

哈克尼西棉细胞质雄性不育系小孢子发生的超微结构观察

Ultrastructural Observations of the Microsporogenesis in *G. harknessii* Cytoplasmic Male-Sterile Cotton

朱云国^{1,2}, 张昭伟¹, 王晓玲¹, 解海岩¹, 王学德^{1*}

(1. 浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310029; 2. 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092)

哈克尼西棉细胞质雄性不育(CMS)研究始于美国,因其具有不育性稳定、完全和保持系广泛等优点,受到棉花育种者的广泛重视,但其不育机理还不清楚。不同发育时期花药的细胞形态学观察,有助于了解 CMS 系雄性不育机理。光学显微镜下观察发现,不育系“DES-HAMS277”小孢子败育主要发生在造孢细胞增殖和小孢子母细胞形成期,且在减数分裂期彻底败育,不能形成四分体。但由于光学显微镜的局限性,对败育过程中小孢子和绒毡层在细微结构方面发生什么变化不清楚。不育系“DES-HAMS277”小孢子败育的超微结构未见报道。因此,本文以保持系花药为对照,对不育系小孢子发生过程中的花药进行了超微结构观察。

1 材料和方法

选用具有哈克尼西棉 (*G. harknessii* Brandege) 细胞质的陆地棉雄性不育系“DES-HAMS277”和保持系“DES-HAB277”。它们来源于美国,于 2003 年种植于浙江大学实验农场。取不育系和保持系各发育时期的花药,经 4% 戊二醛-1% 锇酸双固定,乙醇系列脱水,环氧丙烷过渡, Epon812 渗透包埋,半薄切片定位, LKB-7800 切片机上钻石刀切片,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色, JEM-1200EX 透射电镜观察、照相、记载。

2 结果与分析

2.1 不育系小孢子发生过程中的异常

与保持系相比,不育系孢原细胞的超微结构基本正常,但约占 30% 的造孢细胞(STC)的超微结构开始出现明显的异常,主要表现为:约占 20% 线粒体最先出现肿胀、内嵴开始模糊、基质变

淡,接着细胞质开始收缩、变薄,细胞膜局部与细胞壁分离,细胞质内核糖体密度下降(图 2);而此时保持系造孢细胞的线粒体切面上多为杆状或圆形、体积小、内嵴明显、基质浓厚,细胞质浓厚、密布核糖体,细胞膜完整未见与细胞壁分离(图 1)。

造孢细胞经过有丝分裂、增殖和生长,形成小孢子母细胞(MMC)。虽然不育系也能形成大量小孢子母细胞,但与保持系相比,约占 90% 小孢子母细胞显示出明显退化,主要表现为:约占 60% 线粒体出现高度肿胀、内嵴由中部向边缘逐渐消失、基质变淡(图 3),细胞膜进一步与细胞壁分离,约占 30% 液泡膜破裂,约占 10% 小液泡合并成大液泡,并对细胞质及其中的细胞器进行自体吞噬活动(图 4);而此时保持系小孢子母细胞正常,线粒体切面上多为杆状或圆形、体积小、内嵴明显、基质浓厚,液泡小,液泡膜完整(图 5)。

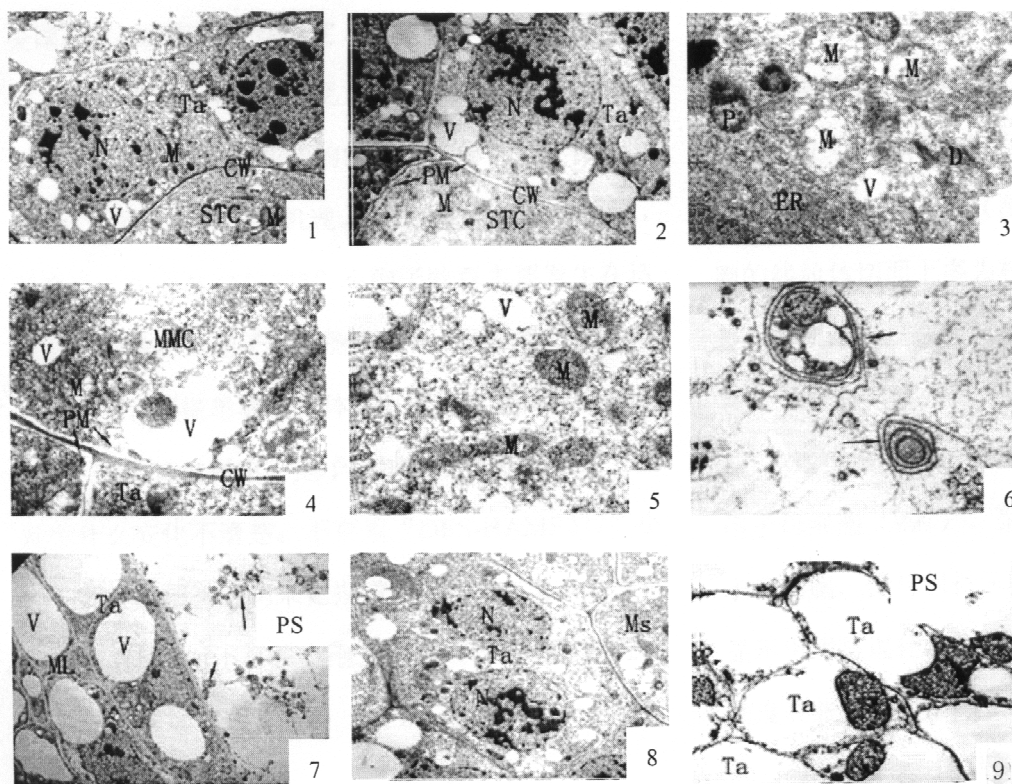
与保持系形成鲜明对比的是,进入减数分裂期,不育系败育中的小孢子母细胞进一步败育,主要表现为:线粒体、液泡等细胞器彻底解体、消失,细胞质也进一步解体、只残留些被膜包被的同心圆团(图 6),最终彻底败育,仅残留一些未解体完的细胞膜和细胞内容物,充满整个药室(图 7)。

2.2 不育系花药绒毡层细胞的异常

造孢细胞增殖期,与保持系相比,不育系绒毡层细胞的细胞核无明显差异,但约占 15% 绒毡层细胞的部分线粒体(约占 10%)开始出现肿胀,接着约占 5% 细胞质明显收缩、变薄,部分小液泡合并、变大。小孢子母细胞减数分裂期,保持系绒毡层细胞进一步增大,细胞质浓厚,细胞器丰富,液泡小,常含有双核(图 8);而不育系的绒毡层细胞则趋于停止生长,不但体积小,与中层细胞的大小相近,而且高度液泡化,也看不到双核(图 7)。四分体以后,保持系绒毡层细胞的细胞壁逐渐解体、

消失,其细胞质成为不规则形状物(称为周缘质团),混入到花粉团中,供发育中的花粉粒吸收;相反,不育系未败育的绒毡层细胞并不解体,而是径

向分裂和膨大充塞整个花粉囊室,它最后液泡化,其原生质体被挤压到一边(图 9)。



图版说明:STC 造孢组织细胞,MMC 小孢子母细胞,Ta 绒毡层,M 线粒体,N 核,V 液泡,CW 细胞壁,PM 质膜,P 质体,D 高尔基体,ER 内质网,ML 中层,PS 花粉囊室,Ms 小孢子。

- 1 保持系正常的绒毡层和造孢细胞 ×5000。
- 2 不育系的绒毡层和造孢细胞,示细胞液泡化、线粒体膨胀和质膜分离; ×5000。
- 3 不育系小孢子母细胞局部,示膨胀的线粒体; ×15000。
- 4 不育系小孢子母细胞局部,示液泡对细胞质吞噬现象和质膜分离; ×15000。
- 5 保持系正常的线粒体和液泡; ×20000。
- 6 趋死亡的不育系小孢子母细胞; ×6000。
- 7 不育系高度液泡化的绒毡层和中层,以及小孢子母细胞解体后在花粉囊室中的残留物; ×5000。
- 8 保持系在四分体时期双核绒毡层和四分孢子; ×5000。
- 9 不育系绒毡层细胞径向分裂充塞花粉囊室,细胞高度液泡化,原生质体被挤压到一边; ×3000。 ●