

大花萱草不同品种间杂交亲和性及 结实特性研究

张超¹ 魏爱丽² 黄花花¹ 段九菊¹ 曹冬梅¹

(¹山西农业大学园艺学院,太原 030001; ²太原师范学院生物系,太原 030619)

摘要:以不同品种大花萱草为材料,研究了其品种间的杂交亲和性和结实状况。结果表明,大花萱草自交亲和性很低,杂交亲和性也普遍偏低。在17个杂交组合中,金娃娃与不同品种的杂交坐果率相对较高,其中金娃娃♀×红运♂坐果率最高,为27.9%;黄绣客,太谷红最低。不同授粉方法对大花萱草杂交亲和性影响效果依次为:2g/L赤霉素>2g/LNaCl>4g/L赤霉素>切割柱头>蕾期授粉>1g/L赤霉素>常规授粉。大花萱草结实率的高低与父本的花粉活力、母本柱头可授性、花粉管萌发生长状态及胚败育等因素相关。

关键词:大花萱草;品种;杂交;亲和性;结实率

大花萱草有“多倍体萱草”之称,为百合科萱草属多年生宿根草本花卉,其品种繁多、花大优美、花色丰富、花形多样、花期长,颇具观赏价值^[1-2]。大花萱草根系发达,肉质根可贮存大量水分,耐旱、耐寒、耐贫瘠、耐盐碱,适应性强,种植范围广^[3],可作为庭院、公园中的花坛植物,亦可用于点缀岩石园、草坪、花卉园,还可用于坡地固土绿化等。大花萱草管理简单,已成为深受人们青睐的园林绿化及水土保持固坡植物^[4-5]。

目前对大花萱草资源的研究主要集中在分类学^[6-8]、细胞学^[9-12]、杂交育种^[13-16]及组织培养^[17-19]方面,但由于大花萱草为经多亲本杂交而培育的栽培品种,生物学特性复杂,使得分类方法无法达成一致^[20],杂交亲和性较低^[21]、种子繁殖结实率低^[3]、组织培养玻璃化^[22]等现象一直存在,导致其繁殖速度慢,新品种的培育困难。

本试验以不同品种的大花萱草为材料进行杂交,对其品种间的杂交亲和性问题进行了系统研究,旨在阐明大花萱草结实率低的原因,以期为大花萱草杂交育种亲本的选择、杂交组合的选配及杂交授粉方法的选用提供理论依据。

基金项目:山西省科技成果转化引导专项项目(201804D131058);山西农科院农业科技创新研究课题(YCX2020203)

通信作者:曹冬梅

1 材料与方法

1.1 试验材料 试验在山西省农业科学院园艺研究所花卉中心进行,试验材料为露地栽培的多年生大花萱草金娃娃、香宝、黄绣客、吉星、红运和太谷红。

1.2 试验方法

1.2.1 品种间杂交亲和性试验 参考祝鹏芳等^[13]的研究方法,结合项目组前期试验结果,对大花萱草不同品种金娃娃、香宝、黄绣客和红运进行自交试验,同时设计杂交组合(表1),研究金娃娃、香宝、黄绣客、吉星、红运和太谷红6个品种间的杂交亲和性。自交、杂交都在晴天8:00左右取花粉授粉,母本花朵数量约100朵,授粉后立即套袋隔离1d。定期观察,及时统计并计算膨大率、坐果率、结实率。

表1 大花萱草不同品种杂交设计

母本	金娃娃	香宝	父黄绣客	本吉星	红运	太谷红
金娃娃	-	+	+	-	+	+
香宝	+	-	+	-	-	-
黄绣客	+	+	-	-	+	+
吉星	+	+	+	-	+	-
红运	+	+	+	-	-	-
太谷红	-	-	-	-	-	-

+表示品种间杂交,-表示未进行杂交

1.2.2 杂交授粉方法 选择吉星♀×金娃娃♂和黄绣客♀×太谷红♂2个组合,比较了5种授粉方法对大花萱草杂交亲和性的影响。具体方法为:(1)常规授粉,在母本柱头上直接授以父本花粉;(2)生理盐水处理,在授粉前1h,涂2g/L NaCl于母本柱头上,再进行授粉;(3)激素处理,在授粉前30min,涂不同浓度的赤霉素(1g/L、2g/L、4g/L)于母本柱头上,再授以父本花粉;(4)切割柱头,将母本柱头切去后授粉;(5)蕾期授粉,在开花前1d授粉。

1.2.3 结实率调查 通过测定大花萱草花粉活力、柱头可授性及观察花粉管萌发和胚发育情况,分析大花萱草结实率低的原因。花粉活力采用TTC法^[23]测定,柱头可授性采用联苯胺-过氧化氢法^[24]测定,花粉管萌发采用苯胺蓝染色、荧光显微镜观察法^[25],胚发育情况在杂交后调查统计。

1.3 数据统计分析 对大花萱草自交及杂交后蒴果

生长情况、花粉活力、柱头可授性、花粉管萌发及胚发育等指标进行观察记录,统计蒴果膨大数、坐果数、种子数,计算膨大率、坐果率、结籽率。膨大率=(膨大果数/授粉花数)×100%,坐果率=(坐果数/授粉花数)×100%,结籽率=(种子数/授粉花数)×100%,花粉活力=(红色花粉粒数/花粉粒总数)×100%。

2 结果与分析

2.1 大花萱草不同品种自交、杂交亲和性分析 由表2可知,金娃娃自交后坐果率仅为5.4%,崔贵梅等^[25]的研究也证明,金娃娃花粉发育正常,但雌配子败育,结实率很低,导致自交亲和性低;香宝的坐果率在供试样品中最高,但也仅有5.7%;而黄绣客和红运2个品种自交完全不亲和,黄绣客自交后无膨大蒴果,红运膨大的蒴果在生长过程中会逐渐脱落,无法获得成熟的果实和种子。可见,大花萱草自交亲和性很低,几乎不结实,这与田野等^[26]的结论一致。

表2 大花萱草不同品种自交亲和性

品种	花朵数	膨大蒴果数	膨大率(%)	坐果数	坐果率(%)	种子数	结籽率(%)
金娃娃	112±34	14±4	12.5	6±2	5.4	31±11	5.17
黄绣客	108±28	0	0	0	0	0	0
香宝	88±17	5±2	5.7	5±1	5.7	43±9	8.60
红运	103±20	11±2	10.7	0	0	0	0

±号前后数据分别为标准均值、标准差,下同

由表3可知,大花萱草品种间杂交亲和性普遍不高,而且杂交坐果率和品种具有明显的相关性。在17个杂交组合中,金娃娃作为母本时,各品种与其杂交亲和性坐果率顺序为:红运>黄绣客>香宝>太谷红;而金娃娃作父本时与吉星的亲和性最强,杂交后的坐果率高达26.1%,黄绣客次之,香宝最弱。金娃娃和香宝无论正交还是反交,果实成熟过程中都有脱落现象,导致坐果率明显降低。

黄绣客♀×金娃娃♂的坐果率为20.6%,金娃娃♀×黄绣客♂的坐果率为19.3%;黄绣客与香宝的正反交坐果率分别为6.5%和6.1%,与红运、太谷红杂交的坐果率则为0;黄绣客作父本时与吉星杂交的坐果率也为0。可见,黄绣客与金娃娃具有较高的亲和性。香宝和不同品种的杂交结果显示,它与金娃娃杂交的坐果率相对较高,但膨大的蒴果脱落严重,达到50%以上。吉星、红运除了和金娃娃杂交亲和性相对较高外,与其他品种亲和性很低,

甚至完全不亲和。

正反交试验结果表明,金娃娃和香宝、金娃娃和黄绣客、黄绣客和香宝正反交后,坐果率没有明显差异,杂交亲和性的影响不明显;而金娃娃和红运正反交则明显影响其杂交亲和性,当金娃娃作母本、红运作父本时,坐果率高达27.9%,而当红运为母本、金娃娃作父本时,坐果率却为0,说明三倍体大花萱草品种红运的雌雄配子可以和二倍体金娃娃成功受精,但正反交差异明显,三倍体大花萱草红运作母本时,也可以获得膨大的蒴果,但蒴果会在生长过程中完全脱落,所以会在受精后发生杂交障碍,这与雷媛等^[27]的研究结论一致。但红运和黄绣客正反交却完全不亲和,红运作父本和吉星杂交时,膨大的蒴果脱落也很严重,两者亲和性很低。可见,大花萱草品种间亲和性差异很大,也不具有明显的规律,但品种金娃娃可作为一个较好的杂交亲本。

表3 大花萱草不同品种杂交亲和性

杂交组合	花朵数	膨大蒴果数	膨大率(%)	坐果数	坐果率(%)	种子数	结籽率(%)	正反交差异显著性
金娃娃♀ × 香宝♂	95 ± 21	26 ± 3	27.3	12 ± 2	12.6	67 ± 13	5.58	P>0.05
香宝♀ × 金娃娃♂	96 ± 27	24 ± 7	25.5	10 ± 3	10.4	97 ± 22	9.70	
金娃娃♀ × 黄绣客♂	83 ± 13	16 ± 2	19.3	16 ± 6	19.3	78 ± 19	4.88	P>0.05
黄绣客♀ × 金娃娃♂	97 ± 15	20 ± 4	20.6	20 ± 9	20.6	67 ± 2	3.35	
金娃娃♀ × 红运♂	104 ± 8	29 ± 4	27.9	29 ± 7	27.9	184 ± 48	6.34	P<0.05
红运♀ × 金娃娃♂	105 ± 16	12 ± 3	11.4	0	0	0	0	
黄绣客♀ × 香宝♂	107 ± 35	7 ± 1	6.5	4 ± 1	6.5	16 ± 5	4.00	P>0.05
香宝♀ × 黄绣客♂	114 ± 26	10 ± 2	8.8	7 ± 1	6.1	47 ± 11	6.71	
黄绣客♀ × 红运♂	96 ± 5	0	0	0	0	0	0	P>0.05
红运♀ × 黄绣客♂	107 ± 10	4 ± 1	3.7	0	0	0	0	
金娃娃♀ × 太谷红♂	98 ± 17	2 ± 1	2.0	2 ± 0	2.0	18 ± 7	9.00	
黄绣客♀ × 太谷红♂	109 ± 26	0	0	0	0	0	0	
吉星♀ × 金娃娃♂	111 ± 33	29 ± 3	26.1	29 ± 8	26.1	187 ± 33	6.45	
吉星♀ × 黄绣客♂	92 ± 5	4 ± 1	4.3	0	0	0	0	
吉星♀ × 红运♂	108 ± 19	23 ± 5	21.3	1 ± 0	4.3	1 ± 0	1.00	
吉星♀ × 香宝♂	111 ± 24	10 ± 2	9.0	10 ± 3	9.0	49 ± 15	4.90	
红运♀ × 香宝♂	100 ± 20	0	0	0	0	0	0	

2.2 大花萱草杂交授粉方法比较分析 由表4可知,常规杂交表现亲和的杂交组合吉星♀ × 金娃娃♂,采用不同的杂交授粉方法处理均可明显提高坐果率,其中2g/L NaCl处理和2g/L赤霉素处理母本柱头后,坐果率均达到60%以上。不同授粉方法对吉星♀ × 金娃娃♂的亲和性影响效果依次为:

2g/L赤霉素 > 2g/L NaCl > 4g/L赤霉素 > 切割柱头 > 蕊期授粉 > 1g/L赤霉素 > 常规授粉。

试验也证实了对于常规杂交表现不亲和的杂交组合黄绣客♀ × 太谷红♂,无论哪种方法授粉,蒴果都几乎不膨大,坐果率和结籽率也均为0,杂交品种间的亲和性无法通过授粉处理而改变。

表4 授粉方法对吉星与金娃娃杂交亲和性的影响

授粉方法	花朵数	膨大蒴果数	膨大率(%)	坐果数	坐果率(%)	种子数	结籽率(%)
常规授粉	111 ± 13	29 ± 3	26.1	29 ± 3	26.1	187 ± 21	6.45
2g/L NaCl	100 ± 8	60 ± 5	60.0	60 ± 5	60.0	327 ± 33	5.45
1g/L 赤霉素	110 ± 10	51 ± 8	46.4	51 ± 3	46.4	271 ± 42	5.31
2g/L 赤霉素	105 ± 15	71 ± 4	67.6	71 ± 7	67.6	410 ± 19	5.77
4g/L 赤霉素	105 ± 7	59 ± 6	56.2	59 ± 11	56.2	303 ± 17	5.14
切割柱头	110 ± 3	57 ± 8	51.8	57 ± 9	51.8	418 ± 56	7.33
蕊期授粉	90 ± 11	46 ± 4	51.1	46 ± 5	51.1	273 ± 28	5.93

2.3 影响大花萱草结实率的因素分析 为探究大花萱草结实率低的原因,本试验根据大花萱草品种间的杂交亲和性关系,分别选择2个杂交组合,即杂交表现亲和的香宝♀ × 金娃娃♂和杂交表现不亲和的黄绣客♀ × 太谷红♂,进行了花粉活

力、母本柱头可授性、花粉管萌发等因素的测定和分析。

2.3.1 大花萱草花粉活力分析 由图1可知,金娃娃和太谷红2个品种的花粉活力都较高,分别为85.6%和79.2%。

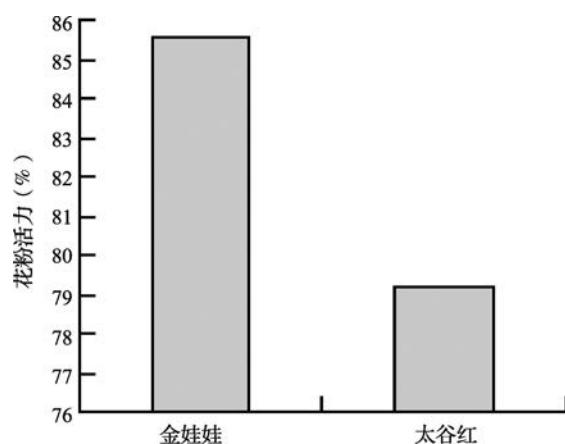


图1 大花萱草品种金娃娃和太谷红的花粉活力

2.3.2 大花萱草柱头可授性分析 如图2所示,香宝和黄绣客2个母本的柱头可授性随着花朵的开放时间而逐渐降低。开花前1d,香宝和黄绣客的柱头可授性为最强,高达90%和86.7%;开花当天降低到80%和81.7%;开花后1d分别为71.7%和70%,柱头可授性呈最低状态。

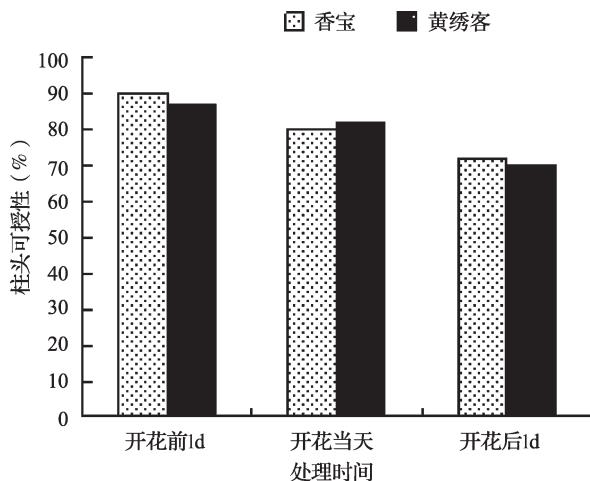


图2 大花萱草品种香宝和黄绣客在不同时间的柱头可授性

2.3.3 大花萱草花粉管萌发分析 杂交授粉后,在不同时间取杂交母本香宝和黄绣客的雌蕊进行制片观察。大花萱草的花粉管在花柱中均为弯曲状向前生长,但不同品种的花粉管生长状态不同。母本香宝的花粉管颜色深,花粉管粗,授粉后约30h即可到达子房;而黄绣客的花粉管明显较细,颜色也较浅。经观察统计,香宝的花粉管萌发率为42.3%,黄绣客的花粉管萌发率仅为6.9%。可见,杂交表现亲和的大花萱草组合,其母本花粉管萌发率明显高于杂交

表现不亲和的组合。

2.3.4 胚发育调查分析 分别调查香宝♀×金娃娃♂和黄绣客♀×太谷红♂杂交后的果实膨大率和坐果率得出,香宝♀×金娃娃♂杂交后,蒴果的膨大率为25.5%,但坐果率仅有10.4%,可见在其果实生长发育过程中,胚败育现象较严重。而对于杂交表现不亲和的黄绣客♀×太谷红♂,杂交后根本无膨大蒴果,果实膨大率和坐果率均为0,无法统计胚败育情况。但通过2个杂交组合的试验可知,胚败育现象是影响大花萱草杂交亲和性的原因之一。

3 结论与讨论

自交不亲和即自交不育,指植物雌蕊抑制自体花粉的萌发或生长,不能正常完成受精的现象,有利于防止近亲繁殖及物种退化,是植物得以保持遗传变异的重要机制^[28-29]。研究证明,大多数的大花萱草品种在自然状态下几乎不结实^[30]。本研究也发现,供试的大花萱草金娃娃和香宝自交亲和性很低,坐果率均不足6%,黄绣客和红运则表现自交不亲和,该植物这种自交不亲和现象保障了其生存、发展及种群的独立。

由于大花萱草的自交不亲和性,杂交育种成为培育大花萱草新品种的主要途径。本研究表明,不同品种的大花萱草间杂交亲和性不高,且亲和性的高低与品种相关。在17个杂交组合中(表3),金娃娃与不同品种的杂交亲和性相对较高,说明金娃娃是一个育性良好的亲本;但二倍体品种金娃娃作为父本与三倍体品种红运杂交的坐果率则为0,常规授粉后获得的蒴果逐渐完全脱落,无法获得种子,表现出严重的生殖隔离。这证明不同倍性的大花萱草杂交时,正反交结果存在明显差异,三倍体品种可以作为父本提供大花萱草杂交所需的雄配子,并正常受精结实,这与前人的研究结论一致^[31-32]。研究还发现,黄绣客与各品种的亲和性仅次于金娃娃,其次是香宝,而吉星、红运与大部分品种的亲和性极低或完全不亲和。大花萱草品种间的杂交并无明显的规律可言,而且亲和性普遍较低,这种现象限制了其新品种的培育^[31]。因此,发现导致大花萱草杂交亲和性低的原因,筛选出提高其杂交亲和性的方法对该物种的育种工作至关重要。

通过杂交授粉试验表明,常规杂交表现亲和的杂交组合可通过一定浓度的NaCl处理、赤霉素涂抹

母本柱头、切割柱头及蕾期授粉的方式提高杂交坐果率,其中2g/L赤霉素溶液处理母本柱头的效果最好,坐果率可比对照增加41.5%;2g/LNaCl处理次之,比对照增加了33.9%;1g/L赤霉素溶液处理相对较差,但也高出对照20.3%。祝朋芳等^[14]在研究花柱处理对大花萱草品种间杂交亲和性的影响试验中也发现,用2g/LNaCl、5g/L硼酸和50g/L蔗糖涂抹母本柱头,各品种的坐果率和结籽率都高于常规授粉。因此,在大花萱草杂交育种时,可通过改变授粉方法提高杂交亲和性,但对于常规杂交完全不亲和的杂交组合并不适用。

本研究通过分析花粉活力、母本柱头可授性、花粉管萌发等因素,进一步阐明了大花萱草结实率低的原因。研究结果表明,对于杂交表现亲和的大花萱草,其结实率受父本的花粉活力、母本柱头的可授性、花粉管萌发生长及胚败育等因素的影响,但对于不亲和的杂交组合,结实率低的主要原因是花粉管不萌发。因此,为达到理想的育种目标,在大花萱草杂交育种过程中,可通过筛选亲和性强的杂交组合并采用适当的方法授粉,从而提高大花萱草杂交结实率。

参考文献

- [1] 马勋. 大花萱草. 植物杂志, 1996 (5): 7-9
- [2] 陈珺, 陈美德, 李宇星, 周夏楠, 夏颜颜, 贾乐, 付佩琦, 李媛媛. 大花萱草观赏性的灰色关联度分析. 闽南师范大学学报: 自然科学版, 2020, 33 (2): 79-83
- [3] 杜娥. 大花萱草品种评价及其种苗生产影响因素研究. 泰安: 山东农业大学, 2006
- [4] 施冰, 刘晓东, 李义. 大花萱草不同发育阶段矿质营养及水分含量的动态研究. 东北林业大学学报, 2001, 29 (2): 113-116
- [5] 王学勇, 徐振华, 储博彦. 大花萱草栽培管理技术. 河北林业科技, 2002 (1): 49-50
- [6] 熊治延, 陈心启, 洪德元. 北萱草与大萱草区分为不同物种的核型证据. 植物分类学报, 1998, 36 (1): 153-157
- [7] 熊治延, 陈心启, 洪德元. 国产萱草夜间开花类群的分类研究. 植物分类学报, 1996, 34 (6): 586-591
- [8] Satio H, Mizunashi K, Tanaka S, Adachi Y, Nakano M. Ploidy estimation in *Hemerocallis* Species and cultivars by flow cytometry. *Scientia Horticulturae*, 2003, 97 (2): 185-192
- [9] 李洁, 张少艾. 萱草属若干野生种、园艺品种染色体核型的比较研究. 上海农学院学报, 1995, 13 (3): 208-217
- [10] 图力古尔, 刘立波, 聂小兰, 陈连炜. 吉林省3种萱草的核型研究. 吉林农业大学学报, 1995, 17 (3): 50-55
- [11] 孔红. 对苞萱草的核型研究. 广西植物, 1998, 18 (4): 368-370
- [12] 熊治延, 陈心启, 洪德元. 萱草属中国特有物种的细胞分类研究. 植物分类学报, 1997, 35 (3): 215-218
- [13] 祝朋芳, 张利欣, 刘莉. 大花萱草与黄花菜杂交亲和性及其幼胚离体培养. 北方园艺, 2008 (8): 190-191
- [14] 祝朋芳, 张利欣, 王亚斌, 刘莉. 花柱处理对大花萱草品种间杂交亲和性的影响. 沈阳农业大学学报, 2008, 39 (2): 231-233
- [15] 金立敏, 张文婧, 霍尧, 李寿田, 蒋长松, 周荣. 萱草不同品种杂交亲和性及其种子萌芽力研究. 安徽农业科学, 2009, 37 (6): 2471-2472
- [16] 孔刚, 施冰, 相连宏. 大花萱草的组织培养. 土国与自然资源研究, 2001 (3): 79-80
- [17] 杨永花. 金娃娃萱草组织培养技术研究. 甘肃林业科技, 2003 (12): 33-35
- [18] 刘先芳, 罗军, 吴铁明. 重瓣大花萱草组织培养快速繁殖的研究. 湖南林业科技, 2001, 28 (4): 40-42
- [19] 杜娥, 张志国, 马力. 大花萱草品种分类标准初探. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33 (10): 85-88
- [20] 刘东卫. 克服杂交不亲和性的主要途径和方法. 生物学通报, 1992 (11): 18-19
- [21] 申家恒, 申业, 王艳杰, 袁秋红, 于春光. 黄花菜受精过程各阶段的持续时间的研究. 生物科学, 2010 (5): 29-31
- [22] 红雨, 刘强, 韩岚. 芍药花粉活力和柱头可授性的研究. 广西植物, 2003, 23 (1): 90-92
- [23] 彭伟秀, 冯大领, 郑辉, 陈瑞艳, 梅春霞, 杨建民. 晚熟李花粉生活力及柱头可授性研究. 河北农业大学学报, 2008, 31 (5): 57-60
- [24] 李晓, 吴华清, 吴俊, 陶书田, 张绍铃. 不同发育阶段甜樱桃桃花授粉后花粉萌发和花粉管生长的差异. 果树学报, 2008, 25 (4): 501-505
- [25] 崔贵梅, 杨丽莉, 孙毅, 张彦芹. 大花萱草‘金娃娃’雌雄蕊发育进程及其与花蕾长度的相关性研究. 西北植物学报, 2008, 28 (10): 1983-1988
- [26] 田野, 李毅. 大花萱草扩繁技术研究及管理. 科技视界, 2013 (4): 182-184
- [27] 雷媛, 康黎芳, 张超. 大花萱草品种染色体倍性鉴定及杂交亲和性研究. 山西农业科学, 2013, 41 (5): 434-437
- [28] 祝朋芳, 魏毓棠. Ogura 胞质大白菜与羽衣甘蓝种间杂交的亲和性. 园艺学报, 2005, 33 (5): 1090-1092
- [29] 陆漱韵, 李太元, 王克通, 李惟基. 克服甘薯品种间杂交不亲和性方法研究. 作物学报, 1994, 20 (5): 548-556
- [30] 赵天荣, 蔡建岗. 大花萱草的生长特性与栽培技术. 浙江农业科学, 2013 (8): 987-989
- [31] 储博彦, 李金霞, 尹新彦, 赵玉芬, 贾红娜. 大花萱草8个品种杂交结实性研究. 西部林业科学, 2018, 4 (1): 18-22
- [32] 王占明, 王剑伟, 常桂红, 陈超. 大花萱草优良品种的染色体数目鉴定与核型分析. 唐山师范学院学报, 2009, 31 (2): 72-74

(收稿日期: 2020-08-17)