

双低两用温敏核不育水稻低温条件下 花粉发育的细胞学观察

周江菊¹, 陈良碧², 龙跃生²

(1. 黔东南民族师专 职业技术教育系, 中国贵州 凯里 556000;
2. 湖南师范大学 生命科学学院, 中国湖南 长沙 410081)

摘要: 双低两用温敏核不育水稻 96-5-2S 在 11.31 ~ 20.19 °C 低温条件下, 花粉母细胞形成、减数分裂和花粉后期发育均正常, 最后形成充满淀粉的成熟花粉。而作对照的两用温敏不育水稻 陆 18S 在相同低温条件下, 除花粉母细胞形成早期发育正常外, 花粉母细胞晚期、减数分裂期均有异常, 败育主要发生在单核小孢子靠边期, 没有形成成熟花粉。结果表明, 96-5-2S 水稻生殖期抗寒性强, 低温生理障碍雄性不育临界温度低。

关键词: 水稻; 双低两用温敏核不育; 花粉; 细胞学

中图分类号: Q945; S511

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2001)02-0160-04

Cytological Investigation of Pollen Development of TGMS Rice with Double Low Critical Temperature under Low Temperature

ZHOU Jiang-ju¹, CHEN Liang-bi², LONG Yue-sheng²

(1. Qian dongnan Teacher's College, Kaili 556000, Guizhou, China;
2. College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China)

Abstract: TGMS rice with double low critical temperature (96-5-2S), treated with low temperature of 11.31 ~ 20.19 °C, were all normal during the formation of pollen mother cell, meiosis, development of pollen and mature pollen. Under the same condition, there were some abnormality during the anaphase of pollen mother cell, meiosis stage in TMGS rice (Lu 18s), which sterilized at the monokaryon stage and then failed to form mature pollen. Results showed that 96-5-2S had strong cold-resistance and low critical temperature of male sterility for cold generative obstacle.

Key words: rice; TGMS rice with double low critical temperature; pollen; cytology

(*Life Science Research*, 2001, 5(2): 160 ~ 163)

70年代初, 以我国著名育种学家袁隆平院士为首的科学家们首创了三系法杂交水稻, 使一直困扰我国的吃饭问题得到了根本性缓解。80年代初, 随着晚粳自然两用系的发现^[1], 我国又率先开展了两系法杂交水稻的研究与应用。两系法杂交水稻在发挥杂种优势潜能和协调高产与优质关系等方面都具明显的优势, 显示出更广阔的前景。但其推广应用速度却比三系法杂交水稻慢得多, 根

本原因在于两用不育系“一系两用”的特点决定其易受温度影响而出现育性反复, 即育性不稳定。这样可导致杂交制种不纯或不育自繁产量降低。因此, 选育高温诱导不育临界温度低和低温引起生殖障碍的生理不育临界温度低(即“双低”)的材料, 是两系法杂交水稻走出困境的根本途径^[2-4]。

1996年以来, 湖南师范大学生命科学学院开展了临界温度双低两用不育水稻的研究, 并首先

收稿日期: 2001-01-10; 修回日期: 2001-05-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39370078); 国家教育部高校骨干教师基金资助项目(25000117); 湖南省生命科学联合中心资助项目(25990225)

作者简介: 周江菊(1966-), 女, 贵州从江县人, 黔东南民族师专副教授, 访问学者; 陈良碧(1956-), 男, 湖南沅陵人, 湖南师范大学教授, 博士生导师, 通讯作者。

提出了“临界温度双低两用不育水稻”的概念、理论和选育途径^[2]。其中 1999 年徐孟亮等从矮 64S 中选育出的双低两用温敏核不育水稻 96-5-2S 通过了专家现场评议^[3]。该不育水稻高温诱导不育的临界温度为 22℃, 比我国温敏不育水稻临界温度为 23.5℃ 的鉴定指标低 1.5℃, 消除了两系法杂交水稻制种期育性反复的风险。低温引起生殖障碍的生理不育临界温度为 17℃ (常规水稻低温生理不育临界温度为 20℃), 在育性敏感期灌溉 18~19℃ 的冷水可获得较高的繁殖产量。现双低两用核不育水稻已进入中试开发。本文作者以陆 18S 作对照, 对 96-5-2S 水稻在自然日均温低于 20℃ 的低温条件下花粉的发育进行了系统的细胞学观察, 旨在进一步探明双低两用不育水稻 96-5-2S 在低温条件下花粉发育的细胞学变化规律。

1 材料与方 法

1.1 材 料

研究材料为双低两用温敏不育水稻 96-5-2S 和温敏不育水稻陆 18S。

1.2 方 法

湖南省气象研究所提供的温度自记仪记录每天 24 小时的气温, 取其中 8 个时间的气温值算出日均温。于 2000 年 10 月 25 日上午 8:00 在湖南

师范大学生命科学学院水稻网室田, 取处于花粉母细胞期、减数分裂期以及花粉不同发育时期的花药为材料^[5-7], 采用卡诺氏液固定; 先用苏木精进行整体染色、用酸酒精进行分色, 再用固绿染色; 按常规石蜡法制片, 切片厚度为 9 μm。Olympus BH-2 显微镜下观察并摄影记录。

2 结果与分析

2.1 花粉发育期的气温变化

10 月 11 日至 25 日的气温较低(表 1), 只有 24 日这天的气温超过 20℃ (为 20.19℃); 17~20℃ 的有 5 d; 13~16℃ 的有 7 d, 低于 13℃ 的有 2 d。在生产上, 常规水稻生殖生长期遇到低于 20℃ 的低温, 则会出现低温生殖障碍, 特别是花粉发育受阻, 即低温生理障碍引起雄性不育。

2.2 花粉母细胞形成期的细胞学观察

在花粉母细胞形成初期, 细胞质浓厚的花粉母细胞紧密的排在花粉囊内, 花粉囊内无空腔。此时期双低两用不育水稻 96-5-2S 以及陆 18S 基本一致, 都为正常状态。表现这两个材料在花粉母细胞形成的早期, 在 23 日至 25 日的低温(日均温 20℃ 左右)条件下, 都能正常发育。

随着花粉囊的增大, 花粉母细胞呈椭圆形, 排列在花粉囊的周边, 中间为花粉囊空腔, 此时为花粉母细胞末期。此时期双低两用不育水稻 96-5-

表 1 2000 年 10 月 11 日至 25 日的气温状况(长沙)

Table 1 Temperature during Oct. 11, 2000 to Oct. 25, 2000 (Changsha)

t/

日期 Date	气温 Temperature								日均温 Daily mean temperature
	时刻 Time(o'clock)								
	10 00	11 00	14 00	17 00	20 00	23 00	2 00	5 00	
11	23.0	25.0	23.0	20.0	18.0	17.0	16.5	16.0	19.81
12	16.0	15.5	15.0	13.0	12.5	12.0	12.0	11.5	13.44
13	12.0	13.0	13.0	11.5	10.5	10.0	10.5	10.0	11.31
14	10.0	11.0	12.0	13.0	12.0	12.0	12.0	12.0	11.75
15	13.0	16.0	19.5	16.0	14.5	14.0	14.0	13.5	15.06
16	13.5	15.0	16.0	15.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.44
17	14.0	15.0	17.5	16.0	15.0	15.0	14.5	14.0	15.13
18	14.0	16.0	18.0	16.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.50
19	15.0	16.0	16.5	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	15.94
20	16.5	18.0	18.0	17.0	16.5	17.0	17.0	17.0	17.13
21	17.5	19.5	20.5	19.0	19.0	18.0	18.0	17.0	18.56
22	17.0	18.0	20.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.13
23	18.0	19.5	21.0	21.0	20.0	20.0	20.0	20.0	19.94
24	20.0	22.0	23.5	22.0	20.5	19.0	17.5	17.0	20.19
25	16.0	17.0	16.0	15.5	15.0	14.5	13.0	11.5	14.81

2S 花粉母细胞正常(图 ,1),同期的陆 18S 花粉囊中,有的花粉母细胞发育正常,有的出现异常,即细胞质稀少,呈降解退化状(图 ,7). 表明陆 18S 在花粉母细胞期遇到低于 20 的低温,部分花粉母细胞就不能正常发育,出现低温生理障碍.

2.3 花粉母细胞减数分裂期的细胞学观察

双低两用不育水稻 96-5-2S 的花粉母细胞,经减数分裂 形成正常二分体(图 ,2),经减数分裂 后形成正常的四分体(图 ,3),但同期的陆 18S 中可见到异常的二分体,即二分体大小不

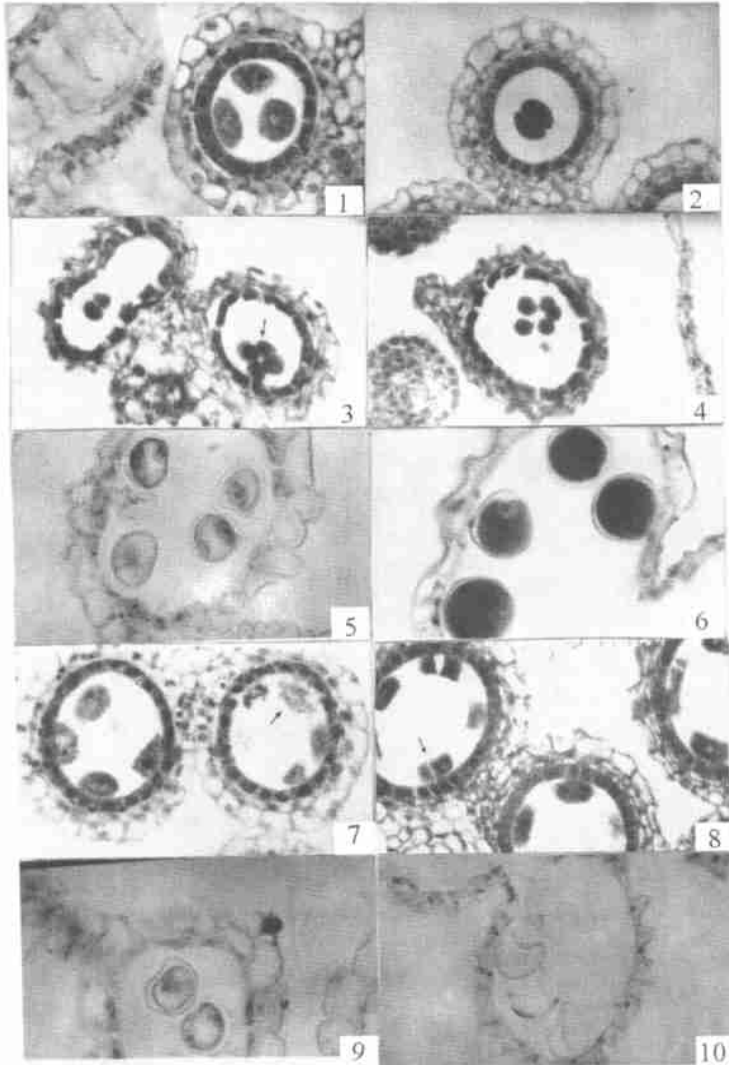


图 (X132) 双低两用温敏核不育水稻 96-5-2S 及陆 18S 水稻低温条件下的花粉发育

1~6:96-5-2S 水稻;7~10:陆 18S 水稻(对照).

1. 示正常花粉母细胞;2. 示正常二分体;3. 箭头示四分体;4. 示正常单核小孢子;5. 示正常单核靠边期小孢子;6. 示成熟的花粉粒;7. 箭头示异常的花粉母细胞;8. 箭头示异常二分体;9. 示正常单核靠边小孢子期;10. 示典败花粉.

Fig. 1 Pollen development of TGMS rice with double low critical temperature (96-5-2S) and Lu 18S (TMGS rice) under low temperature

1. Showing normal pollen mother cell; 2. Showing normal dyad; 3. Showing normal tetrad; 4. Showing normal uninuclear microspore; 5. Showing normal late uninuclear microspore period; 6. Showing mature pollen; 7. Showing abnormal pollen mother cell; 8. Showing abnormal dyad; 9. Showing normal late uninuclear microspore period; 10. Showing abortive pollen.

均等, 细胞质稀浓差别大(图 , 8). 表明如陆 18S 在减数分裂期遇到低于 20 的低温, 则会出现部分花粉母细胞减数分裂异常.

2.4 单核小孢子期的细胞学观察

在双低两用不育水稻 96-5-2S 的花药中, 由四分体分开后形成的小孢子呈圆球状, 细胞质浓、无液泡、分辨不出细胞核及核仁(图 , 4). 随着进一步发育, 单核小孢子体积迅速增大, 细胞质逐渐液泡化, 并形成一个中央大液泡, 将细胞核挤到细胞一侧, 此时为单核靠边期小孢子. 其萌发孔、花粉壁清晰可见, 药壁已降解到只有两层细胞(图 , 5). 同期的陆 18S 花药中, 少数花粉也能发育到单核靠边期(图 , 9)但不再继续发育, 形成“典败”花粉(图 , 10), 有的花粉囊内为空腔, 见不到花粉, 表现部分花药为无花粉型不育. 表明在低于 20 条件下陆 18S 不能形成正常可育的花粉.

2.5 花粉充实期的细胞学观察

双低两用不育水稻 96-5-2S 在单核靠边期经有丝分裂形成生殖细胞和营养细胞, 小孢子体积进一步增大, 生殖细胞分裂形成 2 个精细胞, 随后花粉内迅速积累淀粉, 最后形成营养物质丰富、染色很深的正常花粉粒(图 , 6). 陆 18S 在开花前的花药中, 只有少量典败花粉, 未观察到成熟花粉粒.

3 讨 论

新选育出的双低两用不育水稻 96-5-2S 和陆 18S 都是温敏核不育水稻, 都具有在高温诱导条件下为不育, 在一定低温条件下可育, 超过低温生理不育临界温度又转为不育的特点. 在生产上, 高温诱导不育的临界温度较低, 则有利于安全制种, 提高杂交制种的种子纯度; 低温生理不育临界温度较低, 有利于提高不育系在冷水灌溉下的繁殖产量. 96-5-2S 在 22 仍不育, 因此是我国杂交制种最安全的两用不育系之一. 本文通过对低温条件下花粉发育过程的细胞学观察, 证明 96-5-2S 在连续 15 d 感受 11.31~20.19 自然低温, 其花粉母细胞形成到花粉充实均能正常发育, 最后形成正常的充满淀粉粒的成熟花粉粒. 从而进一步证明了 96-5-2S 低温生理障碍雄性不育的临

界温度低于常规水稻的 20 . 采用 17~20 的冷水灌溉时, 可获得高的繁殖产量. 而作对照的陆 18S 在同等低温条件下, 除花粉母细胞形成早期发育正常外, 其它各期均不正常. 由此可见, 该不育系遇到低于 20 的低温时, 就会出现低温生理障碍不育. 因此, 在繁殖陆 18S 时冷水温度不宜低于 20 .

参考文献(References):

- [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(SHI Ming-song. Breeding and utilization dual-purpose line of late-seasonal japonica rice[J]. Hubei Agricultural Science), 1981, (7): 1-3.
- [2] 陈良碧, 徐孟亮, 周广洽. 临界温度双低两用不育水稻的筛选研究[J]. 杂交水稻(CHEN Liang-bi, XU Meng-liang, ZHOU Guang-qia. Selection of PT-GMS lines with double low critical values in temperature in rice[J]. Hybrid Rice), 1999, 14(4): 3-4.
- [3] 徐孟亮, 陈良碧, 周广洽. 培矮 64S 中不育临界温度低的新株系筛选[J]. 生命科学研究(XU Meng-liang, CHEN Liang-bi, ZHOU Guang-qia. Selection of a new sterile material whose critical temperature, inducing sterility is low from rice T(P)GMS peiai 64S population[J]. Life Science Research), 1999, 3(2): 170-174.
- [4] 周广洽, 陈良碧, 梁满中, 等. 长颈籼温敏核不育水稻的选育[J]. 生命科学研究(ZHOU Guang-qia, CHEN Liang-bi, LIANG Man-zhong, et al. Development of TGMS rice with eui-gene coincided with double low critical temperature[J]. Life Science Research, 2000, 4(4): 290-294.
- [5] 陈良碧, 周广洽, 黄亮, 湖南新选育的水稻光温敏不育材料的育性研究[J]. 杂交水稻(CHEN Liang-bi, ZHOU Guang-qia, HUANG Liang. Studies on the fertility of the photo-and/or thermo-sensitive genic male-sterile rice lines newly-developed in Hunan[J]. Hybrid Rice), 1994, (5): 25-26.
- [6] 徐孟亮, 周广洽. 培矮 64S 育性表达的温敏感部位研究[J]. 杂交水稻(XU Meng-liang, ZHOU Gang-qia. Study on thermo-sensitive part of PA 64S relating to its fertility expression[J]. Hybrid Rice), 1996, (3): 28-30.
- [7] 冯九焕, 卢永根, 刘向东, 水稻光温敏核雄性不育系培矮 64S 花粉败育的细胞学机理[J]. 中国水稻科学(FENG Jiu-huan, LU Yong-gen, LIU Xiang-dong. Cytological mechanism of pollen abortion in photoperiod-temperature sensitive genic male sterile line Peiai 64S in Rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Chinese J Rice Sci, 2000, 14(1): 7-14.