

水稻(银坊)×高粱(亨加利)受精过程 及胚胎发育的细胞学观察

刘伯林 祖德明 陈善葆

(中国农业科学院 作物育种栽培研究所)

提 要

本研究以石蜡制片方法观察高粱花粉管伸入水稻胚囊后, 释放精子, 两性细胞融合过程及胚胎发育情况。观察表明: 高粱精子能够与水稻卵子融合形成合子。少数合子(占0.44%)进一步分裂, 发育成幼胚组织。本文对远缘杂交细胞融合的潜在价值, 促进杂种胚胎继续发育的方法及某些远缘杂种形成的机制进行了探讨。

通过远缘杂交创造新物种、改良现有物种是现代遗传育种工作所采用的方法之一。数十年来, 国内外育种工作者广泛进行种间、属间的有性杂交, 从后代中选育出了一批抗病、耐旱、耐寒、抗倒伏和适应性广的作物新类型、新品种。小黑麦^[1]、小偃麦^[2]、小冰麦和高粱稻等新作物品种已用于生产。祖德明等^[3]以水稻(*Oryza sativa* L.)品种银坊($2n=24$)和高粱(*Sorghum vulgare* pers.)品种亨加利($2n=20$)杂交, 后代中出现了变异显著、形态特殊的新类型。对杂种后代细胞学观察表明, 花粉母细胞减数分裂行为不正常, 体细胞染色体数目变化较大; $F_{1,2}$ 以后染色体数目趋于稳定, 与母本相同($2n=24$); 杂交后代随体染色体数目为2对, 比母本多一对, 与父本的数目相同; 后代染色体带型与母本的也有差异^[4]; 分析酯酶同功酶, 发现杂种中存在一条与父本高粱位置相同而母本水稻所没有的酶带^[5]; 对水稻、高粱和杂种后代进行DNA复性动力学分析, 证明有高粱的DNA片段进入杂种后代的DNA中^[6]。本试验重复上述这一水稻与高粱杂交组合, 进行了受精过程及胚胎发育的细胞学观察。

材 料 和 方 法

试验于1980~1982年在北京中国农科院作物所进行。研究材料以水稻品种银坊为母本, 高粱品种亨加利为父本。母本开花前人工剪颖去雄, 套袋隔离。授粉时取父本高粱的新鲜花粉授于水稻柱头上。授粉后15分钟至4小时内, 每穗取3~5朵颖花作雌蕊压片, 用乳酚棉兰染色, 在显微镜下观察高粱花粉在水稻柱头上的萌发情况, 选择花粉萌发良好的穗子备用。分别在授粉后0.5、1、2、5、8、12小时和1、2、3、4、5、6、8天从备用的穗上取颖花进行固定。固定液分别为卡诺氏、鲍因萨斯和纳瓦兴Ⅲ。同时固定水稻自交颖花, 作为对照。为验证去雄的彻底性, 留一些去雄不授粉的颖花作对照, 5天后固定。水稻×高粱及其不授粉对照每一处理各取100个以上子房制片, 水稻自交的每一处理取10个以上子房制片。用一般石蜡切片方法制成连续片, 厚度8微米。染色方法: (1)铁矾-苏木精, (2)孚尔根-固绿, (3)番红-亮绿。显微镜观察并进行统计分析, 取典型片作显微照像。

本文承林世成、张孔澍和邵启全先生审阅指正, 特此致谢。

结果及分析

一、高粱花粉在水稻柱头上萌发和花粉管生长

高粱花粉授到水稻柱头上20分钟以后开始萌发,并钻入柱头组织(图版-1)。1小时后到达柱头分枝基部。高粱的花粉管能在水稻的花柱中生长(图版-2),但生长速度比水稻自交的慢。在正常自交的情况下,授粉30~60分钟后花粉管即进入胚囊,而高粱花粉管到达胚囊至少需2小时,一般要经过10小时以上。

二、精卵融合及胚胎的早期发育

水稻银坊自交时,传粉后30分钟即观察到花粉管进入胚囊,大多数在传粉后1小时左右到达。传粉后3小时发生双受精,第12小时观察到分裂了几次的胚乳初生核和精、卵细胞融合为一体的合子。自交传粉后24小时,合子分裂2次。2天后幼胚发育到60多个细胞。胚乳比胚的发育早且快。

水稻与高粱杂交的受精情况与水稻自交有所不同。其受精的频率远低于水稻自交,而且发生的时间推迟。授高粱花粉后,同一时间不同子房个体之间受精和胚胎发育进程也参差不齐。授粉后2小时至2天都可以见到高粱花粉管进入水稻胚囊(图版-3)的情况。进入的花粉管随后释放两个精子(图版-4)。我们观察到,高粱精子呈长椭圆形颗粒状,水稻精子体积小略呈卵圆形,这与吴素萱等^[7]报道相同。将授粉后不同时间高粱精子进入水稻胚囊的情况列入表1。

表1 授粉后不同时间高粱精子进入水稻胚囊的情况

授粉后时间	2 小时	5 小时	10 小时	1 天	2 天	3 天	4 天	5 天	6 天	8 天	未 授 粉	
观察胚囊数	112	104	86	96	121	134	101	123	73	125	113	
含精子胚囊数	总数	3	3	4	5	14	10	7	9	4	1	0
	%	2.68	2.88	4.65	5.21	11.57	7.46	6.93	7.32	5.48	0.8	0

结果表明,授粉后2~24小时,进入胚囊的花粉管较少,2、3、4天较多,以2天的最多,有精子的胚囊占11.57%。但这一频率与自交的水稻相比要低得多。自交没有花粉管进入胚囊的情况极少。

高粱精子在水稻胚囊中释放后,有的在授粉后5小时与水稻卵子融合(图版-5)。在授粉后3天,观察到一个高粱精子与水稻卵核,另一个精子与两个极核在融合,但尚未完成融合过程。而水稻自花授粉后一般7小时即可完成精卵融合过程。可以看出,水稻与高粱的性细胞由于亲缘关系较远,融合所需要的时间较长,有的甚至不能融合。

高粱精子与水稻卵子融合后,杂种合子进一步发育。在观察的677个授过高粱花粉2~8天的水稻胚囊中,发现3个具有杂种幼胚(占0.44%)。其中一个是授粉后2天的,2个是授粉后6天的。在授粉后6天的胚囊中,观察到的杂种原胚组织,一个已发育到一平面具40个以上细胞(图版-6),另一个一平面具50个以上细胞(图版-7)。但都没有胚乳,胚囊空瘪,仅有零星细胞。杂种幼胚发育缓慢,而且细胞的形状与自交的不同,着色情况也不一样。杂种细胞多呈多角形、长方形、多边不规则形。大多数细胞着色深

(图版-8),既不能区分细胞核与细胞质又找不到分裂相。而自交的细胞着色正常,细胞核、质清晰可见(图版-9)。杂种细胞着色异常,说明内部代谢失常,这可能是由于双亲遗传物质代谢行为不协调,互相排斥所致。幼胚细胞代谢异常,加之缺乏提供幼胚生长所需营养的胚乳,大部分杂种胚发育不正常,甚至中途退化。仅有极少数幼胚能进一步发育。

讨 论

一、高粱花粉在水稻柱头上能够萌发,花粉管也有伸入胚囊的能力,与前人观察到水稻×狼尾草(*Pennisetum alopecuroides* L.)的情况类似,说明一些植物间尽管亲缘关系较远,但雌雄配子间仍有一定的亲合性。

水稻银坊×高粱亨加利的受精行为不正常。不易实现双受精,一般只出现精卵融合的单受精,而且频率低,没有正常胚乳提供给幼胚营养。看来,这是远缘杂交难以成功的原因之一。吴素萱、王敬驹^[7]和J. James^[11]等人也观察到类似的现象。高粱精子能够进入水稻胚囊并发生精卵融合,形成杂种幼胚,此为两亲本间性细胞融合的进一步试验研究(如试管受精等)提供了细胞学可行性证据。为适期获取杂种幼胚进行人工培养提供了参考时期。笔者认为,对授粉后4~8天发育较大的幼胚进行人工培养,有可能克服胚胎发育的营养障碍,提高杂种获得频率。通过杂种及其后代的自交、回交发生遗传重组,可将父本性状引入后代中。

二、高粱花粉管进入水稻胚囊,释放其内含物,参与受精,此为异源遗传物质结合创造了条件,因而有形成非精卵结合的杂种的机会。黄骏麒等用海岛棉DNA注射到自交后的陆地棉子房中,在后代中出现了海岛棉性状^[9]。牛满江等用大豆mRNA注射给自交4~5天后的水稻子房,在后代中检测出了大豆的蛋白质^[10]。高粱花粉管进入水稻胚囊类似于人工导入外源DNA,可能形成非精卵结合杂种,导致母本水稻产生显著变异。

通过授粉受精过程的观察,结合前人的研究,可以认为现今某些高粱稻的形成可能有两种途径:(1)精卵融合形成的杂种。高粱染色体逐代被排斥而丢失,剩下的DNA片段结合到水稻染色体上并表达。(2)DNA片段杂交的结果。高粱精子进入水稻胚囊,尔后其DNA被排斥、分解,幸存的片段结合到二倍体胚细胞上,得以表达。尽管形成这种杂种的机率相当低,但还是可能的。深入研究其机理,揭示其规律对遗传学的发展有着重大的意义。

参 考 文 献

- [1] 北京市农业科学研究所多倍体研究小组, 1974, 八倍体小黑麦的育种, 遗传学报, 1(1): 46~58。
- [2] 西北植物研究所远缘杂交组, 1977, 普通小麦与长穗偃麦草的杂交育种及其遗传分析, 遗传学报, 4(4): 283~293。
- [3] 祖德明、戴兰芳、陈善葆、宋宪斌、段晓岚, 1979, 水稻与高粱杂交后代的多样性和特殊表现, 6(4): 414~420。
- [4] 朱凤绥、傅骏华、李连城、陈善葆, 1983, 水稻×高粱远缘杂交的细胞学研究, 中国农业科学, (4): 26~29。
- [5] 周光宇、龚蓁蓁、王自芬, 1979, 远缘杂交的分子基础—DNA片段杂交假设的一个论证, 遗传学报, 6

- (4): 405~413。
- [6] 周光宇、曾以申、杨晚霞, 1980, 远缘杂交的分子基础—通过远缘杂交后, 高粱DNA序列确实重组入水稻, 遗传学报, 7(2): 119~122。
- [7] 吴素萱、王敬驹、孙敬三、蔡起贵, 1965, 水稻与高粱杂交的受精过程, 植物学报, 13(4): 297~307。
- [8] 王敬驹、孙敬三, 1981, 水稻 (*Oryza sativa* L.) × 狼尾草 (*Pennisetum* Sp.) 胚胎发育的细胞学观察, 23(2): 104~109。
- [9] 黄骏麒、钱思颖、刘桂玲、翁坚、曾以申、周光宇, 1981, 外源海岛棉DNA导致陆地棉性状的变异, 遗传学报, 8(1): 56~62。
- [10] 牛满江、张葆英、马诚、林忠平、张玉廉, 1980, 高等生物的遗传控制—从mRNA处理的水稻后代种子内鉴别出大豆蛋白质, 中国科学, (1): 67~69。
- [11] James, J. 1978, Maize × Sorghum, Maize Genetics Cooperation News Letter, 32(1): 12~13。

**CYTOLOGICAL OBSERVATION ON THE FERTILIZATION AND
EMBRYO DEVELOPMENT OF A CROSS BETWEEN
RICE (*ORYZA SATIVA*) AND SORGHUM (*SORGHUM VULGARE*)**

Liu Bolin Zu Deming Chen Shanbao

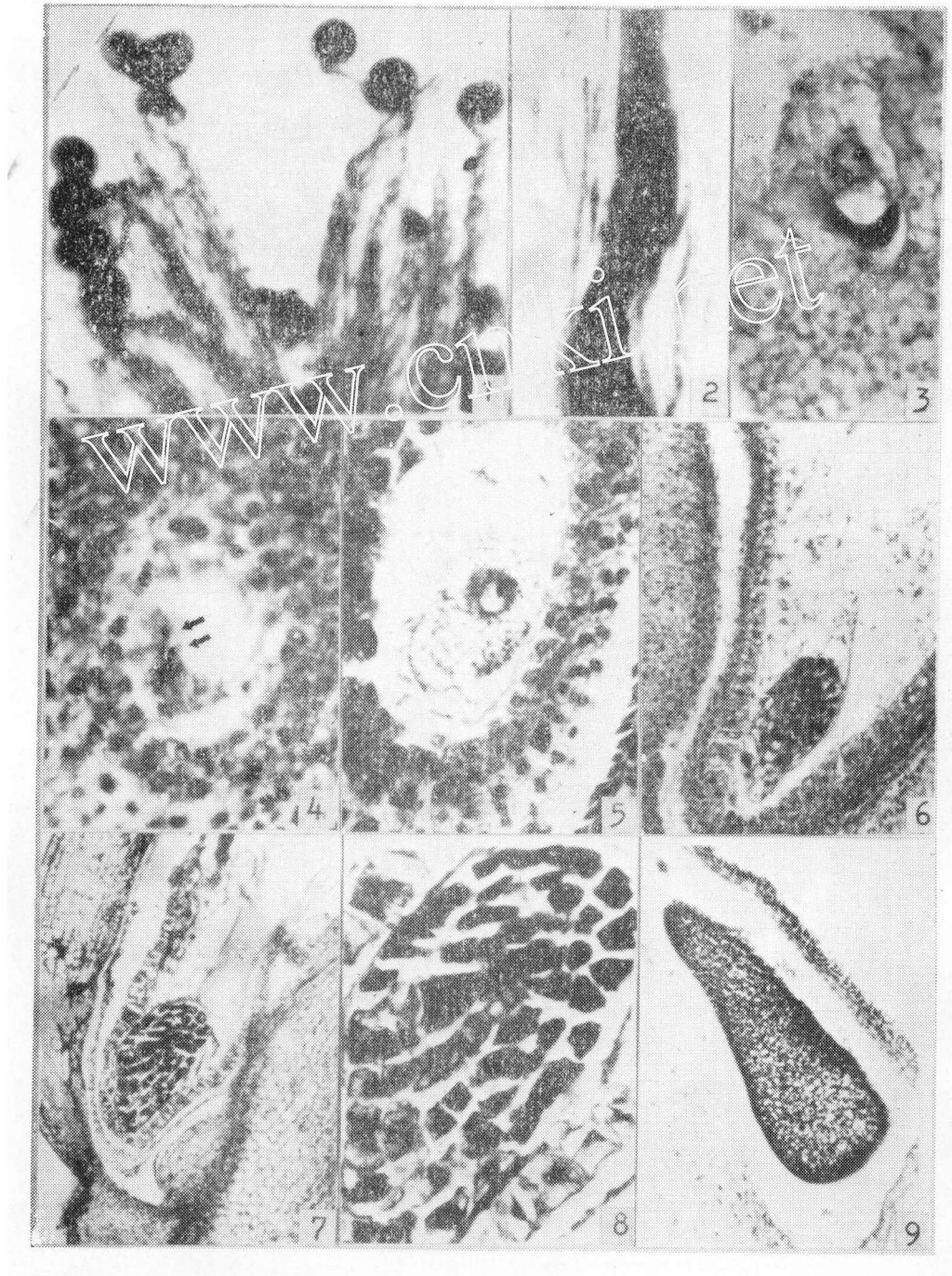
(*Institute of Crop Breeding and Cultivation, C.A.A.S.*)

ABSTRACT

The fertilization and embryo development of a cross between a rice (*Oryza sativa*) variety Yinfang and a Sorghum (*Sorghum vulgare*) variety Hengjiali were studied from 1980 through 1982 in Beijing. The results obtained indicated that the pollen tubes of sorghum could enter the tissue of style of rice, reach the embryo sac and release the sperms. Some sperms of sorghum fused with ova of rice and a few zygotes developed into embryo tissue. Methods to promote hybrid embryo development, the potential value of sexual-cell-fusion between distant plant and the possible mechanism of some wide crosses were also discussed.

《广东农业科学》1988年征订启事

本刊是中级综合性农业科学技术期刊。各地邮局开始办理1988年订阅手续, 敬请读者注意。代号: 46—43, 每期定价0.50元。



图版说明： 1. 高粱花粉在水稻柱头上萌发。2. 高粱花粉管在水稻花柱中生长。3. 进入水稻胚囊的高粱花粉管。4. 进入水稻胚囊的两个高粱精子（箭头处）。5. 精卵融合形成合子。6、7. 授粉后6天发育的杂种胚。8. 杂种胚细胞形状。9. 自交胚细胞形状。