

大花蕙兰及春剑间杂交结实率及种子无菌萌发的研究

张东旭¹, 李承秀², 王长宪², 潘银萍¹, 王丰妍¹, 王郑浩¹

(1. 山东农业大学 林学院 山东 泰安 271018; 2. 泰山林业科学院, 山东 泰安 271000)

摘 要: 采用 8 个大花蕙兰品种、大花蕙兰与墨兰的杂交育成的品种‘圣蕾芬’及国兰春剑进行杂交, 对杂交种子进行无菌萌发试验。结果表明: 大花蕙兰品种间杂交结果率最低为 5.1%, 自交结果率为 0%; 其次为大花蕙兰与‘圣蕾芬’杂交, 结果率为 25%; 最高的为大花蕙兰与春剑杂交, 结果率为 50%。经无菌萌发后, 大花蕙兰品种间杂交果实未萌发; 大花蕙兰与‘圣蕾芬’的杂交果实 12 个 10 个萌发得到杂交后代, 占 83.3%; 大花蕙兰与春剑杂交果实共 7 个 5 个萌发得到杂交后代, 占 71.4%。种子的采收期因不同组合而异, 以国兰春剑为母本的种子采收时间应适当延长, 以 190~210 d 为宜, 而以大花蕙兰和墨兰的杂交后代为母本的种子采收期以 110~120 d 为宜。

关键词: 大花蕙兰; 杂交; 组织培养

中图分类号: S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)05-0101-03

大花蕙兰(*Cymbidium hybrid*)为兰科兰属多年生草本植物, 是兰属中一部分附生性种类的杂交种群^[1]。我国作为大花蕙兰主要亲本的原产地, 在大花蕙兰品种研发方面却远远落后于日韩等国。目前有关杂交育种的报道还比较少, 兰属的育种进展缓慢, 究其原因, 一是由于兰属植物的杂交亲合性较差, 二是即便得到杂交种子, 在自然条件下种子萌发困难, 导致了育种人员进行大量杂交试验却往往得不到杂交后代。而杂交后代是筛选出有商品价值的兰花品种的基础材料。近年来我国陆续出现了有关大花蕙兰育种的报道^[2,5]。但关于杂交结果率方面的基础研究报道则较少。现选取 8 个大花蕙兰品种、1 个大花蕙兰与墨兰的杂交育成品种‘圣蕾芬’以及国兰春剑进行杂交试验, 统计结果率和不同杂交组合果实的最佳成熟度, 以期筛选出配合力较高的育种亲本和杂交组合供育种使用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大花蕙兰(*Cymbidium hybrid*)品种有 C. Lovely Moon‘ Gresent’、C. Fortissimo‘ Pianist’、C. White

Crystal‘ Bigisse bidot’、C. Lovely Valley‘ Evergreen’、C. Enzan Venus‘ Allegory’、C. Enzan Oberon‘ Gelee’、C. Peppermint‘ Patty’、C. Lucky Gloria‘ Chusanne’、大花蕙兰和国兰的杂交品种‘圣蕾芬’(C. *hybrid* × C. *sinense*)以及国兰春剑(C. *longibracteatum* Y.S. Wu et S.C. Chen)。大花蕙兰品种以及杂交种均由韩国引进, 所有亲本都种植于泰山林业科学研究所兰圃。

1.2 杂交授粉

取各品种开花 1~3 d 的新鲜花粉授于开花 3~7 d 的大花蕙兰花朵的蕊柱药腔上。授粉 2~3 d 后蕊柱顶端膨大并向内翻卷, 5~8 d 后药腔闭合, 花瓣与萼片开始凋谢, 子房膨大。授粉时遮光 75%, 温度 24~28℃。授粉后每 15 d 定期观察, 并按大花蕙兰正常管理进行浇水和施肥。

1.3 杂交种子培养

测量授粉后 3~7 个月杂交果实的大小并称重。先用 70% 酒精消毒 1 min, 再用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min, 无菌水冲洗 5 次, 吸干水分后, 切开果实, 取出种子置于培养基中进行无菌萌发。

2 结果与分析

2.1 杂交组合果实生长及种子萌发

2006~2007 年共进行了 65 个杂交组合, 其中柱头向内翻卷闭合, 子房明显膨大且果实发育的有 56 个组合, 占组合数的 86.2%; 授粉 3 个月后果实未变黄脱落的有 11 个杂交组合, 占组合数的 16.9%; 经无菌播种成功获得后代植株的有 6 个杂交组合, 只占组合数的

第一作者简介: 张东旭(1983-), 女, 山东泰安人, 硕士, 研究方向为植物遗传育种。E-mail: zhangdongxu116@163.com。
通讯作者: 王长宪(1959-), 男, 山东平阴县人, 硕士生导师, 研究员, 研究方向为植物遗传育种。E-mail: changxianwang@163.com。
基金项目: 泰安市大学生科技创新计划资助项目(2008D2008)。
收稿日期: 2009-10-26

9.2%。结果表明,大花蕙兰品种间杂交存在一定的难度,大花蕙兰不同品种间及其与国兰间杂交成功率有较大的差异(表1)。

表1 兰属植物种间杂交组合

杂交组合	杂交组		子房膨大		坐果组		果实数	萌发组合数
	合数	组合数	合数	组合数	合数	组合数		
大花蕙兰品种间杂交	36	32(82.1%)	2	2(5.6%)	2	0	2	0
大花蕙兰品种间自交	3	0	0	0	0	0	0	0
大花蕙兰与‘圣蕾芬’杂交	16	14(87.5%)	4	4(25%)	12	3(18.8%)	12	3(18.8%)
大花蕙兰与春剑杂交	10	10(100%)	5	5(50%)	7	3(30%)	7	3(30%)
总计	65	56(86.2%)	11	11(16.9%)	21	6(9.2%)	21	6(9.2%)

大花蕙兰品种间杂交得到的2个果实剖开后发现,种子干瘪呈灰白色,进行无菌萌发未得到杂交后代;大花蕙兰与杂交兰‘圣蕾芬’的杂交果实共12个,有10个果实萌发;大花蕙兰与春剑杂交果实共7个,有5个果实萌发。不同杂交组合在适宜采收期上有很大区别,而且果实的成熟度对萌发所需时间的长短影响很大。各组合具体萌发情况见表2。

表2 杂交组合及无菌播种情况调查

组合	果实数	授粉至播种 天数/d	播种至出现绿色 原球茎天数/d
C. Lovely Moon‘ Gresen’ × (C. Hybrid× C. sinense)	2	110	187
	2	150	306
C. Lovely Valley‘ Evergreen’ × (C. Hybrid× C. sinense)	2	120	86
	2	150	296
C. Enzan Oberon‘ Gelee’ × (C. Hybrid× C. sinense)	2	150	118
C. White Crystal‘ Bigisse bidot’ × C. longibracteatum	1	150	101
	1	190	48
	1	210	32
C. Lovely Moon‘ Gresen’ × C. longibracteatum	1	160	192
C. Lovely Valley‘ Evergreen’ × C. longibracteatum	1	150	126

2.2 大花蕙兰品种间杂交

大花蕙兰品种间杂交成功率极低,虽然在杂交后有82.1%的杂交组合会产生子房膨大的现象,但授粉后15~30 d时出现1次落果的高潮,在授粉后105~120 d又会出现第2次落果高潮,此时39个杂交组合中仅剩下2个组合。而且对这2个杂交组合的种子进行无菌萌发,剖开果实后发现仅有少量种子,且没有得到杂交后代。3个大花蕙兰自交组合均未有受精反应,柱头没有向内翻卷闭合,子房也没有膨大的现象。

2.3 大花蕙兰与杂交兰‘圣蕾芬’间杂交

8个大花蕙兰品种分别与‘圣蕾芬’进行正交和反交,对其果实生长情况调查结果显示,以大花蕙兰为母本的组合除 C. Enzan Oberon‘ Gelee’ × (C. Hybrid×

C. sinense)外在授粉后3个月内全部枯黄脱落。虽然以 C. Enzan Venus‘ Allegory’ 为母本的杂交组合得到杂交果实,但在发育110 d后进行采收时已经萎缩发黄,对其进行无菌萌发,没有发现萌发的种子。而以‘圣蕾芬’ (C. Hybrid× C. sinense)为母本的组合则长势较好,3个组合得到10个杂交果实,且这10个杂交果实全部萌发得到杂交后代。这可能与‘圣蕾芬’遗传了墨兰的基因有关,朱根发等对墨兰和大花蕙兰进行杂交^[4],有近40%的组合得到杂交后代,该结果与该试验的结果对比可知,大花蕙兰与墨兰的杂交亲和性要高于大花蕙兰品种间的亲和性,以大花蕙兰和墨兰的杂交后代为母本与大花蕙兰进行杂交,是提高杂交结果率,从而得到杂交后代的有效途径。

不同成熟度果实也会对种子的萌发速度产生影响。以‘圣蕾芬’为母本的杂交种子以发育110~120 d为宜,种子发育时间超过150 d将会明显延长种子萌发所需时间,这也许与种子生长过程中积累的萌发抑制物质有关。

2.4 大花蕙兰与国兰春剑的杂交

5个大花蕙兰品种分别与春剑进行正交和反交,对其果实生长情况的调查结果显示,以大花蕙兰为母本的组合在授粉3个月内全部枯黄脱落,而以春剑为母本的组合则长势较好,5个组合全部得到杂交果实,3个组合的5个杂交果实萌发得到杂交后代。春剑一年四季都能开花,且气味芳香,若能将这些优良基因遗传给其杂交后代,对大花蕙兰品种的改良将会有很大的贡献。

果实发育时间会对种子的萌发产生影响,以国兰春剑为母本的杂交种子发育190~210 d为宜, C. White Crystal‘ Bigisse bidot’ × C. longibracteatum 的杂交种子发育210 d后进行无菌播种,仅用32 d就萌发出绿色类圆球茎。不同杂交组合间在萌发速度方面也有较大差异。

3 结论与讨论

通过大花蕙兰品种间自交与杂交,发现自交组合均未有受精反应,虽然大部分杂交组合有受精反应,但结果率普遍较低,而且果实内种子的量很少,进行无菌萌发也未发现有萌发的种子。可能因亲本基因型不同,亲和力和力也不一致。

从大量的杂交试验中,筛选出了几个亲合力较高的育种亲本和杂交组合。萌发得到杂交后代的组合有 C. Lovely Moon‘ Gresen’ × (C. Hybrid× C. sinense)、 C. Lovely Valley‘ Evergreen’ × (C. Hybrid× C. sinense)、 C. Enzan Oberon‘ Gelee’ × (C. Hybrid× C. sinense)、

C. Lovely Moon‘ Gresent’ × *Cymbidium longibracteatum*、C. White Crystal‘ Bigissebidot’ × *Cymbidium longibracteatum*、C. Lovely Valley‘ Evergreen’ × *Cymbidium longibracteatum*。从这些杂交试验中可以得出以下结论: C. Lovely Moon‘ Gresent’、C. Lovely Valley‘ Evergreen’、C. Enzan Oberon‘ Gelee’、C. White Crystal‘ Bigissebidot’ 的亲性较强, 且比较适合作为杂交父本; 大花蕙兰和墨兰的杂交后代作为母本与大花蕙兰再进行杂交, 可显著提高杂交的结果率及萌发率; 以国兰春剑作为母本除了获得较高的结实率, 还得到 30% 萌发率。这将为今后的大花蕙兰杂交育种工作提供参考。

此外, 在大量的杂交试验中发现, 三倍体的大花蕙兰品种 C. Lovely Moon‘ Gresent’ 与大花蕙兰和墨兰的杂交后代以及春剑进行杂交都能得到杂交后代, 这值得进一步研究。种子采收适期方面报道较多, 大致为 110 ~ 250 d^[4,9], 该研究认为具体的采收适期因不同组合而异, 与遗传及环境有关; 主要是观察蒴果外观变化, 以

果皮光泽度降低且微微泛黄时采收为佳。以国兰春剑为母本的种子采收时间应该适当延长, 以 190 ~ 210 d 为宜, 而以大花蕙兰和墨兰的杂交后代为母本的种子采收期以 110 ~ 120 d 为宜。

参考文献

[1] 陈心启 吉占和. 中国兰花全书(II)[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998: 1-3.
[2] 张志胜 何琼英 傅雪琳 等. 中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(2): 62-65.
[3] 朱根发 陈明莉. 兰花杂交选育研究初报[M] // 雷建军 陈日远. 园艺学进展(第5辑). 广州: 广州出版社, 2002: 655-660.
[4] 朱根发 陈明莉 罗智伟 等. 墨兰与大花蕙兰种间杂种原球茎的诱导及增殖研究[J]. 园艺学报, 2004, 31: 688-690.
[5] 梁芳 崔波 马杰 等. 杂交兰原球茎增殖及分化研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(13): 5309-5310, 5353.
[6] 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.

Studies on Cross-Pollination and Fruit Set in Hybrid *Cymbidium* Cultivars and *Cymbidium Longibracteatum*

ZHANG Dong-xu¹, LI Cheng-xiu², WANG Chang-xian², PAN Yin-ping¹ and WANG Feng-yan¹ WANG Zheng-hao¹
(1. College of Forestry, Shandong Agriculture University, Taian, Shandong 271018; 2. Taishan Forestry Academy, Taian, Shandong 271000)

Abstract: Hybridization among several Hybrid *Cymbidium* Cultivars, *Hybrid Cymbidium* × *Cymbidium* ‘Saint Raphin’ and *Cymbidium longibracteatum*. The hybrid seeds were germinated in axenic culture. The results showed that the mean fruit set of Hybrid *Cymbidium* × Hybrid *Cymbidium*, Hybrid *Cymbidium* × *Cymbidium* ‘Saint Raphin’, Hybrid *Cymbidium* × *Cymbidium longibracteatum* was 5.1%, 25%, 50%. The average germination rate reached 0%, 83.3%, 71.4% of the three kinds of the crosses by embryo culture. Different crosses have different best harvest time.

Key words: *Hybridum Cymbidium*; hybridization; tissue culture

