

# 卷丹百合种间杂交亲和性研究

庞 兰, 雷家军, 林翼飞

(沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:** 采用 4 种授粉方法对卷丹与 9 种百合进行正反交, 研究卷丹的种间杂交亲和性, 并对部分杂交组合的花粉管行为进行荧光观察。卷丹作母本的 9 个组合中有 7 个组合得到膨大的果实, 6 个组合得到有胚种子, 有胚率最高的为卷丹×大花卷丹, 达 44.7%。切割花柱可以克服卷丹与有斑百合、大花百合、垂花百合的杂交障碍; 涂抹花粉培养液对杂交亲和性影响不大。卷丹作父本与 9 种百合杂交均不亲和, 但有部分组合能得到微膨大的子房, 微膨大率可达 50%。百合杂交亲和组合的花粉管在 48~72 h 即可到达花柱基部, 72~96 h 进入子房与胚珠结合。

**关键词:** 卷丹百合; 种间杂交; 亲和性; 花粉管

**中图分类号:** S 682.2<sup>+</sup>5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)06-0188-04

卷丹 (*Lilium lancifolium* Thunb.) 为百合科 (Liliaceae) 百合属 (*Lilium*) 植物, 又名南京百合、虎皮百合, 原产中国和日本。卷丹花色鲜艳, 花型奇特, 耐寒、耐旱及适应性很强, 是优良的育种亲本<sup>[1]</sup>。杂交育种尤其是远缘杂交育种是百合育种的重要手段, 近年推出的百合新品种大部分是利用远缘杂交技术育成的<sup>[2]</sup>。国内从 20 世纪 80 年代开始百合杂交育种工作, 获得了百合种间杂种<sup>[3-6]</sup>, 但对卷丹的研究利用很少<sup>[7-9]</sup>。卷丹为同源三倍体, 自然结实率很低或不结实<sup>[7]</sup>。该试验通过卷丹与 9 种百合进行正反交, 对卷丹的杂交亲和性进行了探讨, 旨在为今后以卷丹为亲本的育种工作奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材

试验材料来自于沈阳农业大学花卉基地, 露地和温室分别栽植以便调节花期。包括卷丹、有斑百合 (*L. concolor* var. *buschianum* Baker)、兰州百合 (*L. davidii* Duchartre)、垂花百合 (*L. cernuum* Komar.)、朝鲜百合 (*L. amabile* Palib.)、大花百合 (*L. concolor* var. *megalanthum* Wang et Tang)、大花卷丹 (*L. maximowiczii* Baker)、亚洲百合杂种系品种多安娜 (Pollyanna)、东方百合杂种系品种索蚌 (Sorbonne)、麝香百合杂种系品种罗瑞拉 (Lorina)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 杂交试验

试验于 2007 年 7 月和 2008 年 6 月

至 8 月间进行, 每天上午对第 2 天即将开放的花朵去雄套袋, 同时将取下的花粉置阴凉干燥处自然散粉 24 h 备用。授粉前采用液体培养基法对花粉萌发率进行测定<sup>[10]</sup>。于花开当天上午 8:00~10:00 进行授粉, 采用①柱头授粉、②切 2/3 花柱授粉、③柱头上涂抹花粉培养液 (花粉培养液组分为: 100 g/L 蔗糖 + 10 mg/L H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> + 10 mg/L CaCl<sub>2</sub>)、④切割 2/3 花柱涂抹花粉培养液 4 种方法。授粉后挂牌套袋, 注明杂交组合、授粉日期和方法。授粉 40 d 以后对杂交所得蒴果进行调查, 记录不同膨大程度的蒴果数, 以蒴果膨大率、子房长/直径及有胚率作为判断杂交亲和性的指标。蒴果膨大率 % = 膨大蒴果数 / 授粉花数 × 100, 有胚率 % = 有胚种子数 / 种子数 × 100。

1.2.2 花粉管生长状态观察 各组合采用柱头授粉法各授 40 朵, 取授粉后 4、24、48、72、96、120、168 h 的花柱和子房 3~5 个, 用 FAA 固定液固定 24 h。压片前用蒸馏水冲去花柱和子房表面的固定液, 用 2 mol/L NaOH 溶液于 60℃ 温箱中软化 2 h, 取出用蒸馏水冲洗 3 次, 放入 0.1% 苯胺蓝 (0.1 mol/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 溶液中染色 2 h 以上, 用解剖针将花柱和子房纵向剖开压片, 用 Olympus 荧光显微镜观测、记录、拍照。

表 1 10 种百合花粉常温培养 24 h 萌发率 %

卷丹	朝鲜百合	有斑百合	兰州百合	大花卷丹	大花百合	垂花百合	多安娜	索邦	罗瑞拉
15.6	94.3	96.7	64.5	98.7	77.7	74.0	57.4	68.7	50.8

## 2 结果与分析

### 2.1 卷丹种间杂交亲和性

2.1.1 10 种百合花粉萌发率测定 常温条件下, 用液体培养基培养的花粉 3~4 h 开始萌发, 24 h 花粉萌发率趋于恒定。卷丹的花粉萌发率较低, 仅为 15.6%; 其它 9

第一作者简介: 庞兰 (1983-), 女, 硕士, 现从事百合种间杂交育种研究工作。E-mail: 566432pl@163.com.

通讯作者: 雷家军 (1966-), 男, 博士, 教授, 现从事观赏植物遗传育种研究工作。E-mail: jiajunlei@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2009-01-27

种百合的花粉萌发率均在 50%以上,花粉萌发率最高的为大花卷丹的 98.7%(表 1)。

2.1.2 卷丹作母本杂交亲和性 卷丹作母本与 9 种百合杂交结果如表 2 所示。卷丹与朝鲜百合、兰州百合、大花卷丹和多安娜的杂交亲和性较好,子房膨大率高,平均膨大率在 60.0%以上,卷丹×大花卷丹的平均膨大率可达 90.0%,这 4 个组合用 4 种授粉方法均能得到膨大的果实(图版 1),但柱头授粉果实的膨大率略高于切割花柱授粉。卷丹与有斑百合、垂花百合和大花百合杂

交亲和性稍差,只有通过切割花柱的方法才能得到膨大的果实,平均膨大率分别为 30.0%、20.0%和 15.0%。卷丹×索邦和卷丹×罗瑞拉亲和性最差,子房膨大率为 0.0%。涂抹花粉培养液对果实的膨大率没有明显影响。卷丹×大花卷丹的有胚率最高,平均有胚率为 44.7%,卷丹×朝鲜百合次之为 25.6%,这 2 个组合的种子发育完全,蒴果的长/直径最小,平均在 1.2 以下(图版 2)。卷丹×垂花百合的有胚率最低,平均有胚率为 0.0%,其蒴果的平均长/直径最大为 2.18。

表 2 卷丹作母本杂交蒴果膨大率、果实性状及有胚率

杂交组合	授粉方法	授粉花朵数/个	膨大蒴果数/个	膨大率/%	果长/cm	果直径/cm	果长/直径	种子数/个	有胚种子数/个	有胚率/%
卷丹×朝鲜百合	①	5	5	100.0	3.4	3.0	1.13	1 280	380	29.7
	②	5	4	80.0	2.7	2.4	1.13	1 018	192	18.8
	③	5	5	100.0	3.4	3.0	1.13	1 340	376	28.0
	④	5	3	60.0	3.4	2.7	1.26	800	204	25.5
卷丹×有斑百合	①	5	0							
	②	5	3	60.0	2.8	1.7	1.64	624	9	1.4
	③	5	0							
	④	5	3	60.0	2.9	1.8	1.61	750	6	0.8
卷丹×兰州百合	①	5	5	100.0	3.1	1.7	1.82	1 244	28	2.3
	②	5	3	60.0	2.7	1.6	1.68	576	9	1.6
	③	5	5	100.0	3.1	1.4	2.21	1 350	6	2.2
	④	5	3	60.0	3.0	1.6	1.94	600	15	2.5
卷丹×大花卷丹	①	5	5	100.0	3.4	2.4	1.42	1 275	675	52.9
	②	5	4	80.0	2.8	2.4	1.17	892	344	38.6
	③	5	5	100.0	2.4	2.1	1.14	990	420	42.4
	④	5	4	80.0	2.7	2.3	1.17	800	360	45.0
卷丹×多安娜	①	5	5	100.0	3.4	2.0	1.70	1 050	35	3.3
	②	5	1	20.0	3.5	1.8	1.94	193	0	0.0
	③	5	5	100.0	3.2	2.1	1.52	1 260	150	11.9
	④	5	1	20.0	2.1	0.9	2.33	205	0	0.0
卷丹×大花百合	①	5	0							
	②	5	2	40.0	3.0	2.0	1.50	450	92	20.4
	③	5	0							
	④	5	1	20.0	2.9	1.7	1.71	200	0	0.0
卷丹×垂花百合	①	5	0							
	②	5	2	40.0	3.0	1.4	2.14	180	0	0.0
	③	5	0							
	④	5	2	40.0	2.9	1.3	2.23	192	0	0.0

2.1.3 卷丹作父本杂交亲和性 卷丹作父本与 9 种百合杂交,杂交亲和性均较低。无论采用哪种授粉方法,索邦×卷丹、罗瑞拉×卷丹都没有膨大的果实,其余几个组合也仅有一些子房微膨大,没有得到半膨大以上的果实,其中朝鲜百合×卷丹和大花卷丹×卷丹的亲亲和性稍好,子房微膨大率分别为 58.3%和 50.0%(表 3)。试验中观察到,不膨大和微膨大肉眼能非常明显区别出来,而且微膨大果实能维持更长时间。

## 2.2 花粉萌发及花粉管生长的荧光显微观察

2.2.1 卷丹作母本杂交后花粉管生长动态 对卷丹与朝鲜百合等 6 种百合杂交授粉后花粉管生长过程的荧光观察显示(表 4),这 6 种百合的花粉都可以在卷丹的柱头上萌发,授粉后 4 h,已有部分花粉萌发并且花粉管长出一段长度盘结在柱头表面,部分长得快的花粉管已

经突破柱头乳突组织到达柱头下方 0.02 cm 处(图版 3)。随着时间的延长,柱头萌发的花粉数量增多,花粉管进入快速生长期,大量花粉管向花柱道中延伸(图版 4、5)。授粉 48 h 后,多安娜的花粉管已经进入子房,到达子房内第 8~10 个胚珠;72 h 后,兰州百合的花粉管也进入子房,大花百合的花粉管已经到达子房 2/5 处,多安娜的花粉管到达子房 1/2 处并与胚珠结合(图版 6);96 h 后,朝鲜百合的花粉管也进入子房,从授粉结果看这几个组合都能得到一定数量的有胚种子。索蚌与卷丹杂交不亲和,其花粉管长到柱头下方 1 cm 处即停止生长,花粉管亮度高,末端膨大、回长(图版 7)。有斑百合的花粉管只能长到卷丹花柱的 1/2 处,但其末端不正常的花粉管较少(图版 8),认为是花粉管长度不够,最终不能到达子房,在授粉试验中用切割花柱的方法可以

得到膨大的蒴果。

2.2.2 卷丹作父本杂交后花粉管生长动态 卷丹作父本授粉 4 h 后, 卷丹的花粉可以在母本柱头上萌发, 但萌发率较低(图版 9); 24 h 后, 花粉管向下生长, 但花柱道内的花粉管较少, 越伸长, 花粉管越少, 最后只剩 2~3 条且生长较慢(图版 10、11)。72 h 后卷丹的花粉管可以进入大花卷丹的子房, 荧光观察发现子房中有几根花粉管但未与胚珠结合(图版 12)。兰州百合和多安娜花柱中的花粉管只能长到花柱的 1/3 处(表 5)。

表 3 卷丹作父本杂交蒴果膨大情况

组合	授粉方法	授粉花 朵数/个	不膨大 数/个	微膨大 数/个
朝鲜百合×卷丹	①	3	1	2
	②	3	2	1
	③	3	1	2
	④	3	1	2
有斑百合×卷丹	①	5	3	2
	②	5	3	2
	③	3	2	1
	④	3	2	1
兰州百合×卷丹	①	5	4	1
	②	5	3	2
	③	5	4	1
	④	5	5	0
大花卷丹×卷丹	①	5	2	3
	②	3	2	1
	③	3	1	2
	④	3	2	1
索邦×卷丹	①	5	5	0
	②	5	5	0
	③	5	5	0
	④	5	5	0
多安娜×卷丹	①	3	3	0
	②	3	1	2
	③	3	3	0
	④	3	3	0
大花百合×卷丹	①	2	1	1
	②	2	1	1
	③	1	0	1
	④	1	0	0
垂花百合×卷丹	①	3	2	1
	②	3	2	1
	③	2	2	0
	④	2	2	0
罗瑞拉×卷丹	①	3	3	0
	②	3	3	0
	③	3	3	0
	④	3	3	0

表 4 卷丹作母本授粉后不同时间花粉管到达花柱深度

组合	4 h		24 h		48 h		72 h		96 h		120 h		168 h	
	最长	平均	最长	平均	最长	平均								
卷丹×朝鲜百合	0.01	0.01	1.45	0.50	2.80	1.25	4.03	2.52	5.52	5.40	—	—	—	—
卷丹×有斑百合	0.02	0.02	0.74	0.52	1.55	1.25	1.86	1.55	2.20	1.80	2.76	2.46	3.23	2.53
卷丹×兰州百合	0.02	0.01	3.13	2.84	4.86	4.30	5.50	5.00	5.56	5.56	—	—	—	—
卷丹×大花卷丹	0.01	0.00	2.67	2.17	3.10	2.90	5.10	5.10	—	—	—	—	—	—
卷丹×索蚌	0.01	0.00	0.35	0.30	0.74	0.50	1.00	0.65	1.00	0.70	1.10	0.68	1.00	0.75
卷丹×多安娜	0.01	0.01	2.73	2.22	5.14	4.75	5.30	5.30	—	—	—	—	—	—

注: 卷丹平均花柱长 5.18 cm; “—、—” 表示花粉管进入子房。

### 3 结论与讨论

#### 3.1 卷丹种间杂交亲和性

卷丹与 9 种百合的正反交试验中, 卷丹作母本有 7 个组合得到了膨大的果实, 其中有 6 个组合得到了有胚种子, 杂交亲和性较高, 卷丹是很好的母本材料。在几个组合的膨大果实均发现只有胚乳无胚的种子, 以卷丹×兰州百合、卷丹×有斑百合中较多, 杂交后障碍严重, 应采用胚培养、子房切片培养或胚珠培养等<sup>[11]</sup>方法挽救杂交种, 获得更多的远缘杂交材料。卷丹为同源三倍体, 与正常二倍体百合杂交产生的后代可能为单体、三体等非整倍体, 对杂种后代的生长情况及倍性将进行进一步研究。

卷丹作父本的 9 个组合均未得到膨大的果实, 亲和性很低或不亲和, 表明卷丹不适宜作父本使用。该试验测得的卷丹花粉离体萌发率仅为 15.6%, 据杨利平<sup>[7]</sup>等人研究卷丹为同源三倍体, 小孢子形成过程中减数分裂异常, 导致产生败育花粉, 使花粉育性降低, 对花粉萌发的荧光观察显示, 母本柱头上虽黏附了一定量的花粉粒, 但萌发的少。在卷丹作父本的 9 个组合中, 有 7 个组合得到微膨大的子房, 且部分组合的微膨大率较高, 证明有一定的杂交亲和性。对花粉管行为观察显示, 卷丹的花粉管可以沿花柱向下伸长并最终进入子房, 但数量极少, 认为这是无法获得膨大子房的影响因素, 因此在以后以卷丹为父本的杂交组合中, 应加强对授粉方法的研究, 可以试验多次重复授粉、应用植物生长调节物质及离体授粉<sup>[12~15]</sup>等方法促进子房膨大。

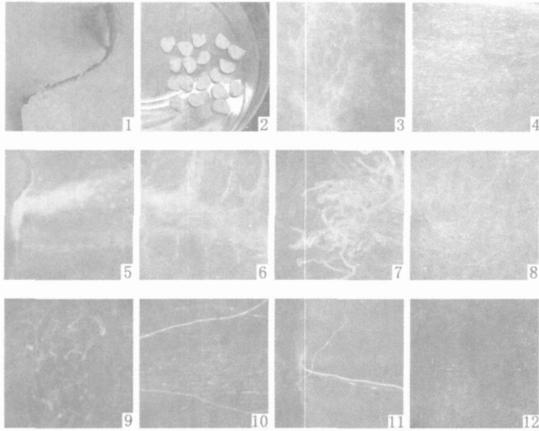
#### 3.2 百合杂交亲和组合花粉管到达花柱基部的时间

一般认为百合杂交亲和组合的花粉管在 4~5 d 可达到花柱底部, 7~9 d 左右可完成双受精<sup>[8]</sup>。亚百系内杂交柱头授粉花粉管 72 h 到达花柱的 3/4 处, 96 h 进入子房并与胚珠结合<sup>[12]</sup>。该试验观测到亲和组合的花粉管 48~72 h 可以到达花柱基部, 72~96 h 即可进入子房与胚珠结合, 较以往的研究结果短 24~48 h, 对以多安娜和兰州百合作母本的相同组合花粉管荧光观察也得到了类似的结果。造成此差异的原因是否因为杂交组合的亲本不同, 杂交亲和性有差异而使花粉管生长速度不同还有待进一步探讨。

表5 卷丹作父本授粉后不同时间花粉管到达花柱深度 cm

组合	4 h		24 h		48 h		72 h		96 h		120 h		168 h	
	最长	平均	最长	平均	最长	平均								
兰州百合×卷丹	0.01	0.00	0.65	0.38	1.10	0.55	1.47	0.78	1.37	0.76	1.52	0.68	1.00	0.70
大花卷丹×卷丹	0.02	0.01	0.50	0.40	1.52	1.14	3.85	3.32	4.00	3.90	—	—	—	—
多安娜×卷丹	0.01	0.00	0.39	0.02	0.08	0.06	1.54	0.75	2.14	1.28	2.20	1.08	1.92	0.84

注 兰州百合平均花柱长 3.37 cm; 大花卷丹平均花柱长 3.89 cm; 多安娜平均花柱长 6.12 cm



图版: 1. 卷丹×朝鲜百合杂交蒴果; 2. 卷丹×朝鲜百合杂交种子; 3. 卷丹柱头授粉 4h 花粉萌发情况; 4. 卷丹花柱中重叠生长的花粉管; 5. 花粉管到达卷丹花柱基部; 6. 花粉管与胚珠结合; 7. 卷丹×索邦花粉管末端; 8. 卷丹×有斑百合花粉管末端; 9. 卷丹作父本授粉 4 h 花粉萌发情况; 10. 卷丹花粉管在花柱中数量很少; 11. 卷丹花粉管到达花柱基部; 12. 卷丹花粉管进入子房。

### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志—百合科 [M]. 北京: 科学出版社, 1980, 14: 116-157.
- [2] Japam M. Overcoming interspecific crossing barrier in *Lilium* by ovary and embryo [J]. *Acta Horticulturae* 1990, 266: 317-322.

- [3] 杨利平, 刘桂芳, 张彦妮. 百合抗性品系的培育 [J]. *东北林业大学学报*, 2003, 36(6): 33-35.
- [4] 王丹菲, 赵琦, 雷家军. 百合种间杂交亲和性的研究 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2006, 37(1): 26-30.
- [5] 李守丽, 石雷, 张金政, 等. 百合育种研究进展 [J]. *园艺学报*, 2006, 33(1): 203-210.
- [6] 周厚高, 张西丽, 周焱, 等. 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.
- [7] 杨利平, 刘雪梅, 张敦芳. 卷丹的细胞学研究 [J]. *植物研究*, 1997, 17(1): 85-88.
- [8] 樊金萍, 王洪亮, 车代弟. 百合远缘杂交胚胎发育情况的研究 [J]. *中国林副特产*, 2005(2): 5-7.
- [9] 李雨, 关婧竹, 沈向群. 野百合自交和杂交亲和性研究 [J]. *辽宁林业科技*, 2008(2): 40-42.
- [10] 年玉欣, 罗凤霞, 张颖, 等. 测定百合花粉生命力的液体培养基研究 [J]. *园艺学报*, 2005, 32(5): 922-925.
- [11] HAI-SHAN CHI. The efficiencies of various embryo rescue methods in interspecific crosses of *Lilium* [J]. *Bot. Bull. Acad. Sci.*, 2002, 43: 139-146.
- [12] 栗艳龄, 罗凤霞, 沈向群, 等. 植物生长调节物质对百合不同杂交组合花粉管生长的影响 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2008, 39(4): 404-407.
- [13] 刘春, 穆鼎, 明军, 等. 百合种间杂交受精前障碍的研究 [J]. *园艺学报*, 2006, 33(3): 653-656.
- [14] 刘武林, 郑思乡, 关文灵, 等. 百合离体授粉组间杂交研究初报 [J]. *云南农业大学学报*, 2008, 23(1): 122-125.
- [15] 罗凤霞, 年玉欣, 孙晓梅, 等. 4种授粉方法对切花百合不同杂交组合结籽量的影响 [J]. *园艺学报*, 2005, 32(4): 729-731.

## Study on Interspecific Hybridization Compatibility of *Lilium lancifolium*

PANG Lan, LEI Jia-jun, LIN Yi-fei

(College of Horticulture Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 11016, China)

**Abstract:** Four pollination methods were used to study the cross-compatibility of *Lilium lancifolium* Thunb. with nine *Lilium* species including six wild species and three cultivated species. The pollen tube behaviors in some cross combinations were also observed by means of fluorescence microscopy. Fruits were obtained from seven of the nine combinations which *L. lancifolium* Thunb. was used as the female parent and embryos from six of the nine combinations. The percentage of seeds with embryo of *L. lancifolium* × *L. maximowiczii* reached 44.7% which was the highest. Cut-style pollination could overcome species-incompatibility between *L. lancifolium* Thunb. and *L. concolor* var. *buschianum* Baker, *L. concolor* var. *megalanthum* Wang et Tang or *L. cernuum* Kom., while pollination after pollen culture solution had no effects on compatibility of interspecific hybridization. *L. lancifolium* Thunb., as the male parent, crossing with the other nine species were incompatible. But some of the combinations got 50% little-swelled fruits. When pollinated after 48~72 h, the pollen tube of compatible combinations reached basal part of the style and finally arrived at the ovule in ovary when pollinated after 72~96 h.

**Key words:** *Lilium lancifolium* Thunb.; Interspecific hybridization; Compatibility; Pollen tube