

兰花育种研究进展

王卜琼 李枝林* 余朝秀

(云南农业大学花卉研究所, 昆明 650201)

摘要: 综述了兰花资源、育种研究进展, 阐明种质资源和组织培养是兰花育种的基础, 多种育种途径有效结合是今后培育兰花的主要方法。

关键词: 兰花; 种质资源; 育种; 组织培养

中图分类号: S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 03-0551-06

Progress on Orchid Breeding Study

Wang Buqiong, Li Zhilin*, and Yu Chaoxiu

(Flowers and Plants Research Institute, Yunnan Agriculture University, Kunming 650201, China)

Abstract: This article summarizes the study progress in orchid source and breeding, and expounds that germplasm source and tissue culture are the foundation of orchid breeding. It also sets forth that the key way to breed brand orchid for the future is effective union of breeding methods.

Key words: Orchid; Germplasm; Breeding; Tissue culture

广义的兰花是兰科植物 (Orchidaceae) 的统称, 但中国传统上所称的兰花常常是指兰科中以兰属 (*Cymbidium*) 为主的具有较高观赏价值的一些种类; 而国兰 (Native *Cymbidium* of China) 是指兰属中的地生兰, 其味幽香, 花色淡雅, 具有很高的观赏价值。目前国兰品种改良进展缓慢, 主要的育种方法仍是传统的驯化育种。为解决市场需求与国兰新品种缺乏的矛盾, 人们对国兰进行了多途径的育种研究。

1 兰花种质资源

1.1 资源

兰花资源是兰花育种的前提。兰科 (Orchidaceae) 是有花植物中最大的科之一, 全世界约有 700 属 20 000 种^[1], 主要产于热带地区。我国是兰属植物分布中心之一, 且以地生兰为主, 种质资源十分丰富。已知有 171 属 1 247 种^[2], 其中 2/3 为热带或亚热带地区的附生或地生兰, 1/3 为温带地区的地生兰。约 450 种兰花具有较高的观赏价值, 113 种有药用价值。我国兰花具有从原始到高级类型、从热带到寒带种类的高度多样性, 各省 (自治区、直辖市) 均有野生兰花生长, 集中分布在长江流域和西南、东南地区, 其中云南约 100 属 530 余种, 是世界上兰花最丰富的地区之一。除已报道的种类外, 近年仍不断发现其野生种, 如 1996 年云南发现蝴蝶兰新种 (*Phalaenopsis chaxiongensis*) 和兰属新种 (*Cymbidium magauense*) 等^[3]。我国的野生兰花中有许多材料姿、色、形、味均很特殊, 具有较高的观赏和经济价值, 也是优良的育种材料。如兜兰属 (*Paphiopedium*)、杓兰属 (*Cypripedium*)、独蒜兰属 (*Pleione*)、兰属 (*Cymbidium*)、万代兰属 (*Vanda*) 和石斛属 (*Dendrobium*) 等, 亚热带地区还具有丰富的特有兰科植物, 如独蒜兰 (*Pleione*)、虾脊兰 (*Calanthe*)、独花兰

收稿日期: 2004 - 10 - 09; 修回日期: 2005 - 02 - 02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (3060074); 云南省自然科学基金重点项目 (2002C003P)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: LZL-YN@sohu.com)

(*Changnienia amoena*)、槽舌兰 (*Hicoglossum*) 以及其他地生兰类。兰花多为二倍体植物, 选择优异种质为亲本进行多途径育种往往会产生突破性进展并获得满意的效果。

我国的兰花资源中约一半以上产于云南, 仅西双版纳就有 96 属 341 种。目前兰属的 48 个种中, 中国有 30 个种和 4 个变种, 云南有 27 个种和 3 个变种。其中果香兰 (*Cymbidium suavisimum*)、滇虎头兰 (*Cymbidium wilsonii*)、碧玉兰 (*Cymbidium lowianum*)、文山红柱兰 (*Cymbidium wenshanense* YS Wu et FY Liu)、大雪兰等为云南特有。此外, 云南碧罗雪山的杏黄兜兰 (*Paphiopedilum amnicum* SC Chen et FY Liu) 和文山的麻栗坡兜兰 (*Paphiopedilum malipoense* SC Chen et Tsi) 为世界级珍品。云南兰花的色彩十分丰富, 尤以纯红、纯黄、青紫和纯黑为贵。这在兰花的观赏和开发上有着极其重要的意义。云南丰富的兰花资源为引种驯化、品种改良和产业开发提供了物质基础。

1.2 地理分布

我国兰属植物以西南分布最多, 其次在东南地区。春兰 (*Cymbidium goeringi*) 与蕙兰 (*Cymbidium*) 较耐寒, 分布较靠北, 甘肃南部、陕西秦岭以南、河南、安徽、湖北、湖南、江西、浙江、江苏、台湾、福建、广西、四川、贵州、云南、西藏以及广东北部等地都有分布。建兰 [*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw] 则分布在浙江南部、江西、福建、台湾、广东、广西、贵州、四川、云南等地。墨兰 [*Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.] 分布地区较狭窄, 在台湾、福建南部、广东、海南、广西、云南等省有分布。虎头兰 (*Cymbidium horerianum*)、黄蝉兰 (*Cymbidium giganteum*)、西藏虎头兰 (*Cymbidium tracyanum* L. Castle) 等一类大花型的附生种, 只在四川、云南、西藏、贵州、海南等省区比较温暖之处才有分布。硬叶兰 (*Cymbidium bicolor* Lindl.)、纹瓣兰 [*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw]、多花兰 (*Cymbidium floribundum*)、美花兰 (*Cymbidium insigne* Rolfe)、冬凤兰 (*Cymbidium dayanum*)、象牙白花兰 (*Cymbidium eburneum*) 等多在海南发现。独占春 (*Cymbidium eburneum* Lindl.)、大雪兰 (*Cymbidium eburneum* var. *nutans*)、套叶兰 (*Cymbidium cyperifolium*)、大根兰 (*Cymbidium macrorhizum* Lindl.)、短叶虎头兰 (*Cymbidium wilsonii* Veitch) 等则发现于云南、西藏。兰属植物在台湾分布也很广。

2 组织培养与兰花育种

兰花的组织培养始于 20 世纪 60 年代, Morel 采用大花蕙兰的茎尖在含有细胞分裂素的 KC 培养基上诱导形成原球茎并分化成植株^[4]。目前, 已有 70 个属的兰花可采用离体培养方法进行后代繁殖^[5]。兰花用于组织培养的器官, 除茎尖、叶片和种子外, 花瓣、萼片、子房、花梗^[4,6]、侧芽^[6]、花芽、茎段、根尖^[1]也是很好的材料。

试验证明, 植物生长调节剂能够诱导胚发育成原球茎, 还可加快个体发生^[7], 提高种子的萌发率^[8]。目前常用的主要有生长素类 (IAA、2,4-D 和 NAA) 和细胞分裂素类 (BA 和 KT)。其浓度、种类以及不同的组合所起的作用不同, 不同的兰花品种其生长发育各阶段所需的植物生长调节剂也不同。Seeni 和 Latha 提出, BA 在兰花组培中对叶诱导与芽增殖起着重要的作用^[9]。谷祝平报道, 较高浓度的 BA 能促进大花蕙兰原球茎的增殖, 较低浓度的 BA 促进原球茎分化^[10]。一般而言, 较高浓度的 NAA 对诱导原球茎有较好效果。6-BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 对茎芽分化有利^[10], 6-BA 1 mg/L + NAA 0.1 mg/L 对花芽分化有利。而 NAA 为 15 mg/L 对诱导根效果较好^[11]。2,4-D 还可以促进愈伤组织的形成。据有关资料显示, 热带兰的组织诱导、原球茎增殖及分化一般需用较高浓度细胞分裂素与低浓度生长素的配合。但在国兰芽端诱导培养中, 生长素使用浓度范围较大 (1.0 ~ 5.0 mg/L), 生长素浓度一般高于细胞分裂素, NAA 诱导效果好于 2,4-D 和 BA。

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis*)、文心兰 (*Oncidium*)、大花蕙兰 (*Cymbidium*) 等的组培技术已经相当成熟, 基本上可形成工厂化生产。国兰的组培近几年也取得了很大进展, 很多种类都已培育出试管苗, 如春兰、虎头兰、墨兰等。但因组培难度大, 研究基础差, 目前生产上仍以分株繁殖为主。随着经济

的发展和对国兰需求量的增加,传统的分株繁殖将满足不了市场需求,解决国兰的组培难点就显得尤为重要。可以这样说,国兰的组培技术不突破,就不可能进行现代技术育种和产业化开发。

3 兰花育种研究进展

3.1 引种驯化育种

我国兰花资源中一些野生种具有很高的观赏价值,是最适宜引种驯化的种类。目前我国栽培的国兰品种绝大多数都是由野生种类引种驯化而来。在引种驯化过程中,应重点选择观赏价值高的野生种,首先应引种到与原产地生态条件相近的地区栽培驯化,然后再引种到其他地区用人工设施创造与兰花要求相近的环境进行栽培。引种后应加强温、光、水、肥及通风管理,在适宜的温度条件下,应特别注意栽培基质配制和卫生、遮荫度、水质、空气湿度的控制及病虫害防治。兰花忌施浓肥,应遵循“宜勤而淡,忌骤而厚”的原则。兰花的遮荫度要根据不同种类进行调节^[12]。过去,引种驯化所得的新品种靠传统的分株方法进行繁殖,其产生商品效应的时间长,不能满足市场发展的需求。因此,寻找有效的良种繁育方法势在必行。在野生兰花资源不断遭到破坏,资源逐步枯竭的情况下,采用引种驯化的育种方法几率会逐渐减小,但其基础作用永远不会被抹灭。

3.2 杂交育种

长期以来,兰花的育种以自然选种为主,自种子无菌萌发成功后,开展了兰花品种间、种间及属间的杂交育种。选育新品种在附生兰的品种改良上已获得了巨大成功。据“国际散氏兰花种杂种登记目录”(Sander's list of orchid hybrids)记载,人工杂种约在4万种以上,而且还以每年1000种以上的速度增加。仅远缘杂交就已育成由7个属杂交产生的集体杂种^[13]。四川省农业科学院生物技术核技术研究所于1990年育出‘寒春’、‘笑春’两个新品种。张志胜等从1996年开始用杂交、辐射和外源基因导入等手段对墨兰等进行改良,获得了一批杂交种子。其后,有关杂交新种育成的报道很少。今后将仍以人工杂交获得F₁代基础材料,结合组织培养扩大繁殖,从中选育出优质新品种作为基本的研究途径。如春兰品种可从种内杂交如梅瓣型与蝶花杂交求得梅瓣型蝶花;种间杂交如春兰×春剑、春兰×寒兰、春兰×蕙兰、春兰×多花兰等。

利用国兰与洋兰作亲本进行杂交育种具有广阔的前景,此途径可育出既艳丽又有香味的兰花新品种。麦奋用中国传统的春兰——翠盖与垂花性杂交蕙兰成功培育出具有双亲半数特征的新品种^[13]。张志胜等对兰花的杂交育种进行了研究,发现国兰各种间杂交极易成功,属内杂交也易成功,属间杂交较难^[14]。作者认为,可通过一些成熟的生物技术,激素调控等手段解决杂交难题,杂交育种对于改良我国兰花品种前景广阔。

兰花种子的萌发,是杂交育种的一个技术难点,其在组培条件下的无菌萌发已成为主要途径。兰花种子很小,内含一些发育不完全的球形胚,无胚乳,自然状态下很难萌发。19世纪前,兰花种子萌发还不为人知,有人甚至认为兰花种子不能萌发^[10]。Bernard以眉兰属(*Ophrys* L.)的块茎配制培养基,使卡德丽亚兰(*Cattleya*)与蕾丽亚兰(*Laelia*)杂交种子成功萌发,开创了非共生萌发的先例^[15]。随后其他研究者用非共生萌发,使齿瓣兰(*Odontoglossum crispum*)、蝴蝶兰(*Phalaenopsis* spp.)、石斛兰(*Dendrobium nobile*)、文心兰(*Oncidium*)、兜兰(*Paphiopedium*)等种子培育成苗^[16]。兜兰的种子无菌培养在国外已获成功,并有商业产品出售,而国内培养至今有关报道极少。黄花杓兰(*Cypripedium flavum*)和紫点杓兰(*Cypripedium guttatum*)种子无菌萌发已由昆明植物所胡虹等培养成功。有关资料显示,有些兰种未成熟的种子或接近成熟的种子比成熟的种子更容易萌发^[17]。一般认为,这些种类的种子一旦成熟就可能进入休眠期,或随着种子的成熟而成活率降低。仙人指甲兰(*Aerides*)、卡德丽亚兰(*Cattleya*)、树兰(*Epidendrum*)、文心兰(*Oncidium*)、蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)和万代兰(*Vanda*)等10个属的19个种和15个杂交种的萌发试验证明,未成熟种子的确能很好萌发,最短接种时间为授粉后40~85 d,但如果种子胚珠发育不全就不能萌发生长^[18]。

播种前进行适当的预处理可以提高种子的萌发率。预处理的方法有多种,但主要有物理方法(机械损伤、超声波低温处理等)和化学方法(0.1 mol/L NaOH溶液、 H_2O_2 、蔗糖溶液等)。用于兰花种子萌发的培养基有 Knudson C, Kyoto, Vajrabha, Hyponex (花宝), MS等。Nagaraju等报道, Ks培养基对黄蝉兰种子的萌芽最有利^[19]。在培养基中添加适量的天然提取物有利于兰花种子的萌发和生长。通常在培养基中添加的天然提取物有椰子汁、番茄汁、蛋白胨、酵母提取液、水解蛋白、苹果汁、香蕉汁等。

3.3 诱变育种

物理诱变和化学诱变方法已广泛应用于兰花育种。辐射诱变结合组织培养,能加速花卉新品种的育成与变异性的稳定^[20]。以春兰种子和茎尖为外植体进行组织培养,形成原球茎后,用紫外光和秋水仙素进行人工诱变,得到变异植株^[21]。Mazumder和 Bhowmik用 γ 射线和 EMS对紫花苞舌兰(*Spathoglottis Plicata*)的原球茎进行处理获得了8个叶绿素的突变体。徐卫辉等^[22]认为,在适当剂量的紫外光照射下,细胞无丝分裂染色体不出现复杂变化,也不发生纺锤体的聚合和解聚等过程。无丝分裂直接造成培养细胞的核物质部分减少,并使同一个体不同细胞间的倍性出现差异,从而导致非整倍体的产生。较高剂量的紫外光照射则可导致细胞核变形、皱缩,线粒体液泡化。在高浓度的激素作用下,万代兰属花色发生变异,蕙兰属花瓣变厚,蝴蝶兰属整个植株发生变异。X射线能诱导大多数兰花花色向红色变异。

3.4 基因工程育种

兰科植物对根癌农杆菌或发根农杆菌不敏感,缺乏合适的载体,基因工程起步较晚,进展缓慢^[1]。Yang等从一种石斛兰分离出了色素合成基因,且得以高效表达,并用电子枪轰击法将克隆的蕙兰花叶病毒外壳蛋白基因导入兰花的原球茎和愈伤组织,得到较高的转化表达^[23],给兰花基因工程带来了转机,取得了不少进展。如利用粒子轰击法将含有 *GUS-NT*和 *NPTII*基因转入到兰花的原球茎中,并获得正常表达,得到转基因的兰花苗^[24];有人将 *bar*基因转入到3个兰花属(*B. russia*, *Cattleya*和 *Doritiopsis*)并获得了功能表达^[25]。通过与根癌农杆菌协同培养法^[26, 27],将外源基因插入到兰花基因组中,能引起幼苗变异。Yu等^[27]将含有 *DOH I*基因土壤杆菌 LBA4404接种到原球茎的切片上并进行共同培养,基因能在组培苗中表达,形成不正常的多态茎植株。Belamino等^[28]使用悬浮细胞为靶材料成功转化了蝴蝶兰;利用 *Gus*报告系统已经建立了石斛兰^[27, 29~30]、蝴蝶兰^[28, 31, 32]、大花蕙兰^[33]与文心兰^[34]的农杆菌介导遗传转化体系或基因枪直接转化体系;Kuehnle^[35]等用带有植物表达的 *NOS-NPT* 基因和番木瓜病毒 (PRV) 膜蛋白 (*CP*) 基因的质粒 pGA482GG/cpPRV4包被的微粒轰击石斛的原球茎得到了转基因植株。

4 展望

4.1 目前该领域研究虽然广泛,但多集中于组织培养上。虽在热带兰方面已取得了可观成就,但国兰的研究由于面临种种技术难题而进展缓慢,育种和组培繁殖都是今后的重要研究课题。

4.2 中国兰花要走向世界,必须立足育种资源,选择优良切花型和盆栽型亲本,培育出具有自主知识产权的品牌品种,才能在竞争中站稳脚跟,立于不败之地。我国兰花资源十分丰富,利用优异资源培育大花型、绚丽多姿、幽香飘逸且抗逆性强的品种将是今后兰花育种的一个重要取向。而以组织培养为主要手段,开展兰花的多途径综合育种,尤其是开展种属间杂交结合染色体加倍而形成的异源四倍体(即双二倍体)具有广阔的前景^[36]。

4.3 要振兴国兰事业,必须赋予其新的内容,除培育大众化商品兰外,还须在高档兰花及兰花的包装艺术、兰花造型、兰花造景等方面拓展,提高兰花的品位。国外的经验也值得借鉴,如韩国艺兰家将从中国进口的风兰经过精心加工和布置在水石盆景上,身价增加几十倍甚至上百倍。

参考文献:

- 1 陈心启, 罗毅波. 中国兰科植物研究的回顾和前瞻. 植物学报, 2003, 45 (增刊): 2~20
Chen X Q, Luo Y B. Review and prospects about studying of Chinese Orchidaceae. Acta Botanica Sinica, 2003, 45 (supl): 2~20 (in Chinese)
- 2 丁 兰, 付庭治. 兰花生物工程研究进展. 西北师范大学学报 (自然科学版), 2000, 36 (3): 111~116
Ding L, Fu T Z. Progress of study on biotechnology of orchid. Journal of Northwest Normal University (Natural Science Edition), 2000, 36 (3): 111~116 (in Chinese)
- 3 程金水. 园林植物遗传育种学. 北京: 中国林业出版社, 2000, 263~289
Cheng J S. Landscape plant genetic and breeding science. Beijing: Chinese Forestry Press, 2000, 263~289 (in Chinese)
- 4 Morel G. Producing virus-free *Cymbidium*. Am. Orchid Bull, 1960, 29: 495~497
- 5 陈发兴, 林顺权, 王家福, 赖钟雄. 兰花繁殖技术研究进展. 福建农林大学学报 (自然科学版), 2002, 31 (4): 476~479
Chen F X, Lin S Q, Wang J F, Lai Z X. Advances in the micropagation and breeding of orchid. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2002, 31 (4): 476~479 (in Chinese)
- 6 王怀宇. 蝴蝶兰的快速无性繁殖. 园艺学报, 1989, 16 (1): 74~77
Wang H Y. Rapid clonal propagation of *Phalaenopsis* by tissue culture. Acta Horticulturae Sinica, 1989, 16 (1): 74~77 (in Chinese)
- 7 王 熊. 地生兰 (*Cymbidium*) 个体发生途径研究. 植物生理学报, 1990, 16 (3): 264~270
Wang X. Studies on the ontogenesis of terrestrial *Cymbidium* in vitro. Acta Physiologica Sinica, 1990, 16 (3): 264~270 (in Chinese)
- 8 田梅生, 王伏熊, 钱南芬. 四季兰种子离体萌发及器官建成的研究. 植物学报, 1981, 7 (2): 203~206
Tian M S, Wang F X, Qian N F. Studies on seed germination and organogenesis of *Cymbidium*. Acta Botanica Sinica, 1981, 7 (2): 203~206 (in Chinese)
- 9 Seeni S, Latha P G. Foliar regeneration of the endangered Red vanda, *renanthera inschootiana* Rolfe. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1992, 29: 167~172
- 10 谷祝平, 颜廷进. 大花蕙兰茎尖组织培养及其形态建成的研究. 实验生物学报, 1989, (2): 149~151
Gu Z P, Yan T J. Studies on tissue culture of shoot tip and morphogenesis of *Cymbidium faberi*. Acta Biologica Experimentalis Sinica, 1989, (2): 149~151 (in Chinese)
- 11 Constatin J. The development of orchid cultivation and its bearing on evolutionary theories. Smithson Inst Ann Rep., 1913, (1): 345~358
- 12 韩学俭. 春 (蕙) 兰及其栽培技术. 四川农业科技, 2002, (6): 23
Han X J. *Cymbidium* and physiology. Sichuan Agricultural Science and Technology, 2002, (6): 23 (in Chinese)
- 13 麦 奋. 兰花育种其乐无穷. 中国花卉园艺, 2002, (12): 20~21
Mai F. More interesting of orchid breeding. China Flowers & Horticulture, 2002, (12): 20~21 (in Chinese)
- 14 张志胜, 何琼英, 傅雪琳, 欧秀娟, 林伟强, 蒋俊岳. 中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究. 华南农业大学学报, 2001, 22 (2): 62~65
Zhang Z S, He Q Y, Fu X L, Ou X J, Lin W Q, Jiang J Y. Studies on the wide cross of Chinese orchids and the germination of their hybrid seeds. Journal of South China Agricultural University, 2001, 2 (2): 62~65 (in Chinese)
- 15 Bernard N. Levolution dans la symbiose les orchidees et leurs champignons commensaux. Ann. Sci. Nat. Bot. Ser., 1909, 9 (9): 1~196
- 16 Arditti J. Factors affecting the germination of orchid seeds. Botan. Rev., 1967, 33: 1~97
- 17 Arditti J, Michand J D, Oliva A P. Seed germination of North American orchids. Bot. Caz., 1981, 142 (4): 442~453
- 18 Sagawa Y, Valmayor H L. Embrya culture of orchid. In: De Gamio L R ed. Proc. 5th World Orchid Conf, 1966. 99~101
- 19 Nagaraju V, Parthasarathy U A. In vitro micropagation of *Cymbidium giganteum*. Indian Journal of Horticulture, 1999, 56 (3): 270~273
- 20 丁慧清, 张道旭, 姚 远. 辐射与组培相结合能加速花卉新类型的产生与稳定. 辽宁农业科学, 1991, (2): 49~51
Ding H Q, Zhang D X, Yao Y. Combining of radiating and tissue culture can quicken new horticultural type's production and stabilizing. Liaoning Agricultural Sciences, 1991, (2): 49~51 (in Chinese)
- 21 林 芬, 邓建国. 春兰人工诱变的研究. 湖南农业大学学报, 1997, 23 (4): 336~340
Lin F, Deng J G. Studies on artificial induce of *Cymbidium*. Journal of Hunan Agricultural University, 1997, 23 (4): 336~340 (in Chinese)
- 22 徐卫辉, 邓国础. 紫外光照射对兰花原球茎增殖、分化和超微结构的影响. 激光生物学报, 1995, 4 (3): 700~703
Xu W H, Deng G C. Effect of multiplication, differentiation and ultrastructure of orchid PLB by using UV. Acta Laser Biology Sinica, 1995, 4 (3): 700~703 (in Chinese)
- 23 Yang H H, Chua N H. Isolation and characterization of genes involved in the pigment biosynthesis of orchids. Proceedings of 13th World Orchid Conference, 1990. 48
- 24 Yang J, Shin D H, Oh S K. Genetic transformation of *Cymbidium* orchid by particle bombardment. Plant Cell Reports, 1999, 18 (12): 978~984
- 25 Knapp J E, Kausch A P, Chandless J M. Genetic transformation and hybridization: transformation of three general of orchid using the bar gene as a selectable marker. Plant Cell Reports, 2000, 19 (9): 893~898
- 26 Belamino M M, Mii M. *Agrobacterium* mediated genetic transformation of a *Phalaenopsis* orchid. Plant Cell Reports, 2000, 19 (5): 435~442
- 27 Yu H, Yang S H, Goh C J. Genetic transformation and hybridization: *Agrobacterium* mediated transformation of a *Dendrobium* orchid with

- the class 1 knox gene *DOH1*. *Plant Cell Reports*, 2001, 20 (4): 301 ~ 305
- 28 Belamino M M, Mii M. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of a *Phalaenopsis* orchid. *Plant Cell Reports*, 2000, 19: 435 ~ 442
- 29 Men S, Ming X, Wang Y. Genetic transformation of two species of orchid by biolistic bombardment. *Plant Cell Reports*, 2003, 21: 592 ~ 598
- 30 Yu Z H, Chen M Y, Nie L. Recovery of transgenic orchid plants with hygromycin selection by particle bombardment to protocorms. *Plant Cell*, 1999, 58: 87 ~ 92
- 31 Chai M L, Xu C J, Senthil K K. Stable transformation of protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* orchid mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Scientia Horticulturae*, 2002, 96 (1): 213 ~ 224
- 32 谢永祥, 许聪耀, 黄鹏林. 应用基因枪法于蝴蝶兰基因转殖之研究. *中国园艺 (台湾)*, 1995, 41 (3): 174 ~ 185
- Xie Y X, Xu C Y, Huang P L. Studies on genic transmission and reproduce of *Phalaenopsis* by using genic gun. *China Horticulture (Taiwan)*, 1995, 41 (3): 174 ~ 185 (in Chinese)
- 33 Sanchez M L. Micropropagation of *Cyrtopodium* (Orchidaceae) through root-tip culture. *Lindleyana*, 1988, (3): 93 ~ 96
- 34 Liao C H, You S J, Prasad V, Hsiao H H, Lu J C, Yang N S, Chan T. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of an *Oncidium* orchid. *Plant Cell Reports*, 2003, 21 (10): 993 ~ 998
- 35 Kuehnle A R, Sugii N. Transformation of *Dendrobium* orchid using particle gun bombardment of protocorms. *Plant Cell Reports*, 1992, 11: 484 ~ 488
- 36 徐宏英, 赵玉明, 谢海军, 王 芳. 大花蕙兰组培快繁影响因素的分析. *园艺学报*, 2002, 29 (2): 183 ~ 185
- Xu H Y, Zhao Y M, Xie H J, Wang F. Analysis on factors affecting in vitro propagation of large-flowered hybrids of *Cymbidium*. *Acta Horticulture Sinica*, 2002, 29 (2): 183 ~ 185 (in Chinese)

蝴蝶花的组织培养和根状茎的诱导

赵宏波 陈发棣* 房伟民 张 聂 郭维明 (南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

Tissue Culture and Induction of Rhizomes in Vitro of *Iris japonica*

Zhao Hongbo, Chen Fadi*, Fang Weinan, Zhang Nie, and Guo Weiming (College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

关键词: 蝴蝶花; 组织培养; 根状茎

中图分类号: S 68 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 03-0556-01

蝴蝶花 (*Iris japonica* Thunb.) 是鸢尾科鸢尾属的多年生常绿宿根草本植物, 地下有横走的根状茎; 耐荫, 是良好的耐荫地被植物。

试验于 2003 年 10 月至 2004 年 5 月进行。选择健康的蝴蝶花植株, 取地下的根状茎, 选带节的茎段作为外植体, 用洗洁精溶液浸泡 4 ~ 5 min, 采用 75% 乙醇 60 s 结合 0.1% HgCl_2 12 min 进行灭菌。根状茎在培养基 $\text{MS} + 6\text{-BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 25 °C 下黑暗培养, 腋芽出芽率达 65.4%。黑暗比光照更有利于腋芽的萌发, 可能是由于蝴蝶花是阴性植物; 在自然条件下其根状茎的生长和顶芽的萌发处于暗环境, 离体条件下黑暗培养更符合其对生境的要求。萌发的腋芽在增殖培养基 $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 弱光 (1000 lx) 下增殖系数最高, 达到 7.9。在不定芽增殖过程中, 诱导产生了离体根状茎, 在几种培养基上, 随着 6-BA 浓度升高和 KT 的添加, 根状茎的比例极显著地降低, 以培养基 $\text{MS} + 6\text{-BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 最为适宜, 根状茎诱导率为 84.8% (表 1)。由于根状茎节多, 作为进一步继代繁殖的材料时其增殖系数将更大, 可以减少继代次数, 缩短繁殖时间。生长至高 2 cm 以上的不定芽诱导生根, 在培养基 $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭, 光照条件下既能诱导适量的根 (每株 4.2 条), 又能壮苗。将生根植株移栽到已经过高压灭菌的珍珠岩中, 保湿, 成活率达 100%。

表 1 根状茎的诱导情况

Table 1 Induction of rhizomes

培养基 Medium	接种数 Na of explants	植株总数 Na of shoots	不定芽数 Na of adven- titious buds	根状茎数 Na of rhizomes	根状茎比例 Rhizome ratio (%)
	40	138	21	117	84.8 aA
	37	182	100	82	45.1 bB
	40	180	163	17	9.40 cC
	39	272	256	16	5.90 dC

Note: $\text{MS} + 6\text{-BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MS} + 6\text{-BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

收稿日期: 2004 - 09 - 16; 修回日期: 2005 - 01 - 31

*通讯作者 Author for correspondence