

子房切片技术获得百合杂交种

柴卫淑¹, 谭学林¹, 熊丽², 屈云慧²

(1. 云南农业大学生物技术与应用学院, 昆明 650201; 2. 云南省农科院, 昆明 650205)

摘要:以不同杂种系的百合品种进行远缘杂交, 采收授粉后 5~20 d 的子房, 用子房切片培养方法挽救杂种胚, 培育杂种。试验结果表明:百合远缘杂交中, 采用子房切片方法挽救杂种胚, 培育出杂种苗的关键是合适的胚龄:7~12 d 的胚龄比较合适, 这一胚龄段中, 胚龄越小, 胚萌发需要的时间越长。通过品种远缘杂交, 培育出了少量的百合远缘杂种。

关键词:百合; 杂交; 胚挽救; 子房切片

中图分类号:S 681.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2007)03-0067-03

Hybrids Derived from Interspecific Hybridization in *Lilium* through Ovary Slice Technology

CHAI Wei-shu¹, TAN Xue-lin¹, XIONG Li², QU Yun-hui²

(1. Agronomy and Biotechnology College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; 2. Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205)

Abstract: Interspecific crosses were made to produce hybrids in *Lilium*, and the hybrid embryos were rescued by using the ovary slice culture after 5~20 days of pollination. The results showed that embryo age was a key factor to success in the ovary slice culture in *Lilium* interspecific hybridization. If embryo age was younger, more days were required for embryo germination. We got a few hybrids.

Key words: lily; hybridization; embryo rescue; ovary slice

0 引言

百合是单子叶植物纲百合科(*Liliaceae*)百合属(*Lilium*)植物的总称, 广泛用于切花栽培的品系是: 亚洲百合杂种系、麝香百合杂种系和东方百合杂种系^[1]。随着百合类植物的贸易份额提高, 对新品种选育要求愈来愈高。

杂交育种是选育新品种的重要方法。正常情况下, 百合从开花到产生成熟种子, 经历了花粉生长发育, 配子融合和胚及胚乳的发育成熟等过程。只要其中任何一个环节发生障碍便导致不育, 已发现的远缘杂交障碍有两种类型: 受精前障碍和受精后障碍^[2]。克服受精前障碍可采用切花柱授粉、蒙导授粉和离体受精等方法, 克服受精后障碍的关键是: 必须在子房枯黄前进行离体培养, 挽救杂种胚。离体培养挽救杂种胚的方法有: ①子房切片培养(ovary slice culture), ②胚珠带胎座培养(ovule with place-

ta culture), ③幼胚珠培养(young ovule culture), ④带胚囊挽救(embryo sac rescue)等^[3,4], 其中子房切片培养和胚珠带胎座培养可以在授粉后 5 d 进行, 幼胚珠培养和带胚囊挽救在授粉后 30 d 才能进行, 胚挽救中子房切片培养比胚珠带胎座培养更有效^[5~9]。

在我国百合育种的研究报道不多, 育种方法基本是幼胚珠培养, 剥离胚珠的时间为授粉后 30~70 d^[6,7]。虽然可以保证胚发育到一定程度, 但在百合杂交组合试验中表明: 子房在植株上自然枯萎的时间一般为 20~40 d, 接近 1/2 的组合在授粉后 25 d 以内枯萎。所以, 利用幼胚珠培养培育百合杂种中, 许多杂交组合在子房剥离母体前已经枯萎^[10,11]。

由于在百合生产中缺乏技术核心, 所以在百合切花生产中, 离不开依靠进口百合种球的局面。因此, 研制开发我国的百合新品种, 是十分迫切和重要

收稿日期: 2006-11-15

第一作者简介: 柴卫淑(1979-), 女, 河南安阳人, 硕士, 讲师。从事花卉遗传改良研究。Tel: 0533-6825003; E-mail: xuancao000068@sina.com。

通讯作者: 谭学林, E-mail: rriyau@public.km.yn.cn。



的任务。本研究将百合三个杂种系的部分品种进行杂交,借鉴国外百合育种中的子房切片培养方法进行早期胚挽救,比幼胚珠培养的取材时间提前了10~25 d;为今后充分利用国内百合资源,培育远缘杂交种,育出我国的百合新品种提供技术资料,为有目的的百合育种提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 供试材料

供试材料为亚洲百合杂种系 Asiatic hybrids (A),麝香百合杂种系 Longiflorm hybrids(L)和东方百合杂种系 Oriental hybrids(O)的部分品种,作为亲本进行杂交(见表1)。材料由云南省农科院园艺所花卉研究中心百合育种组提供。

表1 杂交组合

类型	组合	母本	父本	类型	组合	母本	父本
O/A	1	tom	poll yanna	O/A	7star	gazer	quito
O/A	2	tom	quito	O/A	8star	gazer	bananarama
O/A	3	tom	royal discover	O/L	9	tom	L4
O/A	4	tom	bananarama	O/L	10	tom	L9
O/A	5	tom	iberflora	O/L	11	star gazer	longiflorm
O/A	6	sobonne	nawana	O/L	12	star gazer	L9

1.2 早期胚培养

采收授粉后5~20 d的子房,将子房带花柄,最好带一个叶片从母体上切除。立即对子房中间隆起部位切片,或在4℃冰箱中保存,尽快处理。在无菌条件下,用75%酒精棉球擦拭表面3次,切掉基部花柄,仅剩下子房。超净工作台内,用1% H_2O_2 消毒子房15 min,然后无菌水洗3次,进行手工切片。切片约1~2 mm厚,每个子房可得到2~5个切片,每个子房切片平均有24个胚珠^[12,13]。将切片直接水平置放在萌发培养瓶上^[9],每个培养瓶放3~5片。2~4 m后,将萌发的胚珠单独切除,转入生长培养基^[5],成苗后扩繁。培养温度24℃~26℃,光照时间14 h,光照强度2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 早期胚挽救的结果

采用子房切片的方法进行胚挽救,可以培育出杂种苗(见图)。子房切片培养一周后,切片均生长良好,子房壁绿色,胚珠白色。20 d后,有的子房切片从胚珠处开始变褐,而子房壁仍为绿色(图a)。有的切片中胚珠明显膨大(图b)。100 d以后,胚珠上陆续有微小的突起,表明胚珠开始萌发(图c)。将萌发的胚珠切除,单独培养成苗(图d)。

2.2 早期胚挽救中胚萌发时的胚龄

萌发的受精胚珠胚龄最小的7 d,最大的12 d,萌发率在0.5%以下(见表2)。同时,在7~12 d胚龄的组合中均有培育失败的组合,说明杂交组合不同,具体的合适胚龄也不同。在胚龄20 d以内,用子房切片的方法进行胚挽救,7~12 d的胚龄培育

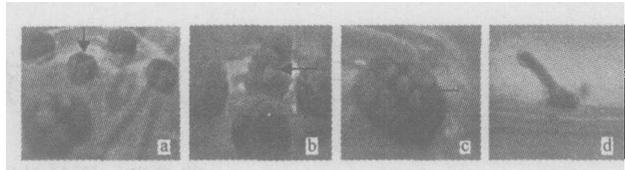


图 胚挽救的结果

a,切片从中间变黑;b,胚珠明显膨大;c,胚珠萌发;d,成苗成功的几率较大。

表2 胚龄对百合早期胚挽救的影响

胚龄 ¹ (d)	胚珠数 ²	萌发数	萌发率(%)
5	768	0	0
6	768	0	0
7	864	1	0.2
8	864	4	0.5
9	864	0	0
10	960	4	0.4
11	960	2	0.2
12	960	3	0.3
13~20	6816	0	0

注:1.授精后时间;2.24×切片数。

胚龄不同,胚萌发时间有较大差异;随着胚龄的增大,胚萌发时间逐渐减少。说明胚龄越小,胚需要更长的时间发育。

3 讨论

百合是无性繁殖。因此,虽然一个子房有上千个胚珠,但受精后,即使亲缘关系较近,受精的胚珠也很少^[12]。杂交组合中能克服受精前障碍受精的,胚龄的大小成为培育成功的关键,胚龄合适才有可能培育成功。在培育出杂种苗的组合中,胚龄在7~12 d之间(见表2)。培养中,胚龄小于7 d的材料,子房切片从中间胚珠处变褐,逐渐变黑,直到死亡(见图)。胚龄大于12 d的材料,子房切片中胚珠为白色,子房壁为绿色,但培育到最后,没有胚珠萌发,原因可能是:胚珠没有受精;胚珠受精,一定时间后胚和胚乳不亲和等^[14]。说明在百合杂交中,只有在一定的胚龄阶段采收子房,进行胚挽救,才可能培育成功。在其他植物利用胚挽救获得杂种的试验中,也是在一定的胚龄阶段进行胚挽救,胚才萌发成苗。如:油菜 *D. tenuisiliqua* 与 *B. campestris* 的杂种在授粉10 d后培养子房^[15];马铃薯的种间杂种,在授粉10 d后采收浆果^[16]。对早熟杏红荷包的自然杂交果实进行胚挽救,盛花后45 d采摘果实^[17]。本试验认为:百合远缘杂交育种中,采用子房切片技术进行胚挽救,7~12 d的胚龄培育成功的几率大。

随着胚龄的增大,胚萌发时间逐渐减少。胚龄越小,对环境条件要求较高,培养过程中需要更长时间发育。与前人研究结果一致^[5,8]。

可以通过田间观察,分子技术鉴定等方法鉴定杂种真实性。子房切片技术能成功培育杂种苗,

为国内百合育种提供新的育种方法,为大规模有目的的百合育种提供技术参考。

参考文献:

- [1] 陈俊愉. 中国花经[M]. 上海:上海出版社,1998. 180-183.
- [2] Okazaki K, Asano Y, Oosawa K, et al. Interspecific Hybrid Between *Lilium* "Oriental" Hybrid and *Lilium* "Asiatic" Hybrid with Revised Media[J]. *Breeding Science*, 1994, (44):59-64.
- [3] Okazaki K. Application of Mutation Breeding Methods and Orientation of Breeding in Ornamental Liliaceous[J]. *Plant Horticulture*, 2001, 309-314.
- [4] Van Tuyl J M. Overcoming Interspecific Crossing Barriers in *Lilium* by Ovary and Embryo Culture[J]. *Acta Hort*, 1990, 266, 317-322.
- [5] Fernandez A M, Nakazaki T, Tanisaka T. Development of Diploid and Triploid Interspecific Hybrids between *Lilium Longiflorum* and *L. Concolor* by Ovary Slice Culture[J]. *Plant Breeding*, 1996, 115, 167-171.
- [6] 沈革志, 杨红娟, 周根余, 等. 百合杂种胚的离体培养[J]. *上海农业学报*, 1997, 13(1), 63-66.
- [7] 于晓英, 吴铁明, 倪沛, 等. 百合幼胚的离体培养和植株再生[J]. *湖南农业大学学报*, 2000, 26(4), 286-288.
- [8] Van Tuyl J M. Application of in vitro pollination, ovary culture and embryo rescue in breeding of *Lilium Tulipa* and *Nerine*[J]. *Eucarpia*, 1990, 86-97.
- [9] Chi H. The Efficiencies of various embryo rescue methods in interspecific crosses of *Lilium*. *Bot[J]. Bull Acad Sin*, 2002, (43), 139-146.
- [10] 周厚高, 张西丽, 周象. 百合品种交配亲和性研究[J]. *广西生物科学*, 2000, 19(4), 223-225.
- [11] 杨利平, 张学方, 高亦珂. 10种百合属植物的传粉生物学[J]. *植物研究*, 1998, 18(1), 63-38.
- [12] Van Tuyl J M. Application of in vitro pollination ovary culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* Crosses[J]. *Plant Science*, 1991, (74), 115-126.
- [13] Roh M S, Robert J, Griesbach. Production and identification of interspecific hybrids of *Lilium Longiflorum* and *Lilium elegans*[J]. *Acta Hort*, 1996, 414, 93-96.
- [14] Janson J, Michiel T. M Willense. Pollen tube penetration and fertilization in *Lilium Longiflorum* (*Liliaceae*) [J]. *American Journal of Botany*, 1995, 82(2), 186-196.
- [15] Sarmah B K, Sarla N. Hybrids between *D. tenuisiliqua* and *B. campestris* produced by embryo culture[J]. *J Gene and Plant breeding*. 1998, 58(1), 35-39.
- [16] 王蒂, 冉毅东, 戴朝曦, 等. 用胚挽救方法获得马铃薯间杂种植株[J]. *马铃薯杂志*, 1991, 5(2), 79-82.
- [17] 赵淑清, 郭剑波, 常留印. 特早熟杏胚培养试验[J]. *中国果树*, 2001, (1), 17-18.

草莓常见异常果的原因与防治

1 乱形果

特征:由第一花序伞状花集成扫帚状,顶端产生鸡冠或双子果等乱形果。

发生原因:氮素过多或缺硼,生长点中植物生长素含量过高,花芽分化前生长点呈袋状扩大,花芽分化时两朵花或两朵以上花同时分化,现蕾时伸出的2~3枝花梗同时开放,就形成鸡冠果或双子果等。

防治方法:适当控制氮素营养,增施硼肥,特别是在花芽分化前30d左右,应少施或不施氮素肥料。

2 不受精畸形果

特征:部分果面上没有受精发育的种子,其周围果肉不膨大,果面凹陷成畸形果或凹凸果。

发生原因:品种间发育性能有差异,明宝、宝交早生等草莓品种自花授粉能力强,发育性能好,不宜形成畸形果;而女峰、丽红等草莓品种自花授粉能力较差,发育性能差,因而更容易发生畸形果。35℃的高温或0℃以下的低温更容易使花粉发育受阻,且低温不利于媒介昆虫活动。此外,花期喷施农药不当,不仅会杀死传媒昆虫,而且游戏而农药对花粉发育也有影响。

防治方法:①选用适当品种,如明宝、宝交早生等发育性好的品种。②开花期

要预防高温和低温,使白天温度控制在23℃~25℃,夜间温度控制在5℃以上,同时还要控制棚内湿度。③放养蜜蜂传播花粉,尽量少喷施或不喷施农药。如果非喷施农药不可,应选择对蜜蜂无毒或毒性小的农药品种。

3 顶端软质果

特征:果实顶端不着色,呈透明状,大棚草莓一般在12月至翌年2月最容易发生。

发生原因:田间光照条件差,湿度大,草莓结果期温度低等环境条件均会造成草莓形成顶端软质果。

防治方法:①合理密植,经常摘除老叶和疏除腋芽,保持田间良好的光照条件。②结果期白天温度保持在23℃~25℃;夜间保持在5℃以上。③控制土壤水分和棚室内的空气温度不能过高。

4 种子浮出果

特征:草莓的种子大部分凸出浆果表面,且果形偏小。

发生原因:浆果发育过程中,遇有高温干旱,发生发育受阻抑制,果形变小,从青果期至着色前,由于土壤缺水,浆果不能充分膨大。防治方法:①合理密植,促进根系发育。②高温干旱是要及时补水。③开花结果多的草莓品种要及时疏除一些弱勢蕾。

(131300 吉林省大安市龙沼镇农民技术学校 薛玉华)