

· 研究简报 ·

## 转基因雄性不育烟草花药绒毡层及花粉发育的特点

罗玉英<sup>1</sup> 李怀军<sup>2</sup> 刘玉乐<sup>3</sup> 李胜国<sup>3</sup> 田波<sup>3</sup>

(1. 首都师范大学生物系, 北京 100037)

(2. 北京市蔬菜研究中心, 北京 100081)

(3. 中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

近年来, 通过基因工程创建植物雄性不育已在许多的作物上获得成功, 为作物杂种优势的利用开创了新的前景。我们利用烟草 TA29 启动子与核酸酶 Barnase 构建了嵌合毒素基因, 并获得了由此诱导的雄性不育转基因烟草和油菜。通过上述基因工程的方法所获得的转基因雄性不育植株普遍表现为: 雄蕊花丝变短, 花粉囊空洞或塌陷, 无花粉粒存在或花粉粒形态畸形等, 然而, 在花药发育的时间, 颜色, 大小, 重量, 外部形态及生长速度等方面与正常植株无异。外源毒素基因在绒毡层中特异表达将严重破坏绒毡层细胞, 从而干扰小孢子和花粉的正常发育。外源基因的表达产物是何时引起绒毡层细胞发生变异的? 在细胞结构上有何种表现? 对小孢子及花粉又有何种影响? 这些问题的阐明不仅有助于了解外源不育基因表达的时空特异性, 还将为了解外源基因表达的效应及基因工程雄性不育最终用于生产实践提供细胞学依据。

本文运用光学显微镜对烟草转基因不育植株及正常对照植株花药发育的全过程进行了系统的比较研究, 得到如下结果:

### 1 绒毡层细胞的提前降解

外源基因在花药中特异表达导致绒毡层细胞的提前降解, 这种降解一般在减数分裂早期开始, 至四分体时期完成, 而正常花药绒毡层的降解发生在二细胞雄配子体初期, 至花粉发育的后期方才完成。细胞学观察结果证明 TA29 是一个具有严格时空特异性的启动子, 它的特异表达部位是绒毡层细胞, 特异表达时间是花粉母细胞减数分裂至小孢子有丝分裂时期。转基因植株花药绒毡层的降解在细胞结构上表现为: 最初发生细胞的液泡化, 然后细胞核凝聚, 最后整个细胞溃解。转基因植株的花粉母细胞则在减数分裂过程中逐渐降解、退化, 只有少数花粉母细胞能够顺利完成减数分裂发育成小孢子。

### 2 外源基因在花药中的不均一性表达

外源基因在花药中的表达是不均一的。这种不均一性表现在如下 3 个方面: (1) 有些花药的四个药室中有一个是发育正常的; (2) 多数不育花药的绒毡层细胞的提前降解在靠近药隔一侧发生早于远离药隔一侧; (3) 另有少数不育花药的同一药室中处于不同部位的绒毡层细胞降解程度表现不同。这种在不同的情况下表现出不同的不育程度很可能是由外源嵌合毒素基因的表达水平不同决定的。

### 3 不育和败育花药的异常出现

转基因不育和自然败育花药在异常出现的时期及细胞结构上是不同的, 具体表现在: (1) 在转基因不育花药中, 花粉母细胞的异常出现比绒毡层细胞晚, 而自然败育的花药中二者的异常常常同时发生或花粉母细胞的异常早于绒毡层细胞; (2) 转基因不育花药在后期常表现空洞的花粉囊, 而自然败育的花药常表现花粉囊塌陷; (3) 从花粉囊塌陷的花药壁层结构来看, 自然败育的花药绒毡层以外的 5~6 层药壁组织仍处在发育的早期, 说明花粉母细胞在早期即已降解, 而转基因植株的花粉母细胞在早期并未降解, 细胞结构表现正常。上述两种雄性不育的不同表现正说明了由两种因素诱导的雄性不育有着不同的诱导机制和走向败育的历程。