

东方百合二、四倍体杂交及细胞学研究初报*

向仕华¹, 郑思乡^{1,2**}

(1. 云南农业大学园林园艺学院, 云南 昆明 650201;

2. 云南玉溪雷森科技有限公司, 云南 玉溪 650031)

摘要: 对东方百合二、四倍体杂交获得的种子萌发进行了统计及相关的比较研究, 并对其杂交后代进行了细胞学观察研究。试验结果表明, 东方百合二、四倍体杂交获得的种子可育性低, 并有很大差异, 获得的植株出现了二倍化。

关键词: 东方百合; 二倍体; 四倍体; 细胞学

中图分类号: S 682. 29. 01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 390X(2006)04 - 0440 - 04

Preliminary Study on Cross between Diploid and Tetraploid and Cytology of *Lilium oriental*

XIANG Shi-hua¹, ZHENG Si-xiang^{1,2}

(1. College of Landscape and Horticulture, Yunnan Agriculture University, Kunming 650201, China;

2. Leisen Science and Technology Limited Company, Yuxi 650031, China)

Abstract: Statistic and comparison research on the sprouted seed obtains crosses between Diploid and Tetraploid of *Lilium oriental*, and cytology observation research to its hybrid descendant. The experimental result indicates, the propagation of the seed obtains crosses between Diploid and Tetraploid of *Lilium oriental* are very low, and has the very remarking difference, the plant have a highly duplication.

Key words: *Lilium oriental*; Diploid; Tetraploid; cytology

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*), 多年生草本植物。百合为球根花卉之王, 花大色艳, 花姿优美, 是世界名花之一, 特别是东方百合(*Lilium oriental*), 具有浓郁醉人的芳香, 深受人们的喜爱。百合切花是目前世界上发展最快的花卉之一, 市场前景广阔。但品种却完全受控于国外, 育种工作已经迫在眉睫。

不同倍性间的杂交, 是创造新种质类型的有效手段之一。植物二、四倍体杂交, 可以获得三倍体植株, 三倍体植株无论在遗传研究还是在农业生产上都有重要作用^[1,2]。一是三倍体因结无籽果实, 并且具有生长旺盛、抗病性强、高产优质等特点, 在

园林、园艺植物上有广阔的应用前景, 因此深受生产者 and 消费者的欢迎; 二是由三倍体与二倍体杂交, 可以获得非整倍体, 这对染色体工程和育种实践都至关重要。到目前为止, 关于二、四倍体杂交成功的已有一些报道^[3], 如 GOLDRIGA 等报道从葡萄二倍体和四倍体的杂交后代中可获得三倍体, YAMANE, 赵胜健等通过二倍体和四倍体品种杂交育成了三倍体葡萄新品种 Honey Seedless 和无核早红。笔者以探讨东方百合二、四倍体杂交亲和性及后代三倍体获得的效率, 以便为今后东方百合三倍体育种研究提供依据和奠定基础。

收稿日期: 2005 - 11 - 14

* 基金项目: 云南玉溪雷森科技有限公司资助项目

** 通讯作者

作者简介: 向仕华(1983 -), 男, 四川宣汉县人, 在读硕士生, 主要从事花卉生物技术与育种研究。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为东方百合栽培品种“星球战士”*Lilium*. ‘Starfighter’ 培育成的四倍体植株^[4],代号为SF4;和2n配子杂种后代,代号为ZY17,ZY29。

1.2 方法

1.2.1 东方百合二、四倍体杂交和杂交后代的培育

根据表1进行杂交试验。母本花前约5 d去掉雄蕊,并且套袋。父本花粉采集于初花期进行,取出花药于干燥处晾干,待花药开裂、花粉散出后收集于干净瓶中储存。在母本开始开花、柱头上出现粘液时授粉(用毛笔挑花粉散点于带粘液的柱头上),并重复授粉。

表1 杂交组合

Tab.1 Cross combination

组合 combination	母本代号 female parent number	染色体 倍数 ployploid	父本代号 male parent number	染色体 倍数 ployploid
1	SF4	4 ×	ZY29	2 ×
2	ZY29	2 ×	SF4	4 ×
3	SF4	4 ×	ZY17	2 ×

待种子成熟时收获种子,将种子消毒并接种在MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L的培养基上,放于温度20~22℃,光照强度1000 lx,每日光照12 h下培养。

将萌发的种子接种在MS+1~2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA上诱导不定芽,继代培养将6-BA下降到0.5~1 mg/L。生根培养基为MS+1

mg/L NAA+2~5 g/L AC。试管苗经2~4℃低温处理37~57 d,然后练苗移栽到腐质土中。

1.2.2 杂交后代倍性的鉴定

杂交后代倍性的确定主要通过气孔鉴定法和染色体鉴定法来判别。四倍体气孔最大,三倍体次之,二倍体最小,气孔大小与染色体倍性的相关性已有报道^[5];染色体鉴定法采用F-BSG法制片,然后显微观察染色体数目以判断其倍性。

1.2.3 有丝分裂的观察

对气孔显著增大的变异株,取茎尖或根尖采用F-BSG法制片,然后用OLYMPUS显微镜观察有丝分裂动态并摄像。以染色体数目的多少来判断其倍性。

2 结果与分析

2.1 不同倍性间杂交亲和性研究

在东方百合二、四倍体杂交中(表2),种子萌发率低并有很大差异,说明了东方百合二、四倍体杂交亲和性都较差,难以获得杂交后代,与其它相关报道相符合^[6]。在四倍体为母本,二倍体为父本的杂交组合中,相同母本SF4,不同父本时,以ZY29为父本种子萌发率高,为12.4%;以ZY17为父本时种子萌发率低,仅为0.7%。在二倍体与四倍体的杂交组合中,种子萌发率也仅为2.0%;在正反杂交组合中,其种子萌发率也非常的低,最高的也仅为2.0%。从结果可以看出,不同倍性之间的杂交亲和性较差,较难得到能正常萌发的种子。

表2 种子萌发状况

Tab.2 The condition of seed germinated

杂交组合 cross combination	培养种子数 No. of seed cultured	观察天数/d No. of observe day	种子萌发数 No. of seed germinated	种子萌发率/% frequency of seed germinated
SF4 XZY29	250	120	31	12.4
ZY17 X SF4	150	120	3	2.0
SF4 X ZY17	700	120	5	0.7

2.2 杂交后代的培育和倍性的确定

将杂交获得的成熟种子进行离体培养,30 d后才开始萌发,并且极少数种子100 d后才萌发,这些较晚萌发的种子比较奇特,为继续研究提供更多的材料。

对东方百合植株杂交后代进行气孔观察,结果表明四倍体气孔最大,其气孔周长变化在323.02~398.41 μm之间;三倍体次之,其气孔周长变化在290.7~358.24 μm之间;二倍体最小,其气孔周长变化在226.93~255.95 μm之间。不同倍性之

间气孔大小差异十分显著。

2.3 有丝分裂的观察

观察杂交后代不同单株根尖,东方百合二、四倍体间的杂交理应得到较多的三倍体植株,但染色体数目观察结果表明,在所有杂交后代中,出现了二倍体、三倍体和四倍体几种倍性水平,并绝大多数植株的染色体数目为 $2n = 2 \times = 24$,为二倍体;少数植株的有些细胞染色体数目为 $2n = 3 \times = 36$,

为三倍体;少数植株的有些细胞染色体数目为 $2n = 4 \times = 48$,为四倍体;还有一些植株细胞染色体数为非整倍,如图 1~8。

除了观察到正常的有丝分裂外,还存在多种非正常的有丝分裂现象,如染色体单桥,双桥,核不均等分裂,多极分裂等现象,如图 9~10。这些现象极可能造成染色体数目的多样性,出现一些非整倍体。

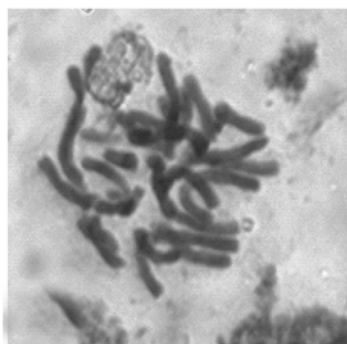


图 1 二倍体染色体数目 $2n=2 \times = 24$
Fig. 1 Diploid chromosome numbers
 $2n=2 \times = 24$

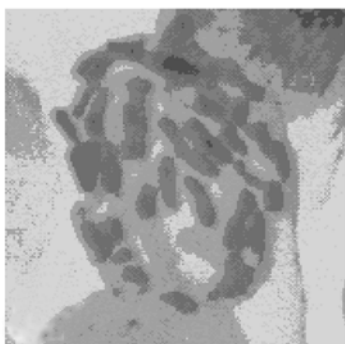


图 2 三倍体染色体数目 $2n=3 \times = 36$
Fig. 2 Triploid chromosome numbers
 $2n=3 \times = 36$



图 3 四倍体染色体数目 $2n=4 \times = 48$
Fig. 3 Tetraploid chromosome numbers
 $2n=4 \times = 48$

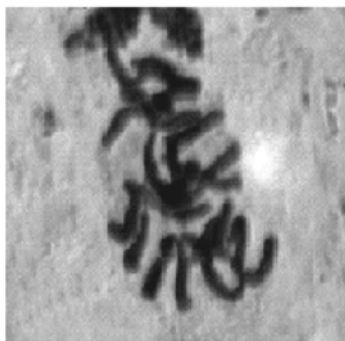


图 4 非整倍体染色体数 $2n=18$
Fig. 4 Aneuploid chromosome numbers
 $2n=18$

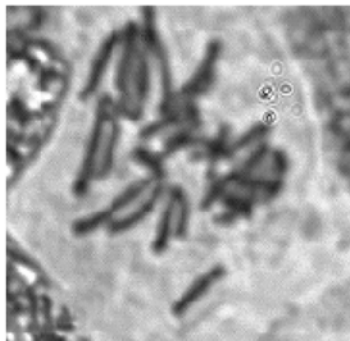


图 5 非整倍体染色体数 $2n=20$
Fig. 5 Aneuploid chromosome numbers
 $2n=20$

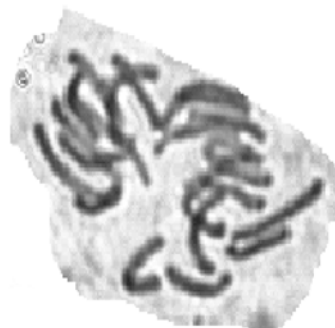


图 6 非整倍体染色体数 $2n=21$
Fig. 6 Aneuploid chromosome numbers
 $2n=21$

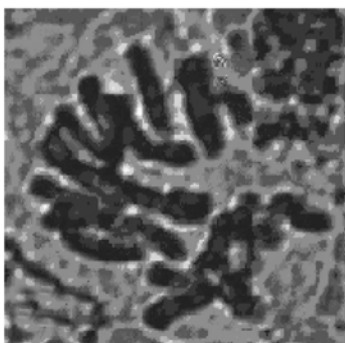


图 7 非整倍体染色体数 $2n=22$
Fig. 7 Aneuploid chromosome numbers
 $2n=22$

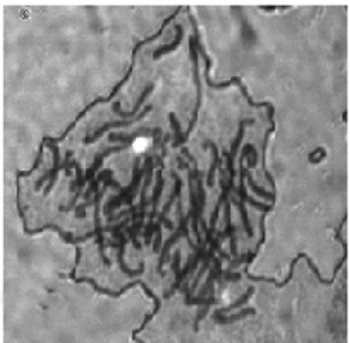


图 8 非整倍体染色体数目 $2n=54$
Fig. 8 Aneuploid chromosome numbers
 $2n=54$

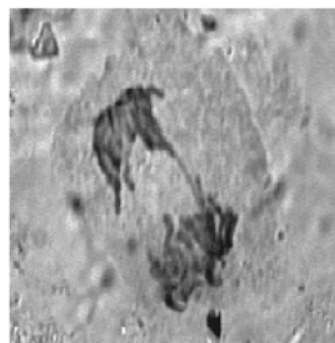


图 9 染色体单桥
Fig. 9 Single bridge of chromosome

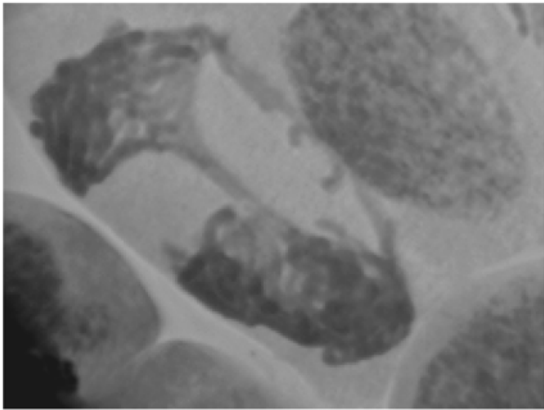


图10 染色体双桥

Fig. 10 Double bridge chromosome

3 讨论

(1) 东方百合二倍体与四倍体间的杂交本应是种子育性很高之间的杂交,但因父母本染色体倍性的差异而存在杂交障碍,从而导致育种效率低。关于不同倍性间杂交亲和性问题,根据 JOHNSTON 等提出的 Endosperm Balance Number (EBN) 假说^[7],在杂种的胚乳中,只有当母本与父本的基因组成比例为 2:1 时,胚乳才能正常发育,形成健全的种子,否则父母本染色体组成比例发生紊乱,胚乳发育中途停滞,造成胚的败育。所以必须进行胚拯救以提高杂交种子获得率及萌发率,从而提高育种效率。

(2) 二倍化现象严重,同时在二倍体过程中出现了有丝分裂多样性如研究中所观察到的染色体单桥,染色体双桥,多极分裂等多种异常有丝分裂现象,由此可能造成染色体数目多样化和丰富的染色体结构变异,从而产生丰富的性状变异,这些变异经过稳定后,可为东方百合新品种的培育提供育种资源,同时也为奇花品种培育开辟了一条新的途

径。在异倍性杂交试验中二倍体、四倍体的形成还有待于今后进一步的研究。

(3) 与以往笔者采用 2n 雌配子技术获得的 2n 配子杂种后代也大不相同^[8,9],其遗传多样性更为丰富。为了探明其细胞遗传规律,笔者将进一步对不同倍性间东方百合杂交做更为系统的有丝分裂和核型分析研究,为东方百合异倍性杂交育种奠定细胞学基础。

[参考文献]

- [1] 李云. 杨树三倍体选育研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(3): 451 - 458.
- [2] 李凤兰, 张志毅. 毛白杨染色体加倍技术研究及三倍体育种[J]. 北京林业大学学报, 1994, 16(2): 15 - 18.
- [3] 黄群策, 孙敬三. 通过异倍性水稻间杂交获得同源三倍体植株[J]. 植物学报, 1999, 41(7): 741 - 746.
- [4] 郑思乡, 章海龙, 董志渊, 等. 东方百合多倍体诱导及种球繁育的研究[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(3): 260 - 263.
- [5] 庄东红, 宋娟娟. 木槿属植物染色体倍性与花粉粒、叶片气孔器性状的关系[J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13(1): 49 - 52.
- [6] 郭印山, 郭修武, 李坤, 等. 葡萄不同倍性品种间杂交亲和性和后代染色体变异的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2004, 35(3): 192 - 194.
- [7] 田立国, 单福成, 申书兴. 植物二、四倍体杂交的胚胎学研究[J]. 河北大学学报, 1998, 18(3): 43 - 46.
- [8] 郑思乡, 吴福川, 章海龙, 等. 东方百合四倍体及 2n 配子杂种后代有丝分裂观察[J]. 中国农学通报, 2005, 21(4): 53 - 55.
- [9] 郑思乡, 向仕华, 章海龙, 等. 东方百合 2n 雌配子诱导及三倍体多样性研究[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(3): 309 - 312.