

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610161466.5

[51] Int. Cl.

A01H 4/00 (2006.01)

C12N 5/04 (2006.01)

A01G 7/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年6月27日

[11] 公开号 CN 1985580A

[22] 申请日 2006.12.18

[21] 申请号 200610161466.5

[71] 申请人 江苏阳光生态农林开发股份有限公司

地址 214426 江苏省江阴市新桥镇6号

[72] 发明人 吴有光 刘唤英 方建民

[74] 专利代理机构 江阴市同盛专利事务所

代理人 唐纫兰

权利要求书2页 说明书5页

[54] 发明名称

杜鹃红山茶组培快繁方法

[57] 摘要

本发明涉及一种杜鹃红山茶组培快繁方法，包括以下工艺步骤：4月至5月，从母株上剪取杜鹃红山茶刚抽出嫩梢不久的茎段；用酒精溶液浸泡，再放入  $\text{HgCl}_2$  溶液中消毒，再切取茎尖；将茎尖接种在初代培养基上，这样茎尖基部周围逐渐形成丛生芽，当芽丛长至2~3cm时，将其切成单芽苗；将单芽苗移入装有继代培养基的密封容器中，进行继代培养，扩繁试管苗，形成5~6cm长具有4~5个茎节的芽条，将其切成带茎节的切段，以后每40~45天如此继代一次，扩繁试管苗；将扩繁的试管苗取出，移入装有生根培养基的密闭容器中，试管苗在培养基中根长至0.3~0.5cm的新根时，出瓶移栽。本发明既保护原产地资源，又源源不断地生产杜鹃红山茶种苗。

1、一种杜鹃红山茶组培快繁方法，其特征在于它包括以下工艺步骤：

#### 步骤一、外植体的选取

4月至5月，从母株上剪取杜鹃红山茶刚抽出嫩梢不久的茎段；

#### 步骤二、外植体处理

用70~75%的酒精溶液浸泡30~40秒，无菌水冲洗多次沥干水，再放入0.1%~0.15% $\text{HgCl}_2$ 溶液中消毒8~10分钟，无菌水多次冲洗，再切取茎尖，备用；

#### 步骤三、初代培养

将步骤二得的茎尖，接种在初代培养基上，进行初代培养，初代培养光照强度1000~1500lx，培养温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，培养时间 $40 \pm 5$ 天，这样茎尖基部周围逐渐形成丛生芽，当芽丛长至2~3cm时，将其切成单芽苗，备用；

#### 步骤四、继代培养

将步骤三切下的单芽苗移入装有继代培养基的密封容器中，进行继代培养，扩繁试管苗，培养温度 $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光照时间 $14 \pm 1$ 小时/天，培养基pH值5.8~6.0，培养40~45天，形成5~6cm长具有4~5个茎节的芽条，为增殖无性系，将其切成带茎节的切段，每个芽条分割成2-3段，以后每40~45天如此继代一次，扩繁试管苗；

#### 步骤五、生根培养

将步骤四扩繁的试管苗取出，移入装有生根培养基的密闭容器中，进行生根培养，试管苗在生根培养基中光照强度1500~2000lx，培养温度23

±2℃至 25~35 天，试管苗在培养基中根长至 0.3~0.5cm 的新根时，出瓶移栽。

2、根据权利要求 1 所述的一种杜鹃红山茶组培快繁方法，其特征在于：  
步骤三所述的初代培养基成分为：MS+ZT<sub>0.2~0.8</sub>+BA<sub>1~2</sub>+NAA<sub>0.5~1</sub>+PVP2~3g/l+2~3%蔗糖；  
步骤四所述的继代培养基成分为 MS+ZT<sub>0.2~0.8</sub>+BA<sub>1~2</sub>+2ip<sub>1~2</sub>+IBA<sub>0.05~0.1</sub>+PVP2~3g/l+2~3%蔗糖；  
步骤五所述的生根培养基成分为 1/2MS+NAA<sub>0.7</sub>+IBA<sub>0.5</sub>+BA<sub>0.01</sub>+15%蔗糖+AC0.8g/l。

## 杜鹃红山茶组培快繁方法

### 技术领域

本发明涉及一种山茶组培快繁方法。具体涉及一种杜鹃红山茶组培快繁方法。属植物繁殖技术领域。

### 背景技术

杜鹃红山茶原产中国，1986年在中国广东省阳春县鹅凰嶂省级自然保护区被发现，国家一级保护植物，栽培名为“四季杜鹃茶”或“杜鹃茶”，为山茶科山茶属红山茶组光果红山茶亚组植物。

杜鹃红山茶是一种十分珍稀的木本花卉，四季开花，叶片比普通的山茶更为光滑，没有锯齿，即使在气温38℃的条件下，依然满树红花，具有很高的观赏价值和作为种质资源利用价值。由于其对生存的生态条件要求极高，自然存量较少，在原产地仅生长在一狭小区域，发现时有2000余株。目前不少企业和科研单位正在进行杜鹃红山茶的引种繁育试验。《广东林业科技》2003年03期报道了张燕等“杜鹃红山茶扦插繁育试验”，《广东林业科技》2004年03期报道了黎运枢等“杜鹃红山茶嫁接繁育试验”，温州市云峰山茶研究所、金华市花之海园艺有限公司等也进行了杜鹃红山茶嫁接繁育研究。通过20年来的科研单位攻关，目前嫁接成活率可达90%以上，但扦插成活率仅40%左右。所以目前人工繁殖杜鹃红山茶时，嫁接

成了杜鹃红山茶繁殖的主要途径，而嫁接繁殖受接穗、操作水平和嫁接季节等诸多影响，繁殖的杜鹃红山茶数量有限，又由于野生资源十分有限，还很难进行商业开发。只有解决了人工快繁，扩大杜鹃红山茶的种植数量，建立商业开发种植基地，才能使这一宝贵资源得到最有效的保护和开发，实现其资源的真正价值。专利公开号 85102805，2003124233.2 公开了金花茶组培快繁培养基。而杜鹃红山茶组培快繁方法还未见报道。

### 发明内容

本发明的目的在于克服上述不足，提供一种杜鹃红山茶组培快繁方法，以克服上述繁殖方法存在不足，既保护原产地资源，又源源不断地生产杜鹃红山茶种苗。

本发明的目的是这样实现的：一种杜鹃红山茶组培快繁方法，其特征在于它包括以下工艺步骤：

#### 步骤一、外植体的选取

4 月至 5 月，从母株上剪取杜鹃红山茶刚抽出嫩梢不久的茎段；

#### 步骤二、外植体处理

用 70~75%的酒精溶液浸泡 30~40 秒，无菌水冲洗多次沥干水，再放入 0.1%~0.15% $\text{HgCl}_2$  溶液中消毒 8~10 分钟，无菌水多次冲洗，再切取茎尖，备用；

#### 步骤三、初代培养

将步骤二得的茎尖，接种在初代培养基上，进行初代培养，初代培养光照强度 1000~1500lx，培养温度  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，培养时间  $40 \pm 5$  天，这样茎尖

基部周围逐渐形成丛生芽，当芽丛长至 2~3cm 时，将其切成单芽苗，备用；

#### 步骤四、继代培养

将步骤三切下的单芽苗移入装有继代培养基的密封容器中，进行继代培养，扩繁试管苗，培养温度  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光照时间  $14 \pm 1$  小时/天，培养基 pH 值 5.8~6.0，培养 40~45 天，形成 5~6cm 长具有 4~5 个茎节的芽条，为增殖无性系，将其切成带茎节的切段，每个芽条分割成 2-3 段，以后每 40~45 天如此继代一次，扩繁试管苗。

#### 步骤五、生根培养

将步骤四扩繁的试管苗取出，移入装有生根培养基的密闭容器中，进行生根培养，试管苗在生根培养基中光照强度 1500~2000lx，培养温度  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  至 25~35 天，试管苗在培养基中根长至 0.3~0.5cm 的新根时，出瓶移栽。

本发明杜鹃红山茶的组培快繁方法，步骤三所述的初代培养基成分为：MS+ZT<sub>0.2~0.8</sub>+BA<sub>1-2</sub>+NAA<sub>0.5~1</sub>+PVP2~3g/l+2~3%蔗糖；步骤四所述的继代培养基成分为 MS+ZT<sub>0.2~0.8</sub>+BA<sub>1-2</sub>+2ip<sub>1~2</sub>+IBA<sub>0.05~0.1</sub>+ PVP2~3g/l+2~3%蔗糖；步骤五所述的生根培养基成分为 1/2MS+NAA<sub>0.7</sub>+IBA<sub>0.5</sub>+BA<sub>0.01</sub>+15%蔗糖+AC0.8g/l。

本发明的杜鹃红山茶的组培快繁育苗方法解决了原来繁殖系数低，嫁接速度慢，且受嫁接季节影响的难题，使试管苗月增长系数达到 2~3 左右，一年从一个外植体增殖可达 2~3 株左右的试管苗。这样既保护了母株，又可满足杜鹃红山茶的规模化生产需求。

#### 具体实施方式

本发明涉及一种杜鹃红山茶组培快繁育苗方法，它包括外植体取材及处理、初代培养、继代培养、生根培养工艺步骤，其具体步骤如下：

#### 步骤一、外植体的选取

4月至5月连续晴天，从母株上剪取杜鹃红山茶刚抽出嫩梢不久的茎段。

#### 步骤二、外植体处理

把步骤一中的选取的茎段先在1%的洗衣粉水中震荡洗涤6~8分钟，再在自来水龙头下流水冲洗30分钟，用洁净的纱布吸干水，然后再在无菌超净工作台中放在70%的酒精溶液中浸泡消毒30秒，无菌水冲洗2~3次沥干水，再转入0.1% $\text{HgCl}_2$ 溶液中消毒8~10分钟，无菌水冲洗5~6次，每次3~5分钟，用无菌纱布吸干表面的水分，再切取茎尖，备用。

#### 步骤三、初代培养

将步骤二得的茎尖，接种在 $\text{MS}+\text{ZT}_{0.5}+\text{BA}_2+\text{NAA}_{0.8}+\text{PVP}3\text{g}/1+2\%$ 蔗糖的初代培养基上，进行初代培养，初代培养光照强度1000~1500lx，培养温度23℃，培养时间40~45天，这样茎尖基部周围逐渐形成丛生芽，当芽丛长2~3cm时，将其切成单芽苗，备用。

#### 步骤四、继代培养

将步骤三切下的单芽苗移入装有继代培养基的密封容器中，进行继代培养，扩繁试管苗，扩繁试管苗继代培养基是 $\text{MS}+\text{ZT}_{0.5}+\text{BA}_1+2\text{ip}_2+\text{IBA}_{0.1}+\text{PVP}3\text{g}/1+3\%$ 蔗糖，培养温度 $21\pm 2^\circ\text{C}$ ，光照时间 $14\pm 1$ 小时/天，培养基pH值5.8~6.0，培养40~45天，可形成5~6cm长具有4~5个左右茎节的芽条，

为增殖无性系，可将其切成带茎节的切段，每个芽条可分割成 2-3 段。以后每 40~45 天如此继代一次，扩繁试管苗。

#### 步骤五、生根培养

待步骤四扩繁的试管苗增殖到一定数量后，选取 1.5~2cm 高的试管苗，移入装有生根培养基的密闭容器中，进行生根培养。生根培养基成分是  $1/2MS+NAA_{0.7}+IBA_{0.5}+BA_{0.01}+15\%蔗糖+AC0.8g/l$ 。试管苗在生根培养基中光照强度 1500~2000lx，培养温度 23℃，20 天后小苗根部出现根原基突起，至 35 天左右，试管苗在培养基中根长至 0.3—0.5cm 的白色新根时，进行试管苗移栽。试管苗移栽管理技术与常规木本组培苗相同。

注：

ZT——玉米素

BA——6-苄基腺嘌呤

NAA—— $\alpha$ -萘乙酸

IBA——吲哚丁酸

2ip——6- $\gamma$ ， $\gamma$ -二甲基烯丙基腺嘌呤

PVP——聚乙烯吡咯烷酮

AC——活性炭

$ZT_{0.2-0.8}$ 表示  $ZT_{0.2} \sim 0.8mg/l$ 。其余计量单位相同。