



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110214702 A

(43)申请公布日 2019.09.10

(21)申请号 201910658866.4

(22)申请日 2019.07.22

(71)申请人 平顶山学院

地址 467000 河南省平顶山市新城区未来路南段

(72)发明人 李静婷 朱涛 李文建

(74)专利代理机构 郑州金成知识产权事务所
(普通合伙) 41121

代理人 郭增欣

(51) Int. Cl.

A01H 4/00(2006.01)

A01G 31/00(2018.01)

A01G 24/28(2018.01)

A01G 24/22(2018.01)

A01G 24/10(2018.01)

权利要求书2页 说明书5页

(54)发明名称

霍山石斛组培苗培育及炼苗方法

(57)摘要

本发明涉及一种农业种植技术。一种霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,包括:1)无菌种子混合液制备与原球茎诱导,用无菌滴管吸适量种子混合液,逐一滴入诱导培养基中,培养18-22天,获得小圆形颗粒状原球茎;2)将原球茎分散转接至增殖培养基中,培养18-30天,获得大量原球茎;3)将增殖培养获得的原球茎,转接在分化培养基中,培养35-40天,让其分化形成根、茎、叶俱全的幼苗;4)把幼苗转接到壮苗与生根培养基中,培养80-90天,获得大量的健壮组培苗;5)当霍山石斛组培苗长出4~6片真叶,苗高5~7cm,单株根数3条以上,且根系完好,即可进行炼苗。本发明培育的组培苗长势健壮,移栽成活率高,性状优良稳定,对促进霍山石斛规模化和产业化种植,具有重要的技术指导作用。

1. 一种霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,其特征在于:主要包括如下步骤:

1) 无菌种子混合液制备与原球茎诱导

(1) 对霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟果实进行常规消毒处理;

(2) 将处理后的霍山石斛果实用无菌刀切开,把种子抖入适量的无菌水中摇匀,制成无菌种子混合液;

(3) 配制诱导培养基:1/2M S+6-BA 0.6m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8;

(4) 用无菌滴管吸适量种子混合液,逐一滴入诱导培养基中,培养18~22d,获得小圆形颗粒状原球茎;

2) 增殖培养

(1) 制备增殖培养基:M S+2,4-D 0.2m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L,PH为5.8;

(2) 将原球茎分散转接至增殖培养基中,培养26-30天,获得大量原球茎;

3) 分化培养

(1) 制备分化培养基:M S+IBA 0.8m g/L+NAA0.3m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L,PH为5.8;

(2) 将增殖培养获得的原球茎,转接在分化培养基中,培养35-40天,让其分化形成根、茎、叶俱全的幼苗;

4) 壮苗与生根培养

(1) 制备壮苗与生根培养基:M S+NAA0.4m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L,PH为5.8;

(2) 把幼苗转接到壮苗与生根培养基中,培养80-90天,获得大量的健壮组培苗;

5) 当霍山石斛组培苗长出 4 ~6 片真叶,苗高 5 ~7cm,每苗根数 3 根以上,且根系完好,即可进行炼苗。

2. 根据权利要求1所述的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,其特征在于:把达到炼苗标准的组培瓶苗,移至干燥、清洁且有散射光的开放环境中,温度设置在24~28 °C之间,放置7~10 d,开盖3~5d,用镊子小心取出,洗净附着在根部的培养基,用0.5%的高锰酸浸泡5分钟,捞出晾至根部发白,3~5棵为一丛,栽植到已配制好并经过消毒的基质中,放置在遮光率70%、湿度80%、温度25~28 °C、通风良好的玻璃或塑料棚内;栽植7 d后,喷洒一次叶面营养液,以后每10 d喷一次;栽后1个月施一次花多多1号固体肥、喷甲基托布津杀菌剂;所述叶面营养液主要成分:1/2 MS的大量元素加入0.4mg/L的萘乙酸。

3. 根据权利要求2所述的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,其特征在于:炼苗时,把达标的瓶苗移至有散射光的开放环境中驯化,及时补水,以弥补组培苗角质层不发达,表皮毛少,气孔多而大易失水之弱点;当瓶苗叶色深绿、根系粗壮时进行移栽;栽培的植料成分配比:草炭土、细松鳞皮、碎石配比为1:2:1。

4. 根据权利要求1、2或3所述的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,其特征在于:步骤1)中,无菌种子混合液制备与原球茎诱导时,先把霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟蒴果,用洗洁精清洗干净,用75%酒精消毒30秒,用0.1%升汞消毒10分钟,用无菌水冲洗4-5遍,然后将处理后的霍山石斛果使用无菌刀切开,将种子抖入无菌水中摇匀制成混合液。

5. 根据权利要求1、2或3所述的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,其特征在于:诱导培养的温度和光照条件:温度为23~26℃、光照时间10~12 h/d、光照强度1600 Lx~2000 Lx;增殖培养和分化培养的温度和光照条件:温度为24~26 °C、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx~2500 Lx;壮苗与生根培养的温度和光照条件:温度为26℃、光照时间12 h/d、光照强度2200 Lx~2600 Lx。

霍山石斛组培苗培育及炼苗方法

技术领域

[0001] 本发明涉及农业种植技术,尤其是涉及一种霍山石斛组培苗及炼苗方法。

背景技术

[0002] 霍山石斛 (*Dendrobium huoshanense*) 属兰科石斛属多年生附生草本植物,分布于安徽霍山、河南南召。又称霍斛、米斛,为中药石斛的上品,位于九大仙草之首,素有“千金草、软黄金”之称。

[0003] 近来研究表明,霍山石斛含有的多种生物碱、石斛多糖、毛兰素等生物活性物质,不仅具有清音润喉、滋阴清肺、生津止渴之功效,还有软化血管、降血压、抗肿瘤、抗衰老、增强机体免疫力等作用。中国科技大学、中山医科大学研究表明:“霍山石斛具有增强 T 细胞、B 细胞、NK 细胞和巨噬细胞的作用,对抑制肿瘤和降血糖有非常好的疗效”。

[0004] 天然霍山石斛生长在云雾缭绕的悬崖峭壁石缝间,因种子无胚乳,在自然条件下,萌发率极低,又加之生长条件极为苛刻、生长特慢,药效显著而价格昂贵,市场需求量大,导致了人们长期地疯狂采挖,现已濒临灭绝。天然的霍山石斛喜潮湿,忌积水;喜光怕暴晒;喜空气流通忌闷捂;喜温暖忌寒又怕高温,5℃以下、30℃以上停止生长。

[0005] 当前,霍山石斛人工栽培产业在全国范围内刚刚起步,然而,由于霍山石斛对生境苛求,获种苗困难,采用传统的扦插、分株等方法进行繁殖,周期长,增繁系数极低。即使有人工培育组培苗及炼苗,也存在着组培苗生长慢、苗瘦、玻璃化严重及炼苗时易污染、死亡率高和生长迟缓等难题,极大地制约了霍山石斛大规模的产业化发展。

[0006] 因此,为保护霍山石斛野生资源,变野生为栽培种,推动霍山石斛的产业化发展,急需优化的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法。

发明内容

[0007] 本发明提出一种优化的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,以弥补霍山石斛种子难萌发、优而壮苗难培育、炼苗难成活及长势弱等技术难题,为挽救濒临灭绝的珍稀药材—霍山石斛,提供了规模化、标准化、产业化生产的科学技术依据。

[0008] 本发明采用的技术方案:

本发明霍山石斛组培苗的培育及炼苗方法,包含步骤如下:

(1) 无菌种子混合液制备与原球茎诱导

对霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟果实进行常规消毒处理,把处理后的霍山石斛果实用无菌刀切开,将种子抖入适量的无菌水中摇匀,制成无菌种子混合液。配制诱导培养基:1/2M S+6-BA 0.6m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。用无菌滴管吸适量种子混合液。逐一滴入诱导培养基中,进行培养,在温度为23~26℃、光照时间10~12 h/d、光照强度1600 Lx~2000 Lx的条件下,培养18~22d,获得原球茎;

(2) 增殖培养

制备增殖培养基:M S+2,4-D 0.2m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。将诱导获得的原球茎分散转接至增殖培养基中,温度为24~26 °C、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx~2500 Lx的条件下,培养30天,获得大量原球茎;

(3) 分化培养

制备分化培养基:M S+IBA 0.8m g/L+NAA0.3m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。将增殖培养获得的原球茎,转接在分化培养基中,温度为24~26 °C、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx~2500 Lx的条件下,培养40d,让其分化形成根、茎、叶俱全的幼苗;

(4) 壮苗与生根培养

制备壮苗与生根培养基:M S+NAA0.4m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。把幼苗转接到壮苗培养基中培养,温度为26°C、光照时间12 h/d、光照强度2200 Lx~2600 Lx的条件下,培养90d,可获得大量的健壮组培苗;

(5) 炼苗

炼苗的目的,克服弥补瓶苗角质层不发达,表皮毛少,气孔多而大易失水之弱点。将达到炼苗标准的瓶苗组培,移栽到特殊配制的植料中,并合理喷、施营养液、杀菌剂及固体肥。在有散射光的开放环境中驯化,以适应自然环境。

[0009] 当瓶苗长出 4 ~6 片真叶,苗高 5 ~7cm,单株根数 3 条以上,且根系完好,即可进行炼苗。把达到炼苗标准的组培瓶苗,移至干燥、清洁且有散射光的开放环境中,温度设置在24~28 °C之间,放置7~10 d,开盖3 d,等瓶苗叶色深绿、根系粗壮时可出瓶移栽。用镊子小心取出,洗净附着在根部的培养基,用0.5%的高锰酸浸泡5分钟,捞出晾至根部发白,3~5棵为一丛,栽植到装有特殊配制、消过毒的植料钵(12cmx12cm)中,放置在遮光率70%、湿度80%、温度25~28 °C、通风良好的玻璃(或塑料)棚内。栽后7 d后,喷洒一次专用叶面营养液,以后每10 d喷一次;栽后1个月施一次花多多1号固体肥、喷甲基托布津杀菌剂。

[0010] 炼苗所用的植料成分配比如下:草炭土+细松鳞皮+碎石(1:2:1)。使用的叶面营养液主要成分:1/2MS的大量元素加入萘乙酸(0.4mg/L)。

[0011] 步骤1)中,无菌种子混合液制备与原球茎诱导时,霍山石斛蒴果消毒的具体处理为:先把霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟蒴果,用洗洁精清洗干净,用75%酒精消毒30秒,用0.1%升汞消毒10分钟,用无菌水冲洗4-5遍,然后将处理后的霍山石斛果使用无菌刀切开,将种子抖入无菌水中摇匀制成混合液。

[0012] 发明有益效果:

1、本发明公开的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,所培育的组培苗长势健壮,移栽成活率高,优良性状稳定,对促进霍山石斛规模化和产业化种植,具有重要的技术指导作用;在推动珍稀药材种植领域,具有广阔的发展前景。

[0013] 2、本发明公开的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,采用科学的组培技术和炼苗方法,进行霍山石斛快繁,其繁殖系数高,不受季节限制,炼苗成活率高,能够实现霍山石斛的大规模生产,操作简便,易于推广。

[0014] 3、本发明为保护霍山石斛野生资源,变野生为栽培种,为挽救濒临灭绝的珍稀药材—霍山石斛,提供了规模化、产业化生产技术支持,弥补了霍山石斛种子难萌发、优而壮苗难培育、炼苗难成活之缺陷。

具体实施方式

[0015] 为了使本领域的技术人员可以更好地理解本发明,下面对本发明的技术实施方案加以详细说明。

[0016] 实施例1

本发明一种霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,主要包括如下步骤:

1) 无菌种子混合液制备与原球茎诱导

(1) 对霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟果实进行常规消毒处理;

(2) 将处理后的霍山石斛果实用无菌刀切开,将种子抖入适量的无菌水中摇匀,制成无菌种子混合液;

(3) 配制诱导培养基,用无菌滴管吸适量种子混合液,逐一滴入诱导培养基中,在适当的光照和温度条件下培养18-22天,获得小圆形颗粒状原球茎;

2) 增殖培养

将原球茎分散转接至增殖培养基中,在适当的光照和温度条件下培养18-30天,获得大量原球茎;

3) 分化培养

将增殖培养获得的原球茎,转接在分化培养基中,在适当的光照和温度条件下培养35-40天,让其分化形成根、茎、叶俱全的幼苗;

4) 壮苗与生根培养

把幼苗转接到壮苗与生根培养基中,在适当的光照和温度条件下培养80-90天,获得大量的健壮组培苗;

5) 当霍山石斛组培苗长出 4 ~6 片真叶,苗高 5 ~7cm,单株根数 3 条以上,且根系完好,即可进行炼苗。

[0017] 实施例2

本实施例霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,和实施例1的不同之处在于:进一步的,把达到炼苗标准的组培瓶苗,移至干燥、清洁且有散射光的开放环境中,温度设置在24~28℃之间,放置7~10 d,开盖3~5d,用镊子小心取出,洗净附着在根部的培养基,用消毒剂消毒,晾至根部发白,3~5棵为一丛,栽植到已配制好并经过消毒的基质中,放置在遮光率70%、湿度80%、温度25~28℃、通风良好的玻璃或塑料棚内;栽后7 d后,喷洒一次叶面营养液,以后每10 d喷一次;栽后1个月施一次花多多1号固体肥、喷甲基托布津杀菌剂;所述叶面营养液主要成分:1/2 MS的大量元素加入0.4mg/L的萘乙酸。

[0018] 实施例3

本实施例霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,和实施例1的不同之处在于:炼苗时,把达标的瓶苗移至有散射光的开放环境中驯化,及时补水,以弥补组培苗角质层不发达,表皮毛少,气孔多而大易失水之弱点;当瓶苗叶色深绿、根系粗壮时进行移栽;栽培的植料成分配比:草炭土、细松鳞皮、碎石配比为1:2:1。

[0019] 本发明霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,步骤1)中,无菌种子混合液制备与原球茎诱导时,先把霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟蒴果,用洗洁精清洗干净,用75%酒精消毒30秒,用0.1%升汞消毒10分钟,用无菌水冲洗4-5遍,然后将处理后的霍山石斛果使用无菌刀切开,将种子抖入无菌水中摇匀制成混合液。

[0020] 实施例4

本实施例的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,和前述各实施例不同的是:步骤1)中,配置诱导培养基:1/2M S+6-BA 0.6m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8;诱导培养的光照和温度条件为:温度为23-26℃、光照时间10-12 h/d、光照强度1600 Lx—2000 Lx。

[0021] 实施例5

本实施例的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,和实施例4不同的是:步骤2)中,增殖培养基:M S+2,4-D 0.2m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L;增殖培养的光照和温度条件:温度为24-26℃、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx—2500 Lx。

[0022] 实施例6

本实施例的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,和实施例4或实施例5不同的是:步骤3)中,分化培养基:M S+IBA 0.8m g/L+NAA0.3m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L;分化培养的光照和温度条件为:温度为24-26 ℃、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx—2500Lx。

[0023] 实施例7

本实施例的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,和实施例6不同的是:步骤4)中,壮苗与生根培养基:M S+NAA0.4m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L;壮苗培养的光照和温度条件为:温度为26℃、光照时间12 h/d、光照强度2200 Lx—2600Lx。

[0024] 实施例8

本发明霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,具体实施过程如下:

(1) 无菌种子混合液制备与原球茎诱导

对霍山石斛稍泛黄、未开裂的饱满成熟果实进行常规消毒处理,霍山石斛蒴果消毒处理,将处理后的霍山石斛果实用无菌刀切开,将种子抖入适量的无菌水中摇匀,制成无菌种子混合液。配制诱导培养基:1/2M S+6-BA 0.6m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。用无菌滴管吸适量种子混合液。逐一滴入诱导培养基中,进行培养,在温度为23~26 ℃、光照时间10~12 h/d、光照强度1600 Lx~2000 Lx的条件下,培养18~22d,获得原球茎;

(2) 增殖培养

制备增殖培养基:M S+2,4-D 0.2m g/L+NAA0.4m g/L+土豆汁20g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。将原球茎分散转接至增殖培养基中,温度为24~26 ℃、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx~2500 Lx的条件下,培养30天,获得大量原球茎;

(3) 分化培养

制备分化培养基:M S+IBA 0.8m g/L+NAA0.3m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。将增殖培养获得的原球茎,转接在分化培养基中,温度为24~26 ℃、光照时间12 h/d、光照强度2000 Lx~2500 Lx的条件下,培养40d,让其分化形成根、茎、叶俱全的幼苗;

(4) 壮苗与生根培养

制备壮苗与生根培养基:M S+NAA0.4m g/L+香蕉泥100g/ L +蔗糖30g/ L +琼脂7g/ L ,PH为5.8。把幼苗转接到壮苗培养基中培养,温度为26℃、光照时间12 h/d、光照强度2200

Lx~2600 Lx的条件下,培养90d,可获得大量的健壮组培苗;

(5) 炼苗

将达到炼苗标准的瓶苗,移栽到特殊配制的植料中,并合理喷、施营养液、杀菌剂及固体肥。

[0025] 炼苗的目的,克服弥补瓶苗角质层不发达,表皮毛少,气孔多而大易失水之弱点,把达到炼苗标准的组培瓶苗,移至有散射光的开放环境中驯化,以适应自然环境。当瓶苗长出 4~6 片真叶,苗高 5~7cm,每苗根数 3 根以上,且根系完好,即可进行炼苗。把达到炼苗标准的组培瓶苗,移至干燥、清洁且有散射光的开放环境中,温度设置在24~28 °C之间,放置7~10 d,开盖3 d,等瓶苗叶色深绿、根系粗壮时可出瓶移栽。用镊子小心取出,洗净附着在根部的培养基,用0.5%的高锰酸浸泡5分钟,捞出晾至根部发白,3~5棵为一丛,栽植到装有特殊配制、消过毒的植料钵(12cmx12cm)中,放置在遮光率70%、湿度80%、温度25~28 °C、通风良好的玻璃或塑料棚内。栽后7 d后,喷洒一次专用叶面营养液,以后每10 d喷一次;栽后1个月施一次花多多1号固体肥、喷甲基托布津杀菌剂。

[0026] 本发明公开的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,所培育的组培苗长势健壮,移栽成活率高,优良性状稳定,对促进霍山石斛规模化和产业化种植,具有重要的技术指导作用;在推动珍稀药材种植领域,具有广阔的发展前景。

[0027] 本发明公开的霍山石斛组培苗培育及炼苗方法,采用科学的组培技术和炼苗方法,进行霍山石斛快繁。繁殖系数高,不受季节限制,炼苗成活率高,能够实现霍山石斛的大规模生产,操作简便,易于推广。

[0028] 以上具体实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想。应当指出,对于技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以对本发明进行若干改进和修饰,这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。