

‘森田尼无核’葡萄胚发育及败育的细胞学特征

潘学军^{1,2}, 李顺雨^{1,2}, 张文娥², 刘崇怀³

(1. 贵州省果树学工程技术研究中心 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学 农学院 贵州 贵阳 550025; 3. 中国农业科学院 郑州果树研究所 河南 郑州 450009)

摘要:以种子败育型葡萄‘森田尼无核’为试材,系统研究其胚发育及败育的细胞学进程,分析胚乳败育与胚败育的关系。结果表明:种子败育型葡萄‘森田尼无核’与有核葡萄‘谢花红’的胚均能发育到球形胚阶段,随后‘森田尼无核’的胚逐渐败育,而‘谢花红’的胚珠继续发育为成熟种子。‘森田尼无核’的胚乳败育早于胚败育,其胚挽救适宜取材时期是花后 28 d。

关键词:森田尼无核; 胚败育; 胚乳败育; 细胞学

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)05-0041-03

无核大粒是当今世界葡萄育种的重要目标,也是深受消费者欢迎的重要商品性状^[1]。森田尼无核(Centen-

nia Seedless),又名无核白鸡心,是美国选育成功并在露地、设施栽培上主要推广的品种,该品种大粒、无核、肉脆、耐贮运、品质优良,是深受消费者喜爱的中熟无核葡萄品种,也是无核葡萄杂交育种的优良亲本^[2]。近年来,随着胚挽救技术的不断发展和完善,利用胚挽救获得无核葡萄杂种的成苗率也在不断地提高^[3],但由于不同品种或不同杂交组合胚败育的进程不同,胚挽救的效果存在很大差异^[4]。该试验对森田尼无核葡萄的胚乳及胚的发育过程进行细胞学观察,以期确定其胚败育时期,为利用森田尼无核作母本进行胚挽救育种提供理论依据。

第一作者简介:潘学军(1977-),男,山东费县人,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为果树种质资源与生物技术育种。E-mail: pxjun2050@yahoo.com.cn。

基金项目:贵州省自然科学基金资助项目(黔科合J字 2006-2043);贵州省果树学科科技创新人才团队建设资助项目[黔科合人才团队(2008)88007号]。

收稿日期:2010-12-22

藏,是一个未受工业污染和人为破坏的自然生态区。发展有机蔬菜的优势强,并符合出口蔬菜发展的大趋势。气候条件也有利于洋葱生长。另外农田耕地平坦宽广,灌溉渠系配套,有利于大面积使用机械化作业。

5.4 发展建议

德令哈地区发展脱水洋葱生产,在国内具有较强竞争优势,应充分利用区域资源优势,加强交流与合作,扶

持洋葱生产和加工龙头企业,实现规模化种植和产业化经营,拉长其产业链,以发展绿色或有机食品为目标。努力做好技术培训和典型推广示范工作,尽快完善高效栽培技术模式,使农民敢种和会种,并严格按照洋葱栽培技术模式,精耕细作,加强管理,提高产量和效益。在 3 a 试种过程中存在用工成本过大的问题,因此应在节本增效上下功夫,并研究和探讨洋葱机械化栽培技术。

Profit Analysis and Cultivation Demonstration of Introduction and Cultivation of Silver Skin Onion for Processing

DU Wan-rong, CHUN Ge-li, XU Shao-quan, DONG Yu-hong, JI Xue-hong
(Delingha Agricultural Technical Extension, Delingha, Qinghai 817000)

Abstract: Silver skin onion ‘B2006’ introduced from Shandong province was analyzed for its yield, quality and profit after trials of seedling cultivation in sunlight greenhouse and field planting, seedling transplanting and field test. The results showed that the yield could reach 2 400~3 500 kg with the growing density of 30 000~35 000 plants/667m², the content of bulb dry matter, crude protein, soluble sugar and vitamin C was respectively 21.34%, 0.88%, 12.40% and 10.26 mg/100g. Compared to the same variety produced in Shandong, the content of dry matter was 4~9 percentage point higher. The silver skin and pure flavor onion variety ‘B2006’, which was suitable for dehydration and with significant economic profits, was appropriate to be promoted in Delingha, Qaidam Basin.

Key words: silver skin onion; cultivation demonstration; Delingha

1 材料与方法

1.1 试验材料

以套袋自交的欧亚种品种‘森田尼无核’的果实为试材,有核葡萄‘谢花红’(Muscat Mathiasz Janosne)的为对照,取自国家果树种质郑州葡萄圃。试验于2007年4月至2009年4月在贵州大学果树科学实验室、中国农科院郑州果树所葡萄资源实验室进行。

1.2 试验方法

1.2.1 取材 选取生长健壮、无病虫害、长势基本一致的植株,花前1周摘心、抹副梢、修整花序、套袋、绑蔓、挂标签。花后1~58 d 每3 d 取1次样,具体方法为在取样植株上、中、下部的不同方位、不同果穗及果穗不同部位随机取发育正常的果实 每次200粒左右,贮于冰袋箱中,带回实验室。

1.2.2 固定与保存 每次从200粒果实中随机取15粒发育正常浆果,立即剥离胚珠(盛花后1~10 d 胚珠大小不易剥离,直接固定果实),卡诺氏液固定24 h 后用

无水乙醇冲洗2~3次,转入70%乙醇后保存于4℃冰箱中备用。

1.2.3 胚珠的选取与软化 将‘森田尼无核’中后期胚珠(19~58 d)及‘谢花红’的中期胚珠(19~28 d)浸入5% NaOH 中软化5~30 d,具体时间据胚珠被能否被解剖刀基本无阻力切断来判断;由于对照‘谢花红’后期(31~58 d)种皮硬化,需经5% NaOH 软化5 d 后剥掉种皮,再用100%无水乙醇和100%丙三醇的1:1混合液软化6 d 才可进行制片。

1.2.4 制片与拍照 选取固定前期材料或软化后的中后期材料,采用铁矾苏木精染色法制片^[3],略有改进:三级渗蜡与浸蜡温度调至60℃,各级时间为12 h;二级脱蜡,100% Xyl 加热至40℃,每级30 min。取制作完好的石蜡切片于奥林巴斯DP-70显微成像系统下,对供试材料胚、胚乳发育及败育的进程进行观察并拍照标记。图片观察参阅胡适宜^[9]、郝建平^[7]的图谱。

表1 ‘森田尼无核’胚发育及败育的细胞学进程

| 品种 | 休眠期 | 分裂始期 | 二分体胚 | 四分体胚 | 八分体胚 | 球形胚 | 心形胚 | 鱼雷形胚 | 子叶形胚 |
|---------|------|------|------|------|------|-------|-----|-------|-------|
| 森田尼无核/d | 1~10 | 13 | 19 | 22 | 25 | 28 | — | — | — |
| 谢花红/d | 1~7 | 10 | 22 | 25 | 28 | 31~40 | 43 | 46~49 | 52~58 |

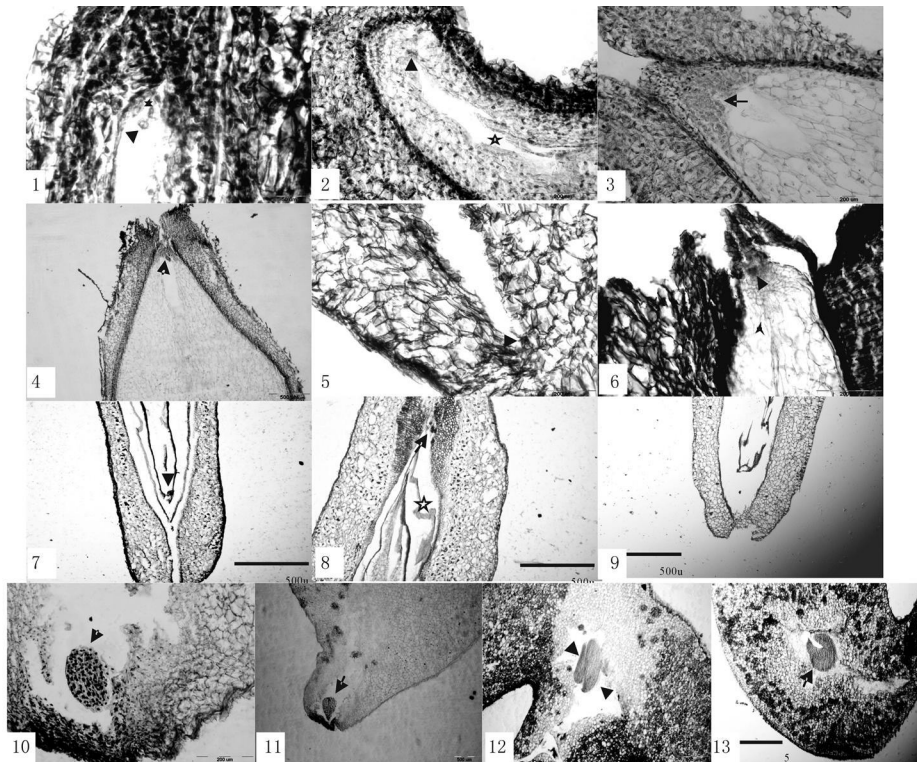


图1 森田尼无核胚发育及败育进程

注:1.森田尼无核花后4 d, 休眠合子及游离核; 2.森田尼无核花后13 d 合子分裂 胚乳细胞逐渐形成; 3.森田尼无核花后19 d 二分体胚; 4.森田尼无核花后22 d 四分体胚; 5.森田尼无核花后25 d, 八分体胚; 6.森田尼无核28 d, 松弛的小球形胚 正大量败育的胚乳细胞; 7.森田尼无核34 d 败育胚体; 8.森田尼无核40 d 胚及胚乳的残痕; 9.森田尼无核49 d, 空胚囊; 10.谢花红花后37 d, 球形胚; 11.谢花红花后43 d, 心形胚; 12.谢花红花后49 d 鱼雷形胚; 13.谢花红花后58 d, 子叶形胚。箭头所指为合子或胚 星号所指为胚乳细胞。

2 结果与分析

2.1 ‘森田尼无核’胚发育及败育进程的细胞学观察

‘森田尼无核’和对照‘谢花红’前期均经历休眠合子、多细胞原胚、球形胚阶段(表 1、图版 1), 随后, 森田尼无核葡萄胚逐渐松弛(花后 28 d)开始败育(图版 1-6), 此后胚大量败育解体(图版 1-7), 胚囊内仅余胚败育后的残痕(图版 1-8), 最后胚珠逐渐退化为空胚囊或皱缩的空胚囊(图版 1-9)。而‘谢花红’的胚继续发育为心形胚、鱼雷形胚、子叶形胚(图版 1~13), 其胚珠发育为成熟种子。由此可知, ‘森田尼无核’胚发育的始期为花后 28 d, 其胚大量败育的时期是花后 28~34 d。

2.2 ‘森田尼无核’胚乳发育及败育的细胞学观察

‘森田尼无核’胚乳发育与有核葡萄‘谢花红’相比, 前期均存在着休眠期、分裂始期、基本充满胚囊期(图版 1~4), 但此后‘森田尼无核’的胚乳细胞逐渐有所减少(花后 25 d), 呈败育松散的网状结构(花后 28 d), 而后仅存败育痕迹(图版 1~8), 最终不能形成成熟的胚乳, 其胚乳败育始期早于胚败育 3 d 左右。而对照品种‘谢花红’胚乳细胞充满胚囊后, 多数胚珠胚乳细胞趋向成熟胚乳组织固有的形态发育(剥离胚珠发现多数胚乳为正常的晶体状)。

表 2 ‘森田尼无核’胚乳发育及败育的细胞学进程

| 品种 | 休眠期 | 分裂始期 | 基本充满胚囊 | 继续发育的胚乳 | 趋向成熟的胚乳 |
|---------|-----|------|--------|---------|---------|
| 森田尼无核/d | 1~7 | 10 | 22 | — | — |
| 谢花红/d | 1 | 4 | 25~28 | 31~37 | 40~58 |

有研究表明, 胚的发育通常需要胚乳提供营养物质, 胚乳发育状态对胚的正常发育有着重要作用。该研究结果表明, ‘森田尼无核’胚乳败育与胚败育呈极显著正相关($y=0.9517x-0.7842$), 相关系数为 0.9970, 由此说明胚乳败育能最大程度上反映胚的败育, 并且是影响胚败育最重要的因素, 胚乳提前败育。

3 小结

‘森田尼无核’与有核葡萄‘谢花红’的胚均能发育到球形胚阶段, 随后‘森田尼无核’的胚逐渐败育, 而‘谢花红’的胚珠继续发育为成熟种子。

‘森田尼无核’的胚乳败育早于胚败育, 是引起胚败育的直接原因。

‘森田尼无核’胚挽救适宜取材时期是花后 28 d。

参考文献

- [1] 贺普超. 葡萄学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [2] 杨志彦, 李正勇, 潘建强等. 无核白鸡心葡萄优质栽培技术[J]. 新疆农业科技, 2004, 25(3): 27.
- [3] 潘学军. 无核抗病葡萄胚挽救技术体系优化及新品系培育[D]. 杨凌西北农林科技大学, 2005.
- [4] 唐冬梅, 王跃进, 赵荣华等. 无核葡萄胚挽救中影响胚发育的因子[J]. 中国农业科学, 2009, 42(7): 2449-2457.
- [5] 余炳生, 张仪. 生物学显微技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1989: 43-47.
- [6] 胡适宜. 被子植物胚胎学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1982: 177-185.
- [7] 郝建平, 金竹萍, 王永康等. 枣合子胚和体细胞胚发育过程的观察与比较[J]. 分子细胞生物学报, 2006, 39(5): 423-427.

Cytological Study on Embryo Development and Abortion in Stenospermocarpic Grapes

PAN Xue-jun^{1,2}, LI Shun-yu^{1,2}, ZHANG Wen-e², LIU Chong-huai³

(1. Guizhou Engineering Research Center for Fruit Crops Guiyang, Guizhou 550025; 2. Agriculture College of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025; 3. Zhengzhou Fruit Research Institute, China Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, Henan 450009)

Abstract: Stenospermocarpic grapes ‘Centennial Seedless’ was taken as material, its process of embryo development and abortion was researched, and the relation between embryo abortion and endosperm abortion was analyzed. The results showed that embryos of both ‘Centennial Seedless’ and seeded grapes cultivar ‘Muscat Mathiasz Janosne’ can develop to globular embryo stage, afterward the former embryo became abortion gradually, but the embryos of seeded grape continued to develop into hearted embryo and torpedo embryo, and developed to mature embryo at last. The endosperm abortion of ‘Centennial Seedless’ was earlier than its embryo abortion, the optimal stages of ‘Centennial Seedless’ used to embryo rescue were 28 d after florescence.

Key words: centennial seedless; embryo abortion; endosperm abortion; cytological