

普通小麦 T 型、V 型和 K 型细胞质 雄性不育系花粉败育机理的细胞学研究

李传友 孙兰珍

(山东农业大学农学系,泰安 271018)

摘 要 从细胞学的角度对小麦 83(21)35 核背景的 T 型、V 型和 K 型细胞质雄性不育系的花粉败育机理进行了研究。发现三类不育系的小孢子发生过程基本正常,T 型不育系的花粉主要在小孢子后期发生败育,以典败型和圆败型为主;V 型不育系的花粉主要在小孢子后期至二细胞花粉期败育,以圆败型和浅染败型为主;而 K 型不育系的花粉主要在二细胞花粉后期至三细胞花粉期败育,以浅染败型和深染败型为主。药室合并现象普遍发生是 T 型不育系花药的一个突出特点,而 V 型和 K 型不育系花药各壁层的发育是正常的。核质发育关系不协调是不育系花粉败育的根本原因。细胞学观察结果可以作为不育细胞质类型划分的一项参考指标。

关键词 小麦 细胞质雄性不育性 同核异质 花粉败育 细胞学

在杂种小麦研究中,利用最多的是具有提莫非维(*T. timopheevii*)细胞质的 T 型不育系(cms-T)。但三十多年的应用研究表明,T 型不育系存在恢复源狭窄、种子皱缩、发芽率低等缺点,致使 T 型杂种小麦至今未能在生产上大面积推广应用。杨天章等在日本学者 Tsunwaki K. 等研究工作的基础上,把中国 1B/1R 类型品种的细胞核分别置换到秣谷山羊草(*Ae. kotschyi*)和偏凸山羊草(*Ae. ventricosa*)的细胞质中,育成了 K 型(cms-K)和 V 型(cms-V)小麦雄性不育系。初步研究表明,cms-K 和 cms-V 恢复源广,恢复度高,种子饱满,克服了 T 型不育系的主要缺点,在杂种小麦研究中具有广阔的应用前景^[1]。

许多学者对 T 型不育系的花粉败育过程进行了细胞学观察,认为 T 型不育系花粉败育的关键时期是小孢子后期^[3]。但关于 K 型和 V 型不育系的花粉败育过程,尚未见报道。本文以一组同核异质系为材料,对 T、V、K 三类不育系的花粉败育过程进行了细胞学比较观察,并对三类不育系的花粉败育方式作了较为详尽的描述。

1 材料和方法

观察材料为一组同核异质系 T83(21)35A、V83(21)35A、K83(21)35A 和 83(21)35B。四

者核遗传背景相同而细胞质来源不同。

199 年 12 月中旬至 1993 年 1 月中旬,温室材料取样。从旗叶露尖至花期,每日(或隔日)选取发育一致的健壮分蘖穗,经 Carnoy 液(冰醋酸:95%酒精=1:3)固定 8~24h,后转入 70%酒精置 4℃冰箱保存。1993 年 4 月至 5 月,大田材料取样,方法同上。采用常规石蜡制片法制片,海登汉氏铁矾-苏木精染色。部分材料用醋酸洋红压片法观察。

1993 年 5 月,从大田采集临近开花的小花(成熟花粉粒期),取出花药,以碘-碘化钾溶液染色压片,观察花粉粒中淀粉积累的情况。1994 年 5 月,重复该项工作。

2 结果与分析

2.1 T 型不育系

T 型不育系小孢子母细胞的形态及减数分裂活动一般是正常的。小孢子四分体及早期小孢子的形态与保持系大体相似。虽然在小孢子发生过程中也观察到一些异常现象,如小孢子母细胞粘连成原生质团而死亡(附图-2)、小孢子母细胞退化(附图-3)、药室分化不良(附图-4)等,但这些异常现象毕竟是少数,不是造成雄性败育的主要原因。可以肯定,T 型不育系小孢子发生过程基本正常,但绝大多数具大液泡的小孢子不能完成第一次有丝分裂,即不能进入雄配子体发育阶段而败育,只有极少数能够发育到二细胞花粉初期或中期。因此 T 型不育系花粉败育的关键时期是小孢子后期(小孢子大液泡期或单核靠边期)。

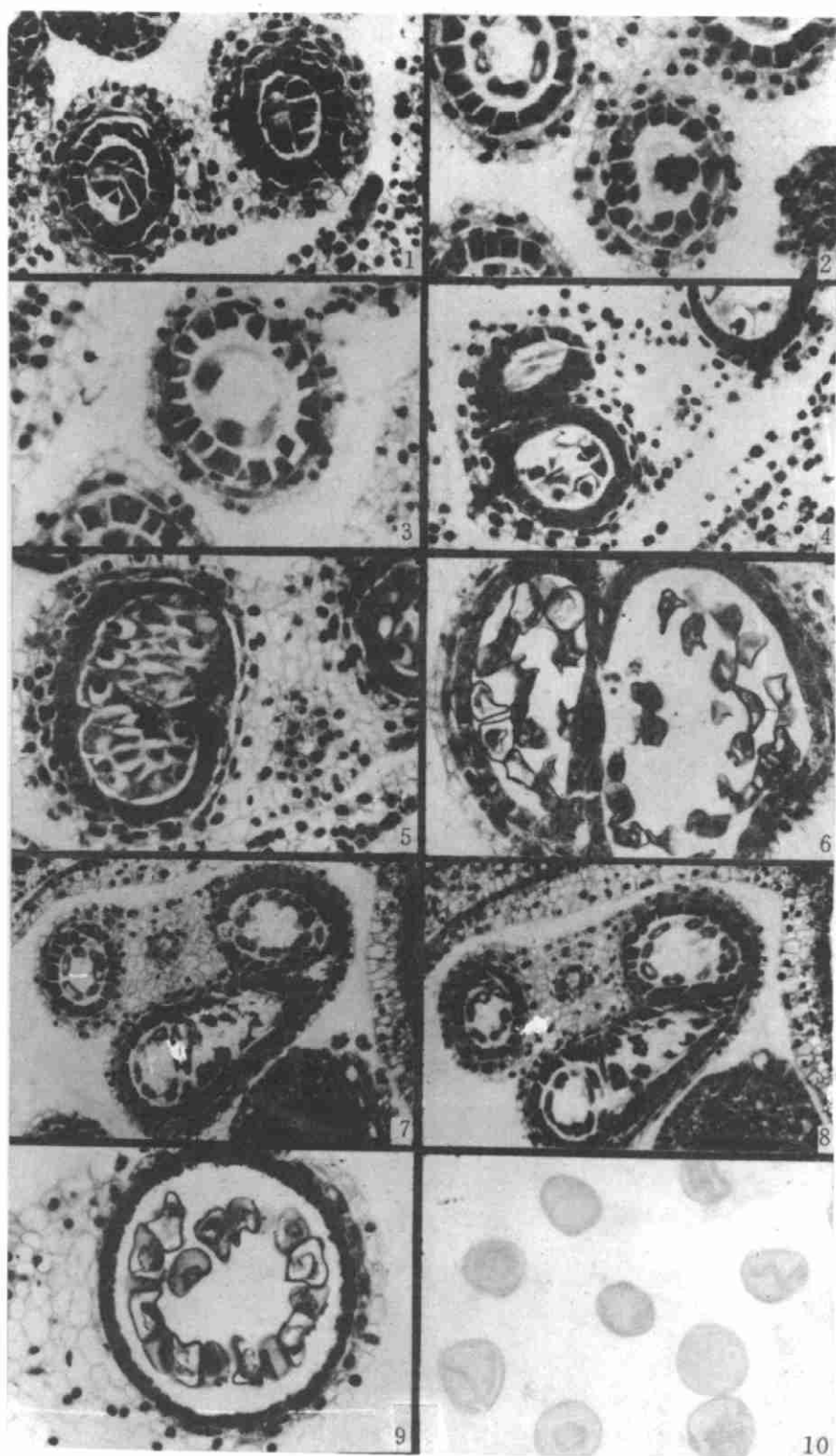
值得注意的是 T 型不育系花粉的败育首先从细胞质开始而后才是细胞核。细胞质随同液泡一起发生强有力的收缩,质壁分离,这是花粉败育开始的标志(附图-9)。以后,细胞质染色变浅,逐渐解体最终消失。核的解体要晚于细胞质,当细胞质解体近完毕时,核尚可见及,但已显著变小,呈高度凝缩状态(附图-9)。有时甚至看到个别小孢子细胞质已相当稀薄,而核仍在分裂中。细胞质和细胞核解体后,剩下的只是空壳花粉。由于败育时花粉壁加厚的程度不同,最终 T 型不育系的花粉有的呈三角形、帽状等各种不规则的形状,有的呈圆形(附图-10)。

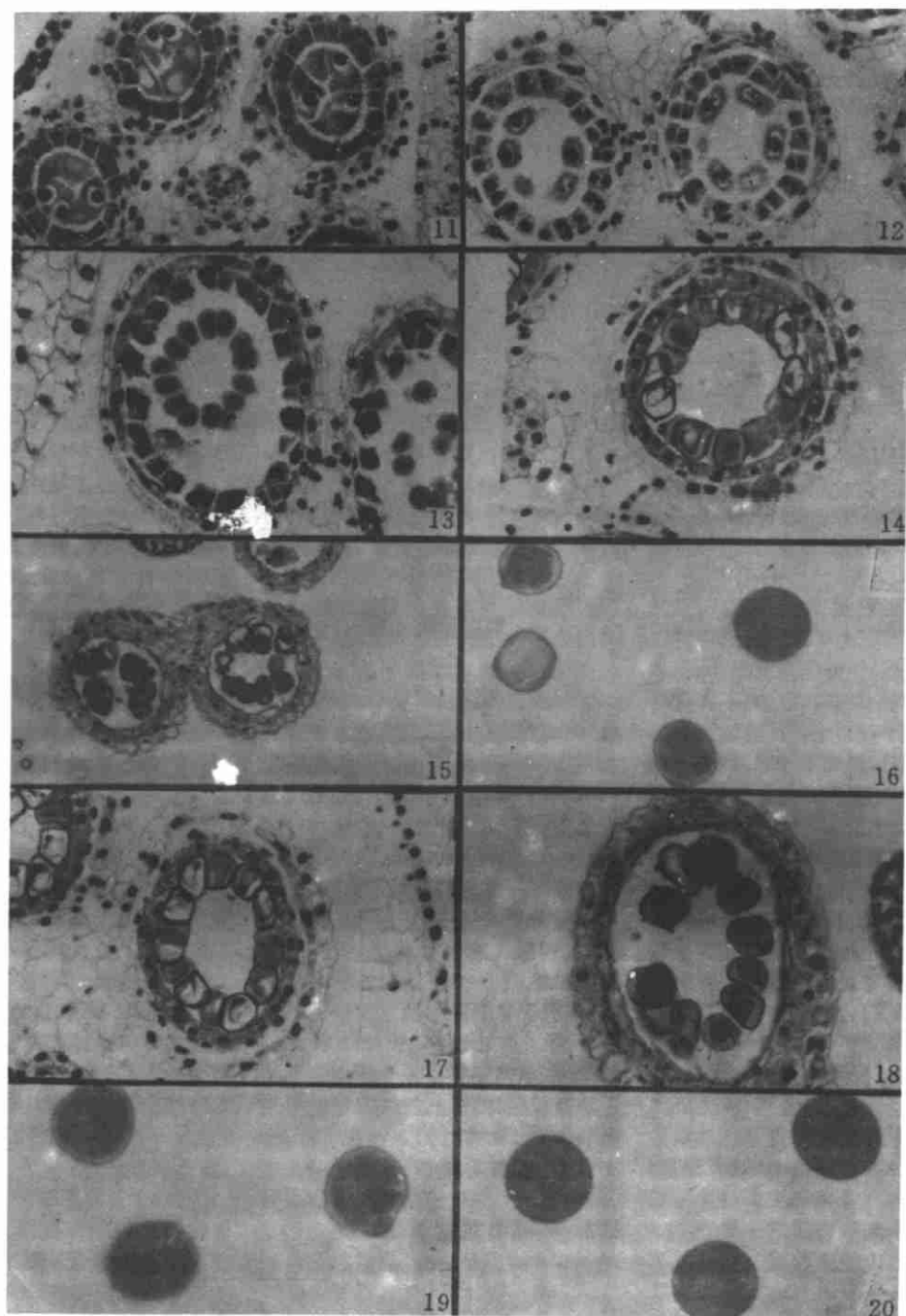
药室合并现象普遍发生是 T 型不育系花药的一个突出特点。保持系的花药都为四个药室,而 T 型不育系的花药则有四室,三室,二室,甚至一室,其中以二室和三室较普遍。T 型不育系花药药室数的减少,一种情况是花药发育早期药室发生时药室数就定下(附图-1),另一种情况是药室发生合并造成的。经常可以看到药室合并的过渡情形(附图-5,6),并看到药室二次合并现象(附图-7,8)。连续切片观察表明,药室合并通常是由花药两端向中部逐渐进行。合并后的药室多呈不规则的形状,其中的小孢子散乱分布,呈急剧解体状态(附图-6)。

值得一提的是,T 型不育系药室合并现象非常普遍的实验结果与席湘媛^[5]的观点一致。而北京大学生物系^[3]则认为 T 型不育系药室合并仅是个别现象。这可能与研究材料的基因型不同有关,可见核遗传背景对 T 型不育系花粉败育的细胞学特征是有一定影响的。

2.2 V 型不育系

V 型不育系的小孢子发生过程正常(附图-11~14),但与 T 型不育系不同的是,V 型不育系的绝大多数小孢子能够进入雄配子体发育阶段。这些小孢子顺利地完成了第一次有丝分裂,形成一个营养细胞和一个生殖细胞,但生殖细胞不能进入有丝分裂而败育(附图-15)。因此,V 型不育系花粉败育的关键时期是小孢子末期至二细胞花粉期。





附图 小麦 83(21)35 细胞质雄性不育系花粉败育细胞学观察

1~10. T83(21)35A 细胞学照片, 1. 小孢子母细胞期, 示二室花药; 2. 小孢子母细胞粘连; 3. 小孢子母细胞退化; 4. 药室分化不良; 5、6. 药室合并的过渡状态; 7、8. 示药室二次合并现象; 9. 败育中的小孢子; 10. 成熟花粉的碘-碘化钾染色压片; 11~16. V83(21)35A 细胞学照片, 11. 小孢子母细胞期; 12. 小孢子母细胞减数分裂产期 I; 13. 二分体期; 14. 小孢子后期; 15. 二细胞花粉期, 花粉显示败育迹象; 16. 成熟花粉的碘-碘化钾染色压片; 17~19. K83(21)35A 细胞学照片, 17. 小孢子后期; 18. 二细胞花粉后期; 19. 成熟花粉的碘-碘化钾染色压片; 20. 保持系 83(21)35B 成熟花粉的碘-碘化钾染色压片。

V 型不育系花粉在小孢子末期的败育通常是细胞质先于细胞核而解体,这与 T 型不育系花粉的败育方式相似。而二细胞花粉的败育则从生殖细胞开始,一般是生殖核先发生异常,核膜破裂,释放出染色较深的核物质。接着营养核也显示不正常,形成不定形的染色质团块。随后,细胞质也解体。这样,整个原生质团染色逐渐变浅直至消失,最后形成具萌发孔的空壳花粉。还有近 50% 的花粉败育较晚,败育前营养细胞和细胞质已发挥了部分功能,积累了少量淀粉颗粒和其它营养物质,这样的花粉能够部分染色(附图—15,16)。

花药壁层的发育与保持系相似。中层和绒毡层发育正常并能适时解体。我们认为,在光镜水平,至少从细胞形态上,看不出花药壁层发育异常与 V 型不育系花粉败育之间的必然联系。

2.3 K 型不育系

与 T 型、V 型相比,K 型不育系花粉败育时期最晚。观察表明,K 型不育系的小孢子发生过程及二细胞花粉期以前的花粉发育过程与保持系基本相似(附图—17)。85% 以上的花粉在二细胞花粉期或三细胞花粉期发生败育。花粉在即将成熟前走向败育是 K 型不育系的突出特点。这是否正是 K 型不育系易恢性较好的原因^[1],值得深入探讨。

压片观察表明,K 型不育系的花粉败育主要是由于核行为的异常造成的,表现为:(1)部分花粉在生殖细胞分裂前显示败育迹象,生殖核和营养核先后解体,核物质被抛出而逐渐消解;(2)有一些花粉,生殖细胞能够进入有丝分裂,但在分裂过程中常见到染色颗粒外渗现象,或长期停滞于中期状态,而营养细胞败育迹象不明显;(3)还有一定比例的花粉,生殖细胞能够完成有丝分裂,形成近乎正常的三细胞花粉,但田间套袋自交结果表明,这些花粉仍然没有受精能力。在上述几种情况下,细胞质败育不明显,花粉中积累了较多的内含物,能够染色(附图—18,19)。

同 V 型不育系一样,K 型不育系花药壁层的发育是正常的。看来这两类不育系花粉败育的原因更有可能在花粉细胞内部。

2.4 三类不育系成熟花粉的碘—碘化钾染色反应

在植物雄性不育性研究中,常以碘—碘化钾染色反应来鉴定花粉育性。根据败育花粉的碘—碘化钾染色反应及外观形态,在借鉴前人工作的基础上,作者把小麦 T、V、K 三类不育系的花粉划分为以下几类:

典型型:败育发生在小孢子形成单核花粉粒时期。花粉空秕,皱缩,呈三角形,帽状等各种不规则的形状。碘—碘化钾染色不着色。

圆败型:败育发生在小孢子后期至二细胞花粉前中期(尚未积累淀粉粒)。花粉呈圆球形空壳状。碘—碘化钾染色不着色。

浅染败型和深染败型:败育主要发生在二细胞花粉后期至三细胞花粉期。花粉较饱满或饱满,呈圆球形。碘—碘化钾反应表现程度不同的染色。由于花粉走向败育的先后有差异,其中所含淀粉粒的多少不同,为了区别,把这种类型的败育花粉又细分为浅染败型和深染败型。

表 1 中列出了三类不育系成熟花粉的碘—碘化钾染色反应结果。可见,三类不育系的花粉在发育过程中,败育和异常在各个阶段都有发生,但 T 型不育系的花粉以典型型和圆败型为主(附图—10);V 型不育系的花粉以圆败型和浅染败型为主(附图—16);而 K 型不育系的花粉以浅染败型和深染败型为主(附图—19)。这同时验证了上述细胞学观察的结果,即三类不育系花粉败育的关键时期不同。

表 1 三类不育系成熟花粉的碘—碘化钾染色反应

不育系 类型	材料	检查 花粉数	典型型		圆败型		浅染败型		深染败型	
			花粉数	%	花粉数	%	花粉数	%	花粉数	%
T 型	T83(21)35A	2076	884	42.6	1044	50.3	148	7.1	0	0
V 型	V83(21)35A	1283	134	10.4	481	37.5	614	47.8	54	4.3
	V149A	4617	846	18.3	1291	27.9	2265	49.1	215	4.7
K 型	K83(21)35A	1466	39	2.7	40	2.7	584	39.8	803	54.8
	K149A	3366	208	6.2	241	7.2	1208	35.9	1709	50.7

3 讨论

3.1 核—质发育关系不协调与不育系花粉的败育

实验中注意到小麦不育系花粉细胞核—质发育关系不协调的种种表现,如 T 型不育系的花粉败育从细胞质开始,K 型不育系的花粉由于核行为的异常而败育等,这促使我们从不育系花粉细胞核—质关系不协调的角度探讨花粉败育的原因。

细胞核和细胞质是细胞生存必不可少的两个部分。在一个生活细胞中,除了核遗传系统外,还有胞质遗传系统(主要包括线粒体遗传系统和叶绿体遗传系统等)。这两个遗传系统有相对独立的一面,更有相互联系、相互渗透、相互影响的一面。在同源核—质组合的情况下,不管是小麦属的普通小麦、提莫非维小麦,还是山羊草属的粘果山羊草、偏凸山羊草,由于长期的进化过程形成了非常协调一致的核—质关系,植株发育正常,花粉可育。但当把普通小麦的细胞核置换到后三种细胞质中时,固有的协调一致的核—质关系被打破,花粉发育过程中核—质之间不能够正常进行信息交流,从而导致了花粉的败育。

生物技术的发展为揭示核—质发育关系不协调而引起花粉败育的具体过程提供了实验手段。有资料表明,T 型不育系花粉败育前线粒体的结构和功能发生了缺陷^[2,4]。Quetier 报道 T 型不育系和保持系线粒体 DNA(mtDNA)的限制性酶切电泳图谱显著不同^[8]。Ricard 用分子杂交技术证明 T 型不育系和保持系的线粒体基因组存在差异^[9]。司智海等发现,孕穗期 T 型不育系和保持系线粒体翻译产物不同^[7]。我们对 K 型、V 型不育系的 mtDNA 进行了 RFLP 分析,发现这两种不育系的线粒体基因组在组成上显著不同于保持系,二者之间也存在差异。上述资料表明,线粒体与小麦细胞质雄性不育性之间可能存在着某种特定的联系。线粒体作为一种半自主性的细胞器,其形态结构的建成和生理功能的发挥受自身的遗传信息和核遗传信息的双重控制。因此,深入研究线粒体与雄性不育性的关系,为最终探明核—质发育关系不协调而导致花粉败育的细节有重要意义。

3.2 小麦不育系花粉败育的时期与其可恢复性

研究植物雄性不育性的最终目的是利用不育系配制杂交种。因此除了要考虑不育系的不育特性外,还要考虑其可恢复性。大量事实说明,不育系花粉败育的时期与其可恢复性之间存在一定的关系。如王培田对水稻雄性不育性的有关研究进行了总结,发现花粉败育早的不育系有较少的恢复系,而花粉败育偏晚的不育系有较多的恢复系。为解释这种现象,他提出了雄性

不育性遗传控制的“通路假说”^[6]。

本研究表明,小麦 T、V、K 三类不育系比较,T 型花粉败育最早,V 型次之,K 型最晚。而且有文献表明,K 型和 V 型不育系比 T 型恢复源更广,恢复度更高^[1],这与水稻上的情况有类似之处。但就此而断定小麦不育系花粉败育的时期与其可恢复性之间存在必然的联系似乎为时过早。因为小麦 K、V 型不育系的可恢复性问题还远未搞清。不过,我们的工作毕竟为最终揭示小麦不育系花粉败育的时期与其可恢复性之间的关系提供了线索。

3.3 同核异质系在小麦不同不育胞质类型研究中的意义

细胞质雄性不育性是核质互作的结果。许多研究表明,在核背景中育性的反应除受主效基因的作用外,还受到修饰基因系统和微效多基因系统的影响。因此,在对不同胞质类型的不育系进行比较研究时,实验材料的选择是很重要的。本研究中,对小麦 T、V、K 三类不育系花粉败育的细胞学特征进行比较研究时,都以 83(21)35 为核背景,即以“同核异质系”为实验材料。这样,T、V、K 三类不育系的核遗传背景相同而细胞质来源不同,三者在细胞学特征上表现出的差异就可以归结为细胞质效应或核质互作效应。

小麦 T、V、K 三类不育系的划分是以细胞质来源为依据的,这仅是初步的划分。根据本研究结果,三类不育系花粉败育的细胞学特征存在显著差异,主要表现为败育时期和败育方式不同。因此,我们认为,以细胞学观察结果作为划分不育胞质类型的参考指标是值得考虑的。

参 考 文 献

- 1 黄铁城. 杂种小麦研究. 北京:北京农业大学出版社,1990
- 2 杜尔宾(袁妙葆译). 植物细胞质雄性不育的遗传学原理. 北京:农业出版社,1980
- 3 北京大学生物系植物遗传育种专业. 雄性不育和雄性能育小麦花药和花粉发育的细胞形态学观察. 植物学报,1976,18(2):141~149
- 4 胡适宜,王模善,徐丽云. 小麦雄性不育系和保持系小孢子发育的电子显微镜研究. 植物学报,1977,19(3):167~171
- 5 席湘媛. 小麦雄性不育系花药和花粉发育的细胞形态学观察. 山东农学院学报,1980(1):15~21
- 6 王培田. 关于雄性不育的通路学说. 自然科学争鸣,1977,5:51~53
- 7 司智海,刘植义. 普通小麦 T 型细胞质雄性不育系及其保持系线粒体多肽的电泳比较研究. 遗传学报,1991,18(1):44~50
- 8 Quetier F, Vedel F. Heterogeneous population of mitochondrial DNA molecules in higher plants. Nature, 1977,265:365~368
- 9 Ricard B. Studies on wheat mitochondrial DNA organization. Comparison of mitochondrial DNA from normal and cytoplasmic male sterile varieties of wheat. Plant Science,1986,43:141~149

Cytological Studies on Pollen Abortion Mechanisms of Cytoplasmic Male Sterile Line of T, V and K Types in Wheat

Li Chuanyou

Sun Lanzhen

(Department of Agronomy, Shandong Agricultural University, Taian 271018)

Abstract The pollen abortion processes of cms-T, V and K in wheat with the same nuclear background (83(21)35) were studied cytologically by light microscopy. It was found that the microsporogenesis of cms-T, V and K were normal. The pollens of cms-T aborted at late microspore stage, mainly in typical and spherical abortion types; those of cms-V aborted at late microspore—2-celled pollen stage, spherical abortion and light-staining abortion were the main types; while those of cms-K aborted at late 2-celled pollen—3-celled pollen stage, light-and black-staining abortion were the main types.

The abnormal fusion of anther locules was very popular in cms-T, while the development of anther wall layers in cms-K or cms-V was normal. The inharmonious relation between nuclear and cytoplasm is the fundamental cause of pollen abortion. The cytological observation can be used as complementary criterion for determining the types of cms.

Key words: Wheat; Cytoplasmic male sterility; Pollen abortion; Isonuclear alloplasmic line, Cytology