



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113207689 A

(43) 申请公布日 2021.08.06

(21) 申请号 202110559352.0

(22) 申请日 2021.05.21

(71) 申请人 中国农业科学院蔬菜花卉研究所
地址 100081 北京市海淀区中关村南大街
12号

(72) 发明人 明军 杨盼盼 徐雷锋

(74) 专利代理机构 北京德崇智捷知识产权代理
有限公司 11467

代理人 申星宇

(51) Int.Cl.

A01H 4/00 (2006.01)

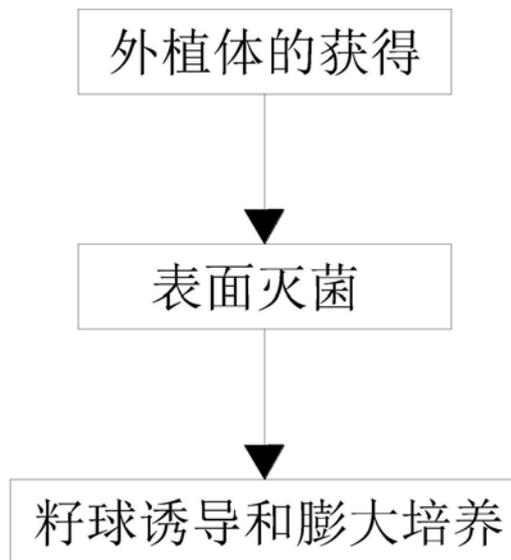
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法

(57) 摘要

本发明公开了一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中。本发明提供了一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,诱导启动早,显著缩短培育时间,培养4d叶腋开始突起,培养一周叶腋出现籽球原基,培养两周叶腋处形成籽球,培养一个月,籽球可达到出球规格,即直径达1-2cm,较传统的鳞片繁殖,籽球诱导时间可缩短一个月,而且成球过程只需要一步,即用一种培养基MS+2mg/L6-BA+90g/L蔗糖即可实现籽球的诱导和膨大培养,培养过程简单,减少了污染机会,本发明所用外植体为开花后的茎段,既不影响观赏,也避免在资源收集过程中对种球的采挖破坏。



1. 一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,其特征在于:包括以下步骤:

A、外植体的获得:百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中;

B、表面灭菌:将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗;

C、籽球诱导和膨大培养:将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于25±1℃,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养。

2. 根据权利要求1所述的一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,其特征在于:所述步骤A中百合花可选择观赏百合‘索邦’、食药百合卷丹和铁炮百合中的一种。

3. 根据权利要求1所述的一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,其特征在于:所述步骤B中使用无菌水涮洗4-6次,每次洗3min。

4. 根据权利要求1所述的一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,其特征在于:所述步骤C中培养一个月后可出球,籽球直径为1-2cm。

一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法

技术领域

[0001] 本发明涉及植物组织培养技术领域,尤其涉及一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法。

背景技术

[0002] 百合是百合科百合属多年生鳞茎类球根花卉,其花型花色多样,具有极高的观赏、食用和药用价值,被誉为“球根花卉之王”。长期以来,百合一直以传统的鳞茎分球、鳞片扦插、地上珠芽进行繁殖,存在繁殖系数低,病毒积累、种性退化等问题,严重影响百合的产量和质量,制约了百合鳞茎和切花的大规模生产。

[0003] 植物组织培养技术是生命科学中重要的研究技术和手段之一。利用组织培养技术,可加快百合的繁殖速度,缩短百合籽球的生育周期,弥补种球繁育的不足,因而在百合商品化及产业化过程中被广泛应用。百合的组织培养常通过5种途径来实现。第一是器官型,即通过腋芽发育和不定芽的产生、形成丛生芽块的过程;第二是器官发生型,即外植体脱分化形成愈伤组织再分化出器官的方式;第三是胚状体发生型,即外植体按胚胎发生方式形成胚状体或先形成愈伤组织、再经愈伤组织形成胚状体再生植株的过程;第四是鳞茎型,即鳞片近轴面或在边缘直接形成带根的小鳞茎;第五是孢子型,即用成熟或未成熟的孢子进行培养。目前,百合上多采用鳞片为外植体,通过器官发生型和鳞片诱导籽球形成的鳞茎型来进行繁殖。

[0004] 此外,也可通过种子、珠芽、叶片、花器官等进行组培繁殖,但均存在周期长、诱导率低的问题,尚不能满足百合生产需求。为此,我们提出一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法。

发明内容

[0005] 基于背景技术存在的技术问题,本发明提出了一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,以解决背景技术中提出的问题。

[0006] 本发明提供如下技术方案:一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,包括以下步骤:

[0007] A、外植体的获得:百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中;

[0008] B、表面灭菌:将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10% NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗;

[0009] C、籽球诱导和膨大培养:将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养。

[0010] 优选的,所述步骤A中百合花可选择观赏百合‘索邦’、食药百合卷丹和铁炮百合中的一种。

[0011] 优选的,所述步骤B中使用无菌水涮洗4-6次,每次洗3min。

[0012] 优选的,所述步骤C中培养一个月后可出球,籽球直径为1-2cm。

[0013] 本发明提供了一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,本发明诱导启动早,显著缩短培育时间,培养4d叶腋开始突起,培养一周叶腋出现籽球原基,培养两周叶腋处形成籽球,培养一个月,籽球可达到出球规格,即直径达1-2cm,较传统的鳞片繁殖,籽球诱导时间可缩短一个月,而且成球过程只需要一步,即用一种培养基MS+2mg/L6-BA+90g/L蔗糖即可实现籽球的诱导和膨大培养,培养过程简单,减少了污染机会,本发明所用外植体为开花后的茎段,既不影响观赏,也避免在资源收集过程中对种球的采挖破坏。

附图说明

[0014] 图1为本发明步骤原理图;

[0015] 图2为本发明中‘索邦’百合茎段诱导籽球形成图;

[0016] 图3为本发明中卷丹茎段诱导籽球形成图;

[0017] 图4为本发明中铁炮百合诱导籽球形成图。

具体实施方式

[0018] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0019] 请参阅图1-4,本发明提供一种技术方案:一种百合茎段直接诱导小鳞茎的快速繁殖方法,包括以下步骤:

[0020] A、外植体的获得:百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中;

[0021] B、表面灭菌:将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗;

[0022] C、籽球诱导和膨大培养:将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养。

[0023] 实施例一

[0024] 百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中;将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗;将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养。

[0025] 实施例二

[0026] 百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中,百合花可选择观赏百合‘索邦’、食药百合卷丹和铁炮

百合中的一种;将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗;将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于25±1℃,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养。

[0027] 实施例三

[0028] 百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中,百合花可选择观赏百合‘索邦’、食药百合卷丹和铁炮百合中的一种;将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗,使用无菌水涮洗4-6次,每次洗3min;将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于25±1℃,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养。

[0029] 实施例四

[0030] 百合花落后,切取百合中上部较嫩的茎,流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,将带1/3叶的茎放入广口瓶中,百合花可选择观赏百合‘索邦’、食药百合卷丹和铁炮百合中的一种;将广口瓶放置于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗,使用无菌水涮洗4-6次,每次洗3min;将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS基本培养基附加不同浓度的6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和蔗糖的培养基上,于25±1℃,光照强度2000lx,光照周期为16小时/天的诱导条件下进行诱导和膨大培养,培养一个月后可出球,籽球直径为1-2cm。

[0031] 实施例五

[0032] 观赏百合‘索邦’花落后,切取其中上部较嫩的茎(自顶部向下1/4茎)流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,带1/3叶的茎放入广口瓶中,于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗4-6次,每次洗3min;将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS+6-BA2.0mg/L+蔗糖90g/L培养基上,于25±1℃,光照强度2000lx,光周期为16h/天的条件下进行诱导培养,培养4d叶腋开始突起,培养一周叶腋出现籽球原基,培养两周叶腋处形成籽球,培养一个月,籽球可达到出球规格,即直径达1-2cm。

[0033] 实施例六

[0034] 食药百合卷丹和铁炮百合花落后,切取其中上部较嫩的茎(自顶部向下1/3茎)流水冲洗干净,用双面刀片切去2/3的叶片,带1/3叶的茎放入广口瓶中,于超净工作台进行表面灭菌:75%酒精处理30s,10%NaClO处理10min,然后用无菌水涮洗4-6次,每次洗3min,将灭好的茎切成长1.5cm且带1cm叶柄的单茎节,接种在MS+6-BA2.0mg/L+蔗糖90g/L培养基上,于25±1℃,光照强度2000lx,光周期为16h/天的条件下进行诱导培养,培养一个月,籽球直径达1-2cm。

[0035] 籽球诱导结果如下表所示,其中MS+2mg/L6-BA+90g/L蔗糖的籽球诱导率最高,可100%诱导籽球形成。

[0036]

编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	蔗糖 (g/L)	诱导率 (%)
1	0	0	30	4.76

2	0	0.05	60	38.46
3	0	0.1	90	40.41
4	1	0	60	86.67
5	1	0.05	90	65.75
6	1	0.1	30	52.82
7	2	0	90	100
8	2	0.05	30	58.42
9	2	0.1	60	78.95

[0037] 本发明中,诱导启动早,显著缩短培育时间,培养4d叶腋开始突起,培养一周叶腋出现籽球原基,培养两周叶腋处形成籽球,培养一个月,籽球可达到出球规格,即直径达1-2cm,较传统的鳞片繁殖,籽球诱导时间可缩短一个月,而且成球过程只需要一步,即用一种培养基MS+2mg/L6-BA+90g/L蔗糖即可实现籽球的诱导和膨大培养,培养过程简单,减少了污染机会,本发明所用外植体为开花后的茎段,既不影响观赏,也避免在资源收集过程中对种球的采挖破坏。

[0038] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,根据本发明的技术方案及其发明构思加以等同替换或改变,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

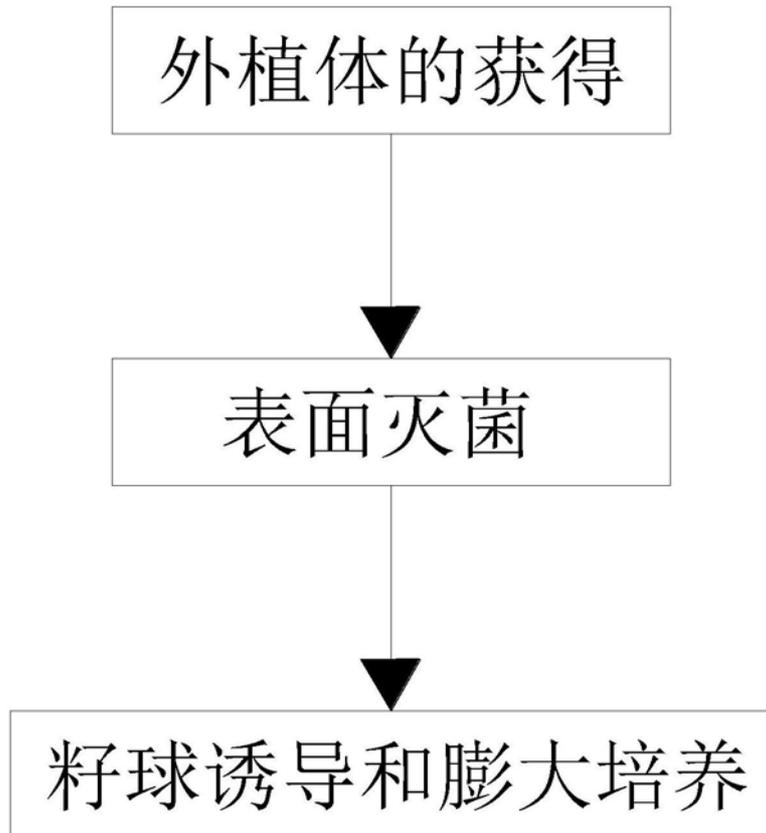


图1

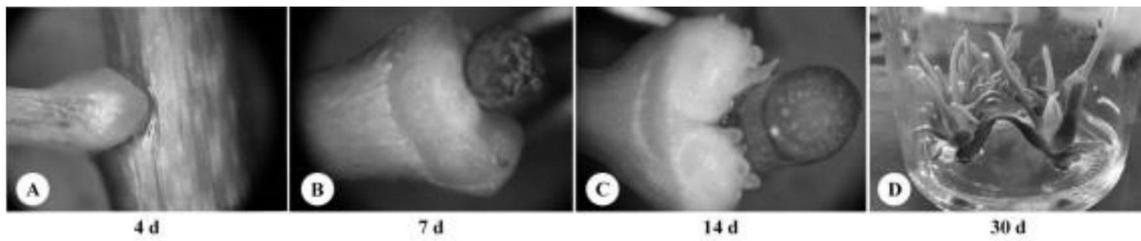


图2



图3

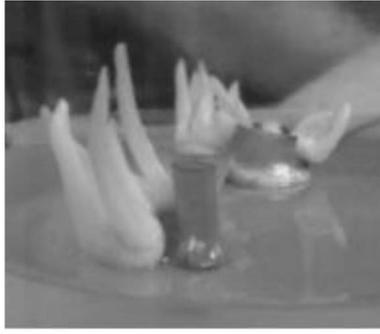


图4