



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107041308 A

(43)申请公布日 2017.08.15

(21)申请号 201710282040.3

(22)申请日 2017.04.26

(71)申请人 江苏农林职业技术学院

地址 212400 江苏省镇江市句容市文昌东
路19号

(72)发明人 钱枫

(74)专利代理机构 南京苏高专利商标事务所
(普通合伙) 32204

代理人 许丹丹

(51) Int. Cl.

A01H 4/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种樱草根组培繁殖方法

(57)摘要

本发明一种樱草根组培繁殖方法,包括如下步骤:(1)切取樱草根部的细小根系作为外植体,用洗衣粉的溶液搓洗后自来水冲洗;(2)将去掉了表面灰尘和泥土的外植体放在超净工作台上消毒处理,先用酒精处理,再用升汞进行消毒处理,最后用无菌水冲洗,残留的水分用无菌滤纸吸取;将消毒完毕的外植体置于无菌纸上,接种于组培培养基上;(3)将步骤(2)接种于组培培养基上的外植体置于培养室内进行组培繁殖,直到形成愈伤组织。该方法采用樱草的根部作来外植体进行组培,可减少对母株的伤害,可以有效提高樱草的不定芽形成率、愈伤组织形成率和发根率,从而提高增殖率。

1. 一种樱草根组培繁殖方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 外植体的处理:切取樱草根部的细小根系作为外植体,剪切成长约1.5-1.6cm的根段,用洗衣粉的溶液搓洗后自来水冲洗;

(2) 消毒处理:将去掉了表面灰尘和泥土的外植体放在超净工作台上消毒处理,先用酒精处理,再用升汞进行消毒处理,最后用无菌水冲洗,残留的水分用无菌滤纸吸取;将消毒完毕的外植体置于无菌纸上,剪去外植体的下端0.2-0.3cm,接种于组培培养基上;

(3) 外植体的培养:将步骤(2)接种于组培培养基上的外植体置于培养室内进行组培繁殖,直到形成愈伤组织。

2. 根据权利要求1所述的樱草根组培繁殖方法,步骤(1)所述用洗衣粉的溶液搓洗时间为2-3min,自来水流水冲洗时间为12-14h。

3. 根据权利要求1所述的樱草根组培繁殖方法,步骤(2)所述酒精处理时间为30-45s,升汞进行消毒时间为4-5min,无菌水冲洗3-4次。

4. 根据权利要求1所述的樱草根组培繁殖方法,步骤(2)所述组培培养基为MS+1mg/L 6-BA,加入蔗糖30g/L、琼脂7g/L,pH调整为5.7-5.8。

5. 根据权利要求1所述的樱草根组培繁殖方法,步骤(3)所述培养室的条件为光照16h/d,光照度为3000lx,温度控制在20-25℃,培养时间28-30天。

一种樱草根组培繁殖方法

技术领域

[0001] 本发明涉及植物组培培养,具体涉及一种樱草根组培繁殖方法。

背景技术

[0002] 樱草(学名:Primula sieboldii E.Morren)报春花科报春花属多年生草本,根状茎倾斜或平卧,叶片卵状矩圆形至矩圆形,稀近圆形或截形,边缘圆齿状浅裂,上面深绿色,下面淡绿色,两面均被灰白色多细胞长柔毛,花葶高可达30厘米,伞形花序顶生,苞片线状披针形,花萼钟状,花冠紫红色至淡红色,稀白色,蒴果近球形,长约为花萼的一半。5月开花,6月结果。

[0003] 樱草一般是种子繁殖,包括园艺品种也是,但种子繁殖容易发生变异,导致得到的新品种无法通过无性繁殖的方法保存下来,也没有有关樱草组培繁殖的报道。通过组织培养的方法,可以有效保存樱草园艺品种的优良性状,对樱草的大规模繁殖有重要意义。

发明内容

[0004] 发明目的:针对现有技术存在的问题,本发明提供一种樱草根组培繁殖方法。该方法采用樱草的根部作外来植体进行组培,可减少对母株的伤害,降低外植体污染程度,并且可以有效提高樱草的不定芽形成率、愈伤组织形成率和发根率,从而提高增殖率。促进根端组培的增殖率,比用叶、茎组培有更高的增殖率。

[0005] 技术方案:为了实现上述发明目的,如本发明所述一种樱草根组培繁殖方法,包括如下步骤:

[0006] (1) 外植体的处理:切取樱草根部的细小根系作为外植体,剪切成长约1.5-1.6cm的根段,用洗衣粉的溶液搓洗后自来水冲洗;

[0007] (2) 消毒处理:将去掉了表面灰尘和泥土的外植体放在超净工作台上消毒处理,先用酒精处理,再用升汞进行消毒处理,最后用无菌水冲洗,残留的水分用无菌滤纸吸取;将消毒完毕的外植体置于无菌纸上,剪去外植体的下端0.2-0.3cm,以免影响其从培养基中吸收养分,接种于组培培养基上;

[0008] (3) 外植体的培养:将步骤(2)接种于组培培养基上的外植体置于培养室内进行组培繁殖,直到形成愈伤组织。

[0009] 其中,步骤(1)所述用洗衣粉的溶液搓洗时间为2-3min,自来水流水冲洗时间为12-14h。

[0010] 其中,步骤(2)所述酒精处理时间为30-45s,升汞进行消毒时间为4-5min,无菌水冲洗3-4次。步骤(2)所述组培培养基为MS+1mg/L 6-BA,加入蔗糖30g/L、琼脂7g/L,pH调整为5.7。培养基在温度121℃,15min灭菌处理。

[0011] 其中,步骤(3)所述培养室的条件为光照16h/d,光照度为3000lx,温度控制在23-27℃,培养时间为28-30天。

[0012] 本发明将消毒处理后外植体用剪刀、镊子剪去外植体的下端0.2cm,接种于MS培养

基上,每处理接种20瓶,每个试瓶放5个外植体。每隔1d观察一次外植体的污染情况,培养17d后对外植体的污染率和成活率进行统计。筛选污染率低,成活率高的进行组培培养。

[0013] 有益效果:与现有技术相比,本发明具有如下优点:1、本发明利用根进行樱草的组培,可避免伤害植株,比用叶、茎组培有更高的增殖率。通过本发明的这种方法有效保存新品种,可以大规模繁殖樱草,以供给市场。

[0014] 2、本发明采用的组培培养基是最适合樱草繁殖的培养基,可以有效提高樱草的不定芽形成率达到100%、愈伤组织形成率到达100%和发根率最高达到93%,从而提高增殖率。

[0015] 3、本发明利用根作为外植体,可以最大限度的降低对母株的伤害,降低外植体污染程度。

具体实施方式

[0016] 以下结合实施例对本发明作进一步说明。

[0017] 实施例1

[0018] 组培培养基为MS+1mg/L 6-BA,加入蔗糖30g/L、琼脂7g/L,pH调整为5.7。

[0019] 组培方法:

[0020] (1) 外植体的处理:切取樱草根部的细小根系作为外植体,剪切成长约1.5cm的根段,放入白瓷缸中用加了少量洗衣粉的水搓洗2min,将泡沫淘洗干净后于自来水下流水冲洗12h;

[0021] (2) 消毒处理:将去掉了表面灰尘和泥土的外植体放在超净工作台上消毒处理,先用体积分数75%酒精处理30s,再用 $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 升汞进行消毒处理5min,最后用无菌水冲洗3次,残留的水分用无菌滤纸吸取;将消毒完毕的外植体置于无菌纸上,剪去外植体的下端0.2cm,以免影响其从培养基中吸收养分,接种于组培培养基上;

[0022] (3) 外植体的培养:将步骤(2)接种于组培培养基上的外植体置于培养室内在光照16h/d,光照度为3000lx,温度控制在20℃进行组培繁殖,培养30天。

[0023] 本实施例1樱草根组培繁殖方法樱草的不定芽形成率达到了100%,愈伤组织形成率达到100%,发根率达到了93%。

[0024] 实施例2

[0025] 组培培养基为MS+1mg/L 6-BA,加入蔗糖30g/L、琼脂7g/L,pH调整为5.8。

[0026] 组培方法:

[0027] (1) 外植体的处理:切取樱草根部的细小根系作为外植体,剪切成长约1.6cm的根段,放入白瓷缸中用加了少量洗衣粉的水搓洗3min,将泡沫淘洗干净后于自来水下流水冲洗14h;

[0028] (2) 消毒处理:将去掉了表面灰尘和泥土的外植体放在超净工作台上消毒处理,先用体积分数75%酒精处理45s,再用 $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 升汞进行消毒处理6min,最后用无菌水冲洗4次,残留的水分用无菌滤纸吸取;将消毒完毕的外植体置于无菌纸上,剪去外植体的下端0.3cm,以免影响其从培养基中吸收养分,接种于组培培养基上;

[0029] (3) 外植体的培养:将步骤(2)接种于组培培养基上的外植体置于培养室内在光照16h/d,光照度为3000lx,温度控制在25℃进行组培繁殖,培养28天。

[0030] 本实施例2樱草根组培繁殖方法樱草的不定芽形成率达到了100%，愈伤组织形成率达到100%，发根率达到了84%。

[0031] 试验例1

[0032] 采用实施例1的组培方法，其中选用不同的6-BA和NAA的浓度（其他组分保持不变：MS、蔗糖30g/L、琼脂7g/L，pH调整为5.7），6-BA浓度分别为0、1mg/L、10mg/L，NAA的浓度分别是0、0.1、1、10mg/L，12个组合，研究不同激素不同浓度下30天后愈伤组织的形成率，培养结束后植物体的鲜重、从愈伤组织上形成不定芽的情况、每外植体生长的球状体数及从球状体上发根率，还有球状体超过1cm的数量，每一处理接种100瓶，每试管瓶置1个外植体。结果见表1。

[0033] 表1NAA和6-BA对外植体愈伤组织和不定芽的影响

[0034]

试验序号	激素 (mg/L)		愈伤组织形成率%	鲜重 (mg)	不定芽形成率%	球状体数(个)	发根率%
	6-BA	NA A					
1	0	0	0	34	37	1.5±0.3	68
2	0	0.1	0	24	25	1±0	50
3	0	1	0	—	0	—	—
4	0	10	0	—	0	—	—
5	1	0	100	433	100	6.4±0.5	93
6	1	0.1	100	133	87	3.4±0.4	69
7	1	1	61	181	57	2.8±0.3	71
8	1	10	43	78	13	1±0	25
9	10	0	56	180	52	3±0.5	9
10	10	0.1	100	166	87	4.2±0.4	23
11	10	1	100	196	97	4.8±0.5	10
12	10	10	100	129	48	2.1±0.3	50

[0035]

[0036] 从表1中可看出，试验序号1和2中，不定芽形成率在25~37%之间；在6-BA为1mg/L的培养基上，随NAA浓度升高，愈伤组织形成率、不定芽形成率、发根率均表现为下降态势。在6-BA为10mg/L区域，NAA为1mg/L时不定芽形成率最高达97%，而发根率却是6-BA为1mg/L时最高93%。从以上表1中看在5号组合激素的培养基上，愈伤组织形成率、不定芽形成率和发根率都最高。

[0037] 试验例2

[0038] 培养温度的影响

[0039] 培养温度对外植体愈伤组织、不定芽形成和发根率的影响也很大。采用实施例1的组培方法，通过改变培养室的温度研究不同温度对外植体愈伤组织不定芽形成和发根率的影响。结果见表2。

[0040] 表2温度对外植体愈伤组织不定芽形成和发根率的影响

[0041] 从表2中可以看出，在15℃、20℃、25℃时，愈伤组织形成率、不定芽形

	温度	愈伤组织形成率%	不定芽形成率%	发根率%
[0042]	15	100	100	63
	20	100	100	93
	25	100	100	84
	30	30	23	0

[0043] 成率均为100%，而30℃下则为30%和23%，但发根率以20℃下最高，所以对外植体愈伤组织形成、不定芽形成和发根率最有利的温度是20℃。

[0044] 综上所述，对樱草根的培养以在20℃条件下，在MS培养基中，添加6-BA为1mg/L、NAA为0mg/L时，愈伤组织形成率、不定芽形成率和发根率最高。