

新型光温敏小麦不育系 337S 的组织结构研究

程旭东¹, 孙东发^{1*}, 荣德福²

(1. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070; 2. 沙洋农业科学研究所, 湖北沙洋 448200)

摘要: 普通小麦(*Triticum aestivum*)不育系 337S 是一种对短日低温、长日高温均敏感不育的新型光温敏雄性不育系。对经过短日低温、长日高温处理的不育系花药及其小孢子的形态和发育过程进行了观察, 观察结果表明, 不育系 337S 的花药异常短小, 开花后花丝短, 花药难外露。花药发育过程中中层组织发育紊乱, 绒毡层提前解体, 影响了花粉母细胞发育所需的营养供应, 导致短日低温处理下的花粉母细胞减数分裂中期 I 和长日高温处理下的花粉母细胞发育时期花粉母细胞发育异常, 形成异常小孢子, 造成败育。

关键词: 小麦; 两极型光温敏不育系; 中层组织; 绒毡层; 花粉母细胞

中图分类号: Q343.3⁴; S512

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2004)06-0495-05

Cytological Characteristics in a New Material of Male Sterile Line 337S of Wheat (*Triticum aestivum*)

CHENG Xu-Dong¹, SUN Dong-Fa^{1*}, RONG De-Fu²

(1. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Shaxyang Agricultural Research Institute of Hubei Province, Shaxyang, Hubei 448200, China)

Abstract: Male sterile line 337S of wheat (*Triticum aestivum*) was sensitive both to short day-length and low temperature and to long day-length and high temperature. The shape and abortion process of anther and microspores in 337S were investigated in this thesis. The results obtained were summarized as follows: the anthers of 337S were anomaly short and small, and the filaments were so short that the anthers stretched difficultly. The disorder of the middle layer and the disorganization of mesospore ahead of time were the main reason of abortion for 337S. The MI of meiosis was the main stage of microspores degenerating of 337S in short day-length and low temperature. Long day-length and high temperature that occurred during pollen mother cells stage.

Key words: Wheat (*Triticum aestivum*); Bi-pole-photo-thermo-sensitive male sterile line; The middle layer; Tapetum; Pollen mother cells

两极型光温敏小麦不育系 337S 对长日高温、短日低温都表现敏感, 尤其对长日要求不高, 没有异源细胞质的副效应, 在不育时区内不育度可达 100%, 在可育时区内结实小穗在 50% 以上, 为隐性核不育, 是一种很有理论和实用价值的新型光温敏雄性不育系^[1,2], 目前国内外尚未见报道。2001 年通过湖北省鉴定, 定名为两极型光温敏小麦不育系。笔者对

其花药和小孢子的形态及发育过程进行了细胞学观察, 以了解其败育时期和败育特点, 为这种新型光温敏不育系合理利用提供一些有用的信息。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料两极型光温敏小麦不育系 337S 由湖

收稿日期: 2004-02-20, 修回日期: 2004-07-19。

基金项目: “973”项目(2001 CB-108-807); “863”项目(2001AA241043); 湖北省自然科学基金重点项目(2001) 资助。

作者简介: 程旭东(1977—), 男, 作物遗传育种专业硕士。现在中国科学院遗传与发育生物学研究所攻读博士学位。

* 通讯作者(E-mail: sundongfa1@mail.hzau.edu.cn)。

北沙洋农业科学研究所荣德福高级农艺师选育并提供,该不育系于 2001 年 5 月 10 日通过湖北省科委组织的现场鉴定,被认为是国内外目前唯一的对短日低温、长日高温均敏感不育的新型光温敏小麦雄性不育系。

1.2 试验方法

1.2.1 播期选择 采用分期播种试验确定短日低温处理和长日高温处理所需的合适播期。

1.2.2 取材 2002 年 3 月到 4 月份 337S 孕穗期内,对短日低温处理和长日高温处理的材料进行取样:自不育系旗叶抽出,叶枕距为零时开始取材观察,隔日 1 次,直至穗完全抽出。取材时记录叶枕距、花丝长、花药长、花药宽等外部形态指标并压片和碘染检查花粉粒形态特征。

1.2.3 常规石蜡切片法制片 将所取穗转入 FAA 固定液固定 18~20 h 后用 70% 乙醇长久保存。切片前每播期材料按从小到大次序均匀挑选 8 个穗子,每穗分为 4 等份,取穗头、尾及中间等份点处共记 5 朵小花,去芒及颖片,用爱氏苏木精染后按常规石蜡切片法脱水,包埋,切片,透明,封片,切片厚度为 10 μm 。

1.2.4 观察和分析 将切片放在 Olympus 全自动显微摄影仪下观察并拍照^[3~5],开花散粉时再次观察花药和花粉的形态特征。对所获数据进行分析处理。

2 试验结果

2.1 分期播种试验结果

337S 在武汉市 9 月 30 日及以前播种,11 月 30 日及以后播种均完全不育,10 月底~11 月上旬部分可育,据此确定 3 个播期,即 2001 年 9 月 30 日、10 月 30 日和 11 月 30 日,分 3 期播种,以让 337S 的育性转换敏感期分别处于短日低温不育、可育和长日高温不育条件。

2.2 花药的外部形态

9 月 30 日和 11 月 30 日 2 个播期下 337S 的所有单株均完全不育,10 月 30 日播期下 337S 的所有单株部分可育。9 月 30 日和 11 月 30 日 2 个播期下 337S 不育株花药之间形态相似。在发育早期他们与可育株花药无明显差别,但发育中后期差异显著。具体表现为不育系的花药都偏小,一般仅长 1.5~2 mm,宽 0.6 mm 左右(可育株的花药则一般长 4~5 mm,宽 1.0 mm 左右)。成熟后花药难以破裂,且花粉粒小而少,大小不均匀,碘染色反应为不染色或不同程度的浅染色。花

丝短,开花时花药不外露,有二次开颖现象。

2.3 花药的发育和小孢子的发生

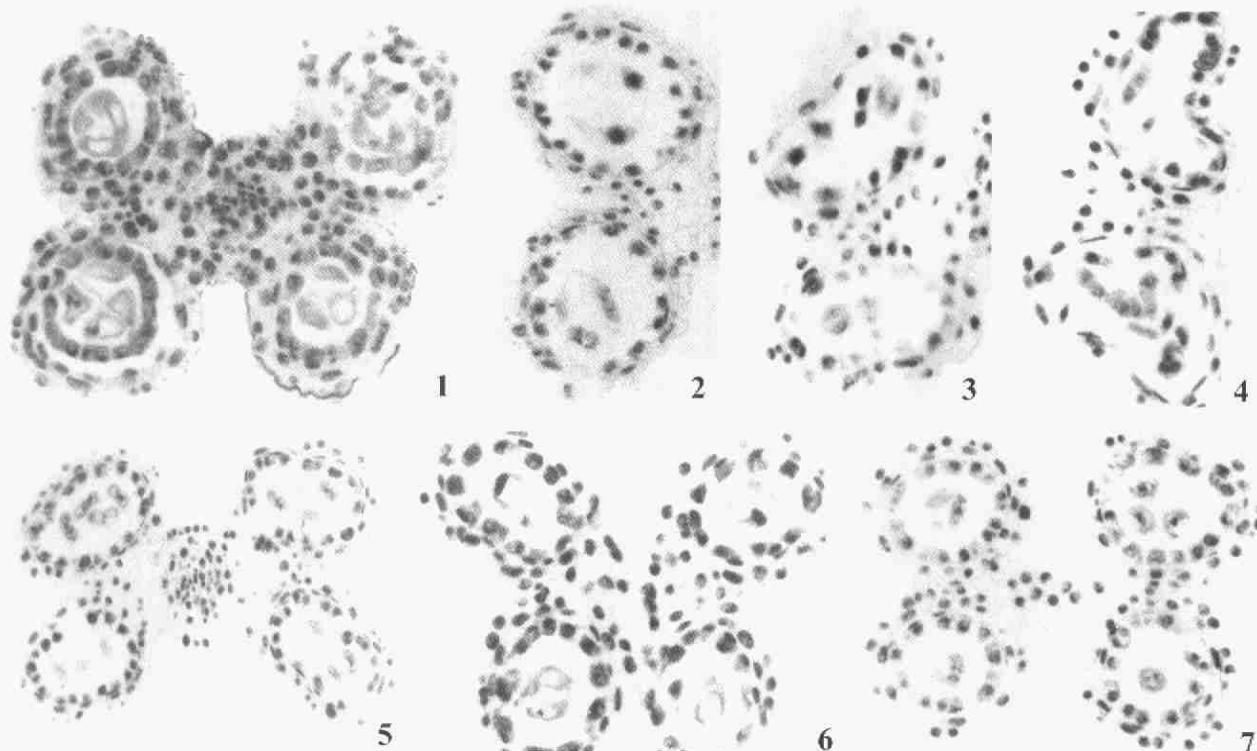
2.3.1 可育株花药的发育和小孢子的发生 与申麦 2 号的表现一致。

2.3.2 花药发育异常 短日低温和长日高温处理的 337S 不育株的花药发育都表现为相同的异常现象。花药的中层组织在花粉母细胞时期开始解体退化,残余细胞呈稀疏的一层棒状物黏附在表皮层内壁,直到单核期仍然保持不变(图 1:1,6)。绒毡层在花粉母细胞时期稍后也开始退化解体,细胞稀疏且凌乱、核弥散,原生质体液泡化(图 1:2),一直保持此状态直到单核期以后(图 1:7)。

2.3.3 短日低温处理的 337S 不育株花药和小孢子发育的特点 正常情况下花粉母细胞在减数分裂前期 I 各自形成胼体质壁,彼此分离,并沿绒毡层内壁排成环状。但不育株花粉母细胞在药室中央彼此粘连不分离(图 1:1),或首尾相连成环状,有些花粉母细胞中出现大的空腔,细胞核解体退化(图 1:2)。减数分裂二分体到四分体时期,细胞板形成慢,甚至不形成,经历时间长,细胞不均等分裂,部分花粉母细胞在这个时期开始大量解体(图 1:3,4)。花粉母细胞在减数分裂中期 I 染色体粘连现象严重,染色体在赤道板排列不规则,少数远离赤道板,导致细胞分裂不均一,出现畸形二分体、三分体及细胞解体。还观察到几个落后的单价体(图 1:4,5)。单核期,小孢子母细胞体积异常膨大,出现大液泡,核弥散消失(图 1:6)。

2.3.4 长日高温处理的 337S 不育株花药和小孢子发育的特点

造孢细胞提前进入减数分裂(图 2:1),花粉母细胞时期花粉母细胞数目稀少,多为 1~4 个(图 2:1~3),细胞内普遍出现大的空腔,细胞核解体退化(图 2:2~4),花粉母细胞时期靠后母细胞首尾粘连不分离(图 2:5),可以认为小孢子败育主要发生在这一时期。能够进入减数分裂过程的小孢子很少,减数分裂开始后,染色体粘连现象比较严重(图 2:6),核分裂不均一,使部分细胞解体(图 2:7)。单核期,小孢子粘连成团;形成初生壁之后,细胞体积增大,出现大液泡,细胞质凝聚,随后核弥散消失(图 2:8),有些单核小孢子体积异常膨大,呈梭形或不规则形游离在药室中(图 2:9),有些小孢子体积异常膨大呈椭圆球形,独立于药室中间(图 2:10)。观察中发现很多花药中出现 1 到 2 个空室,这些空室有的在花粉母细胞时期就已经出现(图 2:11,12)。



1. 花粉母细胞在减数分裂前期 I , 细胞粘连, 内现大的空腔; 2. 花粉母细胞粘连, 互相首尾相连成环状; 3. 二分体时期, 绒毡层组织基本崩溃, 花粉母细胞发育停滞; 4. 减数分裂中期 I , 细胞板形成慢, 甚至不形成, 经历时间长, 细胞不均等分裂, 花粉母细胞大量解体; 5. 末期 I 染色体在赤道板排列不规则, 少数远离赤道板, 细胞分裂不均一; 6. 单核期, 小孢子细胞体积异常膨大, 出现大液泡, 核弥散降解; 7. 中层组织, 绒毡层细胞少且凌乱

1. Prophase I of meiosis, showing the microsporocyte stucked with each other and the big holes appeared in the cells; 2. Early stage of microsporocyte, showing the cells stucked in a cycle; 3. Dyad stage, showing the disintegrating of the tapetum and the stagnation of the development of the microsporocyte; 4. Metaphase I of meiosis, showing the cell plates of microsporocyte developed slowly, or stagnated and mitosised unequally; 5. Telophase I of meiosis, chromosomes inordinately ranked on the equatorial plate, and a few of them were far away from the equatorial plate, the cells mitosised unequal; 6. Uninucleate microspore stage, showing the microspore inflated and vacuolized, the nuclei dissuised; 7. Showing the cells of the middle layer and tapetum were rare and ranked disorderly

图 1 337S 短日低温处理下的花药和小孢子

Fig. 1 The pollen and microspores of 337S in short day-length and low temperature

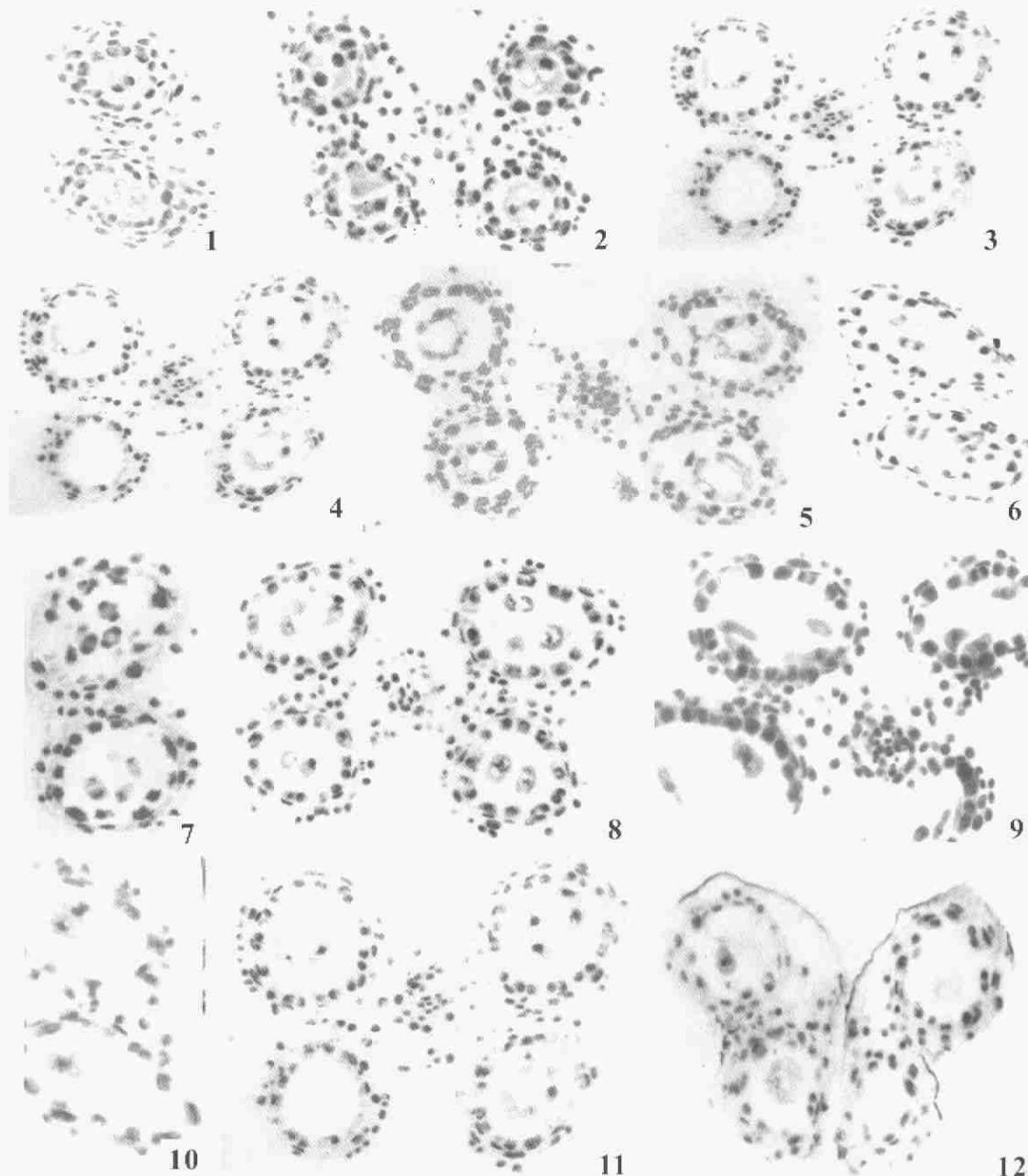
3 讨论

关于小麦光温敏雄性不育系花药和小孢子败育特点的细胞学研究早期就已有许多报道, 雄性不育的原因和败育时期也因材料而异。但普遍认为不育的原因是由于绒毡层异常引起的, 至于中层在败育中所起的作用, 也有个别学者推测可能与中层异常有关, 但多强调是单核期中层异常增大所致^[6-8]。

笔者通过对 337S 的药壁组织和小孢子的发育进程进行深入系统的观察, 初步认为 337S 雄性不育主要是由于中层组织发育异常引起, 这种异常具体表现为组织结构提前解体以及发育后期的结构异常。我们观察到, 不育系 337S 最早在初级造孢期中层组织就已经发生退化解体, 到花粉母细胞时期基本完成解体, 残余细胞呈棒状横贴于表皮细胞层内。

我们知道, 中层组织是用来贮藏和利用来之于药隔组织的营养物质的, 它向绒毡层细胞提供养料, 后者再把养料提供给小孢子^[9,10], 没有正常的中层组织, 必将影响对药室的养分供应, 从而使得绒毡层发育紊乱。所以伴随着中层组织的解体, 绒毡层的发育必然也会出现异常。同样, 我们在 337S 的发育进程中也观察到了绒毡层的解体和退化, 具体表现为在其在花粉母细胞时期就开始发生细胞液胞化以及后来的组织畸形和解体。

因为中层组织和绒毡层的异常, 使造孢细胞及其后的花粉母细胞的发育得不到足够养分, 产生细胞质的“自我消耗”, 造成造孢细胞发育异常及花粉母细胞数目稀少, 花粉母细胞内出现大量液泡, 随着细胞质内养分的不断消耗, 液泡加大并形成“空腔”, 细胞无法进行正常分裂, 从而在中期 I 形成不



1. 造孢细胞提前进入减数分裂；2. 花粉母细胞时期的花粉母细胞数目稀少；3. 花粉母细胞期细胞内出现大的空腔，细胞核解体退化；4. 花粉母细胞时期靠后，细胞内出现更多大的空腔；5. 花粉母细胞时期花粉母细胞首尾粘连；6. 减数分裂中期 II 染色体粘连现象严重；7. 减数分裂时期核分裂不均一，部分细胞解体；8. 单核期的小孢子粘连成团，形成初生壁之后，细胞体积增大，出现大液泡，细胞质凝聚，随后核弥散；9. 单核期的小孢子体积异常膨大，呈梭形或不规则形游离在药室中；10. 单核期的小孢子体积异常膨大呈椭圆形，独立于药室中间；11. 花粉母细胞时期观察到的空药室；12. 单核期观察到的空药室

1. Showing the sporogenous cells began meiosis in advance; 2. Showing the number of microsporocytes was much small; 3. The stage of microsporocyte, showing the big holes in the microsporocyte and the nuclei degenerated; 4. The stage of later microsporocyte, showing more big holes appeared in the microsporocyte; 5. Showing the microsporocyte stucked with each other; 6. Metaphase II of meiosis, showing the chromosomes sticked seriously; 7. The stage of meiosis, showing the nuclei mitosised unequal, some cells degenerated; 8. Mononucleate micropore stage, showing the lump of the micropores; after forming the primary wall, cells inflated and vacuolized and the big vacuolation appeared in the cells, the cytoplasm became codense and then nuclei dissufused; 9. Mononucleate micropore stage, showing the microspores malformed and inflated, they were free in the anther with spindle or irregular shape; 10. Mononucleate micropore stage, showing some microspores changed into elliptical shape and starded in the middle of anther; 11. Stage of microsporocyte, showing the empty anther; 12. Mononucleate micropore stage, showing the empty anther

图 2 337S 长日高温处理下的花药和小孢子

Fig. 2 The pollen and microspores of 337S in long day-length and high temperature

规则纺锤体,在二分体形成后不久就败育解体。

而短日低温和长日高温处理的小孢子败育的高峰期不尽相同,推测可能是因为短日低温处理时,来年3月中下旬至4月上旬的短日低温期恰逢不育系育性转换的关键期,此间小麦处于花粉母细胞时期至减数分裂时期之间,如果不育系的育性转换临界温度和日照高于同期实际光温水平,则会使花粉母细胞发育减缓,对养分缺乏的耐受力相对较强,到减数分裂的中期I细胞才开始大量解体退化。长日高温条件下光照时间的延长和强度的增加,气温的逐渐升高使得花粉母细胞发育加快,这时营养缺乏表现得尤为明显,因此花粉母细胞时期成为小孢子败育的高峰期。此外,由于绒毡层过早降解,胼胝质酶不能正常适时分泌,使花粉母细胞长时间粘连在一起,这可能加重了败育的程度。而在小孢子成熟期残留的中层组织和绒毡层细胞不能解体消失,阻碍了花药开裂散粉,成为不育的又一个原因。

以上是我们观察到的337S的细胞学层次上的发育异常现象及由此推测的败育原因,这与前人的研究结果有所不同,但其结果在一定程度上证实了337S是一份全新的小麦光温敏雄性不育的种质资源,并在一定程度上丰富了小麦光温敏雄性不育的细胞学研究内容。

参考文献:

- [1] 荣德福,李少华,郭拥军,周世文.两极光温敏型小麦雄性不育系337S的选育[J].湖北农业科学,2001(5):13-16.
- [2] 荣德福,曹卫民.普通小麦光温敏雄性不育的类型与长日高温敏感型不育系的选育[J].麦类作物,1999,19(1):20-24.
- [3] 李祥义.太谷核不育小麦雄性败育过程的细胞形态学观察[J].作物学报,1983(3):151-156.
- [4] 周美兰,程尧楚.光温敏核不育小麦ES-14花粉败育的细胞学研究[J].作物研究,1996,10(4):20-26.
- [5] 贺国良,贺浩华.光敏核不育水稻农垦58S细胞学研究[J].江西农业大学学报,2001,23(1):24-28.
- [6] Chauhan S V, Singh S P. Pollen abortion in male-sterile hexaploid wheat(Norin) having *Aegilops ovata* L. Cytoplasm[J]. *Crop Sci.*, 1996, 6(6):532-535.
- [7] Joppa L R. Pollen and anther development in cytoplasmic male-sterile wheat (*T. aestivum* L.)[J]. *Crop Science*, 1996, 6:296-297.
- [8] 冯九焕,卢永根.水稻光温敏核雄性不育系矮64S花粉败育的细胞学机理[J].中国水稻科学,2000,14(1):7-14.
- [9] 孟金陵.植物生殖遗传学[M].北京:科学出版社,1995.153-154.
- [10] 胡适宜.被子植物胚胎学[M].北京:高等教育出版社,1982.29-30.