

黄蝉兰与长叶兰杂交试验及其种子无菌萌发

赵珺雯¹ 王 瑞¹ 朱荣杰² 王 芳¹ 邢 震^{1*}

(1. 西藏农牧大学 资源与环境学院, 西藏兰科植物资源研究中心, 西藏高原森林生态教育部重点实验室;
2. 西藏自治区农牧科学院 蔬菜研究所, 西藏林芝 860000)

摘要 为培育兰花新品种, 本研究选用黄蝉兰 (*Cymbidium iridioides*) 和长叶兰 (*C. erythraeum*) 为研究对象, 进行了杂交试验, 并在无菌条件下对黄蝉兰与长叶兰的杂交种子进行了培养。结果表明: 1. 两种兰属植物正反交均能够获得蒴果, 结果率 100%; 但果实成熟所需时间不同, 表现出受母本遗传基因主控、成熟期滞后的超亲遗传现象。2. 黄蝉兰与长叶兰正反交获得的种子有胚率分别为 99.16% 和 100%, 且种子与胚的变异系数低, 种子形态稳定; 3. 试验条件下, 添加蔗糖 30 g/L、琼脂 7 g/L、活性炭 1 g/L 的 1/2MS、花宝 1 号、MS、KC 四种培养基, 都能够让黄蝉兰×长叶兰的杂交种子无菌萌发形成原球茎; 但 KC 最适合, 萌发率 35.17%。

关键词 黄蝉兰; 长叶兰; 杂交育种; 种子形态; 无菌萌发

中图分类号: S682.31

文献标志码: A

文章编号: 2096-4781 (2026) 04-0461-07

DOI: 10.19707/j.cnki.jpa.2026.04.004

Hybridization Experiment of *Cymbidium iridioides* and *Cymbidium erythraeum* and Hybrid Seed Aseptic Germination

ZHAO Junwen¹, WANG Rui¹, ZHU Rongjie², WANG Fang¹, XING Zhen^{1*}

(1. College of Resources and Environment, Orchid Conservation Center of Xizang(OCCX), Xizang Plateau Forest Ecology Key Laboratory of the Ministry of Education, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University; 2. Vegetable Research Institute, Xizang Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Linzhi, Xizang 860000, China)

Abstract: In order to get a new cultivar of *Cymbidium*, a hybridization experiment was conducted between *Cymbidium iridioides* and *C. erythraeum*, and hybrid seeds from *C. iridioides* × *C. erythraeum* were cultured under aseptic conditions. The results showed: 1. capsules can form up-to 100% through cross or reciprocal cross between *C. iridioides* and *C. erythraeum*, but maturation periods differ, which shows dominance of maternal genetic inheritance, and hyper-parental inheritance phenomenon with delayed maturity. 2. The embryo rates of seeds from *C. iridioides* × *C. erythraeum* were 99.16% (cross) and 100% (reciprocal cross); respectively, with low variation coefficients and stable seed morphology. 3. Under experimental conditions, four culture media-1/2 MS, MS, KC, and Hyponex NO. 1-supplemented with 30 g/L sucrose, 7 g/L agar, and 1 g/L activated carbon, all enabled the aseptic germination to protocorms of hybrid seeds from *C. iridioides* × *C. erythraeum*. However, KC was proved to be the most suitable culture medium, with a 35.17% germination

收稿日期: 2025-09-11

作者简介: 赵珺雯 (1999-), 女, 汉族, 云南红河人, 硕士生。研究方向: 主要从事兰科植物菌根真菌共生培养方面的研究。

通信作者: 邢 震 (1973-), 男, 汉族, 江苏南京人, 教授, 博士。研究方向: 主要从事西藏资源植物多样性保护方面的研究。

基金项目: 西藏自治区科技计划项目: 雅江下游濒危兰属资源抢救性保护与人工繁育体系构建 (XZ202401ZY0036)。

rate.

Key words: *Cymbidium iridioides*; *Cymbidium erythraeum*; Cross-breeding; Seed morphology; Aseptic germination

兰科植物 (Orchidaceae) 包括 5 亚科 801 属近 3 万种植物, 是单子叶植物中最大的 1 个科, 约占所有种子植物种类的 10%^[1,2]。全世界约有 80 种兰属植物 (*Cymbidium* Sw.), 我国已知的兰属植物有 50 多种, 占全球的一半以上, 是兰属植物的分布中心之一^[3-6]。

兰属植物栽培历史悠久。其中, “中国兰” 多指兰属植物中的一部分地生种 (如春兰 (*C. goeringii* (Rchb. f.) Rchb. F.)、蕙兰 (*C. faberi* Rolfe)、建兰 (*C. ensifolium* (L.) Sw.)、墨兰 (*C. sinense* (Jack. ex Andr.) Willd.) 和寒兰 (*C. kanran* Makino) 等 11 个种及其品种), 其栽培至少可以追溯到唐代, 且多数传统品种由野生种引种驯化而来^[7,8]; 而兰属植物中的附生种, 多列入 “洋兰” 系列, 如独占春、碧玉兰、象牙白、美花兰、虎头兰、西藏虎头兰、黄蝉兰、长叶兰、莎草兰、大雪兰等种及其培育的诸多 “大花蕙兰” (*Cymbidium hybrid*) 品种^[8-11]。当前, 随着科学技术的发展, 杂交育种成为兰属植物品种培育的重要途径, 并逐渐在我国得到应用。20 世纪 80 年代, 四川省农业科学院吴汉珠^[12]等获得了 ‘西山春剑素’ × ‘玉板素’ 的杂交苗 100 余株, 而且雪兰和 ‘朱砂’ × ‘红蝉’ 的杂交后代在种子无菌萌发试管中实现开花。2002 年朱根发^[13]团队将杂交育种与种子无菌萌发结合, 获得了墨兰 ‘铁骨素’ × 建兰 ‘小桃红’、墨兰 ‘金咀’ × 墨兰 ‘企剑白墨’ 等杂交后代。2006 年, 余朝秀^[14]等报道了以黄蝉兰 (*C. iridioides*) 和虎头兰 (*C. hookerianum*) 为亲本的正反交试验获得了种子, 并实现了杂交种子的初代培养以及原球茎的扩繁。2011 年, 徐晓薇^[15]等在寒兰 (*C. kanran*) 和春兰 (*C. goeringii*)、寒兰和墨兰的种间杂交试验中发现其杂交成功。为探索兰属植物新品种的高效杂交组合, 2001 年, 张志胜^[16]等以兰属、文心兰属 (*Oncidium*)、蝴蝶兰属 (*Phalaenopsis* Blume) 植物为材料, 进行兰花远缘杂交及其杂交种子萌发试验, 发现兰属同一亚属各种间杂交极易成功, 而且兰科植物属内杂交易于属间杂交。2014 年, 李玉萍等^[17]以 10 个中国兰品种和 8 个大花蕙兰品种为材料开展杂交试验, 比较了不同组合的杂交亲和性, 依然发现兰属植物同一亚属种间杂交亲和性较高, 但不同品种间杂交亲和性不一。2019 年, 傅巧娟^[18]等在 6 个兰属植物的 52 个品种间杂交试验中, 再次证实兰属植物同一亚属种间杂交结实率较高。可见, 结合种子无菌萌发技术, 以兰属同一亚属植物为亲本进行杂交, 选育新品种具有较高的可行性。

西藏产兰属植物 21 种, 资源优势突出; 其中黄蝉兰、长叶兰共同归属于兰属大花亚属 (Subgen. *Cyperorchis*) 大花组 (Sect. *Cyperorchis*), 亲缘关系近^[2,3,6,19], 具备通过杂交育种培育兰属植物新品种的优势。因此, 采用杂交育种和种子无菌萌发技术, 以西藏原产的黄蝉兰 (*C. iridioides*) 和长叶兰 (*C. erythraeum*) 为亲本进行杂交试验, 探索西藏兰属植物新品种培育途径, 是让西藏兰科植物优势转变为经济优势的需要, 也是有效保护西藏兰科植物种质资源的需要。

1 材料与方法

1.1 杂交亲本选择

本研究选用的黄蝉兰、长叶兰均为西藏农牧大学西藏兰科植物资源研究中心迁地保护并分株繁殖获得的健康植株。其中:

黄蝉兰收集于墨脱县，其总状花序具3~17朵；花较大，直径达10 cm，黄绿色，具香气；萼片和花瓣狭卵状长圆形，具淡褐色或红褐色的粗脉；唇瓣淡黄色，侧裂片具上述类似脉络；褶片黄色，前部具栗色斑点；中裂片具红色斑点和斑块，有2~3行从褶片末端延伸至中裂片中部的长毛；花期8~12月^[4,19]。

长叶兰收集于波密县，总状花序具3~7朵或更多，花直径7~8 cm，绿色，具香气；花瓣镰刀状，萼片与花瓣密生红褐色纵条纹和斑点；侧裂片直立，具红褐色脉，中裂片上有少量红褐色斑点和1条中央纵线，被短毛；蕊柱两侧具翅；花期10月至翌年1月^[4,19]。

人工杂交试验在西藏兰科植物资源研究中心温室内进行，温室内温度8~25℃，湿度60%~98%。

黄蝉兰与长叶兰人工授粉正反交试验在2023年11月进行，具体时间选择在花朵开放两天后同时进行，且授粉花朵数相同。授完粉后挂牌标明黄蝉兰×长叶兰（以下简称正交组合）、长叶兰×黄蝉兰（以下简称反交组合）的杂交时间，授粉的花朵数等，并对杂交的植株加强肥水管理，观察果实发育情况。

1.2 种子无菌萌发

1.2.1 种子形态观测

以正交组合成熟蒴果为研究对象，在体视显微镜下随机选取3个视野，进行种子形态观测。观测过程中，分别计算每个视野的种子总数、有胚和无胚的种子数量，运用Image view软件测量种子和胚的长宽，用SPSS分析数据，用Origin软件进行可视化图形绘制。有胚率计算公式如下：

$$\text{有胚率}\% = (\text{视野内种子总数} - \text{视野内无胚种子数}) / \text{视野内种子总数} \times 100\% \quad (1)$$

1.2.2 种子萌发

取成熟的正交组合蒴果，在超净工作台上剖开果荚，用75%的酒精消毒30 s，无菌水冲洗3次，然后再用0.1%的NaClO消毒15 min，无菌水冲洗3~6次后，取出种子，在灭菌的滤纸上风干备用。

将黄蝉兰×长叶兰杂交种子分别接种到1/2 MS、花宝1号（Hyponex NO.1）、MS、KC（Knudson C）培养基上，每种培养基中的添加物均为：蔗糖30 g/L、琼脂7 g/L、活性炭1 g/L。每种培养基3瓶/组，每组3次重复，在暗培养环境下进行种子无菌萌发试验，环境温度25~30℃，培养120 d后，观察不同培养基中杂交种子萌发率和原球茎生长状况，进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 正反交结实情况

正反交人工授粉后30 d内，花朵蕊柱顶端逐渐下垂，并盖住蕊腔，花瓣逐渐萎蔫；子房花后7 d开始膨大，并缓慢地由下端到上端逐渐变黄。其中，正交组合蒴果于2024年11月完全成熟，反交组合蒴果于2025年5月完全成熟；正反交结实率都为100%。

果实成熟期在不同的物种或品种上都表现为多基因控制的数量性状，杂种后代成熟期受母本影响较大，并与两亲本的平均成熟期有着密切的关系；但杂交后代果实成熟期广泛分离，大部分表现介于亲本之间，少部分倾向于父本，并存在明显的超亲遗传现象^[20-23]。如余朝秀^[14]等在虎头兰与黄蝉兰杂交试验中观察到，以虎头兰为母本时，其杂交蒴果的发育期为320 d，以黄蝉兰母本时，杂交蒴果发育期为358 d，表现出较高的母本影响力。根据文献记载和实际观察，黄蝉兰的结果期为花后次年的2~4月，长叶兰的结果期为花后次年的4~6月，晚于黄蝉兰结果期^[4,19]。对照正反交果实成熟期来看，其果实成熟期受母本

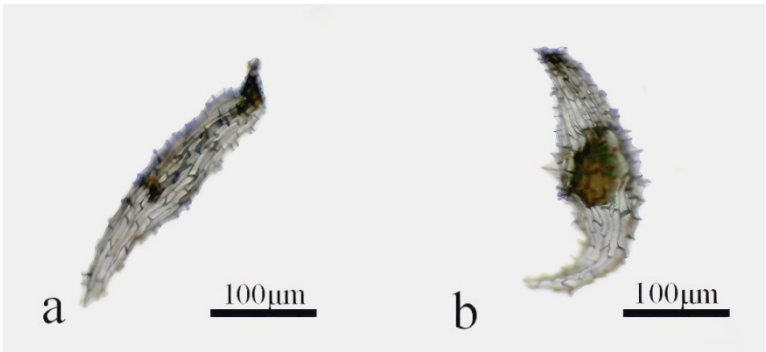
影响较大，且黄蝉兰♀×长叶兰♂（正交）蒴果的成熟期推后至2024年11月（即：果实成熟需1 a），长叶兰♀×黄蝉兰♂（反交）蒴果的成熟期推后至2025年5月（即：果实成熟需1.5 a），表现出受母本遗传基因主控、成熟期滞后的超亲遗传现象。

2.2 杂交种子形态与有胚率

体视显微镜下观测发现（表1），正交组合种子的有胚率为99.16%，长叶兰×黄蝉兰种子的有胚率为100%，且黄蝉兰×长叶兰的杂交种子（图1）呈两端稍尖的纺锤状，具内外两层白色透明种皮，种皮细胞呈近长条状四边形，种子中间有1个细小圆球形种胚。

表1 黄蝉兰×长叶兰体视显微镜下杂交种子胚数统计分析表
Tab.1 Statistical analysis table of embryo counts in hybrid seeds of *C. iridioides* ×*C. erythraeum* under a stereomicroscope

	视角	有胚数/个	有胚率/%
黄蝉兰×长叶兰	第一视角	30	100
	第二视角	30	100
	第三视角	29	99.16
长叶兰×黄蝉兰	第一视角	30	100
	第二视角	30	100
	第三视角	30	100



注：a. 无胚种子；b. 有胚种子。

图1 黄蝉兰×长叶兰杂交种子形态
Fig.1 Morphology of seed from *C. iridioides* ×*C. erythraeum*

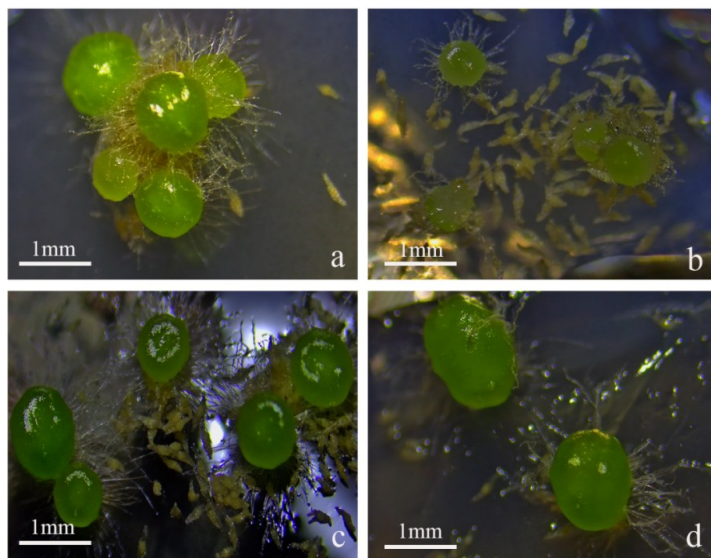
表2 黄蝉兰与长叶兰杂交种子形态观测数据
Tab.2 Morphological data of seeds from *C. iridioides* ×*C. erythraeum*

种子来源	形态指标	测量值/μm			变异系数 CV/%
		最大值	最小值	平均值	
黄蝉兰×长叶兰	种子长	1 002.38	634.75	816.72	10.78
	种子宽	254.29	143.70	212.81	12.85
	胚长	246.20	166.87	199.93	13.18
	胚宽	145.56	101.16	125.30	10.16
长叶兰×黄蝉兰	种子长	885.96	527.97	698.10	14.14
	种子宽	207.11	119.20	154.98	13.66
	胚长	259.00	162.78	206.08	13.47
	胚宽	155.34	89.65	125.99	11.04

从表2中可以看出,黄蝉兰与长叶兰正反交获得的种子形态指标 CV 值都小于15%,说明种子与胚的变异系数相对较低,处于相对稳定的状态。但黄蝉兰 $\times$ 长叶兰(正交)种子长宽均大于长叶兰 $\times$ 黄蝉兰(反交)种子,而种胚大小则相反。可见,较长的果实发育期保证了种胚的生长。

2.3 杂交种子无菌萌发率及原球茎生长情况

从图2可以看出,试验条件下,黄蝉兰 $\times$ 长叶兰的杂交种子在添加蔗糖30 g/L、琼脂7 g/L、活性炭1 g/L的1/2 MS、花宝1号、MS、KC四种培养基上都能够实现无菌萌发形成原球茎,但从原球茎大小上来看,4种培养基的适用性从强到弱依次为:KC>花宝1号>1/2MS>MS,也可从表3看出种子的萌发率,加以证实。



注: a.花宝1号培养基培育的原球茎; b.MS培养基培育的原球茎; c.1/2MS培养基培育的原球茎; d.KC培养基培育的原球茎。

图2 种子萌发

Fig.2 Aseptic germination of seeds from *C. iridioides* $\times$ *C. erythraeum*

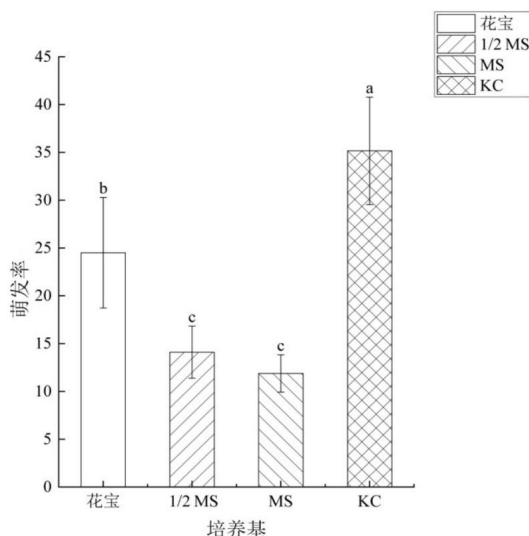


图3 不同培养基对黄蝉兰 $\times$ 长叶兰杂交种子萌发率

Fig.3 Germination percentage of seeds from *C. iridioides* $\times$ *C. erythraeum* on different media

表3 不同培养基对黄蝉兰×长叶兰杂交种子萌发率
Tab.3 Germination percentage of seeds from *C. iridioides* × *C. erythraeum* on different media

	培养基	平均值	方差	萌发率
黄蝉兰×长叶兰	花宝	24.51	5.78	30.29±18.73b
	1/2MS	14.11	2.73	16.84±11.38c
	MS	11.88	1.95	13.83±9.93c
	KC	35.17	5.62	40.79±29.55a

从图3可以看出，试验条件下，黄蝉兰×长叶兰的杂交种子在4种培养基上的无菌萌发率差异较大，其中，在KC培养基上的萌发率达到了35.17%，这一结果显著高于在其他培养基上的萌发率。

因此，从黄蝉兰×长叶兰的杂交种子无菌萌发产生的原球茎大小和萌发率综合来看，KC培养基是最适宜的基本培养基，在试验条件下，它不仅能够保障黄蝉兰×长叶兰的杂交种子具有较高的无菌萌发率，也能够提高原球茎的生长势。

3 讨论

尽管兰花的种子非常微小，但它们数量庞大，并且在自然环境中很难发芽，而通过组织培养方法，一个蒴果内的种子就能萌发出许多原球茎^[24]。兰花种子可以通过共生萌发法萌发，但分离合适的共生菌非常困难，因此组织培养成为种子萌发的首选方法。兰科植物种子萌发大约需3~12个月，有关资料显示，某些种类的未成熟或接近成熟的种子甚至比成熟的种子更容易萌发^[25]。本试验采取生长1 a年内由下端向上端逐渐变黄的接近成熟的种子，经无菌处理并播种120 d后发现种子萌发，在99.16%有胚率的情况下，种子萌发率略低，杂交种子萌发率最高为35.17%。黄蝉兰×长叶兰杂交种子的变异系数与萌发率均较低，这可能与种胚发育状况以及双亲的遗传特性存在关联，有待进一步开展研究。

基础培养基是植物组织培养的关键基础，因各种植物在遗传、生物学和生态学方面的不同特性，所需的营养成分也会有所不同，因此对培养基成分的需求也会有所不同^[26, 27]。不同兰花品种的最适合培养基有所差异。徐晓薇等^[15]研究指出改良KC培养基最适合寒兰杂交种子萌发；张凤婷等^[28]研究指出KT培养基适合鹤顶兰属（*Phaius*）和虾脊兰属（*Calanthe*）杂交种子无菌萌发；Park H B等^[29]研究中指出OSM（Orchid seed sowing medium）培养基适合斑叶杓兰（*Cypripedium guttatum*）的非共生萌发；Nabieva A Y^[30]研究指出mM培养基（Malmgren modified terrestrial orchid medium）适于四裂红门兰（*Orchis militaris*）种子萌发；王玉英等^[31]研究表明，1/2 MS基本培养基适合野生黄蝉兰非共生萌发；而在本研究中KC是黄蝉兰×长叶兰杂交种子非共生萌发的最佳培养基。综合来看，兰科植物种子无菌萌发；不同种类在相同的培养基中的萌发率存在差异，而同种兰属植物种子在不同的培养基中的生长状况也有所不同，适合培养的植物种类也会有所不同。

参考文献：

[1] Royal B G K.State of the world's plants[M]. London: Royal Botanic Gardens Kew, 2007.
[2] 王伟,李孟凯,邢震,等. 西藏野生兰科植物[M]. 上海:同济大学出版社,2023.
[3] Du Puy D, Cribb P.The Genus *Cymbidium*[M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew,2007.
[4] 刘仲健,陈心启,茹正忠. 中国兰属植物[M]. 北京:科学出版社,2006.

- [5] Lan S R, Chen L J, Chen G Z, et al. *Cymbidium densiflorum* (Orchidaceae; Epidendroideae; Cymbidieae): a new orchid species from China based on morphological and molecular evidence[J/OL]. *Phytotaxa*.2018.
- [6] Zhang G Q, Chen G Z, Chen L J, et al. Phylogenetic incongruence in *Cymbidium* orchids[J/OL]. *Plant Diversity*,2021.
- [7] 吴应祥. 中国兰花[M]. 北京:中国林业出版社,1991.
- [8] 卢思聪. 中国兰与洋兰[M]. 北京:金盾出版社,1994.
- [9] 朱根发. 大花蕙兰[M]. 广州:广东科技出版社,2004.
- [10] 王利民. 大花蕙兰杂交育种研究[D]. 北京:北京林业大学,2007.
- [11] 孙瑶,吴根良,赵福康,等. 大花蕙兰育种研究进展[J]. 中国农学通报,2013,29(13):86-89.
- [12] 吴汉珠,王续衍,林泰碧,等. 兰花多途径综合育种初报[J]. 农业科学导报,1986,(02):23-25.
- [13] 朱根发,陈明莉. 兰花杂交选育研究初报[C]. 广东省农业科学院花卉研究所. 花卉研究20年-广东省农业科学院花卉研究所建所20周年论文选集(1984-2004). 广东省农科院花卉研究所. 广东省农科院花卉研究所;2004:77-80.
- [14] 余朝秀,程丽霞,王卜琼,等. 黄蝉兰与素花虎头兰正反交育种及其种子无菌萌发效果的研究[J]. 西部林业科学,2006(02):82-85.
- [15] 徐晓薇,柴明良,杨燕萍,等. 寒兰杂交及种子离体萌发研究[J]. 园艺学报,2011,38(10):2010-2016.
- [16] 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.
- [17] 李玉萍,罗凤霞,薛婷婷. 兰属植物种间杂交亲和性研究[J]. 西北植物学报,2014,34(07):1339-1344.
- [18] 傅巧娟,赵福康,李春楠,等. 兰属植物种间杂交结实性分析[J]. 分子植物育种,2019,17(14):4739-4747.
- [19] Chen H Y, Zhang Z R, Yao X, et al. Plastid phylogenomics provides new insights into the systematics, diversification, and biogeography of *Cymbidium*(Orchidaceae)[J]. *Plant Diversity*,2024,46(4):448-461.
- [20] Chen X Q, Liu Z J, Zhu G H, et al. Flora of China, Volume 25[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [21] 孙猛,刘威生,刘宁,等. 核果类果树主要性状遗传变异规律研究进展[J]. 北方果树,2011,(6):1-5.
- [22] 赫斯. 桃李、杏、樱桃育种进展[M]. 北京:中国农业出版社,1980.
- [23] 宋润刚,路文鹏,李昌禹,等. 山葡萄种内和种间杂交后代果实成熟期遗传分析[J]. 园艺学报,2005,(2):212-217.
- [24] 穆玉珍,朱美瑶. 兰花组织培养研究进展[J]. 现代园艺,2021,44(1):24-26.
- [25] Arditti J, Michaud J D, Oliva A P. Seed germination of North American Orchids, Native California and related species of *Calypso*, *Epipactis*, *Goodyera*, *Piperia* and *Platanthera*[M]. *Bot Caz*,1981,142(4):442-453.
- [26] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学出版社,1996.
- [27] 陈箐瑛. 兰花组织培养与快速繁殖技术[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [28] 张凤婷,周燕,陈伦妍,等. 鹤顶兰属和虾脊兰属植物杂交种子无菌萌发[J]. 林业科技通讯,2025,(6):56-60.
- [29] Park H B, An J, Bae K H, et al. Asymbiotic Seed Germination and In Vitro Seedling Development of the Endangered Orchid Species *Cypripedium guttatum* [J]. *Plants*,2023,12(22):2223-2247.
- [30] Nabieva A Y. Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Orchis militaris*, an endangered orchid in Siberia [J]. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*,2021,19:122.
- [31] 王玉英,李光宏,李志敏,等. 野生黄蝉兰无菌快繁技术的研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(28):11275-11277.