

菠萝杂交授粉及杂交种子的组培试验研究

吕玲玲, 易克贤

(中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 广东湛江 524091)

摘要: 对6个不同的菠萝品种进行了杂交授粉试验, 结果发现不同的菠萝品种之间杂交授粉有较高的得籽率; 同时还进行了杂交种子的组培试验, 包括种子出芽、杂交苗的增殖、生根和移栽, 结果显示最佳的出芽、增殖培养基为 $1/2MS+6-BA0.5\text{ mg/L}+IBA1.0\text{ mg/L}$, 经30d增殖培养后, 杂交苗的增殖倍数可达10以上; 最适生根培养基为 $1/2MS+NAA0.5\text{ mg/L}$, 生根率为96%; 杂交苗的移栽成活率大于90%。

关键词: 菠萝; 杂交授粉; 杂交种子; 组培

中图分类号: S667.8

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2006)03-0145-04

Studies on Hybrid Pollination and Tissue Culture of Hybrid Seeds in Pineapple

Lü Ling-ling and YI Ke-xian

(Southern Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Zhanjiang, Guangdong 524091, China)

Abstract: Hybrid pollination among 6 different pineapple cultivars was tested in this paper. The results showed when the hybridization was done between different varieties, we could get more hybrid seeds. The tissue culture of hybrid seeds was tested too, including the germination of hybrid seeds, the proliferation, rootage and transplant of plantlets. The results were as below, the best medium for germination and proliferation was $1/2MS+6-BA0.5\text{ mg/L}+IBA1.0\text{ mg/L}$. When the plantlets were cultured for 30 days, the proliferation times was over 10. The most suitable rooting medium was $1/2MS+NAA0.5\text{ mg/L}$ with rooting rate of 96%. The survival rate of transplanted plants was over 90%.

Key words: Pineapple; Hybrid pollination; Hybrid seed; Tissue culture

菠萝又称凤梨 (*Ananas Comosus* (L.) Merr), 系凤梨科凤梨属的植物, 是世界第三大热带水果, 目前在我国的种植面积为 6.67 万 hm^2 左右, 分布在广东、广西、海南、云南、福建、台湾等省区, 但以广东、海南为主。我国华南地区的菠萝品种可分为: 皇后类、卡因类和西班牙类 3 类。

菠萝的花序是由许多小花聚合而成的肉质花序, 整个花序的花期为 15~30 d; 但菠萝单朵花的开放时间很短, 从初开到凋谢不超过 24 h; 菠萝具有自花授粉和品种内混合授粉不孕的特性, 因

此本研究不作自交处理, 同时可省去杂交授粉时的人工去雄和授粉后的套袋隔离工序, 但不同品种间授粉可得到杂交种子^[1]。

在我国, 广西农科院曾通过杂交授粉得到一个表现较好的杂交后代“3136”, 后因种种原因未进行进一步研究而被迫终止; 广东省农科院通过杂交授粉选育出杂交种“57-236”^[2]。但都无相关研究论文发表, 且多数是通过巴厘和卡因的正反交来选育, 很少有其他的杂交组合。本文对 6 个不同菠萝品种进行了 5 个组合的杂交授粉试验,

收稿日期: 2005-11-29 修回日期: 2005-12-20

基金项目: 中国热带农业科学院华南热带农业大学科学基金资助项目(RKY0517)。

作者简介: 吕玲玲(1977-), 女, 助理研究员, 硕士, 从事热带作物遗传育种工作。Email: lulingling1234@21cn.com

得到了杂交种子,并进行了杂交种子的组培试验,旨在摸索出得籽率较高的杂交组合,并掌握从杂交授粉、杂交种子出芽到杂交苗移栽的一整套技术,为以后选育优良菠萝品种打下基础。

1 材料与方 法

1.1 杂交授粉的材料和方法

参与试验的菠萝品种有巴厘(编号为 01)、卡因(编号为 02)、台农 16 号(编号为 03)、台农 11 号(编号为 04)、苹果菠萝(编号为 05)及台农 13 号(编号为 06),这些品种都保存在本所的菠萝种质资源圃中。因为巴厘在产量、品质等方面总体表现较好,是目前我国种植面积最广的菠萝品种,因此本试验以巴厘为母本。杂交授粉组合为 01(母本)×02(父本),01(母本)×03(父本),01(母本)×04(父本),01(母本)×05(父本),01(母本)×06(父本)。5 个杂交组合得到的杂交种子依次标为 S1、S2、S3、S4、S5。

晴天时,上午 8:00 左右,从父本植株上挑选盛开花朵的花粉,用镊子夹住花丝,将花药尽可能多的涂抹在母本花的柱头上,并对所授粉的花朵作上标记,以便以后取种。授粉后在该植株上挂牌,上面写明父母本、杂交授粉的日期、当天的气温、花朵上有无露水等。2004 年 4 月、6 月、8 月分别进行了授粉,共授粉 310 朵花;2005 年 4 月、6 月又作了授粉重复,共授粉 176 朵花。

1.2 杂交种子的组培试验

1.2.1 杂交种子的出芽 分别将杂交种子从成熟果中取出,用 dH₂O 洗净,75%的酒精表面消毒 1 min 左右,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 4 min,无菌水冲洗 3~5 次,先选择杂交种子数较多的 S1 分别接种到培养基 M1:MS 基本培养基,M2:1/2MS+6-BA0.5 mg/L + IBA1.0 mg/L 和 M3:MS+6-BA0.1 mg/L 中,试验最佳的出芽培养基。然后将 S1~S5 接种到最佳出芽培养基中,

比较 S1~S5 的出芽情况是否有差异。培养条件:温度为(26±1)℃,光照强度为 2 000,光照时间为 10 h/d。

1.2.2 杂交苗的增殖 种子出芽后,苗高 2 cm 左右时,以单株形式接种到增殖培养基 Z1:1/2MS+NAA0.5 mg/L, Z2:1/2MS+NAA1.0 mg/L, Z3:MS+6-BA2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, Z4:MS+6-BA2.0 mg/L +NAA 0.1 mg/L, Z5(即 M2):1/2MS+6-BA0.5 mg/L+ IBA1.0 mg/L 中,要求以芽出丛芽的方式进行增殖,确定最佳的增殖培养基。

1.2.3 杂交苗的生根和移栽 当增殖芽高 3 cm 左右时可分株接种到生根培养基 R1:1/2MS+NAA0.5 mg/L 和 R2:1/2MS+ IBA2.0 mg/L 中,进行生根试验。等杂交苗具有 4~6 条粗壮根时,打开瓶盖自然光下炼苗 2~3 d,然后取出苗,洗净根部的培养基,移栽到营养袋中,放置在盖有遮阳网的大棚里。袋中的基质为沙和土按 1:1 的比例,再混入适量的农家肥。1 周内注意保湿。

2 结果与分析

2.1 杂交授粉

杂交授粉后,一般经过 60~85 d,授粉果成熟。2004~2005 年共得到杂交种子 1 479 粒,各杂交组合得种子情况见表 1。

从表 1 可以看出,杂交组合 01×02 的平均得籽数最高,为每朵花 5.84 粒,而其他 4 个组合得籽数都较低,每朵花 0.7~1.4 粒。

根据不同时间、多次重复授粉的结果来分析,得籽数存在差异的主要原因是:01 属于皇后类菠萝品种,02 属于卡因类品种,而 03、04、05、06 都是杂交品种,其母本为 Rough,父本为卡因类品种。不同类型的菠萝品种杂交授粉后有较高的平均得籽数,如皇后类和卡因类;品系内杂交或杂交后代回交无籽或得种子数少。

表 1 杂交授粉得籽情况

Table 1 The situation of hybrid pollination in pineapple

杂交组合 Arrangement of hybridization	授粉的花朵数 / 朵 The number of flower pollinated	得到的杂交种子总数 / 粒 The number of hybrid seeds	每朵花平均得籽数 / 粒 The average seeds number of each flower	显著性 Significant difference	
				0.05	0.01
01×02	204	1190	5.84	a	A
01×03	88	72	0.82	d	D
01×04	96	130	1.35	b	B
01×05	37	41	1.11	c	C
01×06	61	46	0.75	d	D

2.2 杂交种子的组培

2.2.1 杂交种子在不同培养基中的出芽情况

杂交种子在 M1、M2、M3 中都能出芽,但出芽快慢及出芽方式有差异(表 2)。

表 2 杂交种子在不同培养基中的出芽情况

Table 2 The germination of hybrid seeds in different media

出芽培养基 The medium for germination	出芽方式 Way of germination	出芽所需时间/d The time requiring of germination
M1	杂交种子先出芽,后长根,并且都是以单芽的形式。	30~110
M2	绝大多数种子先形成愈伤组织再出丛芽;少数直接出丛芽(3株苗以上);极少数几株出单芽。	25~90
M3	少数种子直接出 1~3 个芽;多数种子形成愈伤组织后再出丛芽。	30~100

从表 2 可以看出,若需通过杂交种子直接得到单株苗,以减少经愈伤组织出芽引起的变异,可选培养基 M1,但直接得到的植株少;如需通过种子较快得到大量的扩繁苗,则选用 M2,因 M2 得到的丛芽数比 M3 多,且所需的出芽时间相对较短。

2.2.2 S1~S5 在 M2 中的出芽情况 将 S1~S5 的种子从授粉果取出后,在用蒸馏水洗的过程中,去掉飘在水面上的瘪种子,灭菌后接种到 M1 中,100 d 后分别统计其出芽率,结果见表 3。

表 3 S1~S5 在 M2 中的出芽情况

Table 3 The germination of S1~S5 in medium M2

不同组合得到的杂交种子 Hybrid seeds gained from different arrangement	S1	S2	S3	S4	S5
在 M1 中的出芽率/% The germination rate in medium M1	69.2	27.8	53.8	48.3	40

试验结果显示,S2 的出芽率最低,而 S1 的出芽率最高,为 S2 的 2.49 倍。这可能与授粉组合有关,杂交授粉亲和性高的组合得到的种子饱满度高些,瘪粒种子少,因而出芽率相对较高。

2.2.3 杂交苗的增殖 在以上 5 个增殖培养基中,Z5 即 M2 培养基具有明显的增殖优势,15 d 左右就能从芽基部直接出丛芽,30 d 后增殖倍数在 10 以上,比洪燕萍^[3]、郑加协等^[4]研究中的芽增殖倍数都高;而其它 4 个增殖培养基的增殖倍数都低于 3,因此,最佳增殖培养基为 M2。且 S1~S5 所出芽之间的增殖情况差异不大。直接以出丛芽的方式增殖,可在较短时间内得到大量

组培苗。

2.2.4 杂交苗的生根及移栽 杂交苗在两种生根培养基 R1、R2 中,10 d 左右都开始长根,但 R1 中杂交苗的根比 R2 中的粗壮,且在相同时间内 R1 中的根生长比 R2 中的快,R1 中每株 4~6 条根,多数根长有根毛;R2 中每株苗 3~5 条根,少数根有根毛;R1 中苗的生根率比 R2 中的略高,为 96%。综合考虑,最适生根培养基为 R1。杂交苗的移栽成活率在 90% 以上。

3 讨论

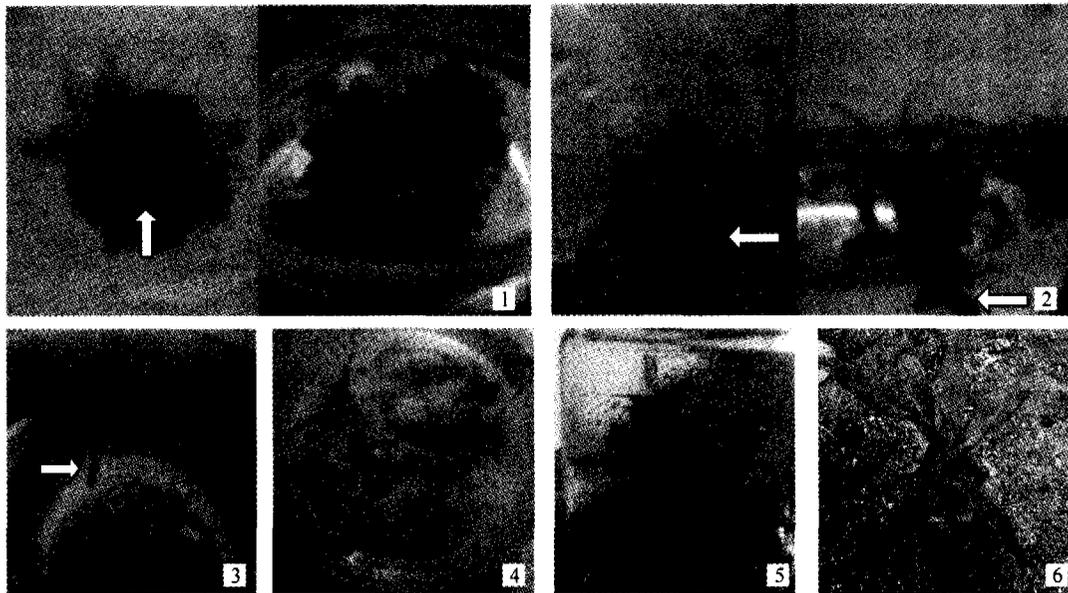
杂交亲本的选择是杂交授粉最主要的影响因素之一,这在很大程度上决定了杂交种子的有无和杂交种子的多少。另外,杂交授粉的部位,授粉时的气温等也会影响得种子数^[5]。一般来说,取花序中部的花杂交得种子数比上、下部要多,可能是因为中部花的营养状态较好;气温较高时授粉比气温较低时得种子数多,可能是因为较高温度下,花粉管的生长速度快,有利于较快进入子房完成授粉受精过程,如温度低,花粉管的生长速度慢,在它到达子房之前花粉可能已经丧失活力,导致授粉受精失败。授粉时应选择晴天的上午 8:00~11:00,露水干后或无露水的天气进行,因为这个时间段花粉的授粉受精能力较强,而有露水则会降低柱头对花粉的粘着力。

试验中还发现,杂交种子接种到培养基时若处于成熟(黑色或褐色)、饱满状态则出芽快,若种子处于未成熟(淡黄色)状态则出芽慢,因此应尽量等授粉果黄熟后再采摘。但菠萝果成熟时的香味会招来昆虫、蚂蚁等的叮咬,可采取半黄熟时摘回来,室内再放置一周左右,让种子充分成熟,或对授粉果套袋,等果子黄熟后再采摘。且在未出芽的杂交种子里,大多数都是瘪种子,尽管在种子水洗的过程中去掉了一些瘪粒种子,但仍为少数,因为部分瘪种子吸水膨胀后即沉到底部,很难去除干净。存在较多瘪粒杂交种子的原因有待于进一步的研究。

本研究采用 M2 作为杂交种子出芽培养基,希望通过组培苗的变异选出表现好的杂交后代。总的来说,在试验过程中,种子出芽时间还是比较长。吴昭平等^[6]通过对杂交种子进行切口处理可缩短形成愈伤组织的时间,从而缩短出芽时间。

另外,杂交苗移栽成活的关键在于:一要挑选根系生长好的健壮苗;二是移栽后 1 周内注意保

湿,但湿度又不能太大,菠萝是较耐旱植物,湿度太大易烂根,应是土壤中有点湿,但又不积水不板结为宜。



图版说明(箭头所指黑点为杂交种子)Explanation of Plates(The black dots what the arrowheads pointed to are hybrid seeds.)

1. 杂交种子形成愈伤组织再出芽 Hybrid seeds formed callus first and then differentiated shoots;
2. 杂交种子直接出丛芽 Hybrid seeds germinated with multiple shoots;
3. 杂交种子出单芽 Hybrid seeds germinated with single shoot;
4. 杂交苗生根 The plantlets in rooting medium;
5. 杂交苗的增殖 The proliferation of shoots;
6. 杂交苗移栽 The transplanted plant.

参考文献:

- [1] 华南农业大学主编. 果树栽培学各论(第二版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1989. 136.
- [2] 黎美华, 徐舜全, 刘岩, 等. 我国菠萝品种资源及利用[J]. 广东农业科学, 1993, 1: 20~23.
- [3] 洪燕萍, 林顺权, 林庆良, 等. 以花芽和冠芽切段为外植体的菠萝离体培养[J]. 福建农业学报, 2004, 19(3): 178~180.
- [4] 郑加协, 李华东, 甘勇辉. 蜜宝菠萝组织培养及低成本快繁技术研究[J]. 果树学报, 2005, 22(1): 27~30.
- [5] 河北省承德地区农业学校主编. 果树育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1979. 368.
- [6] 吴昭平, 卢丽芬. 菠萝杂交苗的组织培养[J]. 热带作物学报, 1987, 8(2): 61~65.