



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105815002 A

(43)申请公布日 2016.08.03

(21)申请号 201610108301.5 *A01G 1/04*(2006.01)
(22)申请日 2016.02.26 *A01G 9/10*(2006.01)
(83)生物保藏信息 *C05F 11/00*(2006.01)
CGMCC No.9551 2014.07.18
(71)申请人 中国科学院西双版纳热带植物园
地址 666303 云南省西双版纳傣族自治州
勐腊县勐仑镇
(72)发明人 邵士成 高江云 黄晖 刘强
(74)专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务
所(普通合伙) 53108
代理人 谢嘉 旃习涵
(51)Int.Cl.
A01G 1/02(2006.01)
A01G 1/04(2006.01)
A01G 1/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种齿瓣石斛种子和共生真菌混合播种的育苗方法

(57)摘要

本发明公开了一种齿瓣石斛种子和共生真菌混合播种的育苗方法。将胶膜菌(*Tulasnella* sp.),CGMCC No.9551经活化、发酵培养后制成真菌粉,然后与齿瓣石斛种子、普通干苔藓碎片混匀,得到混合播种包。育苗时将混合播种包提前浸水后用保鲜膜固定在茶树树干上即可,45~50天即可达到80%的成苗率。本发明技术成本低,易操作,具有更高的种群萌发率,幼苗生长更快,更健壮。播种包方便储存及运输,整个过程简单易学,在齿瓣石斛仿生态栽培产业化方面具有良好的应用前景。

1. 一种齿瓣石斛种子和共生真菌混合播种的育苗方法,包括以下步骤:

(1)采集野外自然结实并成熟但果荚尚未开裂的齿瓣石斛种子保存备用;

(2)真菌粉的制作:

2.1培养基的制作:以锥形瓶10%体积的量将PDA液体培养基装瓶,封口后装入灭菌锅,于121℃,115KPa条件下灭菌20min,备用;

2.2将活化培养3~10天的胶膜菌(*Tulasnella* sp.),CGMCC No.9551接种于备用的PDA液体培养基,于23~28℃,120~200rpm条件下发酵培养5~10天;

2.3用纱布过滤发酵液获取菌丝体,用无菌水冲洗菌丝体3~5次并沥水以去除残留的葡萄糖,将菌丝体和1~20倍质量的琼脂放入匀浆机打碎成粉;

2.4将打碎好的粉末置于烘箱内25~35℃条件下烘干0.5~4小时,获得真菌粉;

(3)混合播种包的制作

3.1取一个齿瓣石斛果荚中10%~100%的种子与1kg真菌粉混匀后,分装入纸袋,每个纸袋内装0.1~0.5g的种子真菌粉混合物;

3.2在每个纸袋内再装入普通干苔藓碎片0.1~2.0g混匀,得到混合播种包;

4、茶树林播种

4.1先将混合播种包用清水浸泡至吸水饱和,然后放置在离地高10cm以上的茶树树干上,并用普通保鲜膜松散的缠绕1~3圈;每个播种点放置1~8个混合播种包;

4.2用针刺穿保鲜膜和混合播种包表面形成均匀的小孔,使混合播种包中的种子在萌发过程中和外界保持相通;

4.3播种30天时可见种子陆续发育成原球茎,45~50天时多数原球茎发育成幼苗,此时应在有幼苗处开孔放苗。

2.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤2.2中,发酵培养条件优选28℃,150rpm,7天。

3.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤2.3中,将菌丝体和5倍质量的琼脂放入匀浆机打碎成粉。

4.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤2.4中,优选30℃条件下烘干2小时。

5.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤3.1中,取一个齿瓣石斛果荚中30%~40%的种子与1kg真菌粉混匀。

6.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤3.1中,每个纸袋内装0.2g的种子真菌粉混合物。

7.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤3.2中,将普通干苔藓剪成0.2~2.0cm长短的碎片;每个纸袋内装入0.3~0.6g的普通干苔藓碎片。

8.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤4.1中,每个播种点放置4~6个混合播种包;用保鲜膜松散缠绕2圈。

9.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤4.2中,每个混合播种包扎2~6个小孔,孔间距1cm。

10.根据权利要求1所述的育苗方法,其特征在于:步骤4.3中,所述的开孔放苗其孔径优选为0.25~4cm²。

一种齿瓣石斛种子和共生真菌混合播种的育苗方法

技术领域

[0001] 本发明属于石斛栽培技术领域,具体是涉及一种将齿瓣石斛种子和共生真菌制成混合播种包,在茶树上播种以获得齿瓣石斛幼苗的方法。

背景技术

[0002] 齿瓣石斛(*Dendrobium devonianum*)是一种具有极高药用价值的传统中药材,在云南许多地州广为栽培。现有的栽培模式主要为集约化种植,多采用“公司+基地+农户”的形式,用组培苗作为种苗,由于需要建造温棚、喷灌系统以及占地租金等使得种植成本居高不下;同时,在石斛苗生长过程中,为促进石斛幼苗快速生长需使用大量的化肥农药,造成产品农残、重金属含量超标等,产品质量不高。

[0003] 通过模拟石斛植物在自然环境下的生长条件来发展石斛栽培产业是解决上述问题的有效途径之一。在自然条件下,石斛属植物种子的萌发需要完全依靠某种特定的共生真菌来获取营养物质。基于共生萌发技术的育苗方法已有报道,如苗盘种子共生萌发育苗,但获得幼苗后移苗需要一定劳动力和技术,间接增加了栽培成本;再比如液体菌剂混合种子育苗方法,存在播种后种子和菌剂易被雨水冲刷,幼苗位置不确定,播种剂量受人为因素影响大,液体菌剂不方便携带操作等弊端。如何有效克服这些缺陷就成为本领域亟待解决的技术问题。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于针对现有技术的不足,根据石斛兰附生的生物学特性,提供一种齿瓣石斛种子和共生真菌混合物直接播种于茶树树干的育苗方法,以简化齿瓣石斛育苗过程、降低成本、提高齿瓣石斛种苗数量和质量。

[0005] 本发明的目的通过以下技术方案予以实现。

[0006] 除非另有说明,本发明所采用的百分数均为质量百分数。

[0007] 一种齿瓣石斛种子和共生真菌混合播种的育苗方法,包括以下步骤:

[0008] (1)采集野外自然结实并成熟但果荚尚未开裂的齿瓣石斛种子保存备用;

[0009] (2)真菌粉的制作:

[0010] 2.1培养基的制作:以锥形瓶10%体积的量将PDA液体培养基装瓶,封口后装入灭菌锅,于121℃,115KPa条件下灭菌20min,备用;

[0011] 2.2将活化培养3~10天的胶膜菌(*Tulasnella* sp.),CGMCC No.9551接种于备用的PDA液体培养基,于23~28℃,120~200rpm条件下发酵培养5~10天;

[0012] 2.3用纱布过滤发酵液获取菌丝体,用无菌水冲洗菌丝体3~5次并沥水以去除残留的葡萄糖,将菌丝体和1~20倍质量的琼脂放入匀浆机打碎成粉;

[0013] 2.4将打碎好的粉末置于烘箱内25~35℃条件下烘干0.5~4小时,获得真菌粉;

[0014] (3)混合播种包的制作

[0015] 3.1取一个齿瓣石斛果荚中10%~100%的种子与1kg真菌粉混匀后,分装入纸袋,

每个纸袋内装0.1~0.5g的种子真菌粉混合物；

[0016] 3.2在每个纸袋内再装入普通干苔藓碎片0.1~2.0g混匀,得到混合播种包；

[0017] 4、茶树林播种

[0018] 4.1先将混合播种包用清水浸泡至吸水饱和,然后放置在离地高10cm以上的茶树树干上,并用普通保鲜膜松散的缠绕1~3圈;每个播种点放置1~8个混合播种包；

[0019] 4.2用针刺穿保鲜膜和混合播种包表面形成均匀的小孔,使混合播种包中的种子在萌发过程中和外界保持相通；

[0020] 4.3播种30天时可见种子陆续发育成原球茎,45~50天时多数原球茎发育成幼苗,此时应在有幼苗处开孔放苗。

[0021] 步骤2.2中,发酵培养条件优选28℃,150rpm,7天。

[0022] 步骤2.3中,将菌丝体和5倍质量的琼脂放入匀浆机打碎成粉。

[0023] 步骤2.4中,优选30℃条件下烘干2小时。

[0024] 步骤3.1中,取一个齿瓣石斛果荚中30%~40%的种子与1kg真菌粉混匀。

[0025] 步骤3.1中,每个纸袋内装0.2g的种子真菌粉混合物。

[0026] 步骤3.2中,将普通干苔藓剪成0.2~2.0cm长短的碎片;每个纸袋内装入0.3~0.6g的普通干苔藓碎片。

[0027] 步骤4.1中,每个播种点放置4~6个混合播种包;用保鲜膜松散缠绕2圈。

[0028] 步骤4.2中,每个混合播种包扎2~6个小孔,孔间距1cm。

[0029] 步骤4.3中,所述的开孔放苗其孔径优选为0.25~4cm²。

[0030] 与现有技术相比,本发明具有以下优点:

[0031] 1、本发明是基于共生萌发技术的一种新方法,其技术成本低,易操作,具有更高的种群萌发率,由于开孔放苗后播种包能在一段时间内保湿,幼苗生长更快,更健壮,在齿瓣石斛仿生态栽培产业化方面具有巨大的推广和应用价值,也可为其他药用石斛的栽培提供有益借鉴。

[0032] 2、通过制作种子真菌混合播种包,有利于量化和控制各主要成分的比例。播种包方便储存及运输,播种时仅需提前浸水约5分钟至播种包吸水饱和,不需额外复杂操作即可根据现场树干粗细,倾斜度确定所需播种包数,将其放置于树干后缠绕保鲜膜完成播种过程。整个过程简单易学,受外界因素影响小,便于产业栽培的应用和推广。

[0033] 3、真菌和种子固定在播种包内充分接触,显著提高齿瓣石斛种苗萌发率,可达80%以上。

[0034] 保藏生物材料的说明

[0035] 本发明的菌株,已于2014年07月18日,保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMC);该中心地址:中国北京市朝阳区北辰西路1号院3号,中国科学院微生物研究所。该菌株分类命名为胶膜菌(*Tulasnella* sp.),保藏号为CGMCC No.9551。

具体实施方式

[0036] 以下通过实施例对本发明作进一步的详细说明,但实施例并不是对本发明技术方案的限定。

[0037] 实施例1:

[0038] 1、齿瓣种质的获得与保存

[0039] 采集野外自然结实并成熟但尚未开裂的齿瓣石斛种子保存备用。本实施例所用的齿瓣石斛种子采自云南省保山市龙陵县的野外种群,采集时间为2014年4月27日。

[0040] 2、真菌菌粉的制作

[0041] 2.1培养基的制作:PDA液体培养基常规做法,适量。以每瓶50ml平均分装入70瓶500ml三角瓶,封口后用报纸包裹瓶口,装入灭菌锅于121℃,115KPa条件下灭菌20min,备用。

[0042] 2.2将活化培养7天的胶膜菌(*Tulasnella* sp.),CGMCC No.9551,接种于上述灭菌的含50ml液体培养基的三角瓶,于28℃,150rpm培养条件下整天培养7天。

[0043] 2.3用纱布过滤已培养的发酵液获取菌丝体并用无菌水冲洗菌丝体3-5次并沥水以去除残留的葡萄糖。将菌丝体和5倍质量的琼脂放入匀浆机打碎制成菌粉。

[0044] 2.4将菌粉均匀摆放在磁盘上,烘箱内30℃条件下烘干2小时,得真菌菌粉备用。

[0045] 3、种子-菌粉的制作

[0046] 3.1常规TTC方法检测种子活力,以确认种子活力有无及有活力种子比例。

[0047] 3.2按照一个齿瓣石斛果荚种子数约30%加入1kg真菌菌粉混匀制成种子-真菌固体菌粉。

[0048] 3.3每个纸袋分装约0.2g种子-菌粉后加入约1.0cm长短的普通干苔藓碎片约0.5g,即得种子和菌剂混合播种包。

[0049] 4、野外茶树树干播种种子和菌剂混合播种包。

[0050] 4.1选择云南省勐腊县易武乡易比古茶园作为试验点于2015年5月8日开展播种实验。把种子和菌剂混合播种包放入水中浸泡5min至播种包内的水苔吸水饱和,每个播种点选择4-6个播种包放置在离地高10cm以上的茶树树干上,用普通保鲜膜松散的缠绕2圈,即完成播种过程。

[0051] 4.2待种子直播完后,用钢针在播种点扎孔以保持种子萌发过程中和外界相通更接近于种子自然萌发状态。

[0052] 4.3播种30天时可见种子陆续发育成原球茎,45-50d时多数原球茎发育成幼苗,此时对保鲜膜开孔放苗防止高温灼伤幼苗并提供幼苗足够的生长空间,孔径大小依据幼苗数量多少而定,一般1cm²为宜。

[0053] 5数据分析

[0054] 播种45-50d时多数原球茎发育成幼苗。本次混合播种包共播种60次,其中48处发现有种子萌发,群体萌发率为80.00%,共获得幼苗579棵,平均每个播种点获得幼苗9.65棵。

[0055] 实施例2:

[0056] 重复实施例1,有以下不同点:

[0057] 选择云南省景洪市基诺乡亚诺村龙帕古茶园作为试验点,于2015年5月21日进行播种实验。共计播种105个点。

[0058] 播种45-50d时多数原球茎发育成幼苗。本次播种共选择105个播种点,其中87个点有种子萌发形成幼苗,群体萌发率82.86%;共获得幼苗1036棵,平均每个点获得幼苗9.87棵。

[0059] 两批次混合播种包播种点数、平均每个点的幼苗数和群体萌发率详见表1,平均种群萌发率为81.82%,共获得1615棵幼苗,平均每个播种点获得9.79棵幼苗。基于共生萌发技术的齿瓣石斛种子种子和菌剂混合播种包茶树树干直播技术取得成功。

[0060] 表1不同播种时间和地点种子萌发情况比较

[0061] Table 1 The comparison on seedling number and population germination rates between different sowing time in two sites

[0062]

播种日期	播种地点	播种次数	平均幼苗数量 (棵/播种点)	种群萌发率 (%)
2015-05-08	易比古茶园	60	9.65	80.00
2015-05-21	龙帕古茶园	105	9.87	82.86

[0063] 将齿瓣石斛种子、共生真菌和辅料制作成固体菌粉并均匀分装于可降解纸质茶袋制作混合播种包意义重大,将极方便种子-真菌的储存和运输,并可控茶农播种时的剂量,保证播种后获取一定量的幼苗数;同时播种包播种可大概预测种子萌发成幼苗的具体位置,利于后期更准确的在保鲜膜上开孔放苗及管理;更重要的是混合播种包可以保证种子和真菌在播种包内充分接触大大提高种群萌发率,获得更多幼苗。种子和菌剂混合播种包的应用简化了播种流程,更有针对性的进行后期管理,提高种子萌发率,对开展野外齿瓣石斛种子直播育苗有重要的产业应用价值。