

K 型小麦雄性不育系及其保持系花药小孢子 不同发育期 ATP 酶活性变化

姚雅琴, 张改生

(西北农业大学, 陕西 杨凌 712100)

Comparative Studies of ATPase Activity of K-type Cytoplasmic Male Sterile Wheat Line and Its Maintainer

Yao Yaqin, Zhang Gaisheng

(Northwestern Agricultural University, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract: The ultracytochemical localization of ATPase activity was made with the method of lead precipitation on K-type cytoplasmic male sterile line [K-77(2)A] and its maintainer [77(2)B] during the microspore development. The results showed that there were not microchannels formation and ATPase activity in the intine from K-77(2)A compared with 77(2)B. They resulted in obstruction of nutrition transportation and enzyme synthesis for pollen germination so that the pollen development was inhibited.

Key words: ATPase; Cytoplasmic male sterile; Ultracytochemical localization; Wheat
关键词: ATP 酶; 雄性不育; 超微细胞化学定位; 小麦

中图分类号: S512.101 文献标识号: A 文章编号: 0578-1752(2000)03-0097-03

近年来,越来越多的研究表明,线粒体DNA与雄性不育密切相关。线粒体基因atpA, atp6, atp9在小麦雄性不育系与保持系之间存在不同程度的组织结构差异,且它们的RNA编码异常^[1,4]。atpA、atp6和atp9是线粒体基因参与ATP酶合成的3个功能性基因,ATP酶是生物能量代谢过程中具重要生理功能的一种酶。但迄今为止还未见到有关该酶在不育花药中超微细胞化学定位的报道。本研究选用了K型雄性不育系和其保持系为材料,利用电镜细胞化学标记技术,对其小孢子发育的各个时期,花药组织中的ATP酶活性变化进行定位分析,从翻译产物水平上探讨线粒体3种基因的变化与雄性不育的关系。

1 材料与方 法

材料为K-77(2)和77(2)小麦花药,采自西北农业大学张改生教授实验地。分小孢子母细胞、四分体、单核花粉粒、二细胞花粉粒和成熟花粉粒5个时期取样。ATP酶细胞化学处理见文献[2]。日本电子公司JEM-100CXII型透射电子显微镜观察拍照。

收稿日期: 1999-06-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39770366)

作者简介: 姚雅琴(1957-),女,陕西澄城人,副教授,硕士,主要从事小麦雄性不育机理研究。

2 结果与分析

2.1 小孢子母细胞-单核花粉粒时期 在这段发育期内,雄性不育系和其保持系花药各种组织中的 ATP 酶活性分布基本相同。从小孢子母细胞到四分体时期,花药药壁 4 层组织的 ATP 酶活性主要分布在细胞核和核仁中,在绒毡层细胞外周的 U 氏体前体(Pro-Ubisch bodies)上有 ATP 酶活性,而在绒毡层细胞内的 U 氏体前体中却没有(图版 I -1, ↑)。到单核花粉粒时期,发育中的 U 氏体有显著的 ATP 酶活性(图版 I -2, ↑),但当 U 氏体成熟时,ATP 酶的活性几乎消失,绒毡层膜上却出现 ATP 酶活性(图版 I -3, ↑)。药壁表皮、药室内壁细胞的细胞核和核仁中有显著的 ATP 酶活性,质膜上也有少量的 ATP 酶活性(图版 I -4, 5)。

小孢子母细胞时期,小孢子细胞内侧,花粉囊中央出现呈星状的胼胝质,将小孢子母细胞挤向靠近绒毡层排列,小孢子内有较多的呈圆型或杯状的质体和小而圆的线粒体以及环状物,没有 ATP 酶活性。四分体时期,中央胼胝质消失,每个小孢子被胼胝质包裹,在小孢子靠近胼胝质的细胞质与质膜周围有不均匀的 ATP 酶活性。到单核花粉粒时期,花粉粒外壁已形成,在花粉粒的细胞核和核仁中出现 ATP 酶活性(图版 I -6)。

2.2 二细胞花粉粒-花粉粒成熟 二细胞花粉粒初期,药壁表皮,药室内壁细胞结构和 ATP 酶活性变化在不育系和保持系之间没有明显的差别,均类似于单核花粉粒时期。但当花粉粒内积累一定的淀粉粒时,保持系与不育系花药的药壁表皮细胞内却出现球型颗粒,这些球型颗粒靠近药隔薄壁细胞的多于远离的。保持系花药,随着花粉粒的发育球型颗粒逐渐增多,以至后来一些药壁表皮细胞被球型颗粒充满(图版 I -8, ↑)。不育系花药,在败育前,药壁表皮细胞内球型颗粒的积累与其保持系基本相同。在花粉粒从形态上已明显表现出不育特征时,药壁表皮细胞内仍有较多的球型颗粒积累,有个别细胞仍被球型颗粒充满(图版 I -7, ↑),但该颗粒的积累停止,数量不仅不再增加,而且还有降低的趋势。在二细胞花粉粒中,保持系花粉粒的营养细胞和生殖细胞的细胞核和核仁中均有 ATP 酶活性,而不育系花粉粒中部分花粉粒内有,部分花粉粒内没有。伴随营养核和生殖核的形成,花粉粒内壁开始产生。保持系花粉粒在内壁形成初期,细胞质膜附近有 ATP 酶活性(图版 I -9, ↑),随着内壁的加厚,ATP 酶活性增加,但当内壁增加到一定程度时,质膜内折,外突,穿过内壁形成微通道,内壁与微通道中有显著的 ATP 酶活性(图版 II -1, ↑)。而不育系花粉粒内壁形成初期,花粉粒质膜上也看到少量的 ATP 酶活性(图版 II -2, ↑),但随着内壁的加厚,质膜上的 ATP 酶活性没有明显变化,内壁加厚比保持系的快,也厚,内壁中没有微通道形成,或者形成不完全的微通道进而又被破坏,几乎没有 ATP 酶活性(图版 II -3)。

2.3 花药药隔与花丝组织 药隔组织中的 ATP 酶活性主要分布于细胞质膜、胞间连丝和细胞核中(图版 II -4)。细胞质膜附近正在行使运输功能的吞泡膜上有显著的 ATP 酶活性(图版 II -5, ↑)。药隔薄壁细胞中有大量的相似于药壁表皮细胞内的球型颗粒(图版 II -6, ↑)。花丝组织细胞中的 ATP 酶活性主要分布在细胞质膜和细胞核中,在细胞与细胞之间往往形成 ATP 酶活性通道(图版 II -7, ↑)。不育系花药药隔和花丝组织细胞中 ATP 酶活性,在花粉粒败育前均与其保持系基本相同。而在败育后,细胞质和 ATP 酶的活性逐渐降低,但药隔细胞在花粉粒败育后较长一段时间内仍维持生活状态,细胞核、胞间连丝和质膜上仍有 ATP 酶活性(图版 II -8),药隔薄壁细胞内仍有一些类似于药壁表皮细胞内的球型颗

粒(图版II -9, ↑)。在不育系药隔和花丝细胞中没有发现任何堵塞物与异常结构发生。

3 讨论

3.1 药壁、药隔维管和花丝组织中的 ATP 酶活性分布与雄性不育的关系 不育系花药的花粉粒从形态上明显表现出败育特征以前,药壁表皮、药室内壁、中层、绒毡层、花药药隔和花丝细胞中的 ATP 酶活性与结构变化在不育系和其保持系两者之间差别不明显,其中药壁表皮和药隔薄壁细胞内不仅在花粉粒败育前与其保持系有相似的球型颗粒,而且在花粉粒已表现出败育特征时,药壁表皮和药隔薄壁细胞内仍有较多的球型颗粒,甚至个别细胞被球型颗粒充满。我们用 Schiff 试剂进行了细胞化学定性染色,结果球型颗粒表现阳性,说明该颗粒为多糖类物质。同时,在花药药隔维管细胞、花丝细胞、药室内壁、花粉囊内、U 氏体和花粉粒周围看到了类似的颗粒,推测药壁表皮和药隔薄壁细胞内的多糖物质是来自于药隔维管细胞的营养物质供大于求剩余物质的积累。在不育花药花粉粒败育前后,药壁表皮和药隔薄壁细胞中较多的多糖物质积累,说明这时该细胞中还有营养物质贮存。研究还表明,在花粉粒已明显出现败育特征时,药隔维管细胞仍维持生活状态,细胞核、胞间连丝和质膜上仍有 ATP 酶活性,花丝、药隔细胞结构发育正常,未发现任何堵塞物与异常结构发生。这些特征均显示了雄性不育花药营养运输和供应系统发育正常,营养物质的缺乏不可能是造成雄性不育的关键性因素。这与文献[3]报道的观点不一致。

3.2 不育系花粉粒中 ATP 酶的活性分布与雄性不育的关系 K 型不育系花粉粒在单核时期与其保持系相同,在细胞核和核仁中有 ATP 酶活性。伴随二核的形成,不育系和其保持系花粉粒质膜上均出现少量的 ATP 酶活性,进而在此基础上内壁产生。但随着内壁的加厚,保持系花粉粒质膜上的 ATP 酶活性逐渐增多,而不育系花粉粒质膜上的 ATP 酶活性增加不明显。保持系花粉粒内壁加厚到一定程度形成了微通道,在微通道和内壁中有显著的 ATP 酶活性分布。而不育系花粉粒内壁比保持系加厚的厚,部分花粉粒内壁中有微通道形成,但随后又被破坏,部分花粉粒中没有微通道形成,微通道和内壁中几乎没有观察到 ATP 酶活性。花粉内壁具有运输和合成蛋白的功能,内壁微通道是营养的运输途径。花粉萌发,花粉管壁的形成,柱头识别,花粉侵入柱头和一些花粉粒后期发育的蛋白均由内壁合成^[5]。花粉粒内壁的微通道形成与代谢活性直接左右着花粉粒后期的发育。

参考文献:

- [1] 李传友,谢伟武,等.普通小麦三种细胞质雄性不育系线粒体 DNA 的比较[J].植物学报.1995,22(4):272~279.
- [2] 蒋选利,姚雅琴.渗透胁迫下不同抗旱性小麦品种叶肉细胞内 ATP 酶的细胞化学研究[J].西北植物学报.1994,12(1):97~101.
- [3] 何觉民,戴君惕,周美兰,等.两系杂交小麦理论与实践[M].长沙:湖南科学技术出版社,1993:35~36.
- [4] Howard W, Kempken F. Cell type-specific loss of atp6 RNA editing in cytoplasmic male sterile sorghum bicolor [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1997, 94(20): 11090~11095.
- [5] EL-Ghazaly G, Tense W A. Development of wheat (*Triticum aestivum*) pollen II: Histochemical differentiation of wall and Ubish bodies during development [J]. Amer. Bot. 1987, 74(9): 1396~1418.