

温敏核不育小麦可育和败育花粉的超微结构观察

李东霄¹ 邓小莉² 冯素伟¹ 徐龙龙¹ 茹振钢^{1*}

(¹河南科技学院小麦研究中心, 新乡 453003; ²新乡学院生命科学与技术系, 新乡 453003)

摘要 温敏核不育小麦可育与不育花粉超微结构观察结果显示: 可育花粉小孢子分裂形成二胞花粉后, 营养细胞中的大液泡形成一些单膜小液泡, 导致大液泡体积减小, 然后通过增加液泡内含物, 使大液泡转变为细胞质基质。伴随着营养细胞大液泡消失, 细胞质中开始积累淀粉粒并逐渐增加。不育花粉在小孢子分裂之前发育正常, 但在形成的二胞花粉中出现异常, 营养细胞中有自体吞噬泡形成并融入到大液泡中, 结果大液泡不消失, 细胞质基质不增加, 营养细胞中没有积累淀粉粒, 最终花粉败育。该种小麦雄性不育花粉败育时间和败育结构特征的确定为进一步深入研究其花粉败育机制打下基础。

关键词 小麦; 花粉; 雄性不育; 超微结构

Ultrastructural Observation of Fertile and Sterile Pollen Grains of A Thermo-sensitive Genic Male-sterile Wheat

Li Dongxiao¹, Deng Xiaoli², Feng Suwei¹, Xu Longlong¹, Ru Zhengang^{1*}

(¹Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China; ²Department of Life Sciences and Technology, Xinxiang University, Xinxiang 453003, China)

Abstract The fertile and sterile pollen grains of thermo-sensitive male sterile wheat (*Triticum aestivum* L.) were observed using electron microscope to find the structural feature of sterile pollen grains. Before microspore division, the structure of microspore of sterile line was normal. The earliest abnormal phenomenon in sterile pollen grains appeared in bicellular pollen grains: in fertile line, after microspore divided to form bicellular pollen grains, the big vacuole in the vegetative cell became small size by forming some small vacuoles with single member. Then the big vacuole filled some content and became cytoplasm matrix. Following the big vacuole decomposing in vegetative cell, some starches grains accumulated in the pollen. In sterile pollen grains, microspore could divide to form a bicellular pollen. The vegetative cell, however, formed some autophagosomes moving into big vacuole, which resulted in the big vacuole of vegetative cell not decomposing but enlarging. The bicellular pollen kept the big vacuole all the time. Then, the pollen cytoplasm decreased and pollen aborted. The determination of abortion time and abortion structure of this male sterile wheat makes a foundation for further more researching its abortion mechanism.

Key words *Triticum aestivum*; pollen; male sterility; ultrastructure

收稿日期: 2013-04-07 接受日期: 2013-05-14

国家科技支撑计划项目(批准号: 2011BAD07B02)、国家高技术研究发展计划项目(863计划)(批准号: 2011AA10A106)和河南省重大科技专项基金(批准号: 111100110100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0373-3040337, E-mail: ruzghist@gmail.com

Received: April 7, 2013 Accepted: May 14, 2013

This work was supported by the National Science and Technology Support Program (Grant No.2011BAD07B02), the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, Grant No.2011AA10A106) and Henan Provincial Science and Technology Project (Grant No.111100110100)

*Corresponding author. Tel: +86-373-3040337, E-mail: ruzghist@gmail.com

网络出版时间: 2013-07-24 11:11 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130724.1111.003.html>

作物雄性不育是杂种优势利用的基础。由于杂种优势在农业生产中的巨大潜力,有关农作物杂种优势的利用一直很受重视,对作物雄性不育机理的基础研究也一直是热门研究课题。杂交水稻在生产应用中已获得了很大成功。小麦杂种优势利用业已成为当前小麦改良的重点研究内容之一,尤其对光温敏雄性不育小麦的研究很活跃^[1]。在光温敏小麦雄性不育的基础研究中,既包括对不育花粉的细胞学观察^[2-3]和生理生化研究^[4-6],也包括近年来利用分子生物学技术对雄性不育小麦育性转换机理的研究^[7-11]。然而,植物雄性不育种类很多,造成雄性不育的原因也不同,目前对高等植物雄性不育的机理还不清楚。即使是小麦,不同区域发现的雄性不育类型也有不同的形成机制。温敏小麦BNS(Bainong sterility, 百农不育系)是一种对温度敏感的小麦,在减数分裂前处于10 °C低温下,花粉发生败育;而在13 °C以上,花药正常可育^[12-13]。该不育系对温度敏感,可通过温度调节使其成为保持系或不育系,具有小麦两系法育种的潜力。目前,对该雄性不育小麦的研究很重视,除在生产上探索利用外,也对其雄性不育调控机制展开研究。我们在光学显微镜观察中,发现该小麦的花粉败育发生在二胞花粉早期,是由于营养细胞中大液泡不消失^[14]以及营养细胞中不积累淀粉粒所致^[15]。但光学显微镜的观察有局限性,难以说明营养细胞中大液泡不消失的详细过程。本文对该种温敏核不育小麦可育和不育花药的超微结构进行对比研究,以确定该种小麦可育二胞花粉中大液泡消失和败育花粉中大液泡不消失的超微结构特征,为进一步的研究打下基础。

1 材料与方法

试材是河南科技学院茹振钢于1998年从小麦品系97A131中发现的自然突变体,经多年试种后于2002年定名为温敏小麦BNS^[16]。

通过压片方法先对花药的发育时期作初步鉴定。取不同发育时期的可育和不育花药横切后迅速投入用50 mmol/L(pH7.0)二甲胍酸钠缓冲液配置的含2.5%戊二醛的前固定液,室温下固定3 h;然后用相同缓冲液换洗3次,每次约0.5 h。接着将其转入用相同缓冲液配制的含1%锇酸的后固定液,4 °C下固定过夜,再用上述缓冲液洗3次,丙酮逐级脱水,Epon 812树脂包埋。两种花药用Leica Ultracut R型超薄切

片机切为0.05~0.06 μm厚的超薄切片。切片经醋酸双氧铀和硝酸铅双重染色后用JEM-100/CXII型透射电镜观察并拍照。小麦花药具有四个药室。根据花粉发育特征,人为地划分为小孢子母细胞时期、小孢子早期、小孢子晚期、二胞花粉时期和三胞花粉时期。由于小麦花药壁的绒毡层细胞在小孢子时期退化,而且可育花药和不育花药的绒毡层细胞也没有显示出结构上的差异,本文只阐述药室中可育花粉的发育特征和不育花粉的异常结构,省略了花药壁细胞发育的超微结构特征内容。

2 结果

2.1 温敏核不育小麦BNS可育期间的花粉发育

在小孢子母细胞时期,花药已分化出药室和药壁两部分。药壁由外向内依次为表皮、药室内壁、中层和绒毡层4层体细胞组成。其中,绒毡层细胞的体积超过外面3层细胞的总和。药室中的小孢子母细胞排列松散,细胞间距较大。小孢子母细胞表面有一层较厚的胼胝质壁,细胞中没有明显的液泡,细胞核较大,核仁明显,位于核的中央(图1A)。在细胞质中有丰富的小泡和细胞器,细胞器主要是线粒体和电子密度较高的质体,其中有些质体呈长形和哑铃状;线粒体多呈椭圆形或圆形,内部的嵴不清晰(图1B)。早期的小孢子母细胞壁规则,随着小孢子母细胞的发育,局部细胞壁开始不规则加厚,细胞内的原生质体也由多边形变为圆形。

小孢子母细胞减数分裂后,形成包围在一起的4个单倍体小孢子。随着四分体的胼胝质壁溶解,4个小孢子彼此分离。游离小孢子中没有大液泡,细胞核位于中央(单核中位期),核质比较大。早期小孢子细胞质浓厚,细胞器数量多,体积小。此外,早期小孢子已形成了花粉外壁,分为3层,分别是覆盖层、基柱层和基足层,但此时花粉内壁尚未发育。随着小孢子的发育,细胞内逐渐出现一些小液泡(图1C)。在细胞质中分布有一些电子密度较大但体积较小的质体和一些零星的片状内质网(图1D)。

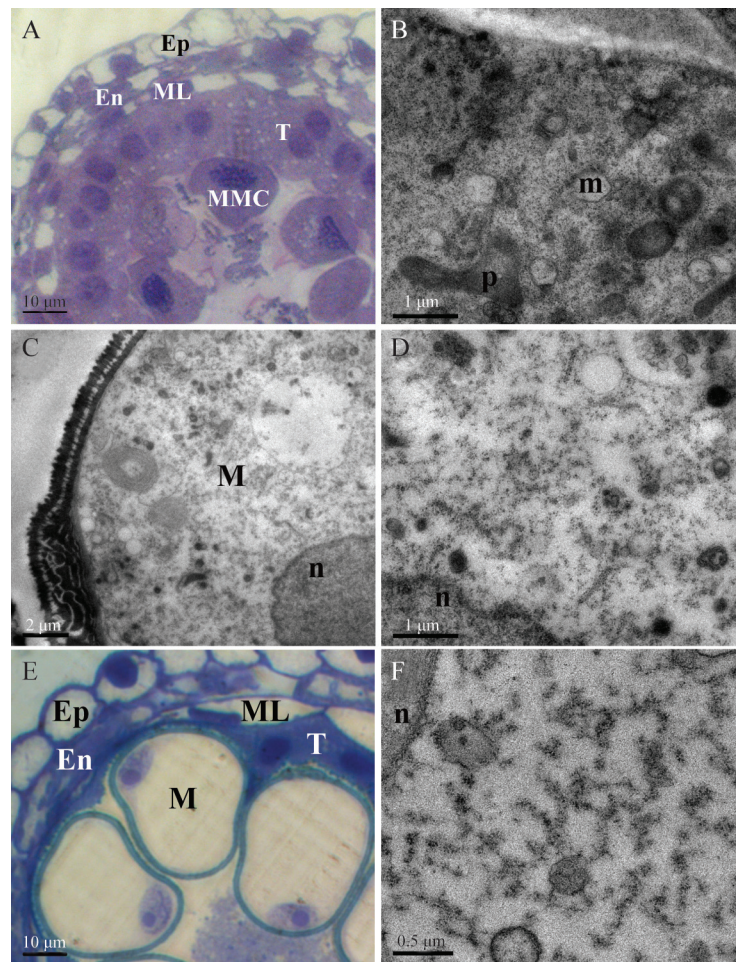
小孢子发育晚期形成了一个液泡。小孢子中的大液泡将细胞核挤到细胞一侧,使小孢子处于一种极性状态(单核靠边期),为其进行不等分裂作好准备。此时,药壁4层细胞中,绒毡层细胞已开始退化,有些部位已变的很小;而相邻的中层细胞比较明显;表皮和药室内壁细胞也较以前增大(图1E)。大

液泡在小孢子中通常分布在靠近绒毡层一侧。晚期小孢子细胞质的电子密度进一步下降, 细胞质内含物聚集成絮状, 在上面附有多聚核糖体(图1F), 这是小孢子发育后期的一个特征。

小孢子通过一次高度不对称分裂, 形成了大小不等、形态和结构不同的营养细胞和生殖细胞, 大的营养细胞继承了原来小孢子的大液泡和大部分细胞质, 而小的生殖细胞只含有少量细胞质, 呈现出很大核质比特征(图2A)。二胞花粉早期的一个发育特征是其营养细胞中的大液泡分解、消失。在营养细

胞中的大液泡分解时, 其周边区域内出现了许多小液泡(图2B), 这些小液泡与细胞质融合后将液泡内含物释放到细胞质中, 使大液泡的体积减小(图2C)。当液泡体积减小到一定程度后, 液泡中的内含物增加, 电子密度增加, 使液泡与细胞质混合(图2D), 大液泡消失。

大液泡消失后, 二胞花粉中营养细胞内的细胞质电子密度又重新增加。随着二胞花粉的发育, 营养细胞中的细胞器数量明显减少, 出现了一些淀粉粒。此时花粉内壁已形成, 电子密度比外壁低, 厚度

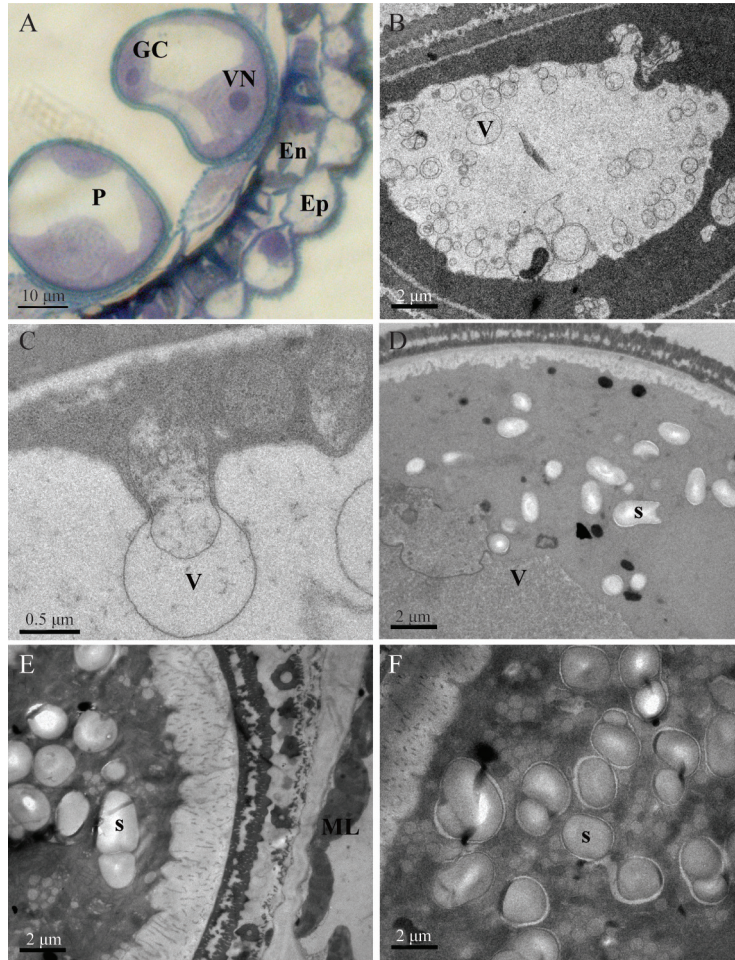


A: 可育花药, 示药室中的花粉母细胞(MMC)和药室的表皮(Ep)、药室内壁(En)、中层(ML)和绒毡层(T); B: 花粉母细胞的放大图, 细胞器中主要是质体(p)和线粒体(m); C: 可育系的早期小孢子(M), 细胞核(n)位于中央, 花粉外壁上的萌发孔已形成; D: 早期小孢子的放大图, 细胞质的电子密度已降低, 有一些小的质体和一些片状的内质网; E: 可育花药中的晚期小孢子, 细胞核被大液泡挤到边缘, 紧贴花粉壁。Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; T: 绒毡层; F: 晚期小孢子的放大图, 细胞质中出现一些多聚核糖体。n: 细胞核。

A: in fertile anther, microspore mother cells (MMC) and epidermis (Ep), endothecium (En), middle layer (ML) and tapetum (T) of anther wall; B: the organelles in MMC were plastid (p) and mitochondria (m) mainly; C: nucleus (n) of early fertile microspore (M) located in the centre. The exine formed germ pore; D: the density of cytoplasm of early microspore decreased with some small plastids and flack-like endoplasmic reticulum fragments; E: nucleus(n) of late fertile microspore was squeezed by the big vacuole to periphery region, near pollen wall. Ep: epidermis; En: endothecium; ML: middle layer; T: tapetum. F: some polyribosomes appeared in the cytoplasm of fertile late microspore. n: nucleus.

图1 早期可育花粉的超微结构

Fig.1 Ultrastructure of early fertile pollen



A: 可育花药早期二胞花粉中, 生殖细胞(GC)已和营养细胞核(VN)分开。花药壁中的绒毡层细胞已退化, 中层细胞体积变小, 只有表皮(Ep)和药室内壁(En)细胞还保留着; B: 营养细胞大液泡分解过程中出现一些小液泡(v); C: 营养细胞大液泡分解过程中, 小液泡(v)与大液泡膜融合; D: 营养细胞的大液泡(v)体积减小后, 电子密度与细胞质基质相近(s: 淀粉粒); E: 可育花粉接近成熟时, 细胞质中没有液泡。花粉内壁的厚度超过花粉外壁(s: 淀粉粒; ML: 药壁中层); F: 成熟花粉中充满淀粉粒(s: 淀粉粒)。

A: in early fertile bicellular pollen, generative cell (GC) had separated with vegetative nucleus (VN). Tapetal cells had degenerated, and middle layer cells became small in size, only epidermis (Ep) and endothecium (En) kept; B: many small vacuoles (v) appeared during large vacuole decomposition; C: the small vacuoles fused with the large one during its decomposition; D: the large vacuole (v) of vegetative cell decreased in size, and content electronic density was similar with cytoplasm; E: in nearly mature pollen, there was no vacuoles in cytoplasm. The thickness of pollen intine exceeds exine (s: starch; ML: middle layer of anther wall); F: mature pollen was full of starches (s).

图2 晚期可育花粉的超微结构

Fig.2 Ultrastructure of late fertile pollen

与花粉外壁相似。到开花时, 可育花粉中电子密度明显增加, 花粉内壁的厚度明显增加, 约有花粉外壁的两倍厚度(图2E), 在花粉中充满了淀粉粒(图2F)。

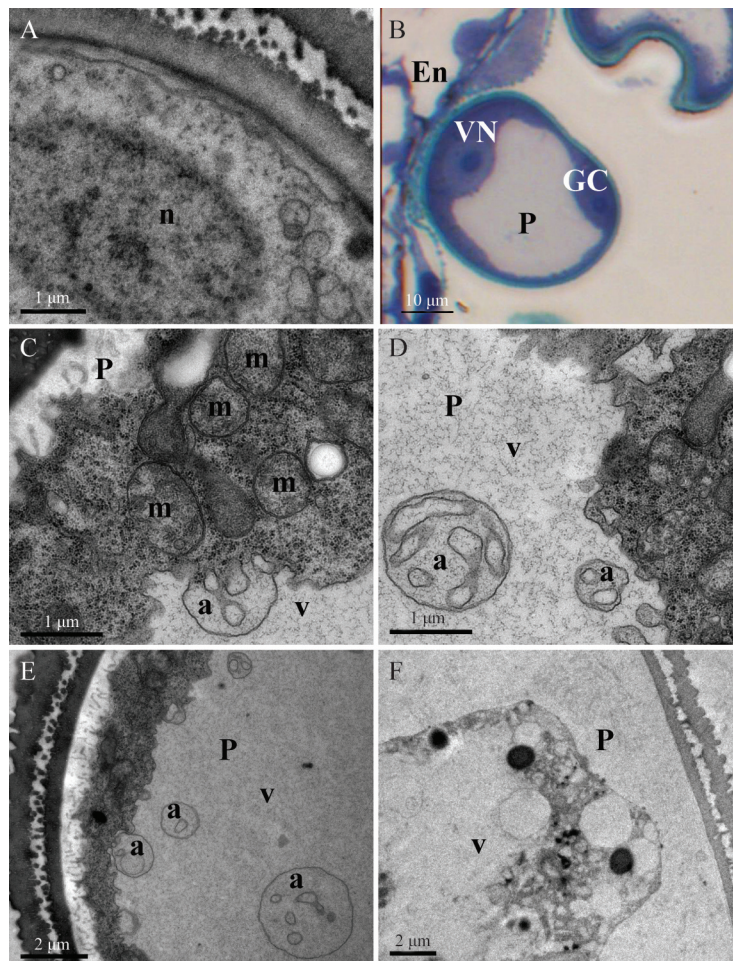
2.2 温敏核不育小麦BNS不育期间的花粉发育

在本次超微结构观察中, 不育花药的小孢子母细胞、早期小孢子和晚期小孢子与可育花粉相比都没有明显差异。我们从小孢子晚期开始对比不育花粉的结构差异。

在晚期不育小孢子中, 中央大液泡使细胞核靠边分布, 即单核靠边小孢子。在小孢子核中的染色

质呈分散状。在核膜上有较多核孔。在小孢子核与花粉外壁之间的细胞质中, 有一些圆形细胞器(图3A)。在有些晚期小孢子中, 核仁的电子密度高于核质, 形成明显区分。在核附近的细胞质中, 分布有较多的线粒体, 但线粒体内部的嵴较少。

不育小孢子分裂后, 形成二胞花粉, 由一个较大的营养细胞和一个较小的生殖细胞组成(图3B)。正常二胞花粉的特征是营养细胞中的大液泡逐渐分解、消失, 靠近花粉壁的生殖细胞脱离花粉壁移入营养细胞中。但在不育二胞花粉的营养细胞质中,



A: 不育系晚期小孢子, 示其细胞核(n)靠边分布, 细胞器没有显示出异常; B: 不育花药的二胞花粉中, 生殖细胞(GC)和营养核(VN)分开; C: 二胞花粉的营养细胞中有很多线粒体(m), 内部的嵴清晰, 但在营养细胞的大液泡(v)边缘, 开始形成自体吞嗜泡(a), 将一些细胞质包入其中; D: 自体吞嗜泡(a)迁移到大液泡中; E: 败育花粉营养细胞中的大液泡(v)不消失, 其中有些自体吞嗜泡存在(a); F: 接近开花时, 败育花粉(P)细胞质中仍有许多液泡(v)。

A: late sterile microspore showed its nucleus (n) in periphery region of cell and its cytoplasmic structure was normal; B: in early bicellular sterile pollen, generative cell had separated with the nucleus of vegetative cell (VN); C: there were many mitochondria in pollen cytoplasm, which had clear cristae. Some autophagosomes appeared in edge of large vacuole; D: the autophagosomes moved into large vacuole; E: the large vacuole in sterile bicellular pollen did not decompose with some autophagosomes in it; F: at anthesis, there were many autophagosomes in abortive pollen.

图3 不育花粉的超微结构

Fig.3 Ultrastructure of sterile pollen

有较多的线粒体分布。在大液泡的边缘处出现了包含细胞膜的自体吞嗜泡结构(图3C), 自体吞嗜泡脱离液泡膜, 进入到大液泡中(图3D)。这种自体吞嗜泡并不能使大液泡分解, 反而减少了细胞质含量, 使大液泡增大(图3E)。接近开花时, 败育花粉中仍含有大液泡, 其中有一些自体吞嗜泡存在(图3F)。

3 讨论

在光学显微镜的观察中, 我们证实了温敏核不育小麦(BNS)小孢子可分裂形成二胞花粉, 败育花粉最早显示出的异常现象是二胞花粉中的大液泡不消

失, 细胞质基质不增加, 最终二胞花粉中的细胞质分解, 花粉败育^[14]。在进一步对花药发育的组织化学研究中, 我们发现伴随着可育二胞花粉中营养细胞大液泡消失, 细胞质内含物增加, 细胞质中出现淀粉粒并持续增加。即将开花的成熟花粉中积累了大量的淀粉粒, 显示出小麦营养物质积累的特征。不育花药小孢子分裂以前与可育花药相似, 但在小孢子分裂形成二胞花粉后, 其营养细胞中的大液泡不消失, 细胞质内含物不增加, 也不积累淀粉粒^[15]。本研究再次从超微结构观察证实该种不育花粉的败育时间发生在二胞花粉时期, 是由营养细胞中的大液泡

代谢异常所致。在可育二胞花粉中, 营养细胞的大液泡先通过形成许多单膜的小液泡使大液泡体积减小, 最后导致大液泡消失。然而, 在不育二胞花粉中, 营养细胞的大液泡也形成一些小液泡, 但这些小液泡是通过自体吞噬体方式形成的, 与可育花粉中的小泡明显不同。最后的结果是败育二胞花粉中的大液泡没有消失, 而持续保留, 最终导致花粉败育。

大多数植物的小孢子发育到晚期都会形成一个大的液泡, 将细胞核挤到边缘, 使小孢子产生极性, 为小孢子不等分裂做好准备。通常在大液泡挤压下, 在微管等细胞骨架的参与下, 小孢子的细胞核位于萌发孔的对面位置, 而萌发孔常常面对着绒毡层细胞^[17]。在光镜观察中, 小麦药室中的小孢子呈一圈状地分布, 小孢子核规律性地分布在小孢子的向心位置, 而萌发孔则在小孢子的离心位置^[14]。由于在圆形的小孢子中, 细胞核靠边极性分布, 导致小孢子的第一次平周分裂为不等分裂, 产生一个大的营养细胞和一个小的、透镜状的生殖细胞, 开始了被子植物的雄配子体世代。可以设想, 如果没有大液泡, 小孢子核位于中央, 其分裂的结果将是均等分裂, 产生两个体积相等的子细胞, 没有营养细胞和生殖细胞的区分, 雄配子体如何发育将无法预测。小孢子中的大液泡是使小孢子转向雄配子体途径的关键, 具有重要意义。小孢子分裂后, 大液泡的功能结束, 大液泡消失, 然后生殖细胞脱离花粉壁, 移入营养细胞中, 同时营养细胞内也开始积累营养物质, 为花粉萌发做准备。因此, 被子植物小孢子中大液泡的形成和二胞花粉中大液泡的消失是花粉发育中的两个重要环节, 关系到由小孢子向雄配子体的转变^[17]。然而, 在被子植物花粉发育中, 关于大液泡形成和消失的问题很少有报道。在我们的观察中, 这种温敏核不育小麦的二胞花粉中形成了具双膜结构的自体吞噬泡。根据我们的观察, 这种双膜的自体吞噬泡分割了部分细胞质并溶入大液泡中。Aubert等^[18]用悬铃木悬浮培养物研究糖的作用时发现: 当培养基中不加糖时, 糖饥饿细胞的周缘细胞质中形成了双膜的自体吞噬泡并融入到大液泡中, 导致大液泡的体积增大。在我们的组织化学实验中, 不育二胞花粉中不积累淀粉粒, 糖代谢出现异常^[15]。结合本实验中不育花粉出现的双膜自体吞噬泡和Aubert等的发现相似, 提示可能是该雄性不育二胞花粉中的糖代谢异常引起花

粉饥饿, 形成自体吞噬泡, 降解细胞质, 最终导致花粉败育。

参考文献 (References)

- 1 江红梅, 张立平. 小麦光温敏雄性不育遗传研究进展. 种子 (Jiang Hongmei, Zhang Liping. Advanced heredity research on photoperiod-temperature male sterile in wheat. Seed) 2009; 28(5): 56-9.
- 2 何蓓茹, 董普辉, 宋喜悦, 马翎健, 胡银岗, 蒋通关, 等. 小麦温度敏感不育系A3314温敏特性研究. 麦类作物学报(He Beiru, Dong Puhui, Song Xiyue, Ma Lingjian, Hu Yingang, Jiang Tongguan, et al. Study on the thermo-sensitivity of thermo-sensitive male-sterile wheat Line A3314. J Triticeae Crop) 2003; 23(1): 1-6.
- 3 樊建青, 张立平, 赵昌平, 许晨光, 王灵云, 苑少华. 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. 中国细胞生物学学报(Fan Jianqing, Zhang Liping, Zhao Changping, Xu Chenguang, Wang Lingyun, Wan Shaohua. Studies on meiosis of pollen mother cells in photoperiod-temperature sensitive genic male sterile wheat Ling BS366. Chinese Journal of Cell Biology) 2011; 33(6): 622-8.
- 4 张建奎, 宗学风, 王俊义, 高东迎, 余国东, 石有明. 温光敏核雄性不育小麦花药中保护酶活性的变化. 麦类作物学报 (Zhang Jiankui, Zong Xuefeng, Wang Junyi, Gao Dongying, Yu Guodong, Shi Youming. Changes of activity of protective enzymes in anther of thermo-photo-sensitive genic male-sterile wheat. Journal of Triticeae Crops) 2001; 21(4): 26-30.
- 5 杨海燕, 宗学风, 余国东, 石有明, 张建奎. 温光敏核不育小麦育性转换与激素间关系的研究. 西南农业大学学报(Yang Haiyan, Zong Xuefeng, Yu Guodong, Shi Youming, Zhang Jiankui. Regulating effects of hormones on fertility alternation in thermo-photo-sensitive genic male sterile (TGMS) wheat. J Southwest Agric Univ) 2006; 28(3): 369-72.
- 6 宋喜悦, 胡银岗, 马翎健, 李宏斌, 何蓓茹. YS型小麦温敏雄性不育系A3314育性转换期间幼穗和叶片中物质含量的变化. 西北农林科技大学学报(Song Xiyue, Hu Yingang, Ma Lingjian, Li Hongbin, He Beiru. Changes of material content in panicles and leaves of YS type thermo-sensitive male sterile wheat line A3314 during transfer from sterility to fertility. J Northwest A&F Univ) 2009; 37(8): 81-6.
- 7 Guo RX, Sun DF, Tan ZB, Rong DF, Li CD. Two recessive genes controlling thermophotoperiod-sensitive male sterility in wheat. Theor Appl Genet 2006; 112(7): 1271-6.
- 8 Yang D, Tang ZH, Zhang LP, Zhao CP, Zheng YL. Construction, characterization, and Expressed Sequence Tag (EST) analysis of normalized cDNA library of thermo-photoperiod-sensitive genic male sterile (TPGMS) wheat from spike developmental stages. Plant Mol Biol Rep 2009; 27(2): 117-25.
- 9 Chen XD, Sun DF, Rong DF, Sun GL, Peng JH. Relationship of genetic distance and hybrid performance in hybrids derived from a new photoperiod-thermo sensitive male sterile wheat line 337S. Euphytica 2010; 175: 365-71.
- 10 Chen XD, Sun DF, Rong DF, Peng JH, Li CD. A recessive gene controlling male sterility sensitive to short daylength/low temperature in wheat (*Triticum aestivum* L.). J Zhejiang Univ Sci B 2011; 12(11): 943-50.

- 11 Dong PH, Hu YG, Guo GG, He BR, Wang LM, Yuan JG. Inheritance and chromosome location of photoperiod-thermo sensitive male sterility in wheat line Xinong 291S. *Plant Breeding* 2012; 131(6): 695-9.
- 12 周美兰, 茹振刚, 骆叶青, 罗 丕, 李 青, 郭小孔, 等. 两系小麦不育系BNS雄性育性的转换. *核农学报*(Zhou Meilan, Ru Zhengang, Luo Yeqing, Luo Pi, Li Qing, Guo Xiaokong, *et al.* Male fertility transformation of two-line wheat sterile lines BNS. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*) 2010; 24(5): 887-94.
- 13 张自阳, 胡铁柱, 冯素伟, 李笑慧, 李 淦, 茹振刚. 温敏核雄性不育小麦BNS的育性转换规律初探. *河南农业科学*(Zhang Ziyang, Hu Tiezhu, Feng Suwei, Li Xiaohui, Li Gan, Ru Zhengang. A preliminary study on fertility alteration of thermo-sensitive genic male sterile wheat line BNS. *Journal of Henan Agricultural Sciences*) 2010; 39(7): 5-9.
- 14 李东霄, 邓小莉, 李 淦, 徐龙龙, 茹振刚. 温敏核不育小麦可育花药和败育花药发育观察. *中国细胞生物学报*(Li Dongxiao, Deng Xiaoli, Li Gan, Xu Longlong, Ru Zhengang. Observation in fertile and sterile anthers of a thermo-sensitive genic male-sterile wheat (*Triticum aestivum* L). *Chinese Journal of Cell Biology*) 2012; 34(9): 880-5.
- 15 李东霄, 李 淦, 冯素伟, 茹振刚. 温敏核不育小麦可育和不育花药的细胞化学观察. *作物学报*(Li Dongxiao, Li Gan, Feng Suwei, Ru Zhengang. Cytochemical observation of fertile and sterile anthers of thermo-sensitive genic male-sterile wheat. *Acta Agron Sin*) 2013; 39(5): 878-84.
- 16 李友勇, 茹振刚, 苏 晴, 付庆云. 小麦BNS雄性不育系及其转换系花药差异蛋白鉴定分析. *作物学报*(Li Youyong, Ru Zhengang, Su Qing, Fu Qingyun. Identification and analysis of differentially expressed proteins of BNS male sterile line and its conversion line of wheat. *Acta Agronomica Sinica*) 2011; 37(9): 1540-50.
- 17 胡适宜. 被子植物生殖生物学. 北京: 高等教育出版社(Hu Shiyi. *Reproductive biology of angiosperms*. Beijing: Higher Education Press) 2005, 58-62.
- 18 Aubert S, Gout E, Bligny R, Mart-Mazars D, Barrieu F, Alabouvette J, *et al.* Ultrastructural and biochemical characterization of autophagy in higher plant cells subjected to carbon deprivation: Control by the supply of mitochondria with respiratory substrates. *J Cell Biol* 1996; 133(6): 1251-63.