

苧麻雄性不育系与保持系花药发育的比较观察^{*1}

熊少斌¹, 杜威^{1,2}, 龙波¹, 梁雪妮¹, 刘飞虎¹

(1. 云南大学植物遗传改良与应用实验室, 云南昆明 650091; 2. 云南省农业科学院, 云南昆明 650221)

摘要:为研究苧麻雄性不育的早期表现和细胞学特征, 采用常规石蜡切片, 在显微镜下观察苧麻雄性不育系 GS14-1 及保持系 GS13-X₁ 的雄蕊发育过程. 发现保持系 GS13-X₁ 的花药发育正常, 形成正常的花粉粒; 不育系 GS14-1 的雄性败育发生在较早阶段, 多在雄花被形成后雌雄蕊原基分化期或花药形成初期发生败育, 表现为雄蕊原基畸形或退化. 但其败育的真正原因尚不清楚, 有待进一步研究.

关键词:苧麻; 雄性不育系; 花药

中图分类号:S 563.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-7971(2011)06-0735-05

雄性不育是植物界的一种普遍现象, 据统计已在 43 科, 162 属, 320 个种和 297 个种间杂种中发现了雄性不育现象^[1]. 在农业上, 利用雄性不育性培育雄性不育系不仅取得了传统杂交育种相同的效果, 而且避免了传统杂交育种因花多、花小去雄困难等缺点, 这大大方便了科学家轮回选择、回交等育种研究, 受到遗传育种家的高度重视. 因此, 植物雄性不育杂种优势利用是作物育种的主要手段和发展方向.

为了探索雄性不育败育的机理, 人们通过细胞学等手段对多种作物的雄性不育花药发育进行了大量研究. 从现有的研究成果可以看出, 不同作物雄性不育材料败育的时期并不一样, 从雄蕊分化到成熟花粉粒形成的各个时期均有可能, 分析其败育原因多与绒毡层异常等相关^[1]. 前人的这些研究成果为我们以后的相关研究工作提供了重要的参考依据.

苧麻(*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.) 属于荨麻科(Urticaceae) 苧麻属(*Boehmeria* L.), 为雌雄同株异花作物, 起源于中国, 被西方人称为“中国草”, 是一种优良的纺织工业原料和主要出口产品, 具有重要的经济价值. 苧麻雄性不育杂种优势已经应用于生产^[2-4], 但对其基础生物学问题研究甚少^[5-7], 尤其是不育系的花药发育特征的报道极

少. 本文以苧麻雄性不育系 GS14-1 及其保持系 GS13-X₁ 为材料, 观察雄蕊和花药发育特征, 期望为苧麻雄性不育的基础理论研究积累资料.

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为无性繁殖的苧麻雄性不育系苧麻 GS14-1 及保持系 GS13-X₁^[5], 2 年生盆栽苗(35 cm × 30 cm 花盆), 常规肥水管理.

1.2 方法 从现蕾起观察供试材料的雄蕊发育情况并按不同发育时期取雄蕊带回室内, 放入 FAA 固定液中, 抽真空后保存. FAA 固定液配方为: 每 100 mL FAA 含 70% 乙醇 86 mL, 甲醛 8 mL, 冰醋酸 6 mL.

取出部分材料, 尽量去掉花轴, 采用常规石蜡切片法制片, 系列浓度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋处理, 切片厚度为 7 μm. 徕卡 020-518.500 光学显微镜下观察并照相.

2 结果与分析

2.1 保持系 GS13-X₁ 雄蕊及花药发育特征 苧麻为复总状花序. 首先观察到的是节下叶腋处有一

* 收稿日期: 2011-07-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30971825, 30360058); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-19-E15).

作者简介: 熊少斌(1984-), 男, 江西人, 硕士生, 主要从事遗传育种与转基因研究.

通讯作者: 刘飞虎(1958-), 男, 湖南人, 博士, 教授, 主要从事麻类遗传育种和栽培研究, E-mail: hnplantbreed@gmail.com.

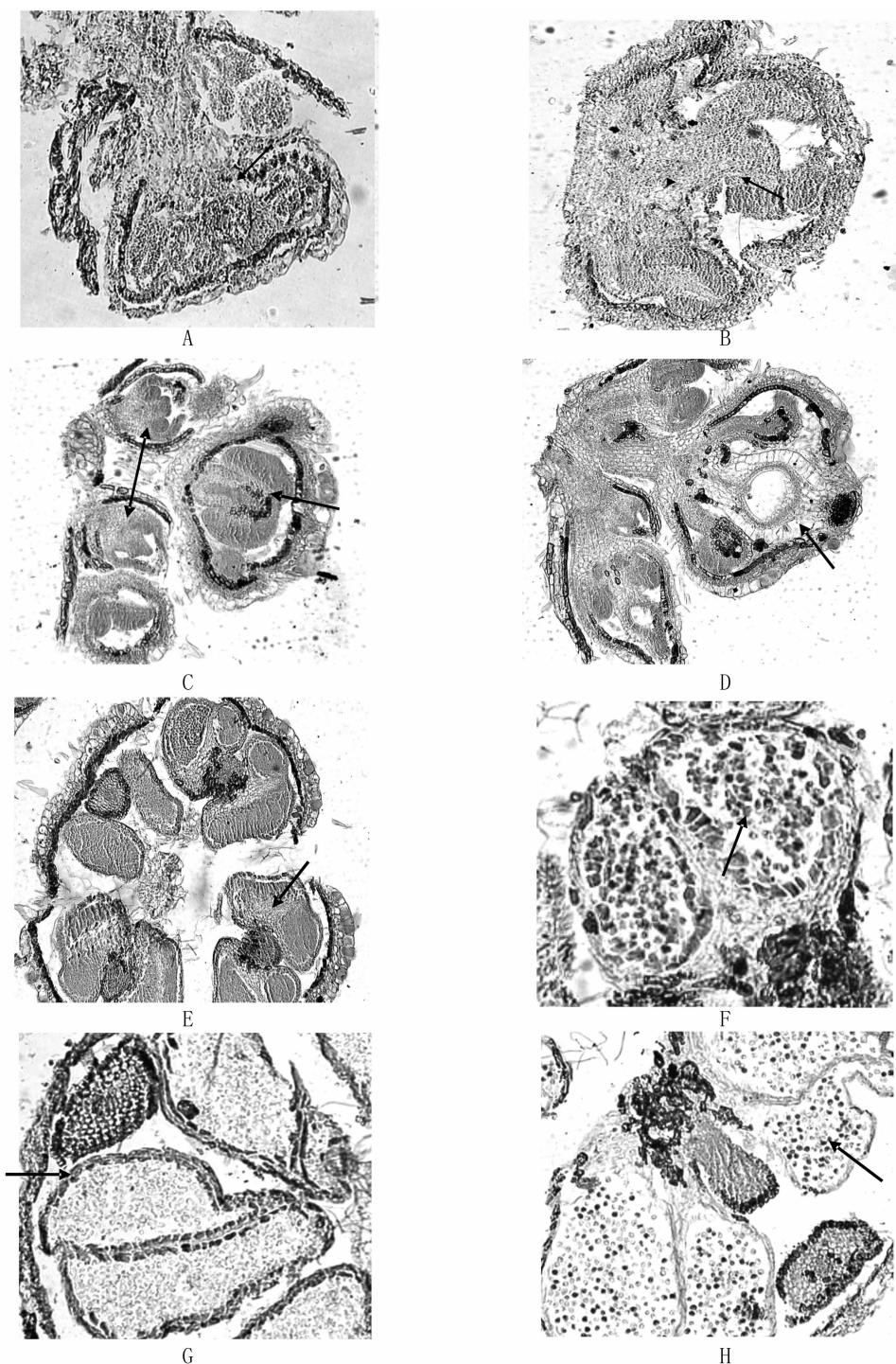
个小圆状突起,此即为花序原基,它由顶端细胞不断分裂形成,以后这个圆状突起将分化出花序轴,在花序轴上分生许多小枝,即为分枝轴.之后在分枝轴周围,分化出几个小的突起,这些小突起就是雄花的原基(图 1A).随后雄花的原基逐渐变大,在其底部的细胞分裂加快,并包围起雄花原基,此即为花被原基分化形成花被过程.从切面图上看,花的原基形似山峰状(图 1B).花被伸长的同时,其所包围的圆锥状的突起,即是雌雄蕊原基,随后在突起中央开始形成雌蕊原基,而在圆锥状突起周围又产生 4 个小突起,即为雄蕊原基(图 1C).之后,雌雄蕊原基接着分化,雌蕊原基先伸长,在基部分化出心皮,伴随花的不断发育,心皮逐渐发育成为子房.原来雌蕊原基的顶端,位于心皮底部,发育为珠心原始体.但珠心原始体并不随着整个花的发育继续分化,而是逐渐萎缩消失.雄蕊原基开始只是小突起,随着细胞不断分裂,突起逐渐伸长呈棒状(图 1D).雄蕊原基继续发育,开始分化形成花丝和花药.从花药的横切面上可以看出,它由 4 个或 2 个小室组成,每个小室将发育成一个花粉囊,每个小室都由药隔分开(图 1E).花药进一步分化,最外层是表皮细胞,表皮内孢原细胞平周分裂,产生中层、绒毡层和造孢细胞.造孢细胞通过几次有丝分裂形成花粉母细胞(图 1F).随后,花粉母细胞进一步发育,经过 2 次连续的细胞分裂(减数分裂),形成四分体结构.同时中层细胞开始变形,然后逐渐消失,绒毡层细胞也逐渐长大,随后开始出现退化迹象,到花药成熟时药壁由加厚的纤维层构成(图 1G).四分体形成后不久,小孢子母细胞的胼胝质壁溶解,花粉粒从中放出,呈球形,核居中央.随后核与核仁扩大,形成外壁,细胞核由中央移向一侧,并进而分裂 1 次,形成二细胞的花粉(图 1H).

2.2 不育系 GS14-1 雄蕊及花药败育特征 与保持系 GS13-X₁ 比较,不育系 GS14-1 的雄蕊及花药发育特征为:①花器形态方面,保持系 GS13-X₁ 雄蕊发育正常,在叶腋处能看到雄花序形成,数天后,可观察到正常的雄蕊和较多花粉粒,而不育系材料 GS14-1 也能在叶腋处看到雄花序形成,但 2~3 d 后便发生枯萎,脱落.②细胞学方面,通过切片观察,不育系材料 GS14-1 能看到由花序原基分化出花序轴和许多分枝轴,之后在分枝轴周

围分化出小突起样的雄花原基.接着,雄花原基继续膨大,基部产生的花被原基突起逐渐向花的顶部伸长,形成花蕊的一种保护机构,这就是花被原基伸长的过程.花被伸长的同时,其所包围的圆锥状的突起,即是雌雄蕊原基,随后在突起中央形成雌蕊原基,而在圆锥状突起周围又产生 4 个小突起,即为雄蕊原基.此时,与保持系 GS13-X₁ 对照,不育系 GS14-1 雄蕊原基分化出现异常现象,并不像 GS13-X₁ 一样随后伸长呈棒状,而是表现出雄蕊原基几乎退化(图 2A, B)或畸形现象(图 2C, D),也即在雌雄蕊原基分化期或花药形成初期表现出败育特征.

3 讨论

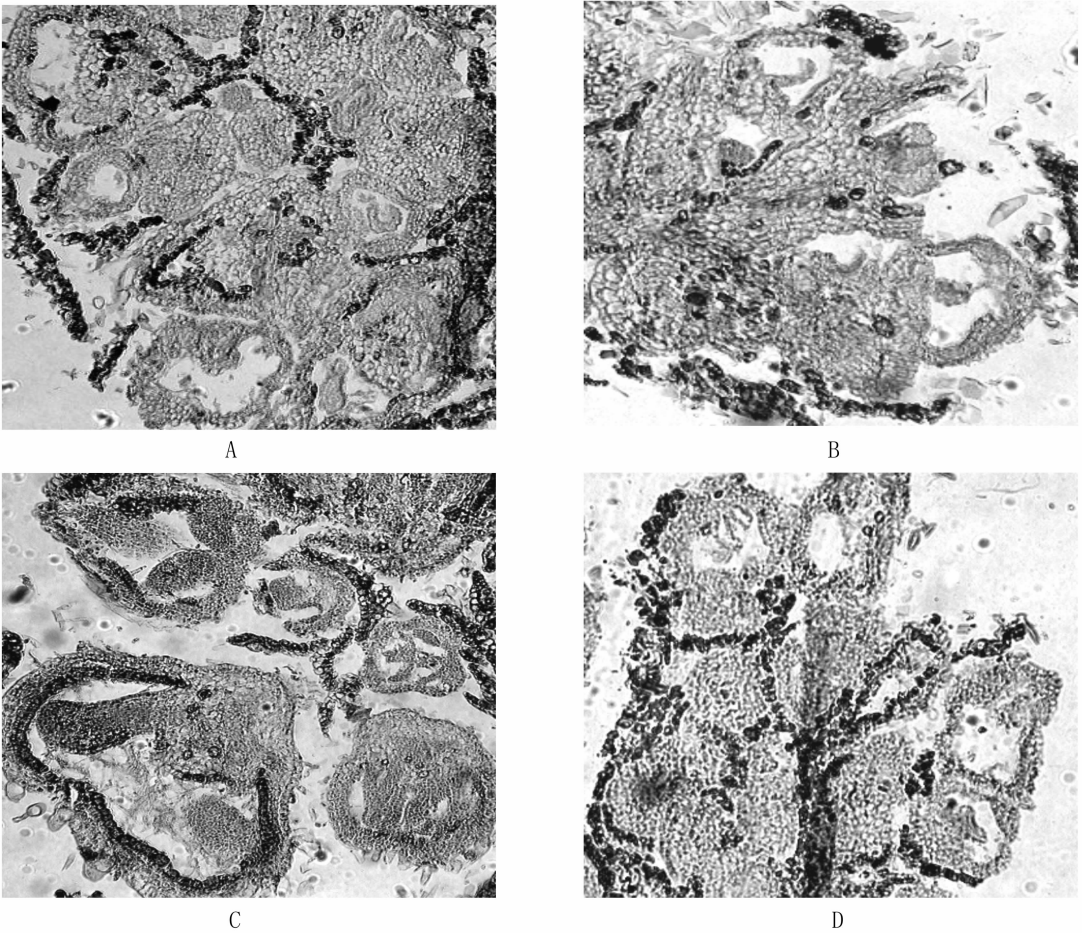
3.1 苕麻雄性不育花药败育时期 为了探讨植物雄性不育机理,了解其败育时期不可或缺.前人对辣椒、玉米等多种作物进行了研究,如在对辣椒雄性不育败育时期的相关研究中,逮红栋等^[8]认为辣椒雄性不育材料 1A 的小孢子败育发生在四分体至单核花粉时期;孙晓勇等^[9]认为辣椒核型雄性不育两用系 AB154 和 AB 亮 1691 的小孢子败育发生在四分体小孢子形成以前;而李莹莹等^[10]认为辣椒雄性不育系 1442A 和 13733A 的败育发生在从造孢细胞时期以后每个阶段.如在对玉米的相关研究中,罗红兵^[11]等认为玉米 GDS 不育系小孢子败育发生在小孢子母细胞减数分裂前期 I 阶段;张增川^[12]等认为新型玉米细胞质雄性不育材料泰玉 D2 的小孢子在单核期败育完全.从本试验的结果来看,苕麻雄性不育系 GS14-1 的外部形态上在叶腋处也能看到雄花序形成,但 2~3 d 后便发生枯萎、脱落现象.从细胞学角度观察到雄蕊发育受阻于雌雄蕊原基分化期或花药形成初期,这与丁明忠^[13]研究的苕麻雄性不育系 C4 花药发育受阻于孢原细胞期结论相似,都体现出了苕麻雄性不育的早期败育.而丁明忠^[13]还研究了苕麻雄性不育系 C26 表明花药败育发生在小孢子母细胞时期到减数分裂时期之间.综合前人研究和本试验对苕麻的研究结果可以得出与前人相同的总结:不同植物雄性不育材料其花药败育发生的时期各不相同,即使是同一植物的不同雄性不育类型,其雄性败育时期也不尽相同^[14-15].



A: 雄花原基分化(箭头); B: 花被原基伸长(箭头); C: 雌雄蕊原基分化(单箭头示雌蕊原基, 双箭头示雄蕊原基); D: 雄蕊原基伸长和子房形成(箭头示子房); E: 花药形成(箭头示花粉囊); F: 花粉母细胞形成(箭头); G: 纤维层加厚(箭头); H: 花粉形成(箭头)

图1 保持系 GS13 - X₁ 雄蕊及小孢子发育解剖图

Fig. 1 Developmental pattern of stamens and microspores in ramie maintainer line GS13 - X₁. A: differentiation of primordia of male flowers (arrow); B: elongation of primordia of perianth (arrow); C: differentiation of primordia of stamen and pistils (single arrow for primordia of pistils, double arrows for primordia of stamen); D: elongation of primordia of stamen and newly formed ovary (arrow shows ovary); E: formation of anther (arrow shows pollensac); F: formation of microspore mother cell (arrow); G: thickening of fibrous stratum (arrow); H: formation of pollen (arrow).



A,B: 雄蕊原基退化; C,D: 雄蕊原基畸形
 图2 雄性不育系 GS14-1 雄蕊发育解剖图

Fig. 2 Developmental pattern of stamens in ramie male-sterile line GS14-1
 (A, B: degenerative primordia of stamen; C, D: abnormal primordia of stamen)

3.2 苧麻雄性不育败育原因探讨 为了探讨植物雄性不育败育的原因,许多学者从形态解剖学、细胞学和物质代谢等方面对小孢子发育的营养供给途径进行了研究,将小孢子败育归之于绒毡层异常^[14,16]。丁明忠^[13]从细胞学角度研究了苧麻雄性不育系 C26 得出其败育现象主要表现在绒毡层上,但对不育系 C4 未作解释。此外,许多研究者对多种材料的细胞质雄性不育研究发现,在 mtDNA 水平、转录和翻译调控水平,以及线粒体翻译产物——蛋白质水平上都可能导致雄性不育的出现^[17-18],而与雄性不育相关的 mtDNA 的研究主要集中在 ATP 合成酶相关基因的研究上^[19]。在本实验材料中,苧麻雄性不育系 GS14-1 败育发生在雌雄蕊原基分化期或花药形成初期,而此时正是雄蕊原基细胞不断增殖分化形成花丝和花药时期,新陈代谢较为旺盛,推测在此时期由于线粒体 ATP

相关基因大量表达,从而影响了 ATP 正常代谢,导致雄性不育系发育异常,表现为雄蕊原基退化或畸形。这与段继强等^[20]认为苧麻雄性不育系 SS370 雄性不育与 *atp9* 基因的结构变异和/或异常密切相关结论类似。综上所述,苧麻雄性不育系败育的真正原因尚不清楚,希望能够通过细胞学和分子生物学等手段的结合来进一步探究。

参考文献:

- [1] 田英,李云翔,秦昱,等. 宁夏枸杞雄性不育材料小孢子发生的细胞形态学观察[J]. 西北植物学报, 2009, 29(2): 263-268.
- [2] 张中华,魏刚,徐建俊,等. 优质高产杂交苧麻新组合“川苧8号”选育报告[J]. 中国麻业, 2003, 25(4): 168-171.
- [3] 张中华,魏刚,杨燕,等. 苧麻优良雄性不育系“C26”

- 的选育及利用研究[J]. 中国麻业, 2005, 27(3): 109-112.
- [4] 罗素玉, 李德芳, 龚友才, 等. 麻类所麻类育种五十年[J]. 中国麻业科学, 2009, 31(增1): 82-92.
- [5] 刘飞虎, 梁雪妮, 张寿文, 等. 苧麻雄性不育系育性鉴定和遗传分析[J]. 中国麻作, 2000, 22(1): 6-9.
- [6] 刘飞虎, 梁雪妮, 张寿文, 等. 苧麻雄性不育系温光反应特性研究[J]. 江西农业大学学报, 2000, 22(3): 20-23.
- [7] 刘飞虎, 梁雪妮. 苧麻雄性不育系生理生化特点初步研究[J]. 中国麻作, 2000, 22(3): 16-20.
- [8] 逮红栋, 巩振辉, 王晓敏, 等. 辣椒雄性不育材料小孢子发生的细胞形态学观察[J]. 西北植物学报, 2006, 26(9): 1842-1845.
- [9] 孙晓勇, 王志源. 辣椒核型雄性不育系小孢子发生细胞形态学研究[J]. 中国农业大学学报, 1999, 4(增刊): 26-29.
- [10] 李莹莹, 魏佑营, 张瑞华, 等. 辣椒雄性不育系与可育系小孢子发生的细胞学观察[J]. 植物研究, 2006, 26(4): 411-415.
- [11] 罗红兵, 黄璜, 朱卫平, 等. 玉米 GDS 细胞质雄性不育系的细胞学观察[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2003, 29(2): 109-111.
- [12] 张增川, 董树亭, 高荣岐, 等. 新型玉米细胞质雄性不育材料泰玉 D2 花粉败育的细胞学研究[J]. 玉米科学, 2009, 17(3): 76-79.
- [13] 丁明忠. 苧麻雄性不育的遗传机理及应用研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2008.
- [14] 耿三省, 王志源, 蒋键箴, 等. 辣椒雄性不育系小孢子发生的细胞学观察[J]. 园艺学报, 1994, 21(2): 165-169.
- [15] 刘齐元, 刘飞虎, 杨建兵, 等. 云烟 85 胞质雄性不育烟草雄蕊发生的细胞学观察[J]. 广西植物, 2007, 27(2): 156-160.
- [16] 王晓静, 沈火林, 杨学妍, 等. 大葱雄性不育系及保持系花药和花粉发育的细胞学比较研究[J]. 中国瓜菜, 2007, (2): 7-10.
- [17] MART C J, MONEGER F, LEAVER C J. Cell - specific regulation of gene expression in mitochondria during anther development in sunflower. *Plant Cell*, 1994, 6(6): 811-825.
- [18] EDQBIST J, BERGMAN P. Nuclear identity specifies transcriptional initiation in plant mitochondria [J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 49(1): 59-68.
- [19] HANSON M R, BENTOLIA S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *Plant Cell*, 2004, 16(S): 154-169.
- [20] 段继强, 杜光辉, 李建永, 等. 苧麻 *atp6* 和 *atp9* 基因的克隆表达及细胞质雄性不育的相关性[J]. 遗传, 2008, 30(11): 1487-1498.

Development of anthers in a male sterile line of ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.) and its maintainer line

XIONG Shao-bin¹, DU Wei^{1,2}, LONG Bo¹, LIANG Xueni¹, LIU Fei-hu¹

(1. Laboratory of Plant Improvement and Utilization, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650221, China)

Abstract: To study male sterility (MS) and cytological features of ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.), we observed process of stamen development in ramie MS line GS14-1 and its maintainer line GS13-X₁, using Leica microscope to observe conventional paraffin section in this experiment. The results showed that the maintainer line GS13-X₁ developed normally and produced normal microspores and pollen grains. The MS line GS14-1 presented in an earlier stage, mostly occurred in the period of primordial differentiation of stamen and pistil, and the abortion showed primordia of stamen was abnormal or degenerative. We should further study the real cause of abortion in MS line GS14-1 next work.

Key words: ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.); male sterile line; anther