



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114365691 B

(45) 授权公告日 2023.03.17

(21) 申请号 202210155301.6

A01G 7/06 (2006.01)

(22) 申请日 2022.02.21

审查员 冀敏

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 114365691 A

(43) 申请公布日 2022.04.19

(73) 专利权人 德兴市荣兴苗木有限责任公司

地址 334200 江西省上饶市德兴市银城街
道银山西路3号

(72) 发明人 何远孝 周卫荣 周卫信 周建荣

倪尉廷 周小安

(74) 专利代理机构 嘉兴恒冠知识产权代理事务

所(普通合伙) 33488

专利代理师 朱琴琴

(51) Int. Cl.

A01H 4/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书8页

(54) 发明名称

一种福禄紫枫的组织培养方法

(57) 摘要

本发明公开了一种福禄紫枫的组织培养方法,所述组织培养方法中,步骤包括福禄紫枫外植体的前处理、福禄紫枫外植体的采取、福禄紫枫外植体的消毒、福禄紫枫外植体的诱导培养、福禄紫枫芽的增殖培养、福禄紫枫芽的壮苗培养、福禄紫枫苗的生根培养;本发明母本采用遮光80%,新长出的干净的嫩芽枝条能够让外植体的消毒更彻底,而且完全消除了福禄紫枫外植体诱导褐化死亡的问题,这是能使福禄紫枫组培成功的关键。本发明在壮苗和生根采用了不同的培养基,先获得福禄紫枫的芽,然后芽接入壮苗培养基中获得较大的品质好的苗,在将小苗接入生根培养基中这样做可以大大提高福禄紫枫苗的生根率和成活率。

1. 一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述组织培养方法中,步骤包括福禄紫枫外植体的前处理、福禄紫枫外植体的采取、福禄紫枫外植体的消毒、福禄紫枫外植体的诱导培养、福禄紫枫芽的增殖培养、福禄紫枫芽的壮苗培养、福禄紫枫苗的生根培养;

其中,所述前处理包括选取福禄紫枫中等大小的无病无虫害的分枝多的盆栽嫁接苗,将所述盆栽嫁接苗搬入温室大棚遮光80%处理一个月;所述的外植体的采取中,将嫩芽枝条切割成带2-3个腋芽的茎段作为外植体;

其中,所述福禄紫枫外植体的诱导培养的诱导培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+6-BA 2~7mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成或者由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+KT 2~7mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成;

其中,所述福禄紫枫芽的增殖培养的增殖培养基由WPM+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+6-BA 0.5~1.5mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成;

其中,所述福禄紫枫芽的壮苗培养的壮苗培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+KT 0.5~1.5mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成;

所述福禄紫枫苗的生根培养的生根培养基由1/2WPM+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+IBA0.5mg/L+糖20g/L+琼脂6g/L+苹果酸1ml/L组成。

2. 如权利要求1所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫外植体的诱导培养的诱导培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+KT 5mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成。

3. 如权利要求1所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫芽的增殖培养的增殖培养基由WPM+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+6-BA1mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成。

4. 如权利要求1所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫芽的壮苗培养的壮苗培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+KT 1mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成。

5. 如权利要求1至4中任意一项所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫外植体的消毒:将采集好的福禄紫枫外植体在准备室用手术刀将嫩枝叶子去掉,并将嫩枝切割成2~3个腋芽为一个茎段用瓶子装着备用,然后在超净工作台上先用75%的酒精消毒60s并用手不断摇晃,之后倒掉酒精用无菌水清洗3~5次,每次清洗一分钟,然后倒入2%的NaClO溶液并加入3~5滴吐温80消毒15~18分钟,轻轻摇晃使福禄紫枫外植体与消毒液充分接触。

6. 如权利要求5所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫外植体的诱导培养:将消毒后的外植体用无菌水清洗3~5次,每次清洗一分钟,然后用消毒好的镊子将消毒好的外植体夹到无菌盘中,用无菌手术刀将外植体的两端漂白的部分切掉,然

后将消毒好后的外植体切割成一段一个腋芽,然后接种在含有诱导培养基的培养瓶中,诱导培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+KT 5mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成,pH调至5.6~5.8,每瓶接种一个外植体;将接种好的培养瓶放在培养架上黑暗培养7天有利于减少褐化,7天后打开灯光,光源为冷光源,光照强度控制在2000lx~3000lx,光照时间为16小时,温度为25~28℃,根据实验结果培养一个月后外植体腋芽会长出来。

7.如权利要求6所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫芽的增殖培养:将从茎段上长出的芽切割下来,将芽的生长点切除接种至由WPM+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+6-BA1mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成的增殖培养基中,pH调至5.6~5.8,每瓶接种3~5棵芽,光照强度控制在2000lx~3000lx,光照时间为16小时,温度为25~28℃,根据实验结果单芽接种到增殖培养基中40天左右会长出3~5棵芽。

8.如权利要求7所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫芽的壮苗培养:将增殖培养基中新长出来的芽,切割成单芽接种至由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+KT1mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成的壮苗培养基中,pH值调至5.6~5.8,每瓶接种4~6棵芽,光照强度控制在3000lx~5000lx,光照时间为16小时,温度为25~28℃,根据实验结果40天之后丛生芽会长成具有2~3个节和4~5片叶子的组培苗。

9.如权利要求8所述的一种福禄紫枫的组织培养方法,其特征在于:所述福禄紫枫苗的生根培养:等到福禄紫枫的组培苗在壮苗培养基中长至2~3个节时,将小苗接种至由1/2WPM+0.1 mg/L核黄素+0.1 mg/L维生素H+0.1 mg/L叶酸+IBA0.5mg/L+糖20g/L+琼脂6g/L+苹果酸1ml/L组成的生根培养基中,pH调至5.6~5.8,每瓶接种10棵苗,光照强度控制在3000lx~5000lx,光照时间为16小时,温度为25~28℃,根据实验结果30天之后会长出3条以上的根。

一种福禄紫枫的组织培养方法

技术领域

[0001] 本发明涉及植物繁殖技术领域,具体而言涉及一种福禄紫枫的组织培养方法。

背景技术

[0002] 在植物繁殖技术领域,组织培养是植物的人工营养繁殖方法之一。枫香,又名枫香树(LiquidambarformosanaH.),金缕梅科,枫香树属(LiquidambarL.)的一种落叶高大乔木,福禄紫枫是枫香实生苗变异新品种,以全生长季节呈紫红色的叶色为其主要特异性表现,填补了我国自主培育高大落叶乔木常色叶品种的空白,在园林应用中具有极大的潜力和价值。

[0003] 福禄紫枫为植物新品种,其繁殖技术的研究目前公开报道的极少,同时该树种属落叶树种,落叶树种的嫁接传统上一般采用休眠期嫁接,目前福禄紫枫的嫁接繁殖仍主要采用中休眠期枝接;但是在休眠期嫁接,受嫁接时间短、时效较难掌握等因素的限制,需要提前一年培育砧木、嫁接苗需要两年才能出圃,因此,具有一定的局限性。尽管我们在枫香系列新品种嫁接育苗中创新开展了方块芽接,但方块芽对接穗和砧木规格和质量均有要求,特别是接穗粗度一般不能低于0.8cm,且要求芽片要厚,木质化程度必须良好。

[0004] 公开号CN105638254A发明名称一种福禄紫枫的生长期嵌枝接方法,包括经过嫁接时间选择→砧木培育→接穗选择→嫁接→接后管理,完成本发明任务,本发明所述的福禄紫枫的生长期嵌枝接技术既有方块芽接的各项优点,又没有方块芽对接穗质量的高要求,接穗粗度可以灵活选用,只要木质化程度良好,腋芽饱满,粗度0.3cm以上均可使用。该技术方案提供了一种嵌枝接方法,完成嫁接目的。

[0005] 公开号CN105432335A发明名称一种福禄紫枫的生长期方块芽接方法,经过嫁接时间选择→砧木培育→接穗选择→嫁接→接后管理,完成本发明任务,本发明的福禄紫枫的生长期方块芽接技术应用于福禄紫枫的生长期大苗高接和小苗嫁接繁殖,能有效延长福禄紫枫的嫁接时间,缩短育苗周期。该技术方案使用方块芽接的技术手段,实现福禄紫枫繁殖目的。

[0006] 公开号CN101999318B发明名称一种枫杨组织培养繁殖方法,公开了一种枫杨组织培养繁殖方法,其采用枫杨优良单株根部萌条为外植体,经消毒后接种在含有启动培养基的培养瓶中,以普通日光灯为光源,每日照光16小时,温度22-25℃、湿度为50%-65%,培养45天,分化长成试管芽苗,然后经剪切,转接于含有增殖培养基的培养瓶中,进行增殖培养,不断增殖,再剪切后接种于含有壮苗培养基的培养瓶中,进行壮苗培养,25天后去掉基部愈伤组织和部分叶片,留3-4片叶片,接种于含有生根处理产生根原基培养基的培养瓶中,进行生根培养6-10天,清洗后移栽到含有泥炭和黄心土的体积比为3:2的基质中,20天后生根成活。该技术方案所述的基本培养基包括常量元素、微量元素、铁盐和有机成分,并公开了各种金属盐和营养素的配方。

[0007] 公开号CN102726295A发明名称一种元宝枫的组织培养方法,该方法包括:在3月上旬采集树龄为4-6年的元宝枫母树的当年生枝芽作为外植体,消毒后切段并接种到MS+BA+

NAA的培养基中进行组织诱导培养,培养环境为pH5.6-5.8,20-24℃,光照强度1500lux,每天18小时光照6小时黑暗。本发明通过建立科学的培养基,辅以合理的技术手段,实现了增值效果好,质量高的组织培养繁殖。该技术方案同时结合元宝枫自身生长的特点,在进行组织培养的过程中,环境的应激较温和,提高外植体的生根率。

[0008] 公开号CN110663553A发明名称一种美国红枫的商业组织培养种苗繁育方法,公开了属于木本植物的组织培养技术领域,旨在提供一种实现种苗繁育工作的周年化、批次化、洁净化、优质化的美国红枫“KW126”组织培养种苗繁育方法,其技术方案要点是美国红枫“KW126”组织培养种苗繁育方法,具体步骤如下:S1:外植体的选择;S2:外植体消毒;S3:启动培养;S4:增殖培育;S5:壮苗培育;S6:生根培育,其中,在所述S2中采用“白猫”牌家用漂白水与无菌水按1:4的体积比制成的漂白水对外植体消毒。本方法通过组织培养以芽繁芽的技术途径进行种苗快速繁殖,在培养过程中避免产生愈伤组织,避免了性状分离和变异,保持了母本的优良特性,种苗性状稳定。该技术方案的特点之一是消毒步骤是采用“白猫”牌家用漂白水与无菌水按1:4的体积比制成的漂白水对外植体消毒。

[0009] 现有技术中,针对福禄紫枫的组织培养,未见公开,而理论上,福禄紫枫的组织培养应该是有效解决该品种繁殖的有效手段。探索一种完整的组织培养技术方案,对福禄紫枫的繁殖是有意义的。

发明内容

[0010] 为了克服现有技术中的缺陷,针对现有技术中福禄紫枫植物的繁殖存在的问题,发明人通过长期研究试验,提出了一种福禄紫枫的组织培养方法,通过组织培养的方式,进行福禄紫枫植物繁殖。

[0011] 本发明解决技术问题所采用的技术方案是:一种福禄紫枫的组织培养方法,步骤包括福禄紫枫外植体的采集、福禄紫枫外植体的消毒、福禄紫枫外植体的诱导培养、福禄紫枫芽的增殖培养、福禄紫枫芽的壮苗培养、福禄紫枫小苗的生根培养。

[0012] 在本发明技术方案中,在福禄紫枫外植体的诱导培养、增殖培养、壮苗培养和生根培养时的各个时期分别使用了不同的培养基,以满足各个阶段的营养需求。

[0013] 其中,福禄紫枫组织培养中难题之一就是福禄紫枫的叶子是紫色,茎干也是紫色,特别容易褐化死亡;因此,在研究福禄紫枫组织培养中,选择有效方法,尤其是培养基和辅助因素的选择,是克服褐化死亡的重要技术手段。

[0014] 具体而言,本发明所述福禄紫枫的组织培养方法,步骤包括福禄紫枫外植体的前处理、福禄紫枫外植体的采取、福禄紫枫外植体的消毒、福禄紫枫外植体的诱导培养、福禄紫枫芽的增殖培养、福禄紫枫芽的壮苗培养、福禄紫枫苗的生根培养。

[0015] 在整个福禄紫枫的组织培养中,组培繁殖的各个阶段都采用不同的培养基配方以满足各个阶段对营养物质的需求。

[0016] 进一步,所述福禄紫枫外植体诱导培养的诱导培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT 5mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成;

[0017] 进一步,所述福禄紫枫芽的增殖培养的增殖培养基由WPM+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+6-BA1mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成;

[0018] 进一步,所述福禄紫枫芽的壮苗培养的壮苗培养基由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT 1mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成;

[0019] 进一步,所述福禄紫枫苗的生根培养的生根培养基由1/2WPM+维生素1ml/L+IBA0.5mg/L+糖20g/L+琼脂6g/L+苹果酸1ml/L组成。

[0020] 因为紫枫属于乔木不耐高氮,所以在这些培养基采用半量WPM基本培养基和花宝1号基本培养基,并在所有阶段培养基中都额外加入了维生素、苹果酸、酪氨酸。添加维生素有利于芽的诱导形成抑制愈伤的产生;苹果酸属于还原剂而且是植物三羧酸循环中的重要成分,苹果酸的添加首先可以抑制外植体的褐化其次可以加快外植体的生理活动;氨基酸属于含氮化合物,酪氨酸的添加有利于紫枫芽的产生。

[0021] 进一步,在进行福禄紫枫外植体的前处理时:选取福禄紫枫中等大小的无病无虫害的分枝多的盆栽嫁接苗,将盆栽嫁接苗搬入温室大棚遮光80%处理一个月;促使盆栽嫁接苗的颜色变绿并长出嫩芽枝条,在此期间只能浇水不宜施肥,浇水要从盆栽嫁接苗的基部浇水,避免水落到新长出嫩芽枝条上增加组培污染率。

[0022] 进一步,福禄紫枫外植体的采取:一个月之后,将福禄紫枫盆栽嫁接苗新长出的长约15~20cm的嫩芽枝条用75%的酒精消毒过的剪刀,剪取新长出来的嫩枝。

[0023] 进一步,所述福禄紫枫外植体的消毒:将采集好的福禄紫枫外植体在准备室用手术刀将嫩枝叶子去掉,并将嫩枝切割成2~3个腋芽为一个茎段,用瓶子装着备用,然后在超净工作台上先用75%的酒精消毒60s并用手不断摇晃,之后倒掉酒精用无菌水清洗3~5次每次清洗一分钟,然后倒入2%的NaClO溶液并加入3~5滴吐温80消毒15~18分钟,轻轻摇晃使外植体与消毒液充分接触以达到更好的消毒效果。

[0024] 进一步,所述福禄紫枫外植体的诱导培养:将消毒好后的外植体用无菌水清洗3~5次每次清洗一分钟,然后用消毒好的镊子将消毒好的外植体夹到无菌盘中,用无菌手术刀将外植体的两端漂白的部分切掉,然后将消毒好后的外植体切割成一段一个腋芽,然后接种在含有诱导培养基的培养瓶中,诱导培养基优选1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT5mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成,pH调至5.6~5.8之间,每瓶接种一个外植体。将接种好的培养瓶放在培养架上黑暗培养7天有利于减少褐化,7天后打开灯光,光源以冷光源最好,光照强度控制在2000lx~3000lx之间,光照时间为16小时,温度为25~28℃诱导效果最好,根据实验结果培养一个月后外植体腋芽会长出苗来。

[0025] 进一步,所述福禄紫枫芽的增殖培养:将从茎段上长出的芽切割下来,将芽的生长点切除接种至优选由WPM+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+6-BA1mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成的增殖培养基中,pH调至5.6~5.8之间,每瓶接种3~5棵芽,光照强度控制在2000lx~3000lx之间,光照时间为16小时,温度为25~28℃诱导效果最好,根据实验结果单芽接种到增殖培养基中40天左右会长出3~5棵芽出来。

[0026] 进一步,所述福禄紫枫芽的壮苗培养:将增殖培养基中新长出来的芽,切割成单芽接种至优选由1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT1mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L组成的壮苗培养基中,pH调至5.6~5.8之间,每瓶接种4~6棵芽,光照强度控制在3000lx~5000lx之间,光照时间为16小时,温度为25~28℃效果

最好,根据实验结果40天之后丛生芽会长成具有2~3个节和4~5片叶子的组培苗。

[0027] 进一步,所述福禄紫枫苗的生根培养:等到福禄紫枫的小苗在壮苗培养基中长至2~3个节时,将小苗接种至由1/2WPM+维生素1ml/L+IBA0.5mg/L+糖20g/L+琼脂6g/L+苹果酸1ml/L组成的生根培养基中,pH调至5.6~5.8之间,每瓶接种10棵苗,光照强度控制在3000lx~5000lx之间,光照时间为16小时,温度为25~28℃诱导生根效果最好,根据实验结果30天之后会长出3条以上的根。

[0028] 本发明的有益效果是:与现有技术相比,本发明提供的福禄紫枫的组织培养方法具有以下优势:

[0029] 1) 本发明采用无性组织培养的技术,攻克了福禄紫枫组培难的问题,提高了福禄紫枫的繁殖率,使用本方法能满足福禄紫枫商业生产化的需求。

[0030] 2) 本发明母本采用遮光80%,新长出的干净的嫩芽枝条能够让外植体的消毒更彻底,而且完全消除了福禄紫枫外植体诱导褐化死亡的问题,这是能使福禄紫枫组培成功的关键。

[0031] 3) 本发明在壮苗和生根时采用了不同的培养基,先获得福禄紫枫的芽,然后芽接入壮苗培养基中获得较大的品质好的苗,在将小苗接入生根培养基中这样做可以大大提高福禄紫枫苗的生根率和成活率。

[0032] 4) 本发明额外添加了维生素、苹果酸、酪氨酸,大大增加了外植体芽产生的几率。生根方面使用少量激素,种植成活率达百分之85%以上。

具体实施方式

[0033] 为使本发明具体实施方式的目的和技术方案更加清楚,下面将结合本发明的具体实施方式的实施实例,对本发明具体实施方式的技术方案进行清楚、完整地描述。显然,所描述的具体实施方式是本发明的一部分具体实施方式,而不是全部的具体实施方式。基于所描述的本发明的具体实施方式,本领域普通技术人员在无需创造性劳动的前提下所制备的所有其它具体实施方式,都属于本发明保护的范围。

[0034] 实施例

[0035] 优选诱导培养基:1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT5mg/L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L;

[0036] 优选增殖培养基:WPM+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+6-BA 1mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L;

[0037] 优选壮苗培养基:1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT1mg/L+NAA 0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L;

[0038] 优选生根培养基:1/2WPM+维生素1ml/L+IBA 0.5mg/L+糖20g/L+琼脂6g/L+苹果酸1ml/L;

[0039] 操作步骤及培养方法:

[0040] 选福禄紫枫中等大小的无病无虫害的盆栽嫁接苗,将盆栽苗搬入温室大棚遮光80%处理一个月(视嫩芽生长速度而定)。促使盆栽苗长出嫩芽枝条,在此期间只能浇水不宜施肥,浇水要从盆栽苗基部浇水,避免水落到新长出嫩芽枝条上。

[0041] 一个月后,将福禄紫枫盆栽苗新长出的长约15-20cm的嫩芽枝条用75%的酒精消

毒过的剪刀,剪取新长出来的嫩枝,拿到实验室用手术刀去除全部叶片,用手术刀将嫩芽枝条切割成带2-3个腋芽的茎段作为外植体;另外在户外直接采集没有进行80%遮光的紫枫外植体用同样的采集方式进行处理。

[0042] 将采集好的福禄紫枫外植体在超净工作台上先用75%的酒精消毒60s并用手不断摇晃,之后倒掉酒精用无菌水清洗3-5次每次清洗一分钟,然后倒入2%的NaClO溶液并加入3-5滴吐温80消毒15分钟,轻轻摇晃使外植体与消毒液充分接触以达到更好的消毒效果,消毒效果如表1所示。

[0043] 将消毒好后的外植体用无菌水清洗3-5次每次清洗一分钟,然后用消毒好的镊子将消毒好的外植体夹到无菌盘中,用无菌手术刀将外植体的两端漂白的部分切掉,然后将消毒好后的外植体切割成一段一个腋芽,进行初代诱导实验;实验设置实验激素为1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+6-BA (2mg、5mg、7mg) /L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L以及激素为1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT (2mg、5mg、7mg) /L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L的培养基中进行实验对比,pH调至5.6-5.8之间,每瓶接种一个外植体。将接种好的培养瓶放在培养架上黑暗培养7天,7天后打开灯光,光照强度控制在2000lx-3000lx之间,光照时间为16小时,温度为25-28℃,根据表2的实验观察结果优选5号处理培养基,培养一个月后外植体会长出芽。

[0044] 将芽从茎段上切割下来,切割成单芽并将芽的生长点切除以便增加长芽数量,将切割好后的芽接种到增殖实验培养基中,实验设置实验激素为WPM+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+6-BA (0.5mg、1mg、1.5mg) /L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L,pH调至5.6-5.8之间,每瓶接3棵芽,光照强度控制在2000lx-3000lx之间,光照时间为16小时,温度为25-28℃,根据表3的实验观察结果优选2号处理培养基,培养40天一棵芽会增殖成3-5棵芽。

[0045] 将增殖培养基中新长出来的芽,切割下来接种至壮苗实验培养基中,实验设置实验激素为1/2WPM+花宝1号1g/L+酪氨酸100mg/L+维生素1ml/L+KT (0mg、0.5mg、1mg、1.5mg) /L+NAA0.2mg/L+糖20g/L+琼脂5.5g/L+苹果酸1ml/L,pH值调至5.6-5.8之间,每瓶接种4棵芽,光照强度控制在3000lx-5000lx之间,光照时间为16小时,温度为25-28℃,根据表4的实验观察结果优选3号处理培养基,培养40天之后丛生芽会长成具有2-3个节和4-5片叶子的组培苗。

[0046] 从壮苗培养基中挑选不同高度的芽进行生根实验,将高度不同的紫枫小苗接种在由1/2WPM+维生素1ml/L+IBA0.5mg/L+糖20g/L+琼脂6g/L+苹果酸1ml/L构成的生根培养基中,pH调至5.6-5.8之间,每瓶接种10棵苗,打开灯管光照强度控制在3000lx-5000lx之间,光照时间为16小时,温度为25-28℃,根据表5的实验观察结果表面选取高度为2cm或者高于2cm的紫枫苗,在生根培养基中培养30天之后100%会长出3条以上的根,根系状态好,移植到大棚的成活率高达85%以上。

[0047] 表1:做了前处理的紫枫和没做前处理的紫枫,消毒后污染率、外植体褐化率、外植体成活率对比。

编号	处理	污染率 (%)	褐化死亡率 (%)	存活瓶数	外植体成活率 (%)
[0048] 1	80%遮光处理 30 天+75%酒精 60s+2%NaClO 消毒 15 分钟	25	0	15	75
2	75%酒精 60s+2%NaClO 消毒 15 分钟	70	100	0	0

[0049] 注:前处理为80%遮光处理,每个编号接种20瓶,每瓶接种一个茎段外植体,培养条件一样。

[0050] 表2:不同激素对比对紫枫外植体芽的萌发和生长情况的影响。

编号	处理	萌芽率 (%)	玻璃化率 (%)
[0051] 1	1/2WPM+花宝 1 号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+6-BA 2mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	35.0	20.0
2	1/2WPM+花宝 1 号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素	75.0	47.0

	1ml/L+6-BA 5mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L		
[0052] 3	1/2WPM+花宝 1 号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+6-BA 7mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	85.0	78.0
4	1/2WPM+花宝 1 号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+KT 2mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	30.0	0.0
5	1/2WPM+花宝 1 号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+KT 5mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	80.0	0.0
6	1/2WPM+花宝 1 号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+KT 7mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	90.0	45

[0053] 注:每个处理接种20瓶,每瓶接种一个茎段,培养条件相同。

[0054] 表3:不同激素对比对紫枫芽的增殖系数以及增殖芽生长情况的影响。

编号	处理	接种瓶数	增殖系数	备注
[0055] 1	WPM+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+6-BA0.5mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+ 琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	20	2	
2	WPM+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+6-BA1mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼 脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	20	5	
3	WPM+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+6-BA 1.5mg/L+NAA 0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+ 苹果酸 1ml/L	20	6	开始产生丛 生芽且苗开 始玻璃化

[0056] 注:每个处理接种20瓶,每瓶接种3棵芽,培养条件相同。

[0057] 表4:不同激素比对紫枫芽的壮苗影响。

编号	处理	成苗百分率 (苗高 \geq 2cm)	备注
[0058] 1	1/2WPM+花宝1号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	20%	部分小芽会在 培养基中死亡, 而且芽长得慢
2	1/2WPM+花宝1号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+KT0.5mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	55%	部分小芽会死 亡
3	1/2WPM+花宝1号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+KT1mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	80%	小部分芽会死 亡,大部分芽会 发育成标准苗
4	1/2WPM+花宝1号 1g/L+酪氨酸 100mg/L+维生素 1ml/L+KT1.5mg/L+NAA0.2mg/L+糖 20g/L+琼脂 5.5g/L+苹果酸 1ml/L	60%	部分小芽会在 培养基中死亡

[0059] 注:每个处理接种20瓶,每瓶接种4棵芽,培养条件相同。

[0060] 表5:不同高度的苗在生根培养基中的生根率。

编号	处理	接种瓶数	苗高度 (cm)	生根率 (%)	备注
[0061] 1	1/2WPM+维生素 1ml/L+IBA0.5mg/L+糖 20g/L+琼脂 6g/L+苹果 酸 1ml/L	20	≥2	100	在此高度的苗生根率为 100%，根系数量最少多于 3 根，根系状态好。
[0061] 2	1/2WPM+维生素 1ml/L+IBA0.5mg/L+糖 20g/L+琼脂 6g/L+苹果 酸 1ml/L	20	≥1 及 <2	80	在此高度的苗生根率为 80%，部分难生根，根系数量最少多于 3 根，根系状态好。
[0062] 3	1/2WPM+维生素 1ml/L+IBA0.5mg/L+糖 20g/L+琼脂 6g/L+苹果 酸 1ml/L	20	<1	50	在此高度的苗生根率为 50%，难生根，根系数量少，根系不好。

[0063] 注：每个处理接种20瓶，每瓶接种10棵芽，培养条件相同。

[0064] 表6：维生素配方表。

维生素配方表		
名称	称取量 (mg/L)	备注
核黄素	0.1 mg	该称取量为配置 1L 培养基所需要的量
维生素 H	0.1 mg	
叶酸	0.1 mg	

[0066] 表6给出的是培植一升培养基，各种维生素的加入量。

[0067] 以上结合具体实施例，对本发明技术方案的具体实施方式进行了进一步描述，此具体实施方案是为了对本技术方案的详细描述，而不是为了限制本技术方案。以上所述的具体实施方案，仅仅是对本发明的优选实施方式进行描述，并非对本发明的技术构思和保护范围进行限定，在不脱离本发明设计构思的前提下，本领域普通技术人员对本技术方案作出的各种变型和改进，均应落入本发明的保护范围。

[0068] 以上实施方式仅用于说明本发明，而并非对本发明的限制，有关技术领域的普通技术人员，在不脱离本发明的精神和范围的情况下，还可以做出各种变化和变型，因此所有等同的技术方案也属于本发明的范畴，本发明的专利保护范围应由权利要求限定。