

切割花柱方式对亚百系内杂交花粉管生长和结实的影响

栗艳龄¹, 罗凤霞², 沈向群¹, 明军³, 朱士农²

(1. 沈阳农业大学 园艺学院 辽宁 沈阳 110161; 2. 金陵科技学院 园艺学院, 南京 210038; 3. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要:用常规柱头授粉和切割不同长度花柱 4 种授粉方式对亚百系内杂交的花粉管生长和结实情况进行了研究。结果表明:同一系内各组合亲和性存在差异,亲和性较好的组合为“金色号角×多安娜”、“普瑞头×索莱尔”,次之为“多安娜×普瑞头”,“金色号角×普瑞头”,“普瑞头×多安娜”为不亲和组合;同一系内组合中,采用常规柱头授粉比切割花柱授粉得到胚的比例高,所有组合花粉管均能进入子房,而且随着切割花柱长度的增加,花粉管在花柱中及进入子房的量是依次递减的,种子数目与花粉管的生长情况呈正相关;果实膨大系数不能反映果实是否结籽,所有组合中都存在胚囊不亲和现象,形成了无胚仅有胚乳的种子。

关键词:切割花柱授粉;亚百;花粉管;结籽数

中图分类号:S 682.2⁺ 9; S 603.8 文献标识码:A 文章编号:1001—0009(2008)03—0161—04

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)植物的总称,在迄今育成的百合新品种中,绝大部分是通过杂交获得的,由于百合杂交常有明显的不亲和性,早在 20 世纪 60 年代 Myodo 和 Emsweller 就应用切割花柱授粉来克服百合远缘杂交的不亲和性^[12],此后 Hopper、Ascher、Asano、Cheng、Okazaki、Ronald、VanTuyt、Watts 等^[3-4]以及我国的黄济明^[5]和杨利平^[7]等人均采用切割花柱授粉来研究百合种间不同组合的杂交育种工作,取得了很好的效果,但屈云慧等^[8]研究认为并非所有的组合都可以通过切割花柱来克服受精障碍。百合同一杂交系内不同品种间杂交,相当于近缘种内杂交。该试验应用荧光显微镜观察柱头授粉和切割不同长度花柱授粉后花粉管的生长行为,并调查蒴果结实情况,以期探讨切割花柱授粉在百合近缘杂交中有效性和近缘杂交适宜的授粉方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

亚洲百合杂交种金色号角“Golden Horn”,多安娜“Pollyana”、普瑞头“Prato”、索莱尔“Soleil”。

1.2 试验方法

1.2.1 授粉试验 开花前 1 d 对授粉母株进行去雄套袋,开花后 2 d 每天上午 8~10 时进行杂交授粉。授粉方式为常规柱头授粉、切柱头授粉、切 1/2 花柱授粉和

保留 0.5 cm 花柱授粉。每种方式授 45 朵。授粉后,用羊皮纸袋套袋,并标明杂交组合名称、授粉日期和方法,柱头干瘪萎缩后去除羊皮纸袋,加强对母株的养护管理,观察子房的生长情况。50 d 后采摘果实,测量其长和宽,计算蒴果的膨大系数,膨大系数=果实膨大宽度/果实长,并进行剥胚,计算不同授粉方式中平均 1 个果实中的饱满种子数(外观上可见完整的种翅和增厚的胚乳,解剖后可见胚),胚长度和无胚的种子数(外观上可见完整的种翅和增厚的胚乳,解剖后无胚)。

1.2.2 花粉管生长状态观察 授粉后 4、24、48、72、96、144 h,取下花柱和子房放入 FAA 固定液(甲醛:冰乙酸:70%酒精=1:1:18 体积比)中,每处理 5 个,固定 24 h 后,放入 75%酒精保存备用。然后将样品放于 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中,60℃下进行软化至全透明状,再用蒸馏水清洗 3 次去除 NaOH,放入 0.1%水溶性苯胺蓝(0.1 mol·L⁻¹ K₃PO₄)溶液中染色 24 h,用 BH-2 型 Olympus 荧光显微镜观测、记录、拍照。

2 结果与分析

2.1 不同授粉方式对花粉管生长行为的影响

授粉后 4 h,所有组合的柱头授粉花粉均有萌发,而其余 3 种授粉方式下的花粉仍处于静止状态(见附图 1、2 和表 1)。

24 h,柱头授粉的花粉萌发增多,且花粉管已突破柱头乳突组织在向花柱道中延伸,其余 3 种的花粉粒才处于透亮状态或零星萌发(见附图 3、4 和表 1)。

48 h,柱头授粉的花粉管已到达花柱的 1/3 处,切柱头和切 1/2 花柱的花粉管长度刚达柱头授粉花粉管长度的一半,而保留 0.5 cm 花柱的花粉管已经穿过花柱与子房的结合口,还未与胚珠结合(见附图 5 和表 1)。

第一作者简介:栗艳龄(1981-),女,在读硕士,从事花卉育种研究。
通讯作者:罗凤霞。
基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2006BAD01A1803);北京市花卉重点资助项目(yllh2006001)。
收稿日期:2007-10-24

72 h, 柱头授粉花粉管已到达花柱的 3/4 处, 切柱头超过了花柱的一半, 切 1/2 花柱到达花柱的基部(见附图 6), 但是花柱中花粉管的数量是不同的, 柱头授粉的花粉管数层堆积在一起, 铺满了整个花柱道, 在荧光的照射下, 发出强烈的黄绿色光(见附图 7), 而切柱头和切 1/2 花柱授粉的花粉管几乎就是单层在花柱中生长(见附图 8), 且部分花粉管中途停止向下延伸, 但没有出现折叠或先端膨大迹象。

96 h, 柱头授粉大量花粉管已进入子房与胚珠结合, 切柱头授粉花粉管超过花柱的 3/4, 切 1/2 花柱授粉花

粉管也进入子房, 仅少量与胚珠结合, 这与在花柱中花粉管数量少是一致的(见附图 9、10)。

144 h, 对所有杂交组合的子房进行荧光观察, 子房中都有不同程度的花粉管, 花粉管沿中轴胎座生长, 在适宜时弯向四周的胚珠, 穿透珠孔, 进入胚囊完成双受精(见附图 11), 说明亚百同一系内杂交, 花柱在不同品种之间表现为亲和, 而部分花粉管笔直的沿着中轴胎座生长, 不向胚珠靠拢(见附图 12), 推测这些花粉管是无效的, 也许该花粉管是畸形, 不能释放精子, 无法与胚珠结合, 有待于进一步验证。

表 1 4 种授粉方式对亚百系内杂交花粉管生长的影响 cm

杂交组合	柱头				切掉柱头				切掉 1/2 花柱				保留 0.5cm 花柱			
	4h	24h	48h	96h	4h	24h	48h	96h	4h	24h	48h	96h	4h	24h	48h	96h
金色号角× 多安娜	0.11	0.72	1.86	<u>5.42</u>	0	0.24	1.10	4.10	0	0.15	1.00	<u>2.92</u>	0	0.15	<u>0.74</u>	<u>1.56</u>
金色号角× 普瑞头	0.10	0.64	1.73	<u>5.36</u>	0	0.15	0.92	3.82	0	0.14	0.90	<u>2.73</u>	0	0.12	<u>0.66</u>	<u>1.32</u>
普瑞头× 索莱尔	0.13	0.68	2.00	<u>6.00</u>	0	0.22	1.14	4.43	0	0.21	1.12	<u>3.32</u>	0	0.15	<u>0.72</u>	<u>1.43</u>
普瑞头× 多安娜	0.10	0.62	1.92	<u>5.93</u>	0	0.12	1.00	4.12	0	0.10	1.00	<u>3.16</u>	0	0.10	<u>0.63</u>	<u>1.22</u>
多安娜× 普瑞头	0.12	0.76	2.10	<u>6.36</u>	0	0.15	1.18	4.86	0	0.15	1.10	<u>3.48</u>	0	0.15	<u>0.67</u>	<u>1.44</u>

注 “金色号角”花柱平均长 5.13 cm “普瑞头”花柱平均长 5.82 cm; “多安娜”花柱平均长 6.14 cm; “——”表示花粉管进入子房。

表 2 4 种授粉方式对亚百系内杂交结实的影响

杂交组合	柱头				切掉柱头				切掉 1/2 花柱				保留 0.5cm 花柱			
	膨大系数	有胚数 / 果	胚长 / cm	胚乳数 / 果	膨大系数	有胚数 / 果	胚长 / cm	胚乳数 / 果	膨大系数	有胚数 / 果	胚长 / cm	胚乳数 / 果	膨大系数	有胚数 / 果	胚长 / cm	胚乳数 / 果
金色号角× 多安娜	0.46	45	0.37	2	0.43	21	0.32	1	0.39	15	0.30	0	0.40	16	0.30	0
金色号角× 普瑞头	0.44	4	0.24	15	0.42	0	0	7	0.39	0	0	3	0.40	0	0	2
普瑞头× 索莱尔	0.58	27	0.43	2	0.56	13	0.40	1	0.47	11	0.38	0	0.45	10	0.38	0
普瑞头× 多安娜	0.43	0	0	3	0.38	0	0	1	0.35	0	0	0	0.36	0	0	0
多安娜× 普瑞头	0.48	6	0.36	21	0.46	2	0.37	11	0.45	1	0	5	0.45	0	0	6

2.2 不同授粉方式对杂交结实的影响

不同授粉方式对不同杂交组合的结实情况见表 2。从表 2 中可以看出, 4 种方式授粉均能使“金色号角× 多安娜”、“金色号角× 普瑞头”、“普瑞头× 索莱尔”、“多安娜× 普瑞头”4 个杂交组合得到有胚种子, 任何授粉方式对杂交组合“普瑞头× 多安娜”都没得到有胚种子。依据周厚高^[8]、王丹菲^[9]等把有胚率作为判断亲和性的指标, 可以推断出前 4 个杂交组合的亲本之间存在一定的亲和性, 由大到小依次为: “金色号角× 多安娜”、“普瑞头× 索莱尔”, “多安娜× 普瑞头”, “金色号角× 普瑞头”, 不亲和组合为“普瑞头× 多安娜”; 但每个果实得到的有胚数几乎是按 4 种授粉方式依次递减的, 常规柱头授粉明显的高于其余 3 种授粉方式, 切柱头授粉还不及柱头授粉的一半, “金色号角× 多安娜”、“普瑞头× 索莱尔”2 组合中, 切 1/2 花柱和保留 0.5 得到的种子量差不多, 而“金色号角× 普瑞头”、“多安娜× 普瑞头”组合中, 切 1/2 花柱和保留 0.5 均没有得到种子, 明显表现出: 同一系内或亲和组合中, 采用常规柱头授粉要比其它切割花柱授粉得到胚的比例高。

在剥胚的过程中, 部分组合中存在一定量无胚而仅有胚乳的种子, 由表 2 可以看出, 无胚杂交组合“普瑞

头× 多安娜”和有胚杂交组合都存在一定的无胚而仅有胚乳的种子, 说明这些组合中存在胚囊不亲和现象, 所谓的胚囊不亲和, 是指花粉管进入异种的胚囊并释放出精子, 但精子却不能有效地与雌配子结合实现双受精, 或者是仅发生精子与极核融合的单受精^[10]。“金色号角× 普瑞头”和“多安娜× 普瑞头”2 个组合中任何授粉方式都得到了无胚胚乳种子, 其余 3 个组合中前两种授粉方式得到了无胚胚乳种子, 且不同授粉方式下每个组合的无胚胚乳种子量几乎也是递减的(前 2 个组合明显), 这与花柱中花粉管的生长情况呈正相关。

4 种授粉方式均能使所有组合的蒴果出现不同程度的膨大, 不同授粉方式对不同组合蒴果膨大影响的比较见图 1。表 1 可以得出, 柱头授粉蒴果的膨大程度均高于切柱授粉, 而且随着切割长度的增加, 膨大程度呈递减趋势, 在杂交组合“普瑞头× 索莱尔”中表现的最明显。此外, 无胚组合“普瑞头× 多安娜”与有胚组合子房的膨大系数也不差上下。

从表 2 还可看出, 常规授粉得到胚的长度要比切割不同长度花柱授粉得到胚的长度相对长, 但切割长度对胚长影响不是太大。

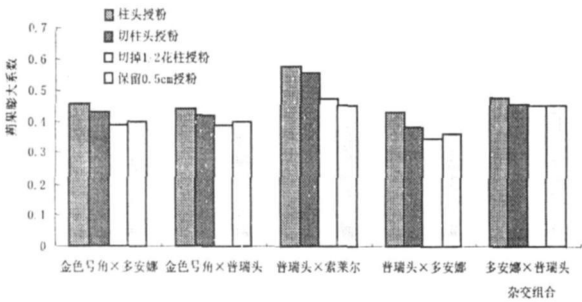
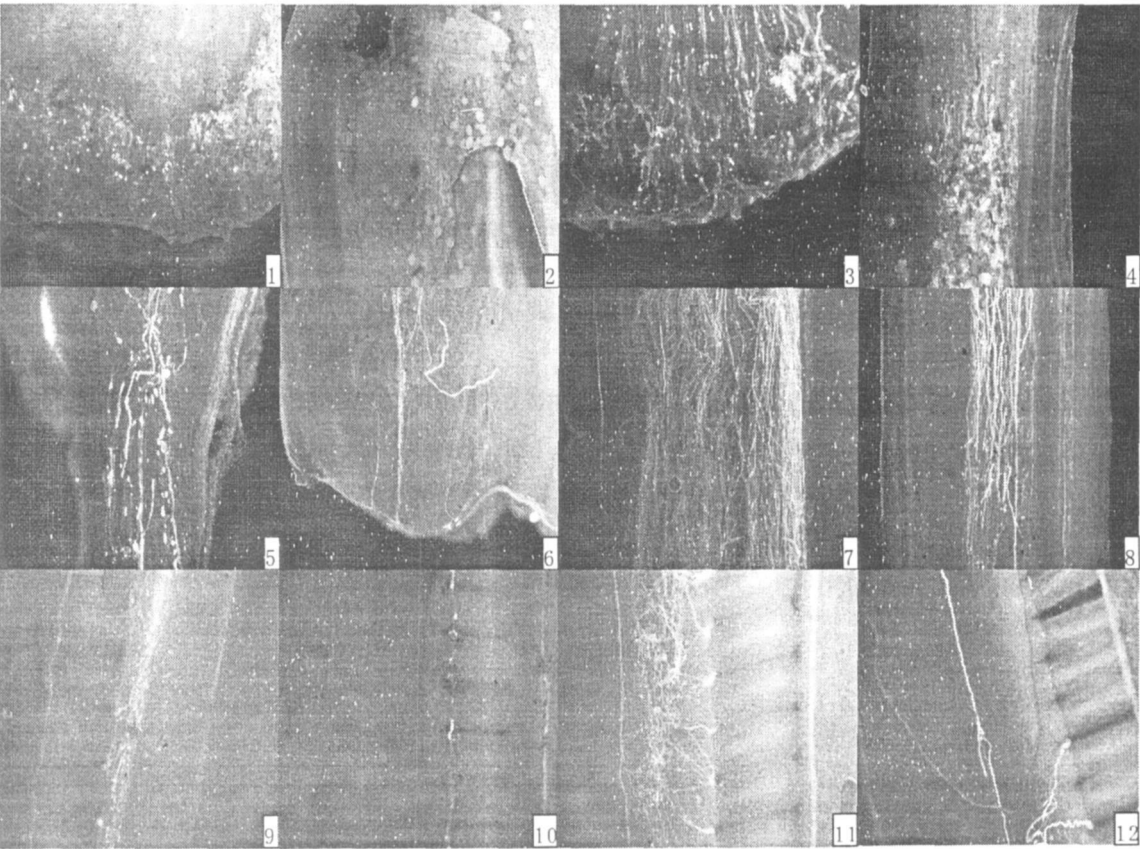


图1 授粉方式对杂交组合蒴果膨大的影响比较

3 结论与讨论

试验表明: 同一系内各组合亲和性存在差异, 亲和性较好的为“金色号角×多安娜”、“普瑞头×索莱尔”, 次之为“多安娜×普瑞头”, “金色号角×普瑞头”, “普瑞头×多安娜”为不亲和组合, 孙晓梅^[12] 等也研究表明, 同一杂种系内品种间杂交大都为亲和的, 同时存在不亲和现象。但是, 孙晓梅^[13] 等研究发现新中心与普瑞头正交, 柱头授粉没有得到果实和种子, 反交却得到了大量果实和种子。试验中多安娜与普瑞头正交, 柱头授粉得到少量胚和大量胚乳, 反交却没得到胚, 仅几粒胚乳, 此外, 孙晓梅^[13] 等研究表明“金色号角×普瑞头”杂交组合2个果实得到16个胚, 试验中平均每个果实得到4个胚, 存在大量胚乳, 也许与诸多环境因素有关。



附图: 图1: 柱头授粉4 h 花粉管已萌发; 图2: 切柱粉4 h 仍处于花粉粒状态; 图3: 柱头授粉24 h 花粉管穿过乳突组织向花柱中延伸; 图4: 切柱授粉24 h 处于透亮或零星萌发状态; 图5: 0.5柱授粉48 h 花粉管穿过花柱与子房接口; 图6: 切1/2花柱授粉72 h 花粉管到达花柱基部; 图7: 柱头授粉花柱中花粉管数层堆叠生长; 图8: 切柱授粉花柱中花粉管单层生长; 图9: 柱头授粉花粉管与胚珠结合情况; 图10: 切柱授粉花粉管与胚珠结合情况; 图11: 花粉管在子房中沿中轴胎座生长, 适时与胚珠结合; 图12: 部分花粉管沿中轴胎座直走, 不与胚珠结合。

试验表明: 同一系内组合中, 采用常规柱头授粉要比其它切割花柱授粉得到胚的比例高, 所有组合花粉管均能进入子房, 而且随着切割花柱长度的增加, 花粉管在花柱中及进入子房的量是依次递减的, 种子数目与花

粉管的生长情况呈正相关。试验中常规授粉和切花柱授粉均没使“普瑞头×多安娜”组合得到有胚种子。孙晓梅^[12] 在“新中心×普瑞头”组合中也发现有类似现象, 为此, 常规授粉和切割花柱授粉的使用范围仍需大量试

验证。

刘春^[1]等研究表明, 切割花柱授粉后花粉一直处于不萌发状态, 推测是由于缺少了柱头的缓冲能力和柱头分泌液的刺激作用。该试验发现切割不同长度花柱授粉, 部分花粉粒仍能够萌发并沿着花柱进入子房与胚珠结合, 只是柱头的缺乏影响了花粉管的萌发量和生长速度。因此, 切割花柱后花粉的萌发情况仍需在不同组合间做进一步探讨。

试验表明: 果实膨大系数不能反映果实是否结籽, 结籽的果实一定是膨大的, 但膨大了的果实不一定结籽。孙晓梅^[2]也发现果实膨大无胚的现象。周厚高^[8]等研究表明果实发育大小可以作为判断亲和性的间接指标。

所有组合中都存在胚囊不亲和现象, 形成了无胚仅有胚乳的种子。王丹菲^[9]也研究发现饱满种子中部分只有胚乳而无完整胚或胚败育的现象。这就需要进一步研究在胚囊中不亲和的部位及胚败育的时间, 及时进行胚挽救。

此外, 试验发现常规授粉比切割花柱授粉平均得到胚的长度长。果实发育生理学研究表明, 雌蕊组织中的生长素含量顺次增加, 种子发育提供的生长素与种子多少有关。推测是由于常规授粉中蒴果的结籽数多, 提供了更多的生长素, 促进了胚的生长。

参考文献

- [1] Myodo, H. Experimental studies on the sterility of some *Lilium* species [J]. Journ. Facul. Agr. Hokk. Univ. Sapporo, 1962, 52(1): 70-122.
- [2] Emsweller S L. *Lilium speciosum* × *Lilium auratum* Lily Yb [J]. North Am. Lily Soc., 1962, 15: 7-15.
- [3] Van Tuyt J M. Interspecific hybridization in *Lilium* [J]. Acta Hort. 1986, 177: 591-595.
- [4] Asanoy. Studies on the crosses between distantly related species of lilies IV. The culture of immature hybrid embryos 0.3-0.4mm long [J]. Japan Soc HortSci. 1980, 49(3): 114-118.
- [5] 黄济明 赵晓艺, 张国民, 等. 玫红百合为亲本育成百合种间杂种 [J]. 园艺学报, 1990, 17(2): 153-157.
- [6] 杨利平. 条叶百合 × 王百合种间杂种的育成 [J]. 东北林业大学学报, 1998, 26(2): 37-40.
- [7] 屈云慧, 熊丽. 百合育种研究进展 [J]. 西南农业学报, 2004, 17: 471-477.
- [8] 周厚高. 百合品种交配亲和性研究 [J]. 广西农业生物科学, 2000, 19(4): 223-227.
- [9] 王丹菲. 百合种间杂交亲和性的研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 2, 37(1): 26-30.
- [10] 孟金陵. 植物生殖遗传学 [M]. 科学出版社, 1997: 301.
- [11] 刘春, 穆鼎. 百合种间杂交受精前障碍的研究 [J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 653-656.
- [12] 孙晓梅. 不同杂交组合对百合杂交亲和性影响的研究 [J]. 辽宁林业科技, 2007(2): 12-14.
- [13] 孙晓梅, 崔文山. 不同授粉方法对新中心和普瑞头两种百合杂交结实影响的研究 [J]. 辽宁林业科技, 2002(2): 6-9.

Influences on Pollen Tube Growth and Seed Formation in Intraspecific Crosses Between the Asiatic Hybrid Lily by the Cut-style Techniques

LI Yan-ling¹, LUO Feng-xia², SHEN Xiang-qun¹, MING Jun³, ZHU Shi-nong²

(1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; 2. College of Horticulture, Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China; 3. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: In this experiment, Pollen tube growth and seed formation of Asiatic hybrids in *Lilium* were studied by four pollination techniques—conventional pollination and cut-different-style pollination. Results suggested that: the compatibility of different combinations in the same hybrid was different, some combinations with superior cross-compatibility were "Golden Horn Pollyana" and "Prato Soleil", some combinations with inferior cross-compatibility were "Pollyana Prato" and "Golden Horn Prato"; the combination with cross-incompatibility was "Prato Pollyana"; in the same hybrid, conventional pollination obtained more embryos than cut-style pollination, the pollen tubes of all the combinations entered into the ovary, and with the length of cutted style added, the numbers of pollen tube in the style and ovary decreased gradually, the number of seeds and the pollen tube growth presented correlation; the swelling coefficient of fruit can't show whether the fruit had seeds; the embryo sac incompatibility was showed all the combinations, and resulted in the formation of seeds without embryos.

Key words: Cut-style pollination; Asiatic hybrid lily; Pollen tube; The number of seeds