

栽培番茄与野生秘鲁番茄杂交

胚胎发育的细胞学研究

吴梅珍 吴定华

(园艺系)

摘要 本文对栽培番茄与野生秘鲁番茄(*Lycopersicon peruvianum* Mill.) 的有性杂交及其 F_1 与双亲回交的受精过程及胚胎发育情况进行了研究。

在栽培番茄×秘鲁番茄、栽培番茄×(栽培番茄×秘鲁番茄, F_1)、栽培番茄×[(栽培番茄×秘鲁番茄, F_1)×秘鲁番茄, BC_1F_1] 的情况下, 父本的花粉均可在栽培番茄的柱头上萌发, 花粉管进入胚囊, 并可能发生双受精作用, 单受精作用或受精过程失败。杂种胚发育迟缓, 长时间停留在球形胚阶段, 很难进一步分化, 并时常出现败育; 杂种胚乳的发育仅在最初阶段形成若干游离核, 到授粉后约 12 d 时, 胚乳游离核完全退化, 随后珠被绒毡层(Endothelium) 细胞增生而将胚囊填满, 最后胚及珠被绒毡层细胞也全部退化, 胚囊成为空腔。

在(栽培番茄×秘鲁番茄, F_1)×秘鲁番茄的情况下, 受精过程和胚胎发育缓慢, 在一些胚囊内, 会出现胚乳解体退化及珠被绒毡层细胞增生的现象, 但在部分胚囊中也有正常发育的胚及胚乳。

当栽培番茄×[栽培番茄×(栽培番茄×秘鲁番茄, F_1)], BC_1F_1 自交时, 胚胎发育过程基本正常, 但较栽培番茄自交时缓慢。

关键词 栽培番茄; 野生秘鲁番茄; 种间杂交; 胚胎发育

野生秘鲁番茄(*Lycopersicon peruvianum* Mill.) 具有抗根结线虫、细菌性病斑、叶霉病、枯萎病、斑枯病及晚疫病特性^[10], 也具有高抗坏血酸的基因成分^[16,19]。然而, 试图通过种间有性杂交将秘鲁番茄优良特性转移到栽培番茄上去却是困难的。据吴定华^[3,4]报道当秘鲁番茄作父本与栽培番茄杂交时, 会表现出高度的不亲和性, 其杂种一代植株自交不稔, 与栽培番茄回交时表现出高度的不亲和性。通过胚培养^[3,6,13,18]可获得栽培番茄与秘鲁番茄的 F_1 以及 F_1 与栽培番茄的回交后代。当回交后代与栽培番茄作第二次回交时, 亲和性就有所提高^[6]。关于栽培番茄作母本与秘鲁番茄杂交当代不亲和的内在原因, 国内外已有文献报道^[5,11,14,18], 但对杂种胚乳开始败育的时间及杂种胚败育的原因没有一致的结论, 而且关于这个种间杂种与双亲回交后代的胚胎发育过程, 国内外报道得不多。

本试验通过对栽培番茄与秘鲁番茄杂交及其杂种一代与双亲回交后的胚胎发育过程的研究, 探讨栽培番茄与秘鲁番茄杂交不孕性的内在原因, 为番茄远缘杂交育种提供细胞学的依据。

1990-05-04 收稿

1 材料与方法

1.1 试验材料

栽培番茄品种‘粤农二号’、‘0719-1’；野生种秘鲁番茄（简称‘秘鲁’）；‘粤农二号’×秘鲁番茄， F_1 （简称‘粤秘’）；粤秘×秘鲁， BC_1F_4 （简称‘粤秘秘’）；‘0719-1’×（‘0719-1’×粤秘）， BC_2F_2 。

全部材料来自华南农业大学园艺系，并种植于华南农业大学蔬菜育种场。

1.2 试验方法

杂交试验在1986年秋季及1987年的春秋两季进行。本试验按图1的组合方式进行杂交。

在进行杂交授粉前，将母本材料上当日即将开放的花蕾进行人工去雄，用放大镜检查柱头没有花粉后，将父本材料新鲜的花粉授于母本的柱头上，然后套上小纸袋隔离。

采用高振华^[1]的荧光显微镜方法观察花粉在柱头上的萌发及花粉管在花柱中的生长。

研究受精过程和胚胎发育的材料，授粉后3~10 d，每天取样固定一次，授粉后12~40 d，则每隔4 d取一次样固定。采用纳瓦兴氏（Nawaschin's）固定液，所固定的子房以常规石蜡切片法用铁矾——苏木精染色，并以固绿复染，切片厚度10 μm。

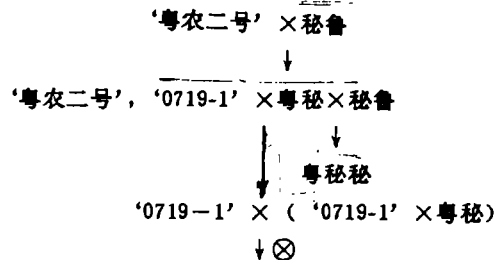


图1 杂交组合示意图

2 试验结果

2.1 花粉在柱头上萌发及花粉管在花柱中的生长情况

采用荧光显微镜技术，取栽培番茄‘粤农二号’及‘0719-1’自交、‘粤农二号’及‘0719-1’与秘鲁的正反交、‘粤农二号’及‘0719-1’与粤秘的正反交、‘粤农二号’及‘0719-1’与粤秘秘的正反交、粤秘与秘鲁回交、‘0719-1’×（‘0719-1’×粤秘）， BC_2F_2 的自交以及粤秘自交等材料授粉后24 h的花柱进行观察。发现：供试组合的父本花粉粒都能在母本的柱头上萌发（图版1，1），除秘鲁×栽培番茄以及粤秘×栽培番茄外，其余组合均可在授粉后24 h看到大量的花粉管在花柱中正常生长并到达花柱的底部，表明这些组合互为父本的花粉管在母本的花柱中不存在不亲和性。而秘鲁×栽培番茄授粉后24 h，花粉粒可在柱头上萌发，花粉管达到花柱长的 $1/6$ 处，并且可以看到花粉管前端膨大，出现胼胝质聚集在花粉管前端的現象（图版1，2）粤秘×栽培番茄的情况与上相似。

2.2 栽培番茄×秘鲁、栽培番茄×粤秘及栽培番茄×粤秘秘的胚胎发育。

2.2.1 栽培番茄与野生秘鲁番茄杂交，当秘鲁的花粉授到‘粤农二号’的柱头上，授粉后3 d在一些胚珠中可观察到精卵子融合（图版1，3），此时极核已受精或正与精子融合，少数已受精的初生胚乳核开始分裂成2个胚乳游离核，说明这些胚珠中受精作用可正常进行。但在多数胚囊内不完全双受精现象严重，只有极核受精而卵未受精或卵细胞受精而极核未与精核融合，较多见的是极核受精。

在受精的胚囊中，授粉后7 d形成9~12个细胞的原胚以及成巨大核的胚乳游离核，珠

被绒毡层细胞加厚(图版 I, 4)。在一般情况下,授粉后约 12 d 的杂种胚囊中均不见胚乳形成,也不见胚乳游离核或胚乳解体后的残留物,看来在此之前胚乳已相继完全退化。

胚乳核完全退化后,胚杂乱地进一步分裂成松散的细胞团,胚囊内珠被绒毡层细胞强烈地向胚囊内生长。在授粉后 16 d,可见胚细胞停止进一步发育,胞质变得稀少(图版 I, 5),授粉后 24 d 胚退化成泡状,增生的珠被绒毡层也退化成薄壁细胞组织(图版 I, 6),在授粉后 40 d 几乎全部胚囊退化成空腔(图版 I, 7)。

在一些受精的胚囊中可观察到有胚无胚乳或有胚乳无胚的情况,在这些胚囊中都可见珠被绒毡层细胞增生的现象,一般前一种类型较后一种类型胚囊内珠被绒毡层增生的程度更为强烈。在那些只有胚乳而无胚的胚囊中,在胚乳退化后珠被绒毡层迅速生长占领整个胚囊,最后珠被绒毡层细胞也退化成为薄壁细胞组织。

2.2.2 栽培番茄×粤秘、栽培番茄×粤秘秘的胚胎发育情况同栽培番茄×秘鲁的大致相似。有少数胚囊会发生正常的双受精作用,但单受精现象较为常见。在受精的胚囊中,胚乳发育不正常,杂种胚在胚乳退化后也退化成泡状而瓦解。珠被绒毡层细胞在胚乳退化后增生。

上述 3 个组合的胚胎发育可归为下列 3 种情况:

(1) 雌雄性核结合过程失败,以后卵细胞和极核逐渐退化。珠被绒毡层细胞增生最后将整个胚囊填满(图版 I, 8);(2) 极核受精成功,形成巨大的游离胚乳核(图版 I, 1),在胚乳退化后珠被绒毡层细胞增生占领整个胚囊;或是卵细胞受精成功,原胚在没有胚乳营养供应的条件下缓慢生长,周围的珠被绒毡层细胞大量增生(图版 I, 2),最后胚营养饥饿而夭折;(3) 能发生正常的双受精过程。在多数情况下,初生胚乳以游离巨大核的状态存在(图版 I, 3),胚乳在胚发育到早球形胚阶段就完全瓦解,胚乳的败育导致珠被绒毡层细胞大量增生,胚营养衰竭而停止发育,最后解体(图版 I, 4)。在极少数情况下,偶然会形成较大粒的种子,正是这些出现机率极小的较大粒种子的存在,通过胚离体培养有时可得到杂种植株。

虽然这 3 个组合的胚胎发育存在上述相同的地方,但它们之间也有差异。首先是在栽培番茄×粤秘秘中观察到单受精的现象最少,而在栽培番茄×粤秘中发生最多;其次,在栽培番茄×粤秘秘中观察到杂种胚的机会最多,而在栽培番茄×粤秘中观察到最少,胚囊中有胚乳无胚的现象更多见。

从图 2 看出这 3 个组合在不同发育时期胚细胞平均数变化,表明栽培番茄×粤秘秘在不同发育时期胚细胞数明显高于栽培番茄×粤秘,胚胎败育最严重的是栽培番茄×粤秘,其次是栽培番茄×秘鲁,再次是栽培番茄×粤秘秘,因此栽培番茄×粤秘秘的杂交亲和性稍高于栽培番茄×秘鲁,栽培番茄×粤秘的最低。

2.3 粤秘×秘鲁的胚胎发育

粤秘×秘鲁部分胚珠能进行正常的双受精过程。在一些受精的胚珠中,授粉后 3 d 形成合子,但合子“休眠”期很长,一直到授粉后 12 d 才分裂成 2 个细胞的原胚(图版 I, 5),授粉后 20 d 形成正常的棒状胚,授粉后 31 d 形成球形胚(图版 I, 6)。在多数情形下,总有部分胚珠最后能形成胚及胚乳均正常的种子。

2.4 ‘0719-1’×(‘0719-1’×粤秘), BC₁F₂ 自交的胚胎发育

‘0719-1’×(‘0719-1’×粤秘), BC₂F₂自交, 其胚胎发育能正常进行。授粉后8d形成棒状胚(图版I, 7), 授粉后20d就形成子叶分化完全的胚(图版I, 8), 但其胚胎发育进程较‘0719-1’自交稍慢。

栽培番茄‘粤农二号’自交授粉后6d形成约36个细胞的原胚, 授粉后12d发育成球形胚, 授粉后16d子叶分化。‘0719-1’自交胚胎发育进程与‘粤农二号’基本一致。

3 讨论与结论

3.1 关于花粉管在花柱中的生长与番茄种间杂交不亲和性。在栽培番茄×秘鲁、栽培番茄×粤秘以及栽培番茄×粤秘秘等高度不亲和的组合中, 当父本的花粉粒授在母本的柱头上时, 24h后花粉管均能正常地到达花柱底部。这些组合的花粉管可正常地在母本花柱中生长, 并伸入胚囊, 但最后能完成双受精过程并进行胚胎正常发育的极少。这种情况与有关种间或属间杂交的文献^[1, 2, 5, 9, 11, 14, 17, 18]资料一致。这说明一些种间或属间杂交尽管亲缘较远, 但雄性细胞与母本雌蕊间仍存在一定的亲和力。花粉管在花柱中生长只为受精过程的完成提供了前提条件, 但并不意味着双亲杂交亲和。

3.2 关于杂种胚胎发育障碍的原因。以前对栽培番茄与秘鲁番茄杂种胚败育的原因及杂种胚乳开始败育的时间没有一致的及详尽的结论。较多的意见认为: 杂种胚发育障碍的原因是由于胚乳的衰退而导致胚的败育^[1, 5, 7, 9, 11, 15]。但远缘杂种胚胎发育情况在不同的种属间是不同的, 在水稻与高粱杂交中, 吴素萱等^[2]报道花粉管在花柱中生长缓慢, 不能及时进入胚囊, 推迟了受精时间, 雌雄性配子此时可能已处于衰退时期, 因此原胚与胚乳得不到足够的营养物质而停止发育, 最终死亡。而Sachet (1948)^[17]则推断杂种败育的原因是胚囊内增生的珠被绒毡层细胞将胚囊的营养物质耗竭, 胚及胚乳不能利用现有的营养物质而导致胚及胚乳的败育。通过试验, 作者观察到栽培番茄与秘鲁番茄杂交, 胚乳完全退化的时间及珠被绒毡层发育的动态与Barbano (1984)^[11]观察到的结果一致, 并发现栽培番茄×秘鲁, 栽培番茄×粤秘以及栽培番茄×粤秘秘杂种败育的原因, 是由于雌雄性配子之间的基因组不协调引起单受精的发生和胚乳发育不正常, 胚乳始终以大核的游离状态出现, 胚乳增长的速度明显低于杂种胚增长的速度, 在胚胎发育早期就完全退化。胚乳的退化导致珠被绒毡层的增生, 这又加速了胚的败育。由于胚乳败育而处于恶劣营养环境下的杂种胚, 通过胚培养特别是早期胚培养, 可以成功地克服胚胎发育的营养障碍而获得杂种后代。根据本

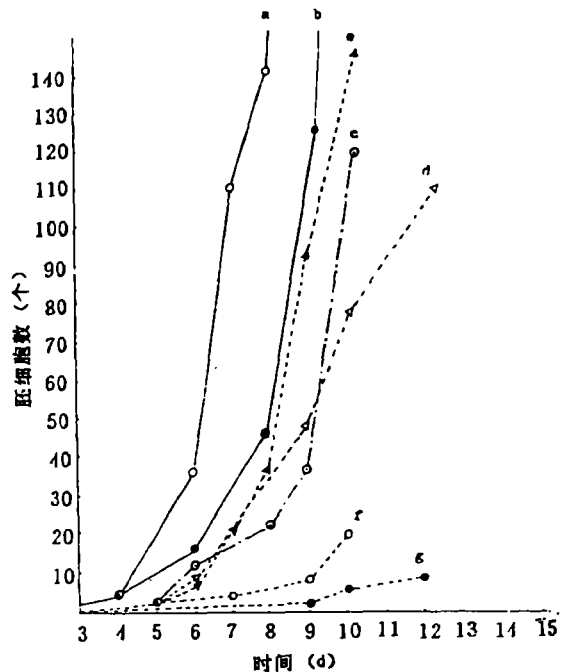


图2 各杂交组和自交胚不同发育时期胚细胞平均数曲线

a: ‘粤农二号’自交 b: ‘0719-1’自交 c: ‘粤农二号’×秘鲁 d: ‘粤农二号’×粤秘秘 e: ‘0719-1’×粤秘秘 f: ‘粤农二号’×粤秘 g: ‘0719-1’×粤秘

试验观察结果,各杂交组合胚乳在授粉后约12 d完全退化,此时就应将杂种幼胚取出移植到适宜的培养基上,使胚能继续分化和发育,从而能获得番茄种间杂种植株。

3.3 关于珠被绒毡层细胞的动态与胚乳发育的关系 由于珠被绒毡层不正常的增生而破坏胚囊营养物质的平衡,最后导致杂种胚的异常生长和最终杂种胚败育的现象,在有关远缘杂交胚胎发育过程研究的文献中有过叙述^[11,12,14,17]。Cooper和Brink(1940)^[12]用“体质不育”(Somatoplasm Sterility)来描述这类型母体组织的细胞增生现象。本试验的观察结果与Kapil(1978)^[15]认为的在大多数茄科植物的属间及种间杂交存在绒毡层增生导致胚乳退化的结论不一致,作者在观察中发现珠被绒毡层只有在胚乳败育后才会表现出很强烈的增生能力,所以从胚胎发育整个过程来看,珠被绒毡层细胞增生是胚乳败育的结果而不是原因,即胚乳的败育导致绒毡层细胞的增生,因增生的绒毡层细胞阻塞了合点端,所以在胚乳败育后加速了胚的瓦解。

3.4 关于各供试组合的胚胎败育程度 试验结果表明:粤秘×秘鲁部分可育;‘0719-1’×(‘0719-1’×粤秘),BC₂F₂自交育性趋于正常;而栽培番茄×秘鲁、栽培番茄×粤秘以及栽培番茄×粤秘秘等杂合组合杂交不亲和,其中栽培番茄×粤秘秘的胚胎发育较其它二个组合的稍好,表明它的杂交不亲和程度在三者之中最低,尽管如此,胚胎败育的情况仍十分严重,所以要利用这样的杂种作桥梁向栽培番茄转移野生秘鲁番茄的有用基因还需作出很大的努力。

致谢 本文工作承蒙李鹏飞教授、梁承愈副教授指导、帮助,深表谢意。

参 考 文 献

- 1 王敬驹,孙敬三.水稻(*Oryza sativa* L.)×狼尾草(*Pennisetum* sp.)胚胎发育的细胞学观察.植物学报,1981,23(2):104~107
- 2 吴素萱等.水稻与高粱杂交的受精过程.植物学报,1965,13(4):297~319
- 3 吴定华,李鹏飞.番茄种间杂交结果初报.园艺学报,1964,3(4):369~377
- 4 吴定华.番茄种间杂交的探讨.园艺学报,1984,11(1):35~41
- 5 吴鹤鸣等.栽培番茄(*Lycopersicon esculentum*)×秘鲁番茄(*L. peruvianum*)杂种胚、胚乳发育的细胞学观察(简报).江苏农业学报,1988,4(4):45~47
- 6 官国荣等.栽培番茄与秘鲁番茄种间杂种回交栽培番茄的研究.园艺学报,1988,15(1):39~44
- 7 邱德勃,Harberd D L.萝卜和甘蓝属间杂交胚乳发育过程的亚显微结构的观察.植物学报,1986,28(5):483~491
- 8 高振华.*Solanum pennellii*与普通番茄杂交亲合性试验.中国蔬菜,1981(1):7~8
- 9 魏秀玲等.普通小麦与球茎大麦杂交后受精及胚胎发育的细胞形态学研究.遗传学报,1985,12(4):275~280
- 10 Alexander L J. et al. A survey of the genus *Lycopersicon* for resistance to the important tomato disease occurring in Ohio and Indian. Plant Dis Rptr Suppl, 1942, 136: 51~57
- 11 Barbano D P, Topoleski L D. Postfertilization hybrid seed failure in *Lycopersicon esculentum* × *L. peruvianum* Ovules. J Amer Soc Hort Sci, 1984, 109: 95~100
- 12 Cooper O C, Brink R A. Somatoplasm sterility as a cause of seed failure after interspecific hybridization. Genetics, 1940, 25: 293~617
- 13 Choudhury B. Embryo culture technique — III. Growth of hybrid embryo (*Lycopersicon esculentum* × *L.*

- peruvianum*) in culture medium. Indian J Hort, 1955, 12 (4): 155~156
- 14 Choudhury B. Development of seed and its part—II of hybrid seed of *Lycopersicon esculentum* × *L. peruvianum*. Indian J Hort, 1959, 16: 23~30
- 15 Kapil R N, Tiwari R N. The integumentary tuptum. Bot Rev, 1978, 44 (4): 457~484
- 16 Mafarlane J S, et al. Breeding tomatoes for nematode resistance and for high Vitmin C content in Hawaii. Proc Amer Soc Hort Sci. 1964, 47: 262~270
- 17 Sachet M H. Fertilization in six incompatible species crosses of *Datura*. Amer Jour Bot, 1948, 35 (5): 302~309
- 18 Smith P G. Embryo culture of a tomato species hybrid. Pro Amer Soc Hort Sci. 1944, 44: 413~416
- 19 Yeager A B and Purinton H J. *Lycopersicon peruvianum* as a parent in the development of high ascorbic acid tomato varieties. Proc Amer Soc Hort Sci. 1946, 48: 403~405

CYTOLOGICAL STUDIES ON THE EMBRYOGENESIS OF *Lycopersicon esculentum* AFTER CROSSING WITH *L. Peruvianum*

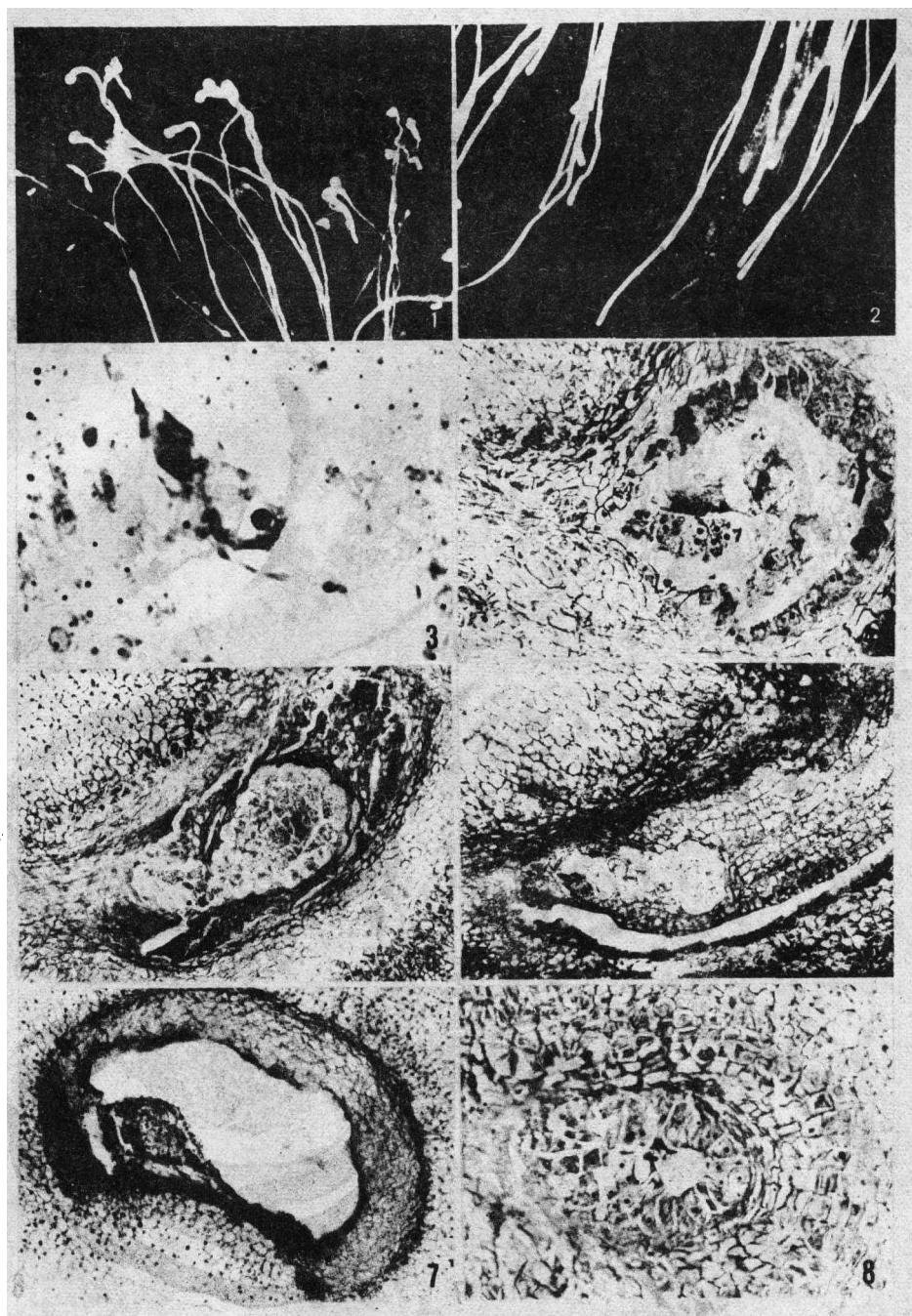
Wu Meizhen

Wu Dinghua

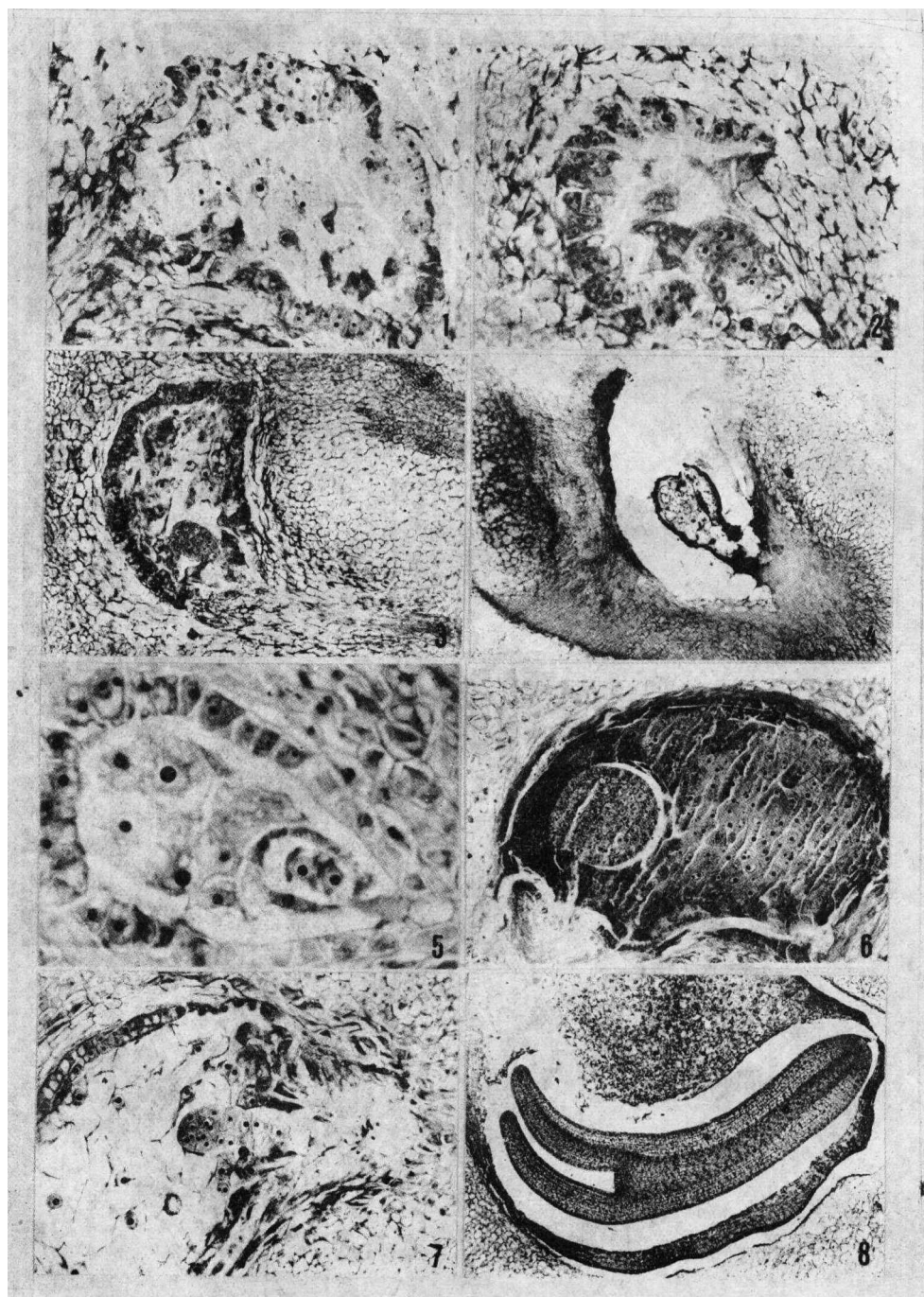
(Department of Horticulture)

Abstract Studies were made on the fusion processes of female and male gametes as well as the embryo and endosperm development of five hybrid combinations between *L. esculentum* and *L. peruvianum*. In the crosses of *L. esculentum* × *L. peruvianum*, *L. esculentum* × (Yue Nong No. 2 × *L. peruvianum*, F_1) and *L. esculentum* × [(Yue Nong No. 2 × *L. peruvianum*, F_1) × *L. peruvianum*, BC_1F_1], the pollen grains of male parents could germinate normally on the stigma of *L. esculentum* and pollen tubes could grow into the style and enter the embryo sacs. After pollination following observation were obtained that normal fertilization (double fertilization) or abnormal fertilization (single fertilization) might take place, but some might even fail entirely to fertilize. It has been found that in the majority of cases the development of embryos was slow and stayed long in the stage of globular embryos, thus, the differentiation of the embryos was very difficult and degeneration of the embryos occurred quite often. Hybrid endosperm developed only at the beginning, forming some free nuclei. These free nuclei degenerated completely about 12 days after pollination. The cells of the proliferated endothelium finally filled the embryo sac after endosperm degeneration. Deterioration of the proliferated endothelium finally took place and the embryo sac became empty. The process of fertilization and embryo development was slow in (Yue Nong No. 2 × *L. peruvianum*, F_1) × *L. peruvianum*. In some cases endosperm degeneration and endothelium proliferation were found, and normal development of embryo and endosperm could be observed only in a few embryo sacs. The development of embryo and endosperm occurring in self pollination of 0719-1 × [0719-1 × (Yue Nong No. 2 × *L. peruvianum*, F_1), BC_1F_1] showed no signs of abnormality, but was slower as compared with that found in the self-pollination of *L. esculentum*.

Key words Cultivated tomato; *Lycopersicon peruvianum* Mill.; Interspecies cross; Embryo development



图版 1 1 ‘粤农二号’ × 秘鲁授粉后24 h, 花粉在柱头上萌发, 花粉管在花柱中生长 (36×)
 2 秘鲁 × ‘粤农二号’ 授粉后24 h, 花粉管长到1/5花柱处, 示花粉管前端膨大 (36×)
 3 ‘粤农二号’ × 秘鲁授粉后3 d, 示精子融合, 初生胚乳核已形成 (340×)
 4 ‘粤农二号’ × 秘鲁授粉后7 d, 示棒状胚和大核的胚乳, 以及加厚的珠被绒毡层 (140×)
 5 ‘粤农二号’ × 秘鲁授粉后16 d, 示胞质变得稀少的胚 (70×)
 6 ‘粤农二号’ × 秘鲁授粉后24 d, 示泡状胚及成薄壁组织的珠被绒毡层 (70×)
 7 ‘粤农二号’ × 秘鲁授粉后40 d, 示退化成空腔的胚囊 (70×)
 8 ‘粤农二号’ × 粤秘授粉后7 d, 示没有进行受精作用的胚囊迅速被珠被绒毡层细胞占领 (190×)



图版 I 1 '0719-1' × 粳秘授粉后7 d, 示胚囊内有胚乳无胚 (190×)
 2 '0719-1' × 粳秘授粉后7 d, 示胚囊内有胚无胚乳 (190×)
 3 '0719-1' × 粳秘授粉后8 d, 示进行了双受精作用的胚囊内的游离胚乳大核及棒状胚 (95×)
 4 '粳农二号' × 粳秘授粉后40 d, 示胚退化后的残壳 (48×)
 5 粳秘 × 秘鲁授粉后12 d, 示2个细胞的原胚 (190×)
 6 粳秘 × 秘鲁授粉后31 d, 示球形胚 (95×)
 7 '0719-1' × ('0719-1' × 粳秘), BC₂F₂自交授粉后8 d, 示棒状胚 (190×)
 8 '0719-1' × ('0719-1' × 粳秘), BC₂F₂自交授粉后20 d, 示子叶完好的胚 (48×)