



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106258995 B

(45)授权公告日 2018.07.31

(21)申请号 201610916432.6

(22)申请日 2016.10.21

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106258995 A

(43)申请公布日 2017.01.04

(73)专利权人 沈阳农业大学

地址 110866 辽宁省沈阳市沈河区东陵路
120号

(72)发明人 张志宏 左亚男 张俊祥

(74)专利代理机构 沈阳圣群专利事务所(普通
合伙) 21221

代理人 王玉信

(51)Int.Cl.

C12N 5/04(2006.01)

A01H 4/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 104429709 A,2015.03.25,

CN 105777247 A,2016.07.20,

CN 105210875 A,2016.01.06,

CN 104892171 A,2015.09.09,全文.

梁贵秋等.草莓的组织培养和快速繁殖.《广
西热带农业》.2004,(第6期),第8-9页.

审查员 姜岚

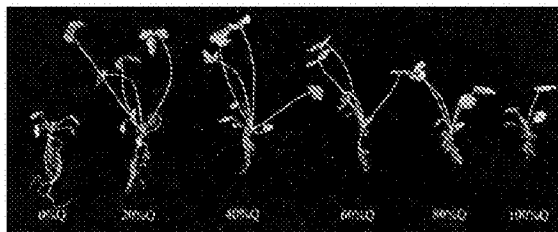
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种草莓培养基的制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种草莓培养基的制备方法,其主要特征是利用蚯蚓粪提取液,在不添加任何矿质元素的前提下,只添加蔗糖和琼脂来配制培养基,其组成成分为:蚯蚓粪提取液20%、蔗糖30 g/L和琼脂7 g/L,培养基灭菌前调节PH值为5.8。即可以用于草莓苗的生长。用蚯蚓粪提取液进行草莓苗培养,草莓幼苗的根长、叶柄长、叶片数、叶面积和株高都有显著提高,培养出的草莓幼苗质量优于MS培养基上生长的幼苗。其优点是培养基取材广泛、价格低廉、制作简单且优质高效,为大规模进行草莓幼苗培养提供了有利条件。



1. 一种草莓培养基的制备方法,其特征是,蚯蚓粪样品风干后,将样品磨碎,然后过2mm土壤筛,取2mm筛下样品50g浸于125mL蒸馏水中,充分振荡8小时,然后静置12小时,通过4层纱布过滤,再3000r/min离心5分钟,去掉沉淀,上清液即为蚯蚓粪水浸液原液,于4 °C保存备用,培养基中含蚯蚓粪提取液的体积比为20%,含蔗糖30 g/L和琼脂7 g/L,PH值为5.8。

2. 根据权利要求1所述的一种草莓培养基的应用方法,其特征是用于草莓苗生长培养基的操作步骤是:

步骤A:先用70%酒精浸泡草莓种子30s,弃液;再用20%的次氯酸钠浸泡种子20分钟,期间每隔2分钟振荡一次,弃液;再用灭菌水洗过3次后,浸泡24h,弃灭菌水;再用70%的酒精洗30s,弃液,用灭菌水洗2遍;

步骤B:将步骤A处理的种子,播种于MS培养基中进行催芽,直到长出第三片叶,培养条件为温度23~25°C,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d;

步骤C:将长出3片叶子的草莓苗转入含有20%蚯蚓粪提取液的培养基中培养4周,进行性状调查,培养条件为温度23~25°C,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。

一种草莓培养基的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域中的植物组织培养技术,提供了一种草莓培养基的制备方法。

背景技术

[0002] 草莓(*Fragaria ×ananassa*Duch.)是蔷薇科草莓属植物。因其鲜艳或绮丽的色泽、较高的营养价值及鲜美的口感而备受人们的欢迎。目前我国草莓的栽培面积超过200万亩,为世界上最大的草莓生产国。草莓属于多年生草本植物,匍匐茎繁殖是其繁殖的主要方式。因此传统草莓育苗多是采用无性繁殖的方法。而通过无性繁殖,草莓苗易携带和积累病毒,造成严重的品种退化。使得植株抵抗力变弱、产量变低、品种变差。因此采用传统繁殖方式会给草莓种植者造成严重的经济损失。而植物组织培养技术的出现,使得利用草莓茎尖进行脱毒和扩繁成为现实。但是植物组织培养需要适宜的营养和生长条件,才能使植物细胞进行正常的分化和生长。而培养基则是给植物细胞提供养分的场所。培养基包括大量元素、微量元素、铁盐及螯合剂、糖和琼脂。目前最常用的培养基是MS培养基,该培养基的配制需要添加无机营养元素、蔗糖、铁盐、琼脂和超纯水。需要分步配制母液,步骤繁琐,费时费力。而商业化的MS培养基,则价格较贵,不利于大面积、规模化育苗使用。

发明内容

[0003] 本发明的目的是针对上技术中存在的问题,提供一种草莓培养基的制备方法,使用蚯蚓粪提取液替代基本MS培养基,有效的提高了草莓苗的生长势,大大的降低了生产成本,简化了配置流程,为大规模进行草莓幼苗培养提供了有利条件。

[0004] 本发明的目的是这样实现的,包括用于草莓苗生长的培养基的蚯蚓粪提取液,其特征是,

[0005] 1. 蚯蚓粪样品风干后,将样品磨碎,然后过2mm土壤筛,取2mm筛下样品50g浸于125mL蒸馏水中,充分振荡8小时,然后静置12小时,通过4层纱布过滤并离心,制成蚯蚓粪水浸液原液,于4℃保存备用。

[0006] 2. 所述含蚯蚓粪提取液的培养基包括蚯蚓粪提取液20%,蔗糖30 g/L和琼脂7 g/L,PH值为5.8。

[0007] 3. 蚯蚓粪提取液培养基的具体应用步骤是:

[0008] 步骤A:先用70%酒精浸泡草莓种子30s,除去液体;再用20%的次氯酸钠浸泡种子20分钟,期间每隔2分钟震荡一次,除去液体;再用灭菌水洗3次后,浸泡24h,浸泡后的种子,除去蒸馏水;再用70%的酒精洗30s,去除酒精,用灭菌水再洗2遍。

[0009] 步骤B:将步骤A处理的种子,播种于MS培养基中进行催芽,直到长出第三片叶,培养条件为温度23~25℃,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。

[0010] 步骤C:将长出3片叶子的草莓苗,转入含有20%蚯蚓粪提取液的培养基中培养4周,进行性状调查。培养条件为温度23~25℃,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。

[0011] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0012] 第一,利用蚯蚓粪提取液培养基取代MS培养基,能够产生比MS培养基更好的效果,且大大的降低了生产成本。

[0013] 第二,提供了一种绿色环保、配制简单的培养基制作方法,减少了在培养基配制过程中的时间消耗,为大规模组织培养提供了有利条件。

[0014] 第三,实现蚯蚓粪资源的高效利用,提高了蚯蚓粪的利用价值,且在生态环境上更加环保。

[0015] 附图说明:

[0016] 图1 不同浓度蚯蚓粪提取液培养基中草莓幼苗的生长状况

[0017] 图2 在MS培养基中添加不同浓度蚯蚓粪提取液后草莓幼苗的生长状况。

[0018] 表1 不同浓度蚯蚓粪提取液培养基中草莓幼苗的根长、叶柄长、叶面积、叶片数和株高。

[0019] 表2 在MS培养基中添加不同浓度蚯蚓粪提取液后草莓幼苗的根长、叶柄长、叶面积、叶片数和株高。

[0020] 具体实施方式:

[0021] 下面结合实例对本发明做进一步说明

[0022] 由图1可知,从左到右,0%Q,不含蚯蚓粪提取液培养基;20%Q,20%蚯蚓粪提取液培养基;40%Q,40%蚯蚓粪提取液培养基;60%Q,60%蚯蚓粪提取液培养基;80%Q,80%蚯蚓粪提取液培养基;100%Q,100%蚯蚓粪提取液培养基;其中20%蚯蚓粪提取液培养基草莓幼苗的生长状况最好。

[0023] 由图2可知,从左到右,20%Q,20%蚯蚓粪提取液培养基;MS, MS培养基;MS+20%Q,MS和20%蚯蚓粪提取液的混合培养基;MS+40%Q,MS和40%蚯蚓粪提取液的混合培养基;MS+60%Q,MS和60%蚯蚓粪提取液的混合培养基;MS+80%Q,MS和80%蚯蚓粪提取液的混合培养基;MS+100%Q,MS和100%蚯蚓粪提取液的混合培养基;比较分析发现,20%蚯蚓粪提取液培养基中的草莓幼苗比单独的MS培养基及MS和不同浓度蚯蚓粪提取液混合培养基中的幼苗生长状况都好。

[0024] 由表1可知,与其他浓度蚯蚓粪提取液培养基所生长的草莓幼苗相比,蚯蚓粪提取液20%的培养基中草莓幼苗的根长、叶柄长、叶面积、叶片数和株高都显著提高。

[0025] 由表2可知,与MS培养基及MS和不同浓度蚯蚓粪提取液混合培养基所生长的草莓幼苗相比,蚯蚓粪提取液20%的培养基中的草莓幼苗在根长、叶柄长、叶面积、叶片数和株高都显著提高。

[0026] 以下结合对比实例详细说明本发明。对比实例是为更好的理解本发明,但不限于本发明。以下实施方法中的实验方法均为常规方法,所涉及的实验试剂均为常规试剂。

[0027] 实例1 不同浓度蚯蚓粪提取液培养基对草莓幼苗生长状况的影响

[0028] 1、蚯蚓粪样品风干后,将样品磨碎,然后过2mm土壤筛,取2mm筛下样品50g浸于125mL蒸馏水中,充分振荡8小时,然后静置12小时,通过4层纱布过滤并离心,上清液即为蚯蚓粪水浸液原液,于4℃保存备用。

[0029] 2、将原液分别按0、20%、40%、60%、80%、100%的体积比添加到蒸馏水中。每组处理除添加的提取液体积不同外,其余条件均相同,同时添加蔗糖 30 g/L和琼脂7 g/L,然后调节

PH值为5.8。每个处理设置10次重复。

[0030] 3、蚯蚓粪提取液培养基的应用包括以下步骤:

[0031] 步骤A:先用70%酒精浸泡草莓种子30s,除去液体;再用20%的次氯酸钠浸泡种子20分钟,每隔2分钟震荡一次,除去液体;再用灭菌水洗3次后,浸泡24h,浸泡后的种子,除去蒸馏水;再用70%的酒精洗30s,去除酒精,用灭菌水再洗2遍。

[0032] 步骤B:将步骤A处理的种子,播种于MS培养基中进行催芽,直到长出第三片叶,培养条件为温度23~25℃,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。

[0033] 步骤C:将长出3片叶子的草莓苗,转入含有20%蚯蚓粪提取液的培养基中培养4周,进行性状调查。培养条件为温度23~25℃,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。一个月后进行性状调查并拍照(如表1;图1)。

[0034] 实例2 蚯蚓粪提取液20%培养基与MS培养基及MS和不同浓度蚯蚓粪提取液混合培养基中的幼苗生长状况的比较

[0035] 1、蚯蚓粪样品风干后,将样品磨碎,然后过2mm土壤筛,取2mm筛下样品50g浸于125mL蒸馏水中,充分振荡8小时,然后静置12小时,4层纱布过滤并离心,上清液即为蚯蚓粪水浸液原液,于4℃保存备用。

[0036] 2、将原液分别按20%,40%,60%,80%,100%的比例添加到MS培养基中,比例是原液占培养基的比例,同时设置MS培养基和不添加蚯蚓粪提取液的培养基作为对照,共计7个处理,每个处理设置10次重复。调整培养基pH值为5.8。

[0037] 3、蚯蚓粪提取液培养基的应用包括以下步骤:

[0038] 步骤A:先用70%酒精浸泡草莓种子30s,除去液体;再用20%的次氯酸钠浸泡种子20分钟,每隔2分钟震荡一次,除去液体,再用灭菌水洗3次后,浸泡24h,浸泡后的种子,除去蒸馏水;再用70%的酒精洗30s,去除酒精,用灭菌水再洗2遍。

[0039] 步骤B:将步骤A处理的种子,播种于MS培养基中进行催芽,直到长出第三片叶,培养条件为温度23~25℃,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。

[0040] 步骤C:将长出3片叶子的草莓苗,转入含有20%蚯蚓粪提取液的培养基中培养4周,进行性状调查。培养条件为温度23~25℃,光照1800~2200lx,光照时间为16h/d。一个月后进行性状调查并拍照(如表2;图2)。

[0041] 表1

[0042]

处理	根长/cm	叶柄长/cm	叶面积/mm ²	叶片数	株高/cm
0	4.06a	1.49c	28.00c	4.75c	1.63c
20%Q	3.28b	4.79a	74.00a	7.25ab	5.23a
40%Q	2.34c	4.73a	72.00a	7.63a	5.30a
60%Q	2.28c	4.44a	63.67a	7.63a	5.11a
80%Q	1.58d	3.40b	63.33a	6.50b	4.03b
100%Q	1.03d	1.69c	42.00b	4.75c	2.00c

[0043] 表2

[0044]

处理	根长/cm	叶柄长/cm	叶面积/mm ²	叶片数	株高/cm
----	-------	--------	---------------------	-----	-------

MS	2.91ab	3.28c	64.80ab	6.88abc	4.08b
MS+20%Q	2.76abc	3.89b	75.75a	7.75a	4.74a
MS+40%Q	2.60bc	3.28c	46.00cd	7.25ab	3.90b
MS+60%Q	2.23c	2.96cd	56.67bc	6.75bc	3.56b
MS+80%Q	1.53d	2.43d	37.67de	6.25c	2.80c
MS+100%Q	1.33d	1.70e	26.33e	6.88abc	2.08d
20%Q	3.28a	4.79a	67.20ab	7.25ab	5.23a

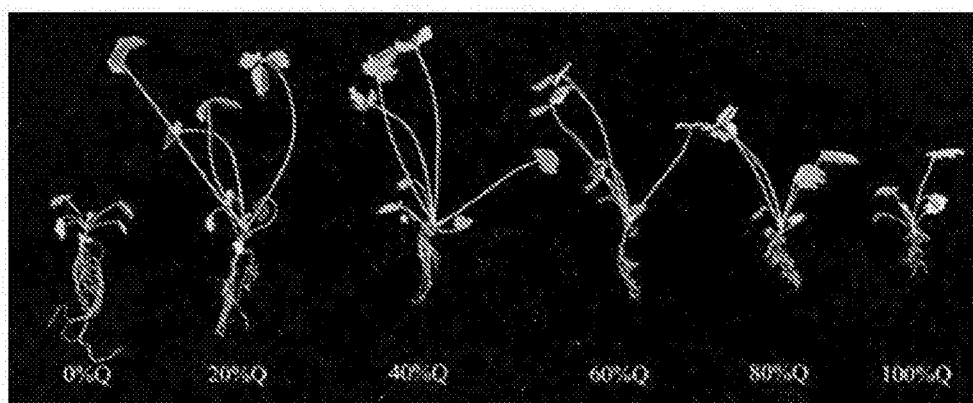


图1

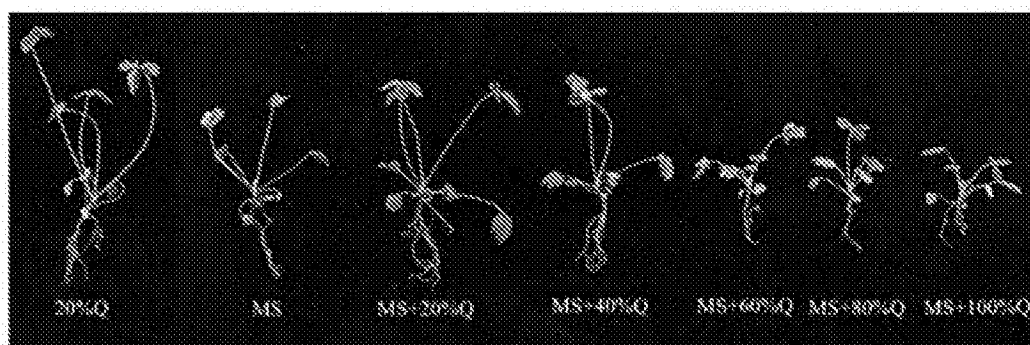


图2