(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103416307 A
(43)申请公布日 2013.12.04

(21)申请号 201310336772.8

(22)申请日 2013.08.05

(71)申请人 四川大学
地址 610065 四川省成都市一环路南一段24号

(72)发明人 徐莺 彭天祥 陈放

(74)专利代理机构 成都科海专利事务有限责任公司 51202
代理人 唐丽蓉

(51)Int.Cl.
A01H 4/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

一种利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法

(57)摘要

本发明提供了一种利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，该方法的步骤及条件如下：(1)将灭菌后的麻疯树种子的子叶接种于第一生根培养基上，避光培养4~5天，然后接种于第二生根培养基上培养10~24天，诱导子叶生根；(2)将带子叶的根接种于芽分化培养基上培养25~30天，诱导丛生芽；(3)将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上培养25~30天，使丛生芽增殖；(4)从增殖后的丛生芽上切下幼芽，接种于第三生根培养基中培养4~7天，再转接到第四生根培养基中培养，在第四生根培养基中的培养时间以达到再生苗移栽要求为限。该方法培养周期短、高效、能保持麻疯树遗传的稳定性，并且操作简便、成本低廉。

CN 103416307 A

1. 一种利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，其特征在于该方法的步骤及条件如下：

（1）将灭菌后的麻疯树种子的子叶接种于第一生根培养基上，避光培养 4~5 天，然后接种于第二生根培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14~16h/d 下培养 10~24 天，诱导子叶生根；

（2）将带子叶的根接种于芽分化培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14~16h/d 下培养 25~30 天，诱导丛生芽；

（3）将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14~16h/d 下培养 25~30 天，使丛生芽增殖；

（4）从增殖后的丛生芽上切下幼芽，接种于第三生根培养基中培养 4~7 天，再转接到第四生根培养基中培养，在第四生根培养基中的培养时间以达到再生苗移栽要求为限，用上述两种培养基培养时的光照强度为 2000~2500Lx、光照时间为 14~16h/d；

所述第一生根培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚丁酸 3~12mg、蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成；所述第二生根培养基是在每升 MS 培养基中添加蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成；所述芽分化培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚 -3- 乙酸 2~4mg、6- 苄氨基腺嘌呤 2~4mg、蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成。

2. 根据权利要求 1 所述的利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，其特征在于所述芽增殖培养基是在每升 MS 培养基中添加 6- 苄氨基腺嘌呤 0.3~1mg、吲哚丁酸 0.1~0.3mg、蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成。

3. 根据权利要求 1 所述的利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，其特征在于所述第三生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 1~2g、吲哚丁酸 5~10mg、蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成。

4. 根据权利要求 2 所述的利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，其特征在于所述第三生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 1~2g、吲哚丁酸 5~10mg、蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成。

5. 根据权利要求 1 至 4 中任一项权利要求所述的利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，所述第四生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 1~2g、蔗糖 26~34g、琼脂粉 5.5~6.5g 组成。

6. 根据权利要求 1 至 4 中任一项权利要求所述的利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，其特征在于所述第一、第二、第三、第四生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养基的 pH 值应控制在 5.75~5.85。

7. 根据权利要求 5 所述的利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，其特征在于所述第一、第二、第三、第四生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养基的 pH 值应控制在 5.75~5.85。

一种利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法

技术领域

[0001] 本发明属于植物快速繁殖技术领域，特别涉及一种利用麻疯树子叶再生根并由其再生根直接诱导芽的快繁方法。

背景技术

[0002] 麻疯树 (Jatropha curcas L.)，为大戟科 (Davidiaceae) 麻疯树属 (Davidia) 植物，分布于热带及亚热带地区，分布面积广、资源丰富，不仅可从中获取生物柴油、生物医药材料、杀虫剂的活性成分、动物饲料等，还因其具有良好的耐盐性，对土壤要求不高，能适应干旱、半干旱气候，是干热河谷地区荒山造林的好树种，具有广阔的开发利用前景。

[0003] 但由于麻疯树种子产量较低、良种不足，导致其繁殖的经济效益低，制约了其产业化发展。因此，选育高产、高抗、高含油率的麻疯树品种，以及保证其遗传稳定的快速繁殖方法就成为了促进其产业化发展的重要条件。

[0004] 常规的麻疯树组织培养技术一般需要经过愈伤组织过程，因而培养周期长、再生效率低，并且形成愈伤组织的过程是一个去分化过程，该过程容易发生基因突变，从而导致植物的遗传稳定性得不到保持。而通过农杆菌介导的转基因技术是获得性状改良、适应力更强的麻疯树品种的重要的手段，以叶片为外植体的再生体系，是农杆菌介导的遗传转化体系建立的基础。遗憾的是，麻疯树通过农杆菌介导的遗传转化体系的建立还不成熟，以叶片为外植体的转基因技术要么需要经历愈伤组织过程，要么需要诱导出芽才能做检测，导致麻疯树通过农杆菌介导的遗传转化体系获得的品种仍存在转化植株遗传稳定性差、转化周期长、检测周期长等问题。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于克服现有技术的不足，提供一种利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，该方法的培养周期短、能保持麻疯树遗传的稳定性，并且再生效率高。

[0006] 本发明提供的一种利用麻疯树子叶再生根直接诱导芽的快繁方法，该方法的步骤及条件如下：

[0007] (1)将灭菌后的麻疯树种子的子叶接种于第一生根培养基上，避光培养 4~5 天，然后接种于第二生根培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14~16h/d 下培养 10~24 天，诱导子叶生根；

[0008] (2)将带子叶的根接种于芽分化培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14~16h/d 下培养 25~30 天，诱导丛生芽；

[0009] (3)将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14~16h/d 下培养 25~30 天，使丛生芽增殖；

[0010] (4)从增殖后的丛生芽上切下幼芽，接种于第三生根培养基中培养 4~7 天，再转接到第四生根培养基中培养，在第四生根培养基中的培养时间以达到再生苗移栽要求为限，用上述两种培养基培养时的光照强度为 2000~2500Lx、光照时间为 14~16h/d；

[0011] 其中所述第一生根培养基是在每升MS培养基中添加吲哚丁酸3~12mg、蔗糖26~34g、琼脂粉5.5~6.5g组成；所述第二生根培养基是在每升MS培养基中添加蔗糖26~34g、琼脂粉5.5~6.5g组成；所述芽分化培养基是在每升MS培养基中添加吲哚-3-乙酸2~4mg、6-苄氨基腺嘌呤2~4mg、蔗糖26~34g、琼脂粉5.5~6.5g组成。

[0012] 上述方法中，麻疯树种子的灭菌方法有多种，常用的消毒剂有体积百分比为70~75%的乙醇、氯化汞溶液、次氯酸钠溶液等。本发明优选的灭菌方法如下：将成熟的麻疯树带壳种子用体积百分比为75%的酒精中浸泡10 min以杀死种壳上附着的细菌，然后在无菌条件下剥壳并依次用体积百分比为75%的酒精消毒30 s、质量浓度为0.1%的氯化汞水溶液消毒6 min，再将种子从氯化汞水溶液中取出用无菌水冲洗5次以去除残留的氯化汞，最后用无菌水浸泡种子6 h以使种子的子叶吸胀。

[0013] 上述方法中，所述MS培养基的组成见Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. [J] Physiol Plant,1962, 15:473－497。

[0014] 上述方法中，所述芽增殖培养基是在每升MS培养基中添加6-苄氨基腺嘌呤0.3~1mg、吲哚丁酸0.1~0.3mg、蔗糖26~34g、琼脂粉5.5~6.5g组成。

[0015] 上述方法中，所述第三生根培养基是在每升MS培养基中添加活性炭1~2g、吲哚丁酸5~10mg、蔗糖26~34g、琼脂粉5.5~6.5g组成。

[0016] 上述方法中，所述第四生根培养基是在每升MS培养基中添加活性炭1~2g、蔗糖26~34g、琼脂粉5.5~6.5g组成。

[0017] 上述方法中，第一、第二、第三、第三生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养基的pH值应控制在5.75~5.85，具体可采用浓度为1mol/L的氢氧化钠溶液或浓度为1mol/L的盐酸进行调节。

[0018] 本发明具有以下有益效果：

[0019] 1、由于本发明提供的方法是采用的由子叶诱导生根、并由根直接诱导芽的技术方案，无需经过愈伤组织过程，并且诱导子叶生根的速度快，最短14天即可诱导子叶生根，与现有麻疯树组织培养采用的先由外植体形成愈伤组织再诱导芽的过程相比，节约了形成愈伤组织及使愈伤组织增殖的时间，因而本发明所述方法的培养周期更短，最短3个月便可完成由子叶外植体到符合移栽条件的再生苗的过程，同时也为快繁技术领域提供了一种新的培养方式。

[0020] 2、由于本发明提供的方法是采用的由子叶诱导生根、并由根直接诱导芽的技术方案，而该方案在整个快繁过程中均无愈伤组织产生，因而避免了在诱导芽的过程中产生基因突变，从而保证了麻疯树在繁殖过程中的遗传稳定性。

[0021] 3、由于本发明提供的方法诱导子叶生根速度快、生根率高达93~100%，生根数量多、每片子叶每次诱导可得到4~9条长度达6cm以上的再生根，并且已生根的子叶还可重复生根、多次利用，加之由再生根诱导的丛生芽数量多，每厘米再生根可产生5个以上的芽点，因而该方法的再生效率非常高。

[0022] 4、由于本发明提供的方法能够在常规的植物组织培养设备及试剂中使用，并获得快速、高效、遗传稳定性高、检测周期短等优异的技术效果，加之操作简便、成本低廉，且不受季节限制，实用性强，因而可广泛运用于麻疯树的保护利用、优良树种再生植株的大量生

产、基因表达、基因定位及农杆菌介导的遗传转化等领域。

附图说明

[0023] 图 1 是实施例 1 使用的成熟麻疯树种子的照片；

[0024] 图 2 是实施例 1 于第一生根培养基上接种的子叶外植体；

[0025] 图 3 是实施例 1 于第一生根培养基上避光培养 5 天后的子叶；

[0026] 图 4 是实施例 1 于第二生根培养基上培养 10 天的子叶；

[0027] 图 5 是实施例 1 于第二生根培养基上培养 24 天的子叶；

[0028] 图 6 是实施例 1 的子叶长出的根在芽分化培养基上刚长出的芽；

[0029] 图 7 是实施例 1 于芽分化培养基上培养 25 天得到的丛生芽；

[0030] 图 8 是实施例 1 于芽增殖培养基上培养 28 天增殖的丛生芽；

[0031] 图 9 是实施例 1 中经过第四生根培养基培养 25 天得到的再生苗；

[0032] 图 10 是实施例 1 移栽在密封装置中的再生苗。

具体实施方式

[0033] 下面结合附图给出实施例并对本发明所述麻疯树快速繁殖的方法作进一步说明。

[0034] 实施例 1

[0035] 将从云南省丽江市仁里镇采集的成熟带壳的麻疯树种子(见图 1)用体积百分比为 75% 的酒精中浸泡 10 min 以杀死种壳上附着的细菌，然后在无菌条件下剥壳并依次用体积百分比为 75% 的酒精消毒 30s、质量浓度为 0.1% 的氯化汞水溶液消毒 6 min，再将种子从氯化汞水溶液中取出用无菌水冲洗 5 次以去除残留的氯化汞，最后用无菌水浸泡种子 6 h 以使种子的子叶吸胀。将灭菌后的种子用小刀剥出子叶并在子叶下方切去四分之一，弃掉，其余部分用于接种。

[0036] 本实施例给出的麻疯树快速繁殖的步骤和条件如下：

[0037] (1)在每个直径为 120mm 培养皿中装入约 80ml 第一生根培养基，并平铺接种 20~25 片灭菌后子叶(见图 2)，避光培养 5 天(培养结果见图 3)，然后接种于第二生根培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 16h/d 下培养 24 天，诱导子叶生根，培养 10 天、24 天的子叶分别如图 4、5 所示；

[0038] (2)将带子少许叶的根接种于芽分化培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 16h/d 下培养 25 天，诱导丛生芽，子叶长出的根在芽分化培养基上刚长出的芽如图 6 所示，培养 30 天得到的丛生芽如图 7 所示；

[0039] (3)将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 16h/d 下培养 28 天(培养结果见图 8)，使丛生芽增值；

[0040] (4)从增殖后的丛生芽上切下芽高 3cm 以上的幼芽，接种于第三生根培养基中培养 4 天，再转接到第四生根培养基中培养 25 天即得生根后可移栽的再生苗(见图 9)，用上述两种培养基培养时的光照强度为 2000~2500Lx、光照时间为 16h/d；

[0041] (5)移栽

[0042] 用无菌水冲洗净生根后可供移栽的再生苗上的培养基，再将其移栽在密封的、高压灭菌的营养土：蛭石的质量比 =1:1 的栽培基质上(见图 10)。

[0043] 所述第一生根培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚丁酸 7mg、蔗糖 30g、琼脂粉 5.8g 组成；所述第二生根培养基是在每升 MS 培养基中添加蔗糖 30g、琼脂粉 5.8g 组成；所述芽分化培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚 -3- 乙酸 3mg、6- 苄氨基腺嘌呤 3mg、蔗糖 30g、琼脂粉 5.8g 组成；所述芽增殖培养基是在每升 MS 培养基中添加 6- 苄氨基腺嘌呤 0.5mg、吲哚丁酸 0.2mg、蔗糖 30g、琼脂粉 5.8g 组成；所述第三生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 2g、吲哚丁酸 7mg、蔗糖 30g、琼脂粉 5.8g 组成；所述第四生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 2g、蔗糖 30g、琼脂粉 5.8g 组成。

[0044] 上述第一、第二、第三、第四生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养的 pH 值均控制在 5.8。

[0045] 上述步骤（1）至（5）中的环境温度控制在 25~30℃，环境湿度控制在 60%~90%。

[0046] 本实施例中，平均子叶诱生根率为 100%，平均丛生芽分化率为 80%，平均丛生芽生根率为 90%，平均移栽成活率为 90%。

[0047] 实施例 2

[0048] 将从四川省攀枝花市仁和区拉鲊村采集的成熟带壳的麻疯树种子进行灭菌处理，操作方法与实施例 1 相同。将灭菌后的种子用小刀剥出子叶并在子叶下方切去四分之一，弃掉，其余部分用于接种。

[0049] 本实施例给出的麻疯树快速繁殖的步骤和条件如下：

[0050] （1）使用直径为 120mm 培养皿，每个培养皿装入约 80ml 第一生根培养基，并平铺接种 20~25 片灭菌后子叶，避光培养 5 天，然后接种于第二生根培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 16h/d 下培养 20 天，诱导子叶生根；

[0051] （2）将带子少许叶的根接种于芽分化培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 16h/d 下培养 30 天，诱导丛生芽；

[0052] （3）将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 16h/d 下培养 30 天，使丛生芽增值；

[0053] （4）从增殖后的丛生芽上切下芽高 3cm 以上的幼芽，接种于第三生根培养基中培养 4 天，再转接到第四生根培养基中培养 30 天即得生根后可移栽的再生苗，用上述两种培养基培养时的光照强度为 2000~2500Lx、光照时间为 16h/d；

[0054] 所述第一生根培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚丁酸 5mg、蔗糖 30g、琼脂粉 6.0g 组成；所述第二生根培养基是在 MS 培养基中添加蔗糖 30g、琼脂粉 6.0g 组成；所述芽分化培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚 -3- 乙酸 3mg、6- 苄氨基腺嘌呤 4mg、蔗糖 30g、琼脂粉 6.0g 组成；所述芽增殖培养基是在每升 MS 培养基中添加 6- 苄氨基腺嘌呤 0.5mg、吲哚丁酸 0.2mg、蔗糖 30g、琼脂粉 6.0g 组成；所述第三生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 2g、吲哚丁酸 7mg、蔗糖 30g、琼脂粉 6.0g 组成；所述第四生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 2g、蔗糖 30g、琼脂粉 6.0g 组成。

[0055] 上述第一、第二、第三、第四生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养的 pH 值均控制在 5.8。

[0056] （5）移栽

[0057] 用无菌水冲洗净生根后可供移栽的再生苗上的培养基，再将其移栽在密封的、高压灭菌的营养土：蛭石的质量比 =1:1 的栽培基质上。

[0058] 上述步骤(1)至步骤(5)中的环境温度控制在25~30℃,环境湿度控制在60%~90%。

[0059] 本实施例中,平均子叶诱生根率为100%,平均丛生芽分化率为77%,平均丛生芽生根率为91%,平均移栽成活率为90%。

[0060] 实施例3

[0061] 本实施例中,成熟的麻疯树种子从四川省攀枝花市仁和区拉鲊村采集。麻疯树种子的灭菌操作与实施例1相同。将灭菌后的种子用小刀剥出子叶并在子叶下方切去四分之一,弃掉,其余部分用于接种。

[0062] 本实施例给出的麻疯树快速繁殖的步骤和条件如下:

[0063] (1)使用直径为120mm培养皿,每个培养皿装入约80ml第一生根培养基,并平铺接种20~25片灭菌后子叶,避光培养4天,然后接种于第二生根培养基上,于光照强度2000~2500Lx、光照时间16h/d下培养18天,诱导子叶生根;

[0064] (2)将带子少许叶的根接种于芽分化培养基上,于光照强度2000~2500Lx、光照时间16h/d下培养30天,诱导丛生芽;

[0065] (3)将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上,于光照强度2000~2500Lx、光照时间16h/d下培养30天,使丛生芽增值;

[0066] (4)从增殖后的丛生芽上切下芽高3cm以上的幼芽,接种于第三生根培养基中培养4天,再转接到第四生根培养基中培养30天即得生根后可移栽的再生苗,用上述两种培养基培养时的光照强度为2000~2500Lx、光照时间为16h/d;

[0067] 所述第一生根培养基是在每升MS培养基中添加吲哚丁酸9mg、蔗糖30g、琼脂粉6.0g组成;所述第二生根培养基是在每升MS培养基中添加蔗糖30g、琼脂粉6.0g组成;所述芽分化培养基是在每升MS培养基中添加吲哚-3-乙酸2mg、6-苄氨基腺嘌呤3mg、蔗糖30g、琼脂粉6.0g组成;所述芽增殖培养基是在每升MS培养基中添加6-苄氨基腺嘌呤0.5mg、吲哚丁酸0.2mg、蔗糖30g、琼脂粉6.0g组成;所述第三生根培养基在每升MS培养基中添加活性炭2g、吲哚丁酸7mg、蔗糖30g、琼脂粉6.0g组成;所述第四生根培养基是在MS培养基中添加活性炭2g、蔗糖30g、琼脂粉6.0g组成。

[0068] 上述第一、第二、第三、第四生根培养基,芽分化培养基及芽增殖培养的pH值均控制在5.8。

[0069] (5)移栽

[0070] 用无菌水冲洗净生根后可供移栽的再生苗上的培养基,再将其移栽在密封的、高压灭菌的营养土:蛭石的质量比=1:1的栽培基质上。

[0071] 上述步骤(1)至步骤(5)中的环境温度控制在25~30℃,环境湿度控制在60%~90%。

[0072] 本实施例中,平均子叶诱生根率为100%,平均丛生芽分化率为76%,平均丛生芽生根率为91%,平均移栽成活率为90%。

[0073] 实施例4

[0074] 将从海南省东方市东河镇玉道村采集的成熟带壳的麻疯树种子进行灭菌处理,操作方法与实施例1相同。将灭菌后的种子用小刀剥出子叶并在子叶下方切去四分之一,弃掉,其余部分用于接种。

[0075] 本实施例给出的麻疯树快速繁殖的步骤和条件如下:

[0076] (1)使用直径为120mm培养皿,每个培养皿装入约80ml第一生根培养基,平铺

接种 20~25 片灭菌后子叶，避光培养 5 天，然后接种于第二生根培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14h/d 下培养 18 天，诱导子叶生根；

[0077] （2）将带子少许叶的根接种于芽分化培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14h/d 下培养 30 天，诱导丛生芽；

[0078] （3）将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14h/d 下培养 25 天，使丛生芽增值；

[0079] （4）从增殖后的丛生芽上切下芽高 3cm 以上的幼芽，接种于第三生根培养基中培养 4 天，再转接到第四生根培养基中培养 25 天即得生根后可移栽的再生苗，用上述两种培养基培养时的光照强度为 2000~2500Lx、光照时间为 14h/d；

[0080] 所述第一生根培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚丁酸 12mg、蔗糖 26g、琼脂粉 5.5g 组成；所述第二生根培养基是在每升 MS 培养基中添加蔗糖 26g、琼脂粉 5.5g 组成；所述芽分化培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚 -3- 乙酸 4mg、6- 苄氨基腺嘌呤 4mg、蔗糖 26g、琼脂粉 5.5g 组成；所述芽增殖培养基是在每升 MS 培养基中添加 6- 苄氨基腺嘌呤 1.0mg、吲哚丁酸 0.3mg、蔗糖 26g、琼脂粉 5.5g 组成；所述第三生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 1g、吲哚丁酸 5mg、蔗糖 26g、琼脂粉 5.5g 组成；所述第四生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 1g、蔗糖 26g、琼脂粉 5.5g 组成。

[0081] 上述第一、第二、第三、第四生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养的 pH 值均控制在 5.75。

[0082] （5）移栽

[0083] 用无菌水冲洗净生根后可供移栽的再生苗上的培养基，再将其移栽在密封的、高压灭菌的营养土：蛭石的质量比 =1:1 的栽培基质上。

[0084] 上述步骤（1）至步骤（5）中的环境温度控制在 25~30℃，环境湿度控制在 60%~90%。

[0085] 本实施例中，平均子叶诱生根率为 95%，平均丛生芽分化率为 75%，平均丛生芽生根率为 90%，平均移栽成活率为 90%。

[0086] 实施例 5

[0087] 将从四川省西昌市金河乡温泉村采集的成熟带壳的麻疯树种子进行灭菌处理，操作方法与实施例 1 相同。将灭菌后的种子用小刀剥出子叶并在子叶下方切去四分之一，弃掉，其余部分用于接种。

[0088] 本实施例给出的麻疯树快速繁殖的步骤和条件如下：

[0089] （1）使用直径为 120mm 培养皿，每个培养皿装入约 80ml 第一生根培养基，平铺接种 20~25 片灭菌后子叶，避光培养 5 天，然后接种于第二生根培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14h/d 下培养 10 天，诱导子叶生根；

[0090] （2）将带子少许叶的根接种于芽分化培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14h/d 下培养 25 天，诱导丛生芽；

[0091] （3）将丛生芽切割后接种于芽增殖培养基上，于光照强度 2000~2500Lx、光照时间 14h/d 下培养 30 天，使丛生芽增值；

[0092] （4）从增殖后的丛生芽上切下芽高 3cm 以上的幼芽，接种于第三生根培养基中培养 7 天，再转接到第四生根培养基中培养 30 天即得生根后可移栽的再生苗（见图 9），用上述两种培养基培养时的光照强度为 2000~2500Lx、光照时间为 14h/d；

[0093] 所述第一生根培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚丁酸 3mg、蔗糖 34g、琼脂粉 6.5g 组成；所述第二生根培养基是在每升 MS 培养基中添加蔗糖 34g、琼脂粉 6.5g 组成；所述芽分化培养基是在每升 MS 培养基中添加吲哚 -3- 乙酸 2mg、6- 苄氨基腺嘌呤 2mg、蔗糖 34g、琼脂粉 6.5g 组成；所述芽增殖培养基是在每升 MS 培养基中添加 6- 苄氨基腺嘌呤 0.3mg、吲哚丁酸 0.1mg、蔗糖 34g、琼脂粉 6.5g 组成；所述第三生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 2g、吲哚丁酸 10mg、蔗糖 34g、琼脂粉 6.5g 组成；所述第四生根培养基是在每升 MS 培养基中添加活性炭 2g、蔗糖 34g、琼脂粉 6.5g 组成。

[0094] 上述第一、第二、第三、第四生根培养基，芽分化培养基及芽增殖培养的 pH 值均控制在 5.85。

[0095] (5) 移栽

[0096] 用无菌水冲洗净生根后可供移栽的再生苗上的培养基，再将其移栽在密封的、高压灭菌的营养土：蛭石的质量比 =1:1 的栽培基质上。

[0097] 上述步骤 (1) 至步骤 (5) 中的环境温度控制在 25~30℃，环境湿度控制在 60%~90%。

[0098] 本实施例中，平均子叶诱生根率为 93%，平均丛生芽分化率为 70%，平均丛生芽生根率为 90%，平均移栽成活率为 90%。

图 1

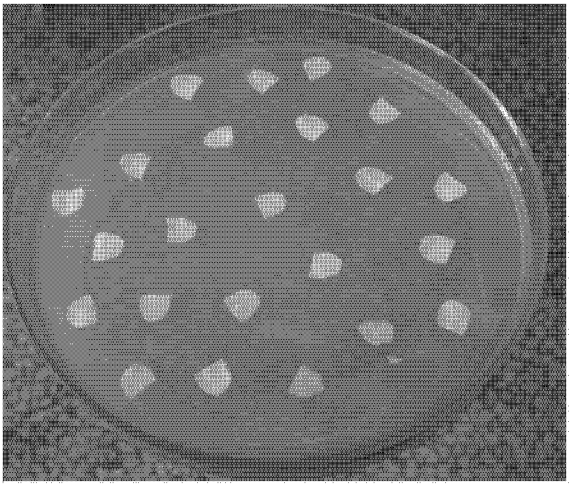

图 2

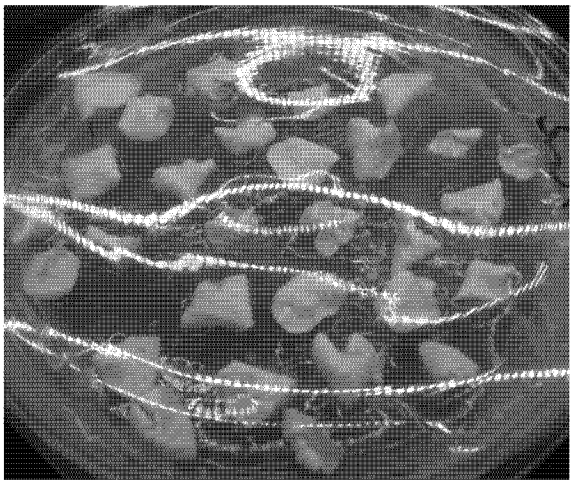

图 3

图 4

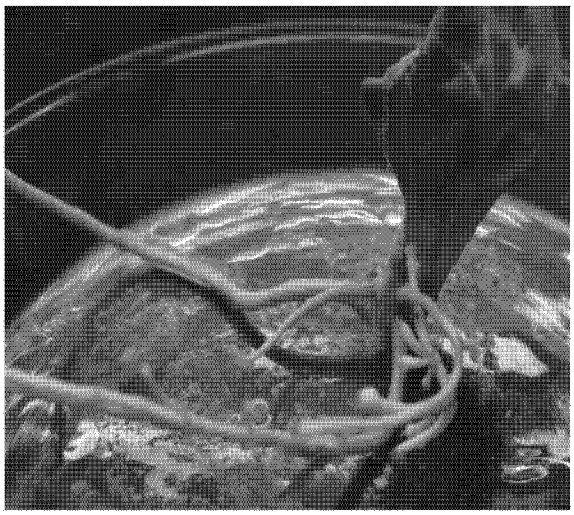

图 5

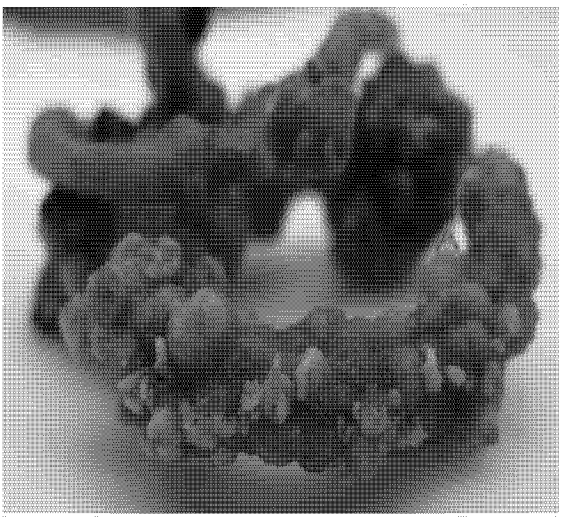

图 6

图 7

图 8

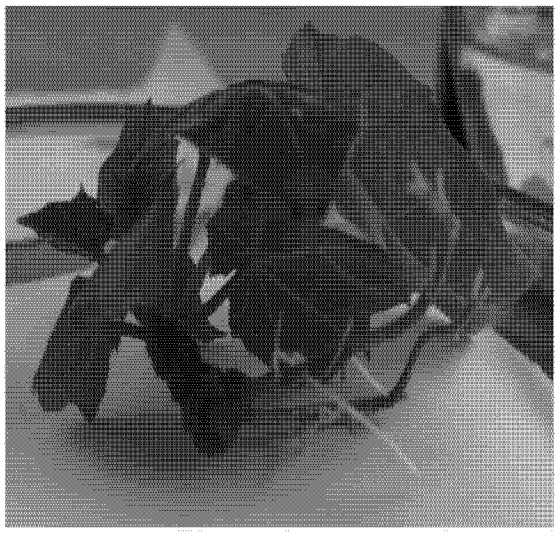

图 9

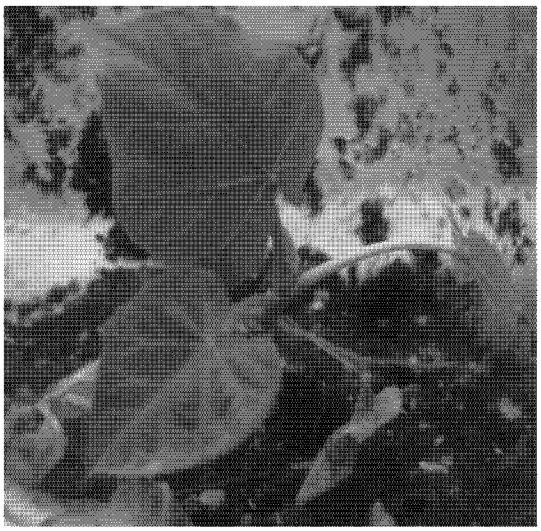

图 10