



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102090337 A

(43) 申请公布日 2011.06.15

(21) 申请号 201010584915.3

(22) 申请日 2010.12.13

(71) 申请人 江苏省农业科学院

地址 210014 江苏省南京市玄武区钟灵街
50号

(72) 发明人 刘晓青 刘晓宏 苏家乐 李畅

(51) Int. Cl.

A01H 4/00(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

一种鹿角杜鹃的快繁方法

(57) 摘要

本发明涉及一种鹿角杜鹃的组织培养快速繁殖方法。以WPM为基本培养基,通过对鹿角杜鹃的离体培养,利用不同激素配比调控,建立起鹿角杜鹃的组织培养快速繁殖体系。具体步骤依次为外植体的选择、消毒、初代培养、增殖培养、壮苗生根培养和移栽。获得能保持原植株基因型、优良观赏特性,且分化良好的试管苗。其中,外植体初代诱导培养基为WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L, pH 5.6;不定芽增殖培养基为WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L, pH 5.6;壮苗生根培养培养基为1/2WPM+IBA 0.5mg/L+NAA 0.2mg/L+蔗糖 20g/L+活性炭 0.3g/L, pH 5.6。本发明大大提高了鹿角杜鹃繁殖速度,适用于鹿角杜鹃的工厂化商业生产。

1. 一种鹿角杜鹃的快繁方法,其特征在于通过对鹿角杜鹃的离体培养,利用不同激素配比调控,建立起鹿角杜鹃的组织培养快速繁殖体系,所述方法包括以下 4 个培养阶段:

(1) 取消毒干净的鹿角杜鹃外植体除去茎尖和茎段上变黑的部分,放入装有滤纸的无菌培养皿中吸干表面水分,斜插于外植体初代诱导培养基(WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L)上,每瓶接种 1~2 个外植体;

(2) 将诱导出的不定芽转入丛生芽增殖培养基中进行增殖培养,丛生芽增殖培养基与外植体启动培养的培养基相同,为 WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L;不定芽的基部先长出愈伤组织,从愈伤组织分化出丛生苗,将小丛生苗团再转接到增殖培养基中继代增殖,每瓶接 10 个左右,每个芽可增殖 5 倍以上,如此反复,可获得大量的丛生苗;

(3) 增殖后生长健壮的丛生芽剪成单株,转入生根培养基(1/2WPM+IBA 0.5mg/L+NAA 0.2mg/L+蔗糖 20g/L+活性炭 0.3g/L)进行生根培养,培养 40d 左右长出长短不等的不定根,生根率为 85.4%;

(4) 具有 4 条以上根的生根小苗,移入温室,常温、自然光下松口炼苗 1~2d 后开瓶出苗移栽,洗去附着在根部的培养基,定植在珍珠岩和草炭土按体积比 1:1 配制的基质中,基质预先用 0.1% 的多菌灵消毒处理,浇透水,覆盖农用膜保湿,光照过强时适当遮荫,培养 1 周左右后逐渐揭开薄膜,通风透气。

2. 根据权利要求 1 所述的鹿角杜鹃组织培养快速繁殖方法,其特征是取生长健壮、无病虫害的鹿角杜鹃嫩枝做外植体,用软毛刷蘸洗洁精仔细刷洗,尤其是叶腋处,再用自来水淋洗 10~12h。

3. 根据权利要求 1 所述的鹿角杜鹃组织培养快速繁殖方法,其特征是在无菌室超净台上,用 70% 酒精处理淋洗过的外植体 30s,无菌水冲洗一次;再用 0.1% 的 HgCl₂(氯化汞)浸泡茎尖 5min、茎段 8min,期间不停地摇动瓶子,使外植体充分与杀菌液接触,之后无菌水冲洗 5~6 次。

4. 根据权利要求 1 所述的鹿角杜鹃组织培养快速繁殖方法,其特征是初代培养、增殖培养、生根培养的培养基均加入琼脂 5g/L, pH 5.6,每个三角瓶分装 30mL,于 121℃ 高温高压灭菌 20min,培养室温度为 (24±1)℃,光照时间 12h/d,光照强度为 2000LX。

一种鹿角杜鹃的快繁方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种鹿角杜鹃的组织培养快速繁殖方法,属于生物技术领域。

背景技术

[0002] 杜鹃花属是杜鹃花科最大的属,含物种约 960 种,广泛分布于欧洲、亚洲、北美洲,主产东亚和东南亚。中国是世界野生杜鹃花种质资源现代分布分化的中心和种群量最大的国家,约 542 种,主产西南、华南地区,花色艳丽多姿,是著名的观赏植物,鹿角杜鹃就是其中之一。

[0003] 鹿角杜鹃 (*Rhododendron latoucheae*), 别名岩杜鹃,因其枝干曲折,状如鹿角,而得名。常绿灌木或小乔木,喜温和气候,喜酸性土;3~4 月开花,花大色艳,花期较长,有香味。自然垂直分布范围广,从 100~1200m 的山地松林下、灌丛都可生长,与其它杜鹃属的其它种相比,鹿角杜鹃是杜鹃属中垂直分布最宽的种类之一。随着花木市场蓬勃发展,有部分采挖、移植野生鹿角杜鹃时直接从山上移植,缺乏规模性、系统性繁殖技术,移栽成活率低,不能满足市场需求。

[0004] 目前国内关于鹿角杜鹃的育种和繁殖技术方面的研究,仅有少数扦插繁育的报道,尚无鹿角杜鹃组织培养技术研究的报道。本发明为鹿角杜鹃的工厂化商业生产和大范围推广做准备,使野生鹿角杜鹃为园林绿化所用,增加景观植物种类的多样性,提升园林生态城市水平等方面都具有十分重要的意义。

发明内容

[0005] 技术问题:本发明针对鹿角杜鹃常规扦插、嫁接繁殖系数低而且操作繁琐困难的现状,提供一种繁殖速度快,不受季节影响的鹿角杜鹃组织培养快速繁殖方法,克服组培过程中无菌体系建立难度大、增殖系数低、丛生苗生长细弱、生根困难、移栽成活率低等技术问题,摸索出规模化、低成本生产鹿角杜鹃的组织培养快速繁殖方法和最适培养基。

[0006] 技术方案:本发明采用 WPM 为基本培养基,通过对鹿角杜鹃的离体培养,建立起鹿角杜鹃的组织培养快速繁殖体系,具体步骤依次为外植体的选择、消毒、初代培养、增殖培养、壮苗生根培养和炼苗移栽。鹿角杜鹃做外植体进行启动培养,用 0.1% 的 $HgCl_2$ 消毒,在成功建立的无菌体系的基础上,调整培养基配方将诱导不定芽成活率提高至 100%;萌发的不定芽增殖培养,从愈伤组织上长出丛生芽,如此反复继代增殖,可获得大量的丛生苗;将丛生苗单株转接到壮苗生根培养基上,培养出完整的再生植株;最后将生根苗移栽至由珍珠岩和草炭土按比例配制的基质中。

[0007] 鹿角杜鹃组织培养快速繁殖的培养基主要是以下几种培养基:

[0008] 1、外植体初代诱导培养基

[0009] WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 5g/L, pH 5.6

[0010] 2、不定芽继代增殖培养基

[0011] WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 5g/L, pH 5.6

[0012] 3、壮苗生根培养培养基

[0013] 1/2WPM+IBA 0.5mg/L+NAA 0.2mg/L+蔗糖 20g/L+活性炭 0.3g/L+琼脂 5g/L, pH 5.6

[0014] 有益效果:利用组织培养的方法,采用不定芽分生途径的丛生芽增殖方法,提供了一种鹿角杜鹃快速繁殖规模化育苗的有效途径。该繁殖方法遗传性状稳定,能较好地保持原植株基因型和优良观赏特性,并且选用最佳培养基激素配比,使得试验重复性好,试管苗分化良好,大大提高了鹿角杜鹃繁殖速度和移栽成活率。

具体实施方式

[0015] 本发明采用嫩茎尖和茎段形成丛生芽的快速繁殖方法,下面结合实例进一步详细说明本发明。

[0016] 1、外植体的准备

[0017] 材料取自江苏省农科院杜鹃种植资源圃温室内生长健壮、无病虫害的鹿角杜鹃嫩枝做外植体。外植体用软毛刷蘸洗洁精仔细刷洗,尤其是叶腋处,再用自来水淋洗 10 ~ 12h,备用。

[0018] 2、外植体的灭菌

[0019] 在无菌室超净台上,用 70%酒精处理 30s,无菌水冲洗一次;0.1%的 HgCl₂(氯化汞)浸泡茎尖 5min、茎段 8min,期间不停地摇动瓶子,使外植体充分与杀菌液接触,之后无菌水冲洗 5 ~ 6 次。除去茎尖和茎段上变黑的部分,放入装有滤纸的无菌培养皿中吸干表面水分,备用。

[0020] 3、不定芽的启动培养

[0021] 消毒灭菌好的外植体,斜插于外植体初代诱导培养基(WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 5g/L, pH 5.6)上,每瓶接种 1 ~ 2 个外植体。培养室温度为(24±1)℃,光照时间 12h/d,光照强度为 2000LX。期间注意观察,随时剔除污染的材料,以免交叉感染。

[0022] 4、不定芽的增殖培养

[0023] 诱导出的不定芽转入丛生芽增殖培养基中进行增殖培养,丛生芽增殖培养基与外植体启动培养的培养基相同,为 WPM+IBA 0.15mg/L+TDZ 0.3mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 5g/L, pH 5.6,培养条件不变。不定芽的基部先长出愈伤组织,从愈伤组织分化出丛生苗,将小丛生苗团再转接到增殖培养基中继代增殖,每瓶接 10 个左右,每个芽可增殖 5 倍以上,如此反复继代增殖,可获得大量的丛生苗团,达到快速繁殖的目的。

[0024] 5、壮苗和生根培养

[0025] 增殖后生长健壮的丛生芽剪成单株,转入生根培养基(1/2WPM+IBA 0.5mg/L+NAA 0.2mg/L+蔗糖 20g/L+活性炭 0.3g/L+琼脂 5g/L, pH 5.6)中,壮苗和生根培养同时进行,培养条件不变。培养 40d 左右长出长短不等的不定根,生根率为 85.4%。

[0026] 6、炼苗与移栽

[0027] 将具有 4 条以上根的生根小苗,移入温室,常温、自然光下松口炼苗 1 ~ 2d 后开瓶出苗移栽至穴盘中。洗去附着在根部的培养基,定植在珍珠岩和草炭土按体积比 1 : 1 配制的基质中,基质预先用 0.1%的多菌灵消毒处理。浇透水,覆盖农用膜保湿,光照过强时适

当遮荫,培养 1 周左右后逐渐揭开薄膜,通风透气。组培苗移栽成活率在 90%左右。