

## 在无菌条件下，激素和种子处理对兰属十种植物种子萌发的影响

段金玉 谢亚红\*

(中国科学院昆明植物研究所)

### 摘 要

研究了 NAA 和 BA 的配合使用以及种子处理对十种兰属植物种子萌发的影响。找到了使难萌发的地生兰种子较快萌发的方法，可使个别种的地生兰种子在三个月内萌发率达到百分之四十。讨论了难萌发种子不易萌发的原因。

兰属 (*Cymbidium*) 植物种子的萌发，已经积累了许多材料 [1,2,3,4]，但是兰属植物中的一些地生兰的种子不易人工使之萌发，一般将这类种子称为难萌发的种子 [4]。为了杂交育种以及大量繁殖兰花，应了解各种地生兰与附生兰种子萌发时所需要的外界条件及它们的差异，加速种子的萌发过程和提高它们的萌发率。本文报道十种分布在云南省的兰属植物 (虎头兰 *Cymbidium hookerianum*, 多花兰 *Cymbidium floribundum*, 长叶兰 *Cymbidium erythraeum*, 朵朵香 *Cymbidium goeringii*, 豆瓣绿 *Cymbidium goeringii* var. *serratum*, 双飞燕 *Cymbidium goeringii* f. *forrestii*, 寒兰 *Cymbidium kanran*, 套叶兰 *Cymbidium cyperifolium*, 建兰 *Cymbidium ensifolium* 和蕙兰 *Cymbidium faberi*) 种子萌发时，对外源激素和种子处理的反应。

### 材 料 和 方 法

试验中所用的蒴果，有两种采自野外生长的植株 (虎头兰和蕙兰)，其余八种的蒴果采自温室或庭院中栽培的植株。果实都还没有开裂，但种子镜检已成熟。除虎头兰的蒴果果皮肉质富含水分外，其余九种的果皮均为革质。

试验中所用培养基主要是稍加改变的半量 SH 培养基 [1,5]，有时并附加了不同浓度的 NAA 和 BA。蔗糖浓度为 2% 或 3%，琼脂用量为 0.8%。培养基的配制、分装、灭菌以及蒴果的灭菌方法、各处理的重复数和培养条件等均同前 [1]；但是，培养用的三角瓶用橡皮塞塞紧。

本文于1982年1月12日收到。

工作过程中，周俊、冯桂华、杨增宏等同志善意地赠给各种蒴果，在此一并致谢。

\* 现在工作单位为西安市园林研究所。

种子的处理方法：除直接播种（对照）外，主要用三种方法处理种子。1) 用1.5%过氧化氢，2) 0.1N 氢氧化钠，3) 用剪刀剪破种皮。在用前两种方法处理种子时，要事先用70%酒精浸泡种子30秒至1分钟。种子处理完后，如是用1.5%过氧化氢处理的，就可以接着播入瓶内。但如是用0.1N 氢氧化钠处理的，要用无菌水冲洗种子后，才能播入瓶内。用剪破种皮的方法处理种子时，将种子放入小烧杯，用眼科直剪来剪（在无菌条件下进行）。此外，还用0.1N 盐酸、10%安替福民或纤维素酶溶液处理过朵朵香和豆瓣绿的种子。

试验过程中，一般是两周观察一次，记录各种处理的萌发及生长情况。在适宜的时间，计算种子萌发百分数。

## 试验结果

为了叙述的简化，先将对十种兰的种子进行了那些处理，列在表1中。

从表1可见，试验均为双因素试验。从所得到的结果分析，不同类型的兰对处理的反应基本上可分为两种；对激素处理反应敏感的（附生或半附生兰，如虎头兰、多花兰和长叶兰）和首先要进行种子处理的（地生兰，如朵朵香、豆瓣绿、双飞燕、寒兰、套叶兰、建兰和蕙兰）现分别叙述如下：

### I. 附生或半附生兰

1. 对种子处理的反应：这类兰花的种子极易萌发，它们的萌发百分数，在对照（直播，培养基中无激素）和最适处理（最适宜的种子处理和最适宜的激素配比）之间无差异，都可以达到80—90%。但合适的种子处理能加快萌发及生长的速度，而不合适的处理会造成种子的死亡。0.1N 氢氧化钠5—10分钟促进多花兰种子的萌发和生长。过氧

表1. 对十种兰的种子进行的处理（√代表有此处理）

种子处 理方法 种 类	激素配比				无 激 素				NAA 0.5毫克/升				BA 0.5毫克/升				NAA 0.5毫克/升 + BA 1.0毫克/升			
	直 播	1.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *	0.1N NaOH*	剪	直 播	1.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *	0.1N NaOH*	剪	直 播	1.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *	0.1N NaOH*	剪	直 播	1.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *	0.1N NaOH*	剪	直 播	1.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *	0.1N NaOH*	剪
多花兰	√	√	√	√	√	√			√	√			√	√			√	√	√	
虎头兰	√	√	√	√	√				√				√	√			√	√	√	√
长叶兰	√	√	√	√	√				√				√				√			
朵朵香	√	√	√	√	√				√				√	√			√	√	√	√
豆瓣绿	√	√	√	√	√				√				√	√			√	√	√	√
双飞燕	√	√	√	√			√							√	√		√	√	√	√
寒 兰	√	√	√	√	√		√		√		√		√	√			√	√	√	√
套叶兰	√	√	√	√	√		√		√		√		√	√			√	√	√	√
建 兰	√	√	√	√	√		√		√		√		√	√			√	√	√	√
蕙 兰	√	√	√	√	√	√			√	√			√	√			√	√	√	√

\* 在用1.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 及0.1N NaOH 处理种子时，除蕙兰及长叶兰外，均结合进行了不同时间的处理，如10分钟、30分钟等。

化氢的作用不明显。不应该用1.5%过氧化氢或0.1N氢氧化钠处理虎头兰和长叶兰的种子, 因为十分钟的处理就可造成三分之一的种子死亡。在这一点上, 它们和硬叶吊兰〔1〕的反应是不同的。因此, 这两种兰的种子应该直插或剪破种皮。

2.对激素的反应: 从萌发后生长情况分析, 他们在含不同激素配比的培养基上生长的趋势基本上与硬叶吊兰相似。在培养基中不加激素或只加NAA时, 种子萌发后生长缓慢, 逐渐形成绿色扁圆形、顶端下凹或圆形的周身有毛的原球茎, 并基本上停滞在此阶段。此种停滞过程最明显的是虎头兰和多花兰。适宜的种子处理并不能显著地改变此种停滞状态。培养基中只加BA时, 种子萌发后形成绿色椭圆形的原球茎, 毛少, 尖端有明显的鳞状叶, 但生长也缓慢。只有在培养基中同时加入NAA和BA时, 种子萌发后才能较快地生长并形成芽。这种情况基本上与硬叶吊兰的种子萌发生长的情况相似。上述的结果说明, 这四种兰的种子, 在无菌条件下, 萌发生长时, 需要外源的生长素和细胞分裂素类的配合, 否则不能顺利地形成芽。

## II. 地生兰

1.对种子处理的反应: 表1中所列的七种地生兰, 播种前如不进行适当的种子处理, 很难萌发, 一般在播种后6—9个月内, 萌发率最大不超过3%, 最小的不到1%。因此, 种子处理是极其重要的。但是, 不同种的地生兰对不同的处理方法反应也不一致。朵朵香和双飞燕对0.1N氢氧化钠10分钟反应最好, 种子萌发百分数可以达到35%以上。豆瓣绿、寒兰和套叶兰对剪破种皮或0.1N氢氧化钠处理10—30分钟反应都较好, 萌发率可以达到20%以上。但对建兰和蕙兰来说, 则剪破种皮可能是使种子在短期内萌发的较好办法。但剪破种皮这种方法, 由于技术的困难, 不可能将每个种子的种皮都剪破, 而镜检又说明, 只有种皮已被剪破的种子才会较快地萌发。因此, 目前这两种兰的种子萌发率不高, 一般在5—10%。应结合镜检, 提高种皮的剪破率。

2.对激素的反应: 虽然地生兰的种子, 直播时, 对培养基中有无激素根本没有反应; 但在合适的种子处理后, 在含不同激素配比的培养基上, 生长速度有差异。这七种地生兰对激素的反应可以分成三类。1) 在无激素的培养基上萌发生长最好, 如朵朵香。2) 在培养基中只加NAA 0.5毫克/升和无激素时生长最好, 如双飞燕、寒兰和套叶兰。3) 在同时加NAA 0.5毫克/升和BA 1.0毫克/升的培养基上生长最好, 如建兰、蕙兰和豆瓣绿。地生兰的种子萌发后, 不經由原球茎形成芽, 而是形成根茎。根茎进一步分化才能形成芽(有关这方面的材料另文报告)。

将各种兰的种子萌发所需时间, 结合上面的叙述等可归纳成表2。

## 讨 论

1. 试验中所用蒴果, 全为未开裂的。它们的优点在于灭菌简单〔6〕, 污染率低。但果实切开后应先镜检种子是否已成熟。我们的另一组试验(待发表)表明, 果实开裂前, 种子已成熟。而且, 在果实开裂以前较长的一段时间内(约为从授粉到果实开裂所需时间的四分之一)种子的萌发率差异不大。因此, 也可在掌握了从授粉到果实成熟所需的时间后, 不进行种子镜检。

表2. 种子萌发所需时间、条件及萌发率

种 类	萌发所需时间(周)	适宜的 种子处理	适宜的 激素组合 NAA + BA 毫克/升 + 毫克/升	最适条件下 萌发%	在基本培养基上 直播萌发%
硬叶吊兰*	2	1.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10—15分钟	0.5 + 1.0	90	90
多花兰	4	0.1N NaOH 5—10分钟或直播	0.5 + 1.0	80	80
虎头兰	3	剪或直播	0.5 + 1.0	90	90
长叶兰	2	直播	0.5 + 1.0	90	90
朵朵香	10	0.1N NaOH 10分钟 (或0.05N—0.2N NaOH 20—25分钟)	0 + 0	36	小于1
豆瓣绿	6	剪或0.1N NaOH 10—40分钟	0.5 + 1.0	30	小于1
双飞燕	10	0.1N NaOH 10—40分钟	0 + 0 或 0.5 + 0	40	小于1
寒 兰	10	0.1N NaOH 10—30分钟或剪	0 + 0 或 0.5 + 0	20	小于1
套 叶 兰	6	0.1N NaOH 10—30分钟或剪	0.5 + 0	20	2
建 兰	6	剪	0.5 + 1.0	10	3
蕙 兰**	10	剪	0.5 + 1.0	6	小于1

\* 引自〔1〕 \*\* 显微照片说明, 只部分种子发育良好、

2. 附生兰及半附生兰的种子极易萌发, 在直播时, 2—4周内, 萌发率可以达到80%以上。但种子萌发后, 如无外源激素的合适配合供应, 则会较长时期的停滞在原球茎阶段。这一事实或明, 此类兰的种子, 在无菌萌发的条件下, 本身合成激素的能力较弱。在自然条件下, 他们萌发后生长分化所需的激素至少有一部分来源于共生菌或由于共生菌的刺激而形成的。所以, 在无菌条件下, 外源激素的供应对这一类兰的种子萌发生长是极重要的; 而种子处理的作用只有在有外源激素的供应前提下, 才能对生长起促进作用。

3. 用地生兰的种子做试验时, 将瓶塞用橡皮塞塞紧是试验能否成功的重要环节。因地生兰的种子萌发后生长缓慢, 一般播种后七个月根茎才能长到1厘米长。瓶塞不紧, 培养基逐渐干燥影响试验效果。

4. 地生兰的种子一般都属于难发芽的种子。直播时, 萌发率极低, 6至9个月内只有1—3%萌发。为了促进这类种子提前并较多萌发, 必须进行种子处理。但从这七种兰的种子对不同的种子处理方法的反应看, 也有差异。有的种子只需剪破种皮, 而另一些种子则用0.1N氢氧化钠处理后, 萌发最快, 萌发率最高。这种对处理的不同反应可能反映了它们萌发困难的原因是不一样的。剪破种皮即可促进萌发, 说明抑制种子萌发的主要原因可能是种皮的通透性差。种皮剪破后, 物质(水、氧气等)可自由进入种皮内, 因而, 种子萌发加快。另一些种子, 用氢氧化钠处理才能得到较理想的效果, 说明抑制种子萌发的主要原因可能是一些能溶于氢氧化钠的抑制萌发的物质的存在。

## 参 考 文 献

- [1] 段金玉、谢亚红, 1981, 激素对硬叶吊兰种子萌发及发育成小苗的影响, 云南植物研究, 3(1)19—24.
- [2] Rao, A. N., 1977; Tissue culture in the orchid industry. In applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture, pp. 52—58, Ed. by J. Reinert and Y. P. S. Bajaj, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- [3] Takenochi Seiko et al., 1972, Plant tissue culture. pp. 400—409, published by Choso Books Store (Japanese).
- [4] Kakoshunji Seiko, 1976, Studies on the seed germination of spring orchids. In Seed formation and sterile culture of the orchids (revised), pp. 174—237, ed. by Torigata Hakataka, Sebunshinkosha (Japanese).
- [5] Schenk, R. U., and A. C. Hildebrandt, 1972, Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot. 50, 199—204.
- [6] 胡忠、何静波, 1979: 黑节草种苗的大量培养. 植物杂志, 第三期: 6—7 页。

## EFFECTS OF HORMONES AND SEED TREATMENT ON THE GERMINATION OF SEEDS OF CYMBIDIUM SPECIES UNDER STERILE CONDITION

Duan Jinyu    Xie Yahong

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

### Abstract

The germination of seeds of 10 species of *Cymbidium* (native of Yunnan Province) was studied. The 10 species include epiphytic, semi-epiphytic and terrestrial species. The seeds of epiphytic and semi-epiphytic species are easy to germinate and sensitive to hormone treatment. The combination of NAA and BA promotes the bud formation of the protocorms. Whereas the seeds of terrestrial species are difficult to germinate and must be treated first with some chemicals, such as 0.1 N NaOH or 1.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or cut with a pair of scissors. Under the influence of hormone and seed treatment, the percentage of seed germination of certain terrestrial species amounts to 40%.