植物学通报 2005, **22** (3): 325~330
Chinese Bulletin of Botany

实 验 简 报

一种新型无花瓣油菜突变不育系花器官的形态解剖研究①

杨翠玲② 张文学 李殿荣 田建华

(陕西省杂交油菜研究中心 大荔 715105)

摘要 在自育的甘蓝型油菜(*Brassica napus*)无花瓣品系AP197中, 发现并育成由4对隐性核基因控制的无花瓣油菜突变不育系AMS971。AMS是一种雄蕊心皮化为不结实的假性雌蕊而引起的新的雄性不育类型, 不育性非常彻底, 其植株形态特征与AP197相同。比较花器官发现, AMS971除一个正常的雌蕊外, 还有6个梭形的心皮化假性雌蕊。假心皮化雌蕊上部变成近似倒U形的柱头结构区, 下部是完全突变的半开裂心皮, 其上着生4~14个不等的裸露的幼小胚珠; 蜜腺比正常油菜小, 数目为0~4个, 这与AP197没有差异。AMS971的四轮花器官由于突变造成了大小和重量的重新分配。推断AMS为类似拟南芥属B功能缺失的突变体。

关键词 无花瓣油菜, 突变雄性不育系, 花器官, 雄蕊心皮化

Morphology and Anatomy of a New Apetalous Mutant Sterile Line in *Brassica napus*

YANG Cui-Ling② ZHANG Wen-Xue LI Dian-Rong TIAN Jian-Hua

(*Hybrid Rapeseed Research Center of Shaanxi Province*, Dali 715105)

Abstract A new kind of apetalous mutant male sterility line, AMS971, was discovered in apetalous oilseed rape AP197 (*Brassica napus*). The male-sterile trait was genetically controlled by four pairs of recessive nuclear genes. The AMS971 flower consists of four sepals, six carpelloid stamens without anthers and a normal carpel in the center of the flower. The top to base of the third-whorl carpelloid stamens showed stigmatic papillae-like inversed-U and semi-fusion carpels with 4~14 exposed ovules. Compared with the wild-type, AMS971 showed 0~4 smaller nectarines, which is similar to AP197. Moreover, the size and weight of the floral organ in AMS971 differs from that in AP197. It was deduced that the AMS971 mutant was caused largely by B-class mutation from genes such as *Arabidopsis thaliana*.

Key words *Brassica napus*, Apetalous mutant sterile (AMS), Floral organ, Carpelloid stamens

①陕西省自然科学基金项目(2001SM32)资助。
②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: yangcuiling@sina.com
收稿日期: 2004-07-29 接受日期: 2004-11-24 责任编辑: 于昕

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-120

高等植物中普遍存在雄性不育现象, 据统计(Kaul, 1988), 已经在43个科162个属320种植物中发现了雄性不育。随着细胞质雄性不育系陕2A的发现及世界上第一个大面积应用的杂交油菜“秦油二号”的全面推广, 优质油菜的应用已经越来越广泛(李殿荣, 1986; 傅廷栋, 1995)。油菜杂种优势利用的主要途径是细胞质雄性不育三系法和细胞核雄性不育两系或三系法, 这两种方法所用的不育系的四轮花器官中, 只是花药退化而花瓣仍存在(Zhang *et al*., 2003)。有关研究认为, 无花瓣油菜的发现, 使得油菜高产且抗病的潜势得以继续挖掘(谭小力等, 1998)。但目前仍未见到有关无花瓣油菜雄性不育利用的详细报道。我们于1997年育成了纯合稳定的无花瓣油菜新品系AP197(谭小力等, 1998)。1998年4月花期, 在该品系中发现并育成一种可能由4对隐性核基因控制的雄蕊雌化的无花瓣油菜突变不育系AMS 971 (Zhang *et al*., 2003)。连续6年的研究表明: 该AMS不育性非常彻底, 是一种雄性器官雌性异常化而引起的新的雄性不育现象。该特异种质资源的创建为油菜杂种优势利用开辟了一种新的途径(Zhang *et al*., 2003)。本文通过对AMS971花器官形态特征的研究, 为进一步深入研究其花发育的分子机理及其油菜杂交育种提供了科学的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

材料选自陕西省杂交油菜研究中心选育的甘蓝型无花瓣油菜AP197及其突变不育系AMS971, 该不育系中不育株(ams)和可育株(amf)呈现1:1分离。

1.2 方法

1.2.1 花器测量方法 于油菜的初花期, 在无花瓣油菜AP197及其突变不育系AMS971(ams和amf)中各选10株, 在每个主花序上从下往上按顺序取5个即将开放的花蕾, 迅速对花器进行测量、解剖和称量。花蕾的长度、宽度及雌蕊的长度用游标卡尺测量; 花器各部分鲜重用METTLER AE50电子天平测量, 雄蕊重量用一个花蕾中6个雄蕊的总重量表示。

1.2.2 花器解剖研究 于油菜的蕾苔期、初花期分别取AP197、AMS971中的ams和amf的花蕾, 在XTL-Ⅱ型照相体视显微镜下进行解剖, 观察测量雌蕊、花药的长度及宽度、雄蕊心皮化结构的特征等, 用FinePix S602 ZOOM型数码照相机对解剖结构拍照。

2 结果与分析

2.1 甘蓝型无花瓣油菜突变不育系AMS971(1:1系)花器特性

2.1.1 植物学特性 甘蓝型无花瓣油菜突变不育系AMS971的植株发育正常, 植株形态特征与无花瓣正常可育植株完全相同。植物学鉴定和比较认为, AMS971为离萼、单被花, 6个雄蕊完全突变为6个心皮化的假性雌蕊(图1A)。AP197的花蕾表面基本平滑, ams花蕾表面微皱、略不平(图1B)。6个半开裂的心皮化雌蕊在开花之前相互之间紧密抱合, 暗黄色的柱头结构与正常柱头组织连接紧密(图1C)。

无花瓣油菜AP197的近等系正常油菜及其AMS971、AP197开花后剥掉萼片的形态见图1A。无花瓣油菜AP197近等系花器发育正常, AP197缺少了4个平展的球拍形花瓣, AMS971的6个雄蕊突变成为心皮化假性雌蕊, 三者之间截然不同。一个完整的AMS971花蕾包括4个萼片、0~4片不等变态的残瓣、6个心皮化的假性雌蕊和一个正常雌蕊(图1D)。心皮化雌蕊因为相互之间抱合方式不同而形成不完全规则的梭形。梭形上半部分边缘呈黄色、倒U形的柱头乳突细胞组织; 中部和下半部分边缘着生4～14个不等(平均7.1个)的绿色幼小胚珠(图1E), 下部以绿色小柄与花托连接。随着角果的发育, 绿色胚珠发育停止并死亡, 但不脱落; 而

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-120



图 1　无花瓣油菜突变不育系 AMS971 **的花器官结构**

A. **正常油菜、**AMS971 **和** AP197 **的花(剥掉花萼)**; B. AMS971 **和** AP197 **的花蕾(各** 2 **个)**; C. AMS971 **花蕾自然形态**; D. AMS971 **一朵完整花的结构**; E. **完全心皮化的** 6 **个雄蕊**; F. AMS971 **和** AP197 **的子房(各** 2 **个)**; G, H. AMS971 **花的残瓣**; I. AMS971 **和** AP197 **的蜜腺(各** 2 **个)。** Sp. **萼片**; Pt. **花瓣**; St. **雄蕊**; Pi. **雌蕊**

Fig.1　Morphology of apetalous mutant sterile line 971 in *Brassica napus*

A. Flowers in wild-type, AMS971 and AP197 plants (sepals are removed); B. Buds in AMS971 and AP197; C. Buds in AMS971 plant; D. Total components in AMS971 bud; E. Six carpelloid stamens in AMS971 flower; F. Germens in AMS971 and AP197; G, H. Petals in AMS971 flower; I. Nectaris in AMS971 and AP197. Sp. Sepal; Pt. Petal. St. Stamen; Pi. Pistil

绿色心皮仍然存活, 直到角果发育成熟才干枯。雌蕊变粗变短, 部分心皮化雄蕊相互之间开花之前的过度抱合导致了花柱中部略有弯曲; 个别子房在开花时也稍微弯曲, 随着开花的进行, 变得基本正常(图 1F)。AMS971 **剥蕾授粉和自然开花人工授粉结实良好, 二者结角率分别为**94.8% **和** 94.3%(Zhang *et al.*, 2003)。

2.1.2　花器大小的比较　**甘蓝型无花瓣油菜突变不育系** AMS971 **中的** ams **与** amf **相比较,** ams**花蕾柄变长约**0.6 mm; **花蕾和萼片长度分别减少**1.38 mm **和**1.36 mm **左右, 花蕾宽度增加** 0.16 mm; **萼片宽度增长**0.16 mm; **雌蕊变短**1.74 mm, **变粗**0.14 mm; **而**ams**心皮化假性雌蕊由于心皮的半开裂, 长度增加约** 50%, **宽度增加**

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-120

60%~80%不等。ams与AP197比较, 花蕾柄长一致; 花蕾和萼片长度减少0.74 mm, 花蕾宽度增加约0.10 mm; 萼片宽度增长0.08 mm。amf与AP197比较, 雄蕊长度平均增加0.57~0.69 mm, 宽度变化不大; 花药长度增加0.39~0.41 mm, 宽度增加甚微。雌蕊的长度, ams比AP197减少了1.05 mm, amf比AP197增加了0.70 mm, 宽度三者之间差异很小(表1)。

2.1.3 花器鲜重的比较 甘蓝型无花瓣油菜AP197与其近等系正常油菜比较, 由于花瓣的消失, 使得花器别的部分增大或增重。其中, 萼片增重46.85%, 雌蕊增重93.94%, 花药增重42.85%,这为角果的生长发育提供了很好的物质基础。无花瓣油菜突变不育系ams由于突变造成了四轮花器官重量的重新分布。由表2可知, AMS971与AP197相比, 四轮花器官的重量均有所变化: 单朵花重量增加约1.4 mg, 花柄也增重约0.59 mg, 单个花蕾增重0.82 mg。花萼变薄, 重量减少7.6%; 雌蕊重量增加22.12%, 心皮化器官比雄蕊增加了0.76%, 变化不明显。

分析四轮花器官重量在整个花中的分布(表2)表明, AMS971与AP197比, 萼片变化不大, 占整个花重的17.56%～18.25%(占花蕾重量的22.17%～22.40%)。AMS971的心皮化器官占整朵花重的43.15 %, 而AP197和amf雄蕊分别占44.54%和46.92 %; 正常AP197、amf株雌蕊占整朵花重的15.73%和16.30%, AMS971雌蕊占整朵花重的18.48 %, 比AP197和amf增加了2.2%~2.7%。

2.1.4 花器解剖观察 解剖观察表明, 在无花瓣油菜突变系AMS971中, ams不育植株全株均表现为典型的雄蕊心皮化。其形态表现为:

表1 甘蓝型无花瓣油菜品系(AP197)**和突变系**AMS971 **花器大小(单位**: mm)

Table 1 Comparison of floral organs between AP197 and AMS971 in *Brassica napus* (Unit: mm)

Item	Flower stalk	Bud		Calyx		Stamen		Anther (stamens converting to carpel)		Pistil	
	Length	Length	Width	Length	Width	Length	Width	Length	Width	Length	Width
amf	14.47±2.19	9.24±0.78	3.51±0.23	9.27±0.98	2.25±0.20	8.34±1.21	1.11±0.07	4.30±0.25	1.11±0.07	8.85±0.96	1.34±0.17
						7.46±1.07	1.105±0.06	4.08±0.21	1.105±0.06		
ams	15.05±1.74	7.86±0.33	3.67±0.19	7.91±0.43	2.41±0.31	none	none	6.40±0.35	1.84±0.30	7.11±0.25	1.48±0.11
								6.09±0.38	2.08±0.26		
AP197	15.05±1.97	8.60±0.65	3.57±0.51	8.65±0.65	2.33±0.22	7.65±0.90	1.115±0.07	3.89±0.42	1.115±0.07	8.15±0.65	1.37±0.13
						6.89±1.04	1.114±0.05	3.69±0.41	1.114±0.05		
ams-AP197	0.00	-0.74	0.10	-0.74	0.08	none	none	2.20	0.725	-1.05	0.11
								2.71	0.965		
amf-AP197	-0.58	0.64	-0.06	0.61	-0.08	0.69	-0.005	0.41	-0.005	0.70	-0.03
						0.57	-0.009	0.39	-0.009	none	none

Note: (1)Stamen width represented by anther width; Pistil width represented by germen width. (2) Stamens and carpelloid stamens divided into two types: 4 strong (up) and 2 weak (down)

表2 甘蓝型无花瓣油菜AP197**和突变系**AMS971 **花器鲜重(单位**: mg)

Table 2 Comparison of fresh weight of the floral organs between AP197 and AMS971 in *Brassica napus* (Unit: mg)

Item	Flower	Flower stalk	Bud	Calyx	Stamen	Anther(stamens converting to carpel)	Pistil
amf	35.56±1.03	6.59±0.40	28.97±0.82	6.49±0.53	16.68±0.54	none	5.79±0.25
ams	36.52±0.87	7.60±0.71	28.92±0.62	6.41±0.18	none	15.76±0.37	6.75±0.28
AP197	35.11±0.64	7.01±0.51	28.10±0.40	6.94±0.05	15.64±0.17	none	5.52±0.24
ams-AP197	1.40	0.59	0.82	-0.53	none	none	1.22
amf- AP197	0.44	-0.42	0.87	-0.45	1.04	none	0.27

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-120

6个雄蕊完全心皮化, 但心皮未完全闭合而呈现半开裂的梭形(图1D); 在半开裂的梭形心皮的上部, 柱头结构不是正常雌蕊的圆柱形, 而是倒U形, 柱头区着生着鲜黄色的长乳头状的柱头细胞; 花柱组织缩短变形, 处于U形的柱头组织内部, 呈近三角形; 在半开裂的梭形心皮中部和下半部分边缘着生4～14个不等的绿色幼小胚珠, 平均7.1个, 是AMS971正常雌蕊胚珠数目(平均35.1个)的20.22%(图1E); 梭形心皮下部是与花托连接的小柄, 可能由花丝发育而成。解剖观察发现, AMS971有约0～4个花瓣遗迹存在(图1G, H), 有的是6～7 mm头发丝状的淡绿色细丝(图1D), 有的淡绿色细丝上部有一约0.5 ~ 1.0 mm宽的白色舌状, 还有的呈长6.5 mm、宽2 mm的绿色皱缩不规则梭形。我们可人为的把梭形心皮分为倒U型花柱组织区和雄蕊心皮化组织区, 两者之间是近三角形的花柱组织。显微测量AMS971花药心皮化雌蕊大小如表3, 倒U型花柱组织由于心皮的半开裂, 宽度是普通雌蕊的二倍左右, 乳突细胞组织呈现长约1.66 mm、平均宽 0.265 mm 的倒 U 形结构。

AMS971 的蜜腺发育也发生了一定的变化。无花瓣油菜 AP197 一朵花的四长雄蕊外侧有2枚长圆形的浓绿色蜜腺, 两短雄蕊的内侧有2枚半圆形的浓绿色蜜腺(图1I); 与正常油菜相比, 蜜腺略微变小。而 AMS 一朵花的蜜腺数目 0～4个不等, 所存在的位置和大小不确定, 蜜腺的形态与正常的无花瓣油菜AP197相同。

解剖测量柱头乳突组织, ams乳突组织宽度和长度为0.9 mm×1.05 mm, amf的乳突组织则为 0.7 mm × 0.85 mm, 而AP197的乳突组织为0.8 mm × 0.9 mm。油菜AMS在自然状态下异交结实较差, 一方面可能由于柱头的乳突细胞较大, 乳突细胞之间空隙大, 不利于花粉的附着及萌发; 另一方面可能是乳突细胞发育成熟时, 细胞表面与花粉的不亲和增加而造成。

3 讨论

3.1 AMS —— 一种新的雄性不育类型

甘蓝型无花瓣油菜突变不育系 AMS971是一种雄蕊心皮化引起的新的雄性不育类型, 不育性非常彻底。其植株形态特征与无花瓣油菜AP197相同, 有6个梭形的心皮化假性雌蕊, 心皮化假性雌蕊的上部变成类似倒U形的柱头结构区, 下部是完全突变的半开裂心皮, 其上着生4～14个不等的裸露的幼小胚珠; 蜜腺比正常油菜小, 其数目0～4个不定, 与AP197没有差异。同时突变也造成了四轮花器官大小和重量的重新分配。

3.2 融合是被子植物产生不同花形态的一种重要机理

融合是被子植物产生不同花形态的一种重要机理。高等植物子房形成过程中组织之间的融合变异很大, 除了心皮之间的融合外, 雌蕊有时也与别的花器官融合(许智宏和刘春明, 1998)。甘蓝型无花瓣油菜雄性突变不育系AMS可能是雄蕊与心皮融合发生变异的结果。

3.3 AMS在油菜育种中的应用

一般油菜细胞质雄性不育系(CMS)和细胞核雄性不育系(GMS)花器官形态的差异主要表现在第 2 和第 3 轮花器官上。CMS 的一般特点是花瓣皱缩变小, 颜色不变, 雄蕊的花丝变短,

表 3 甘蓝型无花瓣油菜突变系 AMS971 雄蕊心皮化结构及雌蕊大小(单位: mm)

Table 3 Volume of pistisl and carpelloid stamens of AMS971 in *Brassica napus* (Unit: mm)

AMS971	Stamens transaforming to carpellate			Chapiter organ of pistil
	Green stalk	Carpellate of stamens	Inversed-U chapiter organ	
Length	1.65±0.39	4.86±0.34	1.66±0.12	1.06±0.09
Width	0.56±0.02	1.84±0.30	0.265±0.02	0.84±0.09
		2.08±0.26		

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-120

花药呈白色三角状、戟形且无花粉。GMS 的花瓣大小形态基本不变或略微变小,雄蕊花丝变短,花药退化仅剩痕迹,褐色干瘪无粉(傅廷栋等, 1995)。这两类均属雄蕊退化引起的不育。而AMS突变不育系是一种雄蕊雌化引起的不育,不育性非常彻底、稳定,它与现有的细胞质和细胞核雄性不育系有明显的不同,为一新类型不育。它的恢复源十分广泛,而且杂种优势较强(Zhang *et al.*, 2003)。该特异种质资源的创建为油菜杂种优势利用开辟了新的途径。

3.4 AMS —— 花发育机理研究的特异种质

基于模式作物金鱼草和拟南芥的研究,Coen 和 Meyerowitz(1991)提出花器官发育的 ABC 模型。根据 ABC 模型(许智宏和刘春明, 1998),花器官的发育由里向外分为4轮,依次是花萼、花瓣、雄蕊和雌蕊,由 A、B 和 C 三组同源异型基因控制其发育形成。其中,任何一组基因突变都会导致花形态的改变。B组基因控制第二、三轮花器官发育,其功能丧失会使第二轮花瓣变成萼片,第三轮雄蕊变成心皮。据此推断,AMS不育系可能是B功能区基因发生变异,并引起C功能基因异位表达而导致雄蕊雌化,要证明这一点,还需要借助分子标记进行研究。

参 考 文 献

傅廷栋, 李殿荣 (1995) 杂交油菜的育种与利用. 湖北科技出版社, 武汉, 1-2, 46-72

李殿荣 (1986) 甘蓝型油菜雄性不育系、保持系、恢复系选育成功并已大面积推广. 中国农业科学, **19(5):** 94

谭小力,张文学,田建华,李殿荣 (1998) 甘蓝型油菜无花瓣品系的选育研究. 西北农业大学学报, **20(3):** 27-31

许智宏,刘春明 (1998) 植物发育的分子机理. 科学出版社, 北京, 12, 96

Coen E, Meyerowitz E (1991) The war of whorls: genetic interactions controlling flower devlopment. *Nature*, **353:** 31-37

Kaul MLH (1988) Male Sterility in Higher Plants, Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, New York

Zhang WX, Li DR, Tian JH, Yang CL (2003) The discovery and study of apetalous mutant sterile line in *Brassica napus* L. 11th International Rapeseed Congress, Copenhagen, pp. 6-10, 14

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-120