

大百合与百合属间授粉后花粉管生长发育的观察

李守丽^{1,2} 石 雷^{1*} 张金政¹

(¹中国科学院植物研究所, 北京 100093; ²中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘 要: 对大百合 × 百合属间杂交授粉后花粉管的行为进行了观察, 结果表明百合的花粉能在大百合的柱头上萌发, 伸入中央花柱道, 到达花柱基部, 进入子房。杂交后, 花粉萌发与花粉管的伸长速度相对于自交滞后, 个别花粉管出现末端分叉、膨大或变细或中间部分折叠, 花粉管内胼胝质不规则的大量沉积等现象。

关键词: 百合; 大百合; 花粉管行为; 荧光

中图分类号: S 682.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 06-1259-04

Pollen Tube Behavior Following Pollination between *Cardiocrinum giganteum* and *Lilium*

Li Shouli^{1,2}, Shi Lei^{1*}, and Zhang Jinzheng¹

(¹ Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ² Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: The pollen tube behavior in the style following the hybridization between *Cardiocrinum giganteum* and *Lilium* were observed by means of fluorescence microscopy. The results indicated that the pollen of *Lilium* can germinated on the stigma of *C. giganteum* and pollen tubes can reach the basal part of the style and finally arrive at the ovule in ovary, meanwhile, the result also showed that the speed of the pollen germination and pollen tube elongation following hybridization were much slower than that following intraspecific pollination, several abnormalities of pollen tubes were observed including pollen tubes with branching off, swollen or pointed tips, or superposition in the middle parts lots of callose depositing at irregular distances, parts of pollen tubes became wave-like at the middle or basal part of the style, which finally lead to the failure to arrive at the ovary.

Key words: *Lilium*; *Cardiocrinum giganteum*; Pollen tube behavior; Fluorescence

大百合 (*Cardiocrinum giganteum*) 为百合科大百合属多年生球根花卉, 在分类上与百合属 (*Lilium*) 近缘^[1,2]。大百合花朵洁白, 花序硕大, 植株挺拔, 具极高的观赏价值, 但这一宝贵的种质资源目前尚未得到开发利用。百合为目前国际市场上三大球根花卉之一, 在长期的育种研究中已建立了一套包括克服受精前、受精后障碍的完整的繁育技术体系, 特别是在花色育种方面取得了卓越的成就, 已育出大量花色丰富、新颖的新品种, 在目前的国内外切花市场上占有重要地位^[3]。大百合与百合在花序、花色等方面优良性状的融合对具有高观赏性的球根花卉新品种的选育具有重要意义, 而授粉后花粉与雌蕊之间亲和性的研究可以为杂交育种提供理论依据。

运用荧光技术对种内、种间传粉后花粉与雌蕊间亲和性的研究, 在猕猴桃^[4,5]和百合^[6,7]等植物中已取得了一定进展, 而有关大百合与百合属间杂交花粉与雌蕊间的亲和性研究未见报道。

本试验运用荧光技术对大百合与百合属间杂交授粉后花粉与雌蕊之间亲和程度进行了探讨, 旨在

收稿日期: 2006 - 02 - 27; 修回日期: 2006 - 09 - 18

基金项目: 国家科技部科技基础条件平台项目 (2004DKA30430); 中国科学院创新方向性项目 (KSCX2-SW-321); 国家科技部星火计划项目 (2005EA700043)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: shilei67@263.net)

为杂交育种提供依据。

1 材料与方法

试验所用的母本为大百合,引种于中国科学院植物研究所华西亚高山植物园,现栽植于中国科学院植物研究所内^[8]。试验所用父本为东方百合的杂种系品种‘Sorbonne’,浙江省永康市江南百合育种有限公司提供。

采集的花粉置于干燥器内,于4℃条件下储藏,传粉前,测得离体萌发率为44.01%。开花前3 d对大百合进行去雄,套袋。开花当天9:00~10:30,柱头分泌大量粘液时采用常规柱头授粉法人工授粉,授粉后继续套袋。取授粉后0.5、1、2、4、8、12、24、48、72、96、120、144、168、192、216和240 h的花柱连同子房,FAA固定24 h以上,每个处理5~10朵花。压片前,用自来水冲洗去花柱及子房表面的固定液时在 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaOH中,60℃恒温条件下软化80 min,蒸馏水冲洗数次,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_3\text{PO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 配成的0.1%的水溶性苯胺蓝染色5 min以上,压片,使用Axioskop40型荧光显微镜观察、照相,激发滤光片为BP395-440,分色镜为FT460,阻挡光片为LP470。

以父本、母本的自交花柱、子房为对照。

2 结果与分析

2.1 柱头的荧光观测

大百合的柱头为湿柱头型,花柱长5~6 cm,花柱中央为中空的花柱道,接近花柱顶部,中央花柱道扩展为V形的柱头沟。在接近花柱顶部,花柱扩展为微三裂柱头(图版,1),部分花柱末端成两裂的大扁形柱头(图版,2)。柱头表面向外扩展,其上覆盖一层圆柱状排列疏松的乳突细胞(图版,3),在荧光显微镜下,乳突细胞最外层是被荧光染料着色的角质层,角质层由顶部向基部逐渐增厚,荧光亦随之增强,以柱头沟处的乳突细胞荧光最强。

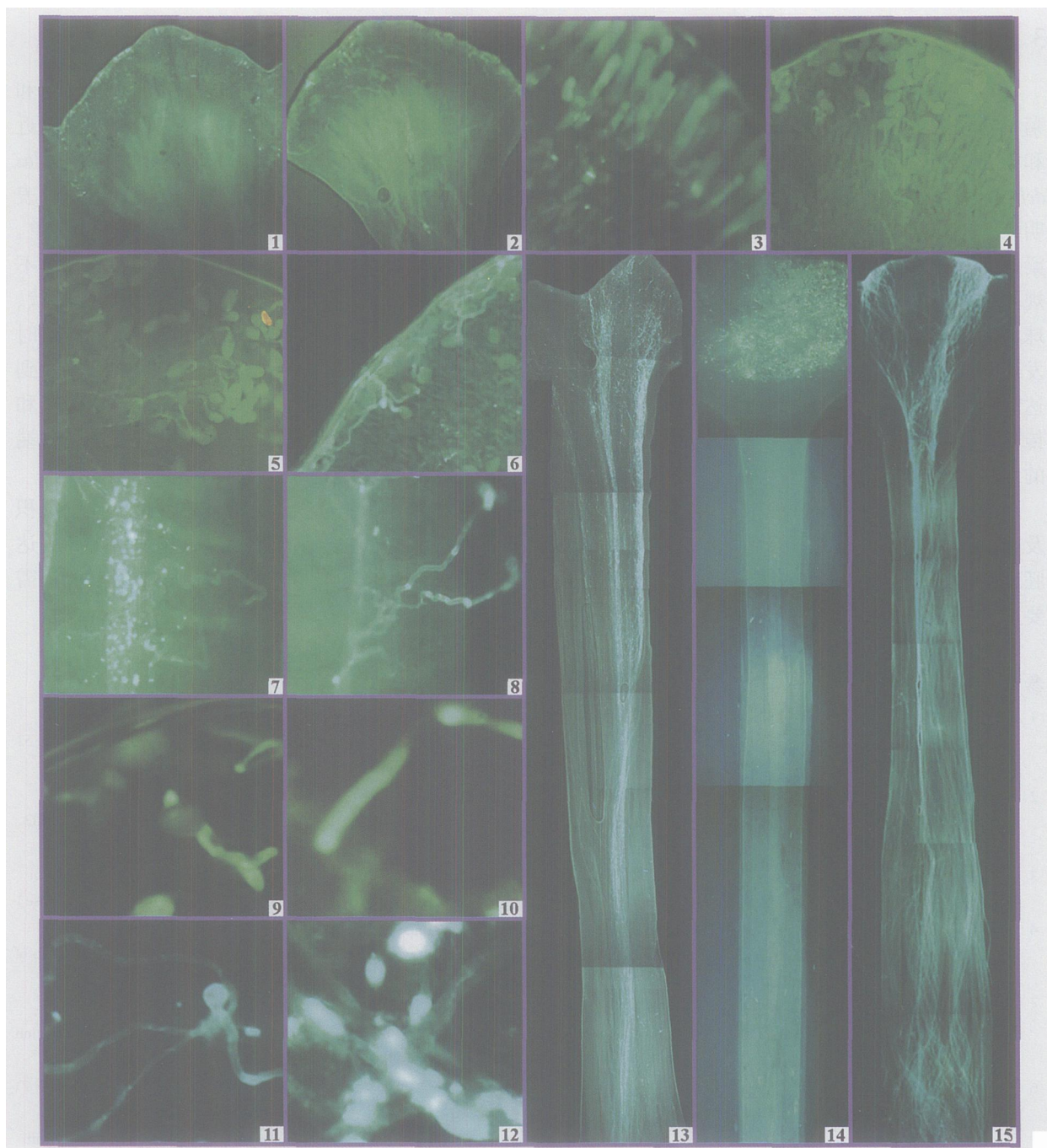
2.2 杂交后花粉管行为的荧光观察

杂交授粉后,花粉在2 h内萌发(图版,4)。在最初的几个小时,花粉萌发的数量较少,花粉管生长缓慢,在24 h时花粉管才到达柱头基部。24 h后,花粉的萌发数量显著增加,成小簇的花粉管穿过柱头基部进入中央花柱道。144 h后,到达花柱约1/4处,168 h后达到3/4处,192 h后到达花柱基部(图版,13)。花粉管在杂交216 h后进入子房(图版,7)。

对照组东方百合杂种系品种‘Sorbonne’的花粉在授粉后0.5 h内开始萌发(图版,5),但在柱头上花粉管生长受阻,72 h后仍停滞在柱头上,无法进入花柱(图版,14)。在此后的5 h内,进行连续观察,未见有花粉管进入子房,为自交不亲和传粉。

对照组大百合自交传粉,花粉在授粉后0.5 h内开始萌发(图版,6),在72 h内到达花柱基部(图版,15),并进入子房(图版,8)。

东方百合的花粉能在大百合柱头上萌发,伸入中央花柱道,到达花柱基部,进入子房,并最终进入胚珠。但杂交过程中花粉的萌发及个别花粉管在伸长过程中也表现出一些不亲和现象:(1)杂交后,花粉萌发与花粉管伸长的速度相对于自交滞后,而在离体培养条件下,大百合的花粉和百合的花粉在0.5 h后均开始萌发,萌发时间差异不显著。(2)杂交后,个别花粉在萌发的过程中,花粉管出现末端分叉现象(图版,9)。(3)杂交后,个别花粉管在伸长过程中会突然变细(图版,10)或中间部分折叠(图版,11)。(4)杂交和自交授粉后,花粉管内均有胼胝质体产生,但后者的花粉管内胼胝质分布均匀、规则,花粉管继续沿着花柱道正常生长;而前者的个别花粉管内发生胼胝质体不规则的大量沉积(图版,12)。



图版说明：1. 三裂柱头；2. 二裂柱头；3. 乳突细胞；4. 杂交授粉后 2 h 后花粉开始萌发；5. 东方百合自交授粉 0.5 h 后花粉开始萌发；6. 大百合自交授粉 0.5 h 后花粉开始萌发；7. 杂交授粉 216 h 后花粉管进入胚珠；8. 自交授粉 72 h 后花粉管进入胚珠；9. 花粉管末端分叉；10. 花粉管变细；11. 花粉管折叠；12. 杂交授粉中个别花粉管内胼胝质体不规则大量沉积；13. 杂交授粉 192 h 后，花粉管到达花柱基部；14. 大百合自交授粉 72 h 后，花粉管在柱头处伸长停滞，不能到达柱头基部；15. 百合自交授粉 72 h 后，花粉管到达柱头基部。

Explanation of plates: 1. Trifid stigma; 2. Bifid stigma; 3. Stigma papillae; 4. Pollens have germinated after hybridization 2 h; 5. Pollen germination of 'Sorbonne' after selfing pollination of 0.5 h; 6. Pollen germination of *C. giganteum* after selfing pollination of 0.5 h; 7. Pollen tube arrived at ovary 216 h after hybridization between *C. giganteum* and 'Sorbonne'; 8. Pollen tube arrived at ovary 72 h after selfing pollination of 'Sorbonne'; 9. Branching off at the pollen tube tip; 10. Pollen tubes with pointed parts; 11. Pollen tubes with venation in the middle parts; 12. A lobe depositing at irregular distances in pollen tube; 13. Pollen tube reached the basal part of the style 192 h after hybridization; 14. Pollen tube stopped growing at the stigma 72 h after selfing pollination of 'Sorbonne'; 15. Pollen tube arrived at ovary 72 h after selfing pollination of *C. giganteum*.

3 讨论

近年来, 胼胝质荧光反应已经广泛用于花粉和雌蕊相互作用的研究。在自交不亲和的十字花科和菊科植物的传粉中, 柱头乳突细胞与花粉接触处形成双凸透镜形的胼胝质, 同时, 在花粉萌发孔附近和花粉管先端沉积胼胝质塞。在亲和传粉中, 很少或不表现胼胝质反应^[4]。Knox等^[9]对 *Populus deltoids* × *P. deltoids* 亲和性自交组合及 *Populus deltoids* × *P. alba* 不亲和性杂交组合进行了观察, 结果表明杂交传粉后, 花粉管中沉积的胼胝质远较自交组合的多, 并伴有花粉管在花柱道生长受阻的现象。梁铁兵等^[5]在猕猴桃种间杂交中观察到花粉管膨大、波纹状弯曲等 6 种形态变化及花粉管中胼胝质不规则沉积的现象。有人对百合自交后花粉管的行为进行了观察, 发现有花粉管尖端膨大, 或成节状、球状突起等不亲和现象^[6]。安和祥等^[4]对猕猴桃不同种间传粉后花粉和雌蕊的相互作用进行研究时发现部分种间不亲和传粉会伴有花粉管的顶端膨胀、弯曲, 沉积较重的胼胝质塞, 花粉管最终不能到达子房等现象。Williams等^[10]在 *Rhododendron* (Ericaceae) 的种间和属间杂交的研究中, 发现不亲和传粉后, 花粉管胼胝质的反应显著, 胼胝质的量、形状和分布范围多种多样, 表现在花粉管生长顶端的 10 种异常变化和花粉管生长受阻的 7 个不同部位。

本试验的杂交传粉过程中也表现出了个别花粉管末端分叉、膨胀或变细, 胼胝质大量不规则沉积及在伸长过程中受阻等不亲和现象, 但绝大部分花粉仍能够正常萌发, 穿过花柱道, 进入子房, 到达胚珠。虽然杂交亲和性与花粉管的行为有关, 但杂交的成功与否还受到受精后诸多因素的影响, 还需要从胚胎学和遗传学方面进一步探讨。

参考文献:

- 梁松筠. 百合科 (狭义) 植物的分布区对中国植物区系研究的意义. 植物分类学报, 1995, 33 (1): 27 ~ 51
Liang S Y. Chorology of Liliaceae (S. Str.) and its bearing on the Chinese flora. Acta Phytotaxonomica Sinica, 1995, 33 (1): 27 ~ 51 (in Chinese)
- 傅立国, 陈谭清, 郎楷永, 洪涛, 林祁, 李勇. 中国高等植物, 第十三卷. 青岛: 青岛出版社, 2002. 118 ~ 133
Fu L G, Chen T Q, Lang K Y, Hong T, Lin Q, Li Y. Higher plants of China, Volume 13. Qingdao: Qingdao Publishing House, 2002. 118 ~ 133 (in Chinese)
- 李守丽, 石雷, 张金政, 龙雅宜. 百合育种研究进展. 园艺学报, 2006, 33 (1): 203 ~ 210
Li S L, Shi L, Zhang J Z, Long Y Y. Recent advances in lily breeding. Acta Horticulturae Sinica, 2006, 33 (1): 203 ~ 210 (in Chinese)
- 安和祥, Ferguson A R, Bank R J. 猕猴桃种内种间传粉后花粉在雌蕊上行为的观察. 植物引种驯化集刊, 1993, 8: 207 ~ 221
An H X, Ferguson A R, Bank R J. Observation on the behavior of the pollen tube on pistils after intraspecific and interspecific pollination of *Actinidia*. Plant Introduction and Acclimatization, 1993, 8: 207 ~ 221 (in Chinese)
- 梁铁兵, 母锡金. 美味猕猴桃和软枣猕猴桃种间杂交花粉管行为和早期胚胎发生的观察. 植物学报, 1995, 37 (8): 607 ~ 612
Liang T B, Mu X J. Observation of the pollen tube behavior and early embryogenesis following pollination following interspecific pollination between *Actinidia deliciosa* and *A. arguta*. Acta Botanica Sinica, 1995, 37 (8): 607 ~ 612 (in Chinese)
- 李同華, 新美芳二, 中野優. 花柱切断受粉法によるテツボウユリ ‘ジョウジア’ の花粉管伸長と種子形成に及ぼす予備受粉の効果. 園学雑誌, 1995, 64 (1): 149 ~ 159
Li T H, Niimi Y. A comparison of seed sets in self-intraspecific and interspecific pollination of *Lilium* species by stigmatic and cut-style pollination methods. Journal of Japanese Society Horticulture Science, 1995, 64 (1): 149 ~ 159 (in Japanese)
- 李同華, 新美芳二. 数種類のユリの自家受粉および交雑受粉における柱頭受粉法および花柱切断受粉法による種子形成. 園学雑誌, 1996, 65 (1): 135 ~ 144
Li T H, Niimi Y. Pollen tube growth and seed set in stigmatic and cut-style pollinated *Lilium longiflorum* ‘Georgia’ flowers as influenced by pre-pollination. Journal of Japanese Society Horticulture Science, 1996, 65 (1): 135 ~ 144 (in Japanese)
- 张金政, 龙雅宜, 孙国峰. 大百合的生物多样性及其引种观察. 园艺学报, 2002, 29 (5): 462 ~ 466
Zhang J Z, Long Y Y, Sun G F. Biodiversity of *Cardiocrinum giganteum* and observation during its introduction. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29 (5): 462 ~ 466 (in Chinese)
- Knox R B, Willing R R, Pryor L D. Interspecific hybridization in poplars using recognition pollen. Silvae Genetica, 1972, 21: 65 ~ 69
- Williams E, Knox R B, Rouse J L. Pollination sub-systems distinguished by pollen tube arrest after interspecific crosses in *Rhododendron* (Ericaceae). Journal of Cell Science, 1982, 53: 255 ~ 277