

小麦花粉管通道形成时期的研究

黄景华, 王广金, 孙 岩, 刁艳玲

(黑龙江省农科院作物育种所小麦辐射与生物技术研究室, 哈尔滨 150086)

摘要: 在 Leica 万能显微镜下观察了小麦花粉管的发育过程, 以及在小麦花期不同间隔时间去雄后调查结实率。研究表明, 小麦自然受粉 3 min 后花粉管的长度相当于花粉粒的直径, 10~20 min 时花粉管较长, 但尚未达到子房, 30 min 时在子房内可以观察到花粉管, 40 min 有些花粉管已接近胚囊, 且此时花粉管内胼胝质已经开始形成, 但数量较少, 60 min 后花粉管内胼胝质塞大量形成。

关键词: 小麦; 花粉管通道法; 基因枪法

中图分类号: S 512.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2004)02-0020-03

Studies on the Formation Date of Pollen Tube Way of Wheat

HUANG Jing-hua, WANG Guang-jin, SUN Yan, DIAO Yan-ling

(Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Observed the growth course of the wheat pollen tubes on leica multiple-microscope and investigated the seed setting rate in different treatment of stigmas excised after self-pollination. The result showed that the length of pollen tubes was equal to the diameter the pollen pellet 3 min after pollination and the length was longer in 10~20 min, but not entered into ovary. Pollen tubes could be checked on the upper part of ovary at 30 min. several pollen tubes approached the embryo 40 min after self-pollination and sedimentation of callus was found inside pollen tubes, but it was poor. There was much sedimentation in the pollen tubes after self-pollination.

The treatment of stigmas excised after-pollination showed that wheat started seed setting 20 min after self-pollination. And the seed setting tend to stable 40 min after self-pollination.

* 收稿日期: 2003-07-10

第一作者简介: 黄景华(1976-), 男, 黑龙江省鸡东县人, 实研, 从事小麦遗传育种研究。

产要求推广适宜机械化收获的品种, 因此, 选育适宜机械化收获的新品种是育种改良的重要目标之一。育种实践证明, 植株较高大, 秆强不倒伏, 底荚部位适中或偏高有利于机械化收获, 所以在选种过程中, 要特别注意这些性状。合丰 43 植株高 90~100 cm, 秆强不倒伏, 底荚部位较高, 适宜机械化收获, 是大豆大规模种植、机械化作业的理想品种。

6.3 关于亚有限型品种的适宜株高

黑龙江省 80 年代以后, 大豆种植面积 85% 以上为亚有限型品种, 是生产上主导类型, 因此, 在育种上特别注意亚有限型品种的选择。亚有限型品种由于生育特点决定植株高度, 对育成品种影响较大。育种经验表明, 亚有限型品种植株过高, 节间变长, 底荚部位提高, 植株上部重心偏移, 重心不稳, 容易

造成倒伏, 很难选育出优良品种。亚有限型品种最佳株高在 85~100 cm。目前生产上大面积推广的合丰 25、35、39、40、43、绥农 14、北丰 9、11、宝丰 7 号等品种株高均不超过 100 cm, 但都成为生产上的主栽品种, 因此, 在亚有限型品种选育上要特别注意植株高度问题。

参考文献:

- [1] 郭泰, 刘忠堂, 齐宁, 等. 大豆高产品种合丰 25 的选育及利用[J]. 大豆科学, 1997, 18(4): 73-74.
- [2] 郭泰, 刘忠堂, 齐宁, 等. 辐射选育大豆新品种合丰 36 的研究[J]. 作物研究, 1996, 10(2): 33-34.
- [3] 齐宁, 郭泰, 刘忠堂, 等. 早熟高油高产大豆新品种合丰 40 的选育[J]. 中国农学通报, 2000, 16(4): 67-68.
- [4] 郭泰, 刘忠堂, 齐宁, 等. 大豆灰斑病新抗源的选育及利用[J]. 作物品种资源, 1996, (1): 9-10.

Key words: wheat; pollen tube way; gene gun.

目前小麦基因转化领域最为常用的两种介导方法是基因枪法和花粉管通道法,其中花粉管通道法由于其操作简便和成本低廉,而受到广大育种者的青睐,虽然在国内通过花粉管通道法导入外源基因已有许多成功的例子,但对花粉管发育过程尚不完全了解,这就给导入外源基因时间的确定带来了一定的盲目性。本文对花粉管发育过程作了较系统的研究,为花粉管通道法用于外源基因导入提供了一定的依据。

1 材料和方法

1.1 材料

龙辐麦 10 号

1.2 方法

1.2.1 小麦花药散粉 1、2、3、5、10、20、30、40、60、120 min 后,分别拨离子房(不去雄),放入 FAA 固定液中固定 24 h,取出子房移入 70% 的酒精溶液中保存待用。取出固定的子房,分别用 60%、45%、20% 的酒精溶液,逐级脱水 2~3 h,最后放入蒸馏水中洗涤。拨取子房放入 1M 的 NaOH 中,在 55℃ 水浴中保温 50 min,倒掉 NaOH 溶液,用蒸馏水洗涤

两次,加入到 2% 磷酸钾配制的 1% 苯胺蓝染色液中,在 25℃ 恒温箱中染色 24 h。将软化的子房放在干净的载玻片上,加一滴甘油,盖上盖玻片,轻轻挤压,观察拍照。

1.2.2 小麦花药散粉 1、2、3、5、10、20、30、40、60、120 min 后剪掉柱头,调查结实率。

2 结果与分析

2.1 显微镜观察

通过显微镜观察发现,开花后 3 min 花粉粒萌发数量很少,即使萌发,其长度只为花粉粒直径大小(见图 1)。5~10 min 时花粉管逐步伸长,但没有呈现出趋于子房的方向性,更不足以达到子房(见图 2)。10~30 min 时,花粉管继续伸长生长,并且呈现一定的趋向子房的方向性,30 min 时在子房内可以观察到花粉管,这说明在小麦花药散粉 30 min 左右,花粉管可以伸长到子房内部,花粉管通道初步形成(见图 3),与此同时,花粉粒开始大量萎蔫,其内含物以基本消耗。40 min 时子房深处可以观察到花粉管束,其前端已绕到胚珠的珠孔处,进入胚珠,至此可以认定花粉管通道已经完全形成(见图 4)。



图 1 开花后 3 min 有少量花粉粒萌发

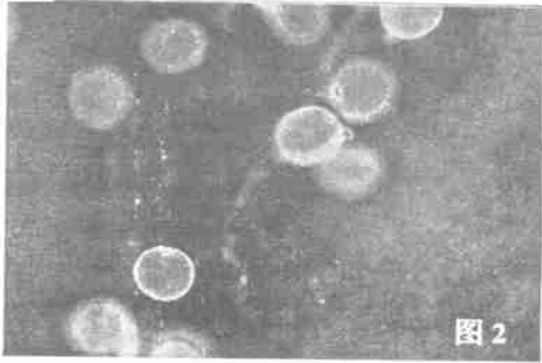


图 2 开花后 10 min 花粉管的伸长状况



图 3 开花后 30 min 子房内部可见花粉管



图 4 开花后 40 min 花粉管进入胚珠形成胼胝质

表 小麦散粉后不同间隔时间去雄后的结实数与结实率

项目	1 min	2 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	60 min	90 min	120 min
去雄数	31	26	36	35	40	35	70	66	94	75
结实数	0	0	0	1	3	11	40	46	69	54
结实率(%)	0	0	0	0	7.5	31.4	57.1	69.7	73.4	72.0

同时在花粉管的内部开始形成胼胝质,但数量较少,其作用是阻止花粉管内部物质倒流。60 min 时花粉管内部已形成胼胝质塞,花粉管内部物质已经基本停止向胚珠内流动,整个花粉管通道形成过程结束。

2.2 小麦花药散粉后调查

小麦花药散粉后不同时间间隔剪掉柱头调查结实数、结实率(见表),结果表明,在 1~30 min 时结实率随着时间的增加而增加,且幅度较大。在 30~60 min 时,结实率有所增加,但增加幅度不大。60~120 min 时,其结实率基本没有变化,呈现水平发展趋势(见图 5)。

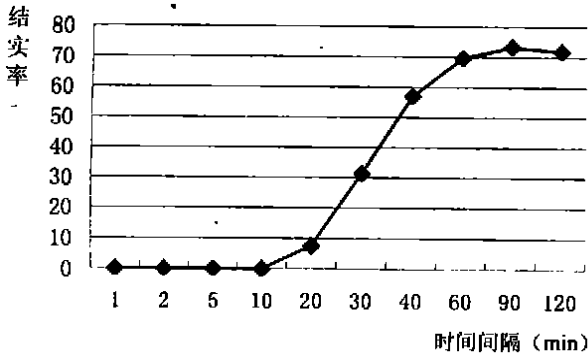


图 5 小麦散粉后不同间隔时间去雄后的结实率

3 结 论

小麦开花散粉后于不同间隔时间剪掉柱头,其结实率呈现规律变化,0~10 min 内不结实,这说明花粉管还没有达到子房。0~20 min 内,虽然有结实的子粒,但结实率较低,仅为 7.5%,这说明已有部分花粉管达到子房,由于花粉管生长到一定的长度后,

原来花粉粒中的内含物全部集中到花粉管前端(胡适宜,1982),为花粉管继续伸长提供营养,因此剪断柱头并不影响其生长,结实率低,说明没有形成足以使子房受精的花粉管束。

在 30 min 时的结实率继续升高,此时在显微镜下清楚的看到子房内部花粉管,表明小麦散粉后 30 min 已经形成了一定数量的花粉管束,即花粉管通道初步形成,40 min 时其结实率已基本达到最大值,在显微镜下可以清楚的看到已形成大量的花粉管束,并且已达到胚囊,可以说在小麦散粉后 40 min,花粉管通道已经形成,同时有少量胼胝质出现,60 min 时花粉管内形成大量的胼胝质,一般认为胼胝质的形成可阻碍管内营养物的流动。在 60~120 min 内结实率趋于平稳。我们可以把花粉管通道形成的整个过程分成三个时期,即前期散粉后 0~20 min,为花粉管萌发时期;中期散粉后 20~40 min,花粉管通道形成时期;后期散粉 40 min 后,为胼胝质形成时期。因此,利用花粉管通道法导入外源 DNA 或目的基因的适宜时期,应为小麦开花后 40~60 min。

参考文献:

- [1] 王广金. 葡聚糖酶基因、高分子量谷蛋白优质亚基基因转化小麦的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2002.
- [2] 周思军. 大豆抗虫基因转移及其转化系统优化研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2000.
- [3] 胡适宜. 被子植物胚胎学[M]. 北京:人民教育出版社,1982.
- [4] 周光宇. 植物分子育种的兴起与展望[M]. 北京:中国农业科技出版社,1993. 1-12.

欢迎订阅《黑龙江农业科学》

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性学术期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊、“中国期刊方阵”期刊。

《黑龙江农业科学》是一份全面反映黑龙江省农业特色、内容丰富、信息量大、资料性强、国内外公开发行的综合性期刊。本刊以高新实效为原则,以服务科研、服务生产为宗旨,把以黑龙江省为主,其它省区为辅的农业科研成果、科学技术、发展趋势以及新产品、新品种等及时地报道出去。让大家及时、准确地获得所需的科技信息。

本刊发行面广,读者群大:农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及各农业技术推广部门的科技人员、管理干部和广大农民群众等。

本刊为国际大十六开本,四封彩色,52 页,双月刊,刊号:ISSN 1002-2767, CN 23-1204/S, 邮发代号 14-61, 单月 10 日出版,每期定价 5.00 元,全年 30.00 元(含邮费)。全国发行,全国各地邮局(所)均可办理订阅手续。

欢迎业内人士投稿、刊登广告。

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部

电话:0451-86668373 邮政编码:150086 E-mail: nykx13579@sina.com