

# 中小花型蝴蝶兰杂交特性和 无菌播种培养研究

李娜<sup>1,2,3</sup>, 廖飞雄<sup>1\*</sup>, 刘晓荣<sup>1</sup>, 连芳青<sup>2</sup>

(1. 广东省农业科学院 花卉研究所, 广东 广州 510640; 2. 江西农业大学 园林与艺术学院, 江西 南昌 330045);  
3. 南昌市园林科学技术研究所, 江西 南昌 330006)

**摘要:** 为研究中小花型蝴蝶兰的杂交结实特性, 提高育种技术和效率, 选取9个中小花型蝴蝶兰品种作亲本按完全双列法进行自交与杂交, 在81个组合中2个自交组合与17个杂交组合获得发育成熟的荚果, 分别占自交组合数的22.2%和杂交组合数的23.6%。总平均结实率为12.3%, 自交结实率为11.1%, 杂交结实率为11.8%; 作母本时9个品种平均结实率为13.63%, 作父本时平均结实率为12.58%。蒴果生长呈S型曲线, 可分为形成期、快速生长期和成熟期, 各期时间长短受不同杂交组合的影响, 快速生长期为30~50 d, 从授粉到采收时间为80~118 d。种子萌发率及萌发所需时间因组合而异, 平均萌发率为83.3%, 杂交组合较自交种子启动萌发早、萌发率高。

**关键词:** 兰花; 杂交; 育种; 授粉组合; 蒴果

中图分类号: S324 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2010)05-0962-06

## An Observation of Cross-pollination Characteristics of *Phalaenopsis* Cultivars with Small and Medium Size Flower and Seed Germination in Vitro

LI Na<sup>1,2,3</sup>, LIAO Fei-xiong<sup>1\*</sup>, LIU Xiao-rong<sup>1</sup>, LIAN Fang-qing<sup>2</sup>

(1. Floricultural Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China; 2. College of Landscape Architecture and Art, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; Nanchang Institute of Landscape Architect, Nanchang 330006, China)

**Abstract:** In order to study the characteristics of cross-pollination of the *Phalaenopsis* cultivars and to improve breeding technique and efficiency for *Phalaenopsis*. Nine cultivars with small and medium size flowers were selected as the parental plants to pollinate with self and cross pollination among the cultivars based on Di-allel cross. Two self-pollination combinations and Seventeen cross-pollination combinations produced normal capsules among total eight-one pollination combinations, which were 22.22% of the total self pollination combinations and 23.6% of the total cross pollination combinations. The average capsule setting rate was 12.3%, and 11.1% for self-pollination and 11.8% for cross-pollination combinations. When the cultivars served as pollen parent, the total average capsule setting rate was 12.3%, lower than 13.63% as maternal parent. The capsule developed in a S-curve pattern with 3 stages: the capsule forming stage, fast growth stage and the ripe

收稿日期: 2010-09-22 修回日期: 2010-09-30

基金项目: 广东省科技计划重点项目(2005B20901001, 2008A020100019)

作者简介: 李娜(1983—), 女, 硕士生, 主要从事园林植物栽培与繁育研究, E-mail: qinutao@163.com。

\* 通讯作者: 廖飞雄(1963—), 男, 江西龙南人, 博士, 研究员。1984年本科毕业于江西农业大学园艺系; 1995年于华南师范大学生物系获理学博士学位。现任广东省农业科学院学科带头人、观赏植物研究中心主任, 主要从事观赏植物生物技术、遗传育种和繁殖技术研究。发表论文70多篇, 4项成果获省市科技成果奖励, 获国家发明专利2项。E-mail: fxliao@msn.com。

stage, which were affected by different pollination combinations. The fast growth stage ranged from 30 to 50 days and the capsule ripe stage was 80 to 118 days from pollination on. The seed germination rate and germination time in vitro were various among the combinations with 83.3% of the average rate. The seed of cross pollination had higher rate of germination and corm formation than seed of self-pollination.

**Key words:** orchid; hybrid; breeding; pollination combination; capsule

通过基因重组会引起性状的大量重组和新性状的出现,因此,杂交仍是蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)培育新品种的有效途径并培育了大量品种<sup>[1-2]</sup>。尽管在兰科植物中种属间常易发生授粉杂合,然而兰科植物遗传背景复杂(如多倍性)种间的交配亲和性和育性也有较大差异<sup>[3-4]</sup>。以往蝴蝶兰的育种多为爱好者进行,对其杂交授粉等特性研究较少。涂美智等<sup>[5]</sup>较早报道了蝴蝶兰的授粉和果实成熟特性。近年见有一些杂交探索<sup>[6-7]</sup>和不同类型杂交如红花品种间杂交<sup>[8]</sup>和黄花品种间杂交特性的观察报道<sup>[9-10]</sup>。中小花系蝴蝶兰中有大量优良品种和优良性状<sup>[10-12]</sup>,但不少品种用作杂交亲本困难<sup>[9,13]</sup>,对其杂交特性也少有认识。研究蝴蝶兰杂交特性对于亲本的筛选和提高育种效率很有意义<sup>[14-15]</sup>。本文对9个不同花色的中小花型品种进行了相互间的杂交和自交,观察了结实性情况、果实生长特点和对种子萌发影响,以期对中小花型品种的杂交育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试的9个蝴蝶兰品种材料均取自广东省农业科学院花卉研究所花卉种质资源圃,其中红花系、白花系和黄绿花系品种各3个,所有材料的花径都小于9 cm,归属于中小花型<sup>[11]</sup>。其编号和花的主要性状见表1。

表1 用于杂交的中小花型蝴蝶兰亲本及其花性状

Tab.1 The parental cultivars of *Phalaenopsis* with small and middle flower for hybrid test and flower characters

编号 Code	品种学名 Cultivar	花径/cm Flower diameter	花色 Pedal colour
Phal 079	<i>P.</i> Little Steve	4.6	紫红、基部有斑点、白边
A2225	<i>Dtps.</i> Queen Beer	5.3	紫红、白边
A3670	<i>Dtps.</i> Taida Salu	6.5	黄底深红网纹
A6140	<i>Phal.</i> Yu Pin Panda	8.5	纯白有紫黑色大斑点
A3209	<i>Phal.</i> Amadinal	7.3	纯白
A5638	<i>Dtps.</i> Little Gem Stripes	6.4	纯白带浅紫红网纹
A4664	<i>Phal.</i> Brother Sara Gold	5.8	黄底带深红斑纹
A5626	<i>Dtps.</i> Scarlet in Snow	5.7	黄底带暗红斑纹
A6136	<i>Phal.</i> Taida Goldfish	6.9	黄色、有少量浅褐色斑纹

### 1.2 研究方法

1.2.1 试验设计与授粉 亲本间杂交组合按完全双列(diallel cross)<sup>[16]</sup>杂交设计表进行。每个组合至少重复3朵以上授粉花。取母本花开放后3~4 d内的花朵,用镊子去掉其蕊柱上的花粉块及唇瓣,从正开放的花朵中取新鲜、呈浅黄色、具粘性花粉块,并放置于母本花的柱头蕊腔内。每次操作后所用工具均用 $\varphi$ (乙醇)=95%处理。

1.2.2 蒴果生长的测量、结实率统计 授粉后,观察花形态变化。花柱闭合、果荚开始膨大后,从第15 d起每隔10 d用数显游标卡尺测量其大小。果长及果宽参照涂美智等<sup>[5]</sup>的测量方法,果长为花萼着生处至果荚上最长沟纹之基点之间的距离,果宽为果荚最大直径。当蒴果果皮绿中泛黄、表面由饱满开始转为较粗糙时采收,蒴果采收后于天秤中称重并测量长宽。采收的成熟蒴果数占授粉花朵数的百分数计为结实率。

1.2.3 种子无菌萌发与种胚培养 将成熟果荚,用流水冲洗干净,用(乙醇) = 75% 表面擦拭,用(升汞) = 0.1% 灭菌约 10 min,再用无菌水冲洗四五次;吸干表面水分,用解剖刀纵向切开蒴果,用镊子将种子均匀撒播在培养基上。培养基配方采用改良 Hyponex 配方<sup>[6-7]</sup>: Hyponex( N - P - K = 7 - 9 - 16) 3 g/L + 蔗糖 35 g/L + 蛋白陈 3 g/L; 椰子汁 10% : 琼脂 6 g/L ( pH = 5.8 )。播种后暗培养 7 d,以防褐化。培养室白天温度( 28 ± 2) °C,晚上最低 15 °C,每天照光 12 h,光照度 1 500 lx。定期观察并记录种子萌发情况,于启动萌发后 1 个月统计萌发率,随机抽取 5 瓶统计,最后计算平均数即为萌发率。记录原球茎开始转绿色及原球茎出现第 1 片叶片的时间。

## 2 结果与分析

### 2.1 品种间自交与杂交结果率

在总共 81 个自交与杂交组合中,2 个自交组合及 17 个杂交组合获得了正常成熟的果实,占自交组合数的 22.2% 和杂交组合数的 23.6%,自交成功率低于杂交。不同品种作为母本、父本时对杂交的成功产生较大的影响,A2225 和 A4664 作母本时均未能正常结实,其中 A4664 作父本也无正常结实,表明不能作为杂交亲本;A6140 也不能作为父本;A2225 作父本时仅获 1 个成功组合,结实率也较低。以 A5626 为母本及 A3209 为父本成功组合率最高。9 个亲本组合中自交、正反交结实率不同,其中自交结实率为 16.78%,作母本时 9 个品种平均结实率为 13.63%,高于作父本时的平均结实率 12.58%。以 A5638 为母本及以 A3209 为父本所得杂交结实率最高(表 2)。

表 2 9 个亲本组合自交与杂交结果

Tab.2 The setting percentage of self-cross and hybrid among nine cultivars

母本 Female	父本 Paternal									平均
	phal079	A2225	A3670	A6140	A3209	A5638	A4664	A5626	A6136	
phal079	0.00	0.00	0.00	0.00	83.30	0.00	0.00	0.00	0.00	9.26
A2225	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
A3670	50.00	0.00	0.00	0.00	33.30	0.00	0.00	16.70	0.00	11.11
A6140	0.00	0.00	33.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	67.70	11.22
A3209	33.30	0.00	0.00	0.00	83.30	33.30	0.00	50.00	0.00	22.21
A5638	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	83.30	83.30	27.77
A4664	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
A5626	0.00	16.70	0.00	0.00	67.70	33.30	0.00	0.00	33.30	16.78
A6136	0.00	0.00	0.00	0.00	83.30	67.70	0.00	0.00	67.70	24.30
平均	9.26	1.86	3.7	0	38.88	14.92	0	16.67	27.89	

### 2.2 授粉后蒴果的生长发育及亲本的影响

授粉后,通常约于第 2 ~ 5 d 蕊腔闭合,柱头开始出现膨大;正常授粉的组合 7 ~ 10 d 子房开始膨大并形成蒴果。而不能正常授粉的花,膨大的柱头很快变黄,萎缩,最后脱落。蒴果的生长呈“S”型生长

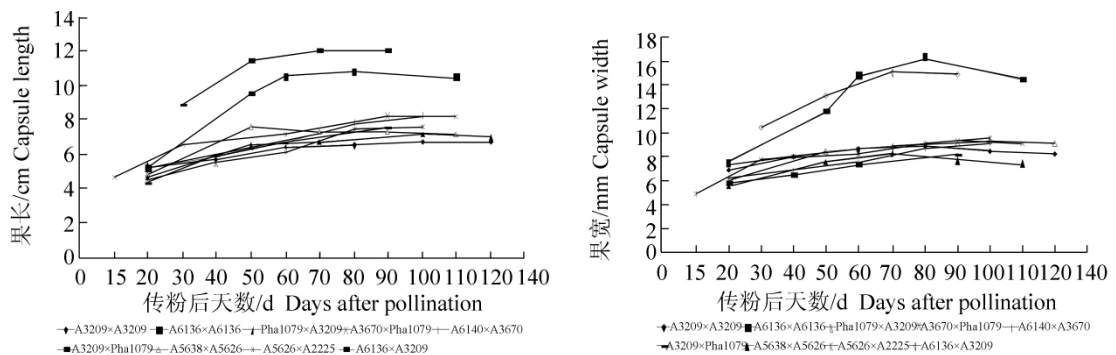


图 1 不同杂交组合蒴果的生长曲线

Fig.1 Growth and development of capsule of different hybrids

曲线,第15~50 d 蒴果快速生长,之后进入一个持续时间长、生长量小的成熟期。不同杂交组合果实快速生长和成熟持续时间有较大的差异,快速生长持续时间50~70 d。蒴果纵横径生长趋势基本相同。蒴果果荚在生长后期,由于老化,出现失水萎缩现象,相应地,其大小在后期出现下降(图1)。

### 2.3 不同组合对蒴果成熟、果实特性的影响

各组合成熟时间也有较大差异,而亲本对成熟期有较大影响。从80~118 d,相差达20~30 d。当蒴果开始失水由饱满缢缩、表面变粗糙、果皮色泽由绿转黄时,表明果内种子成熟,已可以采收,若不采收蒴果则会自行开裂。采收适期平均为(103±4) d。成熟果重、果长及果宽平均分(3.67±0.22) g、(5.50±0.43) cm、(9.37±0.54) mm;种子通常为淡黄色,少数呈现白色及黄色。自交组合与杂交组合相比,果荚采收适期及果荚大小差异不明显,而不同组合其蒴果大小及其种子量差异较大。

从2个正反交均获得正常成熟蒴果组合的结果来看,亲本正反交对果实大小有一定的影响。父本对果实的大小会产生深刻的影响,当一个亲本作父本时,蒴果长度、宽和重量均较作母本时大(如A3209, A5638)。

表3 各组合蒴果采收期、果重、大小、种子颜色、种子量

Tab.3 Effect of different hybrid combination on the ripening of capsule fruit, weight, size of the ripe capsule, seeds color and quantity

编号 Code	组合 Combination	授粉至采收的时间/d Days from pollination to capsule ripe	蒴果 Capsule			种子 Seed	
			重/g Weight	长/cm Length	宽/cm Width	数量 Amount	颜色 Colour
1	A3209 × A3209	105.00	2.17	6.70	0.821	*	黄
2	A6136 × A6136	108.00	6.34	10.50	1.51	*	白
	平均 Average	106 ± 2	4.26 ± 0.75	8.6 ± 0.50	1.18 ± 0.13		
3	Phal079 × A3209	102.00	3.64	7.20	0.93	**	黄
4	A3670 × Phal079	110.00	1.76	6.60	0.78	***	黄
5	A3670 × A3209	98.00	5.09	10.40	1.39	***	淡黄
6	A3670 × A5626	107.00	3.25	7.80	1.26	***	黄
7	A6140 × A3670	105.00	4.07	9.70	1.32	***	淡黄
8	A6140 × A6136	94.00	6.41	9.60	1.26	**	淡黄
9	A3209 × Phal079	116.00	3.84	7.40	0.97	**	淡黄
10	A3209 × A5638	104.00	3.09	8.20	0.79	**	白
11	A3209 × A5626	86.00	2.94	9.20	1.16	***	淡黄
12	A5638 × A5626	97.00	2.63	7.30	0.76	***	淡黄
13	A5638 × A6136	108.00	3.78	8.50	0.89	***	淡黄
14	A5626 × A2225	100.00	4.67	8.70	1.03	**	淡黄
15	A5626 × A3209	103.00	8.32	15.10	1.39	***	黄
16	A5626 × A5638	95.00	6.45	11.50	1.27	***	淡黄
17	A5626 × A6136	118.00	7.98	11.90	1.42	***	淡黄
18	A6136 × A3209	93.00	8.33	12.10	1.48	**	白
	平均 Average	102 ± 4	4.77 ± 0.89	9.45 ± 0.65	1.13 ± 0.07		
	总平均 Total average	103 ± 4	4.52 ± 0.15	9.03 ± 0.34	1.15 ± 0.05		

\*\*\* 为种子量高; \*\* 为种子量中等; \* 为种子量低。

\*\*\* High output of seed, \*\* Average output of seed, \* Low output of seed.

### 2.4 种胚培养

相同亲本互为父本母本时所结果实,对种子萌发、原球茎生长会产生一定程度的影响,但表现出较为复杂的情况。各组合种子于播种培养基上生长良好,均以原球茎方式生长。大部分组合无褐化现象,

只有部分组合(A3209 × Phal079、A5638 × A5626) 褐化,一定程度上影响着其萌发率大小。始萌发时出现淡绿色细小颗粒,1~2 d后转为浓绿色;而后,体积不断增大,呈现扁球形或呈不规则形状;直至分化出叶片,再分化出根而成为小植株。

种子萌发率平均为83.3%,原球茎及第1片叶出现所需时间平均分别为(21 ± 34) d及(81 ± 6) d。其中,杂交种子与自交种子相比,启动萌发所需时间较短,为(10 ± 3) d,且萌发率高,为82.0%(表4)。

表4 不同组合种子萌发状况

Tab.4 Germination in vitro of seeds from different combinations

编号 Code	组合 Combination	见原球茎所需时间/d Corm forming time	见第1片叶所需时间/d First leaf form	萌发率/% Gemination rate of seed
1	A3209 × A3209	40	92	80
2	A6136 × A6136	34	88	70
	平均 Average	37 ± 4	90 ± 4	75 ± 5
3	Phal079 × A3209	23	72	85
4	A3670 × Phal079	16	67	82.5
5	A3670 × A3209	9	83	90
6	A3670 × A5626	10	89	100
7	A6140 × A3670	13	93	100
8	A6140 × A6136	21	97	90
9	A3209 × Phal079	24	109	30
10	A3209 × A5638	8	68	70
11	A3209 × A5626	16	70	85
12	A5638 × A5626	23	65	60
13	A5638 × A6136	30	97	70
14	A5626 × A2225	33	100	90
15	A5626 × A3209	27	87	100
16	A5626 × A5638	16	76	90
17	A5626 × A6136	14	59	100
18	A6136 × A3209	19	63	70
19	A6136 × A5638	20	70	80
	平均 Average	10 ± 3	80 ± 5	82 ± 7.5
	总平均 Total average	21 ± 4	81 ± 6	83 ± 6.9

### 3 讨论

中小花型蝴蝶兰遗传背景较为复杂,从杂交结果来看,9个包括了红、白和黄色花的品种间杂交和自交率均较低,特别是自交率较低,表明在这些品种自交亲和性差;这也表现在种子活力和种子量上,可能与其在遗传上较近有关<sup>[11]</sup>,杂合亲和力和种子活力更高有利于物种的进化。

不同品种杂交能力和组合杂交亲和性有较大的差异,特别是小花类型品种中<sup>[10]</sup>。有报道在黄花系品种中常存在杂交障碍,不易获得杂交种子<sup>[9,13]</sup>,其中 *Phal. Brother Sara Gold* 作为父本和母本均未能获得正常的果实,但也有在作父本杂交时获得个别成功<sup>[9]</sup>,作为杂交育种时需慎选作亲本。而一些品种如 *Phal. Yu Pin Panda* 则不宜选作母本; *Dtps. Queen Beer* 作母本时未能结实,但授粉给 *Dtps. Scarlet in Snow* 却获得了结实,尽管结实率较低,表明同一亲本品种作父母本时育性上有一定差异。因此,需要对花粉和雌性子房的育性分别作出深入的研究分析。

本试验报道的中小花型蝴蝶兰蒴果的生长发育规律与涂美智等<sup>[5]</sup>报道类似。我们认为其生长呈“S”型曲线模型,可分为蒴果形成期、快速生长期和成熟期。快速生长速率与时间长短及受花粉刺激有

关,因此,不同组合快速生长有较大的差异。而成熟期主要是受精发生和种子发育阶段,果实变化较小,但持续时间长,时间的变化表明受精发生的时间不一。也就是说,不同组合从授粉到受精所需时间不同,但受何者影响较大需进一步研究。正反交对蒴果大小有不同影响,表明蒴果和种子形成不仅受母本的影响,也与花粉的刺激有关。

授粉时期和果荚成熟度会对种子发芽产生影响<sup>[5]</sup>,但更大程度上受到不同杂交组合的影响,不同花色间杂交种子活力更高,总体上杂交组合种子的萌发率比自交组合高,表明与杂合性也有一定关联。

#### 参考文献:

- [1]许申平,张腾飞,廖飞雄,等.蝴蝶兰种质资源与育种研究[J].中国园艺文摘,2010,26(5):27-30.
- [2]Tippit B. Hybridizing *Phalaenopsis*. Part ( I ): A survey of the genus , inheritance of characteristics and selecting breeding stock [J]. Orchids ,1997 ,66: 11 ,1180 -1186.
- [3]Tsai C C ,Chiang Y C ,Huang S C , et al. Intergeneric hybridization , embryo rescue and molecular detection for intergeneric hybrids between *Ascocenda* and *Phalaenopsis* [J]. Acta Horticulturae ,2009 ,829: 413 -416.
- [4]周建金,曾瑞珍,刘芳,等.不同倍性蝴蝶兰杂交后代的染色体倍性研究[J].园艺学报,2009,36(10):1491-1497.
- [5]涂美智,李晖.蝴蝶兰授粉适期与果荚成熟度对种子发芽的影响[J].中国园艺,1987(33):190-200.
- [6]王建亚,王冬云,蔡桁,等.蝴蝶兰的杂交和无菌播种技术[J].湖北林业科技,2007,164(4):69-70.
- [7]钟士传,王侠礼.蝴蝶兰授粉与种胚培养技术[J].林业实用技术,2004,11:22-23.
- [8]曾碧玉,朱根发,刘海涛.蝴蝶兰红花系品种间杂交结果率研究[J].华南农业大学学报,2007,28(1):117-119.
- [9]俞继英,张阳,郑锦凯,等.蝴蝶兰黄花系品种 *Phalaenopsis* ‘Taipei Gold’ 和 *P.* ‘Sara Gold’ 杂交及其后代的遗传表现[J].浙江林学院学报,2010,27(4):550-553.
- [10]Kim Mi Seon , Lee Young Ran , Cho Hae Ryong , et al. Breeding of small type and yellow colored *Phalaenopsis* “Yellow Dream” [J]. Korean Journal of Breeding Science ,2009 ,41: 2 ,145 -148.
- [11]李娜,廖飞雄.中小花型蝴蝶兰品种分类性状主成分与聚类分析[J].江西农业大学学报,2009,31(2):231-236.
- [12]Harper T. Multiflora *Phalaenopsis* [J]. American Orchid Society Bulletin ,1993 ,62: 2 ,126 -133.
- [13]莊画婷,徐善德,沈再木.黄花蝴蝶兰育种障碍之表现[J].台湾园艺,2008,54(1):59-66.
- [14]Tippit B. Hybridizing *Phalaenopsis* Part ( II ): Case studies educate the potential hybridizer before actually making a *Phalaenopsis* cross [J]. Orchids ,1997 ,66: 12 ,1291 -1297.
- [15]Chen W H , Tsai W T , Chyou M S , et al. The breeding behavior of *Phalaenopsis equestris* ( Schauer ) Rehb f [J]. Taiwan Sugar ,2000 ,47: 1 ,11 -14.
- [16]Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems [J]. Aust J Sci ,1956 ,9 ( 4 ): 463 -493.