

结球白菜细胞质雄性不育系 花药和花粉的发育*

梁 燕** 王 鸣

赵稚雅

(西北农业大学园艺系, 陕西杨陵·712100)

(陕西省农科院, 陕西杨陵·712100)

摘 要 对具有 *Polcms* (*B. napus* L.) 结球白菜 (*B. campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) olsson. var. *cephalata* Tsen et Lee.) 雄性不育系 CMS₃₄₁₁₋₇ 花药和花粉发育细胞学研究表明: (CMS₃₄₁₁₋₇, 花药发育受阻于孢原细胞阶段, 不形成花药室, 通过对末花期微量花粉的电镜观察, 肯定了该系统的可利用性。

关键词 结球白菜, 细胞质雄性不育系, 花药, 花粉, 细胞形态学

中图分类号 S634.103.2

结球白菜 (*B. campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) olsson. var. *cephalata* Tsen et Lee.) 具有极其明显的杂种优势, 利用细胞质雄性不育系简化杂种制种程序, 降低制种成本是长期以来国内外育种工作者极力攻克的难题。

陕西省蔬菜研究所^[1]采用种间杂交回交转育的方法, 将甘蓝型油菜 *Polcms* (*B. napus* L.) 引入结球白菜稳定自交系 3411-7, 培育出不育性稳定的异源胞质雄性不育系 CMS₃₄₁₁₋₇。该系统蜜腺组织发达, 泌蜜力强, 自然杂交结籽率高。花药戟形, 瘦瘪。末花期温度骤然变化条件下, 约有 1%~5% 花药局部膨大, 并有少量花粉产生。本研究通过对该不育系花药和花粉的发育细胞学研究及其微量花粉的生活力鉴定, 搞清花药发育的内部机制, 为该系统的进一步研究和利用提供依据。

1 材料与方法

以 CMS₃₄₁₁₋₇ 及其保持系 3411-7 为试材, 1991 年 1 月育苗, 3 月定植得到小株繁殖群体, 同年 8 月大田播种, 11 月收获叶球越冬, 1992 年春定植得到大株繁殖群体。小区面积 12 m², 每区 100 株, 无重复。在群体育性调查的基础上, 选有代表性植株, 群体内随机群样和定点取样结合, 分别在现蕾期、始花期、盛花期及末花期取花序, 改良纳瓦兴及 F·A·A 固定液固定, 石蜡包埋、切片, 厚度 10~12 μm。铁矾-苏木精及高碘酸-锡夫反应 (PAS) 染色。Olympus-BH, DM-10AD 光学显微镜观察照像。

末花期 (1991 年 5 月 20 日) 取 CMS₃₄₁₁₋₇ 局部膨大颜色发黄的花药及 3411-7 成熟花药, 直接沾台, 离子溅射喷镀薄层黄金, 日立 S-450 型扫描电子显微镜观察照像。同时, 取相同试材进行电镜透射观察。戊二醛固定液固定 (4℃), 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 冲洗, 0~4℃ 条件下, 1% 锇酸重固定 1~3 h, 丙酮脱水, 环氧树脂 Epon 812 包埋, LKB 2088V 型超

收稿日期: 1993-07-09.

* 国家自然科学基金资助项目; ** 现在陕西省蔬菜研究所 (陕西杨陵·712100) 工作。

薄切片机切片,厚500~700 Å,醋酸双氧铀染色,柠檬酸铅复染,JEM-2000EX 型透射电子显微镜观察照像。

2 结 果

2.1 花药和花粉发育的细胞形态学和组织化学

保持系花药和花粉发育 过程与普通大白菜相同,经历了孢原细胞、造孢细胞、小孢子母细胞减数分裂、单核花粉、二核花粉和三核成熟花粉等6个主要阶段。次生造孢阶段,药壁组织分化完全,其中包括1层表皮细胞,1层药室内壁细胞,2层中层及1层绒毡层细胞。随着花药发育,药壁组织不断变化。减数分裂中期Ⅰ时,中层细胞开始退化,到小孢子阶段仅留残骸;绒毡层细胞伴随小孢子母细胞减数分裂进行核分裂。减数分裂中期Ⅰ时,每个细胞内具2~4个细胞核,随着花粉发育成熟,绒毡层细胞逐渐消解体将营养物质用于花粉发育,花药成熟开裂时,绒毡层细胞完全消失。药室内壁细胞在二核花粉期发生径向延长,细胞体积增大呈砖形,细胞壁次生条状加厚,为花药开裂作准备。

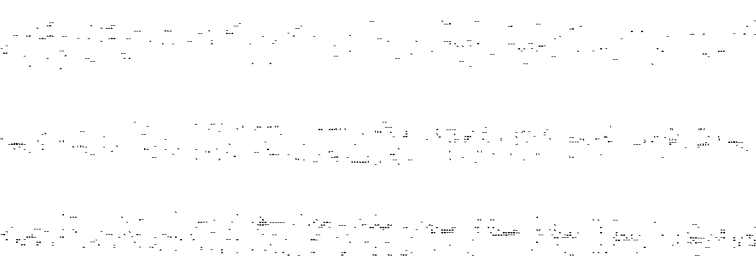
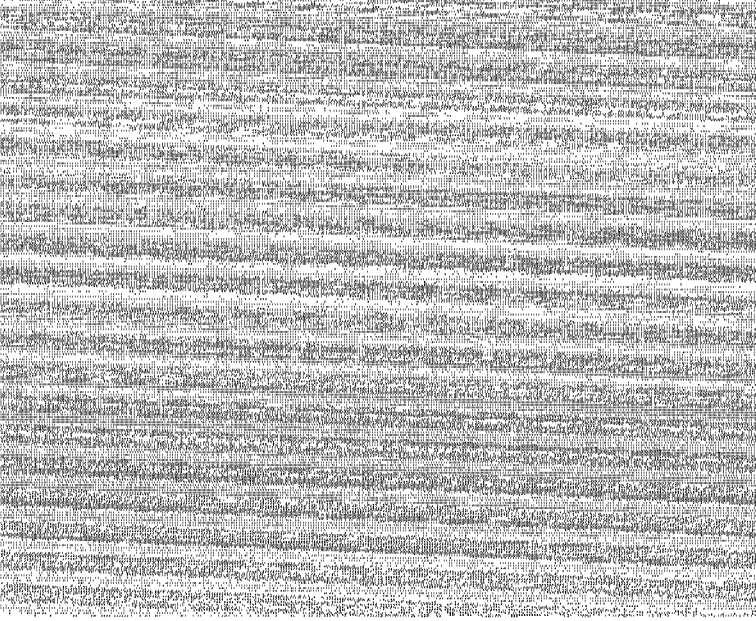
在花药和花粉发育过程中,药壁组织中淀粉的积累量以药室内壁最多,表皮和中层次之。随着小孢子的发育及雄配子体的形成,表皮及药室内壁细胞中淀粉量逐渐减少,同时二胞花粉一形成便开始大量积累淀粉,整个细胞质 PAS 反应呈正反应。三胞花粉期整个细胞充满淀粉粒,而此时整个壁细胞 PAS 反应呈负反应。绒毡层细胞在花药发育的始终无淀粉积累。

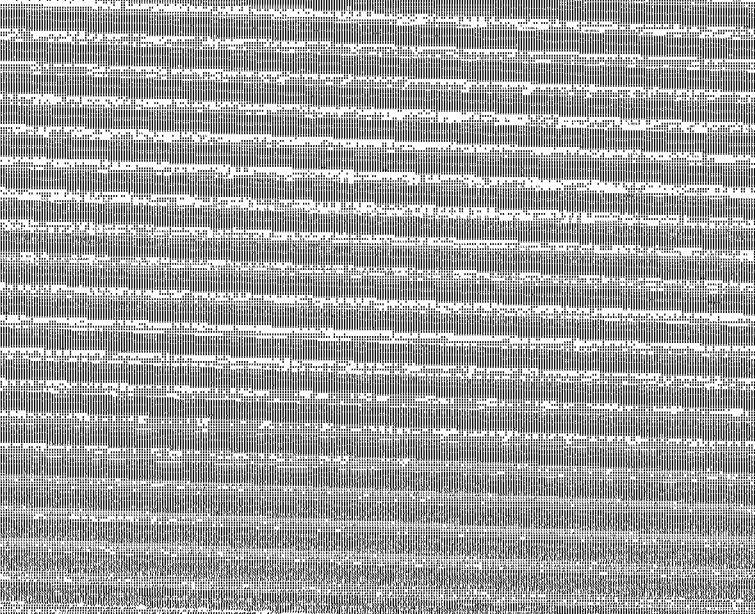
不育系花药发育 在相当于保持系花药发育的孢原细胞时期,不育系花药的4个角隅处也出现具有分裂活性的细胞,但这种细胞分裂的结果并不形成初生壁细胞和初生造孢细胞,而是一团无分化的薄壁细胞,这些细胞随着花药的发育体积增大。花药的横切面与保持系花药形状相近,但没有药室内壁、中层及绒毡层的分化,不具有保持系的药室结构(图版Ⅰ-1),没有小孢子母细胞的形成,不存在小孢子的发生及发育。在表皮及薄壁细胞中也有大量淀粉积累(图版Ⅰ-7)。开花后,薄壁细胞收缩,花药横切面呈“新月形”,花药不开裂。以上是 CMS₃₄₁₁₋₇花药发育的主要特征。

此外,在末花期环境条件(尤其是温度)骤然变化情况下,个别花药会分化形成药室,这些药室与保持系药室相比,存在以下几个方面的异常:①不同花药间药室的数目1~4个不等(图版Ⅰ-2,3);②同一发育阶段药室比保持系小,并随着花药发育阶段的推进,这种差别愈来愈大;③多数药室畸形。然而药室一旦分化形成,一般都能经过小孢子母细胞减数分裂而形成四分孢子,四分孢子从四分体中释放出来后,便出现相互粘连成团、细胞质稀薄等退化现象(图版Ⅰ-4,5)。凡是在发育过程中没有退化解体而存活下来的小孢子,继续发育形成外形正常和不正常两种花粉。这些异常花药在发育过程中药壁组织的变化基本同保持系,个别药室绒毡层细胞有畸形肥厚现象(图版Ⅰ-6);药壁组织中淀粉的积累量、分布及消长动态也与保持系相同。以上花药所占比例,因环境条件不同在1%~5%之间。

2.2 花粉的电镜观察结果

保持系花粉 梭形,表面网状,有3条细长的萌发沟,将整个花粉表面划分为3个沟间区和两端极区。透射观察表明,花粉具有内外两层壁,细胞质致密,细胞核及各种细胞器结





构完整且清晰,整个花粉粒内充满淀粉粒(图版 I-4)。

不育系花粉 ①外形正常型,表面也具有3条萌发沟,但孔沟大小不规则(图版 I-1),内部超微结构明显异常,细胞质中的各种膜状结构及细胞器模糊不清,细胞质与细胞核难以区分(图版 I-5)。②畸形花粉,外壁内陷极为严重,使整个花粉粒呈圆球型(图版 I-3),三角型(图版 I-2)等不规则形状,表面萌发沟1~3条不等。内部细胞质解体收缩,完全看不到核结构及细胞器,有的只剩空腔(图版 I-6)。

3 小 结

本研究表明,CMS₃₄₁₁₋₇花药发育受阻于减数分裂前的孢原细胞阶段,同时花药发育对温度具有一定的敏感性。这些结果与 Polcms 在甘蓝型油菜上所具有的特性相一致^[2~4]。此外,本试验发现,CMS₃₄₁₁₋₇花药维管束发育正常,药壁组织及薄壁组织中均有淀粉积累,认为该不育系花药败育与营养供给没有直接关系。电镜观察表明,CMS₃₄₁₁₋₇产生的微量花粉不具有正常生活力,认为 CMS₃₄₁₁₋₇是一个具有应用价值的细胞质不育系统。

参 考 文 献

- 1 Zhao Z Y, Ke G L, Song Y Z. Breeding of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson, var. *cephalata* Tsen et Lee.) male sterile line through the use of sterile cytoplasm of *Brassica napus*. in: ed. by Chinese Society for Horticultural Science. International Symposium on Horticultural Germplasm Cultivated and wild Part I vegetables. Beijing: International Academic Publishers, 1988. 397~401
- 2 余凤群,傅廷栋. 甘蓝型油菜几个雄性不育系花药发育的细胞形态学研究. 武汉植物学研究, 1990, 8(3): 209~216
- 3 杨光圣. 甘蓝型油菜细胞质雄性不育的研究. 遗传, 1988, 10(5): 8~11
- 4 杨光圣. 环境条件对油菜细胞质雄性不育的影响. 中国油料, 1987(3): 15~19

The Development of Anther and Pollen in Cytoplasm Male Sterile Line of Chinese Cabbage

Liang yan Wang Ming

(Department of Horticultural Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Zhao Zhiya

(Shaanxi Academy of Agricultural Sciences, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The cytological studies of the development of anther and pollen of CMS₃₄₁₁₋₇ (*B. campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson var. *cephalata* Tsen et Lee.) derived from transferring Polcms (*B. napus* L.) into Chinese cabbage indicated that the anther development of CMS₃₄₁₁₋₇ was blocked without anther cell formed at the stage of archesporial cell. Also, the scanning and transmission observation of the few pollens at the end of flowering stage confirmed the availability of this male sterile line system.

Key words Chinese cabbage, cytoplasm male sterile line, anther, pollen, cytological morphology