

# 百合杂交育种技术手段研究进展

杨利平

(长江师范学院 生命科学与技术学院, 重庆 408100)

**摘要:**百合是世界上著名的五大鲜切花之一。百合杂交育种中经常出现的生殖障碍问题制约着百合品种培育的进程和范围。现对克服百合受精前、后障碍的技术手段、效果进行综述,并对百合杂交育种的难题及我国百合杂交育种的途径进行了较为深入的分析。

**关键词:**百合;育种;受精障碍;授粉;胚胎培养

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>65 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)15-0190-04

百合是世界上著名的五大鲜切花之一。20 世纪以来,荷兰、日本和美国等花卉育种大国掀起百合育种的热潮,已培育出数千个百合新品种。其中荷兰平均每年就育出约 100 多个百合新品种,在世界花卉市场上占有绝对的份额<sup>[1-4]</sup>。荷兰的育种与繁育中心(CPRO-DLO)和日本育种人员通过远缘杂交技术得到清香淡雅的麝香百合与亚洲百合杂种(LA)和无花粉的百合品种<sup>[1,5-6]</sup>。虽然现代生物技术已经成为当今研究的主流,但常规的杂交育种仍然是百合育种的主要手段之一,目前花卉市场上大多数的百合新品种还是通过杂交育成的产物<sup>[5,7-8]</sup>。但是,远缘杂交往往表现出不亲和现象,导致百合常规杂交育种过程中许多杂交组合产生受精前或受精后的生殖障碍,导致杂交失败<sup>[9-11]</sup>。因此,克服杂交障碍一直是百合杂交育种研究的热点。

## 1 受精前障碍的克服

由于杂交亲本生理上的不协调及花柱长度不同,常产生受精前的生殖障碍。有研究认为在百合种间杂交过程中,存在于百合花柱内的花粉管生长促进因子的作用受到抑制<sup>[12]</sup>,因此,在种间杂交过程中,通常表现为花粉管停滞在花柱内并产生畸形的膨胀等花粉管延伸受阻现象<sup>[11,13-14]</sup>。

### 1.1 切割花柱授粉

对于不亲和性障碍存在于花柱的物种,其花粉管所达到的最大长度还不足以延伸至胚珠,切割花柱有助于

克服不亲和性。切割花柱在克服杂交不亲和性和自交不亲和性均能起到良好的效果,该技术已经在现代百合远缘杂交育种中得到普遍应用。

将去雄母本的雌蕊上切去部分花柱(通常留下 1/3),然后在花柱切口处涂抹父本花粉,这种‘切割花柱’或者‘花柱内’授粉技术可以绕过或避开柱头或花柱产生的受精前障碍,明显提高杂交的坐果率<sup>[15-16]</sup>。TUYL 等<sup>[17]</sup>利用此方法获得了系列 LA 杂交种,使得百合育种实践中出现了品种群间的杂交系列。但远缘杂交切割花柱的长度并无公认的固定标准,有时在一些杂交组合中因为花粉管不成熟或者遇到子房的排斥等原因,也会出现坐果率比较低的现象<sup>[18-20]</sup>。

### 1.2 柱头涂抹处理

有研究显示,生长激素对克服杂交不亲和性有一定的促进作用。用 IAA、CK 及 GA 等生长调节剂处理母本的花梗或子房,坐果率和成熟种子数显著提高,有时植物生长调节剂也常常用于延长胚龄,有助于杂交幼胚离体培养的成功<sup>[21-22]</sup>。

荷兰研究者获得 LA 杂种,用 0.1% BAP 对授粉子房进行处理,提高了胚胎抢救的成功率<sup>[23]</sup>;但也有报道称 BA 在一些杂交组合表现为促进作用,而有的组合中则表现为抑制作用<sup>[24]</sup>;还有研究认为 BA 可刺激百合花粉管的生长,完成受精作用从而获得杂交成功<sup>[17,23]</sup>;然而,罗建让等<sup>[25]</sup>在‘普瑞头’与‘雪皇后’杂交中使用 NAA 和 IBA 处理,其效果并不明显。

食盐等非生长调节物质对克服作物授粉不亲和的研究比较广泛,可能是化学物质引起柱头上原本对异源花粉起识别和阻碍作用的蛋白质丧失“识别”能力,提高自交和杂交的亲合性<sup>[26]</sup>。如 3.0% NaCl 溶液处理柱头可促进东方百合及亚洲百合 2 个品种群内杂交组合结

**作者简介:**杨利平(1962-),男,博士,教授,现主要从事园林花卉种质资源创新等研究工作。E-mail:836711655@qq.com。

**基金项目:**重庆市自然科学基金资助项目(CSTC,2011BB1001);重庆市涪陵区科技计划资助项目(FLKJ,2012ABB1086)。

**收稿日期:**2016-04-19

籽;而东方百合品种群内杂交,也出现食盐降低结实率的组合<sup>[24]</sup>。KCl 处理有效削弱了细胞膜的膜脂过氧化作用,延缓了柱头衰老,提高了授粉受精作用,且与结实率升高表现出一定相关性<sup>[27]</sup>。

### 1.3 蕾期授粉和延迟授粉

一般认为雌蕊最佳授粉时期除了由柱头可授性的最佳水平决定外,还受多种因素影响<sup>[28-29]</sup>。蕾期的雌蕊还没有产生不亲和物质,即使有含量也极少。因此这时的雌蕊基本不能区别自己和异源花粉的差异,蕾期杂交授粉可育性提高<sup>[30]</sup>。

延迟授粉是对开花后一段时间的老龄雌蕊而言,即开花后 3~7 d 给雌蕊授粉仍然能结实,远缘杂交可通过延迟授粉来提高育种的成功率。黄济明<sup>[31]</sup>研究指出,这种现象也许与雌蕊内不亲和性物质浓度、强度或柱头识别细胞的解体相关;NIIMI 等<sup>[32]</sup>研究表明,花开当天授粉的种子萌发率最高,但延迟授粉结实率明显大于花开当天;也有育种者观察发现,在亚洲品种群与麝香品种群的杂交组合‘普瑞头’×‘雪皇后’的授粉试验中,授粉时期与结实率无关<sup>[25]</sup>。

### 1.4 花粉蒙导

通常将正常的亲和性花粉用辐射或化学制剂处理,使之丧失遗传活性,但还具有萌发能力,如果用这种经过特殊处理的花粉与不亲和的目标花粉(杂交的父本)同时进行授粉,为混合授粉;如果将其先授粉于母本柱头,然后再授不亲和的目标花粉,这种方法称为先锋授粉。花粉蒙导是混合授粉和先锋授粉的统称。实践证明,花粉蒙导方法可以克服很多植物受精前的生殖障碍,也有试验观察到花粉蒙导在有些种间杂交组合中的效果不好<sup>[33-35]</sup>。

### 1.5 混合花粉授粉和重复授粉

混合花粉授粉就是将亲和的和亲和的花粉按照一定比例混合在一起授粉。理论上认为,杂交授粉过程中亲和花粉在柱头上很容易萌发,向花柱内部长出花粉管,在花柱内部创造有利于不亲和花粉花粉管生长的特殊环境,在一定程度上克服杂交的受精前障碍。重复授粉是在母本柱头上授 1 次父本目标花粉后经过一段时间再次授以相同的目标花粉。有试验显示,混合花粉能够克服麝香百合自交不亲和现象,但对于种间杂交的基本没有效果<sup>[33]</sup>。

### 1.6 离体授粉

离体授粉通常包括离体花朵授粉、离体雌蕊授粉、离体子房授粉和离体胚珠授粉等,其中离体胚珠授粉应用较为广泛。离体花朵授粉是将花朵开放前割下,整体消毒后在无菌培养基上培养,待开花后柱头无菌授粉

(父本花朵也是同母本一样培养,无菌采粉)。胚珠离体授粉是将母本子房消毒,取出未受精的胚珠接种在合适的培养基上,无菌授粉(同离体花朵授粉)。离体胚珠授粉对于不亲和植物来说,父本花粉可以有效地避开柱头上或花柱内的一切生殖障碍,缩短花粉管到达胚珠实现受精的距离。有研究显示,母本子房的发育时期和授粉方式对杂交效果影响较大。其中开花 3 d 前的雌蕊授粉获得幼胚最多,花柱内授粉获得膨大的胚珠明显增多<sup>[9,17,34]</sup>。有研究者在 5 个杂种系品种和 1 个野生种为试材的杂交试验中,利用离体柱头授粉的方法获得子房膨大率和结实率分别为 30%和 15%,离体切割花柱授粉的为 15%和 5%,离体子房授粉的为 25%和 5%<sup>[8]</sup>。

### 1.7 嫁接花柱

嫁接花柱就是将父本的花粉授予亲和(第三者)的柱头,待花粉萌发后将其切除,嫁接于母本子房上。TUYL 等<sup>[34]</sup>开展柱头嫁接法,使子房坐果率提高,在某些百合品种杂交上取得成功。但也有试验证实,在百合的某些杂交组合中,即使有些是同一品种群内的组合,由于供体与受体接触不够充分或花粉管在不同物种花柱中穿越的能力差异明显等原因,使得花粉不能进入受体的子房,常常导致杂交失败<sup>[17,23]</sup>。

## 2 受精后障碍的克服

亲本存在染色体之间的差异和胚、胚乳间的不亲和,常导致杂交受精后的生殖障碍。在百合远缘杂交过程中,经常由于胚乳败育和胚与胚乳之间的不亲和而导致胚的发育停滞或死亡,推测可能是胚、胚乳或母体组织间遗传引起的激素不平衡的结果所致<sup>[36-37]</sup>。

### 2.1 胚培养

在远缘杂交的实践中发现,杂种胚发育到中后期经常出现败育或不能得到成熟杂种种子的现象,在杂种果实枯萎前,及时在无菌状态下剥离幼胚离体培养来挽救幼胚,以增大育种中杂交苗成活的几率。目前该技术已经被认为是克服受精后障碍的最为有效方法之一。早在 20 世纪 80 年代,上海园林科研所就用胚胎培养技术得到了百合杂种苗<sup>[38]</sup>。ASANO 等<sup>[36]</sup>创造性的使用非杂交的正常胚乳与去掉胚乳的杂种幼胚紧贴在一起的胚乳看护培养,使得大部分杂种幼胚都生长正常,明显降低杂交受精后的生殖障碍。杂种胚的离体培养通常需要较高浓度的蔗糖,但同时也发现高浓度的蔗糖或高浓度的生长素与畸形胚的形成成正比<sup>[39]</sup>。虽然 2 周的杂种幼胚也有离体培养成功的报道,但通常认为幼胚的胚龄越大,其成熟度越高,这样不但幼胚剥离较为容易,培养成苗也容易,如 50~70 d 胚龄的杂种胚明显比 30~

50 d 胚龄的幼胚剥离容易,萌发率也高<sup>[40-41]</sup>。东方百合杂交幼胚离体培养中,培养基中添加适量椰乳能提高刚刚固化的幼胚的成活率,添加适量的香蕉泥能提高固化程度稍高的幼胚的成活率<sup>[42]</sup>。

## 2.2 胚珠培养和子房培养

胚珠培养是将授粉后的子房在无菌条件下剥离胚珠,在培养基上培养。为了加大胚珠培养的成功率,有时也采取类似于“胚乳看护培养”的方法将胚珠连同胎座一起取下来培养。子房培养是将杂交后的子房表面消毒,整体离体培养或将子房横切成 2~3 mm 的切片做离体切片培养。TUYL 等<sup>[9,17]</sup>、CREIJ 等<sup>[23]</sup>、黄济明等<sup>[31,38]</sup>、HAYASHI 等<sup>[43]</sup>、KANO 等<sup>[44]</sup>、罗凤霞等<sup>[24]</sup>、张睿婧等<sup>[45]</sup>都采用胚珠培养或子房切片培养技术手段,在母本子房萎蔫前将杂种胚成功拯救,获得杂种幼苗。

## 3 问题与展望

### 3.1 百合杂交育种的难题

花色、香气和抗性育种是百合育种的主要目标<sup>[5]</sup>。目前栽培的百合品种群中,亚洲百合抗性好、花色丰富,但无香气;东方百合抗性极差、香气过浓。为此增加亚洲百合的香味,降低东方百合的香气和增强其抗性是学者们努力追求的目标。有研究者用多种方法克服远缘杂交的障碍,获得东方系和亚洲系(OA)杂交组合<sup>[9,28]</sup>;亚洲系和东方系(AO)杂交育种工作也有一些尝试<sup>[46]</sup>,但至今尚鲜见杂交成功的报道。

### 3.2 杂交新技术的尝试

研究者在杂交育种中,使用较为成熟技术的同时,为了取得更好的杂交效率,也尝试了其它的技术手段。如使用 50 ℃热水预处理麝香百合雌蕊后再授以父本花粉,但未能克服种间杂交障碍<sup>[23,33]</sup>;杨晓苓<sup>[47]</sup>尝试“桥梁杂交方法”进行东方百合‘Siberia’与亚洲百合‘Pollyanna’及‘Prato’的杂交,也未获成功。对于前景优良且不易成功获得的性状,可尝试体细胞杂交或转基因等辅助育种技术等多种育种技术的结合加以攻克。

### 3.3 我国百合杂交育种的途径

西方国家百合育种工作有 100 多年的历史,对世界花卉发展贡献巨大。一般认为,中国百合系统的育种工作是在 20 世纪 80 年代由上海园林科研所的黄济明先生率先起步,在短短的几年内获得数十个远缘杂交种,但其育种工作于 20 世纪 90 年代初期中断,也没能向市场上推出优良的百合新品种。从 20 世纪 90 年代开始,国内众多育种者在百合资源收集和育种工作中做出了积极贡献,也培育出一些百合品种。但目前国内花卉市场上出售的百合花卉商品几乎全部为进口,我国自主产权

的品种很难见到,这已经成为制约我国百合花卉产业发展的瓶颈问题。虽然我国百合属资源十分丰富,但行业内多数声音是不建议育种者从野生种开始进行原始远缘杂交,这样的育种起点很难赶上世界百合的育种水平。百合花卉企业自身的育种工作更有优势,因为企业系统选育的材料丰富,育种目标又直接面对市场。当然要注意收集我国特有的种类、优良的单株及其它有益的变异类型,作为重要亲本参与杂交育种。要充分利用已有的百合育种成就,提高育种起点,加快育种速度。

## 参考文献

- [1] van TUYL J M, van HOLSTEIJN H C M. Lily breeding research in the Netherlands[J]. Acta Horticulturae, 1996, 414: 35-43.
- [2] YANG T C. Breeding and propagation techniques and plant breeders' rights of lilies in the Netherlands[J]. Seed and Nursery (Taiwan), 2000(2): 1-5.
- [3] 吴祝华, 施季森, 池坚, 等. 观赏百合资源与育种研究进展[J]. 南京林业大学学报, 2006, 30(2): 113-118.
- [4] YAMAGISHI M. A genetic model for a pollen strain in Asiatic hybrid lily and its utilization for breeding[J]. Scientia Horticulturae, 2003, 98: 293-297.
- [5] 李守丽, 石雷, 张金政. 百合育种研究进展[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 203-210.
- [6] HOSHI Y M, KONDO S M, MORI S H, et al. Production of transgenic lily plants by *Agrobacterium* mediated transformation[J]. Plant Cell Report, 2004, 22: 359-364.
- [7] 郝瑞娟, 穆鼎, 张檀, 等. 百合品种间杂交的初步研究[J]. 西北林学院学报, 2005, 20(3): 87-89.
- [8] 谈晓林, 崔光芬, 郑思乡, 等. 百合不同离体授粉方法的杂交结实研究[J]. 西南农业学报, 2011, 24(1): 270-274.
- [9] van TUYL J M, STRAATHOF T P, BINO R J, et al. Effect of three pollination methods on embryo development and seed set in intra- and inter-specific crosses between seven *Lilium* species[J]. Sexual Plant Reproduction, 1998(1): 119-123.
- [10] CHI H S. Interspecific crosses of lily by *in vitro* pollinated ovules[J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2000, 41: 143-149.
- [11] 李婕, 高亦珂, 张启翔. 切割花柱法对百合杂交亲和性的影响[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(5): 97-100.
- [12] ASANO Y. Studies on crosses between distantly related species of lilies IV. The culture of immature hybrid embryos 0.3—1.4 mm long[J]. Japan Soc Hort Sci, 1980, 49(3): 11-18.
- [13] 王文和, 王树栋, 赵祥云, 等. 百合远缘杂交花粉萌发及花粉管生长过程观察[J]. 西北植物学报, 2007, 27(9): 1790-1794.
- [14] 杨晓苓, 杨利平, 尚爱芹, 等. 百合授粉亲和性与雌蕊中保护酶和激素的关系[J]. 园艺学报, 2009, 36(6): 855-860.
- [15] OKAZAKI K, UMADA Y, URASHIMA O, et al. Interspecific hybrids of *Lilium longiflorum* and *L. × formolongi* with *L. rubellum* and *L. japonicum* through embryo culture[J]. Japanese Society for Horticultural Science, 1992, 60: 997-1002.
- [16] van CREIJ M G M, van RAAMSDONK L W D, van TUYL J M. Wide interspecific 22 hybridization of *Lilium*; preliminary results of the application



of pollination and embryo-rescue methods[C]//The Lily Yearbook of the North American Lily Society,1993:28-37.

[17] van TUYL J M, van DIJKEN A, CHI H S, et al. Breakthroughs in interspecific hybridization of lily[J]. Acta Horticulturae, 2000, 508: 83-88.

[18] BOYLE T H, STIMART D P. Self incompatibility and interspecific incompatibility; relationships in intra-and interspecific crosses of *Zinnia elegans* Jacq. and *Z. angustifolia* HBR (Compositae) [J]. Theor Appl Genet, 1986, 73: 305-315.

[19] JANSON J, REINDERS M C, van TUYL J M, et al. Pollen tube growth in *Lilium longiflorum* following different pollination techniques and flower manipulations[J]. Acta Botanica Neerlandica, 1993, 42(4): 461-472.

[20] 杜文文, 王祥宁, 吴丽芳, 等. 亚洲百合和铁炮百合正反杂交亲和程度的差异性分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(23): 4854-4861.

[21] PITTARELLI G W, STAVELY J R. Direct hybridization of *Nicotiana repanda* × *N. tabacum* [J]. Heredity, 1975, 66: 281-284.

[22] SASTRI D C, NALINI M S, MOSS J P. Tissue culture and prospects of crop improvement in *Arachis hypogaea* and other oilseeds crops[C]//RAO A N. Proceedings of the international symposium on tissue culture of economically important plant in developing countries. National University of Singapore Press, 1981: 42-57.

[23] van CREIJ M G M, KERCKHOFFS D M F J, van TUYL J M. Application of four pollination techniques and hormone treatment for by passing interspecific crossing barriers in *Lilium* [J]. Acta Horticulture, 1999, 508: 267-274.

[24] 罗凤霞, 年玉欣, 孙晓梅. 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.

[25] 罗建让, 张延龙, 张林华. 克服百合自交及杂交障碍方法的初步研究[J]. 西北农业学报, 2007, 16(4): 260-263.

[26] SHARMA N, BAJAJ M, SHIVANNA K R. Overcomng self-incompatibility through the use of lectins and sugars in *Petunia* and *Eruca* [J]. Annals of Botany, 1985, 55: 139-141.

[27] 刘凤栾, 杨利平, 尚爱芹, 等. KCl 处理对百合柱头生理及结实的影响[J]. 武汉植物学研究, 2009, 27(4): 403-406.

[28] van TUYL J M. Interspecific hybridization of flower bulbs: A review [J]. Acta Horticulturae, 1997, 430: 465-471.

[29] YOLANDE H H. Control gates and micro-ecology: The pollen-stigma interaction in perspective[J]. Annals of Botany, 2000, 85(supplement): 5-13.

[30] 孟金陵. 植物生殖遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1997.

[31] 黄济明. 王百合与大卫百合种间远缘杂交杂种的育成[J]. 园艺学报, 1982, 9(3): 51-55.

1982, 9(3): 51-55.

[32] NIIMI Y, LI T H, MATSUO K. Self-compatible and incompatible reactions in Asiatic hybrid *Lilium* × 'Enchantment': Influence of pistil age on seed set [J]. Japanese Society for Horticultural Science, 1997, 65: 835-842.

[33] van TUYL J M, CLARAM A M, VISSER T. Pollen and pollination experiments[J]. Euphytica, 1982, 31: 613-619.

[34] van TNYL J M, van DIEN M P, van CREIJ M G M, et al. Application of *in vitro* pollination, ovary culture and embryo rescue for over-coming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses[J]. Plant Science, 1991, 74: 115-126.

[35] 马莉, 张克中, 张启翔, 等. 授粉方法对克服百合 'Cordelia' × 毛百合远缘杂交障碍的影响[J]. 核农学报, 2008, 22(1): 28-31.

[36] ASANO Y, HIROSHI M. Studies on crosses between distantly related species of lilies II. The culture of immature hybrid embryos [J]. Japan Soc Hort Sci, 1977, 46(2): 267-273.

[37] MUNTZING A. Hybrid incompatibility and the origin of polyploidy [J]. Hereditas, 1993(18): 33-35.

[38] 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): 153-157.

[39] OKAZAKI K, ASANO Y, OOSAWA K. Interspecific hybrids between *Lilium* Oriental hybrid and Asiatic hybrid produced by embryo culture with revised media [J]. Breeding Science, 1994, 44: 59-64.

[40] 孙晓梅, 罗凤霞, 王亚斌, 等. 百合幼胚离体培养基的筛选[J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(1): 22-26.

[41] 屈云慧, 吴丽芳, 杨春梅. 百合幼胚离体培养成株体系的建立[J]. 云南农业科技, 2002(2): 9-12.

[42] 王春彦, 卢丹丹, 李玉萍, 等. 椰乳和香蕉泥对东方百合杂交幼胚离体培养的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2011, 42(5): 618-621.

[43] HAYASHI M, KANO H K, SERIZAWA Y, et al. Ovary slice culture of *Lilium formosanum* Wallace [J]. Japan Breed, 1986, 36: 304-308.

[44] KANO H K, HAYASHI M, SERIZAWA Y, et al. Production of interspecific hybrids between *Lilium longiflorum* and *L. elegans* by slice culture [J]. Japan Breed, 1988, 38: 278-282.

[45] 张睿婧, 姜珊, 席梦利, 等. 百合远缘杂交及其杂种鉴别研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2012, 36(3): 23-27.

[46] 刘凤栾. 克服百合远缘杂交不亲和性的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009.

[47] 杨晓琴. 授粉方式对百合亲和性的影响[D]. 保定: 河北农业大学, 2009.

## Research Progress of Lily Hybration and Breeding Technologies

YANG Liping

(College of Life Science and Technology, Yangtze Normal University, Chongqing 408100)

**Abstract:** Lily, broadly known as the world's five best fresh-cut flowers, is famous in floriculture. There are usually some issues of dysgenesis during the process of lily hydration, which are restrictions of breeding research. Technical measures and their effects towards obstacles before and after fertilization were summarized. Moreover, the problems and current methodologies of lily hydration in the nation were deeply analyzed.

**Keywords:** lily; breeding; fertilizing disability; pollination; embryo cultivation