

加工番茄小孢子发育时期与花器形态相关性研究

辛建华, 张永华, 苑育文

(新疆石河子大学农学院园艺系 832000)

摘 要: 适宜的小孢子发育时期是花药单倍体培养的关键,小孢子发育时期与花器形态的变化存在一定的相关性。通过对加工番茄小孢子发育时期的细胞学显微观察及与花蕾和花药发育的形态学研究,以确定小孢子发育时期与花蕾、花药形态变化的相关关系。结果表明:加工番茄小孢子发育时期与花器外部形态变化密切相关;当花药 3~6mm 时花粉处于单核期,6~7mm 时,为双核、三核期。依据花器发育的形态特征即可判断小孢子发育时期,通过花器的外部形态来确定小孢子发育阶段,为加工番茄花药培养和小孢子培养提供理论、实际依据。

关键词: 加工番茄;小孢子;花器形态

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2007)05—0015—03

加工番茄是茄科(Solanoideae)番茄属(*lycopersicon*)的栽培型亚种,适应范围广、产量高,富含维生素类和糖类,其加工产品有番茄酱、去皮番茄、番茄丁、番茄粉、番茄汁等。目前新疆番茄加工装备能力和产量已占全国

的 90%,成为我国最大的番茄酱加工基地,使中国成为继美国、意大利之后世界第三个番茄酱生产及出口大国。但是,由于加工番茄供应过于集中,导致加工企业在一时间段内原料严重过剩或严重不足,因此实现原料的周年均衡供应,成为人们关注的重点,而对加工番茄现有的品种进行改良是解决问题的根本途径。

单倍体育种是生物技术育种中十分有效的方法,具有广阔的应用前景。采取花药培养或小孢子培养,结合染色体加倍,就能在较短时间内获得一批纯系。目前陈远征在十字花科花药培养和小孢子培养中已获得成功,

第一作者简介: 辛建华(1968-),男,副教授,主要从事蔬菜抗病虫遗传育种研究。
通讯作者: 张永华(1980-),女,硕士研究生,主要从事加工番茄育种研究, E-mail: yonghua100@163.com。
收稿日期: 2007—01—07

酶活性的升高,加速了蛋白质的分解代谢过程,但较高浓度的处理,会降低种子的渗透调节能力,其蛋白质含量的早期动态变化趋势及相关酶活性的影响有待进一步研究。

参考文献:
[1] 刘兴坦.复方新诺明(SMZ-TMP)对大豆幼苗生长的影响[J].植物生

理学通讯,1998,34(2): 103-104.
[2] 赵士杰,许长成.植物中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通讯,1990,26(6): 55-57.
[3] 王晓峰,陈建勋.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002.
[4] 杨玲,袁月星,谢双琴.次适温下水杨酸浸种对水稻种子萌发的效应[J].植物生理学通讯,2001,18(1): 27-30.

Influence of Sulfamethoxazolum-trimetho-privum Treatment of Muskmelon Seeds on Germination and Vigor

WU Xu-hong, YIN Xian-quan
(life Science & Engineering College Qiqihaer University, Heilongjiang 161006)

Abstract: Muskmelon seeds was treated with different concentration of SMZ-TMP, and germination quality and some physiological characteristics were studied in this paper. The results showed that SMZ-TMP at lower concentration significantly promoted germination and growth of seed, some parameters, such as germination exponent, germination energy, germination rate, root and ratio shoot and biomass were increased, when concentration at 0.4mg/L SMZ-TMP showed the best, SMZ-TMP solutions of different concentrations could reduce the relative electrical conductivity and malondialde hyde (MDA)content But reduced degree of the relative electrical conductivity and MDA content were decreasing with the increasing of SMZ-TMP concentration.Seed protein and amino acid content were increased by SMZ-TMP soaking pretreatment.
Key words: Melon seed; Sulfamethoxazolum-trinetho-primum (SMZ-TMP); Germination; Seed vigor.

小孢子所处的发育时期是花药单倍体培养成败的一个关键因子, Cappadocia 和 SreeRamulu (1980)的试验表明只有从单核有丝分裂后期的小孢子才能诱导产生愈伤组织和胚性愈伤组织, 因此, 必须选择处于适宜的小孢子发育时期的花药进行接种, 才能提高花药培养的效率。利用花器官外部形态指标判断花粉粒的发育阶段, 可以节省取材所需时间, 为加工番茄花药培养和小孢子培养, 提高培养效率提供理论、实际依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品种为加工番茄品种“里格尔 87-5”, 于 2006 年 3 月于温室中种植。

1.2 试验方法

从可以观察到花序开始, 每天上午 11:00 采集花蕾, 用游标卡尺测量花蕾纵横径, 在解剖镜下观察并测量花药长度, 记录发育的形态特征。然后将花蕾放入卡诺固定液 3h, 用压碎法制片, 以醋酸洋红染色, 观察小孢子所处的发育时期。

2 结果与分析

2.1 孢子各发育阶段的细胞学特征

2.1.1 小孢子母细胞的形成 由雄蕊原基形成的幼小花药, 最外面是表皮, 内部是分裂活跃的细胞。表皮下 4 个角处的细胞分裂较快, 一个或几个细胞核变大变圆, 细胞也相应变大, 分化出孢原细胞。初生孢原细胞经过一次平周分裂形成两排次生孢原细胞, 质浓、核大。次生造孢细胞直接行使小孢子母细胞的功能, 小孢子母细胞之间由胞间连丝连接。细胞质染色很深。高尔基体、线粒体及各种形状的质体分布其中, 细胞质中还含有一些小液泡及短枝状核糖体。此时绒毡层细胞有较大的细胞核, 丰富的线粒体及内质网, 并且内质网分泌前乌氏体小泡。

2.1.2 四分体时期 番茄小孢子母细胞减数分裂过程所发生胞质分裂为同时型, 与一般典型情况是一致的。第 1 次减数分裂的前期很长, 经中期后期、末期后形成一双核细胞, 不形成分隔壁, 第 2 次减数分裂中, 2 个核同时边行分裂形成四核细胞, 分裂完成时在 4 个核间产生细胞壁, 并分隔成由胼胝质壁包围的 4 个细胞, 形成正四面体形的小孢子四分体, 4 个小孢子处于共同的胼胝质中。小孢子质膜外形成片状或管状结构的原外壁。

2.1.3 单核小孢子早期 小孢子从四分体中一释放, 外壁已形成, 显示出覆盖层、基粒棒和基足层的结构。单核小孢子被释放后渐呈圆形, 细胞核位于小孢子中央。细胞质较稠密, 内含线粒体及许多质体; 液泡系活跃, 有许多液泡。花粉内、外壁正在形成。此时绒毡层细胞线粒体丰富, 内质网极其发达, 分泌大量乌氏体, 促进花粉

壁的形成。

2.1.4 单核小孢子中后期 大液泡开始形成, 向一边挤压细胞质, 细胞质中有大量的线粒体、棒状质体及短枝状核糖体。小孢子的内、外壁正在形成, 此时绒毡层开始降解。小孢子靠边期, 细胞核被彻底挤压在一边, 细胞质被挤压成带状, 细胞质中有许多线粒体及质体分布, 绒毡层仍在继续降解, 内、外壁基本发育好。

2.1.5 双核期小孢子 可见一染色较淡的营养细胞和一染色较深的生殖细胞。生殖细胞位于对着萌发孔的方向。生殖细胞与营养细胞之间有一层壁分开, 在生殖细胞内有线粒体及枝状核糖体。此时绒毡层细胞已完全解体。

2.1.6 成熟花粉粒时期 小孢子进入成熟花粉粒时期淀粉粒充实, 细胞质染色较深。

2.2 小孢子发育时期与花蕾外部形态、花蕾大小、花药发育特征的相关性

2.2.1 小孢子发育时期与花蕾外部形态的相关性 在刚可见花蕾时, 整个花蕾由萼片包被, 萼片着生稠密绒毛, 花瓣、花药还未完全分化, 随着花蕾的不断长大, 花药也逐渐形成, 当小孢子发育到四分孢子时期时, 花蕾已经明显长大, 在单核期时, 花蕾长大更加明显, 绒毛开始稀疏, 小孢子发育到二、三时期时, 花蕾充分膨大, 十分饱满, 萼片微裂, 且已达到应有大小。

表 1 番茄小孢子发育时期与花蕾外部形态变化的关系

小孢子发育时期	花蕾形态
孢原细胞形成期	花蕾很小, 完全闭合, 被萼片包被, 呈绿色, 有稠密绒毛。
四分孢子时期	花蕾稍大, 仍完全闭合, 被萼片包被, 呈绿色
单核早、中期	花蕾已经明显长大, 花冠微低于萼片, 呈绿色; 花冠呈浅绿色, 发淡黄
单核靠边期	花蕾已经明显长大, 花冠微低于萼片, 呈绿色; 花冠呈浅绿色, 发淡黄
二、三核期	花蕾充分膨大, 花萼已经达到应有大小, 花萼微裂开, 呈黄绿色; 花冠微露于萼片外, 呈黄色, 绒毛稀疏
成熟花粉粒期	萼片、花冠全部开裂并向外侧反卷, 花冠深黄色, 花药和柱头外露。

2.2.2 小孢子发育时期与花蕾大小的相关性 番茄小孢子发育时期与花蕾的纵径、横径的大小及纵横径比存在一定的关系, 从花蕾可见至纵径长 2 ~ 3mm、横径 1.3 ~ 1.9mm 时, 花粉处于小孢子母细胞形成期, 花蕾纵横比较小, 花蕾纵径长 3 ~ 5mm、横径 2.0 ~ 2.7mm 时, 花粉处于四分孢子时期, 纵横径增长, 但基本保持原状, 花蕾纵径长 5 ~ 8mm、横径长 2.5 ~ 3.4mm 时花粉处于单核期, 此时花蕾纵径生长速度加快且超过横径的增长速度, 纵横比明显增大, 但从表 2 中可以看出花粉各时期的发育尤其是单核期各阶段时花蕾大小划分并不是太明显, 可能是因为花药发育受温度、湿度、光照等的影响而使得不同花蕾的花药、同花蕾内的各花药发育不同期。

但是, 由于温度、光照及栽培环境等条件的不同, 花

蕾的大小存在很大的差别。露地秋季的花蕾长度比夏季的花蕾平均要长 3~4mm, 温室内由于可适当调节温度、湿度等夏、秋季的花蕾长度差别要稍微小点, 秋季比夏季平均长 2~3mm。

表 2 番茄小孢子发育时期花蕾纵横径变化

发育时期	纵径(mm)	横径(mm)	纵径/横径
孢原细胞形成期	2~3	1.3~1.9	1.6
四分孢子时期	3~5	2.0~2.7	1.7
单核早、中期	5~7	2.5~3.0	2.2
单核靠边期	6~8	2.7~3.4	2.3
二、三核期	7~10	2.7~3.5	2.7

2.2.3 小孢子发育时期与花药大小及发育的相关性
花药初期发育比较慢, 从花芽开始分化到可以看到的萼片, 以及花瓣的发生大约需要 10d, 到能观察到初生的雄蕊又需要 3d 左右, 以后发育较快, 雄蕊发育到能见花粉母细胞仅需要 5d, 以后进行减数分裂形成花粉四分体直到花药四分体分离而形成花粉粒大约只需要 4d, 花粉粒经过约 3、4d 就可以形成完全成熟的花粉。

表 3 番茄小孢子发育时期与花药外部形态变化的关系

花药发育时期	花药长度(mm)	外部发育	花药颜色
孢原细胞形成期	1~2	各花药独立未形成花药筒	浅黄绿色, 晶莹透明, 易分离
四分孢子时期	2~3	花药独立, 未形成花药筒	淡黄绿色, 半透明
单核早、中期	3~4	花药基部独立, 上部结合	淡黄绿色, 易分离
单核靠边期	5~6	花药基部结合, 形成花药筒	黄绿色, 较易分离
二、三核期	6~7	形成完整的花药筒	淡黄色

在花药发育的过程中, 颜色方面变化由黄绿色偏绿、晶莹透明→淡黄绿色、半透明→淡黄色、易分离→淡黄色。四分孢子期花药呈淡黄绿色, 易剥离。花药也由独立的小个体长大成上部相互连接直至完整的花药筒。在花药的发育的全过程中体积也由小到大。

3 结论

番茄小孢子的发育时期与花蕾的大小、颜色、花药的发育之间存在密切的相关性, 我们可以根据它们之间的关系来确定花粉的发育时期。以花药的长短来确定发育时期比较可靠, 当花药长 2~3mm 时, 花粉处于四分孢子时期, 3~6mm 时, 为单核期, 6~7mm 时, 为双核、三核期, 这与王纪方、高秀云等的研究基本一致。在由花药确定花粉发育时期的同时, 可以以花蕾的外部形态作为辅助判断依据, 花蕾长 5~7mm 时, 花粉处于单核早、中期, 这与卫志明等的研究结果基本一致。花粉发育时期与花蕾、花药之间相关性的确定, 在以后的花粉培养中有着及其重要的意义。

参考文献:

[1] 杜永臣 严准. 番茄育种研究主要进展[M] . 园艺学报, 1999, 26(3): 161-169.
[2] 司军 李成琼. 番茄花药培养研究进展及展望[M] . 生物学杂志 2002, 18(1)4-6.
[3] 陈远征 陈玉华. 高频诱导花粉胚状体的研究[M] . 科学通报 1983 28(5): 300-303.
[4] 王连铮 王金陵. 大豆遗传育种学[M] . 北京: 科学出版社 1992: 409.
[5] 叶兴国 王边铮. 大豆花药愈伤组织的分化及其内源激素分析[J] . 作物学报, 1997, 23(5): 555-561.
[6] 陈国菊 程玉瑾. 番茄大、小孢子的发生及雌、雄配子体的发育[J] . 华南农业大学学报 1999, 20(2): 36-40.
[7] 胡适宜. 被子植物胚胎学第 2 版[M] . 北京: 高等教育出版社, 20102.
[8] 孙爱新 赵福. 瓜尔豆小孢子发育时期与花器形态相关性研究[J] . 石河子大学学报 2004 22(4): 103-106.
[9] 袁亦楠 朱德蔚. 番茄游离小孢子培养形成胚状体的初步研究[J] . 农业生物技术学报. 1997 7(1): 85-88.
[10] 卫志明. 农业科学集刊(第十集)[M] . 农作物原生质体培养专辑. 1995: 7, 12.

Study on Interrelation of Cytological Development Period of Processing Tomato Microspor and Morphology of Flower Organ

XIN Jian-hua ZHANG Yong-hua YUAN Yu-wen
(Department of Horticulture College of Agriculture, Shihezi University, Xinjiang 832000)

Abstract: Cytological development period of processing tomato microspor is propitious to anther culture. There is high consistence between cytological development period of tomato microspor and the shape, size of flower organ. The characteristic of cytological development period of tomato microspor and the shape, size of flower organ, the color of anther, the process of anther canister and their interrelation were investigated. Results showed when anther's length was 3~6mm, the pollen was in the tetrad period; when anther's length was 6~7mm, the pollen was in the binuclear and trinuclear stage; The result indicated that tomato cytological period of microspore can be decided by size, color, and shape of the anther, also by size, color, and shape of the bud.

Key words: Processing tomato; Microspore; Anther interrelation