

· 研究报告 ·

## 甘蓝型油菜雌性不育突变体 $FS-M_1$ 乳突细胞的细胞学观察

李春宏, 付三雄, 陈新军, 戚存扣\*

江苏省农业科学院经济作物研究所, 国家油菜改良中心南京分中心, 南京 210014

**摘要** 雌性不育突变体 $FS-M_1$ 是从甘蓝型油菜(*Brassica napus*)品种宁油10号中发现的。为了从细胞学角度研究 $FS-M_1$ 的雌性不育机理, 利用荧光显微镜、扫描和透射电子显微镜观察分析了 $FS-M_1$ 柱头乳突细胞的授粉行为和超微结构。结果表明: 花粉粒能在 $FS-M_1$ 乳突细胞上附着和萌发形成花粉管, 但花粉管无法穿越柱头乳突细胞; 开花后的 $FS-M_1$ 乳突细胞迅速衰退而呈干瘪萎蔫状, 在衰退过程中,  $FS-M_1$ 柱头乳突细胞的细胞器数量减少, 细胞液泡化明显, 高尔基体、内质网和线粒体等一些细胞器结构被逐渐破坏。因此, 推测 $FS-M_1$ 的雌性不育性是由于柱头乳突细胞发育异常造成的。

**关键词** 甘蓝型油菜, 雌性不育, 细胞器, 乳突细胞

李春宏, 付三雄, 陈新军, 戚存扣 (2012). 甘蓝型油菜雌性不育突变体 $FS-M_1$ 乳突细胞的细胞学观察. 植物学报 47, 36–43.

由雌性器官发育异常而引起的雌性不育现象在许多植物如辣椒(*Capsicum annuum*)、苜蓿(*Erba medica*)、甜菜(*Lycium barbarum*)、小麦(*Triticum aestivum*)、大麦(*Hordeum distichum*)、珍珠粟(*Pennisetum glaucum*)、大豆(*Glycine max*)、洛神葵(*Hibiscus sabdariffa*)、野生稻(*Oryza rufipogon*)和栽培稻(*O. sativa*)等中均已发现(徐海风, 2009)。较典型的植物雌性不育突变体一般具有下列特征: (1) 雌性器官根本不分化, 心皮完全变为雄蕊而雄性化; (2) 虽具有雌性器官(又分具有或不具有花柱和柱头), 但胚珠发育甚至大孢子发育受阻而不具有胚囊; (3) 具有正常的雌性器官胚囊, 但卵器甚至卵细胞发生败育(胡青等, 2004; 窦秉德等, 2009)。鉴于植物雌蕊的结构及雌配子体发育的复杂性使得在雌性不育的研究与利用上远不及雄性不育(胡青等, 2004), 然而尽管如此, 许多研究者仍对雌性不育表现出浓厚的兴趣, 雌性不育的研究与利用同样具有诱人的前景。

雌性不育突变体是花器官特异性调控基因功能研究的重要材料。花器官发育是国际分子生物学界研究的新热点, 人们希望通过对花发育调控基因的研究, 控制作物的成花过程及育性。近年来, 通过化学诱变、转座子和T-DNA插入等诱变方法, 鉴别出许多

胚珠和胚囊发育异常的突变体(包仁艳等, 2005; Venkatesan and Monica, 2010)。利用这些雌性不育突变体, 已鉴定出一些影响胚珠和雌配子体发育的调控基因。这些调控基因涉及珠心和珠被的细胞发育(Schiefthaler et al., 1999; Balasubramanian and Schneitz, 2000, 2002)、大孢子发生的调控(Schneitz et al., 1997)、胚囊细胞的代谢、分裂分化和发育调控等(Pagnussat et al., 2005; Portereiko et al., 2006; Johnston et al., 2007; Jones-Rhoades et al., 2007; Colombo et al., 2008; Punwani et al., 2008; Moll et al., 2008; Venkatesan and Monica, 2010)。

雌性不育在作物品种改良上有着很大的应用潜力。雌性不育的后代往往具有无融合生殖的特征, 可用来筛选强优组合的杂种以固定优良性状(Arthur et al., 1993; 高建伟等, 2000)。利用雌性不育的雌性“无子”特性, 可改良一些作物非籽器官的产量和品质(周瑞阳, 1996; 刘恒蔚等, 2003)。此外, 在杂交制种中, 利用雌性不育材料作为授粉亲本(父本)与不育系(母本)混播, 可缩小父母本间的传粉距离, 实现机械混播、混收, 增加母本播种面积从而省工节本提高制种产量(Brown and Bingham, 1984; Rosellini et al., 1998, 2003; Capomaccio et al., 2009; 孙寰等,

收稿日期: 2011-07-05; 接受日期: 2011-11-19

基金项目: 江苏省自然科学基金(No.BK2011668)、江苏省农业科技自主创新基金(No.CX(10)406, CX(11)4011)和江苏省博士后基金(No.5311106)

\* 通讯作者。E-mail: qck@jaas.ac.cn

2009)。而对雌性育性的正向选择则有助于选出超级(结实粒)农作物。在园艺观赏植物中,利用雌性不育株,可达到延长开花期,增加开花量的目的;雌性不育还可避免切花因授粉而诱发的衰老(Capomaccio et al., 2009)。

*FS-M<sub>1</sub>* 是首个报道的甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 柱头乳突细胞功能发育缺失(或畸变)的自然突变体(陈新军等, 2003)。*FS-M<sub>1</sub>* 雌性不育性稳定, 雌性不育率较高, 花粉育性正常; 切除 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头及部分花柱后再授粉, 其结实接近正常(陈新军等, 2003, 2005, 2007)。尽管前人已对 *FS-M<sub>1</sub>* 的生物学特性、花器官形态结构和受精能力做了一些研究, 但尚不够深入。本文利用荧光显微镜观察 *FS-M<sub>1</sub>* 的柱头授粉反应, 同时利用电子显微镜观察了 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头乳突细胞的超微结构, 以期从细胞学角度探讨其雌性不育的形成机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 雌性不育突变体 *FS-M<sub>1</sub>* 及其野生型品种宁油10号由江苏省农业科学院经济作物研究所提供。2010年秋, 将上述材料种植于江苏省农业科学院经济作物研究所油菜资源圃, 直播, 2行区, 行长3 m, 株行距15 cm × 40 cm。

### 1.2 方法

利用苯胺蓝染色法在荧光显微镜下观察乳突细胞的授粉反应。于盛花期将 *FS-M<sub>1</sub>* 和宁油10号即将开放的大蕾人工自交授粉, 1、4、8小时后, 迅速取已授粉的雌蕊柱头和花柱在 FAA(福尔马林:冰醋酸:乙醇=1:1:8) 中固定24小时。将固定的材料取出, 水洗后用 6 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 透明软化12小时, 再充分水洗, 然后用 0.1% 水溶性苯胺兰溶液(0.15 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 缓冲液配制, pH 8.2) 染色过夜。材料经压片后在 Olympus BX51(Olympus, Tokyo, Japan) 荧光显微镜下观察花粉的萌发及花粉管在柱头上的生长情况(王幼平等, 1997)。

采用扫描电子显微镜观察乳突细胞。取 *FS-M<sub>1</sub>* 和宁油10号开花后0、4、8、24小时的雌蕊柱头在卡诺液(无水乙醇:冰醋酸=3:1, v/v) 中固定, 然后用

40%–100% 的乙醇系列脱水, 临界点干燥。用导电胶将样品粘在样品座上, 进行粒子溅射镀金, 在 S-3000N(HITACHI, Japan) 扫描电子显微镜下观察柱头乳突细胞的形态(汤天泽等, 2010)。

使用透射电子显微镜观察乳突细胞。取 *FS-M<sub>1</sub>* 与宁油10号开花后0、8、24小时的雌蕊柱头, 以 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 二甲胂酸钠缓冲液配制的 3% 戊二醛及 2% 锇酸双固定, 乙醇系列脱水, 环氧丙烷置换。然后以环氧树脂渗透包埋, 60°C 过夜聚合。将样品的柱头乳突细胞横切成厚度为 500–700 Å 的超薄切片, 再以醋酸铀染色, 柠檬酸铅复染, 在 H-7650(HITACHI, Japan) 型透射电子显微镜下观察柱头乳突细胞的细胞器超微结构, 并照相记录(尚娅佳等, 2009; 陈健辉等, 2011)。

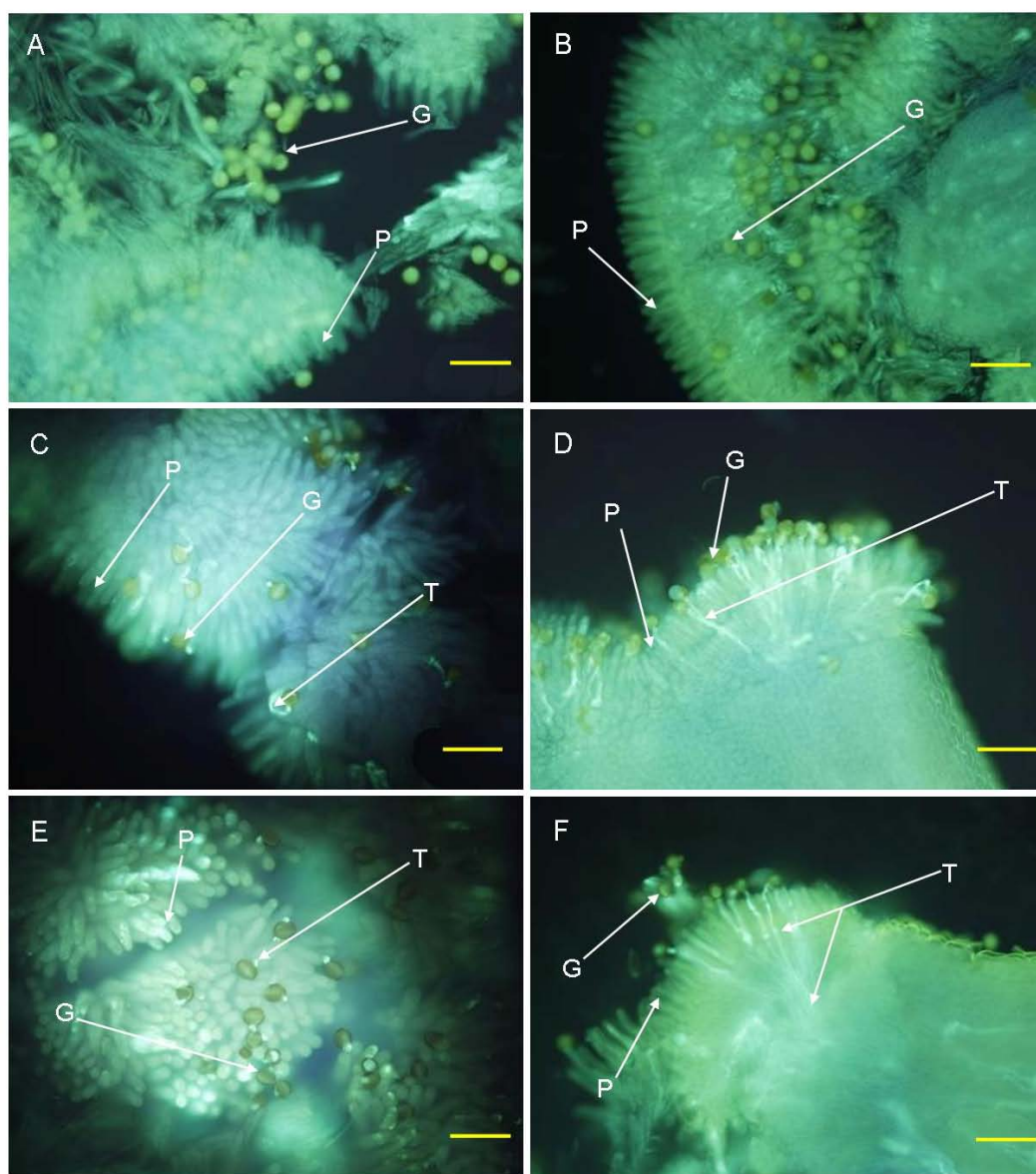
## 2 结果与讨论

### 2.1 *FS-M<sub>1</sub>* 授粉反应的特征

人工自花授粉1小时后, *FS-M<sub>1</sub>* 与宁油10号柱头表面都有大量的花粉附着, 尚未萌发(图1A, B), 此时 *FS-M<sub>1</sub>* 与宁油10号授粉反应差异不明显。人工自花授粉4小时后, *FS-M<sub>1</sub>* 与宁油10号柱头表面的花粉均能萌发形成花粉管, 但在 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头表面仅见花粉管在乳突细胞表面不规则爬行, 且不能穿越柱头乳突细胞(图1C); 而宁油10号柱头表面有许多花粉管正在穿越柱头乳突细胞(图1D)。人工自花授粉8小时后, 仍未发现有花粉管穿越 *FS-M<sub>1</sub>* 的柱头乳突细胞, 仅见花粉(管)滞留于柱头表面(图1E), 而宁油10号柱头上一些花粉管已穿越柱头乳突细胞, 进入花柱(图1F)。荧光显微镜观察结果显示, *FS-M<sub>1</sub>* 授粉反应终止于花粉管穿越柱头乳突细胞阶段。

### 2.2 *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞的表面形态特征

刚开花成熟的 *FS-M<sub>1</sub>* (图2A) 柱头乳突细胞较宁油10号(图2B) 明显稀疏, 其密度仅为宁油10号的 1/2 左右, 此时两者柱头乳突细胞均发育正常。但开花后4小时和8小时的 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头乳突细胞逐渐呈干瘪扁平状(图2C, E), 而宁油10号柱头乳突细胞则显得饱满、挺拔(图2D, F)。开花后24小时的 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头乳突细胞萎蔫呈干枯状(图2G), 而宁油10号仍饱满、挺拔, 发育健康(图2H)。

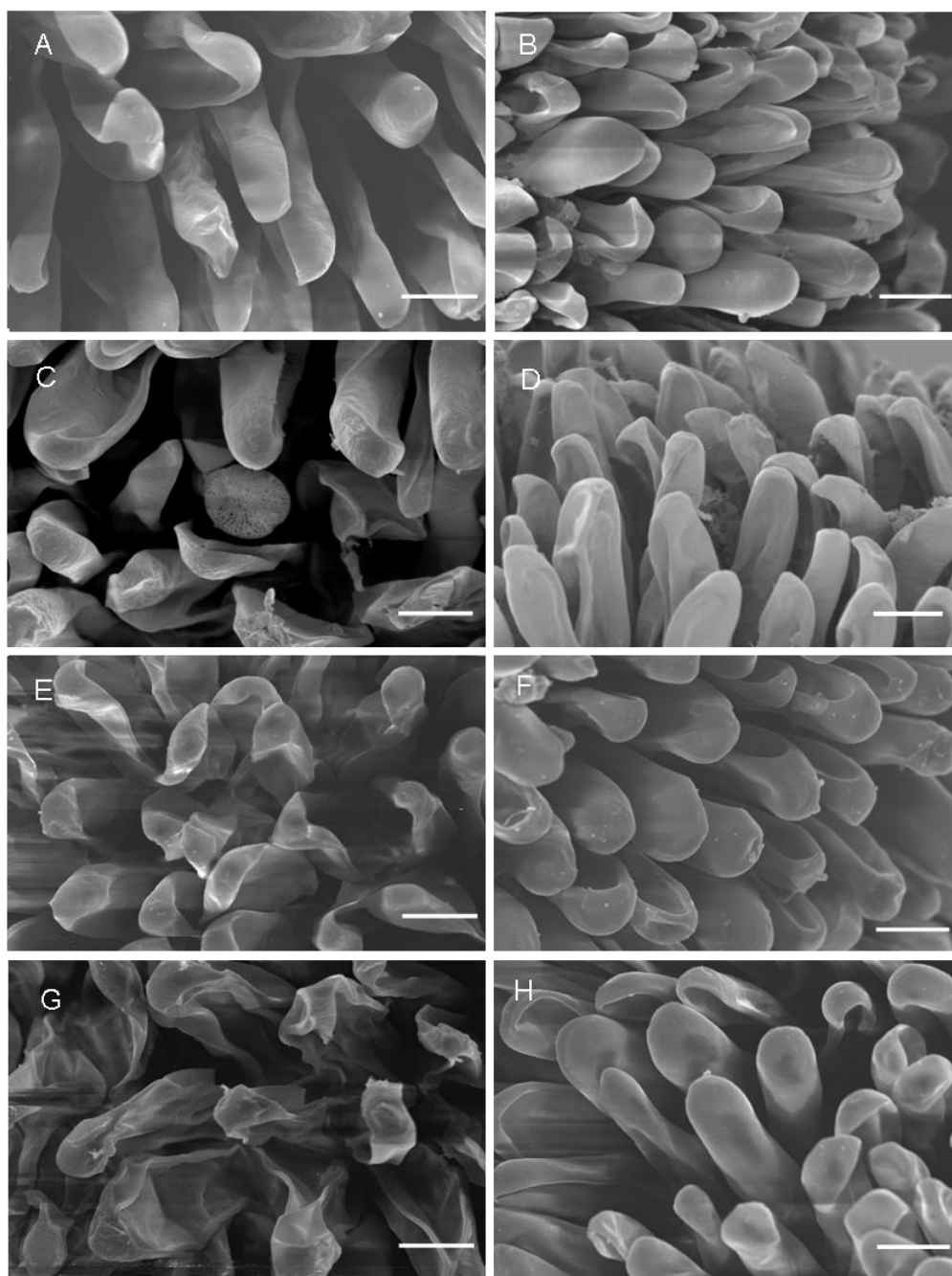


**图1** 荧光显微镜下观察甘蓝型油菜开花期乳突细胞的授粉反应

人工自花授粉1小时后, 突变体 $FS-M_1$  (A)与野生型对照宁油10号(B)的柱头表面都有大量花粉粒附着; 人工自花授粉4小时后,  $FS-M_1$ (C)与宁油10号(D)柱头表面的花粉粒均能萌发形成花粉管, 但 $FS-M_1$ 乳突细胞表面的花粉管表现为不规则爬行, 不能穿越柱头乳突细胞, 而宁油10号柱头表面的花粉管正在穿越柱头乳突细胞; 人工自花授粉8小时后, 仍未发现花粉管穿越 $FS-M_1$ 柱头乳突细胞(E), 而宁油10号柱头表面一些花粉管已穿越柱头乳突细胞, 进入花柱(F)。G: 花粉粒; P: 乳突细胞; T: 花粉管。(A), (B), (D), (F) Bar=100  $\mu\text{m}$ ; (C), (E) Bar=50  $\mu\text{m}$ 。

**Figure 1** The pollination response of papilla cells at anthesis in *Brassica napus* under a fluorescence microscope

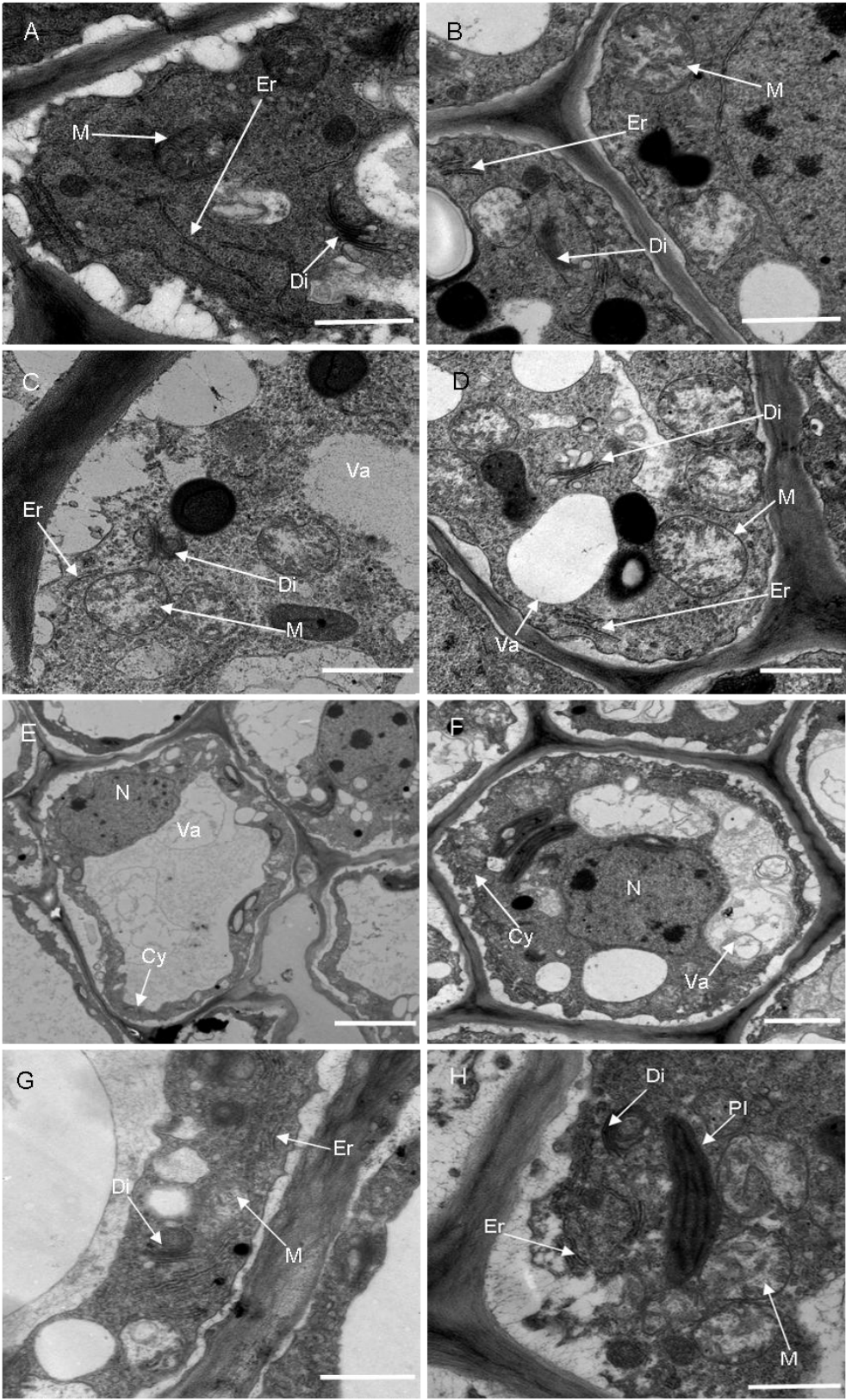
At 1 h after self-pollination, lots of pollen grains could adhere on papilla cells of both the mutant  $FS-M_1$  (A) and wild-type Ningyou10 (B). At 4 h after self-pollination, the pollen tubes could emerge on papilla cells of both  $FS-M_1$  and Ningyou10, and the pollen tubes emerging on  $FS-M_1$  papilla cells were disordered and could not penetrate into  $FS-M_1$  papilla cells (C), while the pollen tubes emerging on Ningyou10 papilla cells were penetrating into Ningyou10 papilla cells (D). At 8 h after self-pollination, the pollen tubes could not penetrate into  $FS-M_1$  papilla cells yet (E); as a control, the pollen tubes were penetrating Ningyou10 papilla cells, and some of pollen tubes had reached the style (F). G: Pollen grain; P: Papilla cell; T: Pollen tube. (A), (B), (D), (F) Bar=100  $\mu\text{m}$ ; (C), (E) Bar=50  $\mu\text{m}$ .



**图2** 扫描电子显微镜下观察甘蓝型油菜开花期乳突细胞的形态

刚开花时突变体 $FS-M_1$ (A)柱头乳突细胞较野生型对照宁油10号(B)明显稀疏, 其密度仅为宁油10号的1/2左右, 此时两者柱头乳突细胞均发育正常。但 $FS-M_1$ 柱头乳突细胞在开花后4小时(C)、8小时(E)逐渐呈扁平干瘪状; 开花后24小时,  $FS-M_1$ 柱头乳突细胞已萎蔫, 呈干枯状(G); 而宁油10号柱头乳突细胞在开花后4小时(D)、8小时(F)、24小时(H)仍饱满、挺拔, 呈健康状。Bar=20  $\mu$ m。

**Figure 2** The morphology of papilla cells at anthesis in *Brassica napus* under a scanning electron microscopy. At the start of flowering stage, papilla cells of the mutant  $FS-M_1$  (A) were significantly sparse, the density of which was about half of that of the wild-type Ningyou10 (B), and papilla cells of both  $FS-M_1$  and Ningyou10 were well-developed. But papilla cells of  $FS-M_1$  became flat and withered at 4 h (C), 8 h (E) after flowering, and more withered at 24 h (G) after flowering; contrastively, papilla cells of Ningyou10 were still plump, healthy at 4 h (D), 8 h (F), 24 h (H) after flower opening. Bar=20  $\mu$ m.





## 2.3 *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞的细胞器特征

开花后不久的 *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞生理表现较正常, 高尔基体、内质网和线粒体等细胞器数量丰富, 发育良好, 膜层清晰(图3A); 开花后4小时的 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头乳突细胞的细胞器数量仍很丰富, 但内质网结构松散, 细胞液泡化明显, 形成很多液泡, 线粒体、高尔基体膜结构模糊(图3C); 开花后24小时的 *FS-M<sub>1</sub>* 柱头乳突细胞液泡化加剧而占据了很大的空间, 细胞器数量减少, 内质网结构松散、断裂, 线粒体逐渐断裂溶解, 线粒体内出现小空腔, 高尔基体降解、模糊(图3E, G)。而宁油10号刚开花(图3B)、开花后4小时(图3D)、开花后24小时(图3F, H)的乳突细胞的细胞器数量丰富、形态清晰, 发育一直正常。

## 2.4 讨论

柱头乳突细胞是一种伸长且具有极性分化的表皮细胞。十字花科植物如芸苔(藁)属、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的柱头属于干性柱头, 在其授粉的过程中, 柱头乳突细胞特异性地接受亲和花粉粒在其表面黏附、水合, 以及花粉管萌发及随后穿越乳突细胞胞壁(Kandasamy et al., 1994; Kang and Nasrallah, 2001)。花粉管能否成功穿越乳突细胞的胞壁, 涉及

许多调节胞壁膨胀的酶(如葡聚糖酶、果胶甲酯酶等)(Hiscock and Allen, 2008)。前人的研究表明, 乳突细胞内的角质酶、多聚半乳糖醛酸酶和果胶酯酶在此过程中也起到重要作用(Hiscock et al., 1994; Kim et al., 1996; Dearnaley and Daggard, 2001)。Elleman和Dickinson(1996)曾观察到, 乳突细胞的胞壁膨胀与其内质网、高尔基体和囊泡等结构有关, 从而推测胞壁膨胀的调节酶是由柱头乳突细胞分泌的。总之, 乳突细胞在授粉过程中起关键作用。

荧光显微镜观察结果显示, 花粉粒能在 *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞上附着、萌发, 但花粉管不能穿越柱头乳突细胞。扫描与透射电子显微镜观察发现, 开花后的 *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞迅速干瘪萎蔫; 相应地, 其细胞器如内质网、高尔基体和线粒体等也迅速衰退。因而推测该突变严重影响(阻碍)了柱头乳突细胞的正常发育(开花后尤为明显), 从而干扰或阻断了 *FS-M<sub>1</sub>* 的授粉反应。

目前, 已在细胞与分子水平上对芸苔属自交不亲和的花粉粒与雌蕊互作进行了深入研究(Hiscock and Allen, 2008)。然而, 对亲和授粉反应中花粉粒与乳突细胞相互作用的研究报道不多, 一个重要原因在于缺乏相应的突变体材料(Sanchez et al., 2004)。*FS-M<sub>1</sub>* 雌性不育性稳定, 且花粉育性正常, 因此 *FS-M<sub>1</sub>* 不仅

←

**图3** 透射电子显微镜下观察甘蓝型油菜开花后乳突细胞的横切片

刚开始开花时, 突变体 *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞的生理表现较正常, 高尔基体、内质网和线粒体等细胞器数量丰富, 发育良好(A); 开花后4小时, *FS-M<sub>1</sub>* 柱头乳突细胞的细胞器数量仍很丰富, 但内质网结构松散, 细胞液泡化明显, 形成很多液泡, 线粒体和高尔基体膜结构模糊(C); 开花后24小时, *FS-M<sub>1</sub>* 乳突细胞液泡化加剧而占据了很大的空间, 细胞器数量减少, 内质网结构松散、断裂, 高尔基体降解、模糊, 线粒体逐渐断裂溶解, 线粒体内出现小空腔(E, G)。而野生型对照宁油10号在刚开始开花(B)、开花后4小时(D)和24小时(F, H)乳突细胞的细胞器数量丰富且形态清晰, 发育一直正常。(A)–(D), (G), (H) Bar=1 μm; (E) Bar=5 μm; (F) Bar=2 μm。N: 细胞核; Er: 内质网; M: 线粒体; Di: 高尔基体; Va: 液泡; Pl: 质体; Cy: 细胞质。

**Figure 3** The transverse section of papilla cells at anthesis in *Brassica napus* under transmission electron microscopy

At the start of flowering stage stigma papilla cells of the mutant *FS-M<sub>1</sub>* contained plenty of organelles such as endoplasmic reticulum, dictyosome and mitochondria, and were well-developed (A). At 4 h after flowering organelles of *FS-M<sub>1</sub>* were still abundant, but the mitochondrion and dictyosome of *FS-M<sub>1</sub>* were not clear, the endoplasmic reticulum became incompact, and distinct vacuolization resulted in lots of vacuoles (C). Furthermore, at 24 h after flowering the vacuolization of *FS-M<sub>1</sub>* was more serious and resulted in vacuoles taking large volume; the number of organelles was significantly decreased, and the endoplasmic reticulum became loose or broken; dictyosomes were destroyed or disaggregated, and the mitochondrial cristae was more indistinct and disappeared (E, G). Contrastively, organelles in papilla cells of the wild-type Ningyou10 were always abundant, distinct, and well-developed at the start of flowering stage (B), or 4 h (D) and 24 h (F, H) after flowering. (A)–(D), (G), (H) Bar=1 μm; (E) Bar=5 μm; (F) Bar=2 μm. N: Nucleus; Er: Endoplasmic reticulum; M: Mitochondria; Di: Dictyosome; Va: Vacuole; Pl: Plastid; Cy: Cytoplasm.

在育种上具有应用潜力, 而且为研究亲和授粉反应中的互作效应及乳突细胞的发育调控提供了理想材料。

## 参考文献

- 包仁艳, 姜春宁, 郑彩霞, 丁坤善 (2005). 植物雌配子体发育的分子调控研究进展. 北京林业大学学报 **27**, 90–95.
- 陈健辉, 李荣华, 郭培国, 夏岩石, 田长恩, 缪绅裕 (2011). 干旱胁迫对不同耐旱性大麦品种叶片超微结构的影响. 植物学报 **46**, 28–36.
- 陈新军, 戚存扣, 张洁夫, 浦惠明, 高建芹, 傅寿仲 (2003). 油菜(*Brassica napus*)雌性不育突变体 $FS-M_1$ 的生物学特性研究. 中国油料作物学报 **25**, 12–15.
- 陈新军, 戚存扣, 张洁夫, 浦惠明, 高建芹, 傅寿仲 (2005). 甘蓝型油菜雌性不育突变体 $FS_1$ 花器官形态结构研究. 作物学报 **31**, 1239–1240.
- 陈新军, 戚存扣, 张洁夫, 浦惠明, 高建芹, 傅寿仲 (2007). 油菜雌性不育突变体 $FS-M_1$ 花器官形态及其受精能力. 江苏农业学报 **23**, 552–555.
- 窦秉德, 侯北伟, 徐海明, 朱晓滨, 徐海风 (2009). 小麦雌性育性QTL的高效定位策略. 浙江大学学报(农业与生命科学版) **35**, 599–606.
- 高建伟, 李忠德, 孙其信, 刘建中 (2000). 植物无融合生殖研究进展. 生物工程进展 **20**, 43–47.
- 胡青, 高述民, 李凤兰 (2004). 植物雌性不育的研究进展. 北京林业大学学报 **26**, 87–91.
- 刘恒蔚, 周瑞阳, 徐俐 (2003). 光敏感雌性不育苎麻的光周期反应特性研究. 作物学报 **29**, 222–224.
- 汤天泽, 税红霞, 牛应泽, 蒙大庆, 李芝凡, 胥岚, 范其新, 陈军, 刘念 (2010). 白菜型油菜与海甘蓝属间杂交时花粉与柱头相互作用. 四川农业大学学报 **28**, 459–462.
- 尚娅佳, 申家恒, 郭德栋, 丁常宏, 李伟, 陆俊萍 (2009). 甜菜无融合生殖单体附加系M14成熟胚囊的超微结构特征. 植物学报 **44**, 682–693.
- 孙寰, 张井勇, 王玉民, 赵丽梅 (2009). 木豆、苜蓿和大豆3种豆科作物杂种优势利用概述. 中国农业科学 **42**, 1528–1539.
- 王幼平, 罗鹏, 贾勇炯, 蓝乐夫 (1997). 海甘蓝与芸薹属属间杂交的受精和胚胎发育. 作物学报 **23**, 538–544.
- 徐海风 (2009). 小麦雌性育性基因极端群体定位及遗传分析. 硕士论文. 乌鲁木齐: 新疆农业大学. pp. 15–16.
- 周瑞阳 (1996). 苎麻雌性不育株的发现. 中国农业科学 **29**, 96–96.
- Arthur L, Ozias-Akins P, Hanna WW (1993). Female sterile mutant in pearl millet: evidence for initiation of apospory. *J Hered* **84**, 112–115.
- Balasubramanian S, Schneitz K (2000). *NOZZLE* regulates proximal-distal pattern formation, cell proliferation and early sporogenesis during ovule development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **127**, 4227–4238.
- Balasubramanian S, Schneitz K (2002). *NOZZLE* links proximal-distal and adaxial-abaxial pattern formation during ovule development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **129**, 291–300.
- Brown DE, Bingham ET (1984). Hybrid alfalfa seed production using a female sterile pollenizer. *Crop Sci* **24**, 1207–1208.
- Capomaccio S, Barone P, Reale L, Veronesi F, Rosellini D (2009). Isolation of genes from female sterile flowers in *Medicago sativa*. *Sex Plant Reprod* **22**, 97–107.
- Colombo M, Masiero S, Vanzulli S, Lardelli P, Kater MM, Colombo L (2008). *AGL23*, a type I MADS-box gene that controls female gametophyte and embryo development in *Arabidopsis*. *Plant J* **54**, 1037–1048.
- Dearnaley JDW, Daggard GA (2001). Expression of a polygalacturonase enzyme in germinating pollen of *Brassica napus*. *Sex Plant Reprod* **13**, 265–271.
- Elleman CJ, Dickinson HG (1996). Identification of pollen components regulating pollination-specific responses in the stigmatic papillae of *Brassica oleracea*. *New Phytol* **133**, 197–205.
- Hiscock SJ, Allen AM (2008). Diverse cell signalling pathways regulate pollen-stigma interactions: the search for consensus. *New Phytol* **179**, 286–317.
- Hiscock SJ, Dewey FM, Coleman JOD, Dickinson HG (1994). Identification and localization of an active cutinase in the pollen of *Brassica napus* L. *Planta* **193**, 377–384.
- Johnston AJ, Meier P, Gheyselinck J, Wuest SEJ, Federer M, Schlagenhauf E, Becker JD, Grossniklaus U (2007). Genetic subtraction profiling identifies genes essential for *Arabidopsis* reproduction and reveals interaction between the female gametophyte and the maternal sporophyte. *Genome Biol* **8**, R204.
- Jones-Rhoades MW, Borevitz JO, Preuss D (2007). Genome-wide expression profiling of the *Arabidopsis* female gametophyte identifies families of small, secreted proteins. *PLoS Genet* **3**, 1848–1861.
- Kandasamy MK, Nasrallah JB, Nasrallah ME (1994). Pollen-pistil interactions and developmental regulation of pollen tube growth in *Arabidopsis*. *Development* **120**,

- 3405–3418.
- Kang Y, Nasrallah JB** (2001). Use of genetically ablated stigmas for the isolation of genes expressed specifically in the stigma epidermis. *Sex Plant Reprod* **14**, 85–94.
- Kim H, Chung T, Kang S** (1996). Characterization of anther-specific genes encoding a putative pectin esterase of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*). *Mol Cell* **6**, 334–340.
- Moll C, von Lyncker L, Zimmermann S, Kägi C, Baumann N, Twell D, Grossniklaus U, Groß-Hardt R** (2008). *CLO/GFA1* and *ATO* are novel regulators of gametic cell fate in plants. *Plant J* **56**, 913–921.
- Pagnussat GC, Yu HJ, Ngo QA, Rajani S, Mayalagu S, Johnson CS, Capron A, Xie LF, Ye D, Sundaresan V** (2005). Genetic and molecular identification of genes required for female gametophyte development and function in *Arabidopsis*. *Development* **132**, 603–614.
- Portereiko MF, Lloyd A, Steffen JG, Punwani JA, Otsuga D, Drews GN** (2006). *AGL80* is required for central cell and endosperm development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **18**, 1862–1872.
- Punwani JA, Rabiger DS, Lloyd A, Drews GN** (2008). The *MYB98* subcircuit of the synergid gene regulatory network includes genes directly and indirectly regulated by *MYB98*. *Plant J* **55**, 406–414.
- Rosellini D, Ferranti F, Barone PF, Veronesi F** (2003). Expression of female sterility in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Sex Plant Reprod* **15**, 271–279.
- Rosellini D, Lorenzetti F, Bingham ET** (1998). Quantitative ovule sterility in *Medicago sativa*. *Theor Appl Genet* **97**, 1289–1295.
- Sanchez AM, Bosch M, Bots M, Nieuwland J, Feron R, Mariani C** (2004). Pistil factors controlling pollination. *Plant Cell* **16**(Supplement), S98–S106.
- Schiefthaler U, Balasubramanian S, Sieber P, Chevalier D, Wisman E, Schneitz K** (1999). Molecular analysis of *NOZZLE*, a gene involved in pattern formation and early sporogenesis during sex organ development in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 11664–11669.
- Schneitz K, Hülskamp M, Kopczak SD, Pruitt RE** (1997). Dissection of sexual organ ontogenesis: a genetic analysis of ovule development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **124**, 1367–1376.
- Venkatesan S, Monica AS** (2010). Pattern formation in miniature: the female gametophyte of flowering plants. *Development* **137**, 179–189.

## Anatomy of Papilla Cells of a Female Sterile Mutant *FS-M<sub>1</sub>* in *Brassica napus*

Chunhong Li, Sanxiong Fu, Xinjun Chen, Cunkou Qi\*

Nanjing Sub-center of National Rapeseed Development Center, Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

**Abstract** The female sterile mutant *FS-M<sub>1</sub>* was isolated from spontaneous mutation of *Brassica napus* 'Ningyou10'. To understand the cellular mechanism of female sterility, we investigated the pollination response and ultrastructure of *FS-M<sub>1</sub>* papilla cells by fluorescence microscope, scanning electron and transmission electron microscopy. Pollen grains could adhere to and germinate to produce pollen tubes on *FS-M<sub>1</sub>* papilla cells, but the pollen tubes could not penetrate into papilla cells. *FS-M<sub>1</sub>* papilla cells became withered and degenerated quickly after flowering. During the degeneration, the number of organelles was significantly decreased; vacuolization was obvious; some organelles such as dictyosome, endoplasmic reticulum, and mitochondria gradually became misshapen and degenerated. Therefore, female sterility in *FS-M<sub>1</sub>* may have resulted from defects in papilla cells.

**Key words** *Brassica napus*, female sterility, organelle, papilla cell

**Li CH, Fu SX, Chen XJ, Qi CK** (2012). Anatomy of papilla cells of a female sterile mutant *FS-M<sub>1</sub>* in *Brassica napus*. *Chin Bull Bot* **47**, 36–43.

\* Author for correspondence. E-mail: qck@jaas.ac.cn

(责任编辑: 刘慧君)