

乙烯利诱导小麦 (*Triticum aestivum* L.) 雄性不育的细胞形态学观察

山东农学院农学系植物与植物生理教研组

摘 要

在小麦花粉发育不同的四个时期,用 3000ppm 以上的乙烯利进行处理,结果表明,乙烯利在前三期使用,对“白蚰包”的杀雄效果均甚好。乙烯利对“泰山 1 号”的杀雄效果不好。

乙烯利处理的小麦,其花药花粉的发育,出现了四种类型:无花粉型、花粉败育型、花粉混合型及花粉三核型。前三种类型不育程度较高,后一种类型不育程度较低,无生产价值。乙烯利处理的“泰山 1 号”及在花粉二核期处理的“白蚰包”出现后一种类型。

在花粉败育型及混合型中,未观察到毡绒层发育的异常,在无花粉型中,观察到毡绒层与花粉同时败育,据此,难以说明二者有因果关系。

乙烯利能诱导小麦雄性不育,可望成为生产杂交小麦、利用杂种优势的重要手段之一。但乙烯利诱导小麦雄性不育的机理,远未清楚。它涉及细胞形态、生理生化和遗传等方面的复杂问题。本工作是对乙烯利诱导小麦雄性不育的细胞形态学方面的观察。

材 料 和 方 法

重点材料是“白蚰包”小麦,其次是“泰山 1 号”小麦。种植在本院农场,于 1974 及 1975 年连续进行了处理和观察,以 1975 年观察材料较多。喷药前选若干发育一致的分蘖用红漆标记。用不同浓度的乙烯利喷洒叶面,折合每亩用液量 666.7 斤。具体处理情况如下:

1. 白蚰包 1974 年仅用 3000ppm 在花粉母细胞减数分裂前处理,此处理简称 74 3000。1975 年处理:

I 期 4 月 15 日,减数分裂前四天(旗叶冒尖至抽出 1/4);浓度(ppm): 3000, 4000, 4000 + 20 (赤霉素);各处理分别简称为 I3000, I4000 及 I4000 + 20。

II 期 4 月 21 日,减数分裂期(叶环距 1—2 厘米左右);浓度(ppm): 3000, 4000, 5000;各处理分别简称为 II3000, II4000, II5000。

III 期 4 月 26 日,花粉为单核靠边期(叶环距 7—9 厘米,孕穗期);浓度(ppm): 3000, 4000, 5000, 6000;各处理分别简称为 III3000, III4000……。

IV 期 5 月 4 日,花粉为二核期(穗末端与旗叶叶耳齐或伸出一厘米左右);浓度(ppm): 6000, 8000;分别简称 IV6000 及 IV8000。

2. 泰山 I 号: I 期 4 月 12 日,减数分裂前七天(旗叶冒尖至抽出 1/4), 3000ppm, 简

称泰 I3000。

从处理后的第二天起至开花(5月8—12日)止,每隔一日,选取标记分蘖麦穗中部小穗,用纳瓦兴固定液固定。一部分材料用醋酸洋红制成涂片观察;另一部分材料,采用石蜡切片法切成厚10—15微米的纵、横切片,用苏木精染色,有的用桔红G复染。观察中部小穗基部两朵花的花药。此外用I-KI及PAS法观察花粉发育过程中淀粉积累的动态。以不喷乙烯利的“白蚰包”和“泰山1号”做为对照,进行比较观察。

此外,测量了花药长度及花粉的直径,观察了花药开裂情况。并对标记的穗子采取套袋的方法,计算其相对不育率。

观察结果及分析

一、对照材料

(一)花药:四室,药室横切面圆形。在花粉母细胞时期及减数分裂时期,花药壁层由外而内是表皮、纤维层、中层和毡绒层。在减数分裂过程中,中层最早退化,在减数分裂完成时解体;以后毡绒层也退化消失。成熟的花药,药壁仅由表皮及纤维层构成,纤维层有明显的条纹状加厚的壁。

(二)花粉形成:“白蚰包”和“泰山1号”两个品种的花粉母细胞进行减数分裂均在挑旗后,“白蚰包”发生在叶环距约在0—6厘米之间;“泰山1号”发生在叶环距约在3.5—8厘米之间。花药长度与减数分裂存在相关性,两个品种的花药长1.1—1.2毫米时,开始减数分裂。

(三)花粉发育:从四分体释放出来的单核花粉粒(小孢子)的形态及以后的发育情况同于一般植物正常花粉的发育。惟成熟的小麦花粉是包含一个营养核及两个精子的三核花粉(雄配子体)(图版II,图14)。三核花粉含有丰富的淀粉粒。二核及三核花粉,用I-KI及PAS法染色,整个花粉粒被分别染成一团深蓝色和红色,根本观察不到营养核、生殖核及精子等结构(图版II,图22)。

二、处理材料

(一)相对不育率:根据田间考种结果,74 3000相对不育率98.93%。1975年处理的材料,相对不育率分别为:I3000 96.2%,I4000 100%,I4000+20 99.8%;II3000 99.4%,II4000 100%;II5000 100%;III3000 89.5%,III4000 96.9%,III5000 99.3%,III6000 99.9%;IV6000 68.2%,IV8000 80.8%,泰 I3000 51.30%。

可以看出,“白蚰包”在I、II、III期用3000ppm以上的乙烯利处理,杀雄效果比较好;第IV期处理的由于较晚,浓度虽高达8000ppm,杀雄效果仍不够理想。更主要的是雌蕊受到伤害,因观察到未套袋的穗子中,也有整穗不结实或部分不结实的情况,故其相对不育率中,肯定有一部分为雌性不育,这对生产是不利的。3000ppm的乙烯利,对“泰山1号”杀雄效果不好。

(二)花药开裂情况、花药长度、花粉直径:对照小麦开花时,花丝伸长,花药露出颖壳外。花药黄色,纵裂。乙烯利处理的“白蚰包”,仅IV6000及IV8000的花药纵裂,其余处理组,开花时花药亦能露出颖壳外,淡黄色。绝大多数刚扬花的花药不开裂,以后仅部分顶裂。泰 I3000花药的颜色及开裂情况,与对照基本上无别。结合相对不育率来看,凡

是不育程度高的,开花时花药不裂或仅部分顶裂。因此,基本上可以把花药开裂不开裂,作为是否诱导出雄性不育的形态指标。

花药的长度,除 IV6000, IV8000 而外,一般较对照为短。但花药长度与处理时期及浓度有关系,处理时期较早,浓度较大,抑制花药长度程度大。同样的浓度,随着处理时期后延,花药长度与对照的差异就不显著。处理材料的花粉,均比对照的小(见表)。

(三) 花药与花粉发育 1. 减数分裂前处理的材料如 74 3000, I3000 及泰 I3000, 它们的减数分裂过程不受影响,能形成正常的四分体(图版 I, 图 1—6)。

2. 花药、花粉发育约有四种类型:

(1) 无花粉型 成熟花药内无花粉粒。这种类型只出现于减数分裂前处理的“白蚰包”。在四分体分散以后,单核尚居中时,花粉粒(小孢子)即开始皱缩,并且互相挤成一团而败育,结果形成了只有花粉囊壁而无花粉的花药。这种花药瘦小,开花时,花丝不伸长,花药不能露出颖片之外,不开裂。药室的横切面变扁,成熟花药的药室仅成为一狭长的缝隙,其中存留有染色较深的互相粘结在一起的败育花粉残迹。花药壁层由表皮及纤维层

乙烯利诱导小麦雄性不育花药花粉的发育 (1975)

观 察 日 期 (日/月)	处理时期及 浓度(ppm)	花 药 长 度 (毫米)	花 粉 发 育 阶 段	花 粉 直 径 (微米)	花 药 花 粉 发 育 类 型
16/4—18/4	I 3000	0.8—1	花粉母细胞尚未 减数分裂		多数花粉混合 型,极少数
19/4—23/4	I 3000	1.1—1.6	减数分裂 I 前期 至四分体形成		花粉败育型及无 花粉型
25/4	I 3000	1.6—1.8	单核居中	26—29.8	
27/4—30/4	I 3000	1.8—2.2	单核靠边	38.5—49	
2/5—6/5	I 3000	2.3—3	二核	40—49	
8/5—10/5(开花)	I 3000	3 左右	出现三核	45.5—52.5	
10/5(开花)	I 4000	1.5—2			无花粉型
10/5(开花)	I 4000+20	1.5—2			无花粉型
16/4—18/4	I 对照	0.8—1	花粉母细胞未减 数分裂		
19/4—21/4	I 对照	0.8—1	减数分裂 I 前期 至四分体形成		
23/4	I 对照	1.8 左右	单核居中	26—29.8	
25/4—29/4	I 对照	2—2.7	单核靠边	47—52	
30/4—4/5	I 对照	3.1—3.5	二核	49—56	
6/5—9/5(开花)	I 对照	3.5 左右	三核	52.5—63	
23/4	II 3000	1.5 左右	单核居中	24.5—28	花粉混合型
25/4—30/4	II 3000	1.6—2.8	单核靠边	42—52.5	
2/5—6/5	II 3000	2.8—3.2	二核	45.5—54	
9/5—11/5	II 3000	3—3.2	出现三核	47—54	
12/5(开花)	II 4000	2.6—2.9	单核、二核少数 花药有三核花粉	43.7—52	花粉败育型,少 数花粉混合型
12/5(开花)	II 5000	2.6—2.9	同 上	43.7—52	花粉败育型,少 数花粉混合型

(续 表)

观 察 日 期 (日/月)	处理时期及 浓度(ppm)	花 药 长 度 (毫米)	花粉发育阶段	花 粉 直 径 (微米)	花药花粉 发育类型
23/4	II 对照	参看 I 对照	单核居中	参看 I 对照	
25/4—29/4	II 对照	参看 I 对照	单核靠边	参看 I 对照	
30/4—4/5	II 对照	参看 I 对照	二核	参看 I 对照	
8/5(开花)	II 对照	参看 I 对照	三核	参看 I 对照	
27/4—30/4	III 3000	2.5—2.6	单核靠边	43.7—52.5	混合型
2/5—6/5	III 3000	3.2—3.4	二核	45.5—57.8	
8/5—12/5(开花)	III 3000	3.2—3.4	出现三核	45.5—57.8	
27/4—30/4	III 4000	2.6 左右	单核靠边	45.5—56	花粉混合型
2/5—6/5	III 4000	3.1—3.2	二核	47—56	
8/5—12/5(开花)	III 4000	3.1—3.2	出现三核	47—56	
9/5—12/5(开花)	III 5000	2.9 左右	出现三核	43.7—56	花粉混合型
9/5—12/5(开花)	III 6000	2.8 左右	出现三核	47—56	花粉混合型
27/4—30/4	III 对照	参看 I 对照	单核靠边	参看 I 对照	
2/5—6/5	III 对照	参看 I 对照	二核	参看 I 对照	
8/5—10/5(开花)	III 对照	参看 I 对照	三核	参看 I 对照	
6/5—8/5	I VI 6000		二核		花粉三核型
12/5(开花)	I VI 8000 I VI 8000	3.5 左右	三核	45.5—57.8	
17/4	泰 I 3000	1 左右	尚未减数分裂		花粉三核型
18/4—21/4	泰 I 3000	1.2—1.5	减数分裂 I 前期 至四分体形成		
23/4	泰 I 3000	1.7 左右	单核居中	31.5 左右	
25/4—29/4	泰 I 3000	1.9—2.9	单核靠边	47 左右	
30/4—6/5	泰 I 3000	2.7—3.3	二核	49 左右	
8/5—9/5(开花)	泰 I 3000	3—3.4	三核	49—57.8	
17/4	泰对照	0.9—1	未减数分裂		
18/4—21/4	泰对照	1.2—1.8	减数分裂 I 前期 至四分体形成		
23/4	泰对照	2 左右	单核居中,	33 左右	
25/4—29/4	泰对照	2.5—3.3	单核靠边	50.8 左右	
30/4—6/5	泰对照	3.8—3.9	二核	52.5—63	
8/5—9/5(开花)	泰对照	3.9 左右	三核	56—68	

构成,但纤维层无条纹状加厚的壁(图版 II,图 18)。这种花药的毡绒层破坏较早,与花药同时败育。74 3000 的相当一部分、I3000 的少量、I4000 及 I4000 + 20 的绝大多数均属无花粉型。I4000 的花药壁层仅有表皮层,有时还有个别的纤维层细胞存在(图版 II,图 19)。

(2) 花粉败育型 花药不开裂或部分顶裂,药壁层与对照无区别。花粉停留在单核或者二核阶段,极少形成三核。极少数药室形状不规则,其中的花粉形态也不正常,有的呈畸形皱缩,无 PAS 反应,如 74 3000 的少数属此型(图版 II,图 20)。多数药室形状正常,其中的花粉形态亦正常,有的有 PAS 反应,有的无,如 II4000, II5000 的大部分, I3000

的少部分属此型(图版 II, 图 21)。

(3) 花粉混合型 药室形状规则, 壁层发育与对照无异。开花后, 花药不开裂或部分顶裂。花粉能继续发育形成三核, 但仍有一部分花粉停留在二核甚至单核阶段。三核花粉有三种形态: 三个核形状大小基本相似,(图版 I, 图 12); 精子呈球形的, 此种形态较多(图版 II, 图 13); 精子长形, 呈正常形态的(图版 II, 图 14)。二核和三核花粉不含淀粉粒或含少量淀粉粒。如 74 3000 多数花药, III3000, III4000, III5000, III6000 的花药, 其花粉发育属此型。含淀粉的花粉与不含淀粉的花粉的比例, 反应了育性的差别, 如 III3000 由于处理时期较晚, 浓度不高, 含淀粉的花粉在有的花药内占一小半, 故其相对不育率, 比其他处理为低。

(4) 花粉三核型 花粉基本上是三核的, 精子形态一般正常, 含有淀粉的花粉占大多数。开花时, 花药纵裂。如泰 I3000 的花粉发育属此型, IV6000 及 IV8000 的花粉发育基本上也属此型。

讨 论

1. 花药花粉发育出现上述四种类型, 反映了它们不育程度的差异, 并能与田间考种的相对不育率互相对应起来。无花粉型及败育型不育程度最高, 混合型的不育程度也较高。三核型的不育程度低, 基本上无利用价值。经过两年实验, 可以看出, 在减数分裂前对白蚰包喷 3000ppm 以上的乙烯利, 即可诱导出无花粉型。但无花粉型伴随着药害, 顶端小穗退化比较严重, 结实率较低, 影响制种产量, 从生产观点出发, 并不要求无花粉型, 败育型及混合型可以满足制杂交种子的要求。三核型反映了乙烯利的杀雄效果差。它们的出现, 与品种及处理时期、浓度有关, 泰 I3000 花粉属三核型, 说明泰山 1 号对乙烯利杀雄不敏感。IV6000, IV8000 也是三核型, 是因为喷药时期较晚, 且有杀雌的作用。

2. 在同一处理, 花药花粉发育可以出现几种类型, 如 74 3000, 其花药花粉发育, 大多数属混合型, 同时有相当数量的无花粉型, 以及少量的败育型; I3000 基本上也有这三种类型, 只是大多数为混合型, 而败育型及无花粉型均较少而已。这种现象应当怎样解释呢? 我们根据 74 3000 及 I3000 以混合型为主, 而 I4000、I4000 + 20, 则绝大多数为无花粉型的情况来看, 认为同一处理之所以出现好几种类型, 是与花粉发育的时期及药剂浓度有关, 虽然我们标记时, 要求选择发育一致的分蘖, 但事实上, 很难准确达到, 总在一定的幅度内变动, 这样, 各分蘖的花粉发育不可能都处在同一阶段上, 有早, 有晚。另外, 喷药时也很难做到分布在每个分蘖上的药量是一致的。结果就出现了差异。

3. 国外的一些研究工作以及我们两年的实验都证明乙烯利能诱导小麦雄性不育, 但其不育的原因是不清楚的。我们观察乙烯利诱导的小麦雄性不育在败育型及混合型中均未观察到毡绒层的异常发育, 在无花粉型中观察到毡绒层与花粉同时败育, 据此, 难以说明二者有因果关系。

4. 乙烯利是一种激素类物质, 它可能是通过影响花粉发育的生理生化状态使其生理机能失调, 导致花粉早期败育, 或不能形成精子, 或精子形态不正常, 以及不能形成淀粉或积累淀粉很少, 而表现为雄性不育。要真正搞清乙烯利诱导雄性不育的机理, 还有待深入研究。

CYTOMORPHOLOGICAL OBSERVATIONS ON ETHREL INDUCED MALE STERILITY IN WHEAT

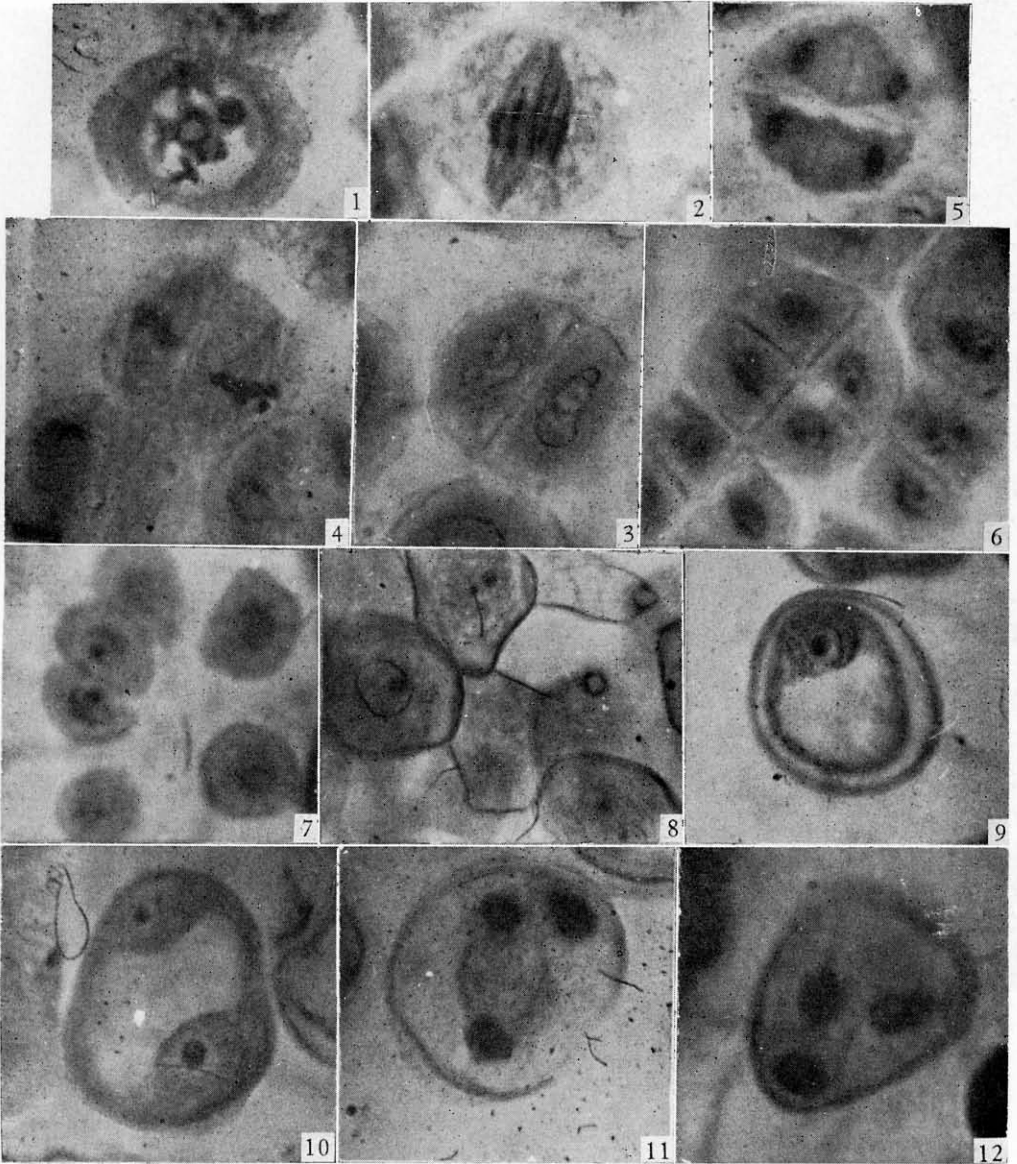
Faculty of Botany and Plant Physiology, Department of Agronomy,
Shangtung College of Agriculture

ABSTRACT

Treated with Ethrel at the concentration of over 3000 ppm at four different stages of the pollen development in wheat, our experimental results showed that Ethrel was very effective in inducing male sterility for the three earlier stages in Pai-you-boa, whereas it was ineffective for Tai-shan No. 1.

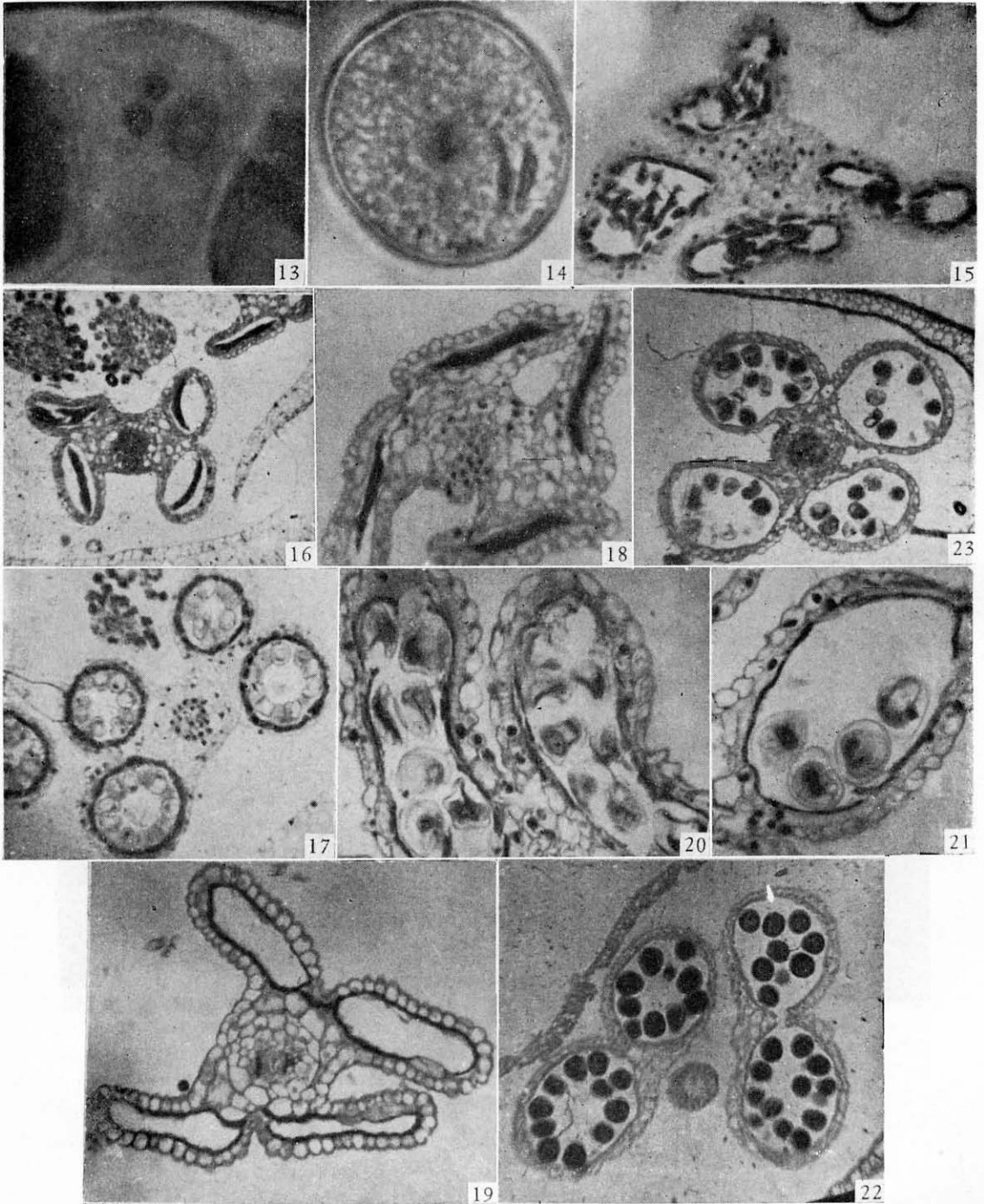
Four types of anther and pollen development were found after the treatment with Ethrel: anther without pollen, anther with abortive pollen, anther with mixed pollen and anther with 3-nucleate pollen. In former three cases, the degree of sterility was rather high while in the last the degree of sterility was low and it was useless in production. The last type of development appeared in Tai-shan No. 1 and Pai-you-boa treated with Ethrel at the stage of 2-nucleate pollen.

No abnormality was observed in the development of the tapetum in anther without pollen and anther with mixed pollen. In anther without pollen the tapetum and pollen became abortive simultaneously. It seems that there is no causal relation between them.



所有图片,除了标明 I 4000 及 II 5000 及“对照”二字的,均为 743000 的花药花粉发育。

1. 花粉母细胞减数分裂 I 前期 $\times 760$ 2. 花粉母细胞减数分裂 I 中期 $\times 760$ 3. 二分体 $\times 760$ 4. 减数分裂 II 中期 $\times 760$ 5. 减数分裂 II 末期 $\times 760$ 6. 四分体 $\times 760$ 7. 刚从四分体分开后的单核花粉粒 $\times 510$ 8. 单核居中的花粉,萌发孔已明显可见 $\times 510$ 9. 单核靠边期的花粉 $\times 690$ 10. 二核花粉。靠近萌发孔的为营养核,另一为生殖核,无 PAS 反应 $\times 690$ 11. 生殖核有丝分裂末期 $\times 782$ 12. 三个核无明显差别的花粉 $\times 782$



13. 三核花粉, 大的为营养核, 两个小的呈球形的为精子 $\times 805$ 14. 对照的三核花粉示两个长形精子与营养核 $\times 851$ 15. 无花粉型(743000)花药横切面, 皱缩的单核花粉互相挤在一起, 正在败育过程中 $\times 118$ 16. 无花粉型(743000)花药横切面, 药室已变扁, 其中有一团败育花粉残余, 毡绒层完全败育, 不复见 $\times 60$ 17. 与 16 同一时期的对照花药横切面, 毡绒层尚存在, 花粉粒处于单核靠边期 $\times 74$ 18. 无花粉型(743000)的成熟花药的横切面, 药室狭长, 其中为败育花粉团遗迹, 纤维层无条纹状加厚的壁 $\times 118$ 19. I4000 的无花粉型成熟花药横切面, 药室壁层仅余一层表皮及个别纤维层细胞 $\times 152$ 20. 药室呈不规则形状的花粉败育型花药横切面一部分, 花粉粒形状不规则, 停留在二核, 单核阶段 $\times 233$ 21. II 5000 的花粉败育型花药横切面, 示一个药室, 其中花粉粒停滞在单核及二核阶段 $\times 112$ 22. 对照的成熟花药横切面, 因花粉粒含淀粉粒丰富, PAS 反应强烈. $\times 35$ 23. 花粉混合型成熟花药横切面, PAS 染色, 有的花粉粒有 PAS 反应, 有的无 PAS 反应. $\times 35$