

基因型 HS 86-11 去雄穗细胞胚胎学观察

赵凤梧, 李慧敏, 李爱国

(河北省农林科学院旱作农业研究所, 衡水 053000)

摘要: 通过对基因型 HS 86-11 去雄穗细胞胚胎学观察发现, 该基因型具有兼性无融合生殖假配合特性, 表现在: (1) 有性生殖胚囊与无融合生殖胚囊同时存在, 属于兼性无融合生殖类型。(2) 在有性生殖胚囊中, 可观察到完整的八核胚囊。(3) 在无融合生殖胚囊中, 卵细胞、助细胞行单性生殖, 在未受精的情况下, 自主发育成胚。可观察到细胞分裂及幼胚发育的不同时期。(4) 在同一卵器中, 助细胞与助细胞、助细胞与卵细胞之间, 发育并不一致, 有时发现助细胞发育超前于卵细胞。(5) 极核细胞能自主融合成为一个次生大细胞, 但未观察到融合后的细胞进一步分化。(6) 在所有切片中, 尚未发现胚乳细胞形成。(7) 自主发育的卵细胞最大可发育到两核幼胚阶段, 进而发现胚囊解体。估计与不能形成正常胚乳细胞, 没有能量供应有关。

关键词: 小麦; 细胞胚胎学; 兼性无融合生殖; 单性生殖; 两核幼胚; 胚囊解体

中图分类号: Q253 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2000)增刊-0103-04

无融合生殖 (Apomixis), 一种较古老、保守的生殖方式, 曾一度被认为是进化的死胡同^[1]。但该生殖方式因未经过精卵受精结合而产生胚和种子, 其后代的遗传结构与母体相同, 具有通过种子进行克隆 (Clone) 繁殖的能力, 对缩短育种周期, 简化制种程序和降低杂交种成本都具有直接意义^[2~4], 引起遗传育种工作者的广泛关注, 又称之为生物学科新的增长点^[5]。目前, 已在被子植物的 37 个科 400 多种植物中开展工作^[5]。该项工作的关键是能否发现具有应用价值的无融合生殖基因^[8]并取得遗传学及细胞胚胎学依据^[1, 2, 4]。基因型 HS 86-11 是我们发现的一个怀疑为具有无融合生殖特性的材料, 通过对去雄穗子房观察, 发现了该基因型卵细胞的自主发育现象, 对于进一步揭示生殖机理, 提供了有价值的资料。

1 材料和方法

1.1 材料制备

对基因型 HS 86-11 田间选取发育良好的穗子人工剪颖去雄, 套袋隔离。

1.2 取样及固定

在开花后第 4 d 进行取样, 每天 1 次, 直至开花后第 15 d。将采集的去雄穗子, 用 FAA 固定液^[6]固定并保存。

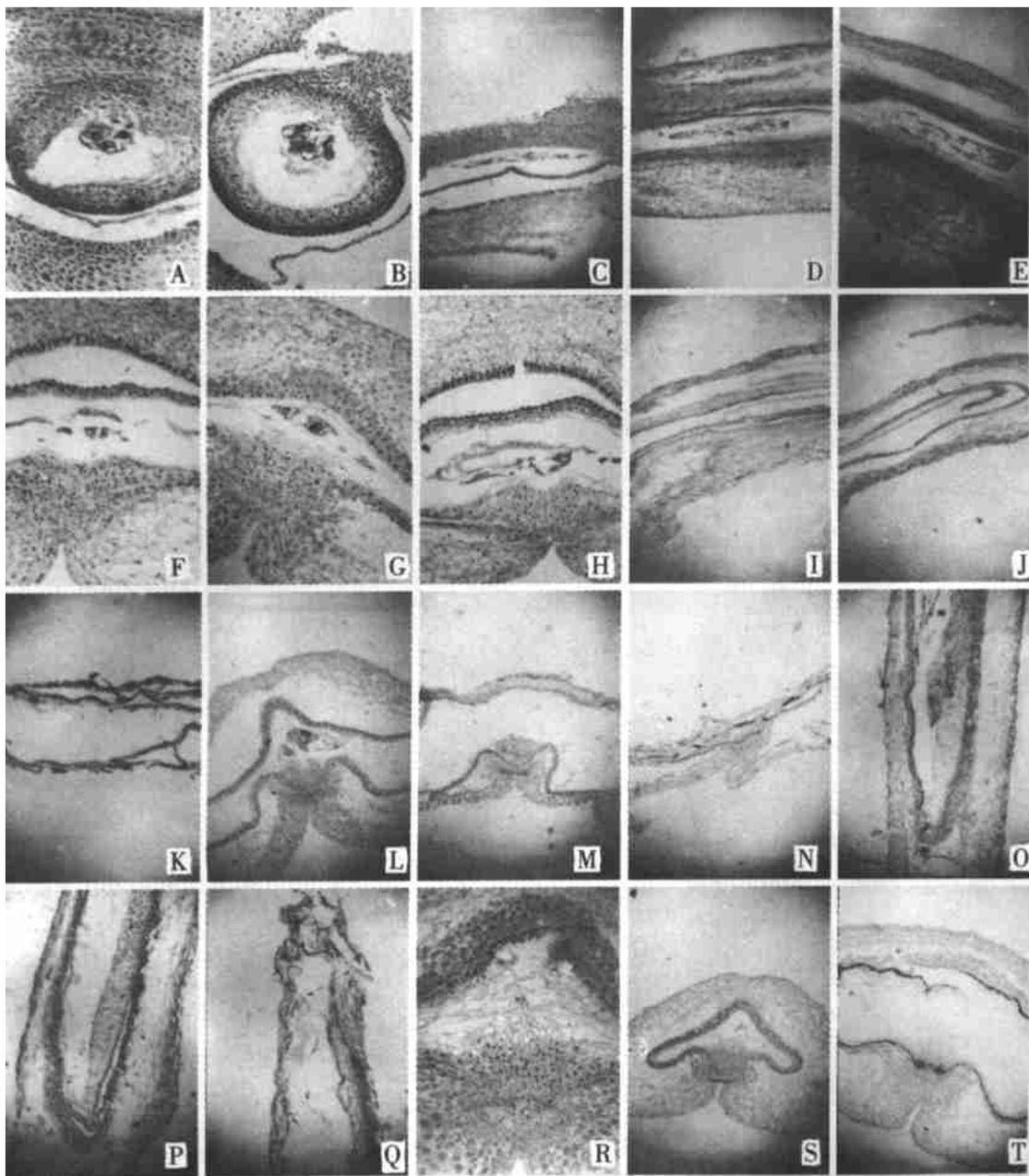
1.3 染色、制片及观察

将试材用爱氏苏木精整体染色法^[7]进行染色, 常规石蜡切片法^[6]进行切片, 切片厚度

收稿日期: 2000-07-20

基金项目: 国家自然科学基金(39870536); 河北省自然科学基金资助项目(399455)

作者简介: 赵凤梧(1958-), 男, 副研究员, 大学, 主要从事作物遗传育种方面的研究工作。



A 多胚囊, $\times 400$ 。B, C 同一胚囊不同切片, 分别示同一胚囊中极核细胞、助细胞及卵细胞, $\times 400$ 。D, E 同一切片的两个焦距, 示反足细胞, 静止期的极核细胞及分裂末期的卵细胞(两个子细胞, 箭头), $\times 400, \times 1000$ 。F ~ H 同一胚囊不同切片, 示反足细胞、极核细胞(空心箭头)、卵细胞及分裂末期的助细胞(箭头); F, G 同一切片不同焦距, $\times 400, \times 1000$ 。I ~ K 同一胚囊不同切片, 示分裂末期的卵细胞(箭头), 自主融合的极核细胞(空心箭头); I, J 同一切片不同焦距, $\times 400, \times 1000$ 。L 典型孤雌生殖完整胚囊 2 细胞幼胚(箭头), 自主融合的极核细胞(空心箭头)及尚未解体的反足细胞, $\times 400$ 。M 胚囊解体 $\times 400$ 。

图 1 去雄穗孤雌生殖现象

为 $10 \sim 15 \mu\text{m}$, Olympus CH₂ 显微镜下观察并照相。

2 结果

在所有观察小花中, 绝大部分含有一个子房, 偶尔发现一朵小花含有两个子房现象(图 1-A)。通过对正常小花进行连续切片观察, 发现有两种胚胎类型, 即有性生殖胚胎、无融合生殖胚胎在该基因型上同时存在。

2.1 有性生殖胚胎

基因型 HS 86-11 有正常的有性生殖胚胎, 内含正常有性生殖卵器(一个卵细胞和两个助细胞), 中央细胞有两个极核, 有多个反足细胞(图 1-B, C)。

2.2 无融合生殖胚胎

无融合生殖胚胎表现较复杂, 其共同特征是该基因型具有兼性无融合生殖假配合特性, 表现在: 卵细胞、助细胞, 在未受精的情况下, 行单性生殖, 能够自主发育成胚, 可观察到不同时期的细胞分裂相。其典型特征是两个极核或极核融合后的次生细胞及完整的(或尚未解体的)反足细胞清晰可见, 同正在发育中的卵细胞、助细胞或幼胚共同存在于同一胚囊中。

2.2.1 卵细胞的自主发育 在无融合生殖胚胎中, 卵细胞在未授粉的情况下, 行单性生殖。依不同发育时期, 可观察到分裂前期的卵细胞, 分裂末期的卵细胞(图 1-E, J), 最大可发现卵细胞发育成两核幼胚(图 1-L)。

2.2.2 助细胞的自主发育 在无融合生殖胚胎中, 除卵细胞自主发育外, 同时可以观察到整个卵器自主发育现象。在此类材料中, 有时发现卵细胞及两个助细胞之间, 在分化时期上不一致性, 助细胞发育有超前于卵细胞的现象(图 1-F, G)。助细胞已处于分裂末期, 而卵细胞仍处于分裂前期。

2.2.3 极核细胞自主融合 极核细胞能够自主融合, 形成一个次生大细胞(图 1-K, L), 体积较大, 但尚未观察到融合后的次生细胞进一步分化。

2.3 胚囊解体

在开花后的第 14 d, 可观察到解体胚囊。此时, 子房外部形态似乎正常, 但胚囊内含物已解体, 看不到任何核的轮廓(图 1-M)。

3 结论

通过对基因型 HS 86-11 去雄穗细胞胚胎学研究, 有性生殖与无融合生殖在不同小花间同时存在, 部分胚囊行有性生殖, 部分胚囊行无融合生殖, 肯定了该基因型属于兼性无融合生殖材料^[2,5]。在无融合生殖胚囊中, 卵细胞、助细胞行单性生殖, 在未受精的情况下, 均能自主发育。但究竟二者哪一个最终发育成胚, 目前尚不清楚, 有待进一步观察。自主发育的卵细胞, 最大观察到两核幼胚阶段, 尚不能发现幼胚的进一步分化, 进而发现胚囊解体。极核细胞能自主融合成为一个次生大细胞, 但融合后的细胞不能进一步分化成胚乳细胞。在所有子房切片中, 始终观察不到胚乳细胞, 表明授粉是必须的, 属于假授粉(pseudogamus)类型^[2-5]。该研究, 只是从去雄穗一个侧面, 进行了细胞胚胎学观察。至于全面揭示该基因无融合生殖机理, 尚需进行大量多方面的探讨, 本项工作, 正在进行之中。

参考文献:

- [1] Asker S. Progress in apomixis research[J]. *Hereditas*. 1979, 9(1): 231—240.
- [2] Hanna W W, Bashaw BC. Apomixis; its identification and use in plant breeding[J]. *Crop Sci*. 1974, 27: 1136—1139.
- [3] Bashaw E C. Apomixis and its application in crop improvement[A]. Fehr W R Hadley H H (ed). *Hybridization of crop plants*[M]. ASA and CSSA. 1980. 45—36.
- [4] Kojima A, Nagato Y. Pseudogamous embryogenesis and the degree of parthenogenesis in *Allium tuberosum* [J]. *Sex Plant Reprod*. 1992, 5: 79—85.
- [5] 蔡得田, 谢国生, 马平福. 水稻无融合生殖理论与实践[M]. 湖南: 湖南科学技术出版社, 1996.
- [6] 李正理. 植物制片技术[M]. 北京: 科学技术出版社, 1987.
- [7] 孙敬三, 钱迎倩. 植物细胞学研究方法[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [8] 袁隆平. 利用无融合生殖改良作物的潜力[J]. *杂交水稻*, 1989, (6): 1—3.

Cyto-embryological Study on Emasculated Florets of Genotype HS 86—11 in Wheat (*Triticum aestivum*)

ZHAO Feng-wu, LI Hui-min, LI Ai-guo

(Dryland Farming Research Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Hengshui 053000, China)

Abstract: Cyto-embryological observation from emasculated flowers of genotype HS 86—11 showed it behaved pseudogamous facultative apomictic reproductive type. It's characteristics were as follows. (1) Both sexual and apomictic embryo sacs were co-existed which belonged to facultative apomixis. (2) In the sexual embryological sac, the intact 8 nucleus were observed. (3) In the apomictic embryo sac, the egg cell and the synergies took the way of parthenogenesis and autonomously developed into young embryo, various phases have been observed during this process. (4) In the same apparatus the development among egg cell and synergies were not unanimous, and the phenomenon of synergies autonomously developed over egg cell has observed. (5) Polar nuclei could autofused to a big secondary cell, but further differentiation of the cell was not observed. (6) There was no endosperm nucleus formation from all the observed slides in this experiment. (7) The largest autonomously developed reproductive cell could reach the 2-celled young embryo stage, later the whole embryo sac broken down. It could be caused by both no normal endosperm formation and lack of energy.

Key words: Wheat; Cytoembryological; Facultative apomixis; Parthenogenesis; 2-celled young embryo; Embryo sac breakdown