

水稻孕穗期冷害小孢子亚显微结构观察*

黄 湛

(农 学 系)

提 要

应用电子显微镜对水稻孕穗期冷害的小孢子和绒毡层进行观察,得到如下结果:日平均温度 20°C (最高 24°C ,最低 14°C ,持续时间2天),对籼稻品种(晚籼)的小孢子发育已有明显的影响。受低温影响的小孢子个体之间(在同一花粉囊中)的发育形态有很大差异。一部分小孢子的细胞器不同程度被破坏或解体,尤其各种形态的液泡系被破坏,液泡膜收缩,出现龟裂现象。受低温影响在绒毡层细胞的细胞质中,各种细胞器也不不同程度被破坏或解体。最后导致空秕率增加,其空秕率比对照增加35.1%。

引 言

华南地区晚秋季节,正值晚稻孕穗、抽穗的发育阶段,这个时期,常常有短时低温天气出现,特别是偏北的高寒山区,由于低温来得早,或插秧季节拖迟,往往引起晚稻结实不好,严重时不能抽穗,即所谓“望冬青”。

孕穗期是水稻重要的生育阶段。早在四十多年前,酒井(1937)等及其以后的许多学者,曾就低温影响水稻受精的表现、受精的时期做过不少研究,但应用电子显微技术观察小孢子受害情况,还未见报道,本实验是在我们过去工作的基础上^[1],进一步应用电子显微技术观察正常发育与冷害后小孢子的亚显微结构,借以探索低温影响水稻结实的内部机理,为育种、栽培提供依据。

材 料 和 方 法

供试品种为目前广东、广西两省推广面积最大的晚季籼稻品种“包选2号”。育苗后移入盆栽管理,到孕穗期经光学显微镜镜检确定为花粉母细胞减数分裂期前后,置于人工气候室低温处理。低温处理条件:最高温度 24°C ,最低 14°C ,平均 20°C ;光照2万勒克斯(每天11小时),空气相对湿度80~90%。低温持续时间2天。室外作对照。

取上述低温处理后的花药和对照植株花药各若干,分别制片。先在0.2M磷酸缓冲液(pH7.2)配制的2.5%戊二醛溶液中固定6小时,这时温度 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 。并在此其间放在真空干燥器中抽气2~3次,每次20分钟。然后,用上述磷酸缓冲液在同样温度

* 本文承吴灼午、梁光商两位教授审阅,并得到本院电镜室的同志协助完成,特此致谢!

条件下冲洗 3~4 次, 1 小时。再用上述缓冲液配制的 1% 锇酸溶液固定 10~15 小时, 0~4℃, 缓冲液洗 1 小时。材料经各级浓度酒精脱水后, 再经丙酮过渡到 618 环氧树脂包埋剂中包埋。包埋聚合后, 用澳大利亚 OMU₄ 型超薄切片机切片。超薄切片用醋酸双氧铀染色, 并用柠檬酸铅复染。染色后用荷兰飞利浦 EM400 型电镜观察并照相。

观 察 结 果

根据多次观察和电子显微镜照相记录的照片, 综合分析, 结果如下:

(一) 正常发育的小孢子, 在减数分裂期刚结束时, 细胞质中含有丰富的细胞器(图 1)。细胞核在小孢子中央, 周围分布着内质网(er), 质体(p), 线粒体(m)等。还可以经常看到液泡对部分细胞质及其中的细胞器的自体吞噬活动(图 2), 即部分液泡膜内陷, 包入一部分细胞质加以消化。在液泡内也可以看到细胞质残体。

(二) 在同一花粉囊中, 正常发育的小孢子个体之间的形态基本一致。但在低温处理后, 小孢子个体之间的形态则有很大差异, 其中一部分的小孢子细胞器不同程度被破坏或解体(图 3)。

1. 在各种细胞器的解体过程中, 还可以看到线粒体的痕迹。异常状态的线粒体肿大, 嵴被破坏, 内容物消失, 出现空泡, 进而膜结构被破坏(图 4)。这说明了受低温影响, 线粒体是相对比较稳定的一种细胞器。

2. 随着小孢子的发育, 液泡不断扩大, 细胞核被挤到靠小孢子壁的位置, 即单核靠边期。这个时期液泡的发育动态是小孢子发育的重要特征之一。在低温影响下, 液泡膜出现龟裂(图 5、6), 结果使细胞对物质的主动吸收和运输的能力降低, 却使物质的被动转移和渗透增加。从而引起液泡内容物外渗, 加速小孢子其他细胞器的解体。

3. 小孢子中的核糖体(r), 在低温影响下开始不均匀堆积起来(图 7), 以后也逐渐解体。正常小孢子的发育过程, 则不存在这种现象。

(三) 在正常花药的绒毡层细胞的细胞质中, 清楚的分布着线粒体、质体等, 以及各种形态的液泡系(图 8)。但在低温处理后, 这些细胞器则不同程度被破坏或处于解体状态, 有的已经消失(图 9)。另外, 在绒毡层细胞质膜外, 有一层排列整齐的“球状体”。正常发育与低温处理的“球状体”, 在形态上无多大差异(图 10)。

讨 论

四十多年前, 酒井(1937)与柿崎等(1938)的试验, 就已经知道水稻抽穗前 11 天左右, 低温(12~13℃)对受精的危害最大。后来, 佐竹(1970、1976)曾对此做了精密研究, 发现经三天 12℃ 的低温, 影响受精作用的最敏感时期是四分体时期至小孢子第一收缩期(简称小孢子初期)^[3]。在我们过去的工作中^[1], 也观察到低温对水稻孕穗期的影响, 花粉母细胞减数分裂期前后是受害最重要的时期。本实验应用电子显微镜观察的结果, 同前人研究的结果一致, 进一步说明了小孢子初期是对低温最敏感的时期。在低温影响下, 小孢子出现各种异常现象, 细胞器不同程度被破坏或解体, 从而导致结实率下降, 空秕率增加。

本实验还观察到作为小孢子发育过程的重要特征之一的液泡系,在低温影响下,液泡膜出现龟裂和通道,这可能是导致各种细胞器解体的重要原因。根据近十年来的研究,已经确定植物细胞的液泡具有溶酶体的功能^[5]。液泡从溶酶体的功能来说,整个液泡相当于酶溶体的小室,它使细胞内贮藏的水解酶为特殊的膜结构所隔离,这是生活细胞的一个安全设施,起了消化功能的限制作用^[2]。当液泡膜被破坏而出现龟裂和通道时,消化酶的小室也被破坏,必然导致整个细胞的解体。这一点与胡适宜等^[2]在小麦不育系小孢子败育过程的观察相似。因此,小孢子初期液泡系的活动状态及其被破坏的程度,可以反映出小孢子败育的命运。这为我们探索低温冷害机理,提供了一个研究线索。另外,关于零上低温对植物生理过程的影响和生物膜结构功能的变化方向,Lyons (1973)、Sagisaka (勾坂, 1974)、Yamaki (八卷, 1975) 和 Vritani (瓜谷, 1970) 曾先后作过综述。Lyons和Yamaki在综述中提出了零上低温作用于植物时,首先是生物膜的流动性发生变化,膜从液晶相变为凝胶相。这时膜会出现收缩,在膜上形成龟裂或通道^[4],所以膜的透性增大。

关于零上低温对植物生物膜结构功能的影响,特别是液泡膜的变化,还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 华南农学院植物生长室, 1979, 低温对水稻结实期的影响, 《广东农业科学》(6) 22—26。
- [2] 胡适宜等, 1977, 小麦雄性不育系和保持系的小孢子发育的电子显微镜研究, 《植物学报》19(3)。
- [3] 西山岩男, 1980, 水稻低温危害的生理学, 《农学文摘》(4) 19—20。
- [4] 王洪春, 1981, 高等植物生物膜流动性和膜结构功能, 《生物科学参考资料》第十三集, 220—229, 科学出版社。
- [5] Fineran, B. A., 1971, *Protoplasma*, 72: 1—18。

OBSERVATIONS ON THE MICROSPORES INJURED BY COLD
DURING THE BOOT STAGE IN INDICA RICE UNDER
THE ELECTRON MICROSCOPE

Huang Zhan

(Department of Agronomy)

ABSTRACT

Observations were made under the electron microscope on the cytostructural conditions of the microspores that had been subjected to an injurious cold temperature during the boot stage in indica rice.

The facts revealed from the observations were as follows:

When the daily mean temperature in two days was 20°C(max, 24°C, min, 14°C) the injurious effect on the developing microspores was obvious. In the same pollen sac the difference in cyto-structural conditions among the individual developing microspores injured by cold was very great, quite a portion of the microspore cells was distorted or even disintegrated in various degrees, and the vacuoles were especially seriously deformed (destroyed). In the tapetum the cytoplasm of the cells was also disorganised in various degrees. Finally the outcome of cold injury was an increase in the rate of blighted(empty) grains, i.e., an increase of 35.1% as against the control.

附 图 说 明

1. 正常花药中的一个小孢子。×5,022
 2. 正常花药中小孢子一部分(液泡的自体吞噬活动)。×14,000
 3. 低温下小孢子一部分(各种细胞器基本解体)。×14,000
 4. 低温下小孢子一部分(残留线粒体痕迹)。×50,000
 5. 低温下小孢子一部分(液泡系的状态)。×13,510
 6. 低温下小孢子液泡系的状态(液泡膜出现龟裂和通道)。×60,480
 7. 低温下小孢子一部分(核糖体不均一堆积)。×18,000
 8. 正常花药绒毡层细胞一部分。×6,171
 9. 低温下绒毡层一部分(各种细胞器处于解体状态)。×23,000
 10. 低温下绒毡层一部分(在绒毡层细胞质膜外排列整齐的“球状体”)。×10,800
- 图中标志: m 线粒体, n 核, p 质体, er 内质网, v 液泡, to 液泡膜, r 核糖体, u “球状体”, t 绒毡层。

附图

