林业科学研究 2008, 21(3): 320～324
Forest Research

文章编号: 1001-1498(2008)03-0320-05

不同苞片色地涌金莲杂交亲和性研究

田 杰[1], 李正红[1*], 王 雁[2], 罗 栋[1], 潘庆杰[1], 刘秀贤[1]

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所,云南 昆明 650224; 2. 中国林业科学研究院林业研究所,北京 100091)

摘要:从花粉育性检测、不同授粉处理结实调查,以及 4种人工授粉组合花粉萌发和花粉管生长情况的荧光显微观察等方面,对不同花(苞片)色地涌金莲杂交亲和性进行研究。结果表明:地涌金莲花粉活力可高达 95%,萌发率最高时可达 23%。套袋不授粉处理下,结实率为 0。开放授粉处理下,黄花植株结实率为 93%,红花植株为 90%。4种人工授粉组合,花粉萌发和花粉管生长正常,结实率为 95%～97%,单果种子数 19～35粒,与开放授粉相当。由此推断红、黄花植株间杂交亲和。

关键词:地涌金莲;杂交亲和性;花粉活力;萌发率

中图分类号: S682 **文献标识码**: A

A Study on Cross-compatibility between Yellow-bract and Red-bract Plants of *Musella lasiocarpa*

TIAN Jie[1], *LI Zheng-hong*[1*], *WANG Yan*[2], *LUO Dong*[1], *PAN Qing-jie*[1], *LIU Xiu-xian*[1]

(1. Research Institute of Resource Insects, CAF, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Research Institute of Forestry, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract: The cross-compatibility between yellow-bract and red-bract plants of *Musella lasiocarpa* was studied in different aspects: the pollen fertility, the fruiting characteristics, the germination of pollen and growth of pollen tube. The results showed that the pollen viability could reach 95% while the germination was about 23%. The inflorescences with bag developed no seed. The fruiting rate of open-pollinated treatment was 93% in-yellow bract plants and 90% in red-bract plants, while fruiting rate of hand-pollinated treatment was from 95% to 97%. It could be a concluded that the cross between yellow-bract and red-bract plants of *Musella lasiocarpa* was compatible.

Key words: *Musella lasiocarpa*; cross-compatibility; pollen viability; germination

地涌金莲(*Musella lasiocarpa* (Fr.) C. Y. Wu ex H. W. Li)是芭蕉科地涌金莲属具根状茎的多年生大型丛生草本植物,为中国特有单属种,主要分布于云南中部和西部海拔 1 500～2 500 m的山间坡地,四川省临近云南的部分地区也有少量分布[1-2];是具较高观赏价值的云南名特花卉之一,因其花形奇特、花色金黄、花期长,而深受人们喜爱[3-5]。

中国植物志和云南植物志中,对地涌金莲的描述为:花序直立,苞片干膜质,黄色或淡黄色[1-2];而作者在对地涌金莲进行资源调查时,在野生种群中发现了花(苞片)从整体纯红到局部红色、橙红色的连续变异[6],且这种变异在温室栽培下仍稳定存在。现推断可能是红、黄花植株间杂交后基因重组导致了苞片颜色的连续变异,但红花植株为最新发现,能否与黄花植株杂交尚未可知。如果能证实红、黄花植株间杂交亲和,有望培育出具系列花色的地涌金莲新品种。本文通过对红、黄花地涌金莲人工杂交后花粉萌发、花粉管生长观察以及结实调查,试图揭示杂交亲和性,

收稿日期: 2007-12-20
基金项目: 国家环保总局项目"中国重点观赏植物种质资源调查"(2004-11-07)的部分内容
作者简介: 田杰(1981—),女,河北保定人,在读研究生. 研究方向:花卉种质改良.
*通讯作者.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

为地涌金莲杂交育种提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　植物材料与种植条件

野生地涌金莲红、黄花植株,移植于中国林科院资源昆虫研究所温室内,于 2007年 3月开花时进行授粉。

1.2　花粉育性测定

分别对红、黄花植株花粉育性(花粉活力及萌发率)进行检测:①不同发育时期花粉育性:于 2007年 3月采集各时期新鲜花粉,以苞片展开日作为开花当天。②不同贮藏时间、温度下花粉育性:于 2007年 7月,开花后 2 d和 3 d采集红、黄花花粉,迅速干燥后装于培养皿中,分别在室温 4、-20 ℃条件下贮藏;于贮藏当天(0 d)、5、10、15 d进行花粉育性测定。花粉活力测定采用 TTC法[7]。花粉萌发率测定参照 James LB等[8]的方法,以花粉管超过花粉粒长度为萌发。3次重复,每个重复观测 3个视野,计算平均值。

1.3　杂交与取样固定

选择健壮、花发育正常的植株,进行处理:①开放授粉:不套袋。②无融合生殖:套袋,不授粉。③人工授粉:套袋、常规杂交育种方法授粉,设定 4个组合:R ×R(红♀×红♂)、R ×Y(红♀×黄♂)、Y ×Y(黄♀×黄♂)、Y ×R(黄♀×红♂),各组合人工授粉 3个花序,分别于授粉后 0.5、1、2、4、6、8、12、24 h各取 5枚雌蕊,用 FAA(福尔马林—醋酸—70%酒精)固定液固定,其余花朵留作结实情况调查。

1.4　花粉萌发及花粉管生长的荧光观察

参照王灶安[9]的方法。将上述 FAA固定的材料,经复水、软化和透明、冲洗之后,于 0.01%脱色苯胺蓝染液中染色 4 h,将材料放于载玻片上,用滤纸吸去多余染液,压片于 Nikon eclipse E400荧光显微镜观察,滤光片波段为 330～380。柱头上附着和萌发花粉量及进入柱头、花柱、子房花粉管量的统计参照 Matsuzawa的方法[10],并根据孟金陵[11]的建议加以修改,分 5个等级:>50、11～50、6～10、1～5和 <1;同时测量花粉管在花柱内的生长长度(以花柱顶端为 0计算),计算花粉管生长速率。

1.5　结实调查

果实成熟期,统计各处理的结实率,每处理随机取 10个单果,测其纵径、横径、单果含种量以及种子百粒质量等。

2　结果与分析

2.1　不同发育时期花粉育性

地涌金莲红花和黄花不同发育时期花粉活力和萌发率的测定结果见表 1。黄花地涌金莲开花前 2 d活力为 23.00%,此后活力开始升高,于开花后第 2 d活力达到最高,为 91.72%,随后活力下降,到开花后 13 d活力降至 10.60%。不同发育时期红花花粉活力变化趋势与黄花大致相同,只是活力最高值出现在开花后第 3天,为 85.60%,略低于黄花。开花后 13 d活力降至 0。

表 1　不同发育时期花粉育性

发育时期	黄花植株		红花植株	
	活力/%	萌发率/%	活力/%	萌发率/%
开花前 2 d	23.00	0.00	17.00	0.00
开花前 1 d	56.24	0.60	47.60	1.40
开花后 0 d	85.76	2.60	80.39	1.60
开花后 1 d	88.16	11.91	83.16	7.35
开花后 2 d	91.72	23.25	83.17	8.12
开花后 3 d	78.20	19.60	85.60	17.11
开花后 4 d	77.00	13.60	82.40	13.00
开花后 5 d	69.80	11.16	78.40	11.58
开花后 6 d	69.29	7.00	78.00	5.51
开花后 13 d	10.60	0.00	0.00	0.00

二者开花前 2 d花粉均无萌发能力,随着花的不断开放,萌发率逐渐增高,黄花于开花后第 2天达最高值,为 23.25%;红花于开花后第 3天达最高值 17.11%,此值略低于黄花。可以看出二者萌发率最高值与各自活力最高值出现的时间相一致;开花后 13 d萌发率均降至为 0。

从以上结果看,黄花开花后第 2天、红花开花后第 3天活力和萌发率均达到最高值,因此宜选取黄花开后第 2天、红花开后第 3天的花粉用于杂交。

2.2　贮藏时间、温度对花粉育性的影响

从表 2可看出,红、黄花花粉活力在所设的处理条件下无明显变化,萌发率却变化显著。在室温(贮藏期内日均温 21～25 ℃)条件下,贮藏 5 d后红、黄花花粉萌发率均降低了约 50%,10 d后基本降为 0。-20 ℃条件下,5 d后黄花花粉萌发率由初始的 23.50%降到了 16.40%,红花花粉萌发率由初始的 22.00%降到了 12.77%,10 d后黄花花粉萌发率降为了 0,红花花粉萌发率降到了 10%以下。4 ℃条件下,5 d后红、黄花花粉萌发率与初始时相比变化不大,10 d后两者花粉萌发率均降低了约 50%,15 d后降到了 10%以下。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 2 贮藏时间、温度对花粉育性的影响

贮藏时间 /d	贮藏温度 /℃	黄花植株 活力 /%	黄花植株 萌发率 /%	红花植株 活力 /%	红花植株 萌发率 /%
0	室温	95.50	23.50	95.45	22.00
5	室温	81.96	11.88	95.00	10.94
	4	92.20	22.97	91.00	21.09
	-20	95.40	16.40	95.38	12.77
10	室温	81.00	0.00	90.71	0.40
	4	88.67	12.62	90.23	10.00
	-20	92.67	0.00	95.29	9.60
15	室温	70.00	0.00	86.97	0.00
	4	88.04	3.20	90.20	9.90
	-20	90.40	0.00	90.91	3.80

从试验结果看,4 ℃条件对于保持花粉育性最为有效,贮藏时间不宜超过 10 d。

2.3 花粉萌发与花粉管生长的观察

对黄花株间杂交 Y×Y授粉后不同时间雌蕊的荧光观察发现:授粉后 0.5 h,柱头表面花粉开始萌发,萌发数量 1～5粒 (图版 Ⅰ-1);授粉后 1 h,柱头表面粘附及萌发的花粉数增加,花粉管生长于柱头细胞外基质中 (图版 Ⅰ-2);授粉后 2 h,柱头表面萌发的花粉数 >50粒,其中有 11～50条花粉管已伸入柱头 (图版 Ⅰ-3);授粉后 4 h,花粉管刚伸入花柱,花柱中的花粉管数较少,11～50条 (图版 Ⅰ-4),此后花粉管沿花柱向底部生长,至授粉后 12 h,生长至花柱中下部且数量达 50条以上 (图版 Ⅰ-5);授粉后 24 h,花粉管已生长至子房中下部,部分花粉管到达胚珠 (图版 Ⅰ-6)。授粉后不同时间花粉管生长部位及数量见表 3。

同 Y×Y相比,R×R杂交 R♂花粉萌发及生长较慢,授粉后 0.5 h和 1 h均未观察到萌发花粉,直到 2 h后才于细胞外基质中观察到花粉管,而此时 Y×Y杂交 Y♂花粉管已伸入了柱头;授粉后 4 h刚刚到达柱头底部 (表 3),授粉后 24 h生长至子房中部。花柱及子房中生长的花粉管数量同 Y×Y相似。直到授粉后 6 h花粉管生长长度仅为 0.32 cm,平均生长速率为 0.05 cm·h^{-1},而此时 Y×Y花粉管生长长度已达 0.85 cm,平均生长速率为 0.14 cm·h^{-1};但授粉后 8 h花粉管生长长度突增,达到 1.13 cm,此时平均生长速率为 0.14 cm·h^{-1} (图 1)。

当以黄花为母本,红花为父本杂交 (Y×R) 时,观察发现:授粉后 0.5 h,柱头表面花粉萌发约 6～10粒,花粉管已于柱头细胞外基质中生长;授粉后 1 h,柱头表面粘合及萌发花粉数量大增,均 >50粒,少量花粉管刚伸入柱头;授粉后 2 h,粘合花粉粒已布满柱头,>50条花粉管伸入柱头;授粉后 4 h,11～50条花粉管到达花柱约 1/5的位置;此后花粉管在花柱中生长,至授粉后 12 h到达花柱中下部,约为花柱长度的 3/4,数量已远远多于 50条;授粉后 24 h,到达子房中下部 (表 3)。

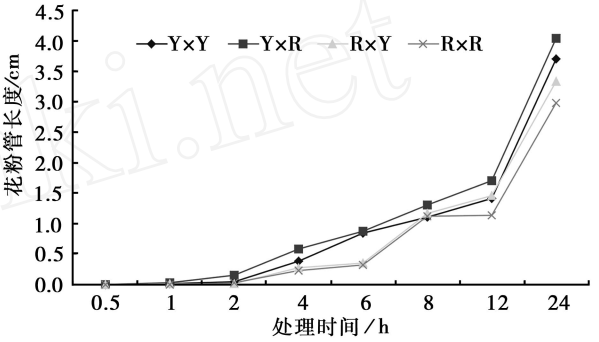


图 1 各授粉组合花粉管生长长度

当以红花为母本,黄花为父本杂交 (R×Y) 时,观察发现:授粉后 0.5 h,柱头表面粘合花粉平均为 11～50粒,还未萌发;授粉后 1～2 h,花粉管在柱头细胞外基质中生长,两个时间段之间的花粉管长度变化不大,但 2 h粘合与萌发的花粉数量比 1 h多;授粉后 4 h花粉管刚刚穿过柱头伸入花柱;授粉后 12 h,花粉管生长至花柱长度约 2/3处,花柱内花粉管数量也很多;授粉后 24 h,花粉管到达子房中部 (表 3)。花粉管生长变化趋势和 R×R相似,直到授粉后 6 h时花粉管长度仅为 0.36 cm,平均生长速率为 0.06 cm·h^{-1},而此时 Y×R花粉管长度已达 0.88 cm,平均生长速率为 0.15 cm·h^{-1}。授粉后 8 h花粉管生长长度突增到 1.15 cm,平均生长速率为 0.14 cm·h^{-1} (图 1)。

2.4 结实情况

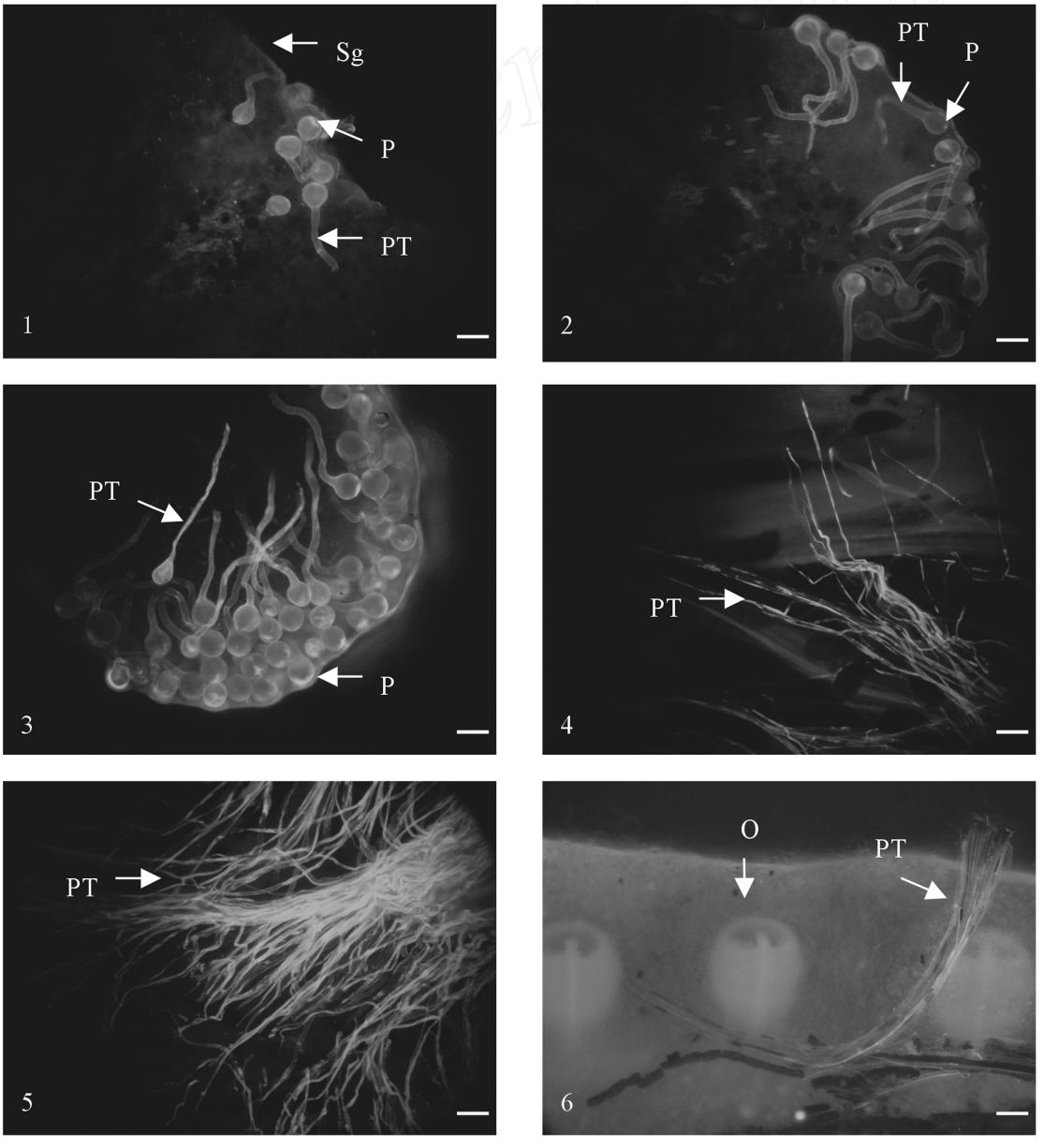
结实情况见表 4、5。套袋不授粉处理下,子房在套袋后约半个月略有膨大,之后大小不再变化,约 5个月后随植株枯萎而干枯,结实率为 0;开放授粉处理下,黄花植株结实率为 93%,红花植株为 90%;各人工授粉杂交组合结实率为 95%～97%。果实长与宽、百粒质量等平均值在人工授粉和开放授粉处理间无明显差异,但平均单果种子数变化范围稍大,而且各处理单果间种子数变幅也较大,原因有待探讨。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 3　各授粉组合花粉萌发、生长动态

时间 /h	柱头表面粘合花粉				柱头表面萌发花粉				伸入柱头花粉管				伸入花柱花粉管			
	Y ×Y	Y ×R	R ×Y	R ×R	Y ×Y	Y ×R	R ×Y	R ×R	Y ×Y	Y ×R	R ×Y	R ×R	Y ×Y	Y ×R	R ×Y	R ×R
0.5	+	+	+	-	-	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	+	+ +	+	-	+	+ +	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0
2	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+ +	0	0	0	0	0	0
4	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	0
6	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+
8	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
12	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
24	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +

注: + +、+、±、-、0分别表示雌蕊上花粉粒或花粉管数 >50、11～50、6～10、1～5、<1。



图版 Ⅰ　花粉萌发和花粉管的生长

1. Y ×Y授粉后 0.5 h,柱头表面花粉开始萌发; 2. Y ×Y授粉后 1 h,柱头表面粘合及萌发的花粉数增加,花粉管生长于柱头细胞外基质中; 3. Y ×Y授粉后 2 h,柱头表面萌发的花粉数 >50粒,其中有 11～50条花粉管已伸入柱头; 4. Y ×Y授粉后 4 h,花粉管刚伸入花柱; 5. Y ×Y授粉后 12 h花柱底部花粉管生长状况; 6. Y ×Y授粉后 24 h,部分花粉管到达胚珠。1～5中所示标尺为 100 μm; 6中所示标尺为 250 μm。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 4 各授粉处理的结实率

项目	Y ×Y	Y ×R	R ×Y	R ×R	黄开放授粉	红开放授粉	无融合生殖
处理花数 /个	31	20	20	21	41	41	61
结实数 /粒	30	19	19	20	38	37	0
结实率 /%	97	95	95	95	93	90	0

表 5 各授粉处理的果实和种子性状参数比较

项目	Y ×Y	Y ×R	R ×Y	R ×R	黄开放授粉	红开放授粉	无融合生殖
果长 /cm	4.23 ±0.43	3.94 ±0.59	3.80 ±0.40	3.95 ±0.70	4.27 ±0.62	3.80 ±0.53	0.00 ±0.00
果宽 /cm	2.99 ±0.32	2.38 ±0.46	2.33 ±0.45	2.70 ±0.47	2.57 ±0.54	2.64 ±0.37	0.00 ±0.00
单果种子数	25.45 ±10.34	19.40 ±12.16	35.08 ±17.29	28.95 ±10.01	24.59 ±11.46	19.70 ±10.04	0.00 ±0.00
种子百粒重 /g	13.90 ±0.20	15.57 ±0.40	13.93 ±0.31	13.90 ±0.35	14.07 ±0.65	11.93 ±0.06	0.00 ±0.00

3 结论与讨论

(1)通过对地涌金莲花粉育性检测发现,花粉活力远远高于萌发率,且在不同贮藏时间和温度下,花粉活力变化不大,萌发率呈现出随时间延长而递减的趋势。刘春等[12]在百合种间杂交受精前障碍的研究中也遇到了类似的情况,说明有活力的花粉不一定具萌发能力,所以杂交前检测花粉育性,确定适宜花粉采集时间,应以萌发率测定为准。

(2)通过对各人工授粉花粉管生长过程研究及各处理结实情况调查发现,地涌金莲开放授粉可结实,不存在无融合生殖。红、黄花地涌金莲人工授粉杂交时,花粉在柱头上萌发、花粉管在柱头及花柱中生长过程正常,能正常产结果实和种子,证明红、黄花植株间杂交亲和,有希望通过杂交获得系列花色新品种。

(3)通过花粉管生长速率的观察及统计发现,红、黄花花粉在红花柱头上萌发、花柱中生长比在黄花柱头及花柱中慢,而一旦花粉管进入子房,速度便很快增加,具体原因有待进一步研究。

参考文献:

[1] 吴征镒. 云南植物志 (第二卷) [M]. 北京:科学出版社, 1979: 727

[2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第十六卷第二分册) [M]. 北京:科学出版社, 1981: 3 - 6

[3] 施宗明. 云南名花鉴赏 [M]. 昆明:云南科技出版社, 1995

[4] 杨培勤. 地涌金莲盛开在黔东 [J]. 花木盆景, 2001, 24 (12): 23

[5] 张素芳,念红忠. 云南特有园林植物地涌金莲的发掘与利用 [J]. 西南园艺, 2001, 29 (3): 35

[6] 潘庆杰,李正红,王 雁,等. 地涌金莲野生与栽培种群遗传多样性 RAPD分析 [J]. 林业科学研究, 2007, 20 (5): 668 - 672

[7] Dafni A. Pollination Ecology [M]. New York: Oxford Univ Press, 1992: 59 - 89

[8] James L B, Beyoung H K. The Essential Role of Calcium Ion in Pollen Germination and Pollen Ture Growth [J]. American Journal Of Botany, 1963, 50: 859 - 865

[9] 王灶安. 植物显微技术 [M]. 北京:中国农业出版社, 1992: 87 - 88

[10] Matsuzawa Y. Studies on the interspecific hybridization in genus Braasica. I. Crossability in interspecific cross *B. Oteracea* L. *B. Campestris* L. Japan [J]. J Breed, 1983, 33 (1): 321 - 330

[11] 孟金陵. 植物生殖遗传学 [M]. 北京:科学出版社, 1995: 287 - 296

[12] 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

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net