

小麦同核异质雄性不育系 花粉发育的超微结构

李传友 孙兰珍

(山东农业大学农学系, 泰安 271018)

摘 要 对小麦 83(21)35 核背景下三种细胞质雄性不育系(T, V, K)及保持系的花粉发育过程进行了超微结构研究,发现 T 型和 V 型不育系花粉败育前和败育中,液泡膜处于解体状态,细胞质和液泡间的有效分隔被破坏,液泡对细胞质的吞噬作用强烈,线粒体等细胞器解体或退化。V 型不育系花药绒毡层内表面缺乏乌氏体分泌。在 K 型不育系花粉败育前,没有观察到线粒体、质体等细胞器结构方面的异常变化,但见到一种同心圆复合膜状结构以很高的频率出现。

关键词 小麦 细胞质雄性不育 同核异质系 超微结构

自 1951 年 Kihara 首次在小麦中发现细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)现象以来,人们一直致力于小麦 CMS 及杂种优势利用的研究。80 年代中期前,具有提莫菲维(*T. timopheevii*)细胞质的 T 型不育系(CMS-T)一直是世界各国杂种小麦研究的基本材料。由于 CMS-T 存在恢复源狭窄,种子皱缩,发芽率低等严重缺点,致使 T 型杂种小麦至今未能在生产上大面积推广应用,因而许多学者非常重视新型小麦雄性不育系的选育工作。国内杨天章等培育成功的具有粘果山羊草(*Ae. kotschyi*)细胞质的 K 型不育系(CMS-K)和具有偏凸山羊草(*Ae. ventricosa*)细胞质的 V 型不育系(CMS-V),较好地克服了 T 型不育系的主要缺点,被认为在杂种小麦研究中具有广阔的应用前景^[1]。

许多学者对 CMS-T 的花粉败育过程进行了细胞学和超微结构的研究,而对 CMS-K 和 CMS-V 而言,尚未见到这方面的报道。已有的研究表明,不同的不育胞质类型,甚至同一胞质类型在不同的核背景下,花粉败育的途径和方式不同。因此,细胞学和超微结构的研究只有在消除了核背景遗传差异的情况下,才能较客观地比较各不育胞质类型的花粉败育途径和方式,而目前这种类型的研究报道较少。本研究以 83(21)35 核背景的同核异质系为材料,首先对小麦 T, V, K 三类不育系的花粉败育过程进行了细胞学研究^[5],继而又对其超微结构进行了比较观察。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为引自西北农业大学的一组小麦同核异质系 T 83(21) 35A、V 83(21) 35A、K 83(21) 35A 及 83(21) 35B, 其中 T 83(21) 35A、V 83(21) 35A、K 83(21) 35A 是以小麦品系 83(21) 35 为轮回亲本经过 10 代以上的回交转育而成, 育性表现稳定。

1.2 方法

从小孢子母细胞减数分裂期至花粉成熟期, 隔日选取麦穗中上部小穗基部小花的花药。材料固定及制样参照胡适宜的方法^[2]。JEM-1200EX 透射电镜观察记录。

2 结果与分析

2.1 T 型不育系

对 T 83(21) 35A, 刚脱离四分体的小孢子, 内部结构同保持系相似(图 1-A)。但“小液泡期”至“大液泡期”, 绝大多数小孢子显示出明显的败育迹象, 表现为:

(1) 液泡对细胞质的吞噬作用强烈。在保持系中, 小液泡顺利合并成中央大液泡, 小孢子逐渐变为圆球形, 细胞质呈一薄层, 核移动至细胞一侧。而对不育系小孢子, 可能是小液泡合并成大液泡的过程发生了某种故障, 导致液泡膜解体, 细胞质物质浸入液泡中而被其中的水解酶消化。一旦液泡膜被破坏, 液泡对细胞质的吞噬作用便呈不可控制状态(图 1-E, F), 最终细胞质被消化殆尽, 只剩下花粉空壳。

研究表明, 液泡也是细胞质中的一种细胞器, 它具有溶酶体的功能。液泡本身在功能上相当于溶酶体的小室, 其中充满了各种水解酶^[3]。在保持系中, 也常看到液泡对部分细胞质的消化作用, 即液泡膜内陷, 把部分细胞质包入其中加以消化(图 1-C), 这可能是小孢子发育过程中细胞质重组的一种方式。但在 T 型不育系中, 小孢子的这种细胞质重组过程不能正常进行, 由于液泡膜解体, 液泡内的各种水解酶与细胞质间的有效分隔被打破, 细胞质被消化直至消失。这可能是小孢子败育的原因之一。

(2) 线粒体等细胞器解体或退化。小孢子早期, 不育系和保持系都含有丰富的细胞器, 呈发育初期状态(图 1-A)。“小液泡期”之后, 保持系小孢子中各种细胞器进一步发育, 线粒体体积增大, 嵴变得更加清晰(图 1-B)。而在 T 型不育系中, 线粒体处于解体状态, 膜及内部结构模糊不清, 基质呈透明状(图 1-D)。线粒体结构的不正常必然引起其生理功能的缺陷甚至丧失, 这也可能是小孢子败育的原因。

2.2 V 型不育系

对 V 83(21) 35A, 其花粉败育的超微结构特点也突出地表现在液泡对细胞质的吞噬作用强烈及线粒体等各种细胞器的解体, 只是发生的时期较 T 型不育系偏晚(图 1-H, I)。另外, 还观察到 V 型不育系花药绒毡层内膜表面乌氏体的发育不正常(数量很少或没有; 图 1-I, J)。这是 V 型不育系有别于保持系和其它两种不育系的显著特点。

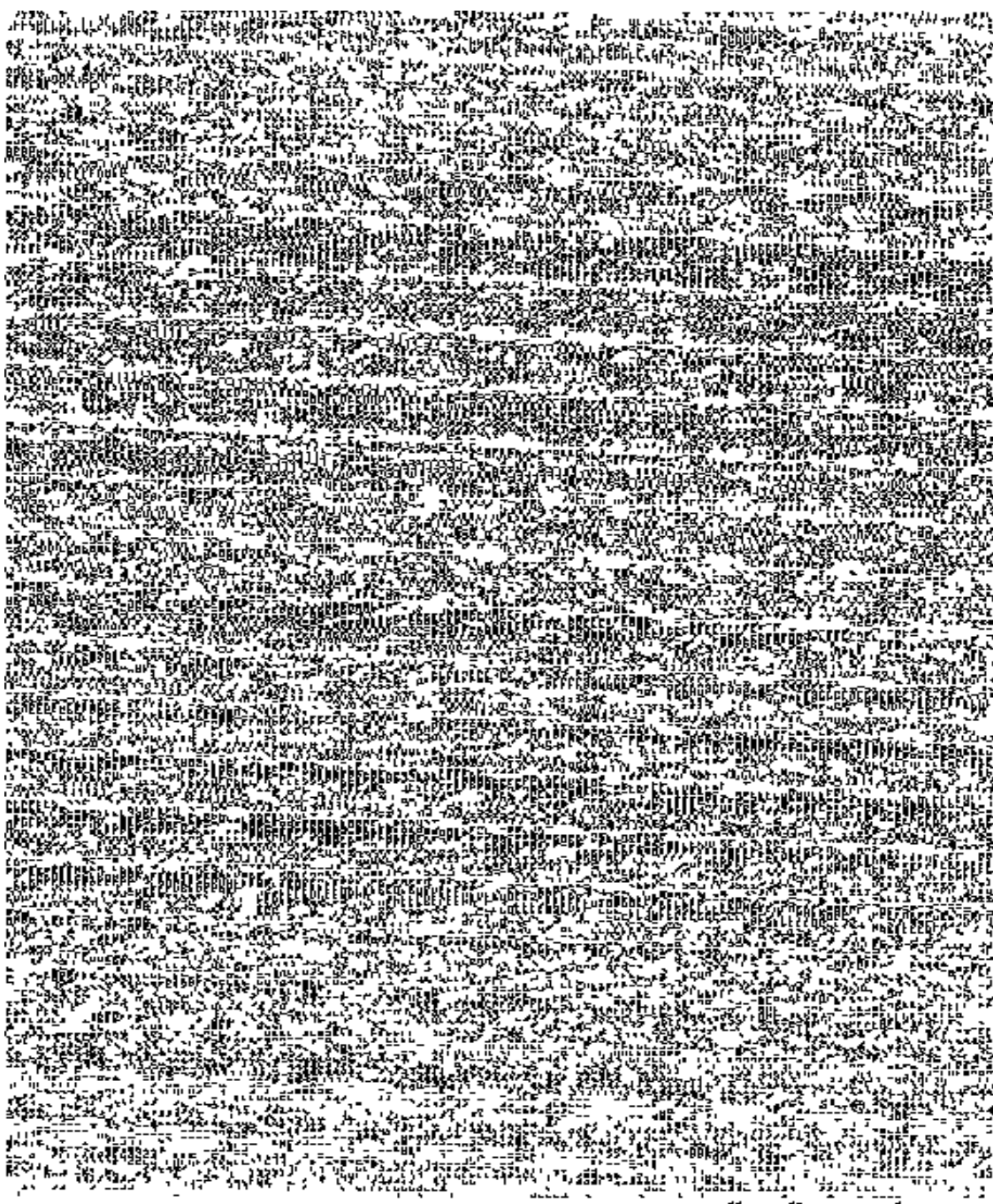


图1 小麦同核异质雄性不育系花粉发育的超微结构
(图中符号说明见续图)

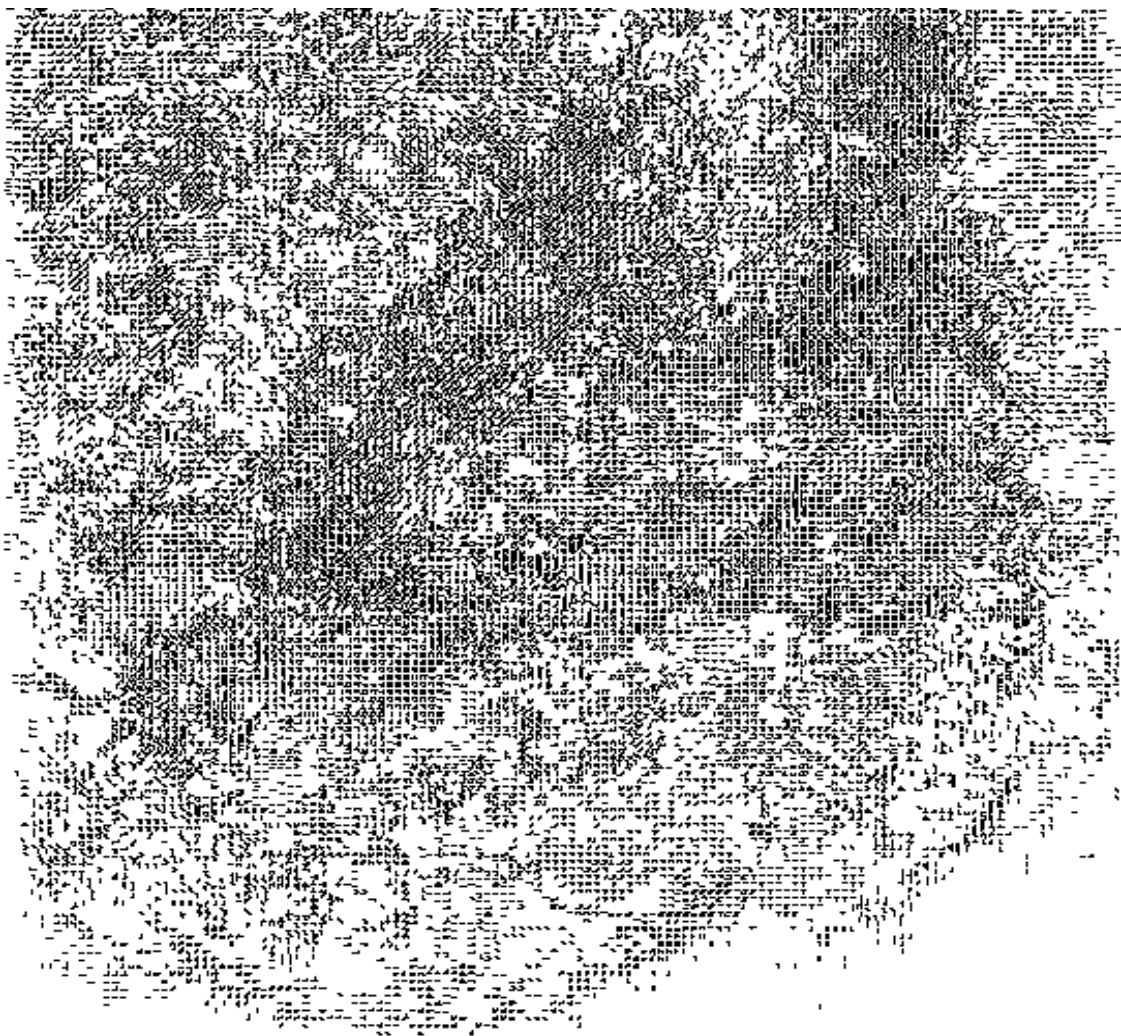


图 1(续) 小麦同核异质雄性不育系花粉发育的超微结构

T_a 绒毡层; M 线粒体; S 淀粉粒; V 液泡; PV 吞噬泡; ER 内质网; U 乌氏体;
Ex 花粉外壁; Nu 细胞核; C-M 复合膜状结构。

A ~ C, 83(21) 35B: A. 刚脱离四分体的小孢子 × 10000; B. “小液泡期”小孢子细胞局部, 示线粒体等细胞器的发育 × 10000; C 示一个吞噬泡, 其中含有许多细胞质物质 × 15000; D ~ G, T 83(21) 35A: D. “大液泡期”小孢子细胞质的一部分, 示一个吞噬泡及不正常的线粒体 × 30000; E. 示液泡膜被溶断(), 细胞质被消化 × 15000; F. 细胞质浸入液泡中而被消化 × 30000; G. 示乌氏体的发育 × 20000; H ~ J, V 83(21) 35A: H. 示液泡膜处于解体状态, 有的部位被溶断(), × 12000; I. 细胞质物质浸入液泡中逐渐被消解 × 12000; J. 示绒毡层内表面缺乏乌氏体 × 12000; K ~ N, K 83(21) 35A: K. 小孢子后期线粒体结构正常 × 20000; L. 二细胞花粉中后期, 质体中开始形成淀粉粒 × 12000; M. 示乌氏体的发育 × 75000; N. 示同心圆复合膜状结构 × 15000。

关于乌氏体的发育过程目前已有较清楚的了解, 但对其功能却仍不明确, 有人认为它和花粉外壁的形成及绒毡层内外物质的运输有关, 是代表孢粉素从绒毡层转运至花粉粒的一种机

制。但这种观点尚缺乏有力的实验证据^[3]。V 型不育系花药绒毡层缺乏乌氏体分泌, 这是否与花粉败育有直接联系, 尚待进一步的实验证实。

2.3 K 型不育系

在光学显微镜下, K 83(21)35A 的花粉在即将发育成熟时才败育, 在此之前没有观察到与败育有关的细胞学变化^[5]。我们希望在电镜水平观察下能发现一些与败育有关的现象。然而, 电镜观察表明, 败育前, K 型不育系的小孢子及花粉发育过程一直是正常的。二细胞花粉中期前, 特别注意了液泡系的动态及线粒体、质体等细胞器的结构, 发现与保持系相似(图 1-K)。二细胞花粉后期, 由于花粉内含物的大量积累, 细胞质着色很深, 可以明显地看到质体中积累了淀粉粒(图 1-L)。另外, 乌氏体的发育也未见异常(图 1-M)。

唯一值得重视的差异是在 K 型不育系的花粉细胞内部发现一种由数层膜致密排列而形成的同心圆复合膜状结构(图 1-N)。该结构以很高的频率出现, 在保持系及 T、V 型不育系中则很少看到, 这与 Lee^[8]在玉米 S 型不育胞质中描述的复合膜状结构极为类似。仅根据目前的实验结果, 还难以断定该复合膜状结构的形成是否与 K 型不育系的花粉败育有关。我们初步认为该膜结构是由内质网缠绕而成的, 且没有核糖体附着在上面。通常认为内质网的功能是作为核糖体的支架运输合成蛋白质的原料, 同时也是最终合成的产物的运输通道。推测当形成这种膜状结构后, 内质网被封闭在内, 其功能被削弱或丧失, 从而导致花粉的败育。是否果真如此, 有待于进一步验证。

3 讨论

大量资料表明, 线粒体与植物细胞质雄性不育性密切相关^[6,9]。本研究表明, T 型和 V 型小麦不育系花粉败育前线粒体的超微结构发生了缺陷, 导致了花粉败育。这与胡适宜^[2]和 De Vries^[7]对小麦 T 型不育系的观察一致。而 K 型不育系花粉败育前没有观察到线粒体结构方面的异常变化。然而我们认为这并不能排除在更精细的分辨力和研究水平上发现异常变化的可能性。我们曾对具有相同核背景的 K 型、V 型不育系及相应保持系的线粒体 DNA(mtDNA)进行了 RFLP 分析。发现 K 型、V 型不育系的线粒体基因组在组成上与保持系显著不同, 二者之间也存在明显差异^[4]。我们认为, K 型不育系线粒体的异常没有表现在线粒体的超微结构水平, 而是表现在线粒体遗传物质的分子水平。目前, 我们正围绕 mtDNA 深入开展小麦 CMS 分子机理的研究。

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, 110 ~ 134
- 2 胡适宜, 徐丽云, 王模善. 小麦雄性不育系小孢子发育的电子显微镜研究. 植物学报, 1977, 19(3): 167 ~ 171
- 3 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京: 高等教育出版社, 1982, 20 ~ 30
- 4 李传友, 孙兰珍. 普通小麦三种细胞质雄性不育系线粒体 DNA 的比较研究. 遗传学报, 1995, 22(4): 272 ~ 279

- 5 李传友, 孙兰珍. 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. 华北农学报, 1996, 11(2): 1 ~ 8
- 6 李传友, 孙兰珍. 植物细胞质雄性不育的分子机理. 山东农业大学学报, 1996, 27(1): 111 ~ 117
- 7 De Vries A Ph, Ie T S. Electron-microscopy on anther tissue and pollen of male sterile and fertile wheat. Euphtica, 1970, 19: 103 ~ 120
- 8 Lee SL, Earle ED, Gracen VE. The cytology of pollen abortion in S cytoplasmic male sterile corn anthers. Amer J Bot, 1980, 67(2): 237 ~ 245
- 9 Levings CS, Brown GG. Molecular biology of plant mitochondria. Cell, 1989, 56: 171 ~ 179

Ultrastructure of Pollen Development in Isonuclear Alloplasmic Male Sterile Wheat Lines

Li Chuanyou Sun Lanzhen

(Agronomic Department, Shandong Agricultural University, Taian 271018)

Abstract Ultrastructural observation under a transmission electron microscope of pollen development in three cytoplasmic male sterile lines (T, V and K) of wheat on 83(21)35 nuclear background, and that in maintainer line revealed that before and in the process of pollen abortion of cms-T and cms-V, the vacuole membrane seemed to be on the way of dissolution, with the effective separation between the cytoplasm and vacuole having been destroyed and that the phagocytosis of cytoplasm by the vacuole was very violent, resulting in the much thinner cytoplasm, while other organelles such as mitochondria were disintegrated or degenerated. With cms-V, the inner wall of anther tapetum secreted fewer Ubish bodies; but with cms-K, no abnormal changes in mitochondria and plastids happened before pollen abortion, but a concentrically circular composite membranous structure was found to be appear at a high frequency.

Key words: Wheat; Cytoplasmic male sterility (cms); Isonuclear alloplasmic lines; Ultrastructure