

芹菜雄性不育花药发育的细胞学观察

陆子梅, 高国训, 靳力争, 顾自豪

(天津市园艺工程研究所, 天津 300384)

摘要: 对芹菜花药发育过程的细胞学观察表明, 雄性不育系花粉母细胞的减数分裂行为正常, 可以形成单核小孢子并从四分体中释放出来, 这以后由于绒毡层细胞提前解体, 使小孢子得不到充足营养而发生败育。

关键词: 芹菜; 雄性不育; 花药; 细胞学

中图分类号: S636.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)01-0120-03

Cytological Studies on Anther Development in a Male Sterile Celery

LU Zi mei, GAO Guo-xun, JIN Li-zheng, GU Zi-hao

(Tianjin Institute of Horticultural Engineering, Tianjin 300384, China)

Abstract: Pollen abortion in the male sterile line of celery was studied in this paper. The result showed that the development of male sterile anther was similar to male fertile anther up to the tetrad stage. The meiosis of microsporocyte in the male sterile line proceeded normally, and the single nucleus microspores were generated and released from the tetrads. As the tapetum cells collapsed before the due time, the microspores degenerated and disappeared at last for poor nutrition supplement.

Key words: Celery (*Apium graveolens* L.); Male sterility; Anther; Cytology

雄性不育系是作物杂交育种的一种理想亲本材料, 可以提高杂交率, 减少人工制种成本^[1], 目前, 许多蔬菜作物都已经将雄性不育系成功应用于一代杂种生产^[2]。与其他蔬菜作物相比, 有关芹菜雄性不育的报道还很少, 至今只有 Quiros 等在 1986 年报道过 1 例野生型芹菜雄性不育系^[3], 由于其野生性状难以去除, 因此, 在很长时间内都不能用于芹菜杂交育种^[4]。2002 年, 我们在一个西芹高代自交系 01-3 采种田内发现雄性不育种株, 不育性状经过测交试验证明是可以稳定遗传的。本试验对芹菜雄性不育花药的发育过程进行细胞学初步观察, 旨在探讨其雄性败育时期和形成机制, 为进一步利用这一新品种材料提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料为芹菜自交系 01-3 中的雄性不育株 01-3A, 以同系内可育株 01-3B 作为对照。

1.2 方法

在盛花期, 分别从 01-3 芹菜不育株和可育株上取不同大小的花蕾, 投入卡诺氏液固定 30 min, 经 95% 酒精浸洗后转入 80% 酒精过夜, 脱水后用二甲苯进行五级透明, 石蜡包埋后切片, 厚度为 7 μ m, 苏木精染色, 光学树胶封固^[5]。MoticBA 200 显微镜观察并照相。

2 结果与分析

2.1 正常花与不育花形态比较

在小花开放之前, 用肉眼观察很难将可育花与不育花区分开, 其大花伞、小花伞以及小花的外部形态基本一致(表 1)。当小花即将开放时(大蕾期), 用放大镜或解剖镜观察花药, 可明显看出二者区别。正常可育花的花药非常饱满, 呈近圆形, 浅绿色, 而不育花花药相对瘦长, 褐黄色。待小花充分开放后, 正常花花丝伸长明显, 花药爆裂, 花粉散出; 而不育花花丝伸长程度明显短于正常花, 花药更加瘦瘪, 颜色变褐, 没有爆裂过程(图 1), 显微镜下观察花药内没有花粉。不育花花柱可以正常伸长, 顶部膨大, 分

收稿日期: 2006-10-20

基金项目: 天津市农科院院长基金项目(04015)

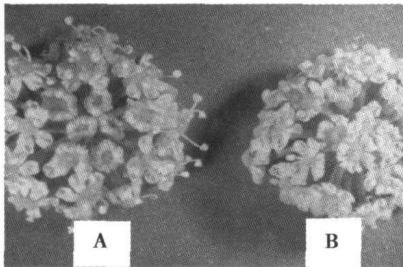
作者简介: 陆子梅(1963-), 女, 天津人, 高级农艺师, 主要从事蔬菜新品种选育和推广工作

通讯作者: 高国训(1967-), 男, 天津人, 副研究员, 硕士, 主要从事蔬菜遗传育种研究工作。

泌粘液,可接受花粉,而且花柱周围也生有蜜盘,可以吸引昆虫前来传粉。

表 1 芹菜正常株和不育株大花伞、小花伞和小花比较

Tab. 1 Comparison of floral organ between normal and male sterile plant in celery										
材料 Material	大花伞小伞数 Number of small umbels	小花伞 Small umbel		小花 Individual flower		花药 Anther				
		直径/mm Diameter	小花数 Number of flowers	直径/mm Diameter	花丝长/mm Filament length	大小/ μm Size	形状 Shape	饱满度 Plumpness	颜色 Color	花粉有无 Pollen
01-3A	18. 7	8. 3	21. 0	2. 6	0. 60	391. 2 \times 323. 9	长椭圆形	瘦瘪	褐黄	无
01-3B	19. 2	8. 8	21. 4	2. 6	1. 06	351. 5 \times 419. 7	近圆形	饱满	浅绿	有



A. 正常可育花; B. 雄性不育花

A. Normal umbel; B. Male sterile umbel

图 1 芹菜正常可育花与雄性不育花充分开放状态

Fig. 1 Opening umbel of normal and male sterile plant in celery

2.2 可育株 01-3B 花药发育的细胞学特点

2.2.1 造孢细胞期 一个花药分化成 4 个药室,中间有药隔相连。每个药室中央是数个造孢细胞,外面有 4 层药壁细胞,从外到里依次是表皮、纤维层、中层和绒毡层。造孢细胞经过几次有丝分裂,形成小孢子母细胞(图 2A)。

2.2.2 小孢子母细胞期 小孢子母细胞位于小孢子囊的中央,细胞体积较大,核仁着色深。表皮纤维层、中层细胞体积小、扁平、核小、着色浅,绒毡层细胞体积大,细胞质浓,染色深、富含营养(图 2B)。

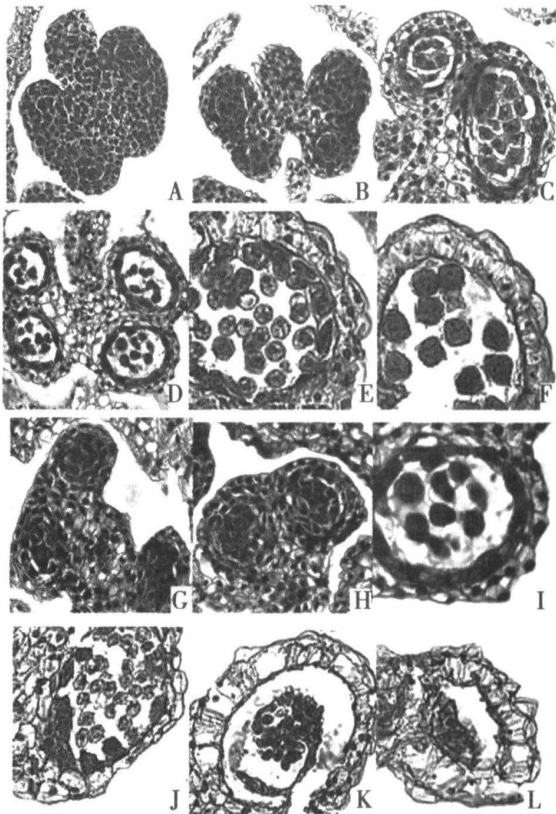
2.2.3 减数分裂期 当小孢子母细胞进行减数分裂时,体积增加,排列紧凑,同时药室中层的细胞变成扁平状,开始趋于退化解体;绒毡层细胞进一步发育,可观察到双核,细胞质着色深(图 2C)。

2.2.4 四分体期 小孢子母细胞经过减数分裂形成聚在一起的四分单核小孢子,由胼胝质包被。同一花药内小孢子母细胞在发育上并不完全同步(图 2D)。

2.2.5 小孢子期 包被在四分体外的胼胝质壁溶解后,小孢子被释放出来,分散在花粉囊中,随着小孢子的发育,纤维层开始增厚,绒毡层细胞开始解体(图 2E)。

2.2.6 花粉粒成熟期 小孢子经过有丝分裂形成 1 个生殖核和 1 个营养核,生殖核再经过一次有丝分裂形成 2 个生殖核,最终发育成为成熟花粉粒。此时,绒毡层完全解体,只剩下表皮层和明显加厚的纤维

维层细胞(图 2F)。



A. 01-3B 造孢细胞期 (300 \times); B. 01-3B 小孢子母细胞期 (200 \times); C. 01-3B 减数分裂期 (400 \times); D. 01-3B 四分体期 (200 \times); E. 01-3B 小孢子期 (400 \times); F. 01-3B 花粉粒成熟期 (400 \times); G. 01-3A 造孢细胞期 (300 \times); H. 01-3A 花粉母细胞期 (300 \times); I. 01-3A 四分体期 (400 \times); J. 01-3A 绒毡层退化期 (400 \times); K. 01-3A 单核花粉晚期 (400 \times); L. 01-3A 花粉败育终期 (400 \times)

A. 01-3B sporogenous cell stage (300 \times); B. 01-3B microsporocyte stage (200 \times); C. 01-3B meiotic stage (400 \times); D. 01-3B microspore tetrad stage (200 \times); E. 01-3B microspore stage (400 \times); F. 01-3B mature pollen stage (400 \times); G. 01-3A sporogenous cell stage (300 \times); H. 01-3A microsporocyte stage (300 \times); I. 01-3A microspore tetrad stage (400 \times); J. 01-3A degenerated tapetum stage (400 \times); K. 01-3A single nucleus microspore late stage (400 \times); L. 01-3A pollen abortion late stage (400 \times)

图 2 芹菜可育株 01-3B 和不育株 01-3A 花药发育过程

Fig. 2 The anther development process of normal 01-3B and male sterile 01-3A plant in celery

2.3 不育株 01-3A 花药发育的细胞学特点

不育株花药发育过程中,前期发育看不出细胞形态上的异常现象,造孢细胞可以经过有丝分裂形

成小孢子母细胞(图 2-G, 2-H), 小孢子母细胞再经过减数分裂形成四分体(图 2-I)。在单核小孢子从四分体释放出来不久, 绒毡层开始解体退化, 这个时间要比可育株早(图 2-J), 退化速度快, 至此以后, 小孢子基本停止继续发育, 出现聚集, 相互粘连在一起(图 2-K), 直至解体, 使得花粉彻底败育(图 2-L)。这个过程和田间观察的结果是一致的(图 1)。

3 讨论

3.1 芹菜雄性不育花药败育时期的确定

Laser 等在总结大量被子植物雄性不育研究结果的基础上认为, 花药发生败育的形式和时期是多种多样的, 即使同一种作物, 其不同类型、不同来源的雄性不育小孢子败育时期也不尽相同, 双子叶植物花药败育多在四分体时期或小孢子早期发育阶段^[6,7]。Quiros 等研究表明, 他们发现的芹菜核不育小孢子发生直到第二次细胞分裂末期仍然正常, 这之后细胞出现衰退, 导致花药完全缺乏花粉^[3], 这个时期属于四分体后期。本试验观察到的败育时期稍晚一些, 是在单核小孢子形成并释放以后发生的。

3.2 芹菜花药败育原因的探讨

很多关于雄性不育细胞学研究都表明, 不育的发生与绒毡层异常发育有关^[2]。绒毡层细胞的生理

功能主要是为小孢子发育提供营养物质和结构物质, 绒毡层细胞的异常, 也会影响绒毡层细胞和小孢子之间的物质、能量和信息的传递, 最终导致小孢子败育。本试验发现, 不育花药绒毡层解体时间比正常可育花药早, 这可能影响了小孢子后期发育营养供给, 最终导致败育。至于不育花药绒毡层为什么会提前解体, 还需要进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Kaul M L H. Male sterility in higher plants[M]. New York: Springer-Verlag, 1988.
- [2] 马艳青, 邹学校. 蔬菜雄性不育研究与应用进展[J]. 作物研究, 2004(5): 414-420.
- [3] Quiros C F, Rugama A, Dong Y Y, *et al.* Cytological and genetic studies of a male sterile celery[J]. Euphytica, 1986, 35: 867-875.
- [4] Quiros C F. Celery, in Genetic Improvement of Vegetable Crops[M]. Oxford: Pergamon Press, 1993.
- [5] 黄桂芬, 杜桂森. 生物显微制片技术[M]. 北京: 科学技术出版社, 1991.
- [6] Laser K D, Lersten N R. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile giosperms[J]. Bot Rev, 1972, 38: 425-454.
- [7] 张 丽, 宫国义, 魏毓棠, 等. 萝卜雄性不育小孢子发生的形态学研究[J]. 华北农学报, 2002, 17(3): 84-89.