



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103999774 B

(45)授权公告日 2016.08.17

(21)申请号 201410233031.1

CN 102499074 A, 2012.06.20, 全文.

(22)申请日 2014.05.29

KR 10-2013-0052194 A, 2013.05.22, 全文.

(73)专利权人 杭州虹越花卉有限公司

CN 103782905 A, 2014.05.14, 全文.

地址 314408 浙江省杭州市江干区凯旋路
226号联合业务综合楼1楼104室

杨清林等. 台湾金线莲丛生芽的诱导与增殖研究.《安徽农业科学》.2012, 第40卷(第17期), 9209 - 9210.

(72)发明人 江胜德 郭兰 付习 陈溪
李春燕

Chun-Nian He et al. A Novel Flavonoid Glucoside from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl..《Journal of Integrative Plant Biology》.2006, 第48卷(第3期), 359-363.

(74)专利代理机构 浙江杭州金通专利事务所有
限公司 33100

代理人 刘晓春

审查员 王岩

(51)Int. Cl.

C12N 5/04(2006.01)

A01H 4/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 101213942 A, 2008.07.09, 全文.

权利要求书1页 说明书3页

(54)发明名称

一种金线莲带芽茎段组织培养一步成苗的
配方

(57)摘要

本发明提供了一种金线莲带芽茎段组织培养一步成苗的配方,在每升营养液溶液中含以下组分:花宝I号1~3g/L,花宝II号1~2g/L,花宝5号0.5~1g/L,肌醇0.1g/L,蛋白胨2g/L,活性炭1.6g/L,琼脂7g/L,糖20g/L,香蕉62.5g/L,硝酸钾0.5g/L,硝酸铵0.5g/L,吡啶丁酸0.25mg/L,萘乙酸0.25~0.5mg/L,生根粉0.25mg/L;营养液溶液的pH值调至5.6。本发明配制方便,转接步骤减少,药品成本与人工成本降低,污染率降低,成苗率高,实用效果好,在接种后2个月开始长芽,3个月开始生根,4个月后培养成正常组培苗,成苗率为96%以上,每株组培苗都比较健壮,移栽2个月统计成活率达95%以上,缩短了金线莲种苗生产周期,有利于组培工厂化快速育苗。

1. 一种金线莲带芽茎段组织培养一步成苗的组合物, 其特征在于在每升营养液溶液中按以下配方配制组合物: 花宝 I 号 1~3g/L, 花宝 II 号 1~2g/L, 花宝 5 号 0.5~1g/L, 肌醇 0.1g/L, 蛋白胨 2g/L, 活性炭 1.6g/L, 琼脂 7g/L, 糖 20g/L, 香蕉 62.5g/L, 硝酸钾 0.5g/L, 硝酸铵 0.5g/L, 吡啶丁酸 0.25mg/L, 萘乙酸 0.25~0.5mg/L, 生根粉 0.25mg/L; 营养液溶液的 pH 值调至 5.6。

一种金线莲带芽茎段组织培养一步成苗的配方

技术领域

[0001] 本发明涉及植物的组织培养领域,具体涉及一种金线莲组织培养一步成苗的培养基配方。

背景技术

[0002] 金线莲为兰科开唇属植物,为我国传统珍贵药材,在民间素有“药王”的美誉,同时其小巧的株型、优美的叶型搭配呈网状排列的金黄色叶脉,使其成为兼具观赏价值和药用价值的珍品花卉。

[0003] 近些年,随着金线莲的药用价值不断被挖掘,其市场需求量迅速增加,但由于金线莲在自然状态下极难繁殖且生长缓慢,很难满足日益增大的市场需求,致使国内学者不断致力于其人工繁殖和栽培方面的研究,旨在探索出提高金线莲繁殖系数的方法。研究表明,组培快繁技术是最适合金线莲人工培育的繁殖方法,但现阶段关于组培技术的研究报道主要集中在提高不定芽诱导率和芽增殖系数等,但相对来说,时间、人工、药品成本仍都较高,金线莲的产量一直跟不上市场的需求。因此,如何缩短培养时间、降低培养成本是目前推进金线莲生产发展的关键。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是提供一种金线莲带芽茎段组织培养一步成苗的配方,利用该配方可以实现一步成苗,有效解决了快速育苗问题。为此,本发明采用以下技术方案:

[0005] 一种金线莲带芽茎段组织培养一步成苗的配方,其在每升营养液溶液中含以下组分:花宝 I 号 1~3g/L,花宝 II 号 1~2g/L,花宝 5 号 0.5~1g/L,肌醇 0.1g/L,蛋白胨 2g/L,活性炭 1.6g/L,琼脂 7g/L,糖 20g/L,香蕉 62.5g/L,硝酸钾 0.5g/L,硝酸铵 0.5g/L,吡啶丁酸 0.25mg/L,萘乙酸 0.25~0.5mg/L,生根粉 0.25mg/L;营养液溶液的 pH 值调至 5.6。

[0006] 花宝 I 号、花宝 II 号、花宝 5 号为美国花宝公司产品,是速效粉剂水溶性肥;花宝 I 号的成分为 N:P:K,质量配比为 7:6:19,花宝 II 号的成分为 N:P:K,质量配比为 20:20:20,花宝 5 号 N:P:K,质量配比为 30:10:10。N、K、P 分别指的是 NO_3 硝态氮、 PO_3 氧化磷、 KO_3 氧化钾。

[0007] 本发明的配方的优点体现在:

[0008] 1)、该配方比常用的 MS 培养基配制方便,转接步骤减少,药品成本与人工成本降低,污染率降低,成苗率高。

[0009] 2)、实用效果好,在接种后 2 个月开始长芽,3 个月开始生根,4 个月后培养成正常组培苗,成苗率为 96% 以上,每株组培苗都比较健壮,移栽 2 个月后统计成活率达 95% 以上。缩短了金线莲种苗生产周期,有利于组培工厂化快速育苗。

具体实施方式

[0010] 实施例 1

[0011] 1)配培养基:每升营养液溶液按以下配方配制培养基:花宝I号1g/L,花宝II号1g/L,花宝5号0.5g/L,肌醇0.1g/L,蛋白胨2g/L,活性炭1.6g/L,琼脂7g/L,蔗糖20g/L,香蕉62.5g/L,硝酸钾0.5g/L,硝酸铵0.5g/L,吡啶丁酸0.25mg/L,萘乙酸NAA0.25mg/L,生根粉0.25mg/L,PH调节至5.6。

[0012] 2)外植体选择:选择生长健康、无病虫害的金线莲植株。

[0013] 3)脱毒:(1)剪掉根和叶片,再用小刀把叶鞘及顶芽外叶削掉,注意不要伤及腋芽;(2)用清水将外植体冲洗干净;(3)用无菌水冲洗1遍;(4)75%酒精冲洗4-5遍,再在75%酒精里浸泡1min;(5)用84消毒液浸泡2min;(6)0.1%升汞溶液浸泡1min;(7)无菌水冲洗3-5遍。

[0014] 4)接种:将脱毒好的茎段在无菌条件下切成长约1cm、含1-2个腋芽的若干茎段,平放在培养基上。

[0015] 5)培养:将接种好的培养瓶转入培养室培养,培养条件为:温度23-25℃,光照:1500-2000lx,光照时数:12h/d,4个月后可出瓶炼苗。

[0016] 6)试管苗移栽:选择根系分布均匀、粗壮的健康组培苗,打开培养瓶炼苗一周,之后将根部的琼脂培养基冲洗干净,然后移栽到泥炭:松鳞:珍珠岩=2:1:1的基质中。

[0017] 实施例2

[0018] 1)配培养基:每升营养液溶液按以下配方配制培养基:花宝I号2g/L,花宝II号1g/L,花宝5号0.5g/L,肌醇0.1g/L,蛋白胨2g/L,活性炭1.6g/L+琼脂7g/L,蔗糖20g/L,香蕉62.5g/L,硝酸钾0.5g/L,硝酸铵0.5g/L,吡啶丁酸0.25mg/L,萘乙酸NAA0.5mg/L,生根粉0.25mg/L,PH调节至5.6。

[0019] 2)外植体选择:选择生长健康、无病虫害的金线莲植株。

[0020] 3)脱毒:(1)剪掉根和叶片,再用小刀把叶鞘及顶芽外叶削掉,注意不要伤及腋芽;(2)用清水将外植体冲洗干净;(3)用无菌水冲洗1遍;(4)75%酒精冲洗4-5遍,再在75%酒精里浸泡1min;(5)用84消毒液浸泡2min;(6)0.1%升汞溶液浸泡1min;(7)无菌水冲洗3-5遍。

[0021] 4)接种:将脱毒好的茎段在无菌条件下切成长约1cm、含1-2个腋芽的若干茎段,平放接种在准备好的培养基上。

[0022] 5)培养:将接种好的培养瓶转入培养室培养,培养条件为:温度23-25℃,光照:1500-2000lx,光照时数:12h/d,4个月后可出瓶炼苗。

[0023] 6)试管苗移栽:选择根系分布均匀、粗壮的健康组培苗,打开培养瓶炼苗一周,之后将根部的琼脂培养基冲洗干净,然后移栽到泥炭:松鳞:珍珠岩=2:1:1的基质中。

[0024] 实施例3

[0025] 设一对照组,选用“芽诱导---不定芽增殖---生根培养”3步成苗的常规配方,步骤如下:

[0026] 1)配培养基:不定芽诱导培养基配方:MS+6-BA1.0mg/L+KT1.0mg/L+琼脂7g/L+糖20g/L,丛生芽增殖培养基配方:MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L+琼脂7g/L+糖20g/L,生根培养基配方:MS+IBA0.5mg/L+活性炭0.5g/L+香蕉泥20g/L+琼脂7g/L+糖20g/L,PH5.6。

[0027] 2)外植体选择:选择生长健康、无病虫害的金线莲植株。

[0028] 3)脱毒:(1)剪掉根和叶片,再用小刀把叶鞘及顶芽外叶削掉,注意不要伤及腋芽;(2)用清水将外植体冲洗干净;(3)用无菌水冲洗1遍;(4)75%酒精冲洗4-5遍,再在75%酒精里浸泡1min;(5)用84消毒液浸泡2min;(6)0.1%升汞溶液浸泡1min;(7)无菌水冲洗3遍。

[0029] 4)不定芽诱导及继代增殖:将脱毒好的茎段在无菌条件下切成长约1cm、含1-2个腋芽的若干茎段,平放在准备好的培养基上;茎段不定芽诱导后,转接到增殖培养基,4个月得到丛生苗。

[0030] 5)生根培养:选取2cm长的丛生苗转接至生根培养基上,经过培育得到生根金线莲组培苗,培养2个月后可出瓶炼苗。

[0031] 以上4、5两点的培养条件为:温度23-25℃,光照:1500-2000 lx,光照时数:12h/d。

[0032] 6)试管苗移栽:选择根系分布均匀、粗壮的健康组培苗,打开培养瓶炼苗一周,之后将根部的琼脂培养基冲洗干净,然后移栽到泥炭:松鳞:珍珠岩=2:1:1的基质中。

[0033] 实施结果:

[0034] 通过以上实施例的数据表明(表1):一步成苗比多次转接成苗的培养时间明显缩短;转接次数减少,污染率降低,自然成苗率提高很多;得到的组培苗在苗高、生根数、叶片状态及出瓶综合状态要好很多。

[0035] 表1 不同实施例培养金线莲组培苗情况表

	培养时间	污染率	苗高 (cm)	生根数 (个)	顶叶长 (cm)	顶叶宽 (cm)	苗出瓶状态
[0036] 实例1	4个月	3%	5.5	49	1.5	0.9	长势均匀,根茎粗壮
实例2	4个月	2.5%	5.7	48	1.4	0.8	长势均匀,根茎粗壮
实例3	6个月	10%	4.8	40	1.0	0.6	根茎不够粗壮

[0037] 移栽2个月后统计移栽成活率。一次成苗配方的组培苗移栽成活率高于多次转接成苗,并且1个月后移栽苗已经正常生长,发育良好,病虫害少,生长健壮。

[0038] 表2 不同实施例得到的金线莲移栽苗生长情况表

	移栽成活率	苗长势情况	抗逆性
实例1	96.0%	移栽1个月后恢复生长,发育良	病虫害少,生长健壮
实例2	95.6%	移栽1个月后恢复生长,发育良	病虫害少,生长健壮
实例3	87.8%	移栽1.5个月后恢复生长	易染病虫害,长势稍弱