑、碎树皮、珍珠岩作为基质。苗床高10-15cm、床宽1-1.2m、支架高0.8-1.0m;基质厚度5-10cm。

[0023] 3) 环境的综合控制 :目前,铁皮石斛组培快繁种苗已实现产业化,对种子的萌发特性已经有比较深入的研究。根据石斛种子的萌发特性,依托现代设施栽培技术,创造适宜的温、光、气、热、湿度等环境是种胚萌发的基本条件。铁皮石斛种子萌发控制条件为 :生长温度白天为16~21℃,夜间温度为10~13℃,昼夜温差保持在10~15℃;空气相对湿度保持80%左右较适宜,忌干燥、积水。以夏秋遮光70%、冬季遮光30~50%为宜。

[0024] 4) 营养生理的研究与应用 :组培快繁中用MS即可使种胚达到较高的萌发率。可通过弥雾的方式给种胚补充萌发和生长所必需的营养元素,营养液可以用无土栽培的全价营养液培养,或者MS去糖配方,激素可灵活添加。种子萌发期间有光照的白天,每隔1h喷碳酸水+富氧水1min,碳酸水的CO₂浓度为2400mg/kg,富氧水含氧量为60mg/kg,在整个育苗期内如此循环。种子萌发后幼苗期,有光照的白天去糖MS培养液+NAA 0.2~0.5mg/L每6h喷洒一次。新芽初期,轮换每周喷施一次氮、磷、钾配比为30:10:10浓度为2克/升高磷钾肥和一次氮、磷、钾配比为1:1:1浓度为2克/升的平衡肥,提高苗的生长速度,但要苗徒长。生长期,每周喷施一下氮、磷、钾配比为1:1:1浓度为2克/升的平衡肥,根据生长情况,若叶态黄,苗体弱则中间补施氮、磷、钾配比为30:10:10浓度为2克/升的高氮肥;若叶态浓绿,茎秆细长则中间补充1~2次氮、磷、钾配比为15:20:25浓度为克/升的平衡肥。生长后期,采用喷施氮、磷、钾配比为1:1:1的平衡肥和15:20:25的高磷钾肥交替使用,在采收前2个月停止施肥,也可配合使用农家肥上清液或者采用缓释肥代替喷施叶面肥。

[0025] 5) 微生态环境的控制 :根据石斛种子的共生萌发特性,共生真菌的获得是技术成功的关键。我们通过内生真菌的分离、筛选,进行菌剂的研制,研发复合菌剂EM菌。试验证明该菌剂可以显著提高种子的萌发率,种子播种前采用EM菌浸种的方式处理,然后栽于苗床的机制上。种子萌发成幼苗的阶段,采用EM菌剂定时喷洒的方式增加种子的萌发率。

[0026] 铁皮石斛种子自然条件下的发芽率不及5%,采用该发明中的方法进行种植铁皮石斛种子的萌发率可提高至75%左右。