

温敏雄性不育系小麦 BNS 败育的细胞学观察

贺晓敏¹, 周美兰^{1*}, 余传启¹, 茹振刚², 杨庚武¹, 孔得群¹, 李雪梅¹, 陈其敏¹

(1. 湖南农业大学农学院, 湖南长沙 410128; 2. 河南科技学院小麦中心, 河南新乡 453003)

摘要 [目的]为了明确温敏雄性不育系小麦 BNS 雄性败育的细胞学机制。[方法]采用醋酸洋红染色对温敏雄性不育系小麦 BNS 花粉母细胞减数分裂和小孢子发育过程进行细胞学观察, 采用浓度 1% I₂-KI 溶液染色法进行花粉育性统计。[结果] BNS 不育系在减数分裂过程中异常, 中期 I 出现染色体滞后现象; 二分体时期细胞质分配不均匀, 染色体靠边, 没有在细胞中央; 四分体时期子细胞大小不一, 其子细胞存在落后染色体, 有的二分体经过第 2 次分裂没有形成 4 个子细胞, 而是分成 3 个子细胞; 小孢子发育过程中观察到单核靠边期, 未能发育到双核期和三核期, 还出现空孢现象; 开花期的花粉彻底败育。而扬麦 13 能形成正常的二核期和三核期, 花粉可育。[结论]减数分裂过程中出现的异常行为是导致 BNS 花粉败育的原因之一。单核期是其败育的关键时期。

关键词 温敏雄性不育系; BNS; 花粉母细胞; 减数分裂; 花粉败育

中图分类号 S512 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)24-09882-04

Cytological Observations of Male Abortion of Thermo-sensitive Male Sterile Wheat BNS

HE Xiao-min et al (College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128)

Abstract [Objective] The research aimed to clarify the cytological mechanism of the male abortion of thermo-sensitive male sterile wheat BNS. [Method] This test used acetic acid magenta staining to conduct cytological observation on pollen mother cell meiosis and the microspore development of BNS process, and 1% I₂-KI solution staining to measure the pollen fertility. [Result] The mother cells of the male-sterile line BNS were abnormal during meiosis, such as laggard chromosomes phenomenon appeared at metaphase I, and non-uniform cytoplasm distributed or the chromosome aside in the cell at dyad. During tetrad daughter cells showed different size and laggard chromosomes. Some dyads didn't form four daughter cells but three cells after second division. The microspore could develop to late-mononuclear stage, but failed to binuclear and trinucleate stage, and the empty spore phenomenon appeared as well. The pollen in the male-sterile line was thoroughly abortive at flowering stage, while that in Yangmai 13 was fertile because it could form binuclear and trinucleate. [Conclusion] Abnormal meiosis is one cause of pollen abortion of BNS, and mononuclear period is the critical period of abortion.

Key words Thermo-sensitive male sterility; BNS; Pollen mother cell; Meiosis; Pollen abortion

杂种优势是提高作物产量的重要途径之一^[1-3]。小麦温敏雄性不育两用系的成功选育使得两系法利用小麦杂种优势有了可能, 为小麦杂优利用开辟了新途径^[4-5]。而雄性不育系是自花授粉作物利用杂种优势的基础^[6]。光温敏雄性不育小麦具有恢复普广、配组自由、杂交种生产过程简单和成本较低等优点^[7], 用于二系小麦杂交育种中具有重要意义。光温敏雄性不育小麦在二系法杂交小麦中被广泛应用, 但由于对其败育机制不能完全了解, 在大面积推广应用中仍存在着一些关键性的理论问题。从细胞学角度去解析其败育机制对改良和充分利用不育系是极其重要的理论基础。

光温敏型雄性不育小麦的花粉母细胞在减数分裂期间染色体异常行为是导致花粉败育的重要原因之一。小孢子发育过程也可能导致其花粉败育。樊建青等^[8]推测 BS366 在减数分裂期间异常染色体行为以及细胞形态可能是影响花粉育性降低的重要原因。周美兰等^[9-10]通过研究小麦光温敏核不育系 ES-10、ES-14, 发现 ES-10 花粉败育主要发生在二核期到三核期, ES-14 的花粉粒只能发育到单核靠边期。高东迎等^[11]研究表明, 早播的 C49S 导致败育的原因是减数分裂染色体异常。张建奎等^[12]对温光核不育小麦 C404S 和 C412S 的研究表明, C404S 和 C412S 的败育期主要在单核期。BNS 是新发现的一个对温度敏感的小麦雄性不

育系, 有良好的不育性和恢复性, 被认为在杂交小麦研究和利用中有着重要价值^[13]。笔者对温敏型雄性不育系 BNS 的减数分裂和小孢子发育过程进行观察, 探讨了花粉败育的细胞学原因, 以期为进一步分析小麦 BNS 温敏型雄性败育机制提供理论基础。

1 材料与与方法

1.1 试验材料 供试材料温敏雄性不育系小麦为 BNS, 由河南科技学院提供; 常规品种扬麦 13 为对照 (CK), 由国家小麦改良中心扬州分中心育成。在播期试验中, 以 2012 年 9 月 23 日~10 月 17 日播种的 BNS 为雄性不育系和 CK。

1.2 试验方法 从孕穗始期 (3 月 3 日) 起, 每隔 1 d 于上午 9:00~11:00 取叶枕距 2~12 cm, 幼穗长为 5~12 cm 和抽穗的麦株, 分别从下到上取每个小穗花药进行醋酸洋红染色, 在显微镜下观察花粉母细胞减数分裂过程及发育形成成熟花粉粒的过程。开花时, 逐日取供试材料任意 3 株小穗上当日开的 3~5 朵颖花, 对每朵颖花 2~3 个花药进行混合制片。用浓度 1% I₂-KI 溶液染色, 观察 3 个视野, 计数花粉典败、圆败、染败和完全可育的花粉粒数。同时, 用醋酸洋红染色, 观察花粉粒的染色情况。

花粉败育率 = ((典败 + 圆败 + 染败) 花粉数 / 花粉总数) × 100%

2 结果与分析

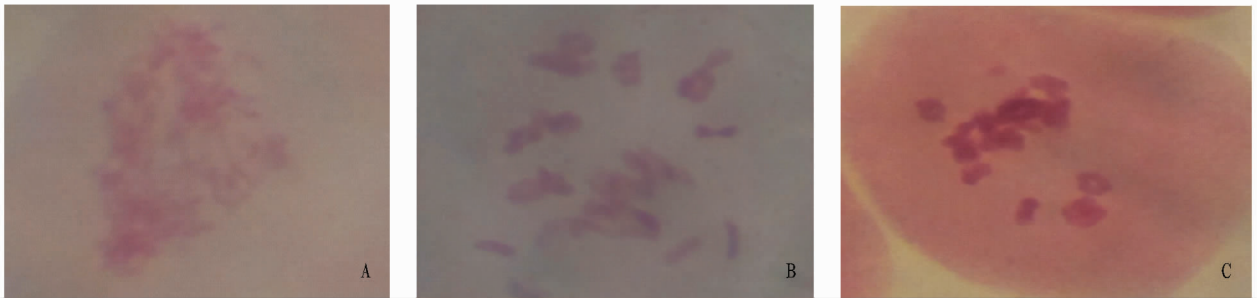
2.1 BNS 花粉母细胞的减数分裂过程

2.1.1 减数分裂前期 I。 由图 1 可知, 在减数分裂前期 I 的细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期染色体基本正常, 染色体配对逐渐浓缩, 变短, 变粗。

基金项目 “十二五”国家“863”计划项目“强优势小麦杂交种的创制与应用” (2011AA10A106)。

作者简介 贺晓敏 (1990-), 女, 贵州松桃人, 本科生, 专业: 种子科学与工。* 通讯作者, 教授, 硕士, 硕士生导师, 从事小麦方面的研究, E-mail: mlzhouwq@126.com。

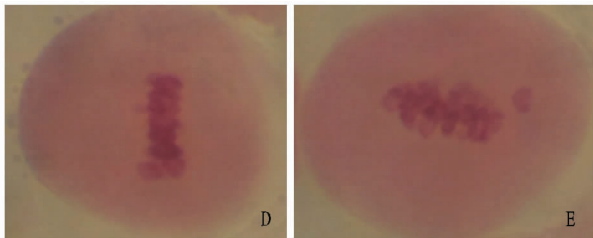
收稿日期 2013-07-15



注:A. 细线期;B. 双线期;C. 终变期。

图1 BNS 减数分裂前期

2.1.2 减数分裂中期 I。由图 2 可知,染色体排列在赤道板上,二价体分散在两侧。但是,也观察到异常现象,染色体有滞后现象。

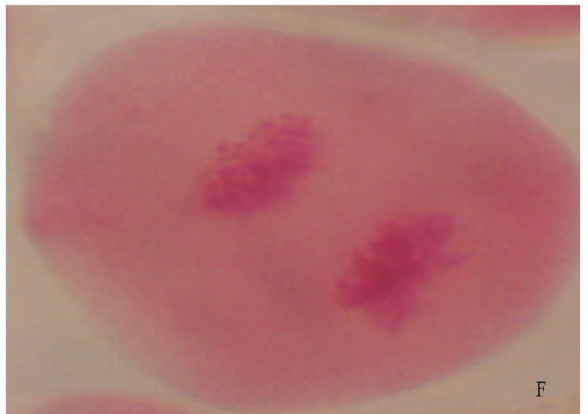


注:D. 染色体正常;E. 染色体滞后。

图2 BNS 减数分裂中期 I

2.1.3 减数分裂后期 I。同源染色体分开,分别向两极移动,染色体减半。

2.1.4 减数分裂末期 I。由图 3 可知,染色体解旋,呈丝状,核膜形成,细胞质分裂,形成 2 个子细胞。



注:F. 同源染色体分开。

图3 BNS 减数分裂末期 I

2.1.5 二分体时期。由图 4 可知,在完成减数第一次分裂形成二分体,表现异常,如同源染色体分开没有分配给 2 个子细胞,细胞质分配不均匀,2 个子细胞中间有一小块细胞质;二分体进行减数第 2 次分裂过程中,染色体靠边没有在细胞中央。

2.1.6 四分体时期。经过第 2 次分裂后形成 4 个子细胞,即四分体。由图 5 可知,四分体出现异常现象,子细胞大小不一,有的二分体经过第 2 次分裂后没有形成 4 个子细胞,而是分成 3 个子细胞。

2.2 小孢子发育过程的观察 由图 6、7 可知,BNS 的小孢子发育过程与扬麦 13(CK)存在着明显的差异。BNS 和扬麦 13 都出现了单核靠边,但 BNS 出现了和小孢子不规则空泡现象,未观察到二核与三核期,而扬麦 13 中均观察到二核与三核期。

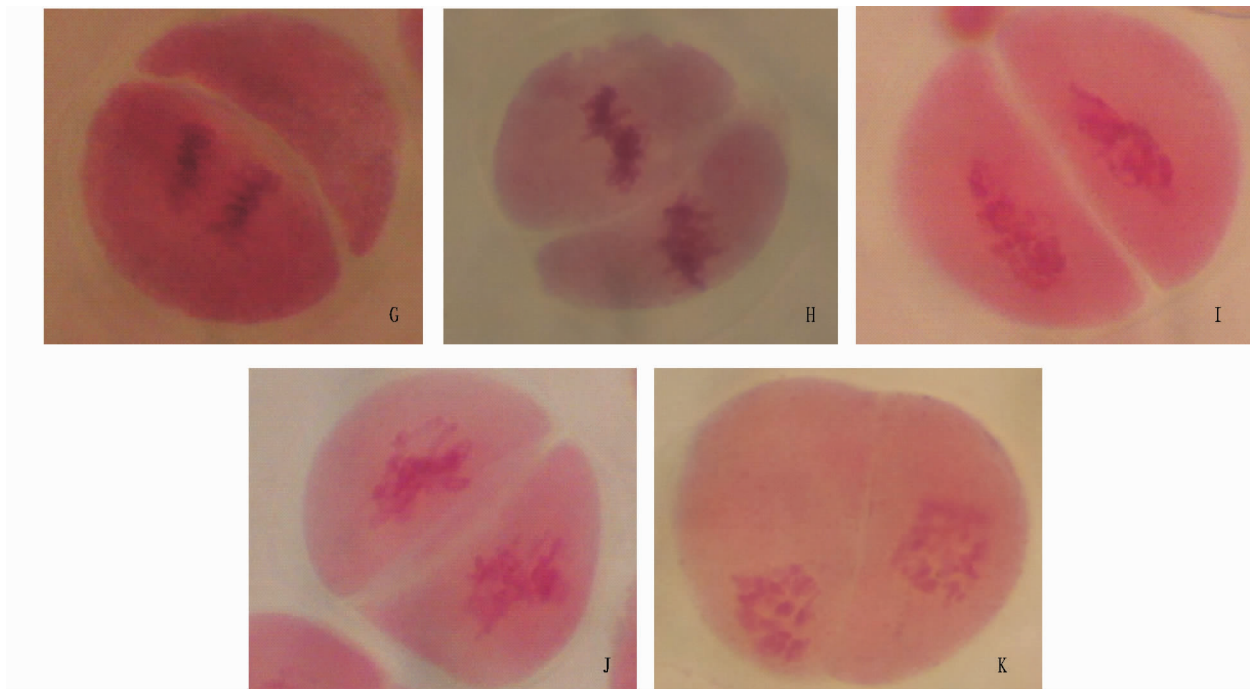
2.3 花粉育性的表现 用浓度 1% I_2 -KI 溶液对 BNS 与扬麦 13 花粉进行染色、显微镜观察来鉴定花粉类型及其比例,比较 BNS 与扬麦 13 花粉育性。由表 1 可知,BNS 的花粉粒形状以不规则的、不能被浓度 1% I_2 -KI 溶液染色的典败型花粉粒为主,占 91.72%,花粉粒形状为圆形、不能被浓度 1% I_2 -KI 溶液染色的圆败型花粉粒占 8.28%,花粉粒形状为圆形、能被浓度 1% I_2 -KI 溶液染色浅的染败型和染色深的可育性所占比例为 0。而扬麦 13 的花粉粒形状为圆形、能被浓度 1% I_2 -KI 溶液深染色的可育型为主,占 92.67%,花粉粒形状为圆形、能被 1% I_2 -KI 溶液深染色的染败型以及花粉粒形状为圆形和不规则的、不能被浓度 1% I_2 -KI 溶液染色的圆败型和典败型较少。显然,BNS 花粉彻底败育,扬麦 13 可育。用醋酸洋红对 BNS 扬麦 13 花粉染色,显微镜观察比较花粉的形态结构。由图 8 可知,BNS 的花粉粒染不上色,没有核,呈空泡现象,扬麦 13 的花粉粒基本都染上色并可以清楚地看见三核。

表 1 BNS 与扬麦 13(CK)的花粉育性统计

材料	可育率	染败率	圆败率	典败率	%
BNS	0	0	8.28	91.72	
扬麦 13(CK)	92.67	3.18	0.41	3.74	

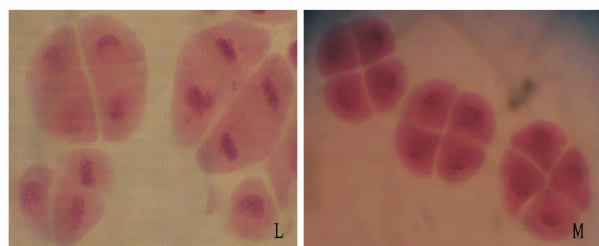
3 结论与讨论

研究表明,BNS 在减数分裂中期 I 观察到染色体有滞后的异常现象,二分体时期染色体没有分给 2 个子细胞,细胞质分配不均匀,在二分体进行减数第 2 次分裂过程中,染色体靠边,没有在细胞中央,四分体时期子细胞大小不一,子细胞存在落后染色体,有的二分体经过第 2 次分裂没有形成 4 个子细胞,而是分成 3 个子细胞,但还是有正常的四分体。在小孢子发育过程中以扬麦 13 做对照,扬麦 13 表现正常由单核期→双核期→三核期,BNS 只出现了单核期,未发现双核期和三核期,还出现空泡现象。在开花时期,用醋酸洋红对扬麦 13 和 BNS 的花粉进行染色,BNS 的花粉粒染不上色,没有核,呈空泡现象,扬麦 13 的花粉粒基本都染上色并可以



注:G. 染色体没有分配给 2 个子细胞;H. 子细胞呈肾形;I. 二分体正常;J. 2 个子细胞中间有一小块细胞质;K. 染色体靠边。

图 4 BNS 二分体时期



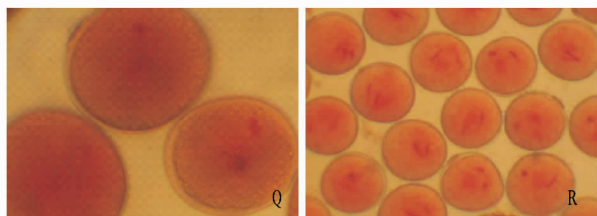
注:L. 子细胞大小不一,出现 3 个子细胞;M. 正常四分体。

图 5 BNS 四分体时期



注:N. 单核期;O. 单核靠边;P. 小孢子不规则和出现空孢。

图 6 BNS 小孢子发育过程



注:Q. 双核期;R. 三核期。

图 7 扬麦 13(CK)小孢子发育过程

清楚地看见三核,用浓度 1% I₂ - KI 溶液对扬麦 13 和 BNS

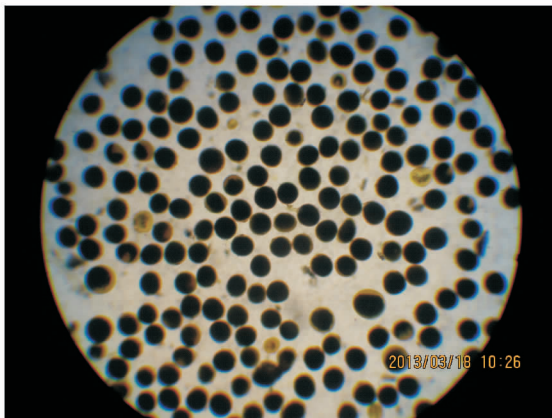
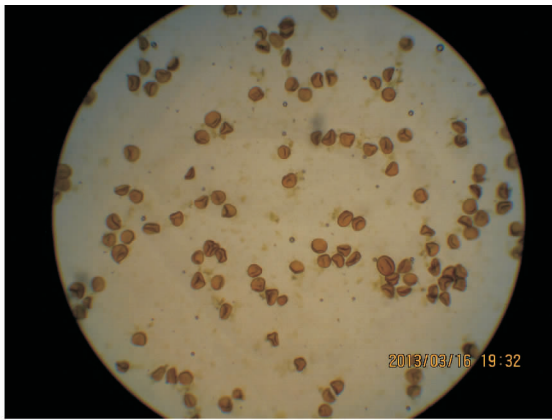
的花粉进行染色,并统计花粉类型。结果表明,BNS 花粉彻底败育,扬麦 13 可育。所以,在减数分裂过程中出现的异常现象是导致 BNS 花粉败育的原因之一,小孢子的发育过程中只发育到单核时期就停止是导致 BNS 花粉败育的重要原因。

植物花粉发育要经过小孢子母细胞形成期、小孢子母细胞减数分裂期、单核花粉期、二核期和三核期等阶段。这些阶段都有可能发生败育^[11]。植物的雄性不育发生在分子代谢水平上被认为是一个细胞程序性死亡的过程^[14]。这个过程应该从感温期开始,逐步影响基因表达和代谢异常,继而

结构异常^[15]。有些植物的雄性不育材料在小孢子形成之前即表现异常现象,如绒毡层过早解体,花粉母细胞胼胝质壁过早解体,花粉母细胞减数分裂过程不能正常进行,花粉败育在四分体形成之前;有些植物花粉败育发生在小孢子自四分体形成释放前后的发育时期,甚至到双核、三核花粉时期才出现败育现象^[16-18]。BNS 对温度的敏感期被认为是减数分裂期^[19],也有认为是雌雄蕊分化期开始^[13]。苏晴等^[15]报道,小麦 BNS 雄性不育系的花粉败育在二核到三核期。在研究 BNS 雄性不育系的花粉败育时发现,在减数分裂过程中出

现的异常现象是导致其败育的原因。主要败育期是在单核期。这与前人的研究不尽相同。有关 BNS 雄性不育系花粉

败育,需更进一步研究其败育的本质。



注:左为浓度 1% I₂-KI 染色;右为醋酸洋红染色。

图 8 BNS(上)与扬麦 13(CK、下)的开花时花粉对照

参考文献

- [1] 范云六,张春义,贾继增.我国农作物生物技术的成就与展望[J].世界科技研究与发展,1999,21(1):11-15.
- [2] 陈学峰,熊建华,张义平,等.水稻杂种与亲本间差异表达 cDNA 片段 S600 的分离克隆[J].武汉植物学研究,2005,23(1):91-95.
- [3] 金清波,张金栋.作物育种知识讲座(四)——杂种优势利用[J].生物学通报,1995,30(12):21-23.
- [4] 谭昌华,余国东.重庆温光核不育小麦的不育性的研究初报[J].西南农业学报,1992,5(4):1-6.
- [5] 何觉民,戴君扬.生态遗传雄性不育理论与两系杂交作物[M].长沙:湖南科学技术出版社,1997:1-25.
- [6] 张建奎,董静,宗学风,等.温光敏核雄性不育小麦雄性败育的细胞学观察[J].植物遗传资源学报,2009,10(3):412-417.
- [7] 赵昌平,王新.杂种小麦的研究现状与光温敏二系法[J].北京农业科学,1999,17(2):3-5.
- [8] 樊建青,张立平,赵昌平,等.光温敏核雄性不育小麦 BS366 花粉母细胞减数分裂的细胞学研究[J].中国细胞生物学学报,2011,33(6):622-628.
- [9] 周美兰,唐启源,程尧楚,等.光温敏核不育小麦 ES-10 雄性败育机制研究[J].湖南农业大学学报,1997,23(2):117-122.
- [10] 周美兰,程尧楚,邹应斌,等.光温敏核不育小麦 ES-14 花粉败育的细胞学研究[J].作物研究,1996(4):20-26.
- [11] 高东迎,李正玮.温敏雄性不育小麦 C49S 不育性表达研究[J].西南农业学报 1998,10(4):20-26.
- [12] 张建奎,董静,宗学风,等.温光敏核雄性不育小麦雄性败育的细胞学观察[J].植物遗传资源学报,2009,10(3):411-418.
- [13] 李罗江,茹振刚,高庆荣,等. BNS 小麦的雄性不育性及其温光特性[J].中国农业科学,2009,42(9):3019-3027.
- [14] 谢潮天,魏冬梅,田惠桥.高等植物雄性不育的细胞生物学研究进展[J].植物生理学与分子生物学学报,2006,32(1):17-23.
- [15] 苏晴,秦志英,程威,等.小麦 BNS 雄性不育系小孢子发育形态结构的细胞学观察[J].河南科技学院学报,2011,39(6):5-9.
- [16] 杨貌仙,李坤秀.水稻雄性不育系花粉形成和发育的细胞形态学研究[J].植物学报,1984,26(1):105-108.
- [17] 巫升鑫,刘思衡.矮败小麦雄性败育的细胞形态学观察[J].福建农业大学学报,1996,25(1):16-20.
- [18] 刘春光,吴郁文,张翠兰,等.小麦 D2 型细胞质雄性不育系雄配子发育的细胞形态学特征和同工酶的研究[J].遗传学报,1995,22(3):199-205.
- [19] 张自阳,胡铁柱,冯素伟,等.温敏核雄性不育小麦 BNS 的育性转换规律初探[J].河南农业科学,2010(7):5-9.
- [20] 王灵云,张立平,赵昌平,等.基因枪转化光温敏雄性不育小麦受体的选择与培养条件优化[J].华北农学报,2011(4):126-129.
- [21] 龚宏伟,马翎健.几类小麦雄性不育系育性敏感期的可溶性蛋白质变化研究[J].安徽农业科学,2012,40(28):13702-13704.
- [22] 李莉,宋书锋,李娜.水稻光温敏雄性不育的遗传研究进展[J].湖南农业科学,2011(11):4-7.