



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116897817 A

(43) 申请公布日 2023.10.20

(21) 申请号 202310829133.9

(22) 申请日 2023.07.06

(71) 申请人 广东省林业科学研究院

地址 510520 广东省广州市天河区沙河龙洞

(72) 发明人 王丛丛 何春梅 王洪峰 徐明锋
苏凌业

(74) 专利代理机构 广州京诺知识产权代理有限公司 44407

专利代理师 朱双

(51) Int. Cl.

A01G 31/00 (2018.01)

A01C 1/00 (2006.01)

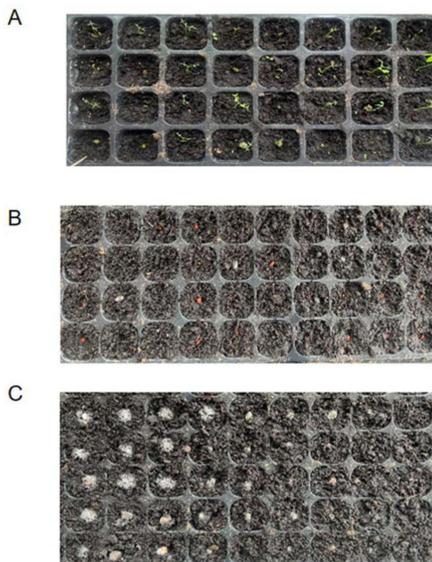
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

一种濒危植物花榈木的种子繁殖方法

(57) 摘要

本发明公开了一种濒危植物花榈木的种子繁殖方法。本发明通过对花榈木种子种脐处种皮进行微创处理,保障种子在3-5h内实现快速充分吸胀,唤醒种子活力;吸胀后的种子种皮极易剥除且不会伤害子叶和种胚组织,剥除种皮后,将种子完全浸入无菌水中3-5d,每隔12h换水一次。待种子胚根出现膨大后立即播种至穴盘,播种采用“浅播半露子叶法”,胚根部分埋入基质中,子叶露出一半接触空气和光照。本发明方法实现花榈木种子休眠打破到种子初始萌发仅需15天,到幼苗胚芽萌发仅需20d且出苗率达到98%;极大缩短了花榈木种子繁殖时长,提高了种子萌发效率,节约了育苗种子成本。



1. 一种濒危植物花榈木的种子繁殖方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1. 采集当年自然成熟的花榈木果荚,收集饱满、色泽均匀的花榈木种子,于5d内常温干燥,选用千粒重不低于200g的种子;

S2. 利用刀片去除种脐处2mm*3mm大小表面积的种皮,勿伤及种脐处子叶、胚轴、胚芽及胚根;在室温黑暗条件下,将种子在无菌水中浸泡3-5h,然后完全剥除种皮,剥除种皮时勿伤及子叶、胚轴、胚芽及胚根;

S3. 在室温黑暗条件下,将剥除种皮的种子在无菌水中浸泡3-5d,期间每隔12h换水一次;

S4. 待种子胚根出现膨大并生长伸长至1-2mm后,将种子播种至栽培基质进行萌发培养;所述的播种,其方式为将种子胚根侧及子叶的一半埋入栽培基质中,子叶露出一半在栽培基质外;所述的萌发培养,其培养条件为:温度25℃、相对湿度70%、光照强度5000lx、光照时间12h/d;保持栽培基质完全湿润,每天喷施无菌水2-3次以保持子叶湿润,待子叶转绿后停止喷水。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的栽培基质为草炭。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的步骤S2中,将种子在无菌水中浸泡5h。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的步骤S3中,将剥除种皮的种子在无菌水中浸泡3d。

一种濒危植物花榈木的种子繁殖方法

技术领域

[0001] 本发明属于濒危植物保育及种苗繁育领域,具体涉及一种濒危植物花榈木的种子繁殖方法。

背景技术

[0002] 豆科红豆属植物,是家具和桥梁等的优良用材,也具有药用价值,又是珍贵庭园树种,深受人们的喜欢。但是目前很多珍稀的红豆属木本树种,例如花榈木(*Ormosia henryi* Prain),面临濒临灭绝的危险,主要还是由于其具有繁殖困难的问题。为了能够快速繁殖优良资源,组织培养、扦插、微体繁殖等植物快速繁殖技术在红豆属树木中的研究日益增加,但是均存在相应的技术瓶颈。花榈木树木的种子有物理性休眠期,且物理性休眠造成了幼苗出芽难、出苗参差不齐等问题,在利用种子播种时,解除休眠成为一个非常关键的步骤。且豆科种子存在的休眠机制和如何打破种子休眠期这个难题,一直是科学研究一个重点难题,现今有一些研究已经对红豆属种子的物理性休眠的形成原因和对它休眠解除等有了初步探查,并对种子的休眠形成原因和怎样解除休眠方式的研究上做了评论,但高效快速的破除休眠方式和相应的育苗技术方法都极度匮乏。

[0003] 珍稀濒危植物花榈木属国家二级保护植物,是我国的特有种,在我国亚热带地区的安徽、福建、江西、湖北、湖南、广东、海南等省份有自然分布,多生于海拔600m~1200m的山地、溪边、谷地林内等。花榈木对生态生长环境要求苛刻,野生资源稀少且分布不均匀。花榈木由于生长分布区域狭窄,对生态环境要求苛刻,野生资源愈来愈少。花榈木虽然喜欢温暖,但它也有一定的耐寒性,花榈木喜湿润土壤,忌干燥。花榈木对光照强度和时间的要求有很大的弹性,虽然全光照或者全黑暗花榈木均能生长,但黑暗生长花榈木的状态会很差,且全光照比较适宜散射光。花榈木天然遍布稀少,结子率不高,可采集种子的种群有限,采取器皿育苗可节约种子,是花榈木育苗的首选方式。

[0004] 花榈木种子的种皮坚硬、致密,不利于水分和氧气的供应,透水透气性较差,较大程度地抑制其萌发。通过人工模拟土壤种子库进行野外种子萌发实验发现,自然条件下花榈木种子埋藏1年后发芽率仅16%。目前多采用物理化学方法处理花榈木种子,以促进萌发。如采用草木灰浸种1d,再用温水浸种3d,最后进行湿沙层积处理3d~4d的组合方法处理花榈木种子。对花榈木种子休眠的破除方法进行研究,发现500mg·L⁻¹赤霉素浸泡花榈木种子12h后,4℃低温混沙湿藏45d可破除花榈木种子休眠,发芽率、发芽势分别比对照提高36.6%、32.7%。花榈木种子经混沙湿藏处理后,随着时间的延长,酸性磷酸酯酶、淀粉酶和蛋白酶活性、GA3和ATP含量有所增加,ABA含量有所减小。此外,浓硫酸酸蚀处理2h也能有效改善花榈木种子的种皮透性,增强吸水速率且不伤害种子。总体看来,化学处理法以及变温法能改善花榈木种皮透性,增强吸水率。混沙湿藏处理可以提高相关酶活力,对破除花榈木种子休眠起关键作用。

[0005] 花榈木种子种皮坚硬、致密,透水透气性较差、休眠等原因导致发芽很慢、发芽期长、发芽率低是人工培育的主要难题。大部分催芽条件下花榈木种子发芽率都不甚理想,且

出芽不整齐。虽然目前学者们探索了花榈木种子休眠的破除方法,一定程度上缩短了萌发时间,提高了萌发率,但花榈木种子的休眠机理仍不明确,制约种子萌发的关键因素也没有统一的定论。且花榈木实生苗生长非常缓慢,抗旱抗冻能力较差,易死亡,这对利用种子繁殖扩大花榈木种群数量有着较大影响。强化花榈木野生资源的保护,重视种苗繁育技术的攻关,保护种质资源,加强资源培育力度,促进人工繁殖,对濒危植物花榈木保育具有重要意义。

发明内容

[0006] 如何快速打破花榈木种子休眠问题,是种子育苗的关键卡脖子环节。种子休眠时限打破需要一定的处理时间,对于濒危植物花榈木种子休眠时间极长、生长速度慢的问题,如何缩短打破休眠的时限,对于争取幼苗萌发和生长发育时间都至关重要。

[0007] 本发明解决了如何缩短花榈木种子休眠时限和促进种子快速萌发,实现了花榈木种子休眠打破到种子萌发时限仅需15d,到幼苗胚芽萌发仅需20d的快速育苗技术,且出苗率达到98%。极大缩短了花榈木种子繁殖时长,提高了种子萌发效率,为后期促进幼苗生长及发育提供了更多的生长时间。

[0008] 本发明的一种濒危植物花榈木的种子繁殖方法,包括以下步骤:

[0009] S1. 采集当年自然成熟的花榈木果荚,收集饱满、色泽均匀的花榈木种子,于5d内常温干燥,选用千粒重不低于200g的种子;

[0010] S2. 利用刀片去除种脐处2mm*3mm大小表面积的种皮,勿伤及种脐处子叶、胚轴、胚芽及胚根;在室温黑暗条件下,将种子在无菌水中浸泡3-5h,然后完全剥除种皮,剥除种皮时勿伤及子叶、胚轴、胚芽及胚根;

[0011] S3. 在室温黑暗条件下,将剥除种皮的种子在无菌水中浸泡3-5d,期间每隔12h换水一次;

[0012] S4. 待种子胚根出现膨大并生长伸长至1-2mm后,将种子播种至栽培基质进行萌发培养;所述的播种,其方式是将种子胚根侧及子叶的一半埋入栽培基质中,子叶露出一半在栽培基质外;所述的萌发培养,其培养条件为:温度25℃、相对湿度70%、光照强度5000lx、光照时间12h/d;保持栽培基质完全湿润,每天喷施无菌水2-3次以保持子叶湿润,待子叶转绿后停止喷水。

[0013] 优选,所述的栽培基质为草炭。

[0014] 优选,所述的步骤S2中,将种子在无菌水中浸泡5h。

[0015] 优选,所述的步骤S3中,将剥除种皮的种子在无菌水中浸泡3d。

[0016] 本发明基于花榈木种子种皮微创处理,破除种皮机械障碍,免除花榈木种皮透性差导致的吸水、吸氧困难等问题。采用种脐处种皮微创去除,一方面:种脐处种皮包裹胚组织,如果能够使胚在最短的时间内实现水分和氧气的疏通,对于破除种子休眠是至关重要的,而破除其他部位的种皮,显然无法在相同短的时间内实现胚快速的吸胀效果;另外,花榈木种子种皮含有抑制萌发的物质,浸泡时间越久,种皮内抑制萌发物质渗透率也越高,在某种程度上随吸胀作用进入子叶和胚组织,也会抑制后续萌芽效果。而干燥的花榈木种子种皮与子叶贴合度非常紧密,几乎无法实现干燥种子的无损剥除,存在一定的子叶破坏率,所以本发明采取微创种脐处种皮进行萌发障碍的第一步机械障碍破除,也达到了短时间内

非常好的吸胀效果。在穴盘种植环节,本发明采用自创的“浅播半露子叶”法,目的是为了保持剥壳后种子的胚可以继续保持黑暗状态,埋入穴盘基质内又可以充分吸收水分,促进胚根伸长和发育,而子叶半裸露在基质外面空气中,接触阳光可以有效抑制子叶发霉,并且促进子叶活化和内部叶绿素的快速形成,子叶一旦开始合成叶绿素便进入了打破休眠成功的萌动环节。花榈木种子剥除种皮后一半含有胚组织的子叶处于黑暗环境可以促进根系伸长,一半子叶裸露空气中可以与氧气充分接触并受光照诱导产生叶绿素,种子活力达到最大限度的唤醒和激发,整个处理过程实现了花榈木种子休眠的快速打破和种子的迅速萌动,实现了从未有报道的快速萌发效果和萌芽率。

[0017] 珍稀濒危植物花榈木种子种源本来就属珍贵,本发明实现了高效的打破休眠和萌芽,为花榈木保护和保育提供了重要的技术保障。

附图说明

[0018] 图1是花榈木种子种脐处微创处理图;其中,图A为种子无处理前种脐处种皮外观;图B为微创去除种脐处种皮后外观。

[0019] 图2是花榈木种子吸胀前及剥皮后外观图;其中,图A为种子吸胀前外观;图B为种子吸胀后剥除种皮后外观图。

[0020] 图3是T1处理花榈木种子剥皮后浅播半露子叶法种植;其中,图A为浅播半露子叶法种植花榈木剥皮后种子;图B为种植后7d,子叶全部转绿;图C为种植后12d,有种子开始萌芽。

[0021] 图4是不同种子处理方式采用浅播半露子叶法在生长发育25d后的效果对比;其中,图A为T1处理的种脐种皮微处理后种植方法效果,出苗整齐;图B为T2处理的未做任何处理种子的萌发效果,未见任何萌动迹象;图C为T5处理的仅做种皮微创后吸胀处理、不剥除种皮效果,出现普遍发霉。

具体实施方式

[0022] 以下实施例是对本发明的进一步说明,而不是对本发明的限制。

[0023] 实施例1

[0024] 本发明实现花榈木种子休眠快速打破和快速萌发效果,是结合使用以下技术实现的:

[0025] 首先,需要对种子种脐处种皮进行微创去除处理,其次要进行充分的吸胀,然后剥除种皮,继续泡胀种子,唤醒胚根活力,最后结合“浅播半露子叶法”于适度光照条件下进行培养,利用光照刺激子叶内叶绿素合成从而促进种子萌芽。

[0026] 1 材料与amp;方法

[0027] 1.1 花榈木种子筛选

[0028] 实验种子材料取自广东省梅州市五华县树龄75年左右花榈木,采种时间为2021年11月15日,从树体采集当年自然成熟、果皮呈现黑褐色的种荚,剥壳后筛选饱满、圆润、色泽均匀的花榈木种子,放于干燥盒中进行充分干燥2d后取出。使用洗涤剂(1mL立白洗洁精使用500mL自来水稀释后)3-5分钟快速充分搓洗干净种子表面杂质及附着物后,流动水冲洗干净,然后使用无菌水反复清洗3~5遍,用无菌滤纸吸干种子表面水分。筛选千粒重不低于

200g的种子进行后续实验。

[0029] 1.2种子处理及播种方法的设计

[0030] 设置以下处理：

[0031] (1) T1：对筛选的花榈木种子微创切除种脐处2mm*3mm大小表面积的种皮(图1B)，勿伤及种脐处子叶、胚轴、胚芽及胚根。在室温黑暗条件下，将种子在无菌水中浸泡5h后完全剥除种皮(图2)，勿伤及子叶、胚轴、胚芽及胚根。在室温黑暗条件下，将剥除种皮的种子在无菌水中浸泡3d(种子泡水3d，胚根出现膨大并生长伸长至1-2mm)，期间每隔12h换水一次；然后，采用“浅播半露子叶法”(图3A)进行穴盘播种。所述的“浅播半露子叶法”是将种子胚根侧的部分及子叶的一半(每片子叶靠近胚根侧的一半)埋入栽培基质中，子叶露出一半在栽培基质外。

[0032] (2) T2：对筛选的花榈木种子不作任何种皮微创处理(图1A)。在室温黑暗条件下，将种子在无菌水中浸泡5h后，继续在无菌水中浸泡3d，期间每隔12h换水一次。参照上述的“浅播半露子叶法”进行穴盘播种，具体为将种脐侧及种子子叶位置的一半埋入栽培基质，种子子叶位置的另一半露在栽培基质外。

[0033] (3) T3：对筛选的花榈木种子微创切除种脐处2mm*3mm大小表面积的种皮，勿伤及种脐处子叶、胚轴、胚芽及胚根。在室温黑暗条件下，将种子在无菌水中浸泡5h后完全剥除种皮，勿伤及子叶、胚轴、胚芽及胚根。在室温黑暗条件下，将剥除种皮的种子在无菌水中浸泡3d，期间每隔12h换水一次。按照常规种子播种方法，将整颗种子全部埋入穴盘栽培基质内。

[0034] (4) T4：对筛选的花榈木种子不作任何种皮微创处理。在室温黑暗条件下，将种子在无菌水中浸泡5h后，继续在无菌水中浸泡3d，期间每隔12h换水一次。按照常规种子播种方法，将整颗种子全部埋入穴盘栽培基质内。

[0035] (5) T5：对筛选的花榈木种子微创切除种脐处2mm*3mm大小表面积的种皮，勿伤及种脐处子叶、胚轴、胚芽及胚根。在室温黑暗条件下，将种子在无菌水中浸泡5h后不剥除种皮，继续将种子在无菌水中浸泡3d，期间每隔12h换水一次。参照上述的“浅播半露子叶法”进行穴盘播种，具体为将种脐侧及种子子叶位置的一半埋入栽培基质，种子子叶位置的另一半露在栽培基质外。。

[0036] (6) T6：对筛选的花榈木种子微创切除种脐处2mm*3mm大小表面积的种皮，勿伤及种脐处子叶、胚轴、胚芽及胚根。在室温黑暗条件下，将种子在无菌水中浸泡5h后不剥除种皮，继续将种子在无菌水中浸泡3d，期间每隔12h换水一次。按照常规种子播种方法，将整颗种子全部埋入穴盘栽培基质内。

[0037] 1.3穴盘基质选择及处理方式

[0038] 分别将T1-T6处理后的种子，置于装有草炭栽培基质的穴盘中进行播种种植，穴盘规格为每孔约长*宽*深=5*5*8cm，萌发期间穴盘托盘时刻保持高水位状态(约是穴盘深度的60%)，使孔内基质处于高度湿润状态。每个处理设置20粒种子，各3个生物学重复。

[0039] 在穴盘种植阶段，统一置于温度25℃、相对湿度70%、光照强度5000lx、光照时间12h/d的条件下培养。

[0040] 2结果与分析

[0041] (1)花榈木种子T1-T6不同处理后吸胀效果分析

[0042] 将T1-T6处理后的花榈木种子,按照各处理条件处理5h后,进行种皮吸胀效果对比,结果如表1所示。通过对比发现,种脐处种皮微创处理方式迅速实现种皮甚至子叶的吸胀,T1、T3、T5、T6种子在处理5h后达到了很好的吸胀效果。未作任何种皮微创处理的T2、T4无任何吸胀变化。说明种皮微创处理,首先可以打破花榈木种子萌发的机械障碍,并促进种皮和子叶的吸胀,实现了快速破除种子休眠的第一个环节。

[0043] 表1不同种子种皮处理方式的吸胀效果对比

[0044]

种子预处理方式	5h后的效果
T1	种皮完全吸胀
T2	无变化
T3	种皮完全吸胀
T4	无变化
T5	种皮完全吸胀
T6	种皮完全吸胀

[0045] (2)花榈木种子T1-T6不同种植处理后萌发效果分析

[0046] 将T1-T6处理的种子,按照各处理条件进行穴盘种植,期间进行种子萌发情况跟踪与调查。经过调查发现(表2),在第7d时,T1处理的子叶受光照刺激出现转绿(图3B),其他处理的种子外观、萌动情况均无变化。第12d时,T1处理的子叶受光照影响继续转深绿(图3C),且有5.12%子叶微张开,2.98%的种子开始露芽;T2、T4处理无任何变化;T3、T5、T6处理种子表面开始出现发霉的杂菌附着种子表面生长的现象。第25d时(图4),T1处理的子叶受光照影响发育良好,且有98.12%子叶微张开,90.56%的种子出现露芽,达到了极好的萌芽效果;T2、T4处理仍然无任何变化;T3、T5、T6处理种子表面开始出现大面积发霉现象,种子绝大多数失去了萌发生命力,进入腐烂状态,仅有T3处理的种子里还有3.23%的种子保持活力且出现了胚根伸长的现象。

[0047] 表2不同种子处理方式萌芽效果对比

[0048]

种子 预处 理	7 d			12 d			25 d		
	种子外 观	萌动 情况	胚芽 伸 长 情况	种子外观	萌动情况	胚芽伸 长情况	种子外观	萌动情况	胚芽伸 长情况
T1	子叶转	无	无	子叶转深	5.12% 子	2.98%	子叶深绿	98.12% 子	90.56%

[0049]

	绿			绿	叶微张开	露芽		叶微张开	露芽
T2	无变化	无	无	无变化	无	无	无变化	无	无
T3	无变化	无	无	34.89% 表面发霉	无	无	78.66% 表面发霉	3.23% 胚根伸长	无
T4	无变化	无	无	无变化	无	无	无变化	无	无
T5	无变化	无	无	60.48% 表面发霉	无	无	99% 表面发霉	无	无
T6	无变化	无	无	44.39% 表面发霉	无	无	84.79% 表面发霉	无	无

[0050] (3)快速打破花榈木种子休眠的最优最高效处理方法筛选

[0051] 通过表2分析,获得了不同花榈木种子处理方法结合萌芽方法下的最优方案。其中,T1处理取得了最高的种子萌动率和发芽效率,并且打破休眠的时间最短。与T2-T6处理对比,显然T1处理方法具有更高效率。T1处理能够实现98%的萌动效果,这显著优于目前报道的花榈木种子繁殖的其他技术。

[0052] 实施例2

[0053] 将按照实施例1中T1处理的种子并按照T1的播种方式,置于装有草炭栽培基质的穴盘中进行播种种植,穴盘规格为每孔约长*宽*深=5*5*8cm,萌发期间穴盘托盘时刻保持高水位状态(约是穴盘深度的60%),使孔内基质处于高度湿润状态。每个处理设置40粒种子,各3个生物学重复。

[0054] 在穴盘种植阶段,设置不同的温度和光照强度(表3),相对湿度70%、光照时间12h/d,在上述的培养条件下,调查播种12d后的种子萌发情况,结果如表3所示。结果表明,25℃为最佳温度、5000lx为最佳光照强度。

[0055] 表3穴盘种植阶段不同温度和光照强度下播种12d调查结果

[0056]

温度 \ 光强	1000 lx	3000 lx	5000 lx
15℃	几乎无变化	3%种子子叶微绿	10%种子子叶微绿
25℃	种子子叶继续膨大	种子子叶继续膨大, 40%种子子叶微绿	种子子叶继续膨大, 80%种子子叶转绿

[0057]	32℃	种子子叶继续膨大， 50%有发霉迹象	种子子叶继续膨大， 45%种子子叶微绿； 30%有发霉迹象	种子子叶继续膨大， 70%种子子叶转绿； 20%有发霉迹象
--------	-----	-----------------------	-------------------------------------	-------------------------------------

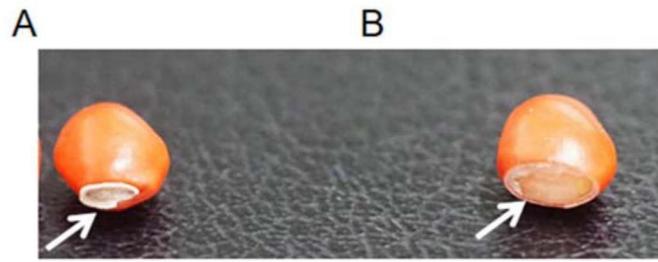


图1

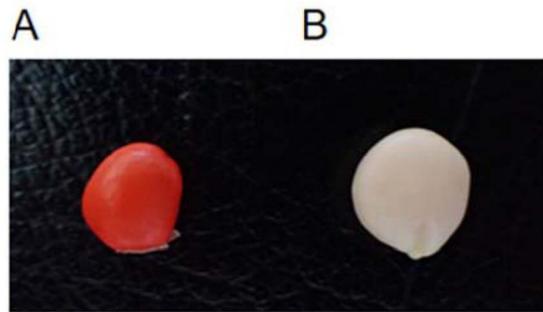


图2

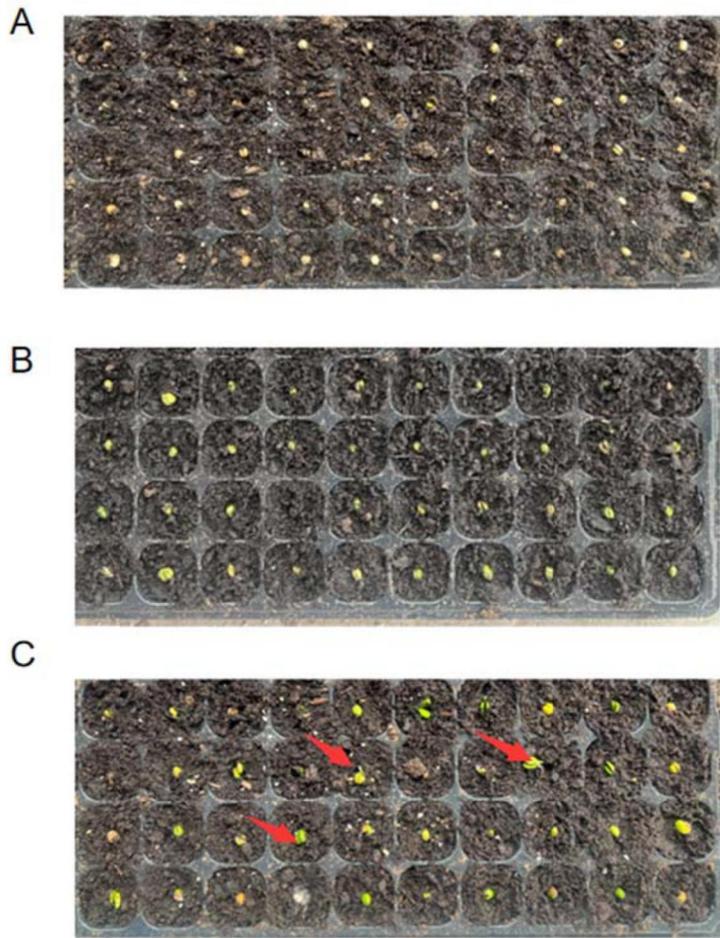


图3

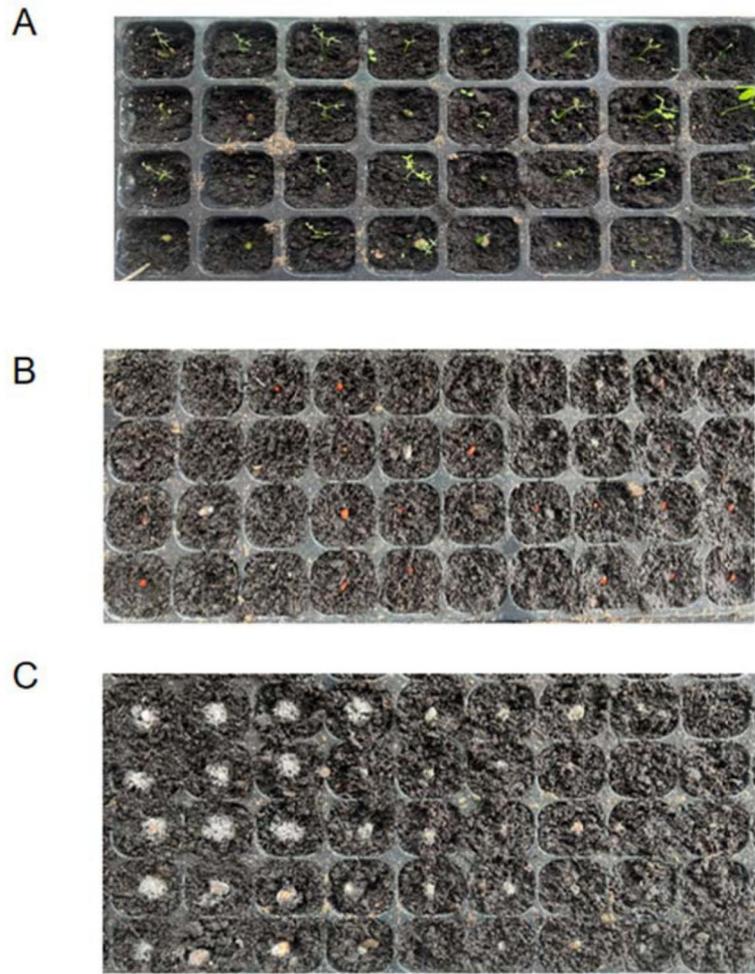


图4