

短光敏核不育水稻 D38S 育性转换的细胞学观察

陈云凤, 黎世龄, 罗筱平, 徐梦洁, 张君权 (宜春学院生命科学与资源环境学院, 江西宜春 336000)

摘要 利用显微技术对短光敏核不育水稻 D38S 不同时期的幼穗花粉形成及发育过程进行系统观察和研究。结果表明: 在短光敏核不育水稻 D38S 败育过程中减数分裂前期的单核花粉时期出现明显异常现象, 即花粉细胞体积变小, 细胞质变稀薄, 细胞核的形状从规则变为不规则, 出现明显核皱缩。

关键词 短光敏核不育水稻; D38S; 细胞学观察; 花粉败育

中图分类号 S511 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)25-018-03

Cytological Observation of Dual-use Nuclear Sterile Line Rice D38S

CHEN Yun-feng, LI Shi-ling, LUO Xiao-ping et al (College of Life Science and Resource Environment, Yichun University, Yichun, Jiangxi 336000)

Abstract Microtechnique was used to observe and study the young ear pollen formation and development process of short day induced male sterile line rice D38S in different time periods. Results showed that in the abortive process of rice D38S, mononuclear pollen period at meiosis prophase showed significant abnormal phenomena, such as small pollen cell volume, thin cytoplasm, irregular shape of cell nucleus, and significant nuclear shrinkage.

Key words Short day induced male sterile line rice; D38S; Cytological observation; Pollen abortion

自 1981 年石明松^[1]报道从晚粳品种农垦 58 中选育出光敏感不育系并提出一系两用的水稻杂种优势利用新途径以来, 我国杂交水稻研究与利用进入了三系、两系并进的新阶段。由于两系杂交水稻具有恢复源广、配组自由、利于亚种间杂种优势利用等优点, 因而受到国家和地方有关方面及水稻育种家的广泛重视^[2-3]。20 世纪 90 年代后, 随着培矮 64S 等实用两用核不育系的选育成功, 配组育成的一批两系杂交水稻组合在试验示范中综合性状表现优良, 为两系杂交水稻在生产上的推广应用奠定了基础^[4]。短光敏核不育水稻 D38S 是宜春学院水稻育种组自主选育而成的一个光温反应特性比较特殊的两用核不育系, 它是与湖北省石明松选育的农垦 58S 相反且与 IVA 不同的另一类光温敏雄性核不育水稻, 其具有短光不育、长光可育、光长主导育性转换的育性反应特性^[5]。该品系具有农业性状优良、结实率高、配合力强等优点^[6], 其在杂交水稻理论研究中具有重大的价值。由于我国对短光低温诱导雄性不育、长光高温诱导雄性可育水稻新种质的研究起步较晚, 因此涉及这一类新种质花粉败育的细胞学研究较少, 仅见吴世斌等^[7]对具类似育性转换特性的早稻昆植 S-1 进行了较为详细地观察。鉴于此, 笔者利用显微技术对 D38S 不同时期的幼穗花粉形成及发育过程进行观察, 研究其育性转换的光温特性和花粉败育的机理, 以期水稻育种研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试材料为短光敏核不育水稻 D38S 不同发育时期幼穗。

1.2 试验方法 2012、2014、2015 年在宜春学院水稻育种基地, 根据短光敏核不育水稻生育期和育性转换特性, 利用分批播种的方法, 根据天气变化, 取其幼穗花粉进行镜检, 观察

其育性变化情况。分别于 8 月下旬 (28~35℃)、9 月上旬 (19~23℃) 及 10 月上旬 (15~29℃) 在试验基地选取不同发育时期的水稻幼穗并分别进行编号, 将材料移至实验室后, 用剪刀和镊子对每个编号好的幼穗粒进行秤端去除, 将幼穗放入卡诺氏固定液 (无水乙醇: 冰醋酸 = 3:1) 固定 1 h 左右, 然后再用浓度为 95% 的酒精冲洗, 使之不含冰乙酸。接着将冲洗好的一定数量各个发育时期的小穗取出其花药捣碎研磨制成载玻片, 每个载玻片做好记号并分别编号。将剩余暂时不用的稻穗置浓度为 70% 的乙醇中于 2~5℃ 保存。花粉在载玻片上研磨均匀后, 在编好号的玻片上滴 1~2 滴醋酸洋红溶液, 用纸吸干后, 在 Motic 数码显微镜 (型号: BA300; 倍数: 400) 下观察花粉粒形态结构, 将观察结果保存并统一分析。

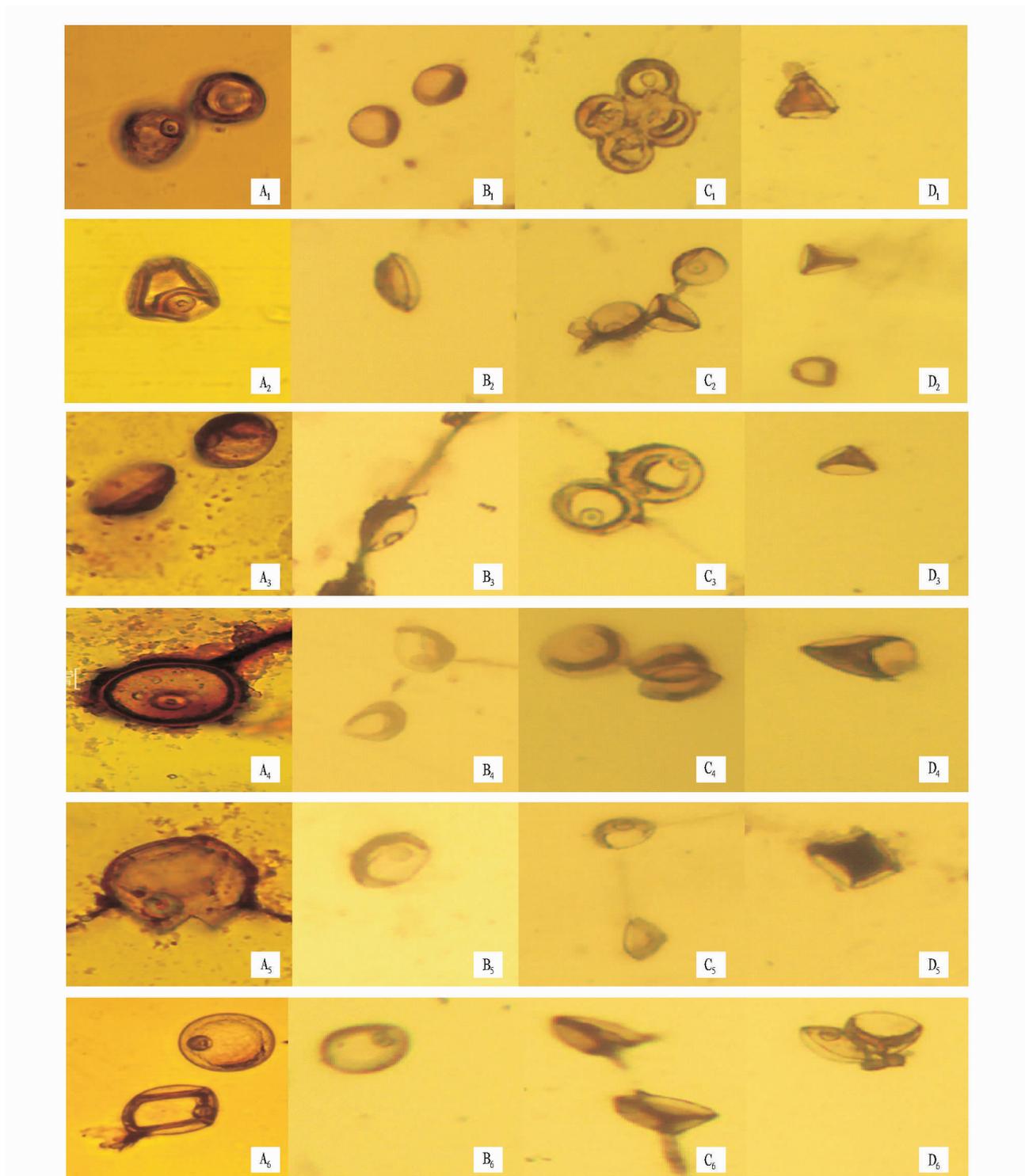
2 结果与分析

通过分批连续取材, 利用生物显微技术, 观察获取短光敏核不育水稻材料 D38S 可育期、育性转换期、败育期各时期的花粉细胞染色相关图片, 选取 D38S 不同育性时期的发育阶段的细胞染色图片, 然后进行对比, 结果如图 1 所示。

2.1 育性转换前期 D38S 的花粉形成和发育过程 通过在生物摄影显微镜下观察不同发育时期的水稻 D38S 幼穗材料细胞, 可以初步发现其连续的细胞分裂过程。通过观察 A₁、B₁、C₁ 图片可以发现, 此时 D38S 幼穗小孢子细胞体积较小、呈圆形, 细胞核较大, 胞质厚度较厚、分布均匀; 而后 D38S 幼穗发育至 A₂ 时, 通过观察 A₂、B₂、C₂ 图片可以发现: 此时 D38S 幼穗小孢子细胞体积逐渐增大, 核位于中央; 当水稻 D38S 幼穗发育至 A₃ 时, 通过观察 A₃、B₃、D₃ 图片可以发现: 此时核偏离中央, 核物质形状变得越来越不规则; 当幼穗发育至 A₄ 时, 通过观察 A₄ 图片可以发现: 小孢子细胞内有液泡形成, 细胞核物质被液泡挤到一边, 染色质被染成深色; 而后细胞进一步成长发育至幼穗 A₅ 时期, 观察可育 A₅、B₅、C₅、D₅ 图片可以发现: 小孢子细胞内细胞核物质局部散开, 形态

不规则;随后发育至 A_6 时,观察可育 A_6 、 B_6 、 C_6 、 D_6 图片可以发现:此时细胞质物质明显变少,随后小孢子细胞呈透明化。观察 A_6 、 B_6 、 C_6 、 D_6 图片还可以发现:核仁较小且偏离细胞中

央,细胞质均匀分布于细胞内。此后小孢子细胞经过有丝分裂可发育成成熟花粉。



注: $A_1 \sim A_6$ 、 $B_1 \sim B_6$ 均为(可育)育性转换前期($28 \sim 35^\circ\text{C}$)花粉的发育过程; $C_1 \sim C_6$ 为育性转换时期($19 \sim 23^\circ\text{C}$)花粉的发育过程; $D_1 \sim D_6$ 为(败育)育性转换后期($15 \sim 29^\circ\text{C}$)花粉的发育过程。

Note: $A_1 - A_6$ and $B_1 - B_6$ were pollen development process of (fertile) fertility transformation prophase ($28 - 35^\circ\text{C}$); $C_1 - C_6$ were pollen development process of (abortion) fertility transformation phase ($19 - 23^\circ\text{C}$); and $D_1 - D_6$ were pollen development process of (abortion) fertility transformation anaphase.

图 1 D38S 育性转换的花粉形成与发育过程

Fig. 1 Pollen formation and development process of D38S fertility transformation

2.2 育性转换时期 D38S 的花粉形成和发育过程 通过在生物摄影显微镜下观察 $C_1 \sim C_6$ 、 $D_1 \sim D_6$ 发育时期的水稻 D38S 幼穗材料细胞可以发现,与 D38S 花粉形成和发育过程 ($A_1 \sim A_6$ 、 $B_1 \sim B_6$) 相比,不育 D38S 的异常变化出现在减数分裂前期和单核花粉时期,而且异常表现多样。观察 $D_1 \sim D_6$ 发育时期的 D38S 幼穗小孢子细胞时可发现:减数分裂时期,有一部分小孢子细胞中核物质形态变得越来越无规则,细胞质变得越来越稀薄且不规则地分散于细胞中;有核结构被破坏,致使胞质和核质混合;细胞内的花药壁变得越来越薄;有的整个细胞液泡化,细胞呈透明状态。单核花粉时期,大部分小孢子细胞出现异常。有的小孢子细胞体积稍大,细胞呈狭长的不规则形状,核质被染成一团深色物质;之后,这些小孢子一部分能发育成花粉壁,但不能正常有丝分裂,发育仅停留在单核期,内容物不能充实,细胞核和细胞质破碎解体,只剩残体,变成一个无内容物的空壳花粉。

2.3 不育 D38S 花药细胞质的异常 该研究发现,不育 D38S 花药败育过程中的异常常伴随着花药细胞内细胞质的变化异常活动。在减数分裂时期,通过观察图 1 中的变化过程可以分析出,水稻 D38S 育性转换过程中,细胞形态由大慢慢变小,在可育 D38S 的图片中细胞质分布均匀,细胞完整;而在不育 D38S 的图片中发现细胞质几乎消失不见,胞内只见较大的液泡,细胞呈透明化。至单核花粉时期,可育花药的细胞质随着小孢子的发育在形态上发生了一系列的变化。不育 D38S 的细胞质早期占花药细胞的大半部分,但随着细胞发育,细胞质含量越来越少。因为细胞质对花粉的发育具有多种重要作用,细胞质的异常变化可以使小孢子发育为成熟花粉所需要的大量营养物质缺乏,使小孢子不能正常发育,导致花粉败育。有研究表明,花粉败育过程中的异常表现常伴随着花药绒毡层细胞的异常活动,绒毡层细胞出现提

前解体现象^[8]。该研究也证明,花药绒毡层细胞的异常活动是致使花粉败育过程中出现异常表现的关键因素。

3 结论与讨论

该研究结果表明:在减数分裂和单核花粉时期,短光敏核不育水稻 D38S 均表现出异常现象。对这些异常现象进行进一步观察和研究可为水稻品系的抽穗开花期间田间管理及雄性不育研究提供理论依据,也可为农业生产和实践提供指导。

有研究表明,花粉败育过程中的异常表现常伴随着花药绒毡层细胞的异常活动,绒毡层细胞出现提前解体现象^[8]。Chapman^[9]曾将绒毡层的功能总结为 4 个方面,即造孢组织的营养、花粉壁的形成、花粉鞘和含油层的供应、提供识别物质。而该试验分析认为,短光敏核不育水稻 D38S 的花药发育过程中,在减数分裂前期和单核花粉时期出现异常现象表现为细胞质的厚度变薄、细胞核的形状从规则变为不规则。细胞质是进行新陈代谢的主要场所,绝大多数的化学反应都是在细胞质中进行,同时其对细胞核也有调控作用,因此细胞质的异常活动可能是花粉败育的关键因素。

参考文献

- [1] 石明松. 晚粳自然两用系选育及应用初报[J]. 湖北农业科学, 1981(7): 1-3.
- [2] 袁隆平. 杂交水稻的育种战略设想[J]. 杂交水稻, 1987(1): 1-3.
- [3] 孙宗修, 程式华. 杂交水稻育种: 从三系、两系到一系[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1994.
- [4] 杨仕华, 程本义, 沈伟峰, 等. 中国两系杂交水稻选育与应用进展[J]. 杂交水稻, 2009, 24(1): 5-9.
- [5] 高一枝. 水稻短光敏不育雄性材料的发现及研究初报[J]. 宜春农专学报, 1991(1): 1-5.
- [6] 黎世龄, 高一枝. 水稻新型短光敏两系不育系 D38S 的选育[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(2): 2233-2234.
- [7] 吴世斌, 孙又明, 周开元, 等. 新型早稻昆植 S-1 两用核不育系花粉败育的细胞学观察[J]. 遗传学报, 1994, 21(3): 201-204.
- [8] 朱英国. 水稻不育雄性生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2000.
- [9] CHAPMAN G P. The tapetum[J]. Int Rev Cytol, 1987, 107: 111-125.
- [6] 张红, 吕富, 吕林兰, 等. 浮游植物叶绿素 a 含量测定方法的比较及优化[J]. 海洋科学, 2012, 36(10): 1-4.
- [7] 黄昌妙, 叶树才, 王潮. 浮游植物叶绿素 a 测定方法的比较分析[J]. 福建分析测试, 2013, 22(4): 23-27.
- [8] 卢俊, 卢庆华, 张冬艳, 等. 盐藻中测定脱镁叶绿素含量的影响因素研究[J]. 食品工业, 2015, 36(10): 5-7.
- [9] 王友利. 氮磷交互作用对两种海洋微藻生长及细胞组分的影响[D]. 大连: 大连大学, 2015: 13-14.
- [10] 王英典, 刘宁. 植物生物学指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [11] 张丽彬, 王启山, 徐新惠, 等. 乙醇法测定浮游植物叶绿素 a 含量的讨论[J]. 中国环境监测, 2008, 24(6): 9-10.
- [12] 王玉芳, 杨士斌, 刘得银, 等. 浮游植物叶绿素 a 含量不同方法测定比较[J]. 水文, 2014, 34(5): 58-60.
- [13] 杨彩根, 宋学宏, 孙丙耀. 浮游植物叶绿素 a 含量简易测定方法的比较[J]. 海洋科学, 2007, 31(1): 6-9.
- [14] 徐彩平, 刘霞, 陈宇炜. 浮游植物叶绿素 a 浓度测定方法的比较研究[J]. 生态与农村环境学报, 2013, 29(4): 438-442.
- [15] 翁笑艳, 林美爱, 严颖. 地表水浮游植物叶绿素 a 测定方法比较研究[J]. 中国环境监测, 2009, 25(3): 37-38.
- [16] 杨洪芳, 丁峰元, 陈德辉. 乙醇-超声法在浮游植物叶绿素 a 含量测定中的应用[J]. 海洋渔业, 2006, 28(4): 310-312.

(上接第 9 页)

少了叶绿素的分解。

该试验确定的利用乙醇提取叶绿素的优化条件能够在短时间内完成叶绿素的提取,具有简便、经济、快速、重现性好等优点,不仅可以提高盐藻的综合利用价值,而且可为其他海洋微藻中叶绿素的提取提供参考。

参考文献

- [1] 盐藻[EB/OL]. [2016-05-04]. <http://baike.so.com/doc/5400776-5638377.html>.
- [2] 杨彩根, 宋学宏, 孙丙耀. 浮游植物叶绿素 a 含量简易测定方法的比较[J]. 海洋科学, 2007, 31(1): 6-9.
- [3] NUSCH E A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination[J]. Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol, 1980, 14: 14-36.
- [4] 叶绿素[EB/OL]. [2016-05-04]. <http://baike.so.com/doc/2870698-3029319.html>.
- [5] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(增补版)[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2009: 670-671.