



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106718940 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(21)申请号 201710079785.X

(22)申请日 2017.02.15

(71)申请人 唐春艳

地址 541399 广西壮族自治区桂林市兴安县
县严关镇同志村委会圳南村157号

申请人 陈素云

(72)发明人 唐春艳 陈素云

(74)专利代理机构 广西南宁汇博专利代理有限公司 45114

代理人 兰如康

(51)Int.Cl.

A01H 4/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书5页

(54)发明名称

一种适用于油桐的组培快繁方法

(57)摘要

本发明公开了一种适用于油桐组培快繁方法,包括外植体选择、外植体处理、初始芽诱导培养、增殖培养、壮芽培养和生根培养工序,采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体,对外植体进行修剪、灭菌消毒处理后接种于初始芽诱导培养基中获取初始芽,再将初始芽接种于增殖培养基中经过3-4个周期增殖培养,形成丛生芽,将丛生芽接入壮芽培养基中培养,最后将高 $\geq 2\text{cm}$ 的单芽插入生根培养基中诱导生根。本发明缩短了油桐的育苗周期,节省育苗材料,克服了传统育苗方法中存在的育苗所需材料多、周期长等问题,大大降低了生产成本,提高了生产效率,具有较好的经济效益、社会效益和生态效益。

1. 一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:包括外植体选择、外植体处理、初始芽诱导培养、增殖培养、壮芽培养和生根培养工序,采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体,对外植体进行修剪、灭菌消毒处理后接种于初始芽诱导培养基中获取初始芽,再将初始芽接种于增殖培养基中经过3-4个周期增殖培养,形成丛生芽,将丛生芽接入壮芽培养基中培养,最后将高 $\geq 2\text{cm}$ 的单芽插入生根培养基中诱导生根,具体操作步骤如下:

(1) 外植体选择:采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体;

(2) 外植体处理:将外植体置于自来水下冲洗10-15 min,然后去除外植体叶片,再将外植体浸泡在体积浓度 0.1%的升汞溶液中,控制浸泡时间15-20 min,最后用纯净水洗净药物,将外植体裁成带至少1个腋芽,1.5-3cm长的茎段,视茎段木质化程度分类置放容器内,备用;

(3) 初始芽诱导培养:将步骤(2)得到的外植体接种于初始芽诱导培养基中培养,培养30-35 d,初始芽萌发、生长;

(4) 增殖培养:将高 $\geq 1\text{cm}$ 的初始芽接入增殖培养基中进行增殖培养,35-40 d转接一次,循环往复,经3-4个周期的培养,形成丛生芽;

(5) 壮芽培养:将步骤(4)得到的丛生芽进行切割,4-5颗芽/丛,插入壮芽培养基中,培养35-40 d,形成壮芽;

(6) 生根培养:将步骤(5)得到的高 $\geq 2\text{cm}$ 的单芽插入生根培养基中诱导生根;余下小芽从再次接种于步骤(4)的增殖培养基中继续增殖,然后再重复步骤(5),循环往复,获得大量壮芽。

2. 根据权利要求1所述的一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:所述的初始芽诱导培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 4.0-6.0 mg/L+NAA 2.0-3.0 mg/L+TDZ 1.0-2.0 mg/L+ZT 1.5-2.0 mg/L+ VC 15 mg/L+叶酸10mg/L+VB₂ 15 mg/+琼脂3.0 g/L+卡拉胶25 g/L。

3. 根据权利要求1所述的一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:所述的增殖培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 6.0-8.0 mg/L+NAA 2.0-3.0 mg/L+ZT 0.5-1.0 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.6 g/L+卡拉胶 30 g/L。

4. 根据权利要求1所述的一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:所述的壮芽培养基的配方为:改良MS培养基+6-BA 3.0-4.0 mg/L+NAA 1.0-1.5 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 25 g/L。

5. 根据权利要求1所述的一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:所述的生根培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 1.5-2.5 mg/L+NAA 1.0-1.5 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 30 g/L。

6. 根据权利要求2-5任一所述的一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:所述的改良MS培养基的配方为:KNO₃ 660 mg · L⁻¹;NH₄NO₃ 850 mg · L⁻¹;CaCl₂ · 2H₂O 275 mg · L⁻¹;MgSO₄ · 7H₂O 280 mg · L⁻¹;Ca (NO₃)₂ · 4H₂O 600 mg · L⁻¹;KH₂PO₄ 340 mg · L⁻¹;MnSO₄ · H₂O 22.3 mg · L⁻¹;ZnSO₄ · 7H₂O 8.6 mg · L⁻¹;CuSO₄ · 5H₂O 0.025 mg · L⁻¹;H₃BO₃ 6.2 mg · L⁻¹;Na₂MoO₄ · 2H₂O 0.025 mg · L⁻¹;KI 0.83 mg · L⁻¹;CoCl₂ · 6H₂O 0.025 mg · L⁻¹;维生素B₁ 1.0 mg · L⁻¹;维生素B₆ 0.5 mg · L⁻¹;烟酸 0.5 mg · L⁻¹;甘氨酸 2.0 mg · L⁻¹;肌醇 105

mg · L⁻¹。

7. 根据权利要求1所述的一种适用于油桐的组培快繁方法,其特征在于:步骤(3)所述的初始芽诱导培养的培育控制条件为:光培养、光照500-1000 lx,培养温度20±1℃;步骤(4)所述的增殖培养、步骤(5)所述的壮芽培养、步骤(6)所述的生根培养的培育控制条件均为:光培养,光照2500-4000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃。

一种适用于油桐的组培快繁方法

技术领域

[0001] 本发明属于植物繁殖技术领域,涉及一种适用于油桐组培快繁方法。

背景技术

[0002] 油桐(*Vernicia fordii* (Hemsl.) Airy Shaw),大戟科油桐属,属落叶乔木,树皮灰色,枝条粗壮,叶卵圆形,花雌雄同株,花萼外面密被棕褐色微柔毛;花瓣白色,有淡红色脉纹,倒卵形,子房密被柔毛,核果近球状,种皮木质。花果期3-9月。分布于中国的陕西、河南、江苏、安徽、浙江、江西、福建、台湾、湖南、湖北、广东、海南、广西、四川、贵州、云南等省区。油桐与油茶、核桃、乌桕并称中国四大木本油料植物。油桐生于1000米以上的地区,喜温暖,忌严寒。冬季气温落差18℃有利于油桐生长发育,但长期处在-10℃以下会引起冻害。适生于缓坡及向阳谷地,盆地及河床两岸台地。富含腐殖质、土层深厚、排水良好、中性至微酸性沙质壤土最适油桐生长。组织培养能通过无性繁殖,遗传树种的优良特性,能在短时间内快速繁殖获得大量优质的组培苗,为优质种源推广提供可能。

发明内容

[0003] 本发明的目的是针对油桐组织培养过程中芽增殖系数低,生长缓慢等问题,提供一种生长效果好、扩繁快的油桐嫩枝组培繁殖方法。

[0004] 为了实现上述发明目的,本发明的技术方案如下:

一种适用于油桐的组培快繁方法,包括外植体选择、外植体处理、初始芽诱导培养、增殖培养、壮芽培养和生根培养工序,采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体,对外植体进行修剪、灭菌消毒处理后接种于初始芽诱导培养基中获取初始芽,再将初始芽接种于增殖培养基中经过3-4个周期增殖培养,形成丛生芽,将丛生芽接入壮芽培养基中培养,最后将高 $\geq 2\text{cm}$ 的单芽插入生根培养基中诱导生根,具体操作步骤如下:

(1) 外植体选择:采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体;

(2) 外植体处理:将外植体置于自来水下冲洗10-15 min,然后去除外植体叶片,再将外植体浸泡在体积浓度0.1%的升汞溶液中,控制浸泡时间15-20 min,最后用纯净水洗净药物,将外植体裁成带至少1个腋芽,1.5-3cm长的茎段,视茎段木质化程度分类置放容器内,备用;

(3) 初始芽诱导培养:将步骤(2)得到的外植体接种于初始芽诱导培养基中培养,培养30-35 d,初始芽萌发、生长;

(4) 增殖培养:将高 $\geq 1\text{cm}$ 的初始芽接入增殖培养基中进行增殖培养,35-40 d转接一次,循环往复,经3-4个周期的培养,形成丛生芽;

(5) 壮芽培养:将步骤(4)得到的丛生芽进行切割,4-5颗芽/丛,插入壮芽培养基中,培养35-40 d,形成壮芽;

(6) 生根培养:将步骤(5)得到的高 $\geq 2\text{cm}$ 的单芽插入生根培养基中诱导生根;余下小芽丛再次接种于步骤(4)的增殖培养基中继续增殖,然后再重复步骤(5),循环往复,获得大量

壮芽。

[0005] 以上所述的初始芽诱导培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 4.0-6.0 mg/L+NAA 2.0-3.0 mg/L+TDZ 1.0-2.0 mg/L+ZT 1.5-2.0 mg/L+ VC 15 mg/L+叶酸10mg/L+VB₂ 15 mg/+琼脂3.0 g/L+卡拉胶25 g/L。

[0006] 以上所述的增殖培养基的配方为:改良1/2MS培养基+6-BA 6.0-8.0 mg/L+NAA 2.0-3.0 mg/L+ZT 0.5-1.0 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.6 g/L+卡拉胶 30 g/L。

[0007] 以上所述的壮芽培养基的配方为:改良MS培养基+6-BA 3.0-4.0 mg/L+NAA 1.0-1.5 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 25 g/L。

[0008] 以上所述的生根培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 1.5-2.5 mg/L+NAA 1.0-1.5 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 30 g/L。

[0009] 以上所述的改良MS培养基的配方为:KNO₃ 660 mg · L⁻¹;NH₄NO₃ 850 mg · L⁻¹;CaCl₂ · 2H₂O 275 mg · L⁻¹;MgSO₄ · 7H₂O 280 mg · L⁻¹;Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 600 mg · L⁻¹;KH₂PO₄ 340 mg · L⁻¹;MnSO₄ · H₂O 22.3 mg · L⁻¹;ZnSO₄ · 7H₂O 8.6 mg · L⁻¹;CuSO₄ · 5H₂O 0.025 mg · L⁻¹;H₃BO₃ 6.2 mg · L⁻¹;Na₂MoO₄ · 2H₂O 0.025 mg · L⁻¹;KI 0.83 mg · L⁻¹;CoCl₂ · 6H₂O 0.025 mg · L⁻¹;维生素B₁ 1.0 mg · L⁻¹;维生素B₆ 0.5 mg · L⁻¹;烟酸 0.5 mg · L⁻¹;甘氨酸 2.0 mg · L⁻¹;肌醇 105 mg · L⁻¹。

[0010] 以上步骤(3)所述的初始芽诱导培养的培育控制条件为:光培养、光照500-1000 lx,培养温度20±1℃;步骤(4)所述的增殖培养、步骤(5)所述的壮芽培养、步骤(6)所述的生根培养的培育控制条件均为:光培养,光照2500-4000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃。

[0011] 相对于现有技术,本发明具有的优点和有益效果如下:

1、本发明以油桐当年生嫩枝作为外植体,经过初始芽培养基培养,初始芽萌动率90%以上;经过3-4个周期增殖培养,形成丛生芽,芽增殖系数5/30d-7/30d,再将丛生芽接入壮芽培养基中培养,最后将高≥2cm的单芽插入生根培养基中诱导生根,从而缩短了油桐的育苗周期,节省育苗材料,克服了传统育苗方法中存在的育苗所需材料多、周期长等问题,大大降低了生产成本,提高了生产效率。

[0012] 2、本发明将高≥2cm的单芽插入生根培养基中诱导生根,余下小芽丛继续增殖培养,使得材料能够多次继代,实现大量增殖,规模化生产壮芽,实现黄樟油素型樟树的扩繁。

[0013] 3、本发明对MS基本培养基进行了改良,同时重点调整了与油桐出芽壮芽相关元素,使得培养基更科学,更有针对性,更易促使油桐芽诱导的发生、增殖和壮芽,效果显著。

[0014] 4、本发明操作过程简便,培养周期短,继代芽产量大,并且质量优,增殖系数达到5以上的组培苗产业化技术要求,具有很好的经济效益、生态效益和社会效益。

具体实施方式

[0015] 下面结合具体实施例对本发明做进一步说明。

[0016] 实施例1:

(1)外植体选择:采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体;

(2)外植体处理:将外植体置于自来水下冲洗10 min,然后去除外植体叶片,再将外植

体浸泡在体积浓度 0.1%的升汞溶液中,控制浸泡时间15 min,最后用纯净水洗净药物,将外植体裁成带至少1个腋芽,1.5-3cm长的茎段,视茎段木质化程度分类置放容器内,备用;

(3) 初始芽诱导培养:将步骤(2)得到的外植体接种于初始芽诱导培养基中培养,置于光培养、光照500 lx,培养温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 的环境中培养30-35 d,初始芽萌发、生长;所述的初始芽诱导培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 4.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L+TDZ 1.0 mg/L+ZT 1.5 mg/L+ VC 15 mg/L+叶酸10mg/L+VB₂ 15 mg/+琼脂3.0 g/L+卡拉胶25 g/L;

(4) 增殖培养:将高 $\geq 1\text{cm}$ 的初始芽接入增殖培养基中进行增殖培养,置于光培养,光照2500 lx,每日光照16 h,培养温度25-28 $^\circ\text{C}$ 的环境中,35-40 d转接一次,循环往复,经3-4个周期的培养,形成丛生芽;所述的增殖培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 6.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L+ZT 0.5 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.6 g/L+卡拉胶 30 g/L;

(5) 壮芽培养:将步骤(4)得到的丛生芽进行切割,4-5颗芽/丛,插入壮芽培养基中,置于光培养,光照2500 lx,每日光照16 h,培养温度25-28 $^\circ\text{C}$ 的环境中培养35-40 d,形成壮芽;所述的壮芽培养基的配方为:改良MS培养基+6-BA 3.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 25 g/L;

(6) 生根培养:将步骤(5)得到的高 $\geq 2\text{cm}$ 的单芽插入生根培养基中,余下小芽丛再次接种于步骤(4)的增殖培养基中继续增殖,然后再重复步骤(5),循环往复,获得大量壮芽;生根培养是置于光培养,光照2500 lx,每日光照16 h,培养温度25-28 $^\circ\text{C}$ 的环境中诱导生根,生根率为89%;所述的生根培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 30 g/L。

[0017] 以上所述的改良MS培养基的配方为: KNO_3 660 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; NH_4NO_3 850 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 275 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 280 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; KH_2PO_4 340 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 22.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.025 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; H_3BO_3 6.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.025 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; KI 0.83 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.025 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 维生素B₁ 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 维生素B₆ 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 烟酸 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 甘氨酸 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 肌醇 105 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

[0018] 实施例2:

(1) 外植体选择:采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体;

(2) 外植体处理:将外植体置于自来水下冲洗15 min,然后去除外植体叶片,再将外植体浸泡在体积浓度 0.1%的升汞溶液中,控制浸泡时间20 min,最后用纯净水洗净药物,将外植体裁成带至少1个腋芽,1.5-3cm长的茎段,视茎段木质化程度分类置放容器内,备用;

(3) 初始芽诱导培养:将步骤(2)得到的外植体接种于初始芽诱导培养基中培养,置于光培养、光照1000 lx,培养温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 的环境中培养30-35 d,初始芽萌发、生长;所述的初始芽诱导培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 5.0 mg/L+NAA 3.0 mg/L+TDZ 1.5 mg/L+ZT 1.5 mg/L+ VC 15 mg/L+叶酸10mg/L+VB₂ 15 mg/+琼脂3.0 g/L+卡拉胶25 g/L;

(4) 增殖培养:将高 $\geq 1\text{cm}$ 的初始芽接入增殖培养基中进行增殖培养,置于光培养,光照3000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28 $^\circ\text{C}$ 的环境中,35-40 d转接一次,循环往复,经3-4个周期的培养,形成丛生芽;所述的增殖培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 7.0 mg/L+NAA 2.5 mg/L+ZT 1.0 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.6 g/L+卡

拉胶 30 g/L;

(5) 壮芽培养:将步骤(4)得到的丛生芽进行切割,4-5颗芽/丛,插入壮芽培养基中,置于光培养,光照3000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃的环境中培养35-40 d,形成壮芽;所述的壮芽培养基的配方为:改良MS培养基+6-BA 3.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 25 g/L;

(6) 生根培养:将步骤(5)得到的高≥2cm的单芽插入生根培养基中,余下小芽丛再次接种于步骤(4)的增殖培养基中继续增殖,然后再重复步骤(5),循环往复,获得大量壮芽;生根培养是置于光培养,光照3000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃的环境中诱导生根,生根率为92%;所述的生根培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 30 g/L。

[0019] 以上所述的改良MS培养基的配方为:KNO₃ 660 mg·L⁻¹;NH₄NO₃ 850 mg·L⁻¹;CaCl₂·2H₂O 275 mg·L⁻¹;MgSO₄·7H₂O 280 mg·L⁻¹;Ca(NO₃)₂·4H₂O 600 mg·L⁻¹;KH₂PO₄ 340 mg·L⁻¹;MnSO₄·H₂O 22.3 mg·L⁻¹;ZnSO₄·7H₂O 8.6 mg·L⁻¹;CuSO₄·5H₂O 0.025 mg·L⁻¹;H₃BO₃ 6.2 mg·L⁻¹;Na₂MoO₄·2H₂O 0.025 mg·L⁻¹;KI 0.83 mg·L⁻¹;CoCl₂·6H₂O 0.025 mg·L⁻¹;维生素B₁ 1.0 mg·L⁻¹;维生素B₆ 0.5 mg·L⁻¹;烟酸 0.5 mg·L⁻¹;甘氨酸 2.0 mg·L⁻¹;肌醇 105 mg·L⁻¹。

[0020] 实施例3:

(1) 外植体选择:采集半木质化、生长健壮的当年生油桐嫩枝作为外植体;

(2) 外植体处理:将外植体置于自来水下冲洗15 min,然后去除外植体叶片,再将外植体浸泡在体积浓度 0.1%的升汞溶液中,控制浸泡时间20 min,最后用纯净水洗净药物,将外植体裁成带至少1个腋芽,1.5-3cm长的茎段,视茎段木质化程度分类置放容器内,备用;

(3) 初始芽诱导培养:将步骤(2)得到的外植体接种于初始芽诱导培养基中培养,置于光培养、光照1000 lx,培养温度20±1℃的环境中培养30-35 d,初始芽萌发、生长;所述的初始芽诱导培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 6.0 mg/L+NAA 2.5 mg/L+TDZ 2.0 mg/L+ZT 2.0 mg/L+ VC 15 mg/L+叶酸10mg/L+VB₂ 15 mg/+琼脂3.0 g/L+卡拉胶25 g/L;

(4) 增殖培养:将高≥1cm的初始芽接入增殖培养基中进行增殖培养,置于光培养,光照4000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃的环境中,35-40 d转接一次,循环往复,经3-4个周期的培养,形成丛生芽;所述的增殖培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 8.0 mg/L+NAA 3.0 mg/L+ZT 1.0 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.6 g/L+卡拉胶 30 g/L;

(5) 壮芽培养:将步骤(4)得到的丛生芽进行切割,4-5颗芽/丛,插入壮芽培养基中,置于光培养,光照4000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃的环境中培养35-40 d,形成壮芽;所述的壮芽培养基的配方为:改良MS培养基+6-BA 4.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L+VC 15 mg/L+VB₂ 15 mg+天冬氨酸 20 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 25 g/L;

(6) 生根培养:将步骤(5)得到的高≥2cm的单芽插入生根培养基中,余下小芽丛再次接种于步骤(4)的增殖培养基中继续增殖,然后再重复步骤(5),循环往复,获得大量壮芽;生根培养是置于光培养,光照4000 lx,每日光照16 h,培养温度25-28℃的环境中诱导生根,生根率为93%;所述的生根培养基的配方为:1/2改良MS培养基+6-BA 2.5 mg/L+NAA 1.5 mg/L+琼脂 3.5 g/L+卡拉胶 30 g/L。

[0021] 以上所述的改良MS培养基的配方为： KNO_3 $660 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； NH_4NO_3 $850 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $275 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $280 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； KH_2PO_4 $340 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $22.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $8.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； H_3BO_3 $6.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； KI $0.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；维生素 B_1 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；维生素 B_6 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；烟酸 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；甘氨酸 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；肌醇 $105 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。