

番茄雄性不育突变体小孢子发育的细胞学研究

袁亦楠, 朱德蔚, 连 勇, 戴善书, 陆长旬

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 利用光镜和透射电镜对番茄雄性不育突变体 95305 的小孢子发育进行了细胞学观察。结果表明, 小孢子的败育发生在小孢子母细胞时期、四分体时期以及单核小孢子时期。绒毡层细胞行为异常, 表现为小孢子母细胞时期提早被破坏解体, 或绒毡层细胞多层径向分化, 异常肥厚, 挤压单核期的小孢子。此外败育方式还有单核中期小孢子无法进行外壁沉积, 或小孢子的细胞质被降解成空壳, 以及花药畸形, 花药上长出许多附属物等异常现象。

关键词: 番茄; 雄性不育; 小孢子发育

中图分类号: S641. 203. 53 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2000)03- 0061- 05

由于植物雄性不育性在杂种一代生产上有巨大的利用价值, 在一些蔬菜作物如白菜^[1]、萝卜^[2]上都有过广泛的研究。番茄的雄性不育基因是由核基因控制的。在番茄中有许多雄性不育突变体^[3]。Sawhney 等^[4]曾对一个雄性不育突变体(st 2/st 2)进行过详细的细胞学观察, 发现小孢子的败育是由绒毡层的延迟解体造成的。但一般认为小孢子败育的时期和方式随植物种类和不同雄性基因而异^[2]。本试验利用光镜和透射电镜对一个番茄雄性不育突变体 95305 的小孢子败育时期、特点进行了研究, 以期在生产上选育番茄雄性不育系提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的番茄雄性不育材料 95305 和可育材料早粉二号分别由本所加工番茄组和鲜食番茄组提供。供试材料于 1996 年 2 月温室育苗, 4 月定植于本所农场, 5 月采不同长度的花蕾, 参照 Sawhney^[4]的分期标准, 把小孢子的发育分为 6 个时期, 即小孢子母细胞时期、四分体时期、单核早期、单核中后期、双核期、成熟花粉粒时期。

1.2 方法

取不同长度的花蕾中的花药, 用 2.5% 戊二醛及 1% 锇酸双重固定, 经各级精脱水, 再由环氧丙烷过渡到包埋剂 环氧树脂 Epon 812, Leica ULTRACUT R 进行半薄切片, 厚度为 1 μm , 用 1% 甲苯胺蓝-O 染色, 加拿大树脂胶封片, Olympus 显微镜观察拍照; 用 LKB-88000 型超薄切片机进行超薄切片, 切片厚度为 500 \AA 用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色, 在 H-500 型电子显微镜下观察拍照。

收稿日期: 1999- 09- 26

基金项目: 农业部蔬菜生理与遗传重点实验室课题

作者简介: 袁亦楠(1970-), 博士, 主要从事番茄育种研究工作。

2 结果与分析

2.1 可育材料的小孢子发育过程

2.1.1 小孢子母细胞时期 小孢子母细胞之间由胞间连丝连接。细胞质染色很深。高尔基体、线粒体及各种形状的质体分布其中,细胞质中还含有一些小液泡及短枝状核糖体。此时绒毡层细胞有较大的细胞核,丰富的线粒体及内质网,并且内质网分泌前乌氏体小泡(图 1-B)。

2.1.2 四分体时期 小孢子母细胞完成正常的减数分裂,四个小孢子处于共同的胼胝质中。小孢子质膜外形成片状或管状结构的原外壁。

2.1.3 单核小孢子早期 小孢子从四分体中一释放,外壁已形成,显示出覆盖层、基粒棒和基足层的结构。单核小孢子被释放后渐呈圆形,细胞核位于小孢子中央。细胞质较稠密,内含线粒体及许多质体;液泡系活跃,有许多液泡。花粉内、外壁正在形成。此时绒毡层细胞线粒体丰富,内质网极其发达,分泌大量乌氏体,促进花粉壁的形成(图 1-C)。

2.1.4 单核小孢子中后期 大液泡开始形成,向一边挤压细胞质,细胞质中有大量的线粒体、棒状质体及短枝状核糖体。小孢子的内、外壁正在形成,此时绒毡层开始降解。小孢子靠边期,细胞核被彻底挤压在一边,细胞质被挤压成带状,细胞质中有许多线粒体及质体分布,绒毡层仍在继续降解,内、外壁基本发育好。

2.1.5 双核期小孢子 可见一染色较淡的营养细胞和一染色较深的生殖细胞。生殖细胞位于对着萌发孔的方向。生殖细胞与营养细胞之间有一层壁分开,在生殖细胞内有线粒体及枝状核糖体。此时绒毡层细胞已完全解体。

2.1.6 成熟花粉粒时期 小孢子进入成熟花粉粒时期,淀粉粒充实,细胞质染色较深。

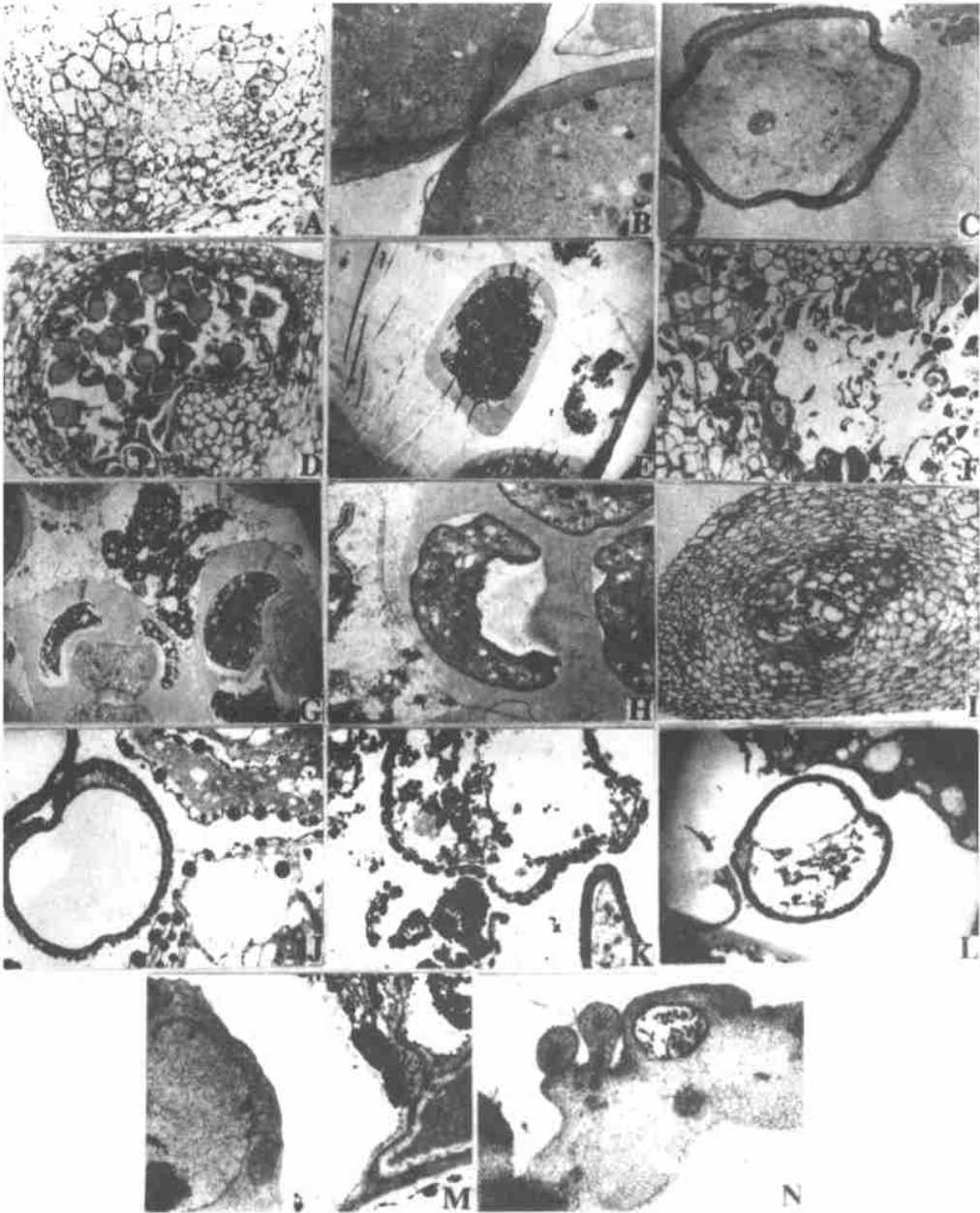
2.2 雄性不育材料的小孢子发育过程

2.2.1 小孢子母细胞时期 雄性不育材料 95305 的小孢子败育可发生在小孢子母细胞减数分裂的各个阶段。有的药腔内,可见有的花粉母细胞已经败育成由胼胝质包被着的一团黑块,并解离到药腔内,也有的败育的很彻底,只见一些黑色的残迹,这样药室的绒毡层通常也有不同程度的破坏。绒毡层细胞染色极深,内含许多亲钼小体和液泡。留下块状或条状的染色深的败育物。有的绒毡层细胞脱落进药腔,并溶解在小孢子母细胞之间(图 1-D, E, F)。

2.2.2 四分孢子时期 有些小孢子母细胞虽可完成减数分裂,但被胼胝质包被的四分体内的四个小孢子,有的小孢子细胞质已完全降解成染色很深的条状物(图 1-G),此时期可见绒毡层细胞已被破坏,含有大量核糖体的绒毡层细胞脱落进药腔,以及染色极深的绒毡层细胞解体残余物充斥在四分体之间。

2.2.3 单核小孢子早期 不育材料有一部分小孢子从四分体中释放出来,与可育材料相比,形状畸形(图 1-H),内外壁发育很差,这个时期也可见绒毡层细胞块状般脱落,绒毡层细胞富含核糖体和大小液泡。有的药室内绒毡层细胞异常的肥厚,挤压单核期的小孢子,使其破碎解体(图 1-I);总之,不育材料在这个时期绒毡层细胞和小孢子均有异常现象。绒毡层细胞的大量脱落,也许是造成不育材料小孢子外壁发育差的直接原因。

2.2.4 单核小孢子中后期 有的药室绒毡层细胞发育正常,细胞表面附有分泌的乌氏体小



A, D, F, I 和 N 为光镜切片, 其余均为电镜切片。 A- C. 可育材料的小孢子发育时期 (A, B 小孢子母细胞时期, 分别为 400× 和 10 000×。 C. 单核早期小孢子 3 500×) D- N. 不育材料的小孢子发育过程 (D. 正在进行减数分裂的小孢子母细胞败育 400×。 E. 败育的小孢子母细胞 2 000×。 F. 药腔内被破坏的绒毡层细胞及败育的小孢子母细胞 400×。 G. 败育的四分体 2 000×。 H. 从四分体中释放出来的畸形小孢子 4 000×。 I. 花粉囊内肥厚的绒毡层挤压单核期的小孢子 400×。 J. 内外壁发育正常的空壳小孢子 2 500×。 K. 内外壁发育很差、细胞质被分解掉的小孢子 5 000×。 L. 败育的单核靠边期的小孢子 2 000×。 M. 无内外壁的小孢子 10 000×。 N. 畸形花药 250×。)

图 1 番茄雄性不育突变体小孢子发育细胞学观察

泡。但药腔内有大量的败育类型不同的小孢子。有的小孢子内外壁发育正常,但细胞质已被不同程度破坏,只留下一团疏松的细胞质或一个小孢子空壳(图 1- J);细胞内可见分解的细胞质残迹;还有的败育小孢子形状畸形,外壁发育异常(图 1- K)。

2.2.5 绒毡层完全退化期 此时期绒毡层已彻底被破坏掉,只留下一些残迹。但药腔内的大量小孢子还处在单核靠边期,这些小孢子发生严重的质壁分离,细胞质变稀薄,开始解体(图 1- L)。还可见到有些小孢子无内外壁的沉积,呈裸露状态,因此其以后的发育就受到影响(图 1- M)。

雄性不育材料 95305 的小孢子发育过程中还有其他几个异常现象:(1)花药畸形,长出许多附属物(图 1- N)。(2)花粉囊的分化不规则,有 1 个、2 个或 5 个花粉囊分化。(3)雄蕊雌蕊化,不育材料中可见雄蕊雌蕊化现象,雄蕊除了具有花粉囊发育外,还可见到长有许多乳突细胞,在乳突细胞中有类似于绒毡层细胞的分化,但逐渐会降解掉,留下一个空腔。

3 讨论

番茄小孢子体内发育过程在一些文献中有过阐述^[5~7]。雄性可育与雄性不育材料的小孢子的发育会有所差异。Sawhney 和 Bhadula^[8]曾对一个 *st 2/st 2* 雄性不育突变体的小孢子发生进行过细胞学描述,他们认为 *st 2/st 2* 的小孢子败育是由于绒毡层的延迟解体造成的。本试验通过光镜和透射电镜观察发现,雄性不育材料 95305 的败育行为与 *st 2/st 2* 雄性不育突变体不同。95305 的小孢子败育发生在一个很广泛的范围内,从小孢子母细胞时期到单核中后期小孢子的外壁不沉积。败育的形式也有多种,绒毡层和小孢子均有异常现象。绒毡层的发育过程与小孢子发育的不同步,导致了小孢子的不同时期的败育。另外,花药形状畸形的类型也表现不一。有的花药上长出乳突状物,其组成细胞的细胞质稠密,染色很深。在膨大的乳突状顶端内,有一团分化的类绒毡层细胞,细胞质染色较深,内含有许多液泡。但无类绒毡层细胞包被的造孢细胞。这种现象在辣椒的雄性不育突变体上有过描述^[8]。有的畸形花药内,虽无药室分化,但也可见一团这类细胞,与周围的药壁细胞区别开来。也有的花药上长出翼状物,翼状物顶端为染色很深的排列很紧密的细胞。花药的药室分化也不规则,药室数目从一到五不等。在这些药室内,绒毡层排列极不规则。有多层绒毡层的分化,肥厚的绒毡层挤压单核小孢子使其破碎。绒毡层的提前解体和绒毡层的延迟退化在本研究中均发现导致了小孢子的不同阶段的败育。

上述结果表明,番茄雄性不育材料 95305 败育可发生在小孢子发育的各个时期,具有多种败育方式。

鸣谢:本研究得到本所鲜番茄组杜永臣老师、高振华老师及王孝宣同志的帮助,谨以致谢。

参考文献:

- [1] 孙日飞, 吴飞燕, 司家钢, 等. 大白菜核雄性不育两用系小孢子发生的细胞形态学研究[J]. 园艺学报, 1995, 22(2): 153– 156.
- [2] 董庆华, 利容千, 王建波, 等. 萝卜雄性不育系花药发育的细胞形态学研究[J]. 武汉大学学报, 1996, 42 (2): 207– 212.
- [3] Atherton J G, Rudich J. 雄性不育[M]. 郑光华, 沈征言, 译. 北京: 北京农业大学出版社, 1986. 89– 94.
- [4] Sawhney V K, Bhadula S K. Microsporogenesis in the normal and male sterile stamenless 2 mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum*) [J]. Can J Bot, 1988, 66: 2013– 2021.
- [5] Pacini E, Juniper B. The ultrastructure of pollen grain development in *Lycopersicon peruvianum* [J]. Cytologia, 1984, 37: 21– 50.
- [6] Polowick P L, Sawhney V K. An ultrastructural study of pollen development in tomato (*Lycopersicon esculentum*). I . Tetrad to early binucleate stage [J]. Can J Bot, 1993, 71: 1039– 1047.
- [7] Polowick P L, Sawhney V K. An ultrastructural study of pollen development in tomato (*Lycopersicon esculentum*) II . Pollen maturation [J]. Can J Bot, 1993, 71: 1048– 1055.
- [8] Mohan L H Kaul. Male sterility in higher plants [M]. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1988, 756– 757.

Cytological Investigations on Microspore Development in the Male Sterile *L. esculentum* var. 95305

YUAN Yiran, ZHU De wei, LIAN Yong, DAI Shan shu, LU Chang xun

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Comparative observations on microspore development in a male sterile 95305 and fertile plants of *L. esculentum* were made with light and transmission electron microscopy. The results showed that the microspore abortion occurred at the stage of microspore mother cell, tetrads and uninucleate microspore. The tapetal cells were desolved completely earlier than that of normal male fertile material, or divided into multilayer to press the microspores. Other kinds of microspore abortion such as the failure of exin deposition also were reported. In addition, some anthers were deformed and had pistillody.

Key words: Tomato; Male sterility; Microspore development