

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A01H 4/00 (2006.01)

A01H 3/00 (2006.01)

C12N 5/04 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510048718.9

[45] 授权公告日 2007 年 10 月 24 日

[11] 授权公告号 CN 100344224C

[22] 申请日 2005.12.22

[21] 申请号 200510048718.9

[73] 专利权人 云南大学

地址 650091 云南省昆明市翠湖北路 52 号云南大学生命科学学院

[72] 发明人 许继宏

[56] 参考文献

麻疯树的组织培养及植株再生 林娟, 唐琳, 陈放, 植物生理学通讯, 第 38 卷第 3 期 2002

麻疯树愈伤组织的诱导及快速繁殖 陆伟达, 魏琴, 唐琳, 等, 应用与环境生物学报, 第 9 卷第 2 期 2003

审查员 王颖

[74] 专利代理机构 昆明科阳知识产权代理事务所
代理人 李行健

权利要求书 1 页 说明书 2 页

[54] 发明名称

通过组织培养大规模生产膏桐种苗的方法

[57] 摘要

通过组织培养大规模生产膏桐种苗的方法, 包括以下步骤: 1、茎尖接种于加有 20% ~ 40% 重量的玉米淀粉的如下培养基: MS + 6 - BA0.5 ~ 1.5mg/L + NAA 0.2 ~ 2mg/L + 糖 20 ~ 40g/L, 用 3 ~ 5% 琼脂固化, 进行光照培养, PH 值 5.8 - 6、培养室温度 26 ± 2℃、光照强度 1000 - 2000LX, 光照时间每天 10 ~ 14 小时, 培养 20 ~ 28 天, 形成愈伤组织。 2、将愈伤组织切割后转到同样培养基上进行继代增殖培养, 生成膏桐组培芽。 3、将多周期大量增殖的膏桐组培芽接入如下生根培养基培养以获得组织培养苗: IBA0.3 ~ 0.6mg/L + MS, 经 10 ~ 20 天生根。 4、将组织培养苗出瓶栽培。本发明解决了膏桐应用组织培养进行快速繁殖的问题, 周期短、成本低, 完全能满足膏桐大面积栽培的需要, 为膏桐的人工繁殖、脱毒苗生产、培育优良品种提供了一种高效的途径。

1、一种通过组织培养大规模生产膏桐种苗的方法，其特征在于包括以下步骤：

(1)、取膏桐茎尖，经消毒灭菌后，接种于加有20%~40%重量的玉米淀粉的如下培养基：MS + 6-BA0.5mg/L + NAA 2mg/L + 糖 20~40g/L，用3~5%琼脂固化，进行光照培养，PH值5.8~6、培养室温度 $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、光照强度1000~2000LX，光照时间每天10~14小时，培养20~28天，形成愈伤组织；

(2)、将愈伤组织切割后转到同样培养基上进行继代增殖培养，生成膏桐组培芽；

(3)、将多周期大量增殖的膏桐组培芽接入如下生根培养基培养以获得种苗：IBA0.3 mg/L + MS，经10~20天生根；

(4)、将生根种苗出瓶栽培，出瓶栽培后的生根种苗先保温保湿15~20天，保持温度不低于摄氏17度。

通过组织培养大规模生产膏桐种苗的方法

技术领域

本发明属植物种苗的生产技术领域，具体涉及通过组织培养大规模生产膏桐种苗的方法。

背景技术

膏桐 *Jatropha curcas* L. 又名麻疯树、小桐子。分布于热带、亚热带地区。我国有栽培或半野生。灌木或小乔木，高 2—5m，多分枝。速生。喜肥沃土壤，酸性土或钙质土均宜生长。耐 0℃左右的低温及轻霜。抗风力强。我国南海诸岛有分布。台、闽、粤、琼、桂、滇、黔、川等地栽培或半野生。多栽培作围篱及供观赏。种仁含油脂约 50%，可作润滑油、制皂等用，并可催吐下泻，但有毒，忌食。

实生苗 3 年生开始结实，可连年结果，正常结实期 6—20 年。结实间隔期不明显。花单性，雌雄同株。二歧聚伞花序腋生。雌花顶生于花序中央或二歧分叉处。雄花萼片和花瓣各 5，花瓣长于花萼。雄蕊 10，2 轮，内轮花丝合生，花盘腺体 5。雌花花瓣短于花萼。子房上位，3 室，每室 1 胚珠。花柱 3，箭形，基部合生，顶端 2 裂。果实长 2.5—4cm，径 2—3 cm，每果内有种子 3 粒，间有 2 粒，种子黑褐色至黑色，扁椭圆形，长 1.6—2 cm，宽 1—1.3 cm，有肉质胚乳，胚伸直，子叶宽扁，长椭圆形。

现在栽培或半野生的膏桐繁殖方法只有种子繁殖和扦插繁殖，繁殖周期长，成本高。植物组织培养，就是分离植物体的一部分组织，如根、茎段、叶、花、幼胚等，在无菌试管中，配合一定的营养、激素、温度、光照等条件，使其生成完整植株。由于其条件可以严格控制，生长迅速，1 个月左右即为一个周期，因此组织培养被称为快速繁殖，膏桐若能应用组织培养进行快速繁殖，将在膏桐种苗生产上有重要应用价值，但至今没有膏桐应用组织培养进行快速繁殖的报道和使用。

发明内容

本发明的目的在于提供通过组织培养大规模生产膏桐种苗的方法，为膏桐的人工繁殖、脱毒苗生产、培育优良品种开辟高效的途径。

本发明方法包括以下步骤：

- 1、取膏桐茎尖，经消毒灭菌后，接种于加有 20%~40%重量的玉米淀粉的如下培养基：MS+6-BA 0.5~1.5mg/L+NAA 0.2~2mg/L+糖 20~40g/L，用 3~5%琼脂固化，进行光照培养，PH 值 5.8-6、培养室温度 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 、光照强度 1000-2000LX，光照时间每天 10~14 小时，培养 20~28 天，形成愈伤组织。

2、将愈伤组织切割后转到同样培养基上进行继代增殖培养，生成膏桐组培芽。

3、将多周期大量增殖的膏桐组培芽接入如下生根培养基培养以获得组织培养苗：IBA0.3~0.6mg/L+MS，经10~20天生根。

4、将组织培养苗出瓶栽培，出瓶栽培后的组织培养苗先保温保湿15-20天，保持温度不低于摄氏17度。可用塑料膜大棚或覆盖距地面20-40cm的塑料膜进行苗上保湿。本发明方法生成的膏桐组织培养苗可直接移栽至苗圃地，不需要在苗床上进行练苗。

本发明的有益效果：解决了膏桐应用组织培养进行快速繁殖的问题，周期短、成本低，完全能满足膏桐大面积栽培的需要，为膏桐的人工繁殖、脱毒苗生产、培育优良品种提供了一种高效的途径，在膏桐的开发利用中，具有较好的应用前景。

具体实施方式

见如下实施例：取膏桐茎尖，用洁净水清洗干净后，在流水下冲洗10min，然后转到洁净工作台上，吸干水分，先用70%酒精灭菌30s，再转入0.1%的HgCl₂溶液中灭菌6min，无菌蒸馏水冲洗5次，茎尖接种于加有30%重量的玉米淀粉的如下培养基：MS+6-BA0.5mg/L+NAA 2mg/L+蔗糖 30g/L，用4%的琼脂固化，光照培养，pH调为6，温度25±1℃，光照强度1500LX，光照时间每天12小时。外植体接种后一周左右即可见明显膨大，形成直径约1cm左右的愈伤组织。将愈伤组织切割后转到同样培养基上进行继代增殖培养。用多周期大量增殖的膏桐组培芽生产种苗，生根用培养基为IBA0.3mg/L+MS，经14天生根。当根长0.5cm左右，叶生长到3-5片时，将生根种苗直接移栽至苗圃地，先保温保湿15天。保持温度不低于摄氏17度，用塑料膜大棚进行苗上保湿。随后苗木生长良好。

以上实施例仅对发明做进一步的说明，而本发明的范围不受所举实施例的局限。