

陆地棉子叶色素腺体延缓形成性状的表现与组织结构观察

童旭宏, 祝水金*, 季道藩

(浙江大学农业与生物技术学院农学系, 浙江杭州 310029)

摘要:用(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体作母本与陆地棉单节显性系 $1(Gl_2Gl_2gl_3gl_3)$ 进行杂交和连续回交, 育成了具有子叶色素腺体延缓形成特性的陆地棉种质系——ABH-0318。该种质的休眠种子观察不到色素腺体, 但解剖镜下可看到子叶边缘处有小量稀小的色素腺体。组织切片观察发现, ABH-0318 休眠种子内含有 3 种不同类型的色素腺体结构: (1) 具有色素腺雏形但无腺腔的色素腺体原, 约占总色素腺体或结构的 50% 左右; (2) 发育不全的色素腺体, 其体积较小, 腺腔内无内含物, 约占 25% 左右; (3) 正常色素腺体类型, 分布于子叶的边缘, 约占 25% 左右。种子萌发后, 第一类色素腺体结构中的细胞迅速溶解, 形成腺腔, 并迅速形成正常色素腺体, 而第二、三类色素腺体结构无明显的变化。

关键词:比克氏棉; 陆地棉; 色素腺体延缓形成; 组织解剖

中图分类号:S562.021 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2005)03-0137-04

The Expression and Anatomical Observation of the Delayed Pigment Gland Morphogenesis in an Upland Cotton Germplasm

TONG Xu-Hong, ZHU Shui-Jin*, JI Dao-Fan

(Department of Agronomy, College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: A new upland germplasm with the delayed gland morphogenesis trait of *G. bickii*, ABH-0318, was bred by crossing the amphidiploid of (*G. arboreum* × *G. bickii*) F_1 with an upland cotton germplasm 'Gl₂Gl₂gl₃gl₃' and backcrossing afterward continuously. There were a few pigment glands on the edges of the cotyledons in the dormant seeds under the anatomical lens, although they were invisible to the naked eyes. Anatomical structure observation shown that there were three kinds of pigment gland structures in the dormant seeds of ABH-0318: (1) gland primordiums as the structures of the dormant seeds in *G. bickii* only which had the pigment gland structure but no gland lumen inside, and these structures occupied as much as 50% of the total glands or gland structure in the seeds; (2) semideveloped pigment glands which were small in size and there were not any materials in the gland lumen, occupied about 25% of the total glands or gland structures; and (3) the normal pigment glands distributed on the edges of the cotyledons and about 25% of the totals. After the seed germination, the gland cells in the 1st kind of the gland structures were disintegrated to form the gland lumens and developed normal glands rapidly. However, there were no any significant changes in structure for the 2nd and 3rd kinds of glands in the cotyledons during the germination.

Key words: *G. bickii*; *G. hirsutum*; delayed pigment gland morphogenesis; anatomical structure

比克氏棉 (*Gossypium bickii* Prokh, G 染色 体组, $2n=26$) 等澳洲二倍体野生棉种具有一种

特殊的子叶色素腺体延缓形成性状,即种子无色素腺体,但种子萌发以后的子叶、下胚轴和植株其它器官和组织均出现含有棉酚的色素腺体^[1]。将该性状转育给栽培棉,育成具有种子无色素腺体、植株有色素腺体性状的陆地棉品种,则可以结合无色素腺体棉和有色素腺体棉的优点,在不降低对棉花病虫害抗逆性的前提下,生产出无色素腺体、棉酚含量极低的种子供综合利用,提高植棉的经济效益。用亚洲棉(*G. arboreum*, A染色体组, $2n=26$)与比克氏棉进行杂交,结合染色体加倍技术,获得带有比克氏棉子叶色素腺体延缓形成性状的(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体^[2]。我们以该双二倍体为供体,与陆地棉单节显性系1($G_1G_2g_1g_3g_3$)进行种间杂交和连续回交,在 BC_3 获得了具有比克氏棉子叶色素腺体延缓形成性状的可育陆地棉种质系——ABH-0318。本文主要报道该种质系色素腺体表现和组织结构特点,为种子低酚棉新品种选育提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

通过远缘杂交转育而成的陆地棉种质系——ABH-0318,以及陆地棉标准TM-1和野生比克氏棉,其中比克氏棉由中国农业科学院棉花研究所海南野生棉种植园提供。

1.2 试验方法

1.2.1 色素腺体性状观察。经硫酸脱绒的种子用30℃温水浸种24 h,种子吸胀后剥去种壳,在体视显微镜下观察种仁的色素腺体大小和密度。种子萌发后每12 h观察子叶色素腺体的发育动

态过程。植株各器官的色素腺体密度和大小用体视显微镜计数和测量,其中色素腺体密度用4×20倍摄影取景框为计数单位,再换算成单位面积的色素腺体数(取景框内的色素腺体数/0.52×100=色素腺体数/cm²);色素腺体大小用测微尺在显微镜下直接测量色素腺体的直径。

1.2.2 棉酚含量测定。取同龄样品(种仁、子叶、叶片、花瓣、铃壳等)于95℃预烘3 min,45℃下烘至恒重,磨碎过0.42 mm筛备用。用苯胺比色法^[3]测定各样品中的棉酚含量。

1.2.3 色素腺体的组织切片。取硫酸脱绒的种子在30℃下浸泡12 h后剥去种皮,在30℃滤纸上进行发芽。取吸胀但未萌发的种胚,以及分别萌发6 h、12 h、24 h、48 h、60 h、72 h和84 h的子叶固定于FAA固定液中备用。按石蜡切片方法^[4]进行脱水、包埋、切片和染色。

2 结果与分析

2.1 ABH-0318种子和植株色素腺体表现

1993年,在河南安阳用(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体做母本与 $G_1G_2g_1g_3g_3$ 进行杂交,获得带比克氏棉子叶色素腺体延缓形成性状的[(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体×陆地棉] F_1 种间三元杂种。用 $G_1G_2g_1g_3g_3$ 作轮回亲本对三种杂种进行连续回交,于2002年育成具有比克氏棉子叶色素腺体延缓形成性状的陆地棉种质系——ABH0318。

ABH-0318的休眠种子肉眼观察不到色素腺体,但种子吸胀后在体视显微镜下可观察到子叶边缘有少量稀少的色素腺体,其直径约为陆地棉

表1 ABH-0318植株主要器官的植株的色素腺体密度表现

Table 1 The expression of the glands on the main parts of the ABH-0318 plant

材 料		种仁	子叶	叶片	苞叶	萼片	花瓣	铃壳
ABH-0318	GD	56.6±21.3	107.5±30.3	137.7±12.4	141.0±16.7	172.3±17.1	84.0±18.3	81.0±14.3
	GS	31±3.2	106±11.4	138±15.4	155±13.1	187±14.3	81±7.4	166±11.9
比克氏棉 <i>G. bickii</i>	GD	0	104.0±8.9	200.4±26.7	211.0±18.3	195.6±13.6	0	171.3±16.4
	GS	/	97±8.5	245±22.6	289±26.7	207±20.0	/	241±21.4
(亚×比) F_1 双二倍体	GD	55.8±23.2	115.5±12.7	157.0±15.8	139.6±10.2	162.8±16.1	87.0±10.4	99.0±13.0
	GS	30±2.7	110±10.8	180±17.6	250±22.7	190±14.2	81±8.4	290±22.1
单节显性系1 $G_1G_2g_1g_3g_3$	GD	187.2±22.8	101.5±21.4	135.3±11.4	144.0±14.5	158.2±15.8	81.0±13.4	101.0±14.6
	GS	132±10.2	102±10.5	157±14.4	150±12.7	182±16.1	83±7.6	123±11.4
TM-1	GD	222.7±25.7	184.6±17.4	60.0±7.2	81.3±11.4	126.0±13.8	112.0±11.3	89.4±8.3
	GS	135±9.4	129±13.0	146±15.3	215±16.7	188±16.4	105±9.7	176±17.1

注:GD:色素腺体密度(个·cm⁻²);GS:色素腺体大小(直径:μm)

色素腺体的 1/3 左右。种子萌发后,其子叶及植株各主要器官均密布大量的色素腺体。棉酚含量测定结果表明,ABH-0318 种仁的棉酚含量为 0.0175%,大大低低于一般有色素腺体陆地棉品种,并低于国际卫生组织和世界粮农组织规定的食用标准,为典型的低酚棉种子;而种子萌发后的子叶及植株其它主要器官的棉酚含量为 0.1274%~0.1600%,与一般有色素腺体棉相当,甚至高于有色素腺体棉,为有酚棉类型。

色素腺体调查结果(表 1)表明,ABH-0318 种仁的色素腺体密度为每平方厘米 55.6 个,约为其轮回亲本($G_2G_2g_3g_3$)和陆地棉标准系(TM-1)1/4~1/3,并与其供体亲本—(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体相似;平均色素腺体直径为 31 μ m,不到 TM-1 和 $G_2G_2g_3g_3$ 的 1/4,与(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体相似。野生比克氏棉种仁完全无色素腺体。种子萌发后 4 d 后,ABH-0318 子叶上色素腺体密度增至 107.6 个,色素腺体直径增至 106 μ m,与 $G_2G_2g_3g_3$ 、比克氏棉和与(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体相似,但比 TM-1 稀少。ABH0318 植株的色素腺体表现与种子萌发后 4 d 的子叶相似,其叶片、苞叶和萼片上中色素腺体密度较 TM-1 略密,但体积略小;花瓣的色素腺体比 TM-1 明显稀小;铃壳的色素腺体表现与 TM-1 相似。与其亲本相比,ABH-0318 植株各器官的色素腺体密度和大小不如野生比克氏棉(花瓣除外),但与(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体和轮回亲本相似。由此可见,ABH-0318 植株为有色腺体类型,尽管不同器官的色素腺体表现略有差异。

2.2 AHB-0318 色素腺体组织解剖观察

2.2.1 休眠种子的组织结构。

尽管 ABH-0318 休眠种子只在子叶边缘处有少量稀小的色素腺体,子叶大部分组织肉眼观察不到色素腺体。但在光学显微镜下,几乎所有组织中均能看到结构不同的色素腺体或类似色素腺体的结构。根据其组织结构特点,ABH-0318 种仁的色素腺体可分为 3 种类型:(1)具有色素腺体锥形结构的色素腺体原,由一团染色较深、原生质密度较大、细胞核明显的特异细胞组成。色素腺体原的平均密度为每平方厘米 120.6 个;(2)发育不全的色素腺体,其体积较小,腺腔内无内含物。这类色素腺体的密度平均为 55.7 个;(3)正常色素腺体类型,分布于子叶的边缘,其平均密度为 56.6 个。第一类色

素腺体结构与野生比克氏棉种仁的色素腺体原结构相同,种子萌发后会发育成正常的色素腺体,第三类色素腺体与一般陆地棉基本相同,而第二类色素腺体结构则是该种质所特有的色素腺体结构(图版 1~5)。三类色素腺体相加,ABH-0318 种仁的色素腺体密度为每平方厘米 232.9 个,略高于 TM-1。因此,ABH-0318 的种子不是简单的无色素腺体或少色素腺体类型,它包含有不同的色素腺体类型,其中大多为种子萌发后才完成其形态结构的色素腺体原。

2.2.2 种子萌发过程中色素腺体的形态建成。

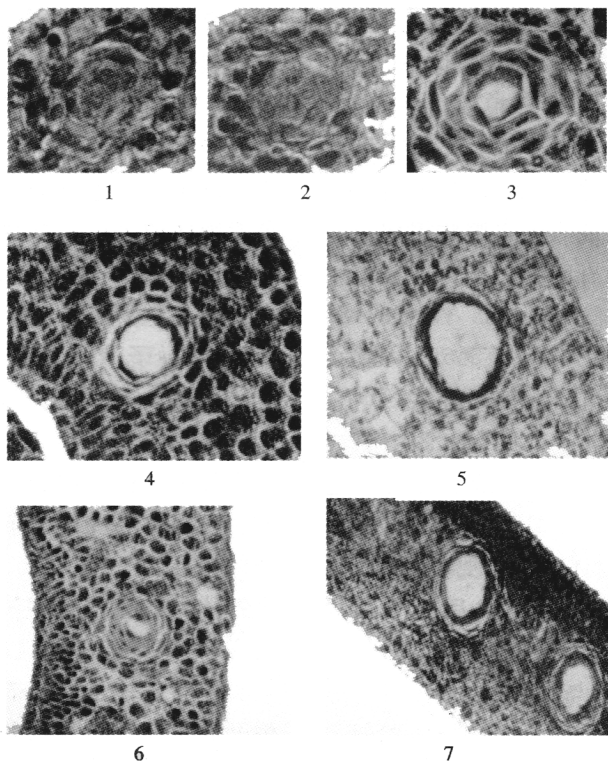
对 ABH-0318 在种子萌发过程中的连续切片观察结果表明,种子萌动后 4 h 左右,子叶中第一类色素腺体结构中的色素腺体细胞就开始解体,形成色素腺体腔和部份未完全解体的色素腺体细胞残体(图版 6);萌动 16 h 左右,其色素腺体细胞完全解体,形成正常的色素腺体腔结构,但此时还无内含物,肉眼还不能观察到。与此同时,子叶中第二类色素腺体虽其形态未有明显的变化,但腔体中开始出现一些内含物,使其更易观察。种子萌 24 h 左右,几乎所有的色素腺体均有腔体结构,其内出现有色的内含物,肉眼可以清楚地观察(图版 7)。此外,此时在子叶和下胚轴的连接处可观察到一些新生的色素腺体。这类色素腺体的细胞分裂成一团特异细胞群后即开始解体并形成色素腺体腔,与一般有色素腺体陆地棉种子发育过程中的色素腺体形态建成相似。因此,ABH-0318 种子萌发过程中的色素腺体形态建成较复杂,其中包含有休眠种子的色素腺体原经色素腺体细胞解体而形成的色素腺体、无内含物的色素腺体填充,以及幼苗生长过程中新形成的色素腺体等。

3 结论与讨论

包括比克氏棉在内的澳洲野生棉种特有的子叶色素腺体延缓形成性状在棉花育种中具有重要的意义。我们利用(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体^[2]与陆地棉的可杂交性,以及比克氏棉与陆地棉色素腺体基因之间的基因互作特点^[5],采用 $G_2G_2g_3g_3$ 作为陆地棉亲本与(亚洲棉×比克氏棉) F_1 双二倍体进行杂交和连续回交,结合定向筛选,最后育成了带比克氏棉子叶色素腺体延缓形成性状的陆地棉种质系-ABH-0318。该种质体眠种子无色素腺体或在子叶的边缘有少量的色素腺体,棉酚含量极低,为低酚棉种子,但种

子萌发后的子叶及植株其它器官密布有色素腺体,棉酚含量与有色素腺体陆地棉相同,为有色素

腺体植株,是培育种子低棉酚棉花新品种的优异种质资源。



图版说明:1. 比克氏棉种仁,示色素腺体原;2. ABH-0318 种仁,示色素腺体原;3. ABH-0318 种仁,示发育不全的色素腺体;4. ABH-0318,示正常色素腺体;5. TM-1 色素腺体,示色素腺体;6. 萌发 4 h 的 ABH-0318 子叶,示色素腺体原细胞开始解体;7. 萌发 24 h 的 ABH-0318 的子叶,示色素腺体形成。

Plate explain: 1. Kernel of *G. bickii*, shown the gland primodium; 2. Kernel of ABH-0318, shown the gland primodium; 3. Kernel of ABH-0318, shown the semideveloped gland; 4. Kernel of ABH-0318, shown the normal gland; 5. Kernel of TM-1, shown the gland; 6. ABH-0318 cotyledon after germination for 4 hours, shown the disintegration of gland cells; 7. ABH-0318 cotyledon after germination for 24 hours, shown the gland formation

图版 I 陆地棉子叶色素腺体延缓形成性状的表现与组织结构观察

Plate I The expression and anatomical observation of the delayed pigment gland morphogenesis in an upland cotton germplasm

色素腺体结构观察结果表明,ABH-0318 休眠种虽肉眼仅观察到少量的色素腺体,但在显微镜下可观察到大量的色素腺体原。这些色素腺体原结构与比克氏棉休眠种子中的结构相同^[6],可能来源于比克氏棉。此外,ABH-318 休眠种子中除色素腺体原和色素腺体结构外,还存在着一种发育不全的色素腺体结构,这种结构有腺腔,但无内含量,为该种质系所特有的色素腺体类型。然而,这些色素腺体的组织结构的特遗传特点和对于棉酚含量的影响还有待进一步研究。

参考文献:

[1] FRYXELL P A. A revision of Australian species of *Gossypium* with observation on occurrence of Thespe-

sia in Australia (Malvaceae)[J]. Austr J Bot, 1965, 18:71-102.

[2] 李炳林,张伯静,张新润,等. 亚洲棉与比克氏棉杂交研究[J]. 遗传学报,1987,14(2):121-126.

[3] SMITH F H. Determination of gossypol in leaves and flower buds of *Gossypium*[J]. J Amer Oil Chem Soc, 1971,44:267-269.

[4] 芮菊生,杜懋琴,陈海明,等. 组织切片技术[M]. 北京:高等教育出版社,1980. 98-110.

[5] ZHU S J, JI D F. Inheritance of the delayed gland morphogenesis trait in Australian wild species of *Gossypium*[J]. Chinese Science Bulletin, 2001, 46(14): 1168-1173.

[6] 祝水金,季道藩,汪若海,等. 澳洲野生棉种子叶色素腺体延缓形成的组织结构观察. 棉花学报,1998,10(2):81-87. ●