



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102860258 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201210346936. 0

CN 102144546 A, 2011. 08. 10, 全文.

(22) 申请日 2012. 09. 19

CN 102630459 A, 2012. 08. 15, 全文.

(73) 专利权人 广东省林业科学研究院
地址 510520 广东省广州市天河广汕一路
233 号省林科院

龚峥等. 樟树组织培养快繁育苗技术研究. 《广东林业科技》. 2007, 第 23 卷 (第 5 期), 35-39.

(72) 发明人 曾令海 周丽华 何波祥 连辉明
蔡燕灵 张谦 蔡静如

审查员 李安

(74) 专利代理机构 广州市南锋专利事务所有限
公司 44228

代理人 刘媿

(51) Int. Cl.

A01H 4/00 (2006. 01)

A01G 1/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101933455 A, 2011. 01. 05, 全文.

权利要求书1页 说明书10页

(54) 发明名称

樟树无性系组培繁育方法

(57) 摘要

本发明涉及一种樟树无性系组培繁育方法,属于林木组培繁育技术领域,该方法步骤为:外植体材料的消毒→芽的诱导→芽的增殖→生根诱导→生根苗的炼苗→组培苗的移栽与管理,具体方法是将当年生的嫩梢去掉叶片,切成每段带有1~2个腋芽的茎段,将茎段消毒,用诱导培养基进行诱导培养,新芽再进行增殖培养、生根培养,培育出的生根苗进行炼苗驯化,最后将经驯化的苗移栽到消毒的基质上,进行移栽苗的管理;采用该方法育苗不受季节、天气等自然因素的影响,生产成本低,节约土地资源,提高育苗效率,同时采用该方法能有效防止褐化现象,有效增殖率高,生根苗生长整齐,培养周期短,组培苗移栽成活率高,苗期培育周期短,该项技术有着非常重要的意义。

1. 樟树无性系组培繁育方法,其特征在於:包括如下步骤:

(1) 外植体材料的消毒:取当年生嫩梢去掉叶片,切段,使每段为带有1~2个腋芽的茎段,茎段先用0.2%灭菌净消毒10~20min,无菌水清洗6次,再用0.1%升汞,2~5滴吐温80,处理3~5min,无菌水清洗6次,消毒后备用;(2)芽的诱导:把步骤(1)经消毒的茎段,接种到芽的诱导培养基上,经过6~15d的培养,在腋芽处开始萌动,并长出新芽,所述的诱导培养基为DCR_改+6-BA 0.3mg+NAA 0.05~0.5mg;(3)芽的增殖:将步骤(2)长出的新芽培养30d后,将新芽切割下来,接到继代增殖培养基上培养,在增殖培养基培养6~15d,就会形成丛生芽,所述的增殖培养基为DCR_改+6-BA 0.5~3mg+NAA 0.05~0.5mg+IAA 0.05~2mg或DCR_改+6-BA 0.5~4mg+NAA 0.05~1mg;

(4) 生根诱导:步骤(3)的丛生芽的单芽长到1.5~2cm长时,选取叶片展开的单芽,分割下来接到生根培养基中诱导生根,在生根培养基中培养7~10d,茎基部诱导出根,所述的生根培养基为1/2MS+IBA 1.5~2.5mg+IAA 1.5~2.5mg+6-BA 0~0.5mg+NAA 0.05~0.5mg;(5)生根苗的炼苗:经过生根诱导,当苗诱导生根后,将瓶苗置于有70%遮荫的大棚中炼苗30~40d后,苗高3cm以上,进行移栽;

(6) 组培苗的移栽与管理:将步骤(5)进行炼苗的樟树苗移栽至消毒的基质上,移栽时,把根放进预先打好的小孔中,使根系舒展,充分压实,使根土密接,要防止栽植过深、窝根或露根,移栽后浇透水;栽植后用塑料薄膜作小拱状盖好小苗保湿,遮荫60~80%;为防止病害,移苗后当天喷防病药剂800—1000倍菌毒清液或多菌灵一次,以后每周喷药剂一次,3d后逐渐打开塑料薄膜,15天后全部打开,待小苗长出新叶时方开始薄施肥,1个月后,进行正常的水肥管理;

所述的DCR_改培养基的组成及其含量为:NH₄NO₃800 mg/L、KNO₃ 680 mg/L、KH₂PO₄ 400 mg/L、CaCl₂·2H₂O 170 mg/L、Ca(NO₃)₂·4H₂O 1112 mg/L、MgSO₄·7H₂O 740 mg/L、FeSO₄·7H₂O 27.8 mg/L、Na₂-EDTA 37.3 mg/L、MnSO₄·4H₂O 22.3 mg/L、ZnSO₄·7H₂O 8.6 mg/L、H₃BO₄ 6.2 mg/L、KI 0.83 mg/L、Na₂MoO₄·2H₂O 0.25 mg/L、CuSO₄·5H₂O 0.025 mg/L、CoCl₂·6H₂O 0.025 mg/L、肌醇 100 mg/L、甘氨酸 2 mg/L、VB₁ 0.1 mg/L、VB₆ 0.5 mg/L、VC 2 mg/L、VB₃ 0.5 mg/L、L-半胱氨酸 5 mg/L、糖 30000 mg/L。

2. 根据权利要求1所述的樟树无性系组培繁育方法,其特征在於:步骤(6)所述的基质为泥炭土和黄心土配制而成的混合基质,其混合比为泥炭土:黄心土=1:4。

3. 根据权利要求1所述的樟树无性系组培繁育方法,其特征在於:步骤(6)所述的消毒是采用0.1%高锰酸钾溶液消毒。

4. 根据权利要求1所述的樟树无性系组培繁育方法,其特征在於:所述的诱导培养和增殖培养的培养基均添加蔗糖30g/L,生根阶段的培养基添加蔗糖20g/L,全部培养基均添加卡拉胶0.6~0.7%,pH值为5.8。

5. 根据权利要求1所述的樟树无性系组培繁育方法,其特征在於:培养室的培养条件:培养条件25~30℃,每天光照12~16h,光照度为1500~3000lx。

樟树无性系组培繁育方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种组培繁育方法,具体涉及樟树无性系组培繁育方法,属于林木组培繁育技术领域。

背景技术

[0002] 樟树(*Cinnamomum camphora*(L.)Presl),属樟科樟属树种,是常绿乔木,是国家二级保护树种。在华南地区,樟树是著名的多用途乡土珍贵树种和经济树种,分布范围广,开发利用程度高,家喻户晓,一直受到人们的高度重视。它除了是珍贵用材外,还可以提炼冰片、樟油等,其深加工产品在医药、光学及工业上应用广泛,与人们的生产和生活息息相关。目前可供木材和樟油提取的资源已经极为有限。天然分布的樟树大都是低产低质次生林,且多为零星分布,可利用的资源甚少。较好的樟树一般都是房前屋后的风水林、城市景观和道路绿化树木。近年来,随着人们环保意识和商品林建设能力的提高,大规模造林绿化广泛开展,樟树人工林开始大量发展,樟树良种苗木市场巨大。

[0003] 以往樟树苗木培育技术主要有二种,一是种子培育,即在樟子种子成熟期,从樟树上采摘果实,把果实经地过去皮处理,得到种子,然后通过对种子适当的处理进步播种催芽培育苗木;其二是扦插繁育,即从樟树上采摘半木质化的穗条,用激素处理穗条后,把穗条插入适当的基质中培育苗木。

[0004] 樟树苗木的培育主要依靠种子繁育实生苗。但种子繁育苗木存在如下缺点,一是种子育苗季节性强,一年一茬,种子保存时间不长,半年之后发芽率大幅下降;二是经科学选育的良种一般种子都很少,难以满足生产应用的需求,而营建种子园投资大,周期长;三是种子培育苗木不能培育无性系,生产上林份分化大,林相参差不齐,对经过选择表现优良的单株,无法实现规模利用。

[0005] 樟树扦插繁育的缺点是,一是老树穗条成活率低,因此需要营建扦插用的采穗圃,经过修剪矮化,培育合适的冠形,多产穗条。采穗圃需要精细化管理,必须投入大量的人工,在劳动力成本日渐高涨的今日,采穗圃管理成本难以承受;二是采穗母株容易老化,使用周期不长,3-5年后即要淘汰;三是扦插成活率受天气、管理、基质、生根素等诸多因素的影响,往往成活率难以保证;四是苗木价格偏高,市场难以接受。

[0006] 樟树是目前我国以南方地区的主要造林树种和园林绿化树种,每年苗木用量约数亿株,樟树种苗基本上是采用种子繁育实生苗,少量扦插繁育的扦插苗。近几年随着樟树良种选育的深入,所选育出来的的良种受到种子和插穗数量的限制,良种的推广应用遭遇瓶颈。樟树无性系组培繁育技术的攻克,使得大樟树良种的大规模使用成为现实。

[0007] 但是研究人员发现樟树在组织培养中存在以下几方面的问题:一是组培芽增殖时,褐化现象严重,芽尖坏死,甚至枯褐而死,有效增殖率低;二是组培生根诱导时,生根苗生长不整齐,生根苗培养周期长;三是组培苗移栽成活率低,苗期培育周期长,所以研究樟树无性系组培繁育的新技术有非常重要的意义。

发明内容

[0008] 本发明的目的是克服现有种子繁育和扦插繁育技术的不足,提供一种樟树无性系组培繁育方法,该方法克服了樟树种子繁育受季节影响、种子发芽率低,繁殖速率慢的缺点,同时克服了扦插苗繁育的缺点,实现了樟树良种大规模繁育。

[0009] 为实现上述发明的目的,本发明采取的技术方案如下:

[0010] 樟树无性系组培繁育方法,包括如下步骤:

[0011] (1)外植体材料的消毒:取当年生嫩梢去掉叶片,切段,使每段为带有1~2个腋芽的茎段,茎段先用0.2%灭菌净消毒10~20min,无菌水清洗6次,再用0.1%升汞,2~5滴吐温80,处理3~5min,无菌水清洗6次,消毒后备用;消毒成功率在80%以上(见表1)。

[0012] 表1 外植体材料的消毒试验

	试验序号	接种芽数	存活的芽数	成功率(%)
[0013]	1	60	49	81.67
	2	35	28	80.0
	3	50	46	92.0

[0014] (2)芽的诱导:把步骤(1)经消毒的茎段,接种到芽的诱导培养基上,经过6~15d的培养,在腋芽处开始萌动,并长出新芽,所述的诱导培养基为DCR_改+6-BA 0.3mg+NAA 0.05~0.5mg;芽的诱导率最高达75.3%(见表2)。

[0015] 表2 不同培养基对外植体腋芽诱导的影响

[0016]

基本培养基	X ₅		X ₉	
	诱导率(%)	生长状况	诱导率(%)	生长状况
DCR	79.5	无褐化,芽黄绿且较粗壮,叶片展开,无愈伤组织	79.6	无褐化,芽黄绿且较粗壮,叶片展开,无愈伤组织
DCR _改	75.3	无褐化,芽绿且粗壮,叶片展开,无愈伤组织	73.4	无褐化,芽绿且粗壮,叶片展开,无愈伤组织
MS	55.6	褐化重,芽浓绿但纤细,叶片不展开,节间长,有愈伤组织	62.3	褐化重,芽浓绿但纤细,叶片不展开,节间长,有愈伤组织

[0017] 注:X₅和X₉为樟树的家系号

[0018] (3)芽的增殖:将步骤(2)长出的新芽培养30d后,将新芽切割下来,接到继代增殖培养基上培养,在增殖培养基培养6~15d,就会形成丛生芽,所述的增殖培养基为DCR_改+6-BA 0.5~3mg+NAA 0.05~0.5mg+IAA 0.05~2mg或DCR_改+6-BA 0.5~4mg+NAA 0.05~1mg;有效芽的增殖系数最高为3.2(见表3和表4)。

[0019] 表3 X₅在不同激素不同水平组合正交L₉(3⁴)试验的芽增殖结果分析

处理号	6-BA	IAA	NAA	增殖系数	生长状况
1	1	1	1	1.72	芽较粗, 叶片较少
2	1	2	2	1.25	芽苗健壮, 叶片闭合
3	1	3	3	1.65	芽苗健壮, 叶片闭合
4	2	1	2	2.69	芽苗健壮, 叶片展开
5	2	2	3	2.45	芽苗健壮, 叶片闭合
6	2	3	1	2.15	芽苗较弱, 叶片闭合
7	3	1	3	2.25	芽较粗, 愈伤组织多
[0020] 8	3	2	1	2.15	芽有水化, 叶片闭合
9	3	3	2	1.95	芽有水化, 叶片闭合
T ₁	4.62	3.33	3.03		
T ₂	7.29	5.85	5.88		
T ₃	6.36	5.88	6.36		
\bar{x}_1	1.54	2.22	2.01		
\bar{x}_2	2.43	1.95	1.96		
\bar{x}_3	2.12	1.92	2.12		
R	0.89	0.30	0.15		
最优水平	2	1	3		
因素主	1	2	3		
[0021] 次					

[0022] 注: T 是各因素各水平之和, \bar{x} 各因素各水平的平均数, R 是各因素各水平平均数的极差。

[0023] 表 4 X₉ 在不同激素不同水平组合正交 L₉ (3⁴) 试验芽增殖结果分析

处理号	6-BA	IAA	NAA	增殖系数	生长状况
1	1	1	1	1.15	芽较粗, 叶片较少
2	1	2	2	2.42	芽苗健壮, 叶片展开
3	1	3	3	2.62	芽苗健壮, 叶片展开
4	2	1	2	1.95	芽较粗, 有愈伤组织
5	2	2	3	2.68	芽苗健壮, 叶片展开
6	2	3	1	2.15	芽苗较壮, 叶片展开
7	3	1	3	2.69	芽较粗, 有愈伤组织
8	3	2	1	2.84	芽苗较壮, 叶片展开
9	3	3	2	3.25	芽苗健壮, 叶片展开
T ₁	6.18	5.79	6.15		
T ₂	6.78	7.95	7.62		
T ₃	8.79	8.01	7.98		
\bar{x}_1	2.06	1.93	2.05		
\bar{x}_2	2.26	2.65	2.54		
\bar{x}_3	2.93	2.67	2.66		
R	0.86	0.74	0.62		
最优水平	3	3	3		
因素主次	1	2	3		

[0025] (4) 生根诱导: 步骤(3)的丛生芽的单芽长到 1.5 ~ 2cm 左右长时, 选取叶片展开的单芽, 分割下来接到生根培养基中诱导生根, 在生根培养基中培养 7 ~ 10d, 茎基部诱导出根, 所述的生根培养基为 1/2MS+IBA 1.5 ~ 2.5mg+IAA 1.5 ~ 2.5mg+6-BA 0 ~ 0.5mg+NAA 0.05 ~ 0.5mg; 生根率最高为 96.7%(见表 5)。

[0026] 表 5 通用生根培养基试验结果

[0027]

培养基	X ₅ 生根率(%)	X ₉ 生根率(%)	平均生根率(%)
1号生根培养基	96.30	96.30	96.30
2号生根培养基	90.00	96.67	93.34
3号生根培养基	78.52	94.07	86.30
4号生根培养基	91.85	97.04	94.44

[0028] (5) 生根苗的炼苗:经过生根诱导,当苗诱导生根后,将瓶苗置于有70%遮荫的大棚中炼苗30~40d后,苗高3cm以上,可进行移栽;

[0029] (6) 组培苗的移栽与管理:将步骤(5)进行炼苗的樟树苗移栽至消毒的基质上,移栽时,把根放进预先打好的小孔中,使根系舒展,充分压实,使根土密接,要防止栽植过深、窝根或露根,移栽后浇透水;栽植后用塑料薄膜作小拱状盖好小苗保湿,遮荫60-80%;为防止病害,移苗后当天喷防病药剂800-1000倍菌毒清液或多菌灵一次,以后每周喷药剂一次,3d后逐渐打开塑料薄膜,15天后全部打开,待小苗长出新叶时方可开始薄施肥,1个月后可进行正常的水肥管理。采用这种移栽管理办法的移栽成活率高达90%以上(见表6)。

[0030] 表6 移栽试验

试验序号	种植株数	成活株数	成活率(%)
[0031] 1	1000	560	56.00
2	2000	1512	75.60
3	10000	9050	90.50

[0032] 步骤(6)所述的基质为泥炭土和黄心土配制而成的混合基质,其混合比为泥炭土:黄心土=1:4。

[0033] 步骤(6)所述的消毒是采用0.1%高锰酸钾溶液消毒。

[0034] 所述的诱导培养和增殖培养的培养基均添加蔗糖30g/L,生根阶段的培养基添加蔗糖20g/L,全部培养基均添加卡拉胶0.6~0.7%,pH值为5.8。

[0035] 培养室的培养条件:培养条件25~30℃,每天光照12~16h,光照度为1500~3000lx。

[0036] 本发明所采用的基本培养基DCR_改和MS的配方如表7:

[0037] 表7 基本配方表

成份	DCR _改 (mg/L)	MS (mg/L)
NH ₄ NO ₃	800	1650

[0039]

KNO ₃	680	1900
KH ₂ PO ₄	400	170
CaCl ₂ ·2H ₂ O	170	440
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1112	—
MgSO ₄ ·7H ₂ O	740	370
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	27.8
Na ₂ -EDTA	37.3	37.3
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3	22.3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	8.6
H ₃ BO ₄	6.2	6.2
KI	0.83	0.83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025
肌醇	100	100
甘氨酸	2	2
VB ₁	0.1	0.1
VB ₆	0.5	0.5
VC	2	2
VB ₃	0.5	0.5
L-半胱氨酸	5	5
AC		100
糖	30000	20000

[0040] DCR 基本培养基的组成如表 8：

[0041] 表 8 基本配方表

[0042]

成份	DCR (mg/L)
NH ₄ NO ₃	400

KNO ₃	340
KH ₂ PO ₄	170
CaCl ₂ · 2H ₂ O	85
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	556
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8
Na ₂ -EDTA	37.3
MnSO ₄ · H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6
H ₃ BO ₄	6.2
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.25
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025
NiCl ₂	0.025
肌醇	200
甘氨酸	2
VB ₁	1
VB ₆	0.5
糖	30000

[0043]

[0044] 本发明的有益效果是：

[0045] 1. 本方法具有种苗繁殖快, 种苗繁殖不受季节的影响, 一年四季都可培育苗木；同时解决了科学研究选育的良种应用的问题, 以往良种生产单纯依赖建设种子园的方法, 采用该方法节约了土地、经费以及解决了种子园投产周期长的问题。

[0046] 2. 本方法不需要营建扦插用的采穗圃, 节约了土地, 同时不必投入大量的人工, 节省了成本, 而且繁育种苗不受天气等自然因素的影响, 成活率比较高, 苗木的价格合适, 推

广应用前景好。

[0047] 3. 采用该方法,良种大规模通过组培扩繁,并推广造林,其木材的经济收入相应也大幅度提高,同时发挥更好的生态和社会效益。

[0048] 4. 采用该方法能有效防止褐化现象,有效增殖率高,生根苗生长整齐,培养周期短,组培苗移栽成活率高,苗期培育周期短,该项技术有着非常重要的意义。

具体实施方式

[0049] 下面通过实例对本发明做进一步详细说明,这些实例仅用来说明本发明,并不限制本发明的范围。

[0050] 实施例 1

[0051] 樟树无性系组培繁育方法,包括如下步骤:

[0052] (1) 外植体材料的消毒:取当年生嫩梢去掉叶片,切段,使每段成为带有 1~2 个腋芽的茎段,茎段先用 0.2% 灭菌净消毒 10min,无菌水清洗 6 次,再用 0.1% 升汞,2~5 滴吐温 80,处理 3min,无菌水清洗 6 次,消毒后备用;

[0053] (2) 芽的诱导:把步骤(1)经消毒的茎段,接种到芽的诱导培养基上进行诱导培养,经过 6~15d 的培养,在腋芽处开始萌动,并长出新芽,所述的诱导培养基为 DCR_改+6-BA 0.3mg+NAA 0.05mg;

[0054] (3) 芽的增殖:将步骤(2)长出的新芽培养 30d 后,将新芽切割下来,接到继代增殖培养基上培养,在增殖培养基培养 6d,就会形成丛生芽,所述的增殖培养基为 DCR_改+6-BA 0.5mg+NAA 0.05mg+IAA 0.05mg 或 DCR_改+6-BA 0.5mg+NAA 0.05mg;

[0055] (4) 生根诱导:步骤(3)的丛生芽的单芽长到 1.5cm 左右长时,选取叶片展开的单芽,分割下来接到生根培养基中诱导生根,在生根培养基中培养 7d,茎基部诱导出根,所述的生根培养基为 1/2MS+IBA 1.5mg+IAA 1.5mg+NAA 0.05mg;

[0056] (5) 生根苗的炼苗:经过生根诱导,当苗诱导生根后,将瓶苗置于有 70% 遮荫的大棚中炼苗 30d 后,苗高 3cm 以上,可进行移栽;

[0057] (6) 组培苗的移栽与管理:将步骤(5)进行炼苗的樟树苗移栽至消毒的基质上,移植时,把根放进预先打好的小孔中,使根系舒展,充分压实,使根土密接,要防止栽植过深、窝根或露根,移栽后浇透水;栽植后用塑料薄膜作小拱状盖好小苗保湿,遮荫 60-80%;为防止病害,移苗后当天喷防病药剂 800 倍菌毒清液或多菌灵一次,以后每周喷药剂一次,3d 后逐渐打开塑料薄膜,15 天后全部打开,待小苗长出新叶时方可开始薄施肥,1 个月后,可进行正常的水肥管理。

[0058] 实施例 2

[0059] 樟树无性系组培繁育方法,包括如下步骤:

[0060] (1) 外植体材料的消毒:取当年生嫩梢去掉叶片,切段,使每段成为带有 1~2 个腋芽的茎段,茎段先用 0.2% 灭菌净消毒 20min,无菌水清洗 6 次,再用 0.1% 升汞,2~5 滴吐温 80,处理 5min,无菌水清洗 6 次,消毒后备用;

[0061] (2) 芽的诱导:把步骤(1)经消毒的茎段,接种到芽的诱导培养基上进行诱导培养,经过 6~15d 的培养,在腋芽处开始萌动,并长出新芽,所述的诱导培养基为 DCR_改+6-BA 0.3mg+NAA 0.5mg;

[0062] (3) 芽的增殖:将步骤(2)长出的新芽培养 30d 后,将新芽切割下来,接到继代增殖培养基上培养,在增殖培养基培养 15d,就会形成丛生芽,所述的增殖培养基为 $DCR_{改}+6-BA3mg+NAA 0.5mg+IAA 2mg$ 或 $DCR_{改}+6-BA 4mg+NAA 1mg$;

[0063] (4) 生根诱导:步骤(3)的丛生芽的单芽长到 1.5~2cm 左右长时,选取叶片展开的单芽,分割下来接到生根培养基中诱导生根,在生根培养基中培养 10d,茎基部诱导出根,所述的生根培养基为 $1/2MS+IBA 2.5mg+IAA2.5mg+6-BA 0.5mg + NAA 0.5mg$;

[0064] (5) 生根苗的炼苗:经过生根诱导,当苗诱导生根后,将瓶苗置于有 70% 遮荫的大棚中炼苗 40d 后,苗高 3cm 以上,可进行移栽;

[0065] (6) 组培苗的移栽与管理:将步骤(5)进行炼苗的樟树苗移栽至消毒的基质上,移植时,把根放进预先打好的小孔中,使根系舒展,充分压实,使根土密接,要防止栽植过深、窝根或露根,移栽后浇透水;栽植后用塑料薄膜作小拱状盖好小苗保湿,遮荫 60-80%;为防止病害,移苗后当天喷防病药剂 1000 倍菌毒清液或多菌灵一次,以后每周喷药剂一次,3d 后逐渐打开塑料薄膜,15 天后全部打开,待小苗长出新叶时方可开始薄施肥,1 个月后,可进行正常的水肥管理。

[0066] 实施例 3

[0067] 樟树无性系组培繁育方法,包括如下步骤:

[0068] (1) 外植体材料的消毒:取当年生嫩梢去掉叶片,切段,使每段成为带有 1~2 个腋芽的茎段,茎段先用 0.2% 灭菌净消毒 15min,无菌水清洗 6 次,再用 0.1% 升汞,2~5 滴吐温 80,处理 4min,无菌水清洗 6 次,消毒后备用;

[0069] (2) 芽的诱导:把步骤(1)经消毒的茎段,接种到芽的诱导培养基上进行诱导培养,经过 10d 的培养,在腋芽处开始萌动,并长出新芽,所述的诱导培养基为 $DCR_{改}+6-BA 0.3mg+NAA 0.3mg$;

[0070] (3) 芽的增殖:将步骤(2)长出的新芽培养 30d 后,将新芽切割下来,接到继代增殖培养基上培养,在增殖培养基培养 10d,就会形成丛生芽,所述的增殖培养基为 $DCR_{改}+6-BA 2.0mg+NAA 0.3mg+IAA 1.5mg$ 或 $DCR_{改}+6-BA 2.0mg+NAA 0.5mg$;

[0071] (4) 生根诱导:步骤(3)的丛生芽的单芽长到 1.5~2cm 左右长时,选取叶片展开的单芽,分割下来接到生根培养基中诱导生根,在生根培养基中培养 7~10d,茎基部诱导出根,所述的生根培养基为 $1/2MS+IBA 2.0mg+IAA 2.0mg+6-BA 0.25mg + NAA 0.25mg$;

[0072] (5) 生根苗的炼苗:经过生根诱导,当苗诱导生根后,将瓶苗置于有 70% 遮荫的大棚中炼苗 35d 后,苗高 3cm 以上,可进行移栽;

[0073] (6) 组培苗的移栽与管理:将步骤(5)进行炼苗的樟树苗移栽至消毒的基质上,移植时,把根放进预先打好的小孔中,使根系舒展,充分压实,使根土密接,要防止栽植过深、窝根或露根,移栽后浇透水;栽植后用塑料薄膜作小拱状盖好小苗保湿,遮荫 60-80%;为防止病害,移苗后当天喷防病药剂 900 倍菌毒清液或多菌灵一次,以后每周喷药剂一次,3d 后逐渐打开塑料薄膜,15 天后全部打开,待小苗长出新叶时方可开始薄施肥,1 个月后,可进行正常的水肥管理。

[0074] 实施例 1~3 所采用的基本培养基的配方如表 9:

[0075] 表 9 基本配方表

[0076]

成份	DCR _改 (mg/L)	MS (mg/L)
NH ₄ NO ₃	800	1650
KNO ₃	680	1900
KH ₂ PO ₄	400	170
CaCl ₂ ·2H ₂ O	170	440
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1112	—
MgSO ₄ ·7H ₂ O	740	370
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	27.8
Na ₂ -EDTA	37.3	37.3
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3	22.3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	8.6
H ₃ BO ₄	6.2	6.2
KI	0.83	0.83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025
肌醇	100	100
甘氨酸	2	2
VB ₁	0.1	0.1
VB ₆	0.5	0.5
VC	2	2
VB ₃	0.5	0.5
L-半胱氨酸	5	5
糖	30000	20000

[0077]