

文章编号: 1001-1498(2007)01-0139-04

## 部分菊属植物种间杂种难稔性及其克服

李辛雷<sup>1,2</sup>, 陈发棣<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

关键词: 菊属; 种间杂种; 难稔性; 秋水仙素; 回交; 胚拯救

中图分类号: S682.1

文献标识码: A

### Sterility of Some Interspecific Hybrids of *Dendranthema* and Its Control

LI Xin-lei<sup>1,2</sup>, CHEN Fa-di<sup>1</sup>

(1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

**Abstract:** Sterility of some interspecific hybrids of *Dendranthema* and its control measures were studied. By studying the characters, pollen fertility and fecundity of self-cross of interspecific hybrid, it was found that interspecific hybrid of *Dendranthema* possessed sterility, which characterized as some interspecific hybrids could not flower normally, the pollen fertility and the fecundity of self-cross were low. The study on control measures of sterility showed that colchicine treatment could overcome sterility of hybrid. The rate of fecundity of back cross of some hybrids exceeded 1.0 and the maximum was 6.25. Embryo rescue after back cross of hybrid could solve the problem of low fecundity effectively, and the rate of plantlet formation varied from 3.7% to 25.0%.

**Key words:** *Dendranthema*; interspecific hybrid; sterility; colchicine; back cross; embryo rescue

菊花 (*Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvel) 近缘种属植物中具有许多栽培菊花所缺乏的优良性状, 如抗逆性、抗病虫性, 通过远缘杂交结合幼胚拯救技术能有效克服菊属 (*Dendranthema* (DC.) DesMoul) 种间障碍, 进行菊花种质创新和品种改良<sup>[1]</sup>。远缘杂交亲本由于缺少可识别遗传信息及染色体同源性差异, 种间杂种可能具有难稔性<sup>[2]</sup>。梁树南等<sup>[3]</sup>曾报道不同种番茄 (*Lycopersicon* spp.) 的种间杂种自交不稔, 而回交亲和, 后代能育性提高。雷家军等<sup>[4]</sup>报道草莓 (*Fragaria* spp.) 的五倍体种间杂种育性很差, 而经秋水仙素处理使其染色体加倍后, 育性则恢复为基本正常或正常。李辛雷等利用远缘杂交及

幼胚拯救获得了菊属种间杂种<sup>[5~7]</sup>, 但关于菊属植物种间杂种的难稔性及其克服方法尚未见报道。本试验对部分菊属植物种间杂种的 F<sub>1</sub> 代性状、花粉粒可育性及自交结实率进行观察、统计与分析, 研究菊属植物种间杂种的难稔性, 同时探讨通过秋水仙素处理、回交及回交后胚拯救等技术克服其难稔性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为二倍体野生种甘菊 (*D. lavandulifolium* (Fisch. ex Trautv.) Ling et Shih)、菊花脑 (*D. nankingense* (Hand-Mazz.) X. D. Cui)、异色菊 (*D.*

收稿日期: 2005-12-26

基金项目: 江苏省教育厅高技术产业项目 (JH02-086) 和江苏省高技术研究项目 (BG2002417) 资助

作者简介: 李辛雷 (1978—), 男, 安徽利辛人, 助理研究员, 硕士。

\* 通讯作者。

dichrum Shih), 四倍体野菊 (*D. indicum* (L.) Des Moul)、同源四倍体菊花脑、栽培菊花品种 (六倍体

及其非整倍体)及种间杂种  $F_1$  (表 1)。所有材料均由南京农业大学菊花种质资源保存中心提供。

表 1 试验材料及其缩写

中文名	拉丁名	缩写	种间杂种
甘菊	<i>D. lavandulifolium</i> (Fisch ex Trautv.) Ling et Shih	Lav	Lav $\times$ Nan, Lav $\times$ Hua, (Lav $\times$ Hon) <sub>1,2,3</sub>
异色菊	<i>D. dichnum</i> Shih	Dic	Dic $\times$ Lav, Dic $\times$ Zyf, Dic $\times$ Luo
菊花脑	<i>D. nankingense</i> (Hand Mazz.) X. D. Cui	Nan	Nan $\times$ Dic, Nan $\times$ Hin, Nan $\times$ Chj, (Nan $\times$ Hua) <sub>1,2,3,4</sub>
野菊	<i>D. indicum</i> (L.) DesMoul	Hin	
黄英	<i>D. morifolium</i> W. CV 'Huangying'	Hua	Hua $\times$ Lav, Hua $\times$ Nan
紫勋章	<i>D. morifolium</i> W. CV 'Zixunzhang'	Zxz	Zxz $\times$ Dic
紫玉芙蓉	<i>D. morifolium</i> W. CV 'Ziyufurong'	Zyf	Zyf $\times$ Dic
落日	<i>D. morifolium</i> W. CV 'Luori'	Luo	
红菱	<i>D. morifolium</i> W. CV 'Hongling'	Hon	
滁菊	<i>D. morifolium</i> W. CV 'Chuju'	Chj	

注: ()后的 1、2、3、4 分别表示杂种株系编号。

## 1.2 方法

1.2.1 形态学及可育性观察 对杂种的形态学进行观察,并统计各杂种植株的结实率(种子数/花序数)<sup>[8]</sup>。亲本及杂种  $F_1$  的成熟花粉粒用  $I_2$ -KI 及醋酸洋红 (0.5%) 进行可染性镜检,统计其可染性花粉率的百分数,以检查其可育性。

1.2.2 去雄授粉 母本均进行人工去雄并套袋隔离,父本在舌状花微开时套袋,于上午 9:00~10:00 或下午 15:00~16:00 授粉,同一花序重复授粉 2 次。

1.2.3 回交后胚拯救 接种时取授粉 13~18 d 后的子房,以 75% 酒精表面消毒 30 s 后置于 0.1% 的升汞溶液中灭菌 5 min,无菌水冲洗 4~5 次后用接种针将子房接入 MS + KT 2.0 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> + AA 2.0 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 培养基。继代培养基为 MS + BA 1.0 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,萌发得到幼苗后统计其成苗率。培养温度 20~25℃,每日光照 10~12 h,光照度 1 600~2 000 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 菊属植物种间杂种难稔性

对菊属植物种间杂种的形态学性状观察表明,所有杂种在田间生长良好,营养体生长繁茂,但部分杂种如菊花脑与‘滁菊’杂种不能正常开花。用  $I_2$ -KI 及醋酸洋红 (0.5%) 对亲本及杂种  $F_1$  的花粉粒进行可染性镜检,结果发现:双亲花粉粒的可染性均达到 85.0% 以上,且花粉粒多,

圆形,内含物丰富;大部分杂种花药发育极不正常,长方形,花粉粒皱缩,花粉可育性小于 3.0% (0.5%~2.8%)。部分菊属植物种间杂种的自交结实率(平均每花序种子数)见表 2,从表中可知自交后许多杂种结实率为 0,结实率最高为 0.93,可育性极低(低于 1.0)。说明菊属植物种间杂种存在难稔性,表现为杂种营养体生长繁茂,但不能正常开花;能正常开花但其构造、功能不正常,不能产生有生活力的配子;配子虽有活力,但不能完成正常的受精过程,不能结籽。

### 2.2 菊属植物种间杂种难稔性克服

2.2.1 秋水仙素处理 用菊花脑与栽培菊花进行远缘杂交时,不论正反交均未得到种子,而通过远缘杂交及幼胚拯救技术,在接种的 400 多个菊花脑与‘滁菊’的杂种子房中,仅得到 1 棵幼苗。菊花脑与‘滁菊’杂种营养体生长繁茂,却不能正常开花。但利用秋水仙素诱导的四倍体菊花脑<sup>[9]</sup>与‘滁菊’杂交,在杂交的 15 朵花序中,得到 12 粒种子,播种后得到 4 棵幼苗,结实率达到 0.80。幼苗营养生长旺盛,并能够正常开花。四倍体菊花脑茎绿色,花黄色;‘滁菊’茎紫色,花白色;四倍体菊花脑与‘滁菊’杂种茎呈紫色,花白色,说明茎色及花色遗传来源于父本‘滁菊’。试验还将异色菊与‘紫玉芙蓉’杂种幼苗用 300 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的秋水仙素处理,其结实率从 0.03 提高到 1.17,也能有效克服杂种难稔性。

表 2 菊属植物种间杂种的自交结实率

亲本	自交花序数	收获种子数	结实率	亲本	自交花序数	收获种子数	结实率
(Lav ×Nan)	59	4	0.07	(Dic ×Lav)	45	18	0.40
(Nan ×Dic)	50	2	0.04	(Nan ×Lav)	41	36	0.88
(Lav ×Hua)	65	2	0.03	(Hua ×Lav)	30	28	0.93
(Dic ×Zyf)	32	1	0.03	(Zyf ×Dic)	56	0	0.00
(Dic ×Luo)	47	0	0.00	(Zxz ×Dic)	39	0	0.00
(Nan ×Hua) <sub>1</sub>	58	0	0.00	(Nan ×Hua) <sub>2</sub>	48	8	0.17
(Nan ×Hua) <sub>3</sub>	50	1	0.02	(Nan ×Hua) <sub>4</sub>	44	26	0.59
(Nan ×Hin)	42	12	0.29	(Hua ×Nan)	34	1	0.03

2.2.2 回交 部分菊属植物不同种间杂种回交的结实情况见表 3,从表中可以看出回交能克服部分种间杂种难稔性,如菊花脑与‘黄英’杂种 3 个株系的回交结实率分别为 1.23、1.07 和 6.25 (高于 1.0)。同时研究发现相同杂交组合杂种的不同株系回交结实率差别较大,如菊花脑与‘黄英’杂种株系 3 的回交结实率分别是株系 1 和株系 2 的 5.08 与 5.84 倍;甘菊与‘红菱’杂种 3 个株系的回交结实率分别为 1.33、0.50 和 0.13。另外相同亲本不同杂交

方式所得杂种回交结实率也有明显差别,如菊花脑与‘黄英’杂种 3 个株系的回交结实率均高于 1.0,而‘黄英’与菊花脑杂种仅为 0.24;‘黄英’与甘菊杂种回交结实率为 0.90,而甘菊与‘黄英’杂种为 0.29,前者是后者的 3.10 倍。部分杂种回交没有得到种子或结实率太低 (低于 1.0),未能克服杂种难稔性,说明不同基因型杂种回交后代结实率存在较大差异。

表 3 菊属植物种间杂种的回交结实率

回交组合	回交花序数	收获种子数	结实率	回交组合	回交花序数	收获种子数	结实率
(Lav ×Hua) ×Hua	42	12	0.29	(Hua ×Lav) ×Hua	41	36	0.88
(Dic ×Zyf) ×Zyf	53	26	0.50	(Dic ×Luo) ×Luo	49	0	0.00
(Lav ×Hon) <sub>1</sub> ×Hon	46	60	1.30	(Nan ×Hua) <sub>1</sub> ×Hua	35	43	1.23
(Lav ×Hon) <sub>2</sub> ×Hon	56	29	0.52	(Nan ×Hua) <sub>2</sub> ×Hua	45	48	1.07
(Lav ×Hon) <sub>3</sub> ×Hon	45	6	0.13	(Nan ×Hua) <sub>3</sub> ×Hua	32	200	6.25
(Hua ×Nan) ×Hua	51	12	0.24	(Zxz ×Dic) ×Zxz	47	8	0.17

2.2.3 回交后胚拯救 菊属植物远缘杂种胚拯救及杂种回交后胚拯救的成苗率见表 4,从表中可以看出远缘杂种胚拯救的成苗率较低,最高为菊花脑与‘黄英’组合,达到 0.8%,最低为甘菊与‘红菱’组合,仅 0.4%。而杂种回交后胚拯救的成苗率明显提高,其范围在 3.7%至 25.0%,其中异色菊与‘落霞’、‘紫玉芙蓉’胚拯救的成苗率分别为 0.5%、0.6%,而回交后的成苗率分别为 8.5%、3.7%,后者分别是前者的 17.0 和 6.2 倍;菊花脑与‘黄英’、甘菊与‘红菱’远缘杂种胚拯救的成苗率分别为 0.8%和 0.4%,而菊花脑与‘黄英’杂种回交后胚拯

救的成苗率最高达 25.0%,最低也为 7.7%,甘菊与‘红菱’杂种回交后胚拯救的成苗率最高达 15.4%,最低也为 5.2%。同时研究还发现菊属植物杂种不同株系回交后胚拯救的成苗率差别较大,如菊花脑与‘黄英’杂种株系 2、株系 3 的成苗率分别为 25.0%、24.7%,是株系 1 (7.7%)的 3.2 倍;甘菊与‘红菱’杂种株系 3 的成苗率 (15.4%)分别是株系 1 (7.5%)与株系 2 (5.2%)的 2.1 和 3.0 倍。可见杂种回交后胚拯救的成苗率明显提高,并可有效克服杂种回交结实率较低的问题。

表 4 菊属植物种间杂种及杂种回交后胚拯救的成苗率

杂交组合	接种子房数	获得幼苗数	成苗率 / %	杂交组合	接种子房数	获得幼苗数	成苗率 / %
Dic ×Luo	404	2	0.5	Dic ×Zyf	312	2	0.6
Lav ×Hon	287	1	0.4	Nan ×Hua	624	5	0.8
(Dic ×Zyf) ×Zyf	82	3	3.7	(Dic ×Luo) ×Luo	165	14	8.5
(Lav ×Hon) <sub>1</sub> ×Hon	80	6	7.5	(Nan ×Hua) <sub>1</sub> ×Hua	104	8	7.7
(Lav ×Hon) <sub>2</sub> ×Hon	96	5	5.2	(Nan ×Hua) <sub>2</sub> ×Hua	64	16	25.0
(Lav ×Hon) <sub>3</sub> ×Hon	117	18	15.4	(Nan ×Hua) <sub>3</sub> ×Hua	89	22	24.7

### 3 结论与讨论

通过对部分菊属植物种间杂种性状观察、花粉可育性及自交结实性研究,发现菊属植物种间杂种具有难稔性。部分杂种虽然营养生长繁茂,但却不能正常开花,这与 Watanabe<sup>[1]</sup>研究结果一致,可能由于杂交父母本亲缘关系较远,存在生殖隔离,导致杂种遗传机制及生理机制的不协调,无法进行正常的花芽分化及发育。杂种自交难以结实,其花粉粒染色说明花粉可育性较低,这可能主要由于杂种减数分裂行为异常,染色体缺乏同源性不能正常联会,不能形成正常可育花粉粒<sup>[10,11]</sup>。杂种难稔性可能主要由基因、染色体的原因引起,或两者的综合作用造成。

秋水仙素处理能克服杂种难稔性,雷家军等<sup>[4]</sup>报道草莓 (*Fragaria* sp.) 的五倍体种间杂种育性很差且高级序花完全不育,但经秋水仙素加倍为十倍体后,育性变为正常且高级序花能育。菊属种间杂种经秋水仙素处理后回交也能克服杂种难稔性,可能由于秋水仙素将杂种诱导成了双二倍体。二倍体菊花脑与‘滁菊’杂种具难稔性,不能正常开花,但将菊花脑经秋水仙素诱导为四倍体后,与六倍体‘滁菊’杂交得到种子及幼苗,杂种正常开花,是何原因有待进一步研究。

二倍体野生种与栽培小菊杂交难以结实,但种间杂种与栽培菊花回交结实性明显提高,可能是种间杂种与栽培菊花染色体倍性更为接近,杂种起到了桥梁亲本的作用;不同杂种或相同杂种不同株系回交结实性差异较大,主要由于杂种基因型差异造

成。杂种回交后胚拯救不仅能克服杂种回交结实率较低的问题,还能有效提高成苗率,说明杂种回交时由于遗传、生理机制的不协调,其幼胚可能会存在败育现象<sup>[12]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Watanabe K. Successful ovary culture and production of F<sub>1</sub> hybrids and androgenic haploids in Japanese *Chrysanthemum* species[J]. The Journal of Heredity, 1977, 68: 317~320
- [2] 景士西. 园艺植物育种学总论 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [3] 梁树南, 吴定华, 吴梅珍. 潘那利番茄远缘杂交的研究 [J]. 华南农业大学学报, 1994, 15 (2): 94~99
- [4] 雷家军, 吴禄平, 代汉萍, 等. 草莓茎尖染色体加倍研究 [J]. 园艺学报, 1999, 26 (1): 13~18
- [5] 李辛雷, 陈发棣. 菊属种间杂交胚拯救过程成苗途径的初步研究 [J]. 植物学通报, 2004, 21 (3): 337~341
- [6] 李辛雷, 陈发棣, 崔娜欣. 菊属种间杂种的鉴定 [J]. 南京农业大学学报, 2005, 28 (1): 42~46
- [7] 李辛雷, 陈发棣. 菊属野生种、栽培菊花及种间杂种的 RAPD 分析 [J]. 南京农业大学学报, 2004, 27 (3): 29~33
- [8] 戴思兰, 陈俊愉. 菊属 7 个种的人工种间杂交试验 [J]. 北京林业大学学报, 1996, 18 (4): 16~22
- [9] 陈发棣, 蒋甲福, 房伟民. 秋水仙素诱导菊花脑多倍体的研究 [J]. 上海农业学报, 2002, 18 (1): 46~50
- [10] 高建伟, 孙其信, 孙振山. 小麦与无融合生殖披碱草 (*Elymus re-citensis*) 属间杂种 F<sub>1</sub> 的形态学和细胞遗传学研究 [J]. 作物学报, 2000, 26 (3): 271~277
- [11] 张新全, 杨俊良, 颜济, 等. 鹅观草与大鹅观草杂种的细胞遗传学及形态学研究 [J]. 广西植物, 1999, 19 (4): 355~358
- [12] Tanaka R, Watanabe K. Embryological studies in *Chrysanthemum makinoi* and its hybrid crossed with hexaploid *Ch. japonense* [J]. Journal of Science of the Hiroshima University, Series B, Division 2 (Botany), 1972, 14 (2): 75~84