

## 新疆野生种与栽培种郁金香的杂交种子无菌萌发和鳞茎形成

王彩霞<sup>1</sup>, 欧阳彤<sup>1</sup>, 姜彦成<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江富阳311400; <sup>2</sup>新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐830046

**提要:**新疆野生种与栽培种郁金香的杂交F<sub>1</sub>种子于4℃低温下培养36~67 d后萌发, 随后于15℃下培养3~5个月形成鳞茎。‘小黑人’×柔毛郁金香、‘小黑人’×天山郁金香和‘小黑人’×伊犁郁金香F<sub>1</sub>种子的萌发率差异显著, 分别为60.37%~63.89%、80.28%~81.25%和3.75%~4.45%。‘小黑人’×柔毛郁金香和‘小黑人’×天山郁金香F<sub>1</sub>的鳞茎分别在添加6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>(单位下同)+KT 1.0+TDZ 0.1和6-BA 5.0+KT 0.4的1/2 MS培养基中增殖。‘小黑人’×天山郁金香F<sub>1</sub>种子萌发后有41.67%呈畸形, 畸形的萌芽在添加6-BA 2.0+KT 0.4的1/2 MS培养基中可诱导出鳞茎并增殖。

**关键词:** 郁金香; 种间杂种; 种子萌发; 鳞茎形成

## Aseptic Germination and Bulblet Formation of Interspecific Hybrids between Wild Species and Cultivar of Tulip (*Tulipa* L.)

WANG Cai-Xia<sup>1</sup>, OUYANG Tong<sup>1</sup>, JIANG Yan-Cheng<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Subtropical Forestry, China Academy of Forestry, Fuyang, Zhejiang 311400, China; <sup>2</sup>College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

**Abstract:** The F<sub>1</sub> seeds of interspecific hybrids between wild species and cultivar of tulip (*Tulipa* L.) germinated after 36–67 days cultured in 4℃ and formed subsequently bulblets after 3–5 months cultured in 15℃. The germination rates of F<sub>1</sub> seeds of ‘Negrita’×*Tulipa buhseana*, ‘Negrita’×*T. tianschanica*, and ‘Negrita’×*T. iliensis* were 60.37%–63.89%, 80.28%–81.25%, 3.75%–4.45% respectively and there were significant differences among them. ‘Negrita’×*T. buhseana* F<sub>1</sub> bulblets proliferated in 1/2MS medium supplemented with 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA, 1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT and 0.1 mg·L<sup>-1</sup> TDZ, meanwhile, ‘Negrita’×*T. tianschanica* F<sub>1</sub> bulblets proliferated in 1/2 MS medium supplemented with 5.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA and 0.4 mg·L<sup>-1</sup> KT. There were 41.67% ‘Negrita’×*T. tianschanica* showed abnormal morphology, which could induce bulblets in 1/2MS medium supplemented with 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA and 0.4 mg·L<sup>-1</sup> KT.

**Key words:** Tulip (*Tulipa* L.); interspecific hybrid; seed germination; bulblet formation

我国新疆的野生郁金香有很强的抗逆(寒冷、干旱、炎热)性, 其与栽培品种杂交是培育抗性强和观赏价值高的郁金香新品种的有效手段之一(谭敦炎 2001)。但这方面的研究鲜有报道。通过人工杂交, 我们曾获得一批新疆野生种与栽培种郁金香的杂交F<sub>1</sub>种子(欧阳彤等 2008)。此外, 由于亲本间的遗传关系相对较远, 一般在植物远缘杂交过程中常会出现各种障碍, 如杂交不亲和、胚败育、杂交种子不萌发、幼苗畸形或夭折等(高新起和王秀玲 1998)。杂交种子能否正常萌发和发育是远缘杂交育种中的关键环节之一。无菌播种培养是植物远缘杂种培育中常用的技术(张志胜等 2001)。据此, 本文探讨新疆野生种与栽培种郁金香的杂交F<sub>1</sub>种子的无菌萌发和鳞茎形成, 以了解其萌发特性, 并建立无菌萌发和鳞茎形成体系, 最终获得F<sub>1</sub>小鳞

茎以培育新的郁金香种质。

### 材料与方法

实验用的郁金香杂交种子共3份, 分别为郁金香‘小黑人’(*Tulipa gesneriana* L. cv. ‘Negrita’)×柔毛郁金香(*Tulipa buhseana* Boiss.) F<sub>1</sub>种子、‘小黑人’×天山郁金香(*Tulipa tianschanica* Regel) F<sub>1</sub>种子、‘小黑人’×伊犁郁金香(*Tulipa iliensis* Regel) F<sub>1</sub>种子。其中‘小黑人’为栽培品种, 柔毛郁金香、天山郁金香、伊犁郁金香为新疆野生种。杂交实

收稿 2009-07-07 修定 2009-10-27

资助 国家自然科学基金(30560016)。

\* 通讯作者(E-mail: jiangyc804@163.com; Tel: 0991-8522818)。

验于2006和2007年的花期在新疆进行。采集成熟杂交果实, 晒干, 挑选饱满的种子置于4℃冰箱中用硅胶干燥保存备用。

接种前, 种子先用75%酒精消毒30 s, 0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒5 min, 无菌水冲洗3~5次。灭菌后, 以无菌水为对照, 分别用100、300和500 mg·L<sup>-1</sup>赤霉素(GA<sub>3</sub>)溶液浸泡种子24 h, 接种于同一种培养基中。另外, 种子萌发和鳞茎形成的培养基以1/2MS为基本培养基, 附加5.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂、500 mg·L<sup>-1</sup>蛋白胨、40 g·L<sup>-1</sup>(种子萌发)或60 g·L<sup>-1</sup>(鳞茎形成)蔗糖以及不同浓度的6-BA、KT、TDZ和NAA。培养基于120℃下灭菌20 min, 灭菌前pH调至5.8。暗培养或12 h·d<sup>-1</sup>光照培养, 光照强度为30~40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。温度分别为4、15和24℃。

## 实验结果

### 1 种子的萌发

表1和图1显示, (1)种子接种后, 在15和24℃下暗培养或12 h·d<sup>-1</sup>光照培养均不萌发。在4℃暗培养或12 h·d<sup>-1</sup>光照培养环境中, 接种36~67 d后种子萌发(图1-a)。(2)与不做GA<sub>3</sub>处理相比, 接种前分别用100、300和500 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>浸种24 h, 3种F<sub>1</sub>种子的萌发率均无显著升高(表1)。种子接种在添加不同浓度6-BA、KT、TDZ和NAA的培养基中, 种子萌发率在各培养基之间的差异不显著(数据未列出)。不同杂交组合F<sub>1</sub>种子之间的萌发率差异显著, 其中‘小黑人’×天山郁金香F<sub>1</sub>种子的萌发率最高, 达80.28%~81.25%, ‘小黑人’×柔毛郁金香F<sub>1</sub>种子次之, 为60.37%~63.89%, ‘小黑人’×伊犁郁金香F<sub>1</sub>种子最低, 仅3.75%~4.45% (表1)。

表1 赤霉素(GA<sub>3</sub>)对郁金香种间杂交F<sub>1</sub>种子萌发的影响

Table 1 Effects of GA<sub>3</sub> on seed germination of interspecific hybrids of tulip

GA <sub>3</sub> 浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	F <sub>1</sub> 种子萌发率 /%		
	‘小黑人’×柔毛郁金香	‘小黑人’×天山郁金香	‘小黑人’×伊犁郁金香
0	63.89 <sup>b</sup>	80.28 <sup>a</sup>	3.75 <sup>c</sup>
100	61.39 <sup>b</sup>	80.97 <sup>a</sup>	4.45 <sup>c</sup>
300	62.54 <sup>b</sup>	80.39 <sup>a</sup>	4.16 <sup>c</sup>
500	60.37 <sup>b</sup>	81.25 <sup>a</sup>	3.97 <sup>c</sup>

不同字母表示在P≤0.05水平差异显著。

### 2 鳞茎的形成

从图1可见, (1)种子萌发后, 置于4℃暗培养或12 h·d<sup>-1</sup>的光照培养条件下鳞茎不能形成, 在24℃暗培养或12 h·d<sup>-1</sup>光照下培养的芽逐渐死亡, 而在15℃暗培养或12 h·d<sup>-1</sup>光照培养条件下可形成鳞茎。出芽后3~5个月, 芽端开始膨大, 逐渐形成小鳞茎, 再自小鳞茎长出真叶(图1-b~d)。(2)‘小黑人’×柔毛郁金香F<sub>1</sub>种子萌发后, 所有种子均能继续正常发育形成小鳞茎, 并在添加2.0 mg·L<sup>-1</sup>6-BA、1.0 mg·L<sup>-1</sup>KT和0.1 mg·L<sup>-1</sup>TDZ的培养基中增殖(图1-e)。‘小黑人’×天山郁金香F<sub>1</sub>种子萌芽后, 有58.33%的芽可继续正常发育形成小鳞茎, 41.67%的芽出现畸形(图1-f)。正常发育的小鳞茎在添加5.0 mg·L<sup>-1</sup>6-BA和0.4 mg·L<sup>-1</sup>KT的培养基中可增殖, 畸形的萌芽在添加2.0 mg·L<sup>-1</sup>6-BA和0.4 mg·L<sup>-1</sup>KT的培养

基中可诱导出小鳞茎并增殖(图1-g)。‘小黑人’×伊犁郁金香F<sub>1</sub>种子在萌发后均能正常发育形成小鳞茎, 但在所有培养基中均不增殖。

## 讨 论

种子的萌发和发育取决于其自身的生理特性和遗传背景。郁金香种子有胚休眠现象, 低温可打破其休眠(Fortanier和Van Brenk 1975; Niimi 1980)。本文的新疆野生种和栽培种郁金香的杂交F<sub>1</sub>种子于4℃低温下培养36~67 d后萌发, 随后于15℃下培养3~5个月形成鳞茎, 与自然环境下的郁金香的物候特性一致, 说明温度是影响其萌发和鳞茎形成的重要因素。陈芳等(2001)以及朱新霞等(2005)报道, 赤霉素对解除伊犁郁金香种子休眠有良好效果, 但本文中并未观察到此现象, 这可能与各自所

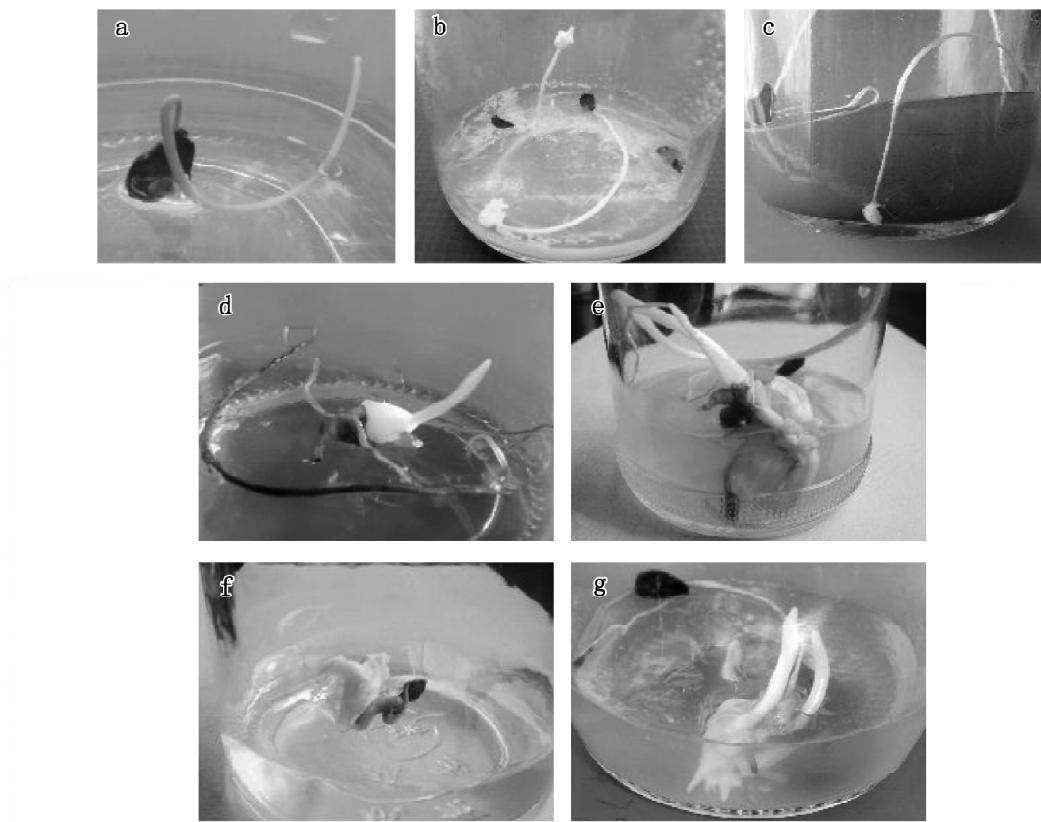


图1 郁金香种间杂交  $F_1$  种子萌发及鳞茎形成

Fig.1 Seed germination and bulblet formation of interspecific hybrids of tulip

a: 种子萌发; b、c、d: 鳞茎形成; e: 鳞茎增殖; f: 畸形鳞茎; g: 自畸形鳞茎诱导出的正常鳞茎。

用种子的遗传背景差异有关。‘小黑人’ $\times$ 柔毛郁金香  $F_1$  种子和‘小黑人’ $\times$ 天山郁金香  $F_1$  种子萌发相对比较容易, 而‘小黑人’ $\times$ 伊犁郁金香  $F_1$  种子则难萌发, 而且‘小黑人’ $\times$ 天山郁金香  $F_1$  种子萌发后部分呈畸形, 这可能是杂交亲本遗传关系的远近不同所致。在培养基中添加外源生长调节物质虽然不能促使萌发率升高, 但添加 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同) +KT 1.0+TDZ 0.1 和 6-BA 5.0+KT 0.4 则分别促进‘小黑人’ $\times$ 柔毛郁金香、‘小黑人’ $\times$ 天山郁金香  $F_1$  鳞茎增殖, 而且添加 6-BA 2.0+KT 0.4 能诱导‘小黑人’ $\times$ 天山郁金香  $F_1$  的畸形萌芽长出鳞茎并增殖, 这对克服郁金香远缘杂交中种子量少、幼苗畸形障碍和获取新种质来说都是有意义的。

## 参考文献

- 陈芳, 刘彤, 周玲玲(2001). 新疆野生郁金香生物学特性及种子发芽特性的研究. 石河子大学学报(自然科学版), 5: 197~200  
高新起, 王秀玲(1998). 植物远缘杂交的障碍及其克服. 生物学通报, 33 (2): 12~14  
欧阳彤, 姜彦成, 栾启福, 王彩霞(2008). 新疆野生郁金香与栽培品种的杂交性状. 植物学通报, 25 (6): 656~664  
谭敦炎(2001). 新疆的郁金香属种质资源. 植物杂志, 6: 1  
张志胜, 何琼英, 傅雪琳, 欧秀娟, 林伟强, 蒋俊岳(2001). 中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究. 华南农业大学学报, 22: 62~65  
朱新霞, 孙黎, 乐锦华(2005). 野生郁金香的室内萌发研究. 种子, 24: 63~64  
Fortanier EJ, Van Brenk G (1975). Dormancy of seeds as compared with dormancy of bulbs in tulips. Acta Horticul, 47: 331~338  
Niimi Y (1980). Histological observations on the initiation of the vegetative apex in tulip seeds cultured under low temperatures. Sci horticul, 13: 161~171