

百合OT与O系间杂交育种研究

耿勃阳

北京市北海公园管理处 北京 100034

摘要: 百合, 是百合科百合属(学名: *Lilium*) 多年生草本球根花卉, 是世界十大切花之一, 因其花朵硕大芳香, 适用于公园花坛布置, 同时, 在东西方花卉市场中越来越受欢迎。全世界迄今为止已登记的现代百合品种多达3万多个。随着市场的需求和百合育种不断发展, 组(系)间杂交的品种群越来越有优势。组(系)间杂种由于综合了不同组(系)间的优点, 使得组(系)间杂种具有抗逆性更强、观赏性状更加新颖的特点。本研究进行OT×O系间杂交育种, 且获得组(系)间优良性状的杂交品种, 在百合育种研究中具有重要的意义。

关键词: 百合杂交; 授粉技术; 直接授粉; 胚抢救

引言

通过研究欧洲百合和东方百合的杂交育种技术和胚抢救技术。结果表明: 在杂交过程中, 采用柱头直接授粉, 花粉管在花柱中向下定向生长, 在子房中向胚珠定向生长; 采用6种母本和4种父本进行相互杂交, 用新生长的父本花卉的雄蕊授粉到母本柱头上, 在柱头黏液分泌较多时进行授粉, 获得果实数量越多、越饱满。胚抢救实验结果显示, 授粉约为60~70天后进行胚珠收集, 采用切胚珠接种比胚珠直接接种的杂种胚珠萌动更快、萌发率高。

1 百合杂交的研究过程

1.1 杂交障碍及克服方法

由亚洲百合(Asiatic)、东方百合(Oriental)等组内杂交品种群构成, 而随着现在市场的需求和百合育种不断发展, 组(系)间杂交的品种群越来越有优势^[1]。百合的杂交步骤有切花柱杂交、花柱加热或花粉加热、激素处理、蒙导花授及先锋花粉处理等措施常用于克服百合受精前障碍。其中, 切花柱杂交法在组内杂交类型中亲缘关系较远的组合获得了较多成功。受精发生后, 胚的发育常常因为胚乳的败育、或者胚和胚乳的不亲和而死亡, 即产生受精后障碍。对于受精后障碍, 人们创造了离体胚抢救技术加以克服, 即在授粉后约40-50天, 从子房中取出未成熟种子, 剥离胚进行离体培养成苗。

1.2 百合杂交技术

人们整合切柱头杂交技术及离体胚抢救技术, 在百合组内杂交中获得了较多的成功。之后, 在某些组间杂

交组合中发现, 采用离体花柱嫁接技术, 可以克服切花柱杂交造成的未成熟花粉管提前到达。采用授粉后尽快进行子房离体培养(或子房切片离体培养)及胚珠培养, 有可能将抢救杂种胚的时间提前。于是, 人们开始整合离体授粉、离体花柱嫁接、离体切花柱杂交、子房(或子房切片)离体培养、胚珠培养及离体胚抢救等技术来克服百合组间杂交障碍^[2], 并培育出系间杂种。

2 材料与方法

2.1 材料购置

品种有“Robina”、“Competition”、“Muscat”、“Myth”、“Palazzo”、“Table dance”和“Tiber”、“Siberia”、“Cobra”、“Justina”共11个, 前6个品种为OT欧洲百合, 用做杂交母本; 后4个品种为O百合(东方百合)做杂交父本。每个品种8个球, 种植开花后收集花粉父本。OT百合和O百合相互之间进行杂交。

2.2 方法

(1) 染色体观察

取0.5~1.0 cm长的百合根尖, 用蒸馏水将其冲洗干净, 再用0.04%的秋水仙素预处理24 h; 在室温下置于卡诺氏固定液(无水乙醇: 冰醋酸 = 3: 1)中固定24 h; 将百合根尖材料加入1 mol/L HCl, 置于60℃的水浴锅解离15min; 取适量材料置于载玻片上, 卡宝品红溶液静置染色后盖上盖玻片; 用显微镜观察染色体处于分裂中期时的细胞, 拍照并进行测量分析, 最后依据^[3]的标准进行染色体计数和核型分析。

经观察计数表明, 本试验所用的大多数OT百合为三倍体(如图2-1所示)。确定某个OT百合品种是否为二倍体和三倍体, 确定其核型, 就能选择其是否适宜作为母本进行OT×O杂交, 并能获得有活力的种子, 这将为增

通讯作者: 耿勃阳, 男, 汉族, 1993.1.16, 籍贯: 北京, 学历: 本科, 职称: 园林中级工程师 研究方向: 园林绿化, 邮箱746463389@qq.com。

加杂交育种成功做准备。

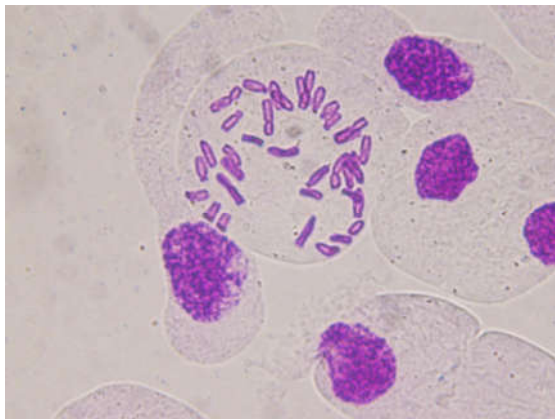


图2-1 杂交组合染色体倍数

(2) 杂交育种

① 在杂交过程中，由于父本花期较长，因此，先又父本进行分期种植，共3次，每次间隔为5~10天；母本同样进行分期种植，种植共2次，间隔为30天左右。为了更好地使种球发育和今后的授粉工作，每个品种每筐种植8个种球。

② 以草炭和珍珠岩（3：1）为营养基质，种植到培养筐内。用报纸在筐做铺垫，然后附上一层基质，将种球放入框内，使顶芽面向阳光，之后在用基质覆盖种球。后期管理工作也非常重要，主要为浇水、施肥、喷药。每星期进行一次浇水，每隔一星期进行一次施肥，在种球发育成植株后，用比例为1:1000配置的杀虫药液对植株叶片（主要是背面）进行喷药。

③ 当母本植株达到成熟并且雄蕊还未形成花粉时，开始去除雄蕊，之后进行套袋，待雌蕊分泌粘液时，开始进行父本与母本的杂交，将父本花粉授到母本花蕊的柱头上，涂抹均匀，然后进行装订，最后给每个杂交植株挂牌。

3 杂交结果统计

3.1 结果率统计

通过授粉技术，对60~70天的不同杂交组合的果实用直尺进行测量，主要测量长和宽。长度由果实顶端到基部为标准；宽度由果实以果实中部为标准，以杂交编号进行结果数的统计，然后记录数据。根据实际杂交种子数进行计算，最后得出并记录的结果率。统计所有果实后，挑选出生长饱满的60~70天果实且进行解剖，统计果实中饱满胚珠数（种子数），用然后将带胚种子放进培养基里，最后进行胚抢救。

3.2 胚抢救

胚抢救本试验选择在授粉后60天、65天、70天、75天四个不同时间段进行胚抢救，使用“MS+1.0 mg.L⁻¹BA+0.5mg.L⁻¹NAA+30g.L⁻¹蔗糖”胚抢救培养基，均采用胚珠直接接种。接种后60天后发现，一部分授粉后60天的杂种胚或胚珠开始萌发，少量授粉后65天的杂种胚也有萌发，但是萌发率远低于授粉60天后的，然而授粉后70天和75天的杂种胚均未开始萌发。如图3-1所示。

4 结果与分析

通过实验表明，百合三倍体通常尽管雄性不育，但可以作为母本与二倍体或四倍体杂交，这主要因为百合胚囊为贝母型胚囊。切花柱授粉法能通过切短花柱，使花粉管避免在花柱中部可能遭遇到的不亲和性障碍。因此该方法被广泛应用于克服百合杂交受精前障碍^[4]。本试验中OT×O系间杂交属亲缘关系较远的杂交，为了大部分OT×O组合结果良好，并能充分显示出三倍体OT百合与二倍体东方百合有较好的亲和性，因此，在杂交过程中要考虑到以下几点因素：(1)采用常规授粉时，柱头上授粉要均匀并且在饱满状态下授粉；(2)授粉时柱头要有分泌足够的粘液，使花粉管能顺利进入花柱；(3)掌握好适当的光照、温度等环境变化，并每周施肥一次、每三天浇水一次，使百合的花粉生活力免受影响。

通常情况下，为了进一步验证该假说的正确性以及对于百合OT×O系间杂交育种的研究，本试验以三倍体的OT百合作为母本，二倍体O百合作父本，采用常规授粉法，即将花粉直接授在柱头上进行杂交，获得较高的成功率以及较多的饱满种子，但为了避免远缘杂交杂种胚因缺乏后续营养供应而逐渐败育，授粉后60天左右将杂种胚剥出，置于培养基中进行离体胚抢救。结果表明三倍体OT百合与二倍体东方百合有较好的亲和性。

结束语

一般认为，百合种内杂交亲和性较种间杂交亲和性高，远缘杂交亲和性较差，然而具体到各个品种还有很大的差异。本试验所作的OT×O系间杂交，采用常规授粉方法及离体胚抢救技术努力克服远缘杂交存在严重的受精后障碍。在今后的实验当中，应该进一步考虑授粉时间和授粉方式以克服百合受精前障碍，增大育种成功的机会，为以后进行杂交技术的改进打下基础。

进行百合杂交胚抢救时一定要掌握合适的时机和适宜的方法，整果培养、子房切片培养、胚培养等方法都有其自身的优点和不足，应采用合适的接种方法，选用适宜百合种质扩繁的培养基，准确判定杂交种败育的时

期,以得到更多成功的杂交后代。

参考文献

[1]周树军.现代百合品种培育的技术途径及其杂交特殊现象的机制【M】.2014,22(10):1189~1194.

[2]Van Tuyl J M, Van de Sande K, Van Dien R, et al. Overcoming interspecific crossing barriers in liliium by ovary and embryo culture【J】.ActaHortic.1990,266:317-322

[3]李懋学,张赞平.作物染色体及其研究技术【M】.北京:中国农业出版社,1996:1-37.

[4]Van Tuyl J M, et al. Application of in vitro pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific Liliium crosses【J】.Plant Science,74 (1991)115--126