

# 大豆光敏雄性不育系 88—428BY 花粉 败育的细胞学观察<sup>\*</sup>

李艳花<sup>1</sup> 卫保国<sup>1 \* \*</sup> 李贵全<sup>2</sup> 王 芳<sup>2</sup>

(1. 山西农科院品种资源所, 太原 030031; 2. 山西农业大学农学院, 太谷 030801)

**摘要** 以长日照条件下雄性可育株 88—428 为对照, 对其短日照条件下雄性不育株 88—428BY 小孢子发育全过程进行观察。结果发现: (1)88—428BY 有三个败育时期, 单核小孢子中期为败育的关键时期。一是减数分裂期, 在双线期后期出现严重的配对松弛现象, 细胞异常率达 99%; 而在减数分裂其它各时期不正常比率较少, 仅为 2%—6%。整个减数分裂期约导致近 9% 的花粉母细胞败育; 二是单核小孢子中期, 出现花粉细胞质稀薄式解体、药壁组织提前加厚、药壁层次不清的败育现象, 此期败育的花粉达 89.3%; 三是二胞花粉晚期, 无淀粉或淀粉积累不完全, 导致近 10% 的花粉败育。(2)败育度, 细胞学上败育率达 100%, 因为笔者所采的花蕾均在第五节位以上, 此与形态学上第五节位上无荚果形成是一致的。

**关键词** 大豆; 光敏雄性不育; 花粉; 败育

**中图分类号** S 334. 5 **文献标识码** A **文章编号** 1000—9841(2004)01—0006—05

大豆光敏雄性不育品种 88—428 的花粉育性受日照长度控制: 短日照 13.5—14.0 小时/日花粉不育; 长日照 14.5—15.2 小时/日花粉正常可育<sup>[2]</sup>。该不育系适合于两系法制种。

印度学者 M. H. L. Kaul<sup>[1]</sup> (1988) 对植物的雄性不育作了详细的综述, 他对约 3000 篇文献的分析后指出, 出现雄性不育现象的植物存在于 43 个科、162 个属的植物及其杂种中, 通过杂交或非杂交方式自然发生的雄性不育的机率约各占 50%。这些雄性不育的植物对于环境的敏感性经过实验的只有 41 种。结果表明: 有 70% 的雄性不育对环境敏感, 其中 50% 对温度敏感, 13% 对光周期敏感。大豆 88—428BY 经过实验表明, 长日照可育、短日照不育的基本特性是稳定的, 而不同温度对 88—428BY 主节结实数的影响未达显著水平<sup>[2]</sup>。因此, 88—428BY 的雄性育性显然是受光周期控制的。深入研究它的光周期控制机理, 在理论和应用上都有重要的意义。本文是从细胞学角度对其光周期控制的育性的观察结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为 2002 年夏在山西农科院品种资源所试验田种植的光敏雄性不育品系 88—428BY, 该不育系为长日照条件下可育、短日照条件下不育的雄性育性转换特性。

### 1.2 光周期处理

1.2.1 短光照处理: 方法是用三层黑布裹着的黑箱进行遮光处理(每天上午 7 点取箱, 下午 7 点盖箱), 从出苗后开始连续进行 20 天, 以后放置在自然光照条件下到开花结束。自然光照时数变化在 14.8—15.2 小时/日范围。短日照条件下表现雄性不育, 以 88—428BY 为代号。

1.2.2 长光照处理: 让实验豆株在自然光照条件下自然生长。出苗到开花结束自然光照时数变化在 14.9—15.3 小时/日之间。长日照条件下可育, 以

\* 收稿日期: 2003—04—29

基金项目: 国家自然科学基金项目(39970461)、国家 863 优质超高产农作物新品种选育项目(2001A A 241071)和国家 863 重大专项(2002A A 207007)资助。

\*\* 通讯作者: E-mail: ltxbb001@sohu.com Tel: 13513643613

作者简介: 李艳花, 女(1977—), 在读硕士研究生, 作物遗传育种专业。

88—428 为代号。

### 1.3 细胞形态学观察

在日照 12 小时/日的短日照条件下和日照 14.9—15.3 小时/日的长日照条件下,于早晨 6 点到 8 点,根据花蕾大小和其外部形态为取材标准,分别取第五节位以上不同发育时期的可育株花蕾和不育株花蕾。分装于盛有卡诺固定液(3 乙醇:1 冰醋酸)的玻璃瓶中,放在 0—4℃冰箱中固定 4 小时,再换至 70%乙醇中(更换 3 次药液)于 0—4℃下保存备用。

采用卡宝品红染色的常规压片法和番红、固绿复染的石蜡切片法制片。在 OLYMPUS 显微镜下观察,拍照。

## 2 结果

观察结果显示雄性不育株 88—428BY 小孢子主要有三个败育时期,单核小孢子中期为败育的关键时期。

### 2.1 减数分裂期

当小孢子母细胞发育到减数分裂期,观察到 88—428BY 的小孢子母细胞在双线期后期出现较严重的配对松弛现象,细胞异常率近 99%(图版 2);虽然在双线期之后的各个时期,未出现染色体行为紊乱现象,但也出现了一些异常现象,如单价体、中期 I 染色体提前解离、后期 I 出现染色体桥、同一小孢子母细胞内两组染色体发育不一致、以及后期 II 染色体粘连、末期 II 形成异常的二分体等(图版 3—8),各种异常现象的频率仅为 2%—6%,约导致 9%的小孢子母细胞败育。

### 2.2 花粉发育时期

2.2.1 单核小孢子时期:通过与正常可育小孢子的各个时期相比较,观察到在不育系单核早期,小孢子仍被胼脂质包围,这个时期可能是大量败育发生的开始(图版 12)。小孢子继续发育,到小孢子中期,败育形式复杂多样,普遍情况:①不育系药壁组织在药室内壁未完全加厚之前,总是表现为层次不清,其细胞之间的界限难以分清(图版 10, 12, 14)②小孢子胞质稀薄、核凝缩并逐渐走向解体(图版 14)③药壁组织发育明显快于花粉粒的发育(图版 15);而其它异常现象有:小孢子发育的奇形怪状、具两个核仁、花粉壁发育不正常、药壁组织坍塌(图版 16)。这个时期是败育的关键时期,当它们发育到最后,大部分花粉细胞质解体、无淀粉粒沉积、无核及核仁、花粉壁部分解体、互相粘连、形态不规则,最终形成

各式各样的花粉块;药壁最终发育到正常状态,内壁加厚、绒毡层与中层退化成一膜,表皮也退化成一薄层(图版 17)。89.3%的花粉只能发育到这个时期。

2.2.2 二胞花粉期:个别药室存留了少数小孢子,继续发育。二胞花粉早期发育无明显异常的现象(图版 18);仅有 10%的花粉粒继续发育至二胞花粉晚期,却因无淀粉或淀粉积累不完全而最终败育,而且与 88—428 的二胞花粉晚期(图版 19)相比药壁组织出现类溶解的现象(图版 20)。

## 3 讨论

### 3.1 88—428BY 败育的主要时期

在 88—428BY 的小孢子发育过程中,单核小孢子中期是败育的主要时期,这个时期导致 89.3%的花粉败育。但在 88—428BY 的小孢子发育的其它阶段也出现了各种败育现象。在减数分裂过程中出现了 99%的花粉母细胞联会异常,但在四分体时期仍有相当于正常可育系的约 90%的正常四分体形成,若以后的发育正常,是完全可以正常授粉,所以减数分裂时期不是败育的主要时期。

### 3.2 败育的原因

#### 3.2.1 减数分裂染色体行为异常与不育性发生的关系

减数分裂异常行为与不育性发生有无关系,仍是一个有争议的问题。有的研究者认为,减数分裂异常行为偶有发生,但不是不育性发生的主要原因。这与笔者所持观点相同。但也有人认为在大多数情况下,减数分裂异常不直接导致花粉母细胞的败育,可能是小孢子停滞发育的潜在因素。

#### 3.2.2 细胞质稀薄解体式败育表现与溶酶体的关系

单核小孢子的胞质稀薄式解体是雄性不育系中观察到的一个较普遍的现象。有分析认为小孢子内含物的迅速降解很可能与溶酶体的作用有关。正常情况下,溶酶体被膜包围着,一旦膜的透性改变或破坏,溶酶体中的水解酶全部释放出来,将会降解组成细胞的各种化合物。由于不育株的小孢子细胞内膜系统被破坏,溶酶体膜也遭破坏,所以溶酶体的各种水解酶全部释放出来,导致小孢子内含物迅速降解变空,使小孢子退化,只留下抗分解的花粉壁残骸<sup>[3]</sup>。韩笑冰、利容千(1996)在分析小麦小孢子胞质稀薄解体现象时认为细胞质中细胞器的结构和功

能的改变对小孢子败育起着重要作用。胡适宜(1977)也曾对不育系单核小孢子的亚微结构观察,看到小孢子液泡系活动异常,起消化酶隔离作用的液泡不存在或液泡膜已破坏,使溶酶体小室失去分隔。由此说明小孢子胞质稀薄解体可能与溶酶体的异常释放有关。

### 3.2.3 绒毡层行为异常与花粉败育表现的关系

在有关植物雄性不育的文献中,有许多报道都提到花药绒毡层细胞的发育异常与花粉败育有关。胡适宜(1982)认为绒毡层细胞作为向花粉母细胞输送养份的通道和提供花粉母细胞进行细胞分裂的能量,当绒毡层细胞发育异常时,必然会影响到花粉的正常发育。陈良碧(1990)观察到在不育花粉显示败育迹象之前的花粉单核中期,不育花药绒毡层细胞中,粗糙内质网较少;在单核靠边期,不育花药绒毡层中又出现了相当数量的多聚核糖体。关和新(2000)发现马协不育花药绒毡层提前解体,直接导致了花粉外壁发育不良,也反映出绒毡层的不正常与花粉的败育有关。绒毡层作为围绕着正在发育的减数分裂细胞和花粉粒的营养层,它的不正常常被看作与非结构上的雄性不育性有关。据统计<sup>[4]</sup>,约33%的雄性不育花药具有正常的绒毡层,有33.5%的是绒毡层功能异常,33.5%的绒毡层持续不解体。笔者观察到,小孢子早期有胼胝质不解体的现象。胼胝质解体是由绒毡层提供的胼胝质酶来促使完成的,由此说明在这个阶段绒毡层的分泌功能就表现出不正常;而从小孢子中期以来,绒毡层细胞又表现为提前解体。绒毡层的提前解体,使得小孢子发育后期由于所需营养供应不足,导致败育。以此看来,

绒毡层细胞的异常行为可能是小孢子发育的限制因素之一。

### 3.2.4 小孢子的败育与药室内壁异常发育的关系

在整个花粉发育过程,我们还观察到该不育系从小孢子母细胞形成期开始,存在药壁组织异常的角质化和药壁层次不清晰等现象(图版 10, 12, 14);小孢子中期开始又表现出药壁组织的发育快于花粉的发育(图版 15);二胞花粉晚期药室内壁又出现类溶解现象(图版 20)。因为在整个花粉发育中,药壁组织起着营养或保护等作用,所以各层细胞的形态及变化的异常影响花粉功能的正常表达是有可能的。

### 3.3 败育度

因为笔者所采的花蕾均在第五节位以上,所以,细胞学上 100%的败育与形态学上第五节位以上无荚果形成的结果是一致的。这一结论为我们放心地使用该不育系作为制种工具提供了理论和实际生产应用上的保证和依据。

## 参 考 文 献

- 1 Kaul M. L. H. Male Sterility in Higher Plants[M]. Berlin, Springer-Verlag, 1988, PP. 1-3.
- 2 卫保国,孙贵臣,畅建武,等.大豆品系 88-428BY 光(温)敏雄性不育性的鉴定[D].第三届全国青年作物遗传育种学术会文集,1999.
- 3 李竞雄.玉米雄性不育生物学[M].北京:中国农业出版社,1998,69.
- 4 孟金陵.植物生殖遗传学[M].北京:科学出版社,1995,153-154.

## A CYTOLOGICAL OBSERVATION OF THE PHOTOPERIOD—SENSITIVE MALE STERILE 88—428BY OF THE SOYBEAN

Li Yanhua<sup>1</sup> Wei Baoguo<sup>1</sup> Li Guiquan<sup>2</sup> Wang Fang<sup>2</sup>

(1. Breed Source Institute of Shanxi Academy of Agriculture Science, Taiyuan 030031;

2. Academy of Agriculture, Shanxi Agriculture University, Taigu 030801)

**Abstract** The 88—428BY is found by Wei Baoguo, which is a photoperiod—sensitive male—sterile soybean. Under the artificial illumination, the pollens appear to be sterile in light treatment of 12.0h/d for 20d; to be fertile in the treatment of 15.0h/d. Comparative studies of the development of pollens of the sterile and fertile plants show there are three breakdown stages:

(1) At the meiotic division of the pollen mother cell, the 99% of them show the abnormal synapsis, 9% of the pollen mother cells show aborted.

(2) Middle microspore stage, which is the key sterile stage, 89.3 % of the pollens show abnormal.

(3) The late bicellular pollen stage, 10 % of the pollens show aborted.

**Key words** Soybean; Photoperiod—sensitive male sterile line; Pollen; Abortion

## 图版说明

1、正常的双线期(× 670); 2、双线期染色体配对松弛(× 670); 3、单价体(× 670); 4、中期 I 提前解离(× 670); 5、染色体桥(× 670); 6、中期 II 与前期 II (× 670); 7、后期 II 染色体粘连(× 670) 8、二分体(× 670); 9、正常小孢子母细胞形成期(× 330); 10、小孢子母细胞形成期的异常药壁组织(× 330); 11、正常小孢子早期(× 330); 12、异常小孢子早期(× 330); 13、正常小孢子中期(× 330); 14—17、小孢子中期的各种异常(× 330); 18、正常二胞花粉早期(× 330); 19、正常的二胞花粉晚期(× 330); 20、异常的二胞花粉晚期(× 330)

## Plate Explanation of Plates

1. Normal diplotene (× 670); 2. Diplotene chromosome mates slackly (× 670); 3. Univalents (× 670); 4. Metaphase I, chromosome leaving early (× 670); 5. Chromosome bridg (× 670); 6. Metaphase II and prophase II (× 670); 7. Chromosome lagging and sticking (× 670); 8. Abnormal tetrad (× 670); 9. Microspore mother cell formation stage, normal the walls of anther (× 330); 10. Microspore mother cell formation stage, abnormal the walls of anther (× 330); 11. Normal early microspore stage (× 330); 12. Abnormal early microspore stage (× 330); 13. Normal middle microspore stage (× 330); 14—17. Abnormal middle microspore stage (× 330); 18. Normal early bicellular pollen stage (× 330); 19. Normal bicellular pollen stage (× 330); 20. Abnormal late bicellular pollen stage (× 330)

