

# 胡麻花蕾大小与小孢子发育时期的相关性研究

陈琛, 罗俊杰, 王炜

(甘肃省农业科学院生物技术研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 为了解小孢子发育时期与花蕾外部形态特征的相互关系, 选用 2 个胡麻品种为试验材料, 用改良苯酚品红溶液压片法将 5 月中旬蕾长为 3~8 mm 的花蕾制片, 在光学显微镜下观察了小孢子发育情况, 以分析胡麻小孢子发育时期与花蕾大小之间的关系。结果表明, 当花蕾长度为 3~4 mm 时, 小孢子发育基本处在四分体时期; 4~5 mm 时, 小孢子大部分处于单核中期; 5~6 mm 时, 花药中存在各种发育时期的小孢子, 但以单核靠边期为主; 当蕾长 >6 mm 时, 小孢子开始大量成熟, 直至发育为成熟花粉。品种间有差异, 但差异较小, 基本趋势一致。

**关键词:** 胡麻; 小孢子; 花药培养; 染色

**中图分类号:** S565.9

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2018)07-0021-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2018.07.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2018.07.007)

## Relationship Between Length of Buds and Microspore Development Stages of *Linum usitatissimum* L.

CHEN Chen, LUO Junjie, WANG Wei

(Institute of Biotechnology, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** The study aimed at investigation of the relationship between microspore development period and the morphology of bud of *Linum usitatissimum* L. Two cultivars of *Linum usitatissimum* L. were used as experiment materials, and buds were picked in mid-May, with length between 3 ~ 8 mm. The development of microspore was observed under optical microscope, and the relationship between the microspore developmental stages of *Linum usitatissimum* and the size of buds was analyzed. The results showed that when the buds' length was 3~4 mm, the microspore development was basically in tetrad. When the buds' length was 4~5 mm, the microspores developed into mid-uninucleate. When the buds' length was 5~6 mm, various kinds of developmental stages of microspores could be observed, but most of them were late-uninucleate microspores. When the buds' length exceeded 6 mm, a big scale of microspores entered mature period and turned into pollens. The results in two cultivars were basically consistent, with tiny differences which were not significant.

**Key words:** *Linum usitatissimum* L.; Microspore; Anther culture; Staining

胡麻, 即油用亚麻, 属亚麻科、亚麻属一年生草本作物, 是中国西北、华北和黄土高原等旱作农业地区重要的油料作物之一。我国胡麻育种研究距今已有 60 余年历史, 所用的育种方法有杂交育种、组织培养、分子育种、物理 / 化学诱变育种等<sup>[1]</sup>。

花药培养作为单倍体育种中应用最成功的方法, 能大幅度缩短育种年限、提高育种效率、快速选育新品种。亚麻花药培养的研究始于 20 世纪

70 年代, 由我国首次培育出亚麻花粉植物<sup>[2]</sup>。植物花药培养过程中, 有很多因素对单倍体的诱导效果产生影响, 如基因型、花粉发育时期、胁迫处理、激素、培养基及培养条件等<sup>[3]</sup>, 只有发育到一定时期的花粉才对离体刺激最敏感, 并最终发育成完整植株。因此选择适宜的花粉发育时期对于花药培养成功与否有决定性的作用<sup>[4]</sup>。但是, 在大量的花药和小孢子培养过程中, 通过显微镜逐个观察取材是很困难和繁琐的。大量研究证明,

收稿日期: 2018-04-16

基金项目: 甘肃省农业科学院科技支撑项目 (2017GAAS35); 甘肃省农业科学院科技创新工程学科团队 (2015GAAS02); 国家特色油料作物产业技术体系胡麻兰州综合试验站(GARS-17-SYZ-6)。

作者简介: 陈琛 (1989—), 女, 甘肃临夏人, 研究实习员, 主要从事细胞工程育种研究工作。联系电话: (0)15002515709。Email: sjschench@gsagr.ac.cn。

通信作者: 王炜 (1975—), 男, 甘肃武山人, 助理研究员, 硕士, 主要从事细胞工程育种研究工作。联系电话: (0)15095439518。Email: sjswangwei@gsagr.ac.cn。

小孢子发育时期与花蕾外部形态密切相关。例如,油菜的花粉发育时期与花蕾长度有直接关系<sup>[5]</sup>;在红花槐中,花粉发育时期与花蕾纵径,花冠与花萼的长度比等存在相关性<sup>[6]</sup>;白芷的花粉发育时期可根据花药颜色和花瓣颜色直观判断<sup>[7]</sup>。通过花蕾外观形态(蕾长、花瓣颜色等)特征快速、准确地选择适宜的花培材料已被广泛运用在花药培养工作中。有关胡麻花蕾大小与小孢子发育时期关系的研究尚未见报道。我们通过对胡麻不同大小花蕾的花药染色压片,用显微镜观察计数并拍照统计,探讨花蕾外部形态特征与小孢子发育时期的关系,旨在为胡麻花药和小孢子培养提供依据,以提高取材的准确性和效率。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为胡麻杂交种陇亚杂1号、陇亚8号,均由甘肃省农业科学院生物技术研究所提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 采样与测量** 3月底将胡麻种子分别播种于大田和温室,田间管理采用常规方法<sup>[8]</sup>。从5月初胡麻花蕾期采样,每天9:00时~10:00时分别在大田和温室采集新鲜、大小不同的花蕾,放入自封口塑料袋内带回实验室。用游标卡尺测量花蕾长度,并按花蕾长度分为五个区间:3~4 mm, 4~5 mm, 5~6 mm, 6~7 mm, 7~8 mm。每个区间取5个花蕾,重复3次。用镊子轻轻剥去花蕾萼片和花瓣,取出花药并用游标卡尺测量长度,记录数据并拍照。

**1.2.2 压片** 将花药置于载玻片上,分别用醋酸洋红和改良苯酚品红两种染液染色,滴1滴染色液使其完全浸没,用玻璃棒挤压花药使小孢子散落出来,去掉花药残渣。染色1.5 min后盖上盖玻片,吸去多余染液,在显微镜下观察小孢子发育状况并拍照记录。染色液采用改良的苯酚品红溶液,显微镜为奥林巴斯BX-51。

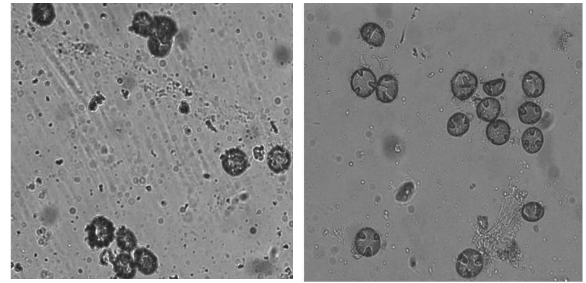
## 2 结果与分析

### 2.1 染色液选择及染色时间

染色液的选择和染色时间对于制片是否成功有重要影响,直接关系到小孢子镜检的效果。通过对比醋酸洋红和改良苯酚品红2种染液后(图1)得出,苯酚品红更适合胡麻游离小孢子染色观察。经醋酸洋红染色的标本背景较混杂,不易区分各发育时期的小孢子。

染色时间不宜过长,容易将所有细胞染成深色不易观察;染色的时间也不能过短,达不到染

色的效果。通过试验摸索,染色时间以1.5~2.0 min最为适宜。



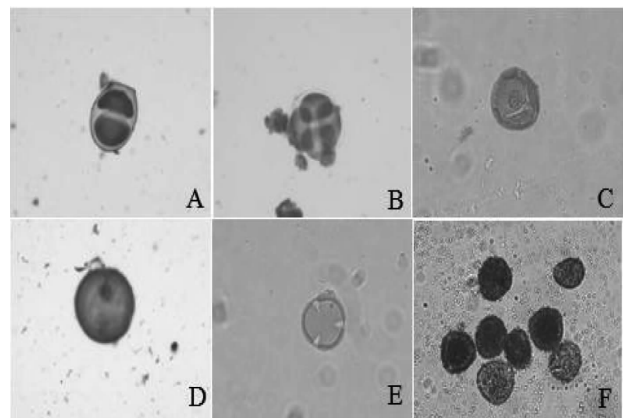
a 醋酸洋红染液

b 改良苯酚品红染液

图1 两种染色液制片效果对比

### 2.2 小孢子的发育特征

从图2可以看出,小孢子母细胞经过减数第一次分裂形成的二分体(见图A)。再经过减数第二次分裂形成四分体,呈“田”字形,在显微镜下可以看到小孢子被胼胝质包裹(见图B);之后小孢子从胼胝质中游离出来分散在花粉囊中,此时细胞核较大居中,即单核居中期(见图C);随着液泡的逐渐增大,细胞核慢慢向细胞边缘游移,同时萌发孔开始形成,直到细胞核移动至细胞边缘,小孢子具有三个萌发孔(见图D、图E);小孢子继续发育,细胞核经过2次有丝分裂后形成成熟花粉粒,此时在显微镜下花粉粒颜色变深,看不到细胞器,细胞膨大呈球形(见图F)。



A 是二分体时期; B 是四分体时期; C 是单核居中期; D、E 是单核靠边期; F 是成熟期。

图2 胡麻小孢子各发育阶段细胞学特征

### 2.3 小孢子各个发育时期与花蕾长度的关系

小孢子的发育时期分为四分体时期、单核早中期、单核靠边期、双核期、三核期5个时期。由于试验条件的限制,双核花粉期和三核花粉期在显微镜下难以区分,其内部特征不是特别明显,因此将这2个时期并归为小孢子发育后期。花药

长度、花药颜色及花瓣颜色也随小孢子不同发育时期而变化。

在显微镜下对胡麻杂交种陇亚杂1号不同时期的小孢子进行观察,结果见表1。可以看出,当花蕾长度在3~4 mm时,花蕾中以二分体和四分体小孢子为主,以及少部分散落分布的单核早中期小孢子,此时细胞质颜色浅,细胞核易见;随着花蕾的长度增加,四分体小孢子逐渐减少,单核早中期小孢子数量增多,并且出现少量单核靠边期小孢子。当花蕾长度在5~6 mm时,单核靠边期小孢子数量急剧增加达到峰值,单核早中期小孢子数量减少,同时有一定数量的小孢子进入成熟期。花蕾长度>6 mm时,单核早中期和靠边期小孢子减少至消失,视野内以成熟花粉粒为主。

从表2可以看出,陇亚8号小孢子发育时期与蕾长的关系趋势与陇亚杂1号基本一致,但也有部分差别。如四分体小孢子在陇亚杂1号中只在3~4 mm花蕾中大量存在,在4~5 mm的花蕾中鲜见,蕾长至5~6 mm时已经观察不到四分体小孢子。而在陇亚8号中蕾长4~5 mm的花蕾中还以四分体小孢子为主,花蕾长至5 mm之后四分体数量减少至消失。

从图3可以看出,陇亚杂1号各个时期的小孢子数量峰值都分别对应不同的蕾长区间,而陇亚8号中各时期小孢子与蕾长的对应关系不是很分明。

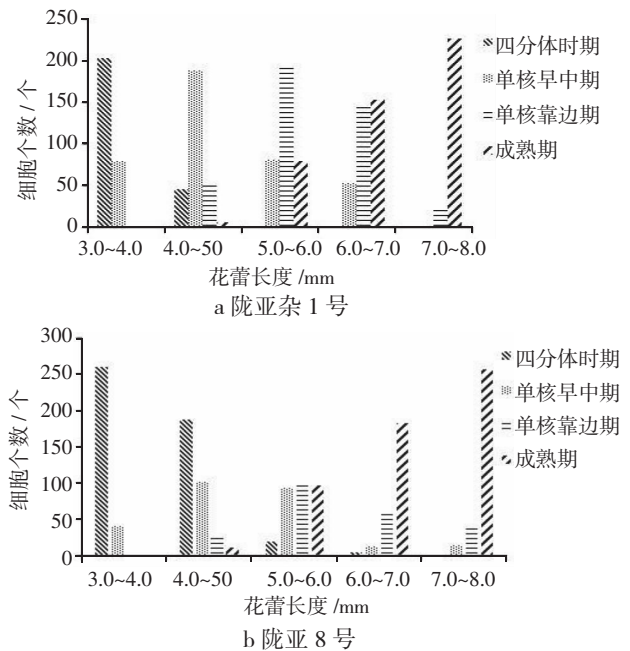


图3 小孢子各发育时期数量与蕾长对应关系

### 3 结论与讨论

研究表明,当花蕾长度为3~4 mm时,小孢子发育基本处在四分体时期;花蕾4~5 mm大小时,小孢子大部分处于单核中期;5~6 mm蕾长的花药中主要以单核靠边期为主;当蕾长>6 mm时小孢子开始大量成熟,直至发育为成熟花粉。花药长度和花瓣颜色也随小孢子发育而产生变化。2个品种间有差异,但差异不大,总体趋势一致。该结果有助于进行胡麻花药和小孢子培养的选蕾时提高取材的准确性和效率。

表1 陇亚杂1号小孢子发育时期数量与蕾长对应关系

花蕾长/mm	小孢子发育时期								花药长度/mm	花瓣颜色
	四分体时期		单核早中期		单核靠边期		发育后期			
	数量/个	比例/%	数量/个	比例/%	数量/个	比例/%	数量/个	比例/%		
3~4	203	71.7	80	28.3	0	0	0	0	0.9 ± 0.2	乳白至透明
4~5	46	15.7	188	64.2	53	18.1	6	2.0	1.3 ± 0.2	浅紫
5~6	0	0	81	23.0	191	54.3	80	22.7	1.7 ± 0.2	紫色
6~7	0	0	53	14.5	149	42.0	153	43.1	2.0 ± 0.1	深紫
7~8	0	0	0	0	26	10.3	226	89.7	2.1 ± 0.1	深紫

表2 陇亚8号小孢子发育时期数量与蕾长对应关系

花蕾长/mm	小孢子发育时期								花药长度/mm	花瓣颜色
	四分体时期		单核早中期		单核靠边期		发育后期			
	数量/个	比例/%	数量/个	比例/%	数量/个	比例/%	数量/个	比例/%		
3~4	259	86.7	40	13.3	0	0	0	0	0.9 ± 0.2	乳白至透明
4~5	186	58.3	100	31.3	23	7.2	10	3.1	1.2 ± 0.1	浅紫
5~6	19	6.2	92	30.0	101	32.9	95	30.9	1.6 ± 0.3	紫色
6~7	4	1.6	11	4.3	57	22.5	181	71.6	2.0 ± 0.1	深紫
7~8	0	0	13	4.3	36	11.8	256	83.9	2.1 ± 0.1	深紫

# 适宜阜阳地区栽培的食用型甘薯品种筛选

刘新亮, 范泽民

(安徽省阜阳市农业科学院, 安徽 阜阳 236065)

**摘要:** 以郑薯 20、龙薯 9 号、阜薯 Y6-7、徐薯 32、阜薯 28-6、苏薯 8 号为供试品种, 筛选适合阜阳地区种植的食用型甘薯品种。试验表明, 龙薯 9 号、郑薯 20、阜薯 Y6-7 综合表现较好, 建议将这 3 个品种和对照品种苏薯 8 号作为阜阳地区食用型甘薯主栽品种进行推广。

**关键词:** 甘薯; 品种; 食用型; 产量; 阜阳市

**中图分类号:** S531 **文献标志码:** A

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.07.008

**文章编号:** 1001-1463(2018)07-0024-03

新形势下, 农业的主要矛盾已由总量不足转变为结构性矛盾, 推进农业供给侧结构性改革, 加快转变农业发展方式, 是当前和今后一个时期农业农村经济的重要任务。甘薯的应用已从粮食和淀粉加工原料, 部分转变为保健食品, 目前我国鲜薯食用比重约占 30%, 年消费量 2 500 万 ~3 000 万 t<sup>[1]</sup>。

优良品种是甘薯增产的基础, 选育推广优质高产新品种已成为甘薯生产的迫切需求<sup>[2]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地点

试验地点为阜阳市农业科学院宁老庄基地试验田, 前茬为小麦。地势平坦, 排灌方便, 土层

**收稿日期:** 2018-03-19

**基金项目:** 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-11)。

**作者简介:** 刘新亮(1986—), 男, 安徽临泉人, 农艺师, 主要从事甘薯新品种选育及栽培研究。

**通信作者:** 范泽民(1959—), 男, 安徽太和人, 研究员, 主要从事薯类农作物研究。联系电话: (0)15055844662。

Email: 695363173@qq.com。

不同植物花药培养的最佳取材时期不同, 例如, 黄瓜和甘蓝的最佳培养时期是单核靠边期<sup>[9-10]</sup>, 而大豆的最佳培养时期是单核早、中期<sup>[11]</sup>。对大多数植物而言, 单核中晚期是花药和小孢子培养的最佳取材时期, 而四分体时期和成熟期的小孢子都很难诱导愈伤组织和胚状体。其原因有两种说法, 一是小孢子发育的单核中期至靠边期是胚胎形成的临界期, 未到或超过这一发育阶段就难以形成胚状体; 另一种说法认为, 小孢子发育过程中花药内的激素水平在不断改变, 花药成熟时激素水平不再适宜于它的成熟和分裂<sup>[12-13]</sup>。胡麻花药培养最佳取材时期还未见报道, 这需要通过实验实践进一步探索。

## 参考文献:

- [1] 伊六喜, 斯钦巴特尔, 贾霄云, 等. 胡麻种质资源、育种及遗传研究进展[J]. 中国麻业科学, 2017, 39(2): 81-87.
- [2] 宋淑敏, 孙洪涛, 傅卫东, 等. 亚麻花药培养研究的进展[J]. 中国麻作, 1996(4): 4-6.
- [3] 李守岭, 庄南生. 植物花药培养及其影响因素研究进展(综述)[J]. 亚热带植物科学, 2006(3): 76-80.
- [4] 谢从华, 柳俊. 植物细胞工程[M]. 北京: 高等教

育出版社, 2004.

- [5] 龚莉. 油菜蕾长与花粉发育时期的关系研究[J]. 安徽农学通报, 2008(17): 61-63.
- [6] 李允菲, 王仁涛, 袁存权, 等. 红花槐花药培养最佳取材时期及选蕾标准[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(8): 65-71.
- [7] 李静夜, 吴卫, 郭耀杰, 等. 白芷小孢子发育时期与花器形态相关性分析[J]. 中国农学通报, 2013, 29(36): 151-154.
- [8] 刘卫东, 李玉奇, 牛树君, 等. 播期对胡麻田间杂草发生及产量的影响[J]. 甘肃农业科技, 2015(9): 19-21.
- [9] 谢森, 秦丽颖, 潘俊松, 等. 黄瓜花器形态发生、小孢子发育与花药培养[J]. 西北植物学报, 2005(6): 1096-1100.
- [10] 汤青林, 宋明, 张钟灵. 甘蓝类蔬菜游离小孢子培养研究进展[J]. 西南农业学报, 2000(3): 98-103.
- [11] 尹光初, 朱之垠, 徐振, 等. 大豆花粉植株的诱导及其雄核发育的研究[J]. 大豆科学, 1982(1): 69-76.
- [12] 陈卫国, 刘克禄, 田斌, 等. 花蕾大小与授粉时间对辣椒坐果结实及种子质量的影响[J]. 甘肃农业科技, 2017(5): 14-17.
- [13] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1990: 481-482.

(本文责编: 杨杰)