

赵兴华, 裴新辉, 杨佳明, 等. LA 和 O 型百合正反交试验及胚培养的杂交效果[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(4): 273–274.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.077

# LA 和 O 型百合正反交试验及胚培养的杂交效果

赵兴华<sup>1</sup>, 裴新辉<sup>1</sup>, 杨佳明<sup>1</sup>, 赵梦妹<sup>2</sup>

(1. 辽宁省农业科学院花卉研究所, 辽宁沈阳 110161; 2. 沈阳世界园艺博览经营有限公司, 辽宁沈阳 110161)

**摘要:**以皮兰德龙和索邦为亲本进行百合杂交育种, 探讨亲本的花粉活力, 并进行正反交试验, 比较正反交的结实率, 通过胚培养技术在克服受精后障碍的应用, 同时比较不同培养基对杂交胚生长效果的影响。结果表明: 2 个百合品种常规杂交, 无论正反交授粉都不能得到杂交种子; 采用切割柱头授粉方式, 其杂交的子房膨大率均值达 51%; 离体胚培养最佳培养基含 5% 蔗糖、0.2 mg/L 6-BA、0.01 mg/L NAA。

**关键词:**百合; 杂交; 胚培养

**中图分类号:** S682.2<sup>+</sup>65.036 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0273-02

百合是单子叶植物亚纲百合科 (Liliaceae) 百合属 (*Lilium*) 所有植物种类的总称, 百合均为多年生草本植物。目前, 全球约有 115 种百合, 中国已发现 55 种、18 个变种, 占世界百合属植物的 50%<sup>[1]</sup>。目前, 全球用于切花生产的百合栽培品种大约有 500 多种<sup>[2]</sup>, 多为品系内或品系间杂交培育而成的品种。20 世纪初, 国外以荷兰、日本、美国为中心开展了百合的育种工作, 利用其优良的东方系、麝香系、亚洲系进行组间和种间杂交, 培育出具有良好商业性状的百合新品种, 由此推出百合的 OT 和 LA 系列杂交新品种<sup>[3-5]</sup>。目前, 市场上主要的百合切花集中在 5 个百合品系上: 亚洲系 (Asiatic hybrids)、东方系 (Oriental hybrids)、麝香系 (Longiflorum hybrids)、OT 型、LA 型等。在百合种间杂交育种实践中, 经常把胚培养技术作为克服杂交后障碍的有效手段, 至今通过胚培养获得的百合种间杂交种有 100 余个<sup>[6-7]</sup>。中国对百合杂交后代的培育, 仅局限于其野生种质的种间杂交, 目前也没有获得具有商业价值的百合新品种推广应用。本研究通过对 LA 型和东方系 (O 型) 进行组间杂交, 采用常规授粉和切割柱头授粉方式以及离体胚抢救技术来克服其受精前后障碍, 以期获得 LAO 新型的百合杂交种。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以百合杂交品种 LA 型/皮兰德龙 (Pirandello) 与东方百合索邦 (Sorbonne) 为本研究的试验材料。

### 1.2 方法

**1.2.1 杂交亲本花粉生活力测定** 在盛花期选取当天开放的花朵, 待花粉散开后采集不同植株上的花粉, 用毛笔蘸上待测花粉接种在花粉萌发培养基<sup>[8]</sup> (100 g/L 蔗糖 + 5 g/L 琼脂 + 0.02 g/L 硼酸, 调 pH 值至 5.8) 上, 涂抹 1 薄层, 12 h 后在显

微镜下观察计数, 统计不同品种花粉萌发率。在视野内随机数 100 粒清晰无重叠的花粉, 萌发的按 1 下计数器, 统计萌发百分率, 连续统计 2 次。

萌发率 = (萌发花粉数 / 观测花粉总数) × 100%。

**1.2.2 授粉** 杂交授粉采用常规和非常规的方法。常规授粉是将花粉直接授在柱头上, 非常规授粉为切割柱头授粉。切割柱头授粉是将柱头切掉, 直接授粉于花柱上。

**1.2.3 胚培养** 授粉培养后 50 ~ 60 d, 取出膨大的子房, 剥出其内的胚珠 (发育不完全的种子) 进行离体培养, 分别置于含不同浓度蔗糖、6-BA 和萘乙酸的 1/2 MS 培养基中培养。其蔗糖浓度分别为 3%、5%、7%, 6-BA 浓度分别为 0.1、0.2、0.3 mg/L, NAA 浓度分别为 0.01、0.02、0.03 mg/L, 培养基中琼脂含量为 5 g/L, 调节其 pH 值为 5.8。进行 3 周暗培养 (温度为 25 ℃) 后, 在 1 500 lx LED 灯下进行全天光照培养, 培养温度仍为 25 ℃, 培养 3 周; 此后再次调整培养的光照时间, 20:00 将 LED 灯打开, 至 08:00 关闭, 使其保持 12 h 的光照。

## 2 结果与分析

### 2.1 亲本花粉活性及正反交的结实率

东方系的索邦花粉萌发率高, 达 78.6%, 而 LA 杂交系的皮兰德龙花粉萌发率低, 仅为 8.3%。显微观察发现, 索邦花粉粒饱满, 而皮兰德龙大部分的花粉粒发育不良, 但也观察到饱满且发育良好的花粉粒。以皮兰德龙、索邦为亲本进行正反交试验, 2 个组合各授粉 100 朵, 授粉后 1 周左右, 子房出现败育现象, 败育子房表现出子房前端有所膨大, 没有膨大的后端陆续开始枯黄萎蔫脱落。60 d 后全部败育, 其中有膨大的子房, 解剖后未得到有胚种子, 呈现假膨大现象。

### 2.2 不同授粉方式对杂交结实的影响

为克服受精障碍采取非常规授粉方法是很有有效的。2 个百合品种在切割柱头授粉方式下, 其杂交的子房膨大率均值达到 51%, 且获得有胚的种子。而作为对照常规授粉的母本, 在其子房膨大之前就出现枯萎现象, 8 d 便开始枯萎, 不能得到正常发育的种子。2 个百合品种以切割柱头授粉方式的种子结实率较高 (表 1)。

收稿日期: 2015-03-16

基金项目: 辽宁省沈阳市科技攻关项目 (编号: F13-124-3-00)。

作者简介: 赵兴华 (1973—), 男, 吉林白城人, 硕士, 副研究员, 从事花卉新品种选育及栽培技术推广。Tel: (024) 31025677; E-mail: zhaoxh@163.com。

表 1 不同百合品种不同授粉方式的杂交结果比较

亲本类型	授粉方式	授粉数目 (朵)	子房膨大数目 (个)	从授粉到膨大子房枯萎的时间 (d)	子房膨大率 (%)	形成蒴果数 (个)
LA × O	切割柱头	150	76	10 ~ 65	51	37
	常规授粉	100	0	8	0	0
O × LA	切割柱头	150	0	8 ~ 20	0	0
	常规授粉	100	0	7	0	0

2.3 不同蔗糖和激素浓度培养基对杂交种子培养的影响

从表 2 可以看出,培养基的蔗糖浓度对杂交组合种子培养的影响较明显,其中含 5% 蔗糖的培养基最适宜百合杂交组合种子的培养,当培养基所用 6 - BA 浓度为 0.2 mg/L、NAA 的浓度为 0.01 mg/L 时,其种子成活率比较高。蔗糖含量为 6% ~ 8% 时,幼胚的胚性生长情况最好,褐变率最低,在培养中,早熟萌发数随蔗糖含量的增加而降低,这是由于高渗透压阻止离体未成熟胚早熟萌发作用所致<sup>[9]</sup>。本研究结果表明,百合杂交组合的种子在含 5% 蔗糖培养基中其成活率均在 50% 以上,比较适合其种子的生长发育。因此,最佳培养基的蔗糖浓度为 5%,6 - BA 浓度为 0.2 mg/L,NAA 浓度为 0.01 mg/L。

表 2 不同浓度的蔗糖及 NAA 培养基对百合 2 个杂交组合种子成活的影响

蔗糖浓度 (%)	6 - BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	种子数 (粒)	成活种子数 (粒)	成活率 (%)
3	0.1	0.01	30	10	33
	0.2	0.02	30	11	37
	0.3	0.03	30	9	30
5	0.1	0.03	30	17	57
	0.2	0.01	30	21	70
	0.3	0.02	30	16	53
7	0.1	0.03	30	6	20
	0.2	0.02	30	8	27
	0.3	0.01	30	5	17

3 结论与讨论

在百合杂交品系的研究中,国外对其 AO、OT、LA 进行过组间杂交,但未见 LA × O 型杂交新种质的研究报道。本试验首次开展了此项研究,所选取的材料 LA 型/皮兰德龙(Pirandello)具有生长周期短(11 周)、抗倒伏、抗叶烧病和花朵品质维持较好等优点。而本身为杂交品种的东方百合索邦(Sorbonne)花呈浅粉色且花朵大、花型美丽、具香味、生长周期较长(16 周)、不抗叶烧病、耐弱光等特点。期望结合二者的优良性状,培育出生长周期较短、抗倒伏、抗叶烧病、耐弱光、具香味且花色、花型都比较丰富的百合新品种。本研究为皮兰

德龙和索邦杂交育种及具有自主知识产权的新品种选育奠定了基础。

在实验室的条件下采取离体胚抢救的方式对 2 个品种百合的杂交胚进行培养,获得了杂种胚和种子。本研究采用子房膨大率、种子成活率作为其杂交亲和力的判定指标,从而筛选出离体胚培养材料的最适宜的消毒灭菌液和消毒灭菌时间,以及最佳的培养基和最佳授粉方式。即对其子房先用乙醇消毒 0.5 min 后,再采用火燎的方法,此法对其材料的污染率最低,含 5% 蔗糖、0.2 mg/L 6 - BA、0.01 mg/L NAA 的培养基为最佳培养基,最适合其胚的培养;在以 LA 杂交系百合为母本的杂交中,采取切割花柱的方法能提高杂交成功率,得到有胚的杂交种子,研究结果为克服百合远缘杂交的不亲和性找到了良好途径。

参考文献:

[1] 穆 鼎. 观赏百合[M]. 北京:中国农业出版社,2005:15 - 23.  
[2] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京:中国林业出版社,2000.  
[3] Matsubara S. Overcoming the self - incompatibility of *Lilium longiflorum* Thunb. by application of flower - organ extract or temperature treatment of pollen[J]. Euphytica,1981,30(1):97 - 103.  
[4] Okazaki K,Asano Y,Oosawa K. Interspecific hybrids between *Lilium* - ‘Oriental’,hybrid and L. ‘Asiatic’ hybrid by embryo culture with revised media[J]. Breeding Science,1994,44:59 - 64.  
[5] Okazaki K,Kunishige M. Introduction of the characteristics of *Lilium concodor* into L. × ‘Asiatic hybrids’ by crossing through style - cutting pollination and embryo culture[J]. J Japan Soc Hort Sci,1994,63(4):825 - 833.  
[6] van Tuyl J M. Overcoming interspecific crossing barriers in lilium by ovary and embryo culture[J]. Acta Hort,1990,266:317 - 322.  
[7] 屈云慧,陈卫民,吴学尉,等. 离体胚抢救技术在百合育种中的应用[J]. 云南农业大学学报,2004,19(2):207 - 210,219.  
[8] 年玉欣,罗霞,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.  
[9] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京:北京农业大学出版社,1992:221 - 223.