

珍稀濒危植物秀丽兜兰蒴果及种子生长动态研究

王瑞¹, 陈学达^{1*}, 山晓丹^{1,2}, 余应鹏^{1,3}, 赵珺雯¹, 谢军¹, 邢震¹

(1. 西藏农牧大学 林草学院, 西藏兰科植物资源研究中心, 西藏高原森林生态教育部重点实验室, 西藏 林芝 860000; 2. 中国科学院植物研究所, 北京 100093; 3. 红河州林业和草原科学研究所, 云南 蒙自 661199)

摘要: 秀丽兜兰 (*Paphiopedilum venustum*) 为国家一级保护野生植物, 兼具观赏价值和重要保护意义。为明确蒴果成熟的关键时期及适宜采收时间, 该研究以授粉后天数 (DAP) 0~360 的秀丽兜兰蒴果及种子为材料, 通过蒴果表型观测、种子形态观测、有胚率检测及活力测定等方法, 研究其蒴果和种子的生长发育动态。结果表明: (1) 秀丽兜兰蒴果表面被蜡质, 随发育时期增加蒴果颜色由深紫转为青绿色, 成熟的蒴果表皮坚硬; 30~60 DAP 和 240~270 DAP 为蒴果的快速发育期。(2) 0~210 DAP 秀丽兜兰种子未分化, 210~300 DAP 种子白色, 黏着在胎座组织上, 300~360 DAP 种子淡黄色至黄褐色, 逐渐干燥脱离胎座, 360 DAP 的种子长宽及体积均显著高于其他发育时期; 0~240 DAP 未发现典型种胚结构, 240 DAP 时种胚开始发育, 360 DAP 的种子有胚率最高为 (90.55 ± 1.62)%; 330 DAP 时 TTC 法测定的种子活力最显著, 为 (68.33 ± 3.06)%, 330 DAP 后随着授粉后时间增加, 种皮质密, 染色率下降。(3) 从蒴果及种子整体发育来看, 秀丽兜兰的蒴果发育过程中存在两个快速发育期, 30~60 DAP 和 240~270 DAP, 在这两个快速发育期蒴果的长度、宽度都显著提升, 种子发育, 鲜重积累, 秀丽兜兰的种子和种胚快速发育期为 240~270 DAP, 这与第二次蒴果快速发育期吻合。综上, 在人工栽培下, 秀丽兜兰的最佳采收期为 330 DAP, 蒴果及种子的动态发育分析为秀丽兜兰的种质保存和人工繁殖提供了理论基础和技术支持。

关键词: 秀丽兜兰, 果龄, 蒴果发育, 种子发育, 种子质量

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号:

Dynamics of capsule and seed development in the rare and endangered orchid *Paphiopedilum venustum*

WANG Rui¹, CHEN Xueda^{1*}, SHAN Xiaodan^{1,2}, YU Yingping^{1,3},
ZHAO Junwen¹, XIE Jun¹, XING Zhen¹

(1. College of Forestry and Grassl, Xizang Agriculture and Animal Husbandry University, The Orchid Conservation Center of Xizang, Xizang Plateau Forest Ecology Key Laboratory of the Ministry of Education, Linzhi 860000, Xizang, China; 2. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; 3. Honghe Prefecture Forestry and Grassland Science Research Institute, Mengzi 661199, Yunnan, China)

Abstract: *Paphiopedilum venustum* is a wild plant under National Class I protection, with

基金项目: 西藏农牧大学研究生创新项目 (YJS2024-32); 西藏自治区重点研发计划专项 (XZ202502ZY0044); 西藏自治区科技计划项目 (XZ202401ZY0036); 西藏农牧大学林学博士点(一期) (533325001); 高原特色农牧科技小院建设及综合服务能力提升 (XK2024-01, XK2024-04, YJSJD2025-6)。

第一作者: 王瑞 (2001—), 硕士研究生, 研究方向为兰科植物种质资源与遗传育种, (E-mail) rae0606@163.com。

***通信作者:** 陈学达, 硕士, 助教, 现主要从事兰科植物种质资源与遗传育种研究, (E-mail) chenxueda@xza.edu.cn。

ornamental value and conservation importance. To determine the critical period for capsule maturation and the optimal harvest time, this study investigated the growth and development dynamics of the capsules and seeds of *P. venustum*. Capsules and seeds at 0–360 days after pollination (DAP) were used as materials, and analyses were conducted through phenotypic observation of capsules, morphological observation of seeds, and assessments of embryo rate and seed viability. The results were as follows: (1) The capsule surface of *P. venustum* is waxy. As the developmental stage progresses, the capsule color changes from deep purple to greenish, and the mature capsule epidermis becomes hard. Two rapid growth phases were observed at 30–60 DAP and 240–270 DAP. (2) During 0–210 DAP, *P. venustum* seeds were undifferentiated. During 210–300 DAP, seeds white in color, and adhered to the placental tissue. During 300–360 DAP, seeds turned from light yellow to yellowish-brown, gradually dried, and detached from the placenta. Seed length, width, and volume at 360 DAP were significantly higher than those at other developmental stages. No typical embryo structure was found during 0–240 DAP; embryo development began at 240 DAP. The highest embryo rate, (90.55 ± 1.62)%, was observed at 360 DAP. Seed viability, determined by the TTC method, was most significant at 330 DAP, reaching (68.33 ± 3.06)%. After 330 DAP, with increasing time post-pollination, the seed coat became denser, and the staining rate decreased. (3) Considering the overall development of capsules and seeds, two rapid growth phases exist during capsule development (30–60 DAP and 240–270 DAP), during which capsule length and width increase significantly. The rapid development phase for seeds and embryos (240–270 DAP) coincides with the second rapid capsule growth phase. In conclusion, under artificial cultivation conditions, the optimal harvest time for *P. venustum* is 330 DAP. The dynamic analysis of capsule and seed development provides a theoretical foundation and technical support for germplasm conservation and artificial propagation of *P. venustum*.

Keywords: *Paphiopedilum venustum*, capsule age, capsule development, seed development, seed quality

兰科 (Orchidaceae) 是被子植物中物种最丰富的家族之一, 其物种数约占全球被子植物物种总数的 10% (罗毅波等, 2003)。兰科植物中, 兜兰属 (*Paphiopedilum*) 以其独特的花部结构 (周敏, 1997) 和高度的观赏价值 (邓钰焯等, 2025) 著称, 同时也因生境破坏与过度采挖而成为濒危保护的重点类群 (田怀珍等, 2005)。实现其高效人工繁殖, 尤其是厘清有性繁殖过程, 对物种保存至关重要 (刘靛等, 2025)。兜兰种子极其微小 (Verma et al., 2014)、缺乏胚乳 (Lee et al., 2008)、常规萌发困难 (胡佳等, 2024) (Bida rtondo et al., 2008), 其发育进程直接影响萌发潜力。然而, 目前对兜兰种子从授粉到成熟的连续发育时序、形态建成规律及活力动态变化缺乏系统认知, 这直接制约了蒴果采收时间判断与播种繁殖效率的提升。因此, 精准解析兜兰蒴果与种子的完整发育过程, 是优化其人工繁育技术的关键前提 (王雅珂, 2025)。

秀丽兜兰是兰科兜兰属 (*Paphiopedilum*) 的珍稀物种 (曾宋君等, 2020), 因其野生种群数量稀少, 被列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES) 附录I, 为国家一级野生保护植物。秀丽兜兰早在 1820 年就被发现, 其分布在尼泊尔东部至东北部, 孟加拉国、不丹等国家, 在中国主要分布于西藏自治区的墨脱县和定结县 (Sims, 1820), 作为典型的地生兰, 因其独特的花型和观赏价值而备受关注。栖息地丧失与破碎化、非法过度采挖以及共生真菌环境的破坏, 导致秀丽兜兰濒临灭绝。因此, 针对珍稀濒危兰科物种开展保护生物学研究, 已成为全球生物多样性保护工作的紧迫议题。目前, 关于秀丽兜兰的研究较少, 仅围绕在种子无菌萌发 (Kaur et al., 2016) 和叶绿体基因组研究 (范继征等, 2023)。鉴于其种子无菌萌发未明确阐述蒴果及种子材料的选取标准, 而种子发育状态决定着种子能否萌发以及萌发成苗质量, 因此准确掌握其蒴果及种子的发育动态至关重要。

本试验以秀丽兜兰的蒴果及种子为研究材料, 通过分析其蒴果生长发育过程、种子生

长发育形态特征、有胚率和活力状况，拟探讨以下问题：（1）秀丽兜兰蒴果的生长发育周期性变化；（2）秀丽兜兰种子的生长发育周期性变化及种子有胚率、染色率变化；（3）秀丽兜兰蒴果及种子生长发育相关性。本实验基于秀丽兜兰的观赏价值、育种潜力以及生存现状，为其种质资源保育和人工繁殖提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

秀丽兜兰健康植株引种保存在西藏自治区林芝市西藏兰科植物资源研究中心（海拔 2 997 m），于 2024 年 3 月—2026 年 1 月对秀丽兜兰居群花期进行观察记录并编号，开花后第 7 天以人工自交授粉的方式进行授粉，用 30~360 DAP（授粉后天数，days after pollination）秀丽兜兰未开裂的蒴果作为研究材料。对收集蒴果进行简单处理，包括保湿、密封、标记等步骤。带回实验室后将种子小心取出，立即进行种子分析实验。

1.2 方法

1.2.1 蒴果发育动态观测

30 DAP 至 360 DAP 的完整发育周期内，每隔 30 d 设置一个采样点，共计 12 个时间点。于每个时间点，跟踪观察编号植株，选取未开裂蒴果，对蒴果的色泽、质地、绒毛等微观形态进行系统观察与记录；对蒴果的长、宽进行重复测量；逐一称量蒴果并记录其鲜重（刘海平等，2020）。

1.2.2 种子发育动态观测

1.2.2.1 种子形态观测

90~360 DAP 关键发育时期内，设置了每 30 d 一次的固定采样点，共计 10 个时间点。于每个时间点，解剖健康无病虫害的蒴果，将种子制成悬浊液滴加于载玻片上，置于显微镜下观察，采集至少 3 张不同视野的图像。最后将清晰种子的图像导入 ImageJ（Fiji）图像分析软件，通过设定统一的灰度阈值和标尺，手动勾勒每粒种子的长轴、短轴，基于椭圆体模型估算体积数据（何明高，2010）。

1.2.2.2 有胚率检测

从授粉后有明显种胚分化的发育阶段开始，每隔 30 d 设置一个采样点，共计 5 个时间点。于每个时间点，解剖健康无病虫害的蒴果。从蒴果中随机挑取约 100 粒种子，在体视显微镜下，对每份样本进行全视野扫描，依据“胚体呈显著黑色圆点状”的形态学标准（王苗苗等，2025），统计有胚种子与无胚种子数量，并据此计算单蒴果的种子有胚率。为保障统计有效性，我们设定只有当随机视野内的可计数种子总数大于 50 粒时，该次重复的数据方被采纳；每个时间点均完成 6 个独立的重复。进而，从每个有效重复中随机截取 30 粒有胚种子的高清图像，导入 ImageJ 软件，通过设定统一的颜色阈值和标尺，手动精确勾勒种胚轮廓，批量测量其长、宽，并基于旋转椭圆体模型计算其体积。

1.2.2.3 种子活力测定

从授粉后有种胚分化的发育阶段开始，每 30 d 设置一个采样点，分别从各节点的混合蒴果样本中，使用精密分析天平（精度 0.01 mg）精确称取 6 份独立的种子样品（每份 2.00 ± 0.02 mg）。随后将每份种子样品完全浸没于新配制的 1% 2,3,5-三苯基氯化四氮唑（TTC）溶液（pH 7.0 磷酸缓冲液配制）中（边子星等，2017），并于 30.0℃ 的培养箱中进行全程避光染色，反应持续 48 h。染色结束后，吸取 0.1 mL 已均匀的种子悬浮液，置于载玻片上，盖上盖玻片形成标准观察区域。在光学显微镜下随意选取 3 个视野进行全视野扫描并拍摄高清图像。根据“胚组织被染成鲜明红色”的形态学标准，独立计数每个视野中的种子总数与胚被染红的种子数，并据此计算 TTC 染色率。

| | capsule length (mm) | capsule length (mm) | length (mm) | (%) | capsule width (mm) | capsule width (mm) | width (mm) | variation (%) | width ratio |
|-----|---------------------|---------------------|---------------|-------|--------------------|--------------------|----------------|---------------|----------------|
| 30 | 40.98 | 29.17 | 33.99 ± 3.98a | 11.70 | 6.47 | 3.24 | 5.09 ± 0.98c | 19.29 | 5.61 ± 0.50a |
| 60 | 41.84 | 30.12 | 34.96 ± 3.33a | 9.51 | 7.03 | 3.27 | 5.21 ± 1.04bc | 19.93 | 5.17 ± 0.16b |
| 90 | 41.93 | 30.56 | 36.36 ± 4.00a | 11.00 | 7.36 | 3.49 | 5.46 ± 1.01abc | 18.46 | 5.24 ± 0.16b |
| 120 | 42.09 | 31.84 | 36.44 ± 3.32a | 9.12 | 7.39 | 3.55 | 5.59 ± 0.97abc | 17.28 | 5.02 ± 0.06bc |
| 150 | 42.11 | 32.12 | 36.48 ± 2.96a | 8.12 | 7.41 | 4.47 | 5.61 ± 0.83abc | 14.80 | 4.95 ± 0.09bcd |
| 180 | 42.17 | 32.81 | 36.91 ± 3.14a | 8.51 | 7.48 | 3.81 | 5.71 ± 1.16abc | 20.31 | 4.84 ± 0.06cde |
| 210 | 42.21 | 32.93 | 37.12 ± 3.70a | 9.96 | 7.51 | 3.98 | 5.95 ± 0.96abc | 16.13 | 4.83 ± 0.04cde |
| 240 | 42.23 | 32.83 | 37.14 ± 3.75a | 10.10 | 7.54 | 4.03 | 5.96 ± 1.03abc | 17.22 | 4.79 ± 0.04cde |
| 270 | 42.24 | 32.88 | 37.28 ± 3.44a | 9.24 | 7.58 | 4.14 | 6.02 ± 0.95abc | 15.71 | 4.76 ± 0.02cde |
| 300 | 42.51 | 32.94 | 37.30 ± 3.61a | 9.67 | 7.32 | 4.16 | 6.05 ± 0.88abc | 14.49 | 4.70 ± 0.09de |
| 330 | 42.53 | 32.97 | 37.31 ± 3.54a | 9.50 | 7.78 | 4.39 | 6.23 ± 0.91ab | 14.54 | 4.60 ± 0.04e |
| 360 | 42.56 | 33.03 | 37.60 ± 3.47a | 9.24 | 7.96 | 4.78 | 6.28 ± 1.01a | 16.02 | 4.58 ± 0.09e |

注：小写字母表示各发育期有显著性 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Lowercase letters indicate significant differences among developmental stages ($P < 0.05$). The same below.

2.1.3 蒴果鲜重动态生长

不同果龄蒴果鲜重个体差异较大，蒴果鲜重的变异系数为 9.85%~21.13%，360 DAP 时蒴果鲜重显著高于其他组（表 2），为(0.63 ± 0.07) g，蒴果表面青绿顶端微棕，饱满坚硬。

表 2 蒴果鲜重特征

Table 2 Characteristics of capsule fresh weight

| 授粉后天数 DAP | 蒴果鲜重最大值 Maximum capsule fresh weight (g) | 蒴果鲜重最小值 Minimum capsule fresh weight (g) | 蒴果鲜重 Capsule fresh weight (g) | 变异系数 Coefficient of variation (%) | 蒴果颜色及状态 Capsule color and condition |
|-----------|--|--|-------------------------------|-----------------------------------|--|
| 30 | 0.57 | 0.32 | 0.42 ± 0.09e | 21.13 | 深紫色，干瘪瘦长，软 Deep purple, shriveled and elongated, soft |

| | | | | | |
|-----|------|------|--------------------|-------|---|
| 60 | 0.59 | 0.35 | 0.48 ± 0.07de | 15.19 | 深紫色，干瘪瘦长，软 Deep purple, shriveled and elongated, soft |
| 90 | 0.61 | 0.37 | 0.50 ± 0.08cd | 16.40 | 深紫色，瘦长形，软 Deep purple, elongated, soft |
| 120 | 0.64 | 0.38 | 0.51 ± 0.09cd | 18.17 | 深紫色，较干瘪，软 Deep purple, somewhat shriveled, soft |
| 150 | 0.64 | 0.39 | 0.51 ± 0.08cd | 15.89 | 紫红色，较干瘪，软 Purplish-red, somewhat shriveled, soft |
| 180 | 0.65 | 0.39 | 0.52 ± 0.09bcd | 16.43 | 紫红色，较饱满，较软 Purplish-red, relatively plump, relatively soft |
| 210 | 0.65 | 0.41 | 0.53 ± 0.08bcd | 15.28 | 紫色偏绿，较饱满，较 软 Purplish-green, relatively plump, relatively soft |
| 240 | 0.66 | 0.42 | 0.54 ± 0.08bcd | 14.20 | 紫色偏绿，较饱满，较 软 Purplish-green, relatively plump, relatively soft |
| 270 | 0.67 | 0.47 | 0.56 ± 0.07abcd | 12.34 | 紫色偏绿，饱满，较坚 硬 Purplish-green, plump, relatively firm |
| 300 | 0.67 | 0.49 | 0.57 ± 0.06abc | 9.85 | 青绿色，饱满，较坚硬 Cyan-green, plump, relatively firm |
| 330 | 0.72 | 0.49 | 0.59 ± 0.08ab | 12.89 | 总体青绿色，饱满坚硬 Overall cyan-green, plump and firm |
| 360 | 0.73 | 0.53 | 0.63 ± 0.07a | 10.74 | 青绿顶端微棕，饱满坚 硬 Cyan-green with brownish tip, plump and firm. |

在其蒴果生长发育中，30~60 DAP 及 240~270 DAP 为快速发育期，蒴果长宽的增量出现显著增长（图 2），60 DAP 时蒴果鲜重增量较上一阶段也有较大幅度增长，此阶段种子正在迅速增加，240~270 DAP 蒴果达到第二次快速发育期，蒴果鲜重有较大幅度增大，蒴果鲜重增幅也提高。

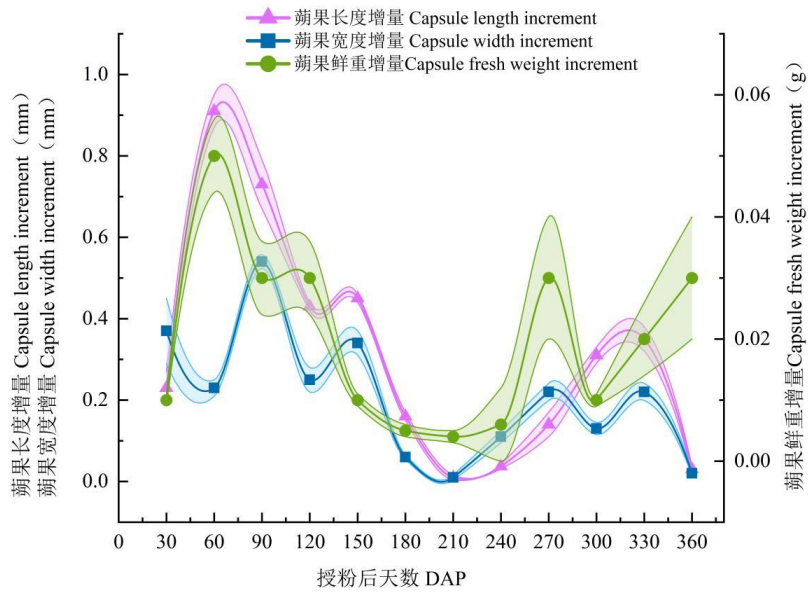


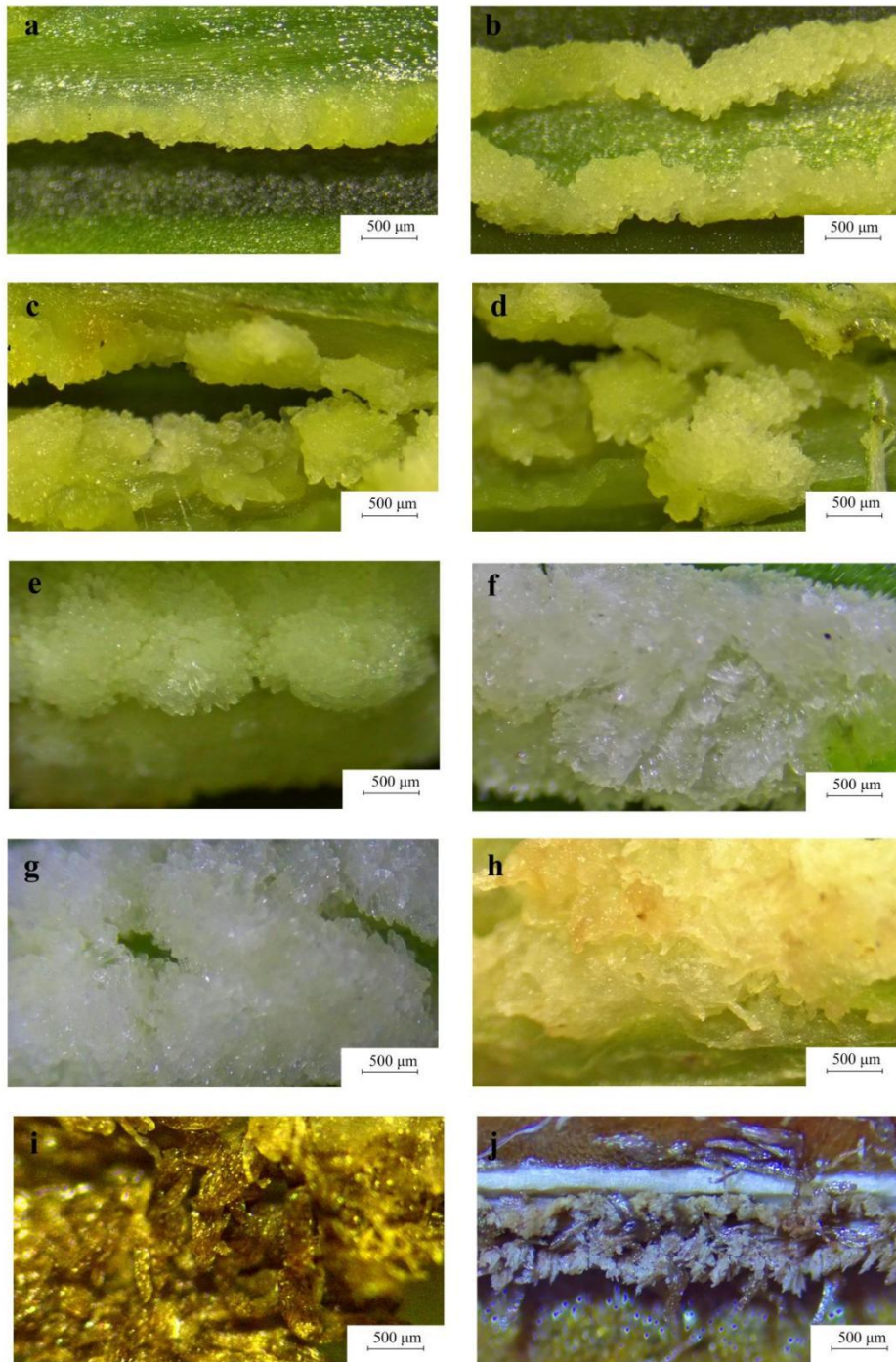
图 2 授粉后蒴果的生长发育变化

Fig. 2 Growth and developmental changes of capsules after pollination

2.2 种子生长动态特征

2.2.1 种子生长过程

90 DAP 时蒴果内部空隙较大，种子未充满果荚，个体分化不明显，种子为透明色至白色黏状，紧密贴生在胎座等组织上（图 3: a），120 DAP 时蒴果已迅速增加，密集着生于胎座上（图 3: b），210 DAP 时种子开始分化，小部分有清晰的轮廓（图 3: e），240 DAP 时种子充满整个蒴果，种胚开始发育，种子分化清晰（图 3: g），小部分种子可以脱离胎座组织呈白色粉末状，330 DAP 时，种子呈白色淡黄色粉末混合状轻轻拨动可落下（图 3: i），360 DAP 时，种子呈黄色粉末状，开散、干燥，已具有成熟的标志，种皮质密，发育速率降低（图 3: j）。

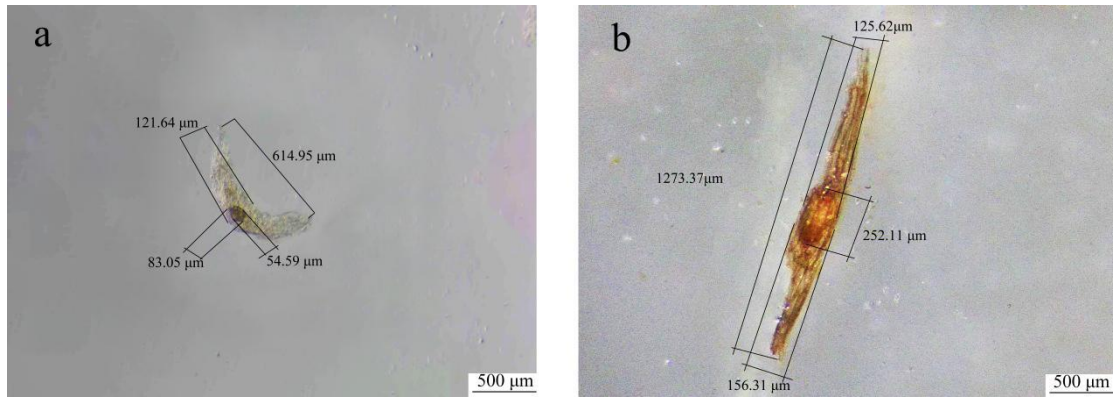


a. 90 DAP; b. 120 DAP; c. 150 DAP; d. 180 DAP; e. 210 DAP; f. 240 DAP; g. 270 DAP; h. 300 DAP; i. 330 DAP; j. 360 DAP。

图 3 90 DAP 至 360 DAP 种子形成过程

Fig. 3 Seed formation process from 90 DAP to 360 DAP

秀丽兜兰种子呈纺锤形，两端渐尖，种皮透明由单层排列整齐、木质化增厚的表皮细胞构成，种子无胚乳，胚呈椭圆形位于种子中央。270 DAP（图 4: a）和 360 DAP（图 4: b）种子大小差异明显。



a. 270 DAP 种子大小; b. 360 DAP 种子大小。

a. The seed size at 270 DAP; b. The seed size at 360 DAP.

图 4 270 DAP 和 360 DAP 的种子大小

Fig. 4 Seed size at 270 DAP and 360 DAP

由表 3 可知, 360 DAP 时种子长度和种子宽度皆显著高于其他组合, 发育过程中种子长宽比逐渐缩小, 种子逐渐饱满。种子体积在 360 DAP 时显著高于其他组合, 达到 $3\ 037 \pm 282.80 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$ 。

表 3 种子长宽分析

Table 3 Analysis of seed length and width dimensions

| 授粉后 天数 DAP | 种子长度 Seed length (μm) | 种子宽度 Seed width (μm) | 种子长宽比 Seed length to width ratio | 种子体积 Seed volume ($\times 10^{-4} \text{ mm}^3$) |
|------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|--|---|
| 210 | $198.69 \pm 10.39\text{f}$ | $30.50 \pm 0.79\text{f}$ | $6.52 \pm 0.25\text{a}$ | $4.85 \pm 0.48\text{d}$ |
| 240 | $330.67 \pm 15.61\text{e}$ | $53.80 \pm 3.64\text{e}$ | $6.16 \pm 0.38\text{a}$ | $25.02 \pm 4.15\text{d}$ |
| 270 | $627.86 \pm 19.55\text{d}$ | $105.07 \pm 5.50\text{d}$ | $5.99 \pm 0.13\text{a}$ | $181.83 \pm 25.27\text{d}$ |
| 300 | $924.60 \pm 49.02\text{c}$ | $211.46 \pm 5.71\text{c}$ | $4.46 \pm 0.14\text{b}$ | $1\ 102.67 \pm 113.78\text{c}$ |
| 330 | $1\ 175.32 \pm 90.87\text{b}$ | $254.51 \pm 19.00\text{b}$ | $4.64 \pm 0.52\text{b}$ | $1\ 999 \pm 312.07\text{b}$ |
| 360 | $1\ 324.31 \pm 63.29\text{a}$ | $296.02 \pm 7.63\text{a}$ | $4.48 \pm 0.14\text{b}$ | $3\ 037 \pm 282.80\text{a}$ |

2.2.2 种胚生长分析

不同授粉后发育天数的蒴果之间有胚率差异显著 (表 4), 240 DAP 之前的种子过于幼嫩, 器官尚未发育完全。240 DAP 的小部分种子种胚开始出现, 270~330 DAP 种胚逐渐增加。成熟度较高的蒴果 (330 DAP) 有胚率显著高于未完全成熟蒴果 (240 DAP), 360 DAP 时有胚率最为显著, 为 $(90.55 \pm 1.62)\%$ 。

表 4 210 DAP 至 360 DAP 的秀丽兜兰种子有胚率分析

Table 4 Temporal analysis of embryo-bearing rates in *Paphiopedilum venustum* seeds from 210 DAP to 360 DAP

| 授粉后 天数 DAP | 种胚长度 Embryo length (μm) | 种胚宽度 Embryo width (μm) | 种胚长宽比 Embryo length to width ratio | 胚体积 Embryo volume ($\times 10^{-4}$ mm^3) | 有胚率 Embryo rate (%) |
|------------------|--|--|--|--|--------------------------|
| 240 | $80.36 \pm 0.94\text{d}$ | $48.47 \pm 0.74\text{e}$ | $1.65 \pm 0.04\text{d}$ | $1.64 \pm 0.03\text{d}$ | $37.74 \pm 4.52\text{d}$ |
| 270 | $93.18 \pm 2.99\text{c}$ | $59.6 \pm 0.58\text{d}$ | $1.57 \pm 0.04\text{e}$ | $2.71 \pm 0.20\text{d}$ | $44.38 \pm 3.93\text{c}$ |
| 300 | $303.47 \pm 5.78\text{b}$ | $99.35 \pm 1.72\text{c}$ | $3.02 \pm 0.04\text{a}$ | $15.32 \pm 1.07\text{c}$ | $67.5 \pm 4.05\text{b}$ |

| | | | | | |
|-----|----------------|----------------|--------------|---------------|---------------|
| 330 | 317.25 ± 2.29a | 113.48 ± 2.30b | 2.80 ± 0.05b | 24.09 ± 0.78b | 87.52 ± 1.67a |
| 360 | 320.85 ± 2.10a | 124.77 ± 3.09a | 2.57 ± 0.06c | 27.15 ± 0.76a | 90.55 ± 1.62a |

210 DAP 时种子开始分化清晰，240 DAP 种胚开始分化，240~270 DAP 时种子和种胚迎来快速发育期，种子体积和种胚体积显著增长（图 5）。

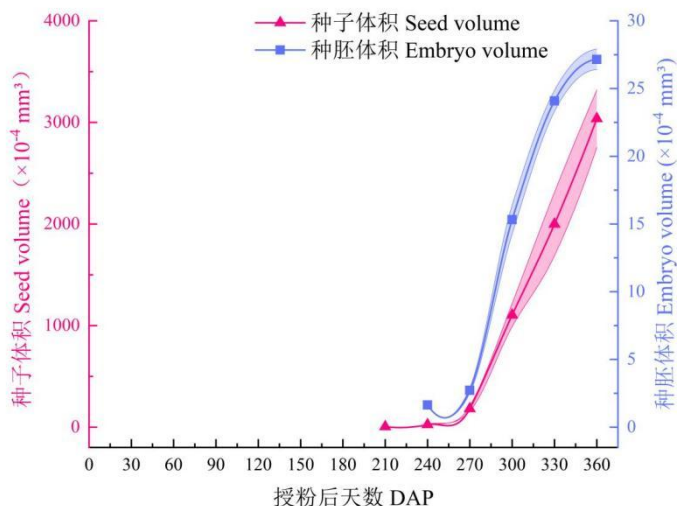


图 5 种子及种胚发育动态

Fig. 5 Seed and embryo developmental dynamics

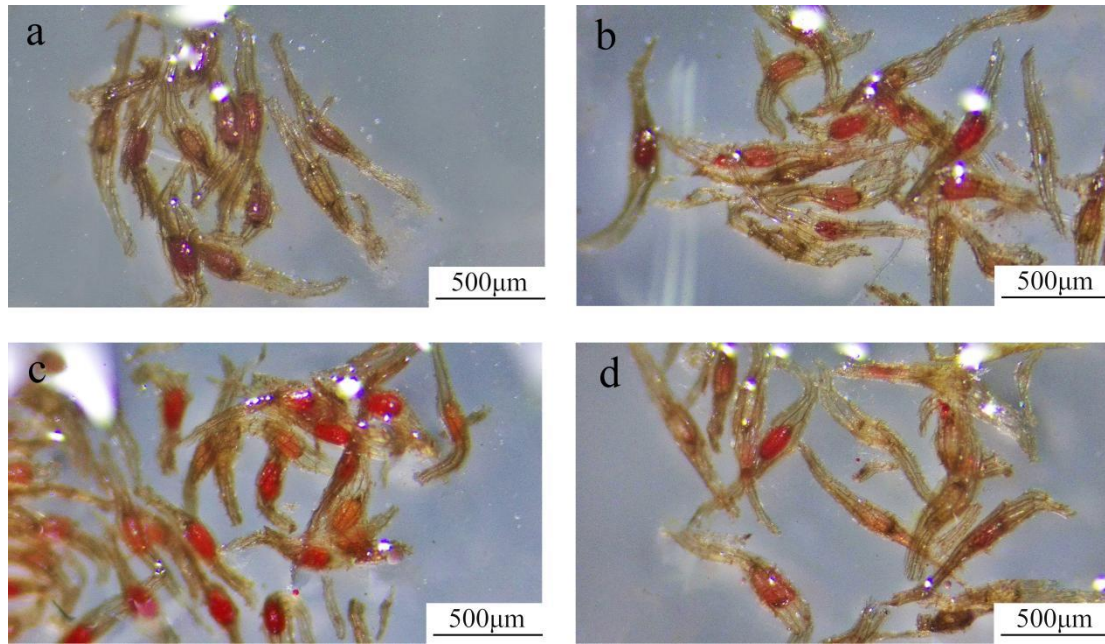
2.2.3 种子活力测定

成熟度为 240 DAP 之前的种子未成熟且过于幼嫩，种胚未发育完全。240 DAP 时，种子成熟度升高，种胚细小，极少部分种子能被染色，270 DAP 的少数种子能被 TTC 染成较淡的红色（图 6: a），活力不高，染色率为 $(42.33 \pm 3.06)\%$ （表 5）。300~330 DAP 大部分种子都具有活力，能被染上深红色，颜色深浅略有不同（图 6: b、c），染色率分别为 $(56 \pm 4.58)\%$ 和 $(68.33 \pm 3.06)\%$ 。360 DAP 时，种子种皮呈深褐色，种皮质密，小部分能被染上红色（图 6: d），染色率为 $(45.67 \pm 3.06)\%$ 。

表 5 240 DAP 至 360 DAP 种子染色情况

Table 5 Staining results of seeds from 240 DAP to 360 DAP

| 授粉后天数 DAP | 染色率 Staining rate (%) | 种子状况 Seed condition |
|--------------|--------------------------|---|
| 240 | $26.33 \pm 3.06d$ | 种皮透明至白色，种胚细小，被染为淡粉色 Seed coat transparent to white, embryo small, stained light pink |
| 270 | $42.33 \pm 3.06c$ | 种皮淡黄色，种胚被染为淡红色 Seed coat light yellow, embryo stained light red |
| 300 | $56.00 \pm 4.58b$ | 种皮黄色至淡褐色，大部分种胚被染为红色 Seed coat yellow to light brown, most embryos stained red |
| 330 | $68.33 \pm 3.06a$ | 种皮淡褐色，大部分种胚被染为较深红色 Seed coat light brown, most embryos stained a darker red |
| 360 | $45.67 \pm 3.06c$ | 种皮褐色，大部分种胚被染为红色 Seed coat brown, most embryos stained red |



a. 270 DAP 种子染色情况； b. 300 DAP 种子染色情况； c. 330 DAP 种子染色情况； d. 360 DAP 种子染色情况。

a. The staining results of seeds at 270 DAP; b. The staining results of seeds at 300 DAP; c. The staining results of seeds at 330 DAP; d. The staining results of seeds at 360 DAP.

图 6 270 DAP 至 360 DAP 种子染色情况

Fig. 6 Staining results of seeds from 270 DAP to 360 DAP

2.3 DAP 与蒴果及种子生长相关性

采用 Pearson 相关系数对秀丽兜兰授粉后天数 (DAP) 与蒴果及种子发育进行相关性分析。结果 (图 7) 表明, DAP 与蒴果及种子发育之间相关性较强。整体而言, 种子体积、种胚体积、有胚率、染色率在 180~210 DAP 及以后呈现极强的正相关性, 相关系数多在 0.9 以上, 210~240 DAP 中种胚体积与有胚率相关系数 0.991、与染色率 0.991, 说明这些指标在果实发育后期协同变化的一致性很高。蒴果相关指标 (长度、宽度、鲜重) 与种子相关指标的相关性存在明显的发育阶段差异, 在 180~210 DAP 之前相关性较弱甚至无, 而 210~240 DAP 及以后蒴果鲜重与种子体积等开始呈现较高正相关, 如 210~240 DAP 蒴果鲜重与种子体积相关系数 0.973, 反映出蒴果发育与种子发育在后期的关联逐渐增强。此外, 存在少数负相关情况, 如 270~300 DAP 蒴果宽度与其他部分指标 (-0.368)、330~360 DAP 染色率与部分指标 (-0.434), 但整体正相关是主导趋势, 且不同发育阶段的相关性差异清晰体现了果实和种子发育过程中各指标关联的时序性和阶段性特征。

就蒴果及种子整体发育而言, 秀丽兜兰的蒴果发育过程中存在两个快速发育期, 30~60 DAP 和 240~270 DAP, 在这两个快速发育期蒴果的长度、宽度都显著提升, 种子发育, 鲜重积累, 随着发育周期提升, 蒴果长宽比减小, 果型更加饱满, 蒴果颜色也由紫红色转为青绿色。秀丽兜兰的种子和种胚快速发育期为 240~270 DAP, 这与第二次蒴果快速发育期吻合, 210 DAP 时种子开始分化, 240 DAP 种胚开始发育, 300 DAP 时种子长宽比显著缩小, 种子更加饱满, 有胚率随着发育周期的增加而增加, 染色率在 330 DAP 时到达最大值, 360 DAP 时, 种皮质密, 染色率下降。这表明秀丽兜兰在种子的无菌萌发中, 应优先选择 330 DAP 的蒴果, 此时蒴果鲜重 (0.59 ± 0.08) g, 长度为 (37.31 ± 3.54) mm, 宽度为 (6.23 ± 0.91) mm, 长宽比为 4.60 ± 0.04 。若蒴果成熟度高于 330 DAP 应对种子进行

预处理，打破休眠，从而达到萌发的效果。本研究阐述 0~360 DAP 蒴果及种子的动态发育情况，为后续种子的无菌萌发提供了依据，为秀丽兜兰的保育与利用提供参考。

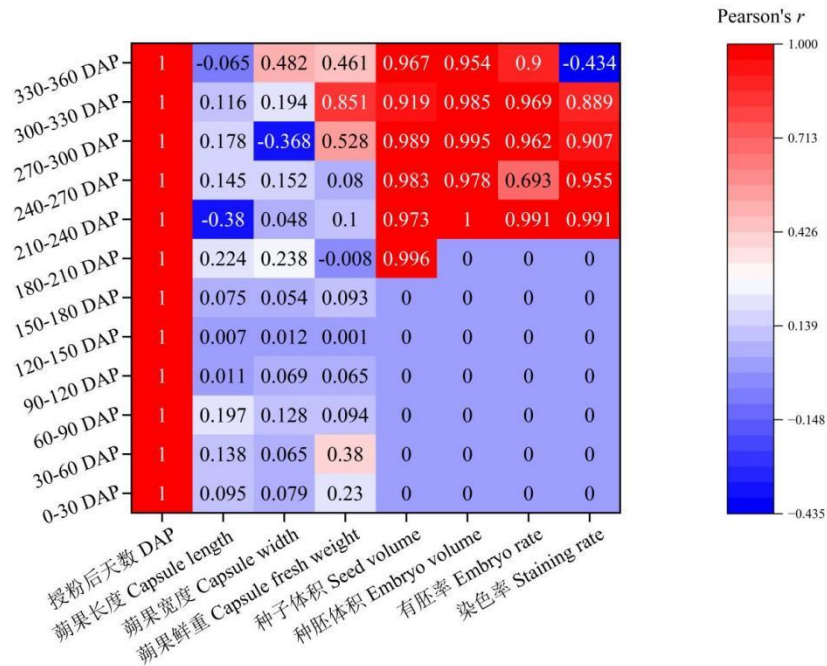


图 7 DAP 与蒴果及种子发育动态之间的相关性

Fig. 7 Correlation between DAP and the developmental dynamics of capsules and seeds

3 讨论

3.1 蒴果生长动态分析

兰科植物果实发育存在关键生长期及成熟指标。本研究在人工栽培条件下，发现秀丽兜兰蒴果发育存在两个快速发育期 30~60 DAP 和 240~270 DAP，在这两个时期蒴果长宽、质量、种子长宽等都有显著变化。刘岩等（2016）研究发现 60 DAP 时小叶兜兰（*Paphiopedilum barbigerrum*）蒴果体积迅速增大，较 30 DAP 有显著变化。张晓莹等（2025）发现春剑（*Cymbidium tortisepalum*）的果实发育存在一个快速生长期和一个缓慢生长期，授粉后 6~14 周是果实发育的快速生长期，授粉后 10~14 周是胚珠发育的快速生长期。刘鑫（2020）研究中春剑的果实发育呈“双 S”曲线，0~40 DAP 为第一次迅速生长期，40~50 DAP 为第一次缓慢生长期，50~80 DAP 为第二次迅速生长期，80~150 DAP 为第二次缓慢生长期。在兰科植物中，果实发育程度确保了内部种子的成熟度。林立等（2019）研究发现白及（*Bletilla striata*）蒴果外观形态与重量与种子的有胚率和萌发率有明显联系，白及蒴果进行分级以后，等级越高的白及蒴果种子有胚率和萌发率越高。观察蒴果的外观变化是判断其发育阶段和内部种子成熟度的最实用方法，对研究和人工繁殖具有核心指导意义。

3.2 种子发育生长动态分析

在种子生物学领域，研究种子形态的多样性具有不可替代的重要性，其成果为种子标本的收集和鉴别奠定了科学基础。何明高（2010）分析了 15 种兰科植物的种子形态。不同属或种间，其种子在颜色、形状及大小上存在差异。兰科植物种子在发育过程中具有特殊的变化，如布袋兰（*Calypso bulbosa*），未成熟种子的长度是成熟种子的一半，但宽度是一样的（Healey et al., 1980）。本研究定量揭示了秀丽兜兰种子在发育过程中宽度增加速率

超过长度，导致长宽比持续下降，最终形成典型的纺锤形。结合覃艳芬等（2012）的数据，秀丽兜兰的最终种子大小处于兜兰属内常见范围。这种纺锤形态与内部发达的气腔结构（张毓等，2010），共同构成了适应风媒传播的优化设计，最大限度地扩展了其扩散潜力。然而，其种子发育周期显著长于部分报道的兜兰种类，如卷萼兜兰（*Paphiopedilum appletonianum*）150 DAP、德氏兜兰（*Paphiopedilum delenatii*）150 DAP（Lee et al., 2007），这可能与其胚胎发育启动较晚有关。秀丽兜兰的胚胎经历了更长的缓慢发育与物质积累阶段，这种“慢速”发育策略在兜兰属植物中并不罕见，如小叶兜兰 330 DAP（尤佳妍，2014），这可能意味着其胚胎在成熟时具备了更高的生理完整性或物质储备，但同时也延长了母株的资源投入时间，增加了繁殖风险，这或许是其在野外濒危的潜在内因之一。

种子活力是遗传基础与外界环境共同作用的结果，品种间的差异是显著的。本研究结果表明，在人工自交授粉条件下，秀丽兜兰种子的有胚率最高为 90.55%。该数值反映了本研究特定条件下的实验结果。尤佳妍等（2014）在研究中发现 240 DAP 以后，小叶兜兰有胚率保持在 95%左右，部分种子可被染色，染色率在 90%左右，各发育阶段种子染色率之间差异不明显。覃艳芬等（2012）研究发现在 6 个月果龄时，16 个兜兰组合的有胚种子百分率均在 70%以上。张娟娟等（2013）研究发现 3 种兜兰种子成熟后期木质素类物质的积累，导致种子透水性下降，这可能与秀丽兜兰染色率下降原理相同，有研究表明，种皮木质化可能与保护胚珠和胚胎有关（Ortunez et al., 2025）。了解特定品种的种子活力特性和最佳采收、储存条件，对于兜兰的引种栽培、杂交育种，尤其是通过无菌播种进行快速繁殖和物种保育具有极其重要的实践意义。

参考文献:

- BIAN Z X, YAN C Y, YAO X J, et al., 2017. Determination of seed viability in endangered orchid of *Dendrobium sinense* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 38(3): 403-407. [边子星, 颜彩燕, 姚肖健, 等, 2017. 濒危华石斛种子活力测定方法研究 [J]. 热带作物学报, 38(3): 403-407.]
- BIDARTONDO M I, READ D J, 2008. Fungal specificity bottlenecks during orchid germination and development [J]. Molecular Ecology, 17. 16: 3707-3716.
- CHEN J, 2019. Seed biology of 72 wild orchid species in Fujian Province and molecular identification of *Dendrobium loui* [D]. Fuzhou: Fujian Normal University. [陈洁, 2019. 福建 72 种野生兰科植物种子生物学及罗氏石斛的分子鉴定 [D]. 福州: 福建师范大学.]
- DENG Y Y, XIANG Z, YANG S F, et al., 2025. Advances in the breeding and landscape applications of rare medicinal and ornamental plants *Cremastra appendiculata* (D. Don) Makino [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 53(16): 7-11. [邓钰焯, 向正, 杨胜妃, 等, 2025. 珍稀药用观赏植物杜鹃兰繁育与园林应用研究进展 [J]. 安徽农业科学, 53(16): 7-11.]
- FAN J Z, LI X L, LI M Z, et al., 2023. Genomic characteristics and phylogenetic analysis of chloroplast of the endangered plant *Paphiopedilum venustum* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 44(6): 1097-1105. [范继征, 李秀玲, 李明智, 等, 2023. 濒危植物秀丽兜兰叶绿体基因组特征与系统发育分析 [J]. 热带作物学报, 44(6): 1097-1105.]
- HE M G, 2010. Preliminary study on seed biology of Orchidaceae in Hainan [D]. Haikou: Hainan University. [何明高, 2010. 海南兰科植物种子生物学初步研究[D]. 海口: 海南大学.]
- HEALEY P L, MICHAUD J D, ARDITTI J, 1980. Morphometry of orchid seeds. III. Native California and related species of *Goodyera*, *Piperia*, *Platanthera* and *Spiranthes* [J]. American Journal of Botany, 67(4): 508-518.

- HU J, JIANG J L, CHENG W N, et al., 2024. Pollination biology and breeding system of endangered plant *Petrocosmea qinlingensis* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 44(19): 8595–8604. [胡佳, 蒋景龙, 程文娜, 等, 2024. 濒危植物秦岭石蝴蝶传粉生物学与繁育系统研究 [J]. *生态学报*, 44(19): 8595–8604.]
- KAUR S, BHUTANI K K, 2016. Asymbiotic seed germination and multiplication of an endangered orchid – *Paphiopedilum venustum* (Wall. ex Sims.) [J]. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 85 (2).
- KONG D M, TANG F X, CHI K B, et al., 2025. Seed morphology and ecological adaptation of Orchidaceae plants [J]. *Forest Science and Technology* (10): 1-6. [孔德敏, 唐凤霞, 迟宽波, 等, 2025. 兰科植物种子形态与生态适应 [J]. *林业科技通讯*(10): 1-6.]
- LEE Y I, YEUNG E C, LEE N, et al., 2007. Embryo development in the lady's slipper orchid, *Paphiopedilum delenatii*, with emphasis on the ultrastructure of the suspensor [J]. *Annals of Botany*, 97(1): 1-9.
- LEE Y I, YEUNG E C, LEE N, et al., 2008. Embryology of *Phalaenopsis amabilis* var. *formosa*: embryo development [J]. *Botanical Studies*, 49: 139-146.
- LIN L, NIE X Y, LU C Y, et al., 2019. Correlation between capsule form and seed quality of *Bletilla striata* [J]. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 38(2): 80-83. [林立, 聂鲜钰, 陆春云, 等, 2019. 白及蒴果长宽重与种子质量相关性研究 [J]. *山地农业生物学报*, 38(2): 80–83.]
- LIU H P, CHEN X P, LI J, et al., 2020. Seed characteristics and aseptic seeding of *Calanthe striata* [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 49(1): 29-34. [刘海平, 陈秀萍, 李珺, 等, 2020. 大黄花虾脊兰种子特性及无菌播种 [J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 49(1): 29–34.]
- LIU L, ZHUANG W D, CHEN P P, et al., 2025. Non-symbiotic germination of hybrid seeds of *Dendrobium nobile* [J]. *Subtropical Plant Science*, 54(1): 37–44. [刘靓, 庄卫东, 陈晶晶, 等, 2025. 春石斛杂交种子非共生萌发研究 [J]. *亚热带植物科学*, 54(1): 37–44.]
- LIU X, 2020. Study on embryo development and non-symbiotic germination of *Cymbidium tortisepalum* var. *longibracteatum* [D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology. [刘鑫, 2020. 春剑种子胚胎发育及非共生萌发研究 [D]. 绵阳: 西南科技大学.]
- LIU Y, QI J, WU J G, et al., 2016. Fruit growth and female gametophyte development in *Paphiopedilum barbigerum* Tang et Wang [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 24(1): 14-20. [刘岩, 齐霁, 吴记贵, 等, 2016. 小叶兜兰的果实生长和雌配子体发育 [J]. *热带亚热带植物学报*, 24(1): 14–20.]
- LUO Y B, JIA J S, WANG C L, et al., 2003. A general review of the conservation status of Chinese orchids [J]. *Biodiversity Science*, 11(1): 70-77. [罗毅波, 贾建生, 王春玲, 等, 2003. 中国兰科植物保育的现状和展望 [J]. *生物多样性*, 11(1): 70-77.]
- ORTÚÑEZ E, PÉREZ-GUILLÉN A, GAMARRA R, 2025. Characterization of fruit and seed development in the genera *Anacamptis* and *Serapias* (Orchidaceae) [J]. *Plants*, 14: 1229.
- QIN Y F, ZHU G F, PENG Y H, et al., 2012. Studies on seed embryo growth of self- and cross-hybridization of 4 *Paphiopedilum* species [C]. Guangzhou: 2012 Annual Conference of the Ornamental Horticulture Committee, Chinese Society for Horticultural Science. [覃艳芬, 朱根发, 彭永宏, 等, 2012. 4个兜兰属植物自交与杂交种胚的发育研究 [C]. 广州: 中国园艺学会观赏园艺专业委员会 2012 年学术年会.]

- SIMS J, 1820. *Cypripedium venustum* [J]. Curtis's Botanical Magazine, 47: 2113.
- TIAN H Z, YI Q F, XING F W, et al., 2005. The conservation status of orchids in Macao [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 44(Sup.): 247-250. [田怀珍, 易绮斐, 邢福武, 等, 2005. 澳门兰科植物现状及其保育 [J]. 中山大学学报(自然科学版), 44(增刊): 247-250.]
- VERMA J, SHARMA K, THAKUR K, et al., 2014. Study on seed morphometry of some threatened Western Himalayan orchids [J]. Turkish Journal of Botany, 38(2): 234-251.
- WANG M M, QIN J Z, GUO J Q, et al., 2025. Studies on flowering characteristics and breeding system of *Dendrobium moschatum* [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 37(1): 103-114. [王苗苗, 秦嘉泽, 郭佳琪, 等, 2025. 杓唇石斛开花特性与繁育系统研究 [J]. 浙江农业学报, 37(1): 103-114.]
- WANG Y K, 2025. Researches on seedling propagation and polyploid induction of *Bulbophyllum tianguii* [D]. Guilin: Guilin University of Technology. [王雅珂, 2025. 天贵卷瓣兰种苗繁育及多倍体诱导研究 [D]. 桂林: 桂林理工大学.]
- YOU J Y, 2014. Studies on the seed development and asymbiotic germination of *Paphiopedilum* [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [尤佳妍, 2014. 几种兜兰的种胚发育及无菌萌发研究 [D]. 北京: 北京林业大学.]
- YOU J Y, ZHANG Y, LIU Y, et al., 2014. Seed development and asymbiotic germination of *Paphiopedilum barbigerum* Tang et Wang [J]. Plant Physiology Journal, 50(3): 275-282. [尤佳妍, 张毓, 刘岩, 等, 2014. 小叶兜兰的种子发育和无菌萌发 [J]. 植物生理学报, 50(3): 275-282.]
- ZENG S J, GUO B Y, KONG X P, et al. 2020. Advances in Propagation *in vitro* of *Paphiopedilum*. Chinese Journal of Tropical Crops, 41(10): 2080-2089. [曾宋君, 郭贝怡, 孔鑫平, 等, 2020. 兜兰离体快繁技术研究进展 [J]. 热带作物学报, 41(10): 2080-2089.]
- ZHANG J J, YAN N, HU H, 2013. The seed development of three *Paphiopedilum* species in relation to asymbiotic germination [J]. Plant Diversity, 35(1): 33-40. [张娟娟, 严宁, 胡虹, 2013. 三种兜兰属植物种子发育过程及其与无菌萌发的关系 [J]. 植物分类与资源学报, 35(1): 33-40.]
- ZHANG X Y, ZHAO F K, RUAN R X, et al., 2025. Development and growth dynamics of fruit and ovules in *Cymbidium tortisepalum* var. *Longibracteatum* [J/OL]. Molecular Plant Breeding: 1-7[2026-03-17]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231116.1506.014>. [张晓莹, 赵福康, 阮若昕, 等, 2025. 春剑果实和胚珠发育及其生长动态的探究 [J/OL]. 分子植物育种: 1-7[2026-03-17]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231116.1506.014>.]
- ZHANG Y, ZHANG Q X, ZHAN S W, et al., 2010. Embryo and integument development of endangered species *Cypripedium macranthos* SW. [J]. Acta Horticulturae Sinica, 37(1): 72-76. [张毓, 张启翔, 赵世伟, 等, 2010. 濒危植物大花杓兰胚与珠被发育的研究 [J]. 园艺学报, 37(1): 72-76.]
- ZHOU M, 1997. Present status and protective countermeasures of the germplasm resources of orchid-family plants in Fujian Province [J]. Journal of Fujian Forestry Science and Technology(2): 100-104. [周敏, 1997. 福建省兰科植物种质资源的现状及保护对策 [J]. 福建林业科技(2): 100-104.]