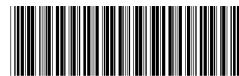


(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102577690 A

(43) 申请公布日 2012.07.18

---

(21) 申请号 201110002505.8

(22) 申请日 2011.01.07

(71) 申请人 中国环境科学研究院

地址 100012 北京市朝阳区安外壮苑大羊坊  
8号

(72) 发明人 侯文华 曹利静

(74) 专利代理机构 北京元中知识产权代理有限公司  
责任公司 11223

代理人 王明霞

(51) Int. Cl.

A01C 1/00 (2006.01)

---

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

一种促进苦草种子萌发与生长的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种促进苦草种子萌发与生长的方法，该方法为：在培养箱中，加入硝酸钾溶液或壳聚糖溶液，并辅以微量间歇式曝气，投入苦草种子，进行浸泡；于装有湖泊底泥作为基质的烧杯中对浸泡后的苦草种子进行培养；待苦草种子发芽后，将苦草幼苗再置于装有硝酸钾溶液的培养箱中浸泡，同时辅以微量间歇式曝气和间歇式短波紫外线照射。本发明的方法简单、苦草种子萌发时间短、发芽率极高、生长速度快、并且经济成本低，对于苦草的快速育种和大规模生产育苗具有重要的意义。

1. 一种促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,包括以下步骤:
  - (a) 在培养箱中,加入硝酸钾溶液或壳聚糖溶液,并辅以微量间歇式曝气,投入苦草种子,进行浸泡;
  - (b) 于装有湖泊底泥作为基质的烧杯中对浸泡后的苦草种子进行培养;
  - (c) 待苦草种子发芽后,将苦草幼苗再置于装有壳聚糖溶液的培养箱中浸泡,同时辅以微量间歇式曝气和间歇式短波紫外线照射。
2. 根据权利要求 1 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (a) 中,培养箱的温度为 20~30℃,光照强度为 1200~2800lux,苦草种子采用 2~30mg/L 的硝酸钾溶液进行浸泡,或采用 0.2~1mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡,浸泡时间为 12~36 小时。
3. 根据权利要求 2 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (a) 中,培养箱的光照强度为 2500lux。
4. 根据权利要求 2 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (a) 中,苦草种子采用 8~15mg/L 的硝酸钾溶液进行浸泡,或采用 0.25mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡。
5. 根据权利要求 4 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (a) 中,最优先为,苦草种子采用 8mg/L 的硝酸钾溶液浸泡。
6. 根据权利要求 2 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (a) 中,浸泡时间为 22~26 小时。
7. 根据权利要求 1 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (c) 中培养箱的温度为 20~30℃,光照强度为 2500lux,苦草幼苗采用 0.25~1mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡。
8. 根据权利要求 7 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (c) 中,苦草幼苗优选采用 0.25mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡。
9. 根据权利要求 1 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (c) 中短波紫外线的波长范围为 200~280nm,每 6 小时照射 1 次,每次照射 0.5~1 小时。
10. 根据权利要求 9 所述的促进苦草种子萌发与生长的方法,其特征在于,所述步骤 (c) 中,紫外线的波长范围优选为 274nm。

## 一种促进苦草种子萌发与生长的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种促进苦草种子萌发与生长的方法。

### 背景技术

[0002] 苦草 (*Vallisneria natana*), 俗名面条草、扁担草、水韭菜等, 属水鳖科苦草属多年生沉水植物, 为我国最常见的沉水植物之一。当前, 工业粗放式的扩展生产给河流、湖泊等水体造成的污染日益突出, 沉水植被的恢复已经成为我国湖泊等水体富营养化治理的关键。苦草具有较强的水质净化能力, 并且对水体污染有着较强的耐受性, 在水生生态系统修复重建工程中, 扮演着非常重要的角色, 但是由于水质条件的限制以及水生植物本身的生物学特性, 苦草种子的成苗率非常低下, 形成不了规模化生产, 因此, 目前的现有技术中, 往往通过组织培养法来促进苦草快速繁殖, 如:

[0003] 中国专利 200410066029.6 取用苦草的可繁殖器官根茎, 经过一系列灭菌过程, 在培养液中培养获得苦草无菌苗, 再将无菌苗置于培养基中诱导生芽, 该方法中用重金属汞盐进行灭菌, 容易造成环境污染, 另外, 灭菌后无菌苗的存活率仅超过 60%。

[0004] 中国专利 2004100606272 以苦草的地下茎尖作为培养物, 将苦草培养物经消毒、在诱导培养基中诱导培养、分化与增殖及生根培养, 来繁殖苦草, 该方法中没有公布存活率。该方法中苦草培养物的培养周期较长, 另外, 诱导培养基的成分过于复杂, 增加了成本, 而且, 该方法中还用到重金属汞盐, 容易造成环境污染。

[0005] 另外, 苦草的组织培养规模有限, 培养过程的存活率也有限, 在培养过程中没有变异的过程, 所以如果代数过多就会出现产量、生殖能力、生活力的下降。

[0006] 鉴于此, 特提成本技术方案。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种促进苦草种子萌发与生长的方法, 该方法具有苦草种子萌发时间短、成苗率高、苦草幼苗生长速度快等优点, 并且可以实现规模化生产。

[0008] 为了实现本发明的目的, 采用的技术方案, 包括以下步骤:

[0009] (a) 在培养箱中, 加入硝酸钾溶液或壳聚糖溶液, 并辅以微量间歇式曝气, 投入苦草种子, 进行浸泡;

[0010] (b) 于装有湖泊底泥作为基质的烧杯中对浸泡后的苦草种子进行培养;

[0011] (c) 待苦草种子发芽后, 将苦草幼苗再置于装有壳聚糖溶液的培养箱中浸泡, 同时辅以微量间歇式曝气和间歇式短波紫外线照射。

[0012] 本发明中, 所述步骤 (a) 中培养箱的温度为 20~30℃, 光照强度为 1200~2800lux。

[0013] 本发明中, 所述步骤 (a) 中苦草种子采用 2~30mg/L 的硝酸钾溶液进行浸泡, 或采用 0.2~1mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡, 浸泡时间为 12~36 小时。

[0014] 上述步骤 (a) 的优选方案为: 培养箱的光照强度为 2500lux。

[0015] 上述步骤 (a) 的另一优选方案为: 苦草种子采用 8~15mg/L 的硝酸钾溶液进行浸

泡,或采用 0.25mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡;最优选为:苦草种子采用 8mg/L 的硝酸钾溶液浸泡。

[0016] 上述步骤(a)的另一优选方案为:浸泡时间为 22~26 小时。

[0017] 苦草种子在营养液中浸泡 22~26 小时,种子对培养箱中的营养液的吸收基本饱和。

[0018] 本发明中,以硝酸钾溶液或壳聚糖溶液作为促进苦草种子萌发与生长的调节剂,硝酸钾和壳聚糖均为常见的物质,并且在医药、化工等领域被广泛使用,安全可靠,不会对土壤环境或水体环境造成污染,另外,在苦草种子浸泡的过程中辅以曝气,可以防止种子在浸泡过程中发生腐烂,促进种子发芽,并且具有一定的搅拌作用,可以使得溶液均匀浸入到种子内部。

[0019] 本发明中,所述步骤(c)中培养箱的温度为 20~30℃,光照强度为 2500lux,苦草幼苗采用 0.2~1mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡;短波紫外线的波长范围为 200~280nm,每 6 小时照射 1 次,每次照射 0.5~1 小时;曝气每 3 小时进行 1 次,每次进行曝气的时间为 0.5 小时。本发明中,苦草幼苗从开始发芽三天后进行浸泡。

[0020] 上述步骤(c)的优选方案为:苦草幼苗采用 0.25mg/L 的壳聚糖溶液进行浸泡。

[0021] 上述步骤(c)的另一优选方案为:紫外线的波长范围为 274nm。

[0022] 一般来说,由于曝气引起的水流冲击影响植物裸露根的生长,使根吸收的氮磷量减少,导致植株的氮磷积累下降,从而影响植物的生理生长。但在本发明中,苦草幼苗在浸泡时辅以微量间歇式曝气,不仅不足以引起足够的水流去冲击苦草的根部,不会影响苦草的根对营养的吸收,反而,可以使培养箱中的营养液和大气进行一个活性循环,有利于苦草的根进行有氧呼吸,增强根的活力,促进根吸收水分和养料,还有利于促进苦草的主根和侧根的增长,增加根密度。

[0023] 短波紫外线被认为是灭生性辐射,具有灭菌作用,对植物的形态与生理过程的影响极小,而中波紫外线被认为是生物有效辐射。但是发明人经试验后发现,中波紫外线对苦草的促生长作用很小,而短波紫外线,如果连续并长时间照射苦草,将抑制苦草的光合作用,但是,如果是间歇式短时间照射苦草,特别是 274nm 的紫外线间歇式照射苦草,每次照射 0.5~1 小时,光合作用对 CO<sub>2</sub> 的响应增强,可以显著提高苦草的光合作用速率,另外,短波紫外线还可以杀死溶液中的细菌和微生物,从而促进苦草生长。

[0024] 与现有技术相比,本发明提供的一种促进苦草种子萌发与生长的方法的有益效果为:

[0025] 1. 本发明中,在 20~30℃,光照强度为 1200~2800lux 的条件下,硝酸钾溶液和壳聚糖溶液具有非常好的促进苦草种子萌发的作用,并且安全可靠,不会对土壤环境或水体环境造成污染,在苦草种子浸泡的过程中辅以曝气,有利于硝酸钾溶液或壳聚糖溶液对苦草种子的渗透作用,还可以防止种子在浸泡过程中发生腐烂,促进种子发芽。

[0026] 2. 以壳聚糖溶液浸泡苦草幼苗,并辅以微量间歇式曝气和间歇式短波紫外线,不仅增强苦草的根的活力,促进根吸收水分和养料,促进苦草的主根和侧根的增长,还提高了苦草的光合作用速率,从而促进苦草生长,生长的苦草根系发达,叶片长且宽,颜色翠绿,生物量明显增加。

[0027] 3. 本发明的方法简单、苦草种子萌发时间短、发芽率极高、生长速度快、并且经济

成本低,适宜于实际生产应用,对于苦草的快速育种和大规模生产育苗具有重要的意义。

### 具体实施方式

[0028] 下面通过具体实施例对本发明的发明内容进一步的说明,但并不因此而限定本发明的内容。

[0029] 苦草种子购自武汉花卉市场;水溶性壳聚糖购自山东奥康科技有限公司,白色粉末,脱乙酰度>85%,粘度<100mpa.s,pH值7.22;硝酸钾购自北京化学试剂公司。

[0030] 实施例 1

[0031] 培养箱的温度为20-30℃,光照强度为1200lux。于9个培养箱中分别加入蒸馏水,2mg/L、4mg/L、8mg/L、15mg/L和30mg/L的硝酸钾溶液,以及0.25mg/L、0.5mg/L、1mg/L的壳聚糖溶液,每个培养箱同时辅以微量间歇式曝气,每个培养箱投入50颗苦草种子,浸泡12小时;之后,于装有湖泊底泥作为基质的烧杯中对浸泡后的苦草种子进行培养,结果如表1所示。

[0032] 表1 不同溶液浸泡后苦草种子的萌发时间与发芽率

浸泡液种类	浸泡液浓度 /(mg/L)	萌发时间/(d)		发芽率/(%)
		12-31	7-24	
[0033]	蒸馏水	-	12-31	54
	2	7-24	68	
	4	7-20	86	
	8	4-12	98	
	15	5-15	88	
	30	7-22	64	
	0.25	4-12	90	
	壳聚糖	0.5	7-20	78
		1	8-24	70

[0034] 实施例 2

[0035] 培养箱的温度为20-30℃,光照强度为2500lux。于培养箱中加入8mg/L的硝酸钾溶液,培养箱同时辅以微量间歇式曝气,投入50颗苦草种子,浸泡22小时;之后,于装有湖泊底泥作为基质的烧杯中对浸泡后的苦草种子进行培养,苦草种子的萌发时间为4~11天,发芽率为100%。

[0036] 实施例 3

[0037] 将恒温培养箱的温度恒定为20-30℃,光照强度为2800lux。于恒温培养箱中加入0.25mg/L的壳聚糖溶液,恒温培养箱同时辅以微量间歇式曝气,投入50颗苦草种子,浸泡36小时;之后,于装有湖泊底泥作为基质的烧杯中对浸泡后的苦草种子进行培养,苦草种子的萌发时间为5~12天,发芽率为88%。

[0038] 实施例 4

[0039] 采用实施例2中发芽三天后的苦草幼苗,将苦草幼苗分别置于7个培养箱中,培养

箱的温度为 20~30℃, 光照强度为 2500lux, 培养箱中分别装有蒸馏水、浓度为 4mg/L、8mg/L、15mg/L 的硝酸钾溶液和浓度为 0.25mg/L、0.5mg/L、1mg/L 的壳聚糖溶液, 每个培养箱中均放置 5 株苦草幼苗, 同时辅以微量间歇式曝气和间歇式 258nm 紫外线照射, 每 6 小时照射 1 次, 每次照射 1 小时。对苦草幼苗进行浸泡 12 天后, 生长情况见表 2。

[0040] 表 2 不同浓度溶液浸泡后苦草幼苗的生长情况

[0041]

	蒸馏水	0.25mg/L 壳聚糖溶液	0.5mg/L 壳聚糖溶液	1mg/L 壳聚糖溶液	4mg/L 硝酸钾溶液	8mg/L 硝酸钾溶液	15mg/L 硝酸钾溶液
叶长/cm	5.3	11.0	8.0	8.5	7.4	8.0	6.8
叶宽/mm	2.8	6.0	4.8	4.3	4.3	4.6	3.5
根长/cm	3.1	6.0	4.7	3.8	3.8	4.0	3.4
干重/g	0.14	0.4	0.23	0.21	0.19	0.18	0.16

[0042] 本发明中, 叶长是指每株苦草中最大叶片的长度的平均值; 叶宽是指每株苦草中最大叶片的宽度的平均值; 根长是指苦草最长根长的平均值; 干重分别是指将苦草清洗干净后, 放入烘箱中, 60℃烘干 24 小时后的平均干重。

[0043] 由表 2 可知, 硝酸钾溶液和壳聚糖溶液对苦草幼苗都有促生长作用, 但是, 壳聚糖溶液对苦草幼苗的促生长作用优于硝酸钾溶液, 并且, 0.25mg/L 的壳聚糖溶液对苦草幼苗的生长促进作用非常显著。

[0044] 实施例 5

[0045] 采用实施例 2 中发芽的苦草幼苗, 将 5 株苦草幼苗置于培养箱中, 培养箱的温度为 20~30℃, 光照为 2500lux, 培养箱中装有 0.25mg/L 的壳聚糖溶液, 同时辅以微量间歇式曝气和间歇式 200nm 紫外线照射, 每 6 小时照射 1 次, 每次照射 0.5 小时。对苦草幼苗进行浸泡 12 天后, 苦草幼苗的叶长 10.6cm, 叶宽 5.5mm, 根长 5.4cm, 干重 0.37g。

[0046] 实施例 6

[0047] 采用实施例 2 中发芽的苦草幼苗, 将 5 株苦草幼苗置于培养箱中, 培养箱的温度为 20~30℃, 光照为 2500lux, 培养箱中装有 0.25mg/L 的壳聚糖溶液, 同时辅以微量间歇式曝气和间歇式 280nm 紫外线照射, 每 6 小时照射 1 次, 每次照射 0.7 小时。对苦草幼苗进行浸泡 12 天后, 苦草幼苗的叶长 10.8cm, 叶宽 5.8mm, 根长 6.0cm, 干重 0.38g。

[0048] 比较例 1

[0049] 采用实施例 2 中发芽的苦草幼苗, 将苦草幼苗分别置于 3 个培养箱中, 每个培养箱均设为温度 20~30℃, 光照为 2500lux, 均装有 0.25mg/L 的壳聚糖溶液, 每个培养箱中均

放置 3 株苦草幼苗,三个培养箱的详细情况详见表 3,苦草幼苗在培养 12 天后,生长情况详见表 4。

[0050] 表 3 三个培养箱中促进苦草幼苗生长的工艺条件

[0051]

第一个培养箱	微量间歇式曝气	UV-B(300nm)每 6 小时照射 1 次, 每次照射 1 小时
第二个培养箱	微量间歇式曝气	UV-C(274nm)每 6 小时照射 1 次, 每次照射 1 小时
第三个培养箱	连续曝气	UV-C(274nm)每 12 小时照射 1 次, 每次照射 3 小时

[0052] UV-B 是指中波紫外线, UV-C 是指短波紫外线

[0053] 表 4 三个培养箱中苦草幼苗浸泡 12 天后的生长情况

[0054]

	叶长 /cm	叶宽 /mm	根长 /cm	干重 /g	颜色
第一个培养箱	8.3	5.0	4.8	0.25	翠绿色
第二个培养箱	11.3	6.0	6.2	0.42	翠绿色
第三个培养箱	7.7	3.8	3.0	0.13	黄绿色

[0055] 由表 3 和表 4 可知, 中波紫外线对苦草的促生长作用有限; 间歇式短波紫外线对苦草幼苗进行间歇式照射, 每次短时间照射, 可显著促进苦草的生长; 而连续曝气、短波紫外线每次照射时间过长, 苦草为黄绿色, 且苦草生长相对缓慢。