

# 建兰与纹瓣兰种间杂种胚培养研究

朱根发, 王碧青, 吕复兵

(广东省农业科学院花卉研究所, 广州 510640)

**摘要:** 采用人工授粉的方法, 以‘小桃红’建兰为母本、纹瓣兰为父本进行杂交, 获得了种间远缘杂交后代植株。杂交果荚与母本自交果荚的大小差异不大, 但鲜重明显大于母本, 果荚内的种子量却少于母本。杂种胚离体培养 90 d 出现绿色原球胚, 210 d 可萌发出大量植株; 而‘小桃红’自交种子培养 210 d 只形成少量绿色根状茎。杂种胚的萌发具有杂种优势, 不仅萌发快, 而且出苗率高, 萌发时先形成原球胚, 原球胚上长出大量小根毛, 继而形成大量假鳞茎, 假鳞茎经转瓶培养后, 分化形成大量健壮植株, 分化率高。

**关键词:** 兰花; 建兰; 纹瓣兰; 种间杂交; 胚胎培养

**中图分类号:** S 682.310.36

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-3395(2005)05-0447-04

## Embryo Culture of Hybrid between *Cymbidium ensifolium* and *C. aloifolium*

ZHU Gen-fa, WANG Bi-qing, LÜ Fu-bing

(Floricultural Research Institute of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Interspecific  $F_1$  hybrid between *Cymbidium ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’ and *C. aloifolium* (L.) Sw. were obtained by pollination. The fresh weight of fruits of  $F_1$  hybrid was higher than that of selfed *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’, but seeds of the former were less than the latter. Green protocorm-like bodies appeared after 90 days, from hybrid embryos cultured on MS medium supplemented with  $170 \text{ mg L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ ,  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$  and  $50 \text{ g L}^{-1}$  banana, and formed a number of plantlets after 210 days. However, only a few rhizomes occurred from seeds of selfed ‘Xiao Tao Hong’ cultured after 210 days. Embryo culture of the hybrid had the advantage of fast growth and high plantlet formation rate.

**Key words:** Orchid; *Cymbidium ensifolium*; *Cymbidium aloifolium*; Interspecific hybridization; Embryo culture

建兰 (*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.) 又称为四季兰, 花期为 6-10 月, 主要分布于华南、华东及西南等地区<sup>[1]</sup>, 具香味, 有耐高温和易开花的特点, 在我国有悠久的栽培历史。国外利用建兰作杂交亲本之一, 已培育和登录了 45 个新杂种<sup>[2]</sup>。通过与大花蕙兰 (*C. hybrid*) 亲本杂交, 已培育出一些早花型 (9-12 月开花)、有香味、叶片较短、株型美观的大花蕙兰新品种, 在香味、花径、花色、株型和花型上都得到较大改进, 并已投入产业化生产, 如 *C. Peter Pan*、*C. Golden Elf* ‘Sundust’ (黄金小神童)、*C.*

*Floriflame*、*C. Peter Pepper* 等著名的杂交种<sup>[3]</sup>。纹瓣兰 (*C. aloifolium* (L.) Sw.) 也是我国原产的兰属植物之一, 分布于广东、广西、贵州、云南<sup>[4]</sup>, 叶片坚挺粗厚, 硬革质, 多花, 花无香味, 花枝下垂, 国际上已利用纹瓣兰的花枝下垂性基因培育出一些垂花性大花蕙兰品种<sup>[2]</sup>。以建兰与纹瓣兰为亲本杂交, 国内外尚无有关报道。本研究利用建兰品种 ‘小桃红’ (*C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’) 与纹瓣兰进行种间远缘杂交, 期望培育出垂花性新种质, 为培育兰花新品种提供资料。

收稿日期: 2005-03-28 接受日期: 2005-07-04

基金项目: 广东省科技攻关重大项目(2003A2010401)资助

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

建兰品种‘小桃红’(*C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’) (图版 I:1), 纹瓣兰(*C. aloifolium*) (图版 I:2), 均种植保存于广东省农业科学院花卉研究所大花蕙兰资源圃内。

## 1.2 授粉

取纹瓣兰开花 1–3 d 新鲜的花粉授于开花 1–3 d 的建兰‘小桃红’花朵的合蕊柱穴腔上, 授粉 2–3 d 后合蕊柱膨大、穴腔闭合, 6–10 d 后花瓣与萼片开始凋谢, 子房开始膨大。

纹瓣兰或‘小桃红’自交时, 则取开花 1–3 d 的花粉授于同一朵花合蕊柱穴腔上。

建兰‘小桃红’和纹瓣兰在不同的温室隔离种植, 授粉时遮光 75%, 温度 15–28℃。授粉后定期观察, 并按建兰正常管理进行浇水和施肥。

## 1.3 杂种胚培养

取授粉后 200 d 的杂交果荚(仍为绿色), 测量果的大小并称量。用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒 10–15 min, 无菌水冲洗 5 次, 吸干水后, 切开果荚, 取出种胚, 置于 Kyoto 培养基中进行原球胚萌发。定期观察种胚萌发、变褐和原球胚转绿情况。将转绿的原球胚转接于  $\text{MS}+\text{KH}_2\text{PO}_4$  170  $\text{mg L}^{-1}+6\text{-BA}$  1  $\text{mg L}^{-1}+$  香蕉 50  $\text{g L}^{-1}$  的培养基中继续培养, 至长出健壮小植株。

## 1.4 自交种子培养

‘小桃红’建兰、纹瓣兰自交种子的培养方法与杂种胚的培养相同。

# 2 结果和分析

## 2.1 种间杂交的表现

‘小桃红’建兰与纹瓣兰的杂交种(图版 I:3)与‘小桃红’自交种的果荚的膨大过程和果荚的大小差异不大, 授粉 200 d 后果荚仍保持绿色(图版 I:4)。杂种果荚的平均鲜重为 2.61 g, ‘小桃红’自交果的平均鲜重为 1.65 g (表 1), 差异显著。但果荚内的种子量以‘小桃红’自交果居多。‘小桃红’建兰自交种子分散如尘, 而种间杂交种子不分散, 呈泥状, 与大花蕙兰×墨兰杂交种一样<sup>[4]</sup>。

## 2.2 杂种胚的萌发

‘小桃红’建兰×纹瓣兰的杂种胚萌发力较强, 离体培养 90 d 可见大量绿色原球胚(图版 I:5); 而‘小桃红’和纹瓣兰自交种子培养 90 d 未见任何种胚萌发(图版 I:6)。培养 210 d 的‘小桃红’×纹瓣兰杂种胚已萌发出大量植株(图版 I:7); 此时‘小桃红’自交种子只形成少量绿色球形胚, 继而长出根状茎(图版 I:8)。由此可见以‘小桃红’×纹瓣兰杂种胚的萌发具有杂种优势, 不仅萌发快, 而且出苗率高(表 1)。“小桃红”×纹瓣兰杂种胚萌发时伴有少量褐化, 而‘小桃红’自交种子萌发不发生褐化现象。

表 1 杂种与‘小桃红’建兰自交种果实和胚萌发的比较

Table 1 Comparison on fruits and embryo germination between hybrid from *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’ × *C. aloifolium* and selfed ‘Xiao Tao Hong’

组合 Combination	果的大小 Fruit size		果重 Fresh weight of fruit (g)	褐化程度 Browning degree	苗萌发情况 Degree of germination
	长 Length (cm)	宽 Width (cm)			
小桃红×纹瓣兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Xiao Tao Hong’ × <i>C. aloifolium</i>	5.0	1.3	2.83	有	+++++
小桃红×纹瓣兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Xiao Tao Hong’ × <i>C. aloifolium</i>	4.4	1.2	2.39	有	+++++
小桃红自交 Selfed <i>C. ensifolium</i> ‘Xiao Tao Hong’	4.8	1.2	1.68	无	+
小桃红自交 Selfed <i>C. ensifolium</i> ‘Xiao Tao Hong’	4.7	1.3	1.61	无	+

“+++++”表示苗萌发率极高, “+”表示有少量植株萌发。“+++++” and “+” present germination rate very high and low, respectively.

‘小桃红’×纹瓣兰杂种胚的萌发还有其特殊性。杂种胚先形成原球胚,原球胚上长出大量小根毛,继而形成大量假鳞茎。假鳞茎经转瓶培养后,分化形成大量健壮植株,分化率极高。此萌发方式有别于建兰种胚的根状茎萌发,也有别于大花蕙兰的原球茎萌发,似为中间类型。

### 3 讨论

关于建兰与纹瓣兰种间杂交,日前国内外尚未有报道和品种登录。Orchids 公司在 RHS 上登录了纹瓣兰与具建兰血统的大花蕙兰品种 C. Peter Pan 的杂交种 C. Eight Miles High<sup>[2]</sup>。根据 Du Puy & Cribb 兰属分类系统,建兰属建兰亚属建兰组,纹瓣兰属兰亚属硬叶组<sup>[1]</sup>,亲缘关系较远。Choi 等<sup>[5]</sup>在杂交实验中发现春兰(*Cymbidium goeringii*)与建兰、寒兰(*C. kanran*)、墨兰(*C. sinense*)具较高的亲和性;而与蕙兰(*C. faberi*)、纹瓣兰、鼓槌石斛(*Dendrobium chrysotoxum*)、蝴蝶兰(*Phalaenopsis* spp.)杂交则无亲和性,据 RAPD 分析,春兰与建兰、寒兰、墨兰的亲缘关系较近,与蕙兰、纹瓣兰亲缘关系较远<sup>[5]</sup>。这说明建兰与纹瓣兰的杂交属种间远缘杂交。

建兰自交或品种间杂交种胚以根状茎方式萌发<sup>[6,7]</sup>、纹瓣兰种子也以根状茎方式萌发<sup>[8]</sup>。张志胜等<sup>[9]</sup>报道‘小桃红’建兰×‘桃姬’墨兰、‘小桃红’建兰×寒兰杂种能以根状茎萌发,认为国兰类各种间杂交种子的萌发产生根状茎,建兰和寒兰杂交种子的萌发率倾向于高值亲本。本试验结果表明,建兰×纹瓣兰杂种胚的萌发具有杂种优势,不仅萌发快,而且出苗率高;杂种胚的萌发方式可能处于根状茎萌发和原球茎萌发的中间类型,即先形成原球胚,再形成具极高成苗率的根状茎,转分化培养中均可成苗。

### 参考文献

- [1] Chen X Q(陈心启), Ji Z H(吉占和). The Orchids of China [M]. Beijing: China Forest Press, 1998. 70-102.(in Chinese)
- [2] Zhu G F(朱根发). Progress in cross breeding of *Cymbidium* [J]. China Orchid (兰花宝典), 2005, (1):64-67. (in Chinese)
- [3] 朱根发. 红花系大花蕙兰的杂交亲本及育种进展 [J]. 中国花卉园艺, 2003, (8):20-22.
- [4] Zhu G F(朱根发), Chen M L(陈明莉). Studies on hybridization of *Cymbidium* [A]. In: Lui J J(雷建军), Chen R Y(陈日远). Progress

in Horticulture Vol. 5 [M]. Guangzhou: Guangzhou Press, 2002. 655-660.(in Chinese)

- [5] Choi J Y, So I S, Pak C H, et al. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of compatibility of Korean native *Cymbidium goeringii* with other *Cymbidium* species [J]. Korean J Hort Sci Technol, 1998, 16(3):361-363.
- [6] Wang X(王熊), Chen J C(陈季楚), Liu G Y(刘桂云), et al. Clonal propagation of orchids by means of tissue culture [J]. Acta Phytophysiol Sin(植物生理学报), 1981, 7(2):203-207.(in Chinese)
- [7] Tian M S(田梅生), Wang F X(王伏雄), Qian N F(钱南芬), et al. In vitro seed germination and developmental morphology of seedling in *Cymbidium ensifolium* [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 1985, 27: 455-459.(in Chinese)
- [8] Nayak N R, Chand P K, Rath S P, et al. Influence of some plant growth regulators on the growth and organogenesis of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. seed-derived rhizomes in vitro [J]. In vitro Cell Dev Biol Plant, 1998, 34:185-188.
- [9] Zhang Z S(张志胜), He Q Y(何琼英), Fu X L(傅雪琳), et al. Studies on the wide cross of Chinese orchids and the germination of their hybrid seeds [J]. J South China Agri Univ(华南农业大学学报), 2001, 22(2):62-65.(in Chinese)

### 图版说明

图版 I:

1. ‘小桃红’建兰;
2. 纹瓣兰;
3. ‘小桃红’建兰×纹瓣兰杂交果;
4. ‘小桃红’建兰自交果;
5. ‘小桃红’建兰×纹瓣兰杂交种胚培养 90 d, 萌发出大量原球胚;
6. ‘小桃红’建兰自交种子培养 90 d, 未见萌发;
7. ‘小桃红’建兰×纹瓣兰杂交种胚培养 210 d, 可见大量植株;
8. ‘小桃红’建兰自交种子培养 210 d 仍为根状茎;

### Explanation of plate

Plate I:

1. Flowers of *Cymbidium ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’;
2. Flowers of *C. aloifolium* (L.) Sw.;
3. Fruits of hybrid *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’ × *C. aloifolium*;
4. Fruits of selfed *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’;
5. A large number of green protocorm-like bodies appeared after 90 days from seeds of hybrid *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’ × *C. aloifolium*;
6. No green protocorm-like bodies is seen from seeds of selfed *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’;
7. A large number of plantlets germinated after 210 days from seeds of hybrid *C. ensifolium* ‘Xiao Tao Hong’ × *C. aloifolium*;
8. Only a few rhizomes appeared after sowing of the seeds from selfed ‘Xiao Tao Hong’.



朱根发等, 图版 I