



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112772418 A

(43) 申请公布日 2021.05.11

(21) 申请号 202110240125.1

(22) 申请日 2021.03.04

(71) 申请人 云南海达新生态环境建设有限公司

地址 650000 云南省昆明市盘龙区白龙路
433号博园世家1号别墅

(72) 发明人 刘东风

(74) 专利代理机构 昆明润勤同创知识产权代理

事务所(特殊普通合伙)
53205

代理人 李孝明

(51) Int. Cl.

A01H 4/00 (2006.01)

A01G 7/06 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,包括如下步骤:(1)外植体的选择与消毒;(2)丛生芽的诱导培养;(3)丛生芽的增殖培养;(4)生根培养;(5)试管苗移栽;其中,所述步骤(1)中外植体的选择与消毒具体过程为:选择长势旺盛的秋石斛健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛健康母株枝条进行打顶摘心,并在当年上述秋石斛健康母株枝条的隐芽位置处涂抹赤霉素溶液进行催芽;待隐芽被催至萌芽且生长至1-2cm、新芽具3-5个节时进行取样;经消毒后切取带节茎段和茎尖作为外植体,备用;步骤(3)丛生芽的增殖培养中,增殖培养和继代增殖培养的培养周期均为25-35d。该方法可以提高繁殖速度,便于高效和规模化组培生产。

1. 一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,该方法包括如下步骤:

(1) 外植体的选择与消毒;

(2) 丛生芽的诱导培养:取步骤(1)消毒后的外植体,接种到丛生芽诱导培养基中进行丛生芽诱导培养;

(3) 丛生芽的增殖培养:将步骤(2)诱导获得丛生芽切割成带3-6个小芽的丛芽团,接着把丛芽团接种到增殖培养基中进行增殖培养;之后更换新的增殖培养基进行继代增殖培养1-2次,然后继续培养10-15d,得健壮丛生芽;

(4) 生根培养:将步骤(3)获得的健壮丛生芽切割成单芽,并接种于生根培养基上进行培养;

(5) 试管苗移栽:将步骤(4)获得的瓶苗进行炼苗后,移栽;

其特征在于:所述步骤(1)中外植体的选择与消毒具体过程为:选择长势旺盛的秋石斛兰健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛兰健康母株枝条进行打顶摘心,并在当年上述秋石斛兰健康母株枝条的隐芽位置处涂抹赤霉素溶液进行催芽;待隐芽被催至萌芽且生长至1-2cm、新芽具3-5个节时进行取样;经消毒后切取带节茎段和茎尖作为外植体,备用;

所述步骤(3)丛生芽的增殖培养中,增殖培养和继代增殖培养的培养周期均为25-35d。

2. 根据权利要求1所述的一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,其特征在于,所述步骤(1)中在进行打顶摘心的同时还在秋石斛兰健康母株枝条上进行环切处理。

3. 根据权利要求1或2所述的一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,其特征在于,所述丛生芽诱导培养基、增殖培养基以及生根培养基中均含有0.1-0.5g/LPVP。

4. 根据权利要求3所述的一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,其特征在于,所述丛生芽诱导培养基、增殖培养基以及生根培养基中均含有0.3-0.4g/LPVP。

5. 根据权利要求1所述的一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,其特征在于,所述步骤(3)中丛芽团的大小为0.4-0.7cm。

6. 根据权利要求1所述的一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,其特征在于,所述步骤(4)中单芽的大小为1.8-2.5cm。

一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及组织培养快速繁殖技术领域,特别涉及一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法。

背景技术

[0002] 秋石斛兰,为常绿类石斛,为兰科石斛兰属植物,又称蝴蝶石斛、杜兰、石斛、石兰等。秋石斛兰是近几年在中国插花市场上流行的花卉,种类繁多,花形花姿优美,色彩艳丽,花期长,具有较高的观赏价值,在国内切花和盆花的市场需求量逐年增加,对优质种苗的需求迫切。

[0003] 目前,国内外对秋石斛兰快速繁殖技术的研究,主要集中在利用茎芽作外植体繁殖分生苗或种子萌发获得实生苗。但利用茎芽作外植体极易造成褐化且污染的发生率较高,而用种子培育的秋石斛兰后代性状分离程度高,个体之间差异大,难以实现性状一致的植株。

[0004] 申请号为CN200410077729.5、名称为一种“秋石斛兰优质种苗组织培养快速繁殖方法”的中国专利中,提出了以秋石斛兰种质新芽为外植体,采用培养基进行丛生芽增殖并获得种苗;该方法建立了以秋石斛兰的种质新芽为外植体的繁殖技术,但增殖效率与移栽成活率仍然不够理想,并存在着操作过程相对较为繁复的缺陷。

[0005] 申请号为CN201710282269.7、名称为“一种秋石斛兰种苗的组织培养快速繁殖方法”的中国专利中,提出了一种增殖后无需进行壮苗培养即可进行后续的生根培养的繁殖方法,该发明方法克服了现有技术中秋石斛兰种苗培养操作过程相对较为繁复、效率低、组培苗抗性差,移栽成活率低的缺陷。但是该繁殖方法中,丛生芽的单词增殖培养仍然需要较长的培养周期,导致繁殖速度慢,不利于进行规模化组培。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是提供一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,提高繁殖速度,便于高效和规模化组培生产。

[0007] 为了解决上述技术问题,本发明的技术方案为:

[0008] 一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,该方法包括如下步骤:

[0009] (1) 外植体的选择与消毒;

[0010] (2) 丛生芽的诱导培养:取步骤(1)消毒后的外植体,接种到丛生芽诱导培养基中进行丛生芽诱导培养;

[0011] (3) 丛生芽的增殖培养:将步骤(2)诱导获得丛生芽切割成带3-6个小芽的丛芽团,接着把丛芽团接种到增殖培养基中进行增殖培养;之后更换新的增殖培养基进行继代增殖培养1-2次,然后继续培养10-15d,得健壮丛生芽;

[0012] (4) 生根培养:将步骤(3)获得的健壮丛生芽切割成单芽,并接种于生根培养基上进行培养;

[0013] (5) 试管苗移栽:将步骤(4)获得的瓶苗进行炼苗后,移栽;

[0014] 特别的,所述步骤(1)中外植体的选择与消毒具体过程为:选择长势旺盛的秋石斛兰健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛兰健康母株枝条进行打顶摘心,并在当年上述秋石斛兰健康母株枝条的隐芽位置处涂抹赤霉素溶液进行催芽;待隐芽被催至萌芽且生长至1-2cm、新芽具3-5个节时进行取样;经消毒后切取带节茎段和茎尖作为外植体,备用。

[0015] 所述步骤(3)丛生芽的增殖培养中,增殖培养和继代增殖培养的培养周期均为25-35d。

[0016] 优选的,所述步骤(1)中在进行打顶摘心的同时还在秋石斛兰健康母株枝条上进行环切处理。

[0017] 优选的,所述丛生芽诱导培养基、增殖培养基以及生根培养基中均含有0.1-0.5g/LPVP。

[0018] 优选的,所述丛生芽诱导培养基、增殖培养基以及生根培养基中均含有0.3-0.4g/LPVP。

[0019] 优选的,所述步骤(3)中丛芽团的大小为0.4-0.7cm。

[0020] 优选的,所述步骤(4)中单芽的大小为1.8-2.5cm。

[0021] 本发明的技术方案中,选择长势旺盛的秋石斛兰健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛兰健康母株枝条进行打顶摘心处理,或者是打顶摘心处理以后在秋石斛兰健康母株枝条上进行环切处理以及在涂抹赤霉素溶液,均是为了促进秋石斛兰健康母株枝条上的隐芽萌芽,从而获取理想的外植体。

[0022] 本发明的有益效果是:

[0023] 本发明的技术方案中,在进行秋石斛兰外植体的选择时,先对秋石斛兰枝条上的隐芽进行催萌处理,经催萌处理并最终萌芽以后的新芽方才作为组织培养对象;而现有技术中在进行秋石斛兰外植体的选择时,则直接选取萌发的新芽作为组织培养对象;经过选用本发明中隐芽催萌后的新芽作为外植体组织培养对象,在丛生芽的增殖培养过程中,显著的缩短了该工序的培养周期,且增值系数高达6.0-6.6,在较短周期内即可获得健壮丛生芽,因而为整个繁殖培养过程缩短了培养时间,提高了繁殖培养的效率,便于高效规模化生产。

具体实施方式

[0024] 下面结合实施例对本发明的具体实施方式作进一步说明。在此需要说明的是,对于这些实施方式的说明用于帮助理解本发明,但并不构成对本发明的限定。此外,下面所描述的本发明各个实施方式中所涉及的技术特征只要彼此之间未构成冲突就可以相互组合。

[0025] 实施例1

[0026] 一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,该方法包括如下步骤:

[0027] (1) 外植体的选择与消毒:选择长势旺盛的秋石斛兰健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛兰健康母株枝条进行打顶摘心,并在当年上述秋石斛兰健康母株枝条的隐芽位置处涂抹赤霉素溶液进行催芽;待隐芽被催至萌芽且生长至1-2cm、新芽具3-5个节时进行取样;经用无菌水清洗,再依次用酒精、升汞溶液浸泡消毒,再用无菌水冲洗后切取带节茎段和茎尖作为外植体,备用;

[0028] (2) 丛生芽的诱导培养:取步骤(1)消毒处理后的外植体,接种到丛生芽诱导培养基中进行丛生芽诱导培养;培养15-23d后陆续诱导出丛生芽,芽诱导率为84%;其中,丛生芽诱导培养基的组分为:MS+6-苄氨基嘌呤+3.0mg/L+萘乙酸0.2mg/L+白糖30g/L+琼脂粉5.0mg/L。

[0029] (3) 丛生芽的增殖培养:将步骤(2)诱导获得丛生芽切割成带3-6个小芽的丛芽团,丛芽团的大小为0.4-0.7cm,接着把丛芽团接种到增殖培养基中进行增殖培养35d,增殖系数达6.0-6.6;之后更换新的增殖培养基进行继代增殖培养1次,培养周期为35d,得健壮丛生芽;然后再继续培养10d,即得得健壮丛生芽;其中,增殖培养基的组分为:MS+白糖30000mg/L+凝固剂6300mg/L+6-苄氨基嘌呤2.0mg/L+萘乙酸0.1mg/L+PVP0.5g/L。

[0030] (4) 生根培养:将步骤(3)获得的健壮丛生芽切割成单芽,单芽的大小为1.8-2.5cm,并接种于生根培养基上进行培养;培养周期67d即获得株高6.5-8.0cm、根长2.8-3.7cm、根数4-6条的完整植株,且生根率100.0%;其中,生根培养基的组分为:MS+甘氨酸2.0mg/L+肌醇100mg/L+白糖20000mg/L+凝固剂6300mg/L+吲哚丁酸0.3mg/L+萘乙酸0.1mg/L+活性炭500mg/L+及香蕉泥50000mg/L。

[0031] (5) 试管苗移栽:将步骤(4)获得的瓶苗在温室中进行炼苗至适应栽培环境,即可移栽。移栽后2个月统计移栽成活率为98%。

[0032] 实施例2

[0033] 一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,该方法包括如下步骤:

[0034] (1) 外植体的选择与消毒:选择长势旺盛的秋石斛兰健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛兰健康母株枝条进行打顶摘心同时在秋石斛兰健康母株枝条上进行环切处理,并在当年上述秋石斛兰健康母株枝条的隐芽位置处涂抹赤霉素溶液进行催芽;待隐芽被催至萌芽且生长至1-2cm、新芽具3-5个节时进行取样;经用无菌水清洗,再依次用酒精、升汞溶液浸泡消毒,再用无菌水冲洗后切取带节茎段和茎尖作为外植体,备用;

[0035] (2) 丛生芽的诱导培养:取步骤(1)消毒处理后的外植体,接种到丛生芽诱导培养基中进行丛生芽诱导培养;培养22d后陆续诱导出丛生芽,芽诱导率为83%;其中,丛生芽诱导培养基的组分为:MS+6-苄氨基嘌呤+3.0mg/L+萘乙酸0.2mg/L+白糖30g/L+琼脂粉5.0mg/L+PVP0.3g/L。

[0036] (3) 丛生芽的增殖培养:将步骤(2)诱导获得丛生芽切割成带3-6个小芽的丛芽团,丛芽团的大小为0.4-0.7cm,接着把丛芽团接种到增殖培养基中进行增殖培养30d,增殖系数达6.0-6.6;之后更换新的增殖培养基进行继代增殖培养1次,培养周期为30d,得健壮丛生芽;然后再继续培养15d,即得得健壮丛生芽;其中,增殖培养基的组分为:MS+白糖30000mg/L+凝固剂6300mg/L+6-苄氨基嘌呤2.0mg/L+萘乙酸0.1mg/L+PVP0.3g/L。

[0037] (4) 生根培养:将步骤(3)获得的健壮丛生芽切割成单芽,单芽的大小为1.8-2.5cm,并接种于生根培养基上进行培养;培养周期65d即获得株高6.5-8.0cm、根长2.8-3.8cm、根数4-6条的完整植株,且生根率100.0%;其中,生根培养基的组分为:MS+甘氨酸2.0mg/L+肌醇100mg/L+白糖20000mg/L+凝固剂6300mg/L+吲哚丁酸0.3mg/L+萘乙酸0.1mg/L+活性炭500mg/L+及香蕉泥50000mg/L。

[0038] (5) 试管苗移栽:将步骤(4)获得的瓶苗在温室中进行炼苗至适应栽培环境,即可移栽。移栽后2个月统计移栽成活率为99%。

[0039] 实施例3

[0040] 一种秋石斛兰花芽组织培养快速繁殖的方法,该方法包括如下步骤:

[0041] (1) 外植体的选择与消毒:选择长势旺盛的秋石斛兰健康母株为外植体对象,在前一年对秋石斛兰健康母株枝条进行打顶摘心同时在秋石斛兰健康母株枝条上进行环切处理,并在当年上述秋石斛兰健康母株枝条的隐芽位置处涂抹赤霉素溶液进行催芽;待隐芽被催至萌芽且生长至1-2cm、新芽具3-5个节时进行取样;经用无菌水清洗,再依次用酒精、升汞溶液浸泡消毒,再用无菌水冲洗后切取带节茎段和茎尖作为外植体,备用;

[0042] (2) 丛生芽的诱导培养:取步骤(1)消毒处理后的外植体,接种到丛生芽诱导培养基中进行丛生芽诱导培养;培养20d后陆续诱导出丛生芽,芽诱导率为81%;其中,丛生芽诱导培养基的组分为:MS+6-苄氨基嘌呤+3.0mg/L+萘乙酸0.2mg/L+白糖30g/L+琼脂粉5.0mg/L+PVP0.3g/L。

[0043] (3) 丛生芽的增殖培养:将步骤(2)诱导获得丛生芽切割成带3-6个小芽的丛芽团,丛芽团的大小为0.4-0.7cm,接着把丛芽团接种到增殖培养基中进行增殖培养25d,增殖系数达6.0-6.6;之后更换新的增殖培养基进行继代增殖培养1次,培养周期为35d,得健壮丛生芽;然后再继续培养18d,即得得健壮丛生芽;其中,增殖培养基的组分为:MS+白糖30000mg/L+凝固剂6300mg/L+6-苄氨基嘌呤2.0mg/L+萘乙酸0.1mg/L+PVP0.3g/L。

[0044] (4) 生根培养:将步骤(3)获得的健壮丛生芽切割成单芽,单芽的大小为1.8-2.5cm,并接种于生根培养基上进行培养;培养周期70d即获得株高7.0-8.0cm、根长3.0-4.0cm、根数4-6条的完整植株,且生根率100.0%;其中,生根培养基的组分为:MS+甘氨酸2.0mg/L+肌醇100mg/L+白糖20000mg/L+凝固剂6300mg/L+吲哚丁酸0.3mg/L+萘乙酸0.1mg/L+活性炭500mg/L+及香蕉泥50000mg/L。

[0045] (5) 试管苗移栽:将步骤(4)获得的瓶苗在温室中进行炼苗至适应栽培环境,即可移栽。移栽后2个月统计移栽成活率为99%。

[0046] 综上,经过选用本发明中隐芽催萌后的新芽作为外植体组织培养对象,在丛生芽的增殖培养过程中,显著的缩短了该工序的培养周期,且增值系数高达6.0-6.6,在较短周期内即可获得健壮丛生芽,因而为整个繁殖培养过程缩短了培养时间,提高了繁殖培养的效率,便于高效规模化生产。

[0047] 以上结合实施例对本发明的实施方式作了详细说明,但本发明不限于所描述的实施方式。对于本领域的技术人员而言,在不脱离本发明原理和精神的情况下,对这些实施方式进行多种变化、修改、替换和变型,仍落入本发明的保护范围内。