

# 兰州百合和大花卷丹远缘杂交胚挽救技术研究

尹 燕, 杨道兰, 冯炜弘, 牛慧婷, 李爱兵, 何 潇, 王 璐

(兰州市农业科技研究推广中心, 甘肃 兰州 73000)

**摘要:** 利用兰州百合与大花卷丹进行正反交, 研究了花期调控、不同授粉方式、蒴果采收时间及胚挽救培养基配方对杂种胚萌发率及成苗率的影响。结果表明, 兰州百合延后种植及大花卷丹提前种植, 可有效地解决花期不遇的问题; 兰州百合与大花卷丹杂交授粉时, 花期授粉的蒴果膨大率可达 93.3%, 种子有胚率为 2.00%; 大花卷丹与兰州百合杂交授粉时, 切割柱头的授粉膨大率最高, 仅为 7.6%, 但种子有胚率为 0%。兰州百合与大花卷丹杂交授粉后 60~70 d 的蒴果进行胚培养较为适宜。兰州百合与大花卷丹的杂交胚适宜培养基为 MS+0.3 mg/LNAA+0.2 mg/L6-BA。

**关键词:** 兰州百合; 大花卷丹; 远缘杂交; 胚挽救

**中图分类号:** S644.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2022)04-0029-05

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2022.04.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2022.04.006)

## Study on the Embryo Rescue Techniques of the Distant Hybrids of *Lilium davidii* var. *unicolor* and *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*

YIN Yan, YANG Daolan, FENG Weihong, NIU Huiting, LI Aibing, HE Xiao, WANG Lu

(Lanzhou Agricultural Science and Technology Research Extension Center, Lanzhou Gansu 730000, China)

**Abstract:** The effects of flowering regulation, different pollination methods, capsule harvesting time and embryo rescue medium formula on the germination rate and seedling rate of hybrid embryos were studied by positive and negative cross between *Lilium davidii* var. *unicolor* and *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*. The results showed that delayed planting at different time points of low temperature storage during cold storage of *Lilium davidii* var. *unicolor* and early planting protection measures of *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* could effectively resolve the problem of flowering; Flowering pollination can be used in hybrid pollination of *Lilium davidii* var. *unicolor* × *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*, capsule expansion rate can reach 93.3%, the embryo rate of seeds was 20%; while *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* hybridized with *Lilium davidii* var. *unicolor*, the expansion rate of cutting stigma pollination was the highest, only 7.6%, but the embryo rate of seeds was 0%; It was more suitable for embryo culture of capsules 60 d~70 d after pollination by *Lilium davidii* var. *unicolor* × *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*; the optimum

收稿日期: 2021-12-30

基金项目: 兰州市人才创新创业项目(2020-RC-144); 陇原青年创新创业人才项目(2022)。

作者简介: 尹 燕(1983—), 女, 甘肃金昌人, 农艺师, 硕士, 研究方向为种质资源选育与采后生物学。Email: 544895391@qq.com。

作者简介: 杨道兰(1970—), 女, 甘肃皋兰人, 农艺师, 研究方向为蔬菜育种。Email: 875516380@qq.com。

- [17] 易继财. 生物类专业生物信息学课程教学探索: 华南农业大学生物类专业生物信息学课程的教改实践与思考[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(26): 231-233.
- [18] JAKOBSSON A, WESTERBERG R, JACOBSSON A. Fatty acid elongases in mammals: their regulation and roles in metabolism[J]. Progress in Lipid Research, 2006, 45(3): 237-249.
- [19] 王海燕, 苏玉虹. 编码极长链脂肪酸延长酶基因家族的结构及其产物的功能[J]. 生命的化学, 2005(1): 29-31.
- [20] 张 娟, 母 童, 虎红红, 等. 静原鸡 *ELOVL5* 基因功能生物信息学分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(12): 5432-5441.
- [21] 母 童, 张 娟, 赵 平, 等. 静原鸡 *ELOVL2* 和 *ELOVL5* 基因表达的组织特异性研究[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(8): 1290-1296.
- [22] 郭鹏程, 戴珊珊, 杨浩然, 等. *ELOVL5* 基因遗传变异与中国荷斯坦奶牛乳质性状的关联分析及功能验证[J]. 中国兽医学报, 2017, 37(4): 741-745.
- [23] 潘开源, 陈建文, 陈 真, 等. 乳腺特异性共表达 4 种脂肪酸合成酶载体及其稳转山羊成纤维细胞系的构建[J]. 安徽农业大学学报, 2015, 42(3): 417-423.
- [24] 马小娅, 庞春英, 邓廷贤, 等. *FADS2* 基因在奶牛乳腺细胞中的过表达和干扰研究[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(3): 652-660.

medium for the hybrid embryos of *Lilium davidii* var. *unicolor* hybridized with *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* was MS+0.3 mg/L NAA+0.2 mg/L 6-BA.

**Key words:** *Lilium davidii* var. *unicolor*; *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*; Distant hybridization; Embryo rescue

兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)作为我国三大主栽食用品种[龙牙百合(*Lilium brownie* var. *viridulum* Baker)、宜兴百合(*Lilium lancifolium* Thunb)、兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)]之一<sup>[1-2]</sup>,因其较高的含糖量、独特的风味<sup>[3-4]</sup>,成为了食用百合中的佼佼者。随着兰州百合产业近年来的向好发展<sup>[5]</sup>,一些突出问题也已显现,主要表现在产量低、品种退化严重、千字头多、黄化现象严重等方面<sup>[6-8]</sup>,要从根本上解决这些问题,还需要源源不断地选育新品种。耿兴敏等<sup>[9]</sup>研究了兰州百合/大花卷丹、大花卷丹/兰州百合采用延迟授粉和切割柱头授粉的有胚率和萌发率,但未对杂交后代进行胚挽救技术研究。我们选用兰州百合和长势强、产量高的药食两用的大花卷丹为研究材料,通过花期调控、不同的授粉方式、蒴果采收时间及胚挽救培养基优化,以期探索一套可行的胚挽救技术,为食用百合的远缘杂交提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试的兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)和大花卷丹(*Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*),均种植在兰州市榆中县新营乡百合种质资源基地。

### 1.2 试验方法

1.2.1 百合花期调控 2018年及2019年的种植试验表明,当年4月15日种植兰州百合和大花卷丹,兰州百合的花期一般在7月1—15日,大花卷丹的花期一般在7月15日至8月15日,百合杂交授粉时2种百合花期无法相遇。因此采用兰州百合冷库低温贮存延后种植及大花卷丹保护措施提前种植方法,具体方法见表1。

1.2.2 百合杂交授粉方法比较 参照李润根<sup>[10]</sup>的方法并作部分修改。采用花期授粉、蕾期授粉、切割柱头授粉<sup>[11]</sup>、混合蒙导授粉4种方法进行授粉。开花前1d将杂交母本去雄,随后立即用锡箔纸将母本的柱头进行包裹,以免受到其他植株花粉的干扰。授粉时间选取在当天开花的8:00—

表1 2种百合的种植时间及种植措施

种植编号	种植时间及种植方法
1	4月15日常规种植兰州百合
2	将冷库低温(-2℃)贮存的兰州百合于5月1日常规种植
3	将冷库低温(-2℃)贮存的兰州百合于5月15日常规种植
4	4月15日常规种植大花卷丹
5	将大花卷丹在冷库内(-2℃)贮存至3月1日,之后在10~15℃下催芽30d,4月1日将带芽大花卷丹常规移栽到塑料大棚内,5月1日将塑料大棚的棚膜揭去。

12:00时,待母本的柱头有大量粘液分泌时,将杂交父本当天开放的花粉授予母本柱头上,随后继续用锡箔纸将其母本的柱头包裹。授粉20d后统计杂交蒴果膨大率,蒴果膨大情况参照李婕等<sup>[12]</sup>的方法并作修改,如表2所示。当蒴果皮开始变黄时,统计有胚率。

蒴果膨大率 =  $[(C2+C3+C4)/授粉花朵数] \times 100\%$

有胚率 =  $(有胚种子数/总种子数) \times 100\%$

表2 蒴果膨大程度分类及评价

膨大程度分类	膨大情况
C1	蒴果基本不膨大,授粉后成活少于20d
C2	蒴果微膨大,授粉后成活20~35d
C3	蒴果授粉后成活35~60d
C4	蒴果授粉后成活60d以上

### 1.2.3 蒴果不同采收时间对杂交胚萌发的影响

百合杂交授粉的试验结果表明,大花卷丹与兰州百合杂交授粉的种子有胚率为0,因此选用兰州百合与大花卷丹杂交后的蒴果。在兰州百合与大花卷丹杂交授粉后30、40、50、60、70d各采收蒴果30个,采用子房分段培养的方法<sup>[13]</sup>,将切段子房接种在MS+0.2 mg/L NAA+0.6 mg/L 6-BA+蔗糖30 g/L+琼脂4 g/L, pH 5.8培养基上。150d后调查胚萌发率,并将已萌发的胚珠继续接种在MS+0.2 mg/L NAA+0.6 mg/L 6-BA+蔗糖30 g/L+琼脂4

g/L, pH 5.8 培养基, 培养 60 d 后统计成苗率。

萌发率=(萌发的个数/接种胚珠数)×100%(统计得到每个膨大蒴果内胚珠个数平均为300个)

成苗率=(成苗的个数/接种胚珠数)×100%

1.2.4 不同激素对比对杂交胚萌发的影响 摘取授粉 60 d 的兰州百合与大花卷丹的杂交蒴果, 采用子房分段培养的方法<sup>[13]</sup>, 将切段子房接种在添加不同配比 NAA 与 6-BA 的 MS 培养基上, NAA 浓度设置为 0.1、0.3、0.5 mg/L, 6-BA 浓度设置为 0.2、0.4、0.8 mg/L。150 d 后调查胚的萌发率, 将已萌发的胚珠继续接种在最适的胚萌发培养基上, 60 d 统计成苗率。胚萌发率及成苗率计算方法同 1.2.3。

1.2.5 数据统计分析 试验数据采用 Excel 2007 与 SPSS 7.0 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 百合花期调控技术评价

由表 3 可以看出, 4 月 15 日、5 月 1 日、5 月 15 日 3 个不同时间节点种植兰州百合, 可保证在 7 月 1 日至 8 月 15 日均有兰州百合开花; 4 月 1 日、4 月 15 日 2 个时间点种植大花卷丹, 可使大花卷丹在 7 月 1 日至 8 月 15 日均可开花。因此, 兰州百合冷库低温贮存不同时间点延后种植及大花卷丹保护措施提前种植, 可有效地解决花期不遇的

表 3 花期调控结果

种植编号	百合种类	开花时间
1	兰州百合	7 月 1—15 日
2	兰州百合	7 月 15 日至 8 月 1 日
3	兰州百合	8 月 1—15 日
4	大花卷丹	7 月 15 日至 8 月 15 日
5	大花卷丹	7 月 1 日至 8 月 1 日

难点, 可从源头上保障杂交授粉的可行性。

### 2.2 不同授粉方式对百合杂交结实率的影响

由表 4 可知, 各种授粉方式均能使兰州百合/大花卷丹、大花卷丹/兰州百合杂交蒴果膨大, 但子房膨大率存在较大差别。兰州百合与大花卷丹杂交授粉的子房膨大率为 82.6%~94.5%, 而大花卷丹与兰州百合杂交授粉膨大率仅为 4.4%~7.5%。

兰州百合/大花卷丹无论采用哪种授粉方式, 子房膨大率均在 82.6%以上, 种子有胚率均在 2.00%左右。其中子房膨大率以切割柱头授粉最高, 达到了 94.5%; 蕾期授粉最低, 为 82.6%。子房膨大率各处理间差异显著。各处理的种子有胚率从小到大依次为切割柱头、花期授粉、蕾期授粉和混合萌导授粉, 但花期授粉、蕾期授粉、混合萌导授粉差异不显著, 从授粉的便利性考虑, 可选择花期授粉。

### 2.3 蒴果不同采收时间对杂种胚萌发的影响

由图 1 可知, 随着蒴果采收时间的延后, 胚萌发率及成苗率均有提高, 授粉后 70 d 采收的蒴果, 经培养后的胚萌发率及成苗率均达到最高, 分别为 1.356%和 1.267%, 授粉后 60 d 采收的蒴

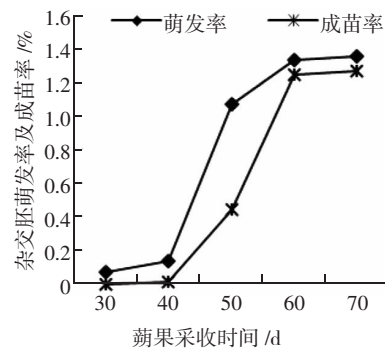


图 1 蒴果不同采收时间下杂交胚萌发率及成苗率

表 4 不同授粉方式对百合杂交结实率的影响<sup>①</sup>

杂交组合(母本/父本)	授粉方法	授粉花朵 / 朵	膨大蒴果数 / 个	子房膨大率 / %	种子数 / 个	有胚种子数 / 个	有胚率 / %
兰州百合/大花卷丹	花期授粉	120	112	93.3 c	300	6	2.00 ab
	蕾期授粉	150	124	82.6 d	298	6	2.01 a
	切割柱头授粉	200	189	94.5 a	304	6	1.97 b
	混合蒙导授粉	180	169	93.8 b	298	6	2.01 a
大花卷丹/兰州百合	花期授粉	200	10	5.0 c	306	0	0 a
	蕾期授粉	180	8	4.4 d	288	0	0 a
	切割柱头授粉	200	15	7.5 a	312	0	0 a
	混合蒙导授粉	180	12	6.6 b	299	0	0 a

① 兰州百合/大花卷丹、大花卷丹/兰州百合 2 个杂交组合组内做方差分析, 组间不做方差分析。

表5 不同激素比对杂交胚萌发的影响

NAA浓度 /(mg/L)	6-BA浓度 /(mg/L)	接种蒴果个数 /个	统计胚珠个数 /个	萌发个数 /个	萌发率 / %	成苗个数 /个	成苗率 / %
0.1	0.2	30	9 000	118	1.31 c	100	1.11 b
0.1	0.4	30	9 000	120	1.33 c	110	1.22 c
0.1	0.8	30	9 000	105	1.17 e	100	1.11 b
0.3	0.2	30	9 000	132	1.47 a	123	1.37 a
0.3	0.4	30	9 000	126	1.40 b	115	1.28 b
0.3	0.8	30	9 000	110	1.22 d	100	1.11 b
0.5	0.2	30	9 000	126	1.40 b	114	1.27 b
0.5	0.4	30	9 000	119	1.32 c	112	1.24 bc
0.5	0.8	30	9 000	101	1.12 f	95	1.06 d

果经培养后萌发率及成苗率与授粉后 70 d 差别不大。经试验观察, 授粉 70 d 之后蒴果已经干枯, 种子含水量较低, 子房切片时不宜操作, 故选择授粉后 60~70 d 的杂交蒴果进行胚培养较为适宜。

#### 2.4 不同激素比对杂交胚萌发的影响

由表 5 可知, 兰州百合与大花卷丹杂交胚在不同激素配比的 MS 培养基上萌发率和成苗率有较大差异。NAA 浓度为 0.3 mg/L 时, 兰州百合与大花卷丹杂交胚的萌发率及成苗率要高于 NAA 其他浓度。当 NAA 浓度一致、6-BA 浓度为 0.8 mg/L 时, 兰州百合与大花卷丹杂交胚的萌发率及成苗率低于其他 2 个 6-BA 浓度。当 NAA 浓度为 0.3 mg/L, 6-BA 浓度为 0.2 mg/L 时, 胚萌发率及成苗率均达到了最大。可见, 兰州百合与大花卷丹杂交胚的适宜培养基为 MS+0.3 mg/L NAA+0.2 mg/L 6-BA。

### 3 小结

通过兰州百合冷库低温贮存不同时间点延后种植及大花卷丹保护措施提前种植, 可有效地解决花期不遇的难点, 从而从源头上保障了杂交授粉的可行性。兰州百合与大花卷丹杂交授粉时, 可采用花期授粉, 蒴果膨大率可达 93.3%, 种子有胚率为 2.00%; 大花卷丹与兰州百合杂交授粉时, 切割柱头授粉膨大率最高, 为 7.5%, 但种子有胚率为 0%;

从种子有胚率来看, 兰州百合/大花卷丹组合无论哪种授粉方式, 种子有胚率均在 2.00% 左右, 而大花卷丹/兰州百合组合的种子有胚率均为 0。耿兴敏等<sup>[9]</sup>在研究野生百合组间杂交时也发现, 大花卷丹与兰州百合杂交种子有胚率为 0, 兰州百合与大花卷丹通过延迟授粉种子有胚率为 2.4%, 与本研究基本相一致。耿兴敏等<sup>[9]</sup>研究发现, 大

花卷丹/兰州百合通过延迟授粉, 子房膨大率可达 80%, 切割柱头授粉的子房膨大率为 50%; 兰州百合/大花卷丹通过延迟授粉, 子房膨大率为 92.5%, 而切割柱头未观察到子房膨大现象。上述结果与本研究结果相差较大, 原因可能是与授粉方式与授粉时间有关。

采用兰州百合与大花卷丹杂交授粉后 60~70 d 的蒴果进行胚培养较为适宜。雷家军等<sup>[14]</sup>在研究百合种间杂种胚培养时, 发现 50 d 蒴果虽已干枯, 但萌发率及成苗率仍然较高, 与本实验结果一致。

兰州百合与大花卷丹的杂交胚适宜培养基为 MS+0.3 mg/L NAA+0.2 mg/L 6-BA。

#### 参考文献:

- [1] 邓成忠, 杨云光. 食用百合品种介绍[J]. 中国果菜, 2002(5): 32.
- [2] 付艳华, 刘湘林, 魏先运. 食用百合引种鉴定和新品系选育研究[J]. 浙江农业科学, 2010(3): 468-470.
- [3] 齐士福. 兰州百合无公害栽培与贮运加工[M]. 兰州: 甘肃文化出版社, 2008.
- [4] 李瑞琴, 于安芬, 白滨, 等. 兰州百合营养品质分析评价[J]. 甘肃农业科技, 2021, 52(3): 15-18.
- [5] 白贺兰, 乔德华. 兰州百合产业发展现状及优化升级对策[J]. 甘肃农业科技, 2017(12): 79-82.
- [6] 张元英. 浅议兰州百合产量和品质下降问题[J]. 农民致富之友, 2016(20): 96.
- [7] 滕辉. 榆中县百合产业发展现状、存在的问题及对策[J]. 甘肃农业, 2020(7): 60-61.
- [8] 李斌. 兰州百合黄化现象发生情况的调研与思考[J]. 农业与技术, 2021, 41(11): 99-103.
- [9] 耿兴敏, 夏婷, 罗凤霞. 中国部分野生百合自交和组内及组间杂交亲和性研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33(2): 306-312.



# 糯玉米新品种酒糯 4103 选育报告

范兴忠, 马正龙, 杨文霞, 张正洁  
(酒泉市农业科学研究院, 甘肃 酒泉 735000)

**摘要:** 随着鲜食玉米产业的不断发展, 甘肃鲜食玉米品种选育相对滞后, 为此酒泉市农业科学研究院以自交系 Pg-B 为母本、自交系 15N2 为父本组配选育出了鲜食糯玉米一代杂交种酒糯 4103。该品种在 2017—2018 年进行的甘肃省鲜食玉米糯玉米组区域试验中, 2017 年鲜穗平均折合产量为 18 166.5 kg/hm<sup>2</sup>, 比对照品种京科糯 569 增产 15.15%; 2018 年鲜穗平均折合产量 19 720.5 kg/hm<sup>2</sup>, 比对照品种白玉糯 909 增产 15.90%。苗期生长势强, 成株茎秆粗壮, 株型紧凑。株高 265 cm, 果穗锥型, 籽粒白紫色、糯质型。籽粒含粗淀粉(干基)608.3 g/kg、粗蛋白 121.4 g/kg, 支链淀粉含量为 100%, 直链淀粉含量为 0。鲜穗采收期为 101 d, 鲜穗采收最佳时期一般在吐丝后 26~28 d。品质综合评价评分为 85.5 分, 达到农业农村部颁布的糯玉米二级标准。高抗丝黑穗病和瘤黑粉病。适宜在甘肃省酒泉、张掖、武威、兰州、白银、天水、庆阳、平凉、陇西等地及相似生态区域种植。

**关键词:** 糯玉米; 新品种; 酒糯 4103; 一代杂交种; 选育

**中图分类号:** S513

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2022)04-0033-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2022.04.007

## Report on Breeding of New Maize Variety Jiunuo 4103

FAN Xingzhong, MA Zhenglong, YANG Wenxia, ZHANG Zhengjie  
(Jiuquan Academy of Agricultural Sciences, Jiuquan Gansu 735000, China)

**Abstract:** With the development of fresh maize industry, The selection and breeding of fresh maize varieties is very behind relatively. In order to improve the speed of the selection and breeding of fresh maize variety, we have selected hybrid of fresh maize which was bred by inbred line Pg-B as the female parent and inbred line 15N2 as the male parent, named Jiunuo 4103. The regional test of this variety was carried out from 2017 to 2018, and the average converted yield of fresh ear was 18 166.5 kg/hm<sup>2</sup> in 2017, which increased by 15.15% compared with the control variety Jingkenuo 569; The average converted yield of fresh ear was 19 720.5 kg/hm<sup>2</sup> in 2018, which increased by 15.90% compared with the control variety Baiyunuo 909; This new variety possessed characteristics of stronger growth potential in the seedling growth, thick stalk and plant-type compact. the stalk was plant height was 265 cm. The ear was tapered, the grain was white purple and waxy. and tasted sweet and sticky after cooking. In maize kernels, the crude starch content was 608.3 g/kg, the crude protein content was 121.4 g/kg. the amylopectin accounted for 100% of the total starch content, the amylose accounted for 0%. It took about 101 days from sowing to harvesting, and the best harvest time of fresh ear was generally 26 to 28 days after silking. The comprehensive evaluation score of quality was 85.5, which reached the waxy maize secondary standard issued by the Ministry of Agriculture and Rural Affairs. The variety was highly resistant to Maize Head Smut and *Sphacelotheca reiliana*. It was suitable to be planted in Hexi corridor of Gansu Province (Jiuquan, Zhangye,

收稿日期: 2022-03-18

作者简介: 范兴忠(1970—), 男, 甘肃酒泉人, 助理研究员, 研究方向为作物育种与栽培。联系电话: (0)18089362180。Email: 1308231067@qq.com。

通信作者: 杨文霞(1973—), 女, 甘肃酒泉人, 副研究员, 研究方向为作物育种与栽培。联系电话: (0)13830728285。Email: 913824350@qq.com。

执笔人: 马正龙。

- [10] 李润根. 不同授粉方式对食用百合种间杂交结实的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(21): 140-142.
- [11] 雷家军, 贺卫丽, 赵艳. 不同授粉方式对亚洲百合与东方百合种间杂交结实的影响[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(2): 29-34.
- [12] 李婕, 高亦珂, 张启翔. 有斑百合和亚洲百合杂交亲和性的研究[J]. 中国农业大学学报, 2013, 18(2): 71-78.
- [13] 罗远义, 胡小京, 崔崑, 等. 不同百合品种杂交亲和性试验[J]. 现代农业科技, 2019(13): 127-129.
- [14] 雷家军, 阮冰洁. 大花卷丹与亚洲百合、东方百合种间杂交及胚培养研究[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(4): 66-71.