

文章编号: 1001-411X(2001)02-0062-04

中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究

张志胜¹, 何琼英¹, 傅雪琳¹, 欧秀娟¹, 林伟强², 蒋俊岳²

(1 华南农业大学农学系, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学园林中心, 广东 广州 510642)

摘要: 以兰属、文心兰属、蝴蝶兰属的兰花为材料, 对中国兰花远缘杂交及其杂交种子的萌发进行了研究, 结果表明: (1) 国兰类各种间杂交成功, 结果率在 80% 以上; (2) 墨兰和大花蕙兰杂交, 结果率和杂交种子数量随品种和正反交不同而异; (3) 兰属和其他属兰花杂交, 结果率较低, 且产生的杂交种子量很少; (4) 兰花杂交种子萌发形成的中间繁殖体的种类和数量, 随杂交组合不同而不同, 墨兰和大花蕙兰的杂交种子萌发后形成原球茎, 其余组合产生根状茎。通过原球茎和根状茎途径已生产兰花杂种试管苗近万株, 并对中国兰花远缘杂交育种和杂种试管苗生产进行了讨论。

关键词: 兰花; 远缘杂交; 种子萌发; 育种

中图分类号: Q321; S682.31

文献标识码: A

中国兰花高雅幽香, 具有很高的观赏和经济价值, 在我国已有 2 000 多 a 的栽培历史, 但中国兰花的品种改良进展缓慢, 目前主要的育种方法仍是传统的选择育种^[1]。80 年代以来, 随着我国花卉业的发展, 国内一些研究者开始探索用杂交方法培育国兰新品种, 并有一些关于兰花杂交及杂交种子培养的报道^[2~6], 但这些报道多数是关于个别杂交组合的杂交种子萌发研究。本研究以国兰和洋兰部分种为材料, 较为系统地研究了中国兰花远缘杂交及其杂交种子萌发规律, 为今后更好开展中国兰花杂交育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料墨兰[*Cymbidium sinense* (Jackson in Andr.) Willd.]、建兰[*C. ensifolium* (L.) Sw.]、寒兰[*C. kanran* Makino]、春兰[*C. goeringii* (Rehb.f) Rehb.f]、大花蕙兰(*C. hybrids*)、蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)、文心兰(*Oncidium*)等, 由中国兰花协会和华南农业大学园林中心提供, 部分材料如部分大花蕙兰、蝴蝶兰等从市场购买。

1.2 方法

远缘杂交参考张志胜等^[9]的方法, 杂交试验分别于 1998~1999 年在华南农业大学园林中心和中国兰花协会进行。

(1) 中间繁殖体的诱导: 取兰花自交及杂交所得

的发育 7~9 个月的蒴果, 流水冲洗干净后, 在超净工作台上用 φ 为 75% 的乙醇消毒 10 min, 无菌水冲洗 3 次后, 取其内部种子接种到 MS 附加各种激素和有机附加物的培养基上培养。培养条件为温度 25~30 °C, 暗培养或散射光照。

(2) 中间繁殖体的继代: 将种子萌发后形成的原球茎或根状茎转移到继代培养基上培养, 对大的原球茎和根状茎进行切割。原球茎的继代培养基为 A: MS+BA 0.1~0.5 mg/L+NAA 0.5~1.0 mg/L+活性炭(代号为 AC)1 g/L 或 B: MS+BA 0.5~2.0 mg/L+ φ 为 10% 椰子汁+AC 1 g/L, 根状茎的继代培养基为 C: MS+BA 0.2 mg/L+NAA 2 mg/L+AC 1~2 g/L。培养条件为散射光, 继代时间一般为 40 d。

(3) 植株再生: 将原球茎接种到培养基 D: MS+BA 0.5~1.0 mg/L+NAA 0.1~0.4 mg/L+AC 1 g/L, 根状茎接种到培养基 E: MS+NAA 0.1~0.2 mg/L+BA 2~5 mg/L+蔗糖 50 g/L 进行植株再生。1 个月后, 原球茎分化出完整的小植株, 而根状茎一般只分化出芽。将根状茎形成的芽接种到 F: 1/2 MS+NAA 1~2 mg/L+BA 0.1~0.2 mg/L+AC 1 g/L 的培养基上, 20 d 后生根, 一个月后即可移栽。

2 结果与分析

2.1 中国兰花远缘杂交及杂交种子发育

以 3 种墨兰、4 种大花蕙兰等兰花为材料, 进行兰花远缘杂交试验, 结果见表 1。从表 1 可以看出:

表 1 中国兰花远缘杂交结果(1998~1999)

Tab. 1 The results of wide cross of Chinese orchids

组合 ¹⁾	杂交时间	结果率 ²⁾	种子量 ³⁾
combination	cross time	fruit set ratio/ %	seed amount/ %
A× B	199802	83(30)	30
B× A	199802	0(20)	
C× D	199802	0(40)	
E× F	199811	81(11)	90
F× E	199811	100(12)	100
F× G	199812	10(10)	1
C× F	199901	100(4)	100
F× C	199901~ 02	100(6)	100
H× I	199902	75(8)	30
H× J	199902	100(2)	100
C× G	199903	0(19)	

1) A 为下山墨兰 *C. sinense*, B 为大花蕙兰 *C. hybrid*, C 为墨兰 *C. sinense*, D 为文心兰 *Oncidium*, E 为寒兰 *C. kanran*, F 为建兰 *C. ensifolium*, G 为蝴蝶兰 *Phalaenopsis*, H 为企剑白墨 *C. sinense*, I 为日本大花蕙兰 *C. hybrid*, J 为春兰 *C. goeringii*; 2) 括号内数字为杂交的花朵数; 3) 此处种子量为相对种子量, 以自然授粉果实中的种子量做对照, 记为 100

国兰类各种间兰花杂交易于成功, 结果率一般可达 100%。墨兰和大花蕙兰杂交, 正反交杂交成功率差异显著。以墨兰为母本, 大花蕙兰为父本, 结果率为 81.6%, 而以大花蕙兰为母本, 墨兰为父本, 结果率为 0。地生兰和气生兰杂交成功率低。以墨兰为母本, 蝴蝶兰和文心兰为父本杂交结果率均为 0, 而以建兰为母本, 蝴蝶兰为父本, 杂交 10 朵花, 只获得 1 个蒴果, 且蒴果很小, 种子量极少。

国兰类各个种的不同品种对杂交成功率没有明显影响, 但墨兰和不同种类的大花蕙兰杂交, 成功率明显不同。下山墨兰和从台湾引进的大花蕙兰杂交, 成功率最高, 其结果率为 93.2%, 而与从新加坡引进的大花蕙兰杂交结果率只有 66.6%。

对兰花远缘杂交种子的生长和发育的观察结果表明: 杂交后 2~5 d, 蕊柱的顶端开始下卷, 并盖住蕊腔, 同时整个花朵开始收缩, 5 d 后子房开始膨大。如果杂交成功, 子房会继续发育成蒴果。否则, 子房一般在 15 d 内脱落。以大花蕙兰为母本, 墨兰为父本进行杂交, 子房可以发育到相当大小, 而后因果柄枯黄而脱落, 具体原因有待于进一步研究。

兰花远缘杂交获得的种子量因组合不同而异(表 1)。国兰类各种间杂交获得的杂交种子量和自然授粉及品种间杂交产生的种子量相当。墨兰和大花蕙兰杂交产生的种子量相当于自然授粉种子量的 30% 或更少, 在企剑白墨和日本大花蕙兰的杂交组合中, 几乎没有得到杂交种子。不同属间兰花杂交种

子量更少, 小桃红和蝴蝶兰杂交, 杂种的种子量约相当于自然授粉的 1%。

2.2 杂交种子萌发

将杂交或自交种子接种到 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AC 1 g/L+φ 为 15% 椰子汁的培养基上进行萌发试验, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 不同杂交组合后始萌发时间和萌发率不同。墨兰和大花蕙兰杂交, 其杂交种子量虽少, 但种子萌发快, 萌发率高, 为 100%。建兰和蝴蝶兰杂交产生的杂交种子, 不仅数量少而且萌发慢, 萌发率也最低。国兰类不同种间杂交, 杂交种子后始萌发时间大致相同, 但不同组合间萌发率差异较大。墨兰(软剑白墨)和春兰(大富贵)杂交种子萌发率为每瓶 16 个中间繁殖体, 建兰(小桃红)和墨兰(桃姬)杂交, 杂种萌发率为每瓶 30 个, 而建兰(小桃红、仁化白)和寒兰杂交种子萌发率为每瓶 100 个以上, 实际约有 50% 的种子可以萌发, 杂交种子的萌发率倾向于高值亲本(小桃红)。

表 2 兰花杂交种子萌发结果(1999~2000)

Tab. 2 The results of hybrid seed germination of orchids

杂交组合 ¹⁾	种子发育时间	接种瓶数	后始萌发时间	每瓶萌发数 ²⁾
combination	time of seed development/ d	number of bottle inoculated	time of seed starting germination/ d	number of seed germinated per bottle/ 个
A× B	203	10	100	16
C× D	209	10	40	> 100
E× F	258	5	100	30
E× G	258	4	110	0.25
E× H	196	24	90	> 100
H× E	200	12	90	> 100
H× I	200	32	90	> 100
E× E	200	12	90	> 100
H× H	200	12	100	> 50

1) A 为软剑白墨 *C. sinense*, B 为大富贵 *C. goeringii*, C 为下山墨兰 *C. sinense*, D 为大花蕙兰 *C. hybrid*, E 为小桃红 *C. ensifolium*, F 为桃姬 *C. sinense*, G 为蝴蝶兰 *Phalaenopsis*, H 为寒兰 *C. kanran*, I 为仁化白 *C. ensifolium*; 2) 此处的种子萌发数是指平均每瓶产生的中间繁殖体个数, 其中墨兰和大花蕙兰杂交种子实际萌发率为 100%

种子萌发结果还表明, 不同杂交组合产生的中间繁殖体种类不同。墨兰和大花蕙兰杂交, 杂交种子的萌发特性和萌发后形成的中间繁殖体的种类和大花蕙兰一致, 为原球茎(图 1a), 而建兰和蝴蝶兰杂交产生的杂交种子萌发后形成根状茎, 与建兰一致, 但萌发率却远远低于双亲, 表现出负向杂种优势。国兰类各种间杂交, 杂交种子萌发后产生根状茎(图 1b)。不同杂交组合产生的中间繁殖体不同, 决定了杂种

试管苗生产途径和效率不同.

2.3 中间繁殖体的繁殖和杂种试管苗的生产

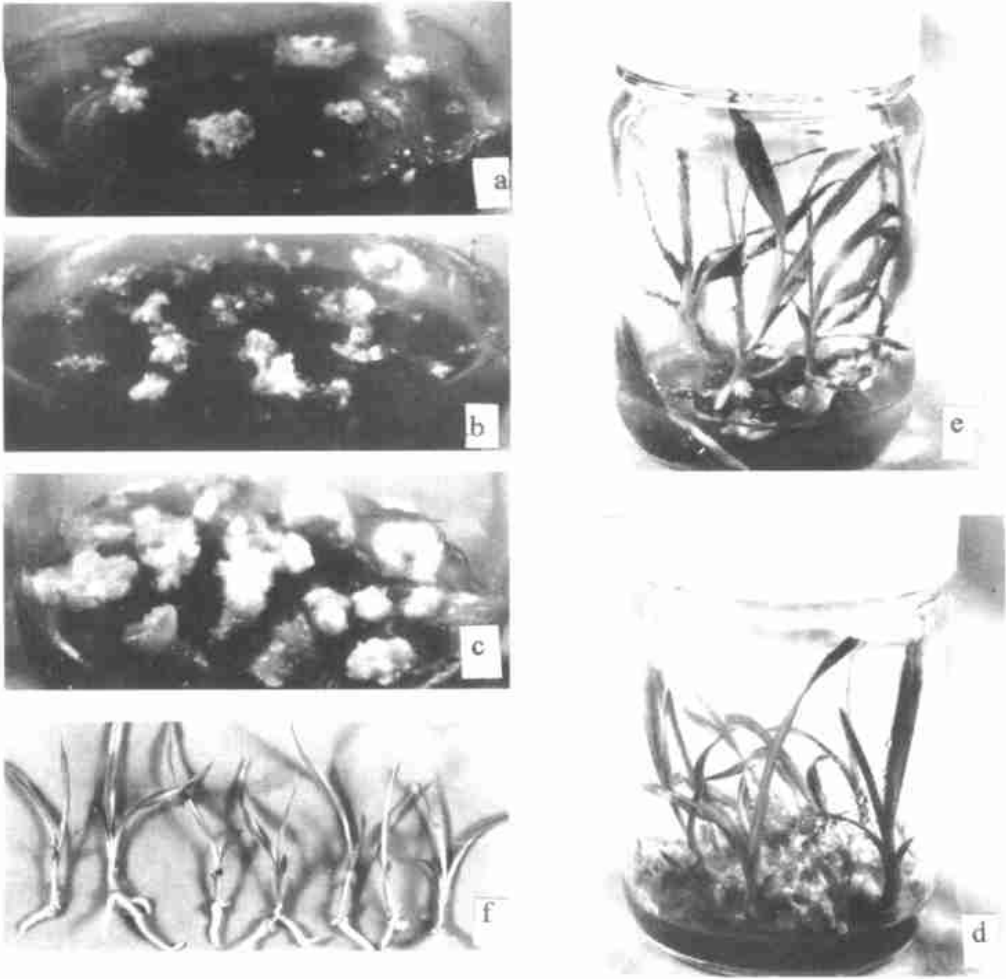
(1) 不同培养基对原球茎增殖和分化的影响. 试验了 3 种培养基对原球茎增殖和分化的影响, 结果表明: 在 B 培养基上原球茎可以大量增殖(图 1c), 在 A 培养基上原球茎既可大量增殖, 又能够分化出大量的苗, 而在 1/2MS+BA 0.5~2 mg/L+硫酸腺嘌呤 10 mg/L+AC 1 g/L 的培养基上, 芽增殖效果没有 A 培养基好, 因此原球茎继代增殖采用 B 培养基, 若要加速育种进程, 亦可直接采用 A 培养基, 同时进行原球茎增殖和苗分化的工作(图 1d).

(2) 根状茎的增殖和再生. 试验了多种因素对根状茎增殖和分化的影响, 结果表明: 种间杂交种子萌发产生的根状茎和墨兰自交及品种间杂交产生的根状茎相似, 最佳繁殖培养基为 C, 最佳分化培养基

为 E.

(3) 杂种试管苗生产. 将在上述分化培养基上分化出的芽转移到 F 培养基上生根和壮苗(图 1e), 20 d 后苗高可达 3~5 cm 以上, 并长出 2~3 条肉质根, 此时的试管苗即可移栽.

(4) 试管苗移栽. 将苗高 3~5 cm、具有 2 条以上肉质根的试管苗取出(图 1f), 清水漂洗除去琼脂、原球茎或根状茎等组织块及老叶老根, 然后用 1 g/L 高锰酸钾消毒 5~10 min, 凉干后移入预先消毒过的由 1/3 椰子汁+1/3 砂+1/3 珍珠岩配成的基质中. 移栽时不能太深, 移栽后将试管苗放在遮光 70%~90% 的荫棚中养殖, 前 3 d 养殖条件为基质湿度 70% 左右, 空气湿度 100%, 4 d 后空气湿度保持在 80%~90% 左右. 7 d 后试管苗成活, 移栽成活率在 90% 以上. 目前移栽成活的杂种试管苗近万株.



a 原球茎 protocom like body (PLB), b 根状茎 rhizome, c 原球茎繁殖 propagation of PLB, d 原球茎分化芽 bud differentiation from PLB, e 生根 root formation, f 可移栽兰花试管苗 seedling for transplanting

图 1 杂交种子萌发和杂种试管苗生产

Fig. 1 Hybrid seed germination and seedling production of Chinese orchids

3 讨论

远缘杂交是兰花育种的重要方法, 该方法在洋兰品种的改良上获得了巨大成功^[1]. 目前在国外, 通过远缘杂交已育成了由7个属杂交产生的集体杂种. 本研究表明, 国兰各个种之间杂交极易成功, 兰属内墨兰和大花蕙兰杂交成功率也在80%以上. 虽然国兰和蝴蝶兰等气生兰杂交成功率很低, 但通过扩大杂交规模, 加强杂交后的管理, 运用激素调控等手段仍可获得足量杂交的种子, 因此, 通过远缘杂交改良中国兰花品种前景广阔.

兰花种子萌发是兰花杂交育种的关键环节之一. 洋兰杂交种子萌发易, 萌发后形成原球茎, 成苗快, 而国兰杂交种子萌发难, 种子萌发后形成根状茎, 成苗难. 国兰杂交育种进展缓慢, 其重要原因就是其杂交种子萌发难, 杂种试管苗的生产效率低. 本研究表明, 不同杂交组合产生的中间繁殖体不同, 墨兰和大花蕙兰杂交, 其杂交种萌发后形成原球茎, 植株再生通过原球茎途径进行, 这一结果与李方等^[4]对蕙兰和台兰种间杂交种萌发研究结果相似. 由于原球茎繁殖速度快, 再生植株容易, 产生的试管苗易于成活, 这为国兰的远缘杂交育种工作开辟了广阔的前景. 但关于这些杂种试管苗的遗传基础和性状表现有待于进一步研究.

在多数杂交组合中, 杂交种子萌发形成根状茎, 并通过根状茎途径再生植株. 这和萧涪宏等^[5,7]报道的结果相一致. 由于通过根状茎途径再生植株相对困难, 再生植株移栽成活率低. 虽然近年来许多研

究者加强这方面的研究工作^[8~10], 但目前尚没有突破性进展, 今后仍应加强这方面的研究.

致谢: 本研究得到中国兰花协会秘书长何清正先生的大力支持, 谨此致谢!

参考文献:

- [1] 张志胜. 兰花遗传育种[A]. 程金水. 园林植物遗传育种学[C]. 北京: 中国林业出版社, 2000. 263—289.
- [2] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991. 268—278.
- [3] 吴应祥. 中国兰花: 第2版[M]. 北京: 中国林业出版社, 1993. 98—109.
- [4] 李方, 陈昆松, 陈汉韬, 等. 蕙兰×台兰种间杂交种子无菌播种育苗技术研究[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(1): 69—73.
- [5] 曾宋君, 程式君, 张京丽, 等. 墨兰及其杂种的组织培养和快速繁殖[J]. 广西植物, 1998, 18(2): 153—156.
- [6] 张志胜, 何琼英, 欧秀娟, 等. 中国兰花杂交育种方法研究: (I) 杂交技术和杂种后代管理[J]. 中国兰花, 1999, (6): 14—17.
- [7] 萧涪宏. 探讨国兰类的播种催芽[J]. 兰花世界, 1988, (125): 61—66.
- [8] 杨应华, 吴小美. 兰花种子萌发研究[J]. 热带作物科技, 1994, (3): 32—34.
- [9] 张志胜, 欧秀娟. 墨兰组织培养[J]. 园艺学报, 1995, 22(3): 303—304.
- [10] 陈进勇, 程金水, 朱玉莹. 几种中国兰种子试管培养根状茎发生的研究[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20(1): 32—35.

Studies on the Wide Cross of Chinese Orchids and the Germination of Their Hybrid Seeds

ZHANG Zhi-sheng¹, HE Qiong-ying¹, FU Xue-lin¹, OU Xiu-juan¹, LIN Wei-qiang², JIANG Jun-yue²

(1 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Garden Center, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Investigations were carried out on the wide cross of Chinese orchids and the germination of their hybrid seeds using the orchids of *Cymbidiums*, *Phalaenopsis* and *Oncidium* as materials. The results showed: (1) the fruit set ratios of combinations made with different Chinese orchid species were over 95%; (2) in combinations of *Cym. sinense* and *Cym. hybrids*, the fruit set ratios and the amount of seeds per fruit were different with the cultivars of *Cym. hybrid* and their reciprocal crosses; (3) the fruit set ratios were lower and the amount of seeds per fruit were less when crossing Chinese orchids with other genera orchids; (4) different kinds of hybrid seeds formed different kinds and amount of intermediate propagule, the hybrid seeds from combinations of *Cym. sinense* and *Cym. hybrids* formed protocorm-like-body, while others formed rhizome; (5) about 10 000 seedlings were produced through protocorm-like-body and rhizome pathway; (6) the wide cross breeding of Chinese orchids and the hybrid seedlings production were discussed.

Key words: Chinese orchids; wide cross; seed germination; breeding