

刺槐幼苗根茎过渡区初生维管组织的观察

黄俊哲, 古松*, 黄雅楠, 郑强, 田俊英, 江莎*

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要: 对不同苗龄(1–12 d)的刺槐 (*Robinia pseudoacacia* L.) 幼苗进行观察, 比较了其初生维管组织的发育变化。结果表明: 根中的初生维管组织借助下胚轴过渡到子叶中, 而茎中的初生维管组织与下胚轴中的维管组织仅是简单的连接。这与 Esau 等认为幼苗的外部形态可以分为根 - 下胚轴 - 子叶和上胚轴苗两个系统的观点是一致的。本研究亦证实了可以将刺槐幼苗的外部形态描述为这两个系统, 二者的维管组织只是简单的连接, 不存在过渡。

关键词: 刺槐幼苗; 根 - 茎过渡区; 维管组织; 下胚轴

中图分类号: Q944.66

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395 (2007)03-0219-05

Primary Vascular Tissues of the Root-stem Transition Zone in *Robinia pseudoacacia* L. Seedlings

HUANG Jun-zhe, GU Song*, HUANG Ya-nan,
ZHENG Qiang, TIAN Jun-ying, JIANG Sha*

(College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: The development of primary vascular tissues of root-stem transition region was studied in *Robinia pseudoacacia* L. seedlings of 1–12 days using sequential paraffin section. The primary vascular tissues of roots are connected with the cotyledons via the hypocotyl. The results support the viewpoints of Esau *et al.* that the whole seedling of *R. pseudoacacia* L. is divided into two systems of the root-hypocotyl-cotyledon and the epicotyl, and there is only a simple linkage between the vascular tissues of stem and the hypocotyl without any transition.

Key words: *Robinia pseudoacacia* L. seedlings; Root-stem transition zone; Vascular tissue; Hypocotyl

关于植物根茎初生维管组织过渡方式的研究已经有很长的历史, 且已形成了比较固定的理论: 一些学者^[1-2]认为可将幼苗分为根、下胚轴和上胚轴, 前者的维管组织通过下胚轴向后者过渡; 另一些学者^[3-5]则认为应该将幼苗分为根 - 下胚轴 - 子叶和上胚轴两个系统, 后者游离于前者之上, 二者只是简单的连接, 不存在过渡。20 世纪 90 年代, 谷安根等^[6]提出了将植物的个体发育与系统发育联系起来的“子叶节区理论”。该理论将植物幼苗划分为

下胚轴 - 根区、子叶节区和上胚轴 - 苗区 3 部分, 并认为子叶节区为植物的原始结构, 根和茎均为其衍生物。

以往的研究大都是以草本植物作为研究对象的, 对木本植物的研究尚缺乏资料。为此, 我们选择木本植物刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.) 幼苗为研究对象, 在显微镜下观察其根茎维管组织的过渡情况, 并比较其与草本植物的异同。

刺槐是亚热带和温带常见的乔木, 在我国有广

收稿日期: 2006-07-19

接受日期: 2006-11-20

项目基金: 南开大学“第三届百项工程”; 国家林业局项目(2006-4-02)资助

* 通讯作者 Corresponding author

泛的栽培。该树种适应性强,生长快,具有保持水土,涵养水源的作用,同时,它的树干是优良的木材,花是优良的蜜源,有很高的经济价值。因此,研究刺槐幼苗根茎过渡区初生维管组织的结构,对幼苗培养及研究幼苗形态具有重要意义。

1 材料和方法

刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)种子购于天津蓟县农林植物保护站。该批种子产于河北宽城,于2002年秋季采种。

用初始温度为45℃的热水浸泡刺槐种子,自然冷却,放置1 d后,用垂直板发芽法于室温促使其发芽,1–2 d发芽后转入蛭石中进行幼苗培养,子叶出土后每天取样1次,直到第12天为止。将幼苗自下而上切成0.5–1.0 cm的小段,FAA固定液固定,4℃冰箱保存。常规法制片,切片厚度为8–12 μm,番红和固绿对染,中性胶封片。BH-2型Olympus光学显微镜观察并照相。

2 结果

刺槐幼苗的外部形态自下而上可描述为根、下胚轴、子叶节、上胚轴、茎叶与顶芽几部分(图1)。一般以种入蛭石后第6天的幼苗为观察初生维管组织过渡形式的最佳材料,此时幼苗根长约4–6 cm,下胚轴长约6–7 cm,上胚轴长约0.4–1 cm。

2.1 根初生维管组织的结构

刺槐根从外向内分为表皮、皮层和维管柱。维管柱包括有明显的髓,中柱鞘不明显,及辐射维管束。刺槐根为四原型,初生木质部的发育为外始式,即由原生木质部到后生木质部依次向心发育(图版I:1)。

2.2 根与下胚轴维管组织的连接

刺槐初生根的维管组织向茎的过渡发生得较早,在向上发育未到达下胚轴的时候,根中的四束初生木质部束便开始相互远离,中间的髓部扩大,且木质部的发育也不再向心,后生木质部开始分叉并往两侧迁移。在木质部发生变化的同时,韧皮部也发生了变化,其后生部分的发育也向两侧发展。这些变化的结果使得维管组织以一种不同于根中维管组织的形式进入下胚轴:每一木质部束由于后

生木质部分叉翻转的缘故呈现“人”字型,“人”字开口向心,相邻两个“人”字的“手臂”相连;而每一韧皮部束则像一倒扣的瓦片,将除原生木质部外的相邻两木质部束的木质部覆盖住(图版I:2)。这一变化比较剧烈,整个变化区长约1–1.5 cm。

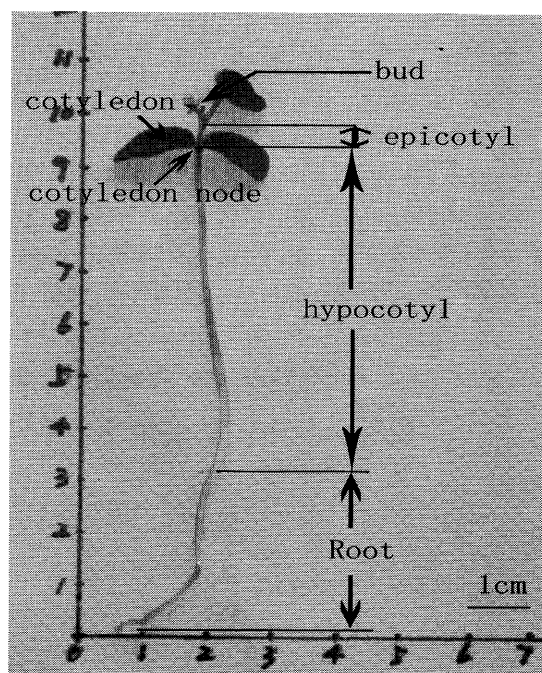


图1 刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)幼苗

Fig. 1 Diagram of a *Robinia pseudoacacia* L. seedling

根中的维管组织通过下胚轴自下而上发生了一系列变化,最终完成了根到子叶的过渡。

首先,随着轴体的上升,后生木质部的分叉继续向外翻转,直至后生木质部与原生木质部处于同一圆周上。此时的韧皮部则没有太多的变化,仍然呈一瓦片状覆盖着相邻两木质部束的后生木质部(图版I:3)。

接着往上,每一木质部束在原生木质部极处断裂分开,从而分离成两束(图版I:4中X7、X8即从图版I:3中的X分裂而来),排列成一圈(图版I:4)。这一部分的变化缓慢而不明显,几乎占据了下胚轴1/3以上的长度。

最后,相邻的原来不属于同一木质部束的木质部两两合并,重新形成4束木质部束(图版I:4中的X8、X4相互接近成为图版I:5中的X),而且在方位上重新排列,左右各有两束木质部和韧皮部,它们形成了子叶的叶迹,进入子叶中成为叶脉(图版I:5、6、7),而此时代替原来下胚轴木质部束的位

置,出现在下胚轴横切面中央的是从上胚轴延伸下来的木质部束(图版 I :6 中的 X1'-X6')。子叶叶脉中维管组织的组成形式为韧皮部处于远轴面,木质部处于近轴面(图版 I :8)。这一部分的变化也比较缓慢,只有到了距子叶节约 0.4–0.5 cm 处时才呈现出显著的变化。

2.3 茎中维管组织与下胚轴之间的连接

幼苗中茎的维管组织与上胚轴具有相同的结构,上胚轴由外向内同样可分为表皮、皮层和维管柱 3 个部分。维管柱又包括维管束、髓和髓射线。维管束属外韧型,韧皮部呈带状包围着中间的 6 束木质部(图版 I :9 中 X1'-X6'),这些维管束向上发育形成叶迹通往真叶,向下发育则与下胚轴中的维管束相连。在较幼嫩的刺槐幼苗中,可看见这些维管束在向下延伸的过程中逐渐不同步地消失(因为各束发育不同步)(图版 I :9,6,10)。而在较老的幼苗中,则能看见他们完全和下胚轴中的维管组织相连(图版 I :11)。

在过渡区上下胚轴的维管组织仅呈简单的连接,韧皮部的连接显得很自然,而木质部的连接则经历了较幼嫩维管束的消失和较成熟维管束与下胚轴木质部的合并。合并的方式是上胚轴的木质部束在向下延伸的过程中逐渐拉伸成带状,与下胚轴中相邻的木质部束间的界限变得模糊起来,最终消失(图版 I :12)。这一过程可延续到从子叶节往下近 1/4 下胚轴处。

髓在根部出现之后,一直贯穿于整个下胚轴,除体积由根进入下胚轴后扩大之外,没有其他太明显的变化,并最终于上胚轴的髓部连为一体。

3 讨论

传统的观点认为^[7-8],根中的维管组织通过下胚轴向上胚轴过渡,维管组织在过渡时遵循一定的变化规律,即发生分割、扭转、合并,特别是初生木质部需做 180°的旋转,才能完成根和上胚轴不同维管组织形式的转变,Eames 和 MacDaniels^[9]还详细地绘制了 4 种根茎过渡的模式图,现在很多教科书在述及根-茎过渡的时候仍然使用它们。陈维培等^[9]关于油菜(*Brassica napus* L.)的研究中,对模式图能否真实反映植物初生维管组织的过渡方式提出质疑。Basconsuelo 等^[12]对豆科(Fabaceae)鹿藿属

(*Rhynchosia*)及乳豆属(*Galactia*)中 5 种植物的过渡区进行研究后也认为,这些植物的维管组织在过渡区不存在如 Tieghem^[7]、Eames 和 MacDaniels^[9]所描述的旋转和倒置。根据对刺槐的观察,我们不支持这种将幼苗分为根、下胚轴和上胚轴的理论,也就不存在这一理论所说的根茎过渡形式。但不管维管组织是从根向茎过渡,还是向子叶过渡,有一点是相同的,根为外始式木质部,茎和子叶均为内始式木质部,且木质部朝向近轴面。刺槐从根的外始式木质部过渡到子叶中的木质部时,也要经过类似的变化,只不过木质部分叉、分割后,并不全都需要经过 180°的翻转,由于位置的关系,如图版 I :4 中的 X1、X2、X3 和 X4 四束木质部只需翻转 90°,而 X5、X6、X7、X8 四束木质部则仍然需要经过近 180°的翻转。

谷安根^[10]曾提出“子叶节区理论”,认为根茎过渡存在 1 个“子叶节区”的部位。根据我们对刺槐的观察,其初生结构中很难单独分出 1 个“子叶节区”来。“子叶节区理论”的提出是以草本植物作为主要研究对象,而对于木本植物刺槐我们没有观察到这一区域的存在。

然而,子叶节区理论试图将植物的个体发育提升到对植物系统发育的思考,是很值得借鉴的。从植物进化的历史看,茎的出现在前,根的出现在后;从植物个体发育来看,如果可将根、下胚轴和子叶看成一个系统,而将上胚轴-苗看成另一个系统,那么,在进化史上,根、下胚轴和子叶可能是同源,而上胚轴-苗可能是另一个同源。而且,根为向地性生长,茎为背地性生长。谷安根^[6,10]认为可将其所谓的“子叶节区”看作是由 1 个不育的二叉状分枝的顶枝束经过扁化和蹼化而来,将根和茎视为子叶节区的衍生物,也有一定的道理。近年植物发育生物学研究的结果表明,子叶发生与种子的形成是由不同基因控制的发育过程^[11]。

本研究表明,刺槐幼苗初生维管组织从某种意义上可分为 2 个系统,一个是根-下胚轴-子叶系统,另一个是上胚轴-苗系统。过渡主要发生在根和子叶之间的下胚轴,而上胚轴的维管组织与下胚轴仅是简单的连接。该结果与 Esau 等^[3-5]的观点一致。James 等^[13]也认为,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)中,根的维管组织经下胚轴向子叶过渡,通过过渡,根中的外始式木质部变为子叶叶迹中的内始式

木质部,而根中韧皮部束和木质部束相间的排列方式也变成子叶迹中的“外韧内木”排列方式,且真叶叶迹中的维管组织向下与下胚轴中的维管组织相连,这与本研究的结果一致。

参考文献

- [1] Marsden M P F, Baley I W. A fourth type of nodal anatomy in dicotyledons illustrated by *Clerodendron trichotomum* Thunb [J]. J Arnold Arbor Harv Univ, 1955, 36: 1–50.
- [2] Bisalputra T. Anatomical and morphological studies in the Chenopodiaceae [J]. Aust J Bot, 1961, 9: 1–18.
- [3] Esau K. Plant Anatomy [M]. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 1965: 339–340.
- [4] Scheirer D C, Hillson C J. The vascular transition region of *Helianthus annuus* L. bilateral and unilateral patterns of differentiation [J]. Amer J Bot, 1973, 60: 242–246.
- [5] Chen W P(陈维培), Zhang S M(张四美), Yan S Z(严素珍). Preliminary studies of root-stem transition in *Brassica napus* L. [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1983, 25(4): 307–311.(in Chinese)
- [6] Gu A G, Wang M, Wang L J. Studies on cotyledon node zone in some genera of the Ranunculaceae [J]. Cathaya, 1990, 2: 171–180.
- [7] Van Tieghem P. Recherches sur la symetris de structure des plants vasculaires [J]. Ann Sci Nat Bot Ser Ve, 1871, 13: 5–314.
- [8] Ethel S. A new type of transition from stem to root in the vascular system of seedlings [J]. Ann Bot, 1900, 14: 633–638.
- [9] Eames A J, MacDaniels L H. An Introduction to Plant Anatomy [M]. New York: McGraw-Hill Book Co. Ithaca, 1925: 241–244.
- [10] Gu A G(谷安根), Wang L J(王立军). Progress in the Cotyledon Node Zone Theory and Evolutionary Morphology in Angiosperms [M]. Jilin: Jilin Science & Technology Press, 2000: 50–55.(in Chinese)
- [11] Bai S N(白书农). Plant Developmental Biology [M]. Beijing: Beijing University Press, 2003: 60–65.(in Chinese)
- [12] Basconsuelo S, Weberling F, Kraus T. Transition zone between root and stem vascular system in seedlings of members of the tribe Phaseoleae (Fabaceae) [J]. Feddes Repertorium, 2002(13): 224–230.
- [13] James S B, Ray F E. Vascular differentiation and transition in the seedling of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) [J]. Plant Sci, 1999(160): 241–251.
4. 维管组织在下胚轴中的变化,每一木质部束分离成两束,排列成一圈,X1-X8 为由根的木质部束分离形成的木质部束(X1 和 X2, X3 和 X4, X5 和 X6, X7 和 X8); ×160
5. 下胚轴的维管组织过渡到子叶中的情形,相邻的原来不属于同一木质部束的木质部两两合并(X1 和 X5, X2 和 X7, X3 和 X6, X4 和 X8),重新形成四束木质部束,它们将成为子叶的叶迹,进入子叶中成为叶脉; X 即为图版 II 4 中 X8 和 X4 相互靠拢的结果; ×140
6. 下胚轴的维管组织过渡到子叶以及上胚轴向下与下胚轴的连接; CT 为子叶叶迹, X1'-X6' 为从上胚轴延伸下来的木质部束; ×120
7. 子叶节处的维管组织, CT 为子叶叶迹; ×100
8. 子叶叶迹处维管组织的放大; ×240
9. 上胚轴中的外韧维管束; X1'-X6' 为木质部束, P 为韧皮部; ×220
10. 上胚轴一部分较幼嫩的维管束在向下延伸的过程中逐渐消失; ×180
11. 在发育后期,上胚轴的维管组织和下胚轴中的维管组织连接在一起; X 表示向下延伸并与下胚轴木质部连在一起的上胚轴木质部; ×100
12. 上胚轴较成熟的维管束在向下延伸的过程中逐渐与下胚轴的维管组织连接在一起, X1-X8 为下胚轴木质部束, X5' 为上胚轴木质部束。 ×180

Explanation of plate

Plate I

1. Tetrarch root with xylem (X) and phloem (P); ×280
2. The change of the vascular tissues development from root to hypocotyl, protoxylem plate bifurcating, and phloem strands turned into an arc shape; ×200
3. The change of vascular tissue in the hypocotyl: the bifurcate developing until xylems arrange in a circle; ×200
4. The change of vascular tissues in the hypocotyl: each xylem strand divided two parts and the resulting parts (X1 and X2, X3 and X4, X5 and X6, X7 and X8) arranging in a circle; ×160
5. The transition of the vascular tissues from the hypocotyl to the cotyledons: every two xylems from differential xylem strands (eg. X1 and X5, X2 and X7, X3 and X6, X4 and X8) joining together to give rise to 4 new xylem strands which are cotyledonary traces and eventually become cotyledonary veins; ×140
6. The transition of the vascular tissue from the hypocotyl to the cotyledons and the joint of the epicotyl and the hypocotyl; CT being the cotyledonary traces, X1'-X6' being xylem strands from the epicotyl; ×120
7. Vascular tissue in the cotyledonary node and cotyledonary traces (CT); ×100
8. Detail of vascular tissue in cotyledonary traces; ×240
9. The collateral bundle in epicotyl with xylem strands (X1'-X6') and phloem (P); ×220
10. Young vascular bundles in epicotyl gradually disappear when they

图版说明

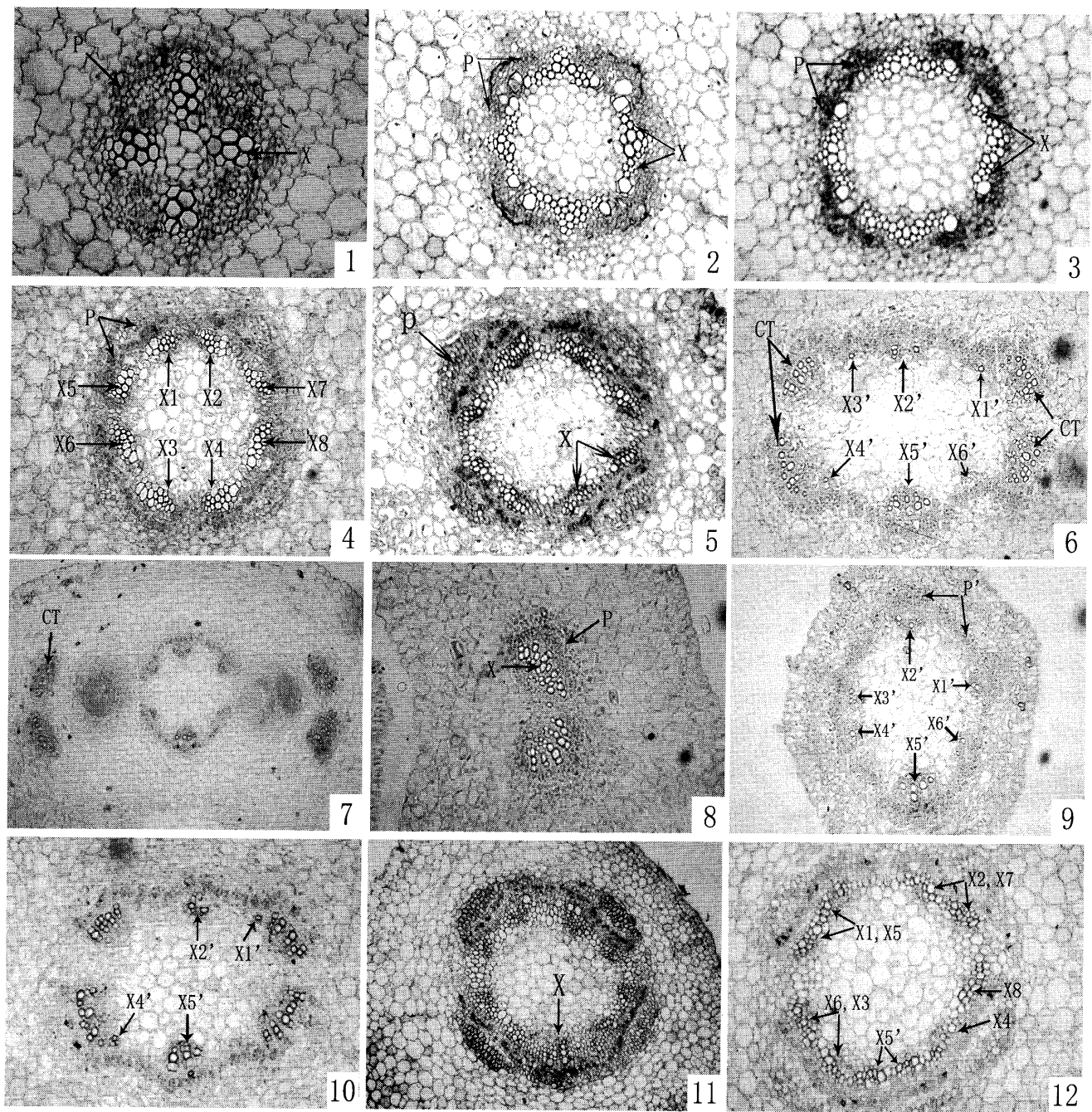
图版 I

1. 四原型根; X 为木质部束, P 为韧皮部束; ×280
2. 根过渡到下胚轴时维管组织的变化,木质部束产生分叉,韧皮部束拉伸成弧形; ×200
3. 维管组织在下胚轴中的变化,木质部束的分叉继续变大,直至相邻的木质部排列成一圆圈; ×200

stretch downwards; $\times 180$

11. The joining of the vascular tissues between the epicotyl and the hypocotyl during the late developmental stage; X represents xylem of epicotyl, which extends downwards and joints with xylem of hypocotyl; $\times 100$

12. The matured vascular bundles in the epicotyl extend downwards gradually and join with the vascular tissues in the hypocotyl, X1-X8 and X5' representing xylem strands in the hypocotyl and in the epicotyl, respectively. $\times 180$



黄俊哲等:图版 I

HUANG Jun-zhe et al.: Plate I

长穗颈温敏核不育水稻穗颈 节间长度及细胞学观察

肖辉海

(湖南文理学院生命科学系, 湖南 常德 415000)

摘要:以水稻培矮 64S 作对照, 对隐性长穗颈温敏核不育水稻(*Oryza sativa* L.) 长选 3S 幼穗各发育时期穗颈节间长度及细胞数量和长度进行比较分析。结果表明, 长选 3S 在幼穗分化的二核期至始花期穗颈节间伸长速度最快, 其节间伸长的长度是培矮 64S 的 2.1 倍; 在花粉母细胞减数分裂期至二核期及始花当天至始花后第 3 天两个时段, 穗颈节间伸长速度慢。穗颈节间的细胞个数和平均长度两者呈现相似的变化规律, 但从花粉母细胞减数分裂期至始花期, 长选 3S 穗颈节间薄壁细胞增加 3 759 个, 细胞平均长度为 72.9 μm , 培矮 64S 增加 3 134 个, 细胞平均长度为 38 μm , 长选 3S 穗颈节间的伸长主要是由幼穗分化的花粉母细胞减数分裂期至始花期细胞分裂和细胞伸长共同作用的结果, 其中后者的作用更显著。

关键词: 温敏核不育水稻; 隐性长穗颈基因; 穗颈节间

中图分类号: Q944.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2007)03-0224-05

Variations in Length and Cell Numbers of the Uppermost Internode of TGMS Rice with *eui* Gene

XIAO Hui-hai

(Department of Biology, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China)

Abstract: Changxuan 3S is a thermo-sensitive genetic male-sterile (TGMS) rice (*Oryza sativa* L.) with *eui* gene transferred from cultivar Pei'ai 64S. Variations in length and cell number of the uppermost internode were compared between the two cultivars during various stages of panicle initiation. The uppermost internode of Changxuan 3S elongated fastest during binucleate to anthesis stages, consequently it reached 2.1 times as long as that of Pei'ai 64S. Then it elongated slowly during pollen mother cell meiosis to binucleate stages and during 1 to 3 days after anthesis. During pollen mother cell meiosis to anthesis stages, parenchyma cells of the uppermost internodes of Changxua 3S and Pei'ai 64S increased by 3 759 and 3 134 in numbers, respectively, and with average cell lengths of 72.9 and 38 μm , respectively. The uppermost internode of Changxua 3S elongated due to cell division, especially cell elongation during pollen mother cell meiosis to anthesis stages.

Key words: Thermo-sensitive genetic male-sterile (TGMS) rice; *Elongated uppermost internode* gene (*eui* gene); Uppermost internode

杂交稻推广面积的扩大, 除了靠选育优质、高产、多抗新组合外, 很大程度上还有赖于杂交稻种

子生产成本的降低。目前生产上推广应用的杂交稻不育系普遍存在着较为严重的包颈现象, 生产上为

收稿日期: 2006-08-21

接受日期: 2006-11-27

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(06JJ5042); 湖南省教育厅项目(04C417)资助

了提高杂交制种产量,不得不在抽穗时喷施赤霉素促进不育系抽穗。但赤霉素的施用将增加成本,加剧环境与稻米的污染及降低种子质量。Okuno 等^[1]首次报道了从诱变的“农林8号”中获得下部节间伸长型的隐性高秆突变体 LM1。Rutger 等^[2]报道了1个最上节间伸长型的高秆隐性突变体种质 76:4512,其主要特征是最上节节间伸长,属隐性单基因遗传,并把控制此性状的隐性高秆基因命名为 *eui* (elongated-uppermost-internode),同时提出把 *eui* 基因导入恢复系,作为杂交稻种子生产的第四遗传成分(相对于不育系、保持系、恢复系而言),以实现提高杂交稻制种产量、降低成本的设想。以后,由1对隐性高秆基因控制的突变体 *Grlc*^[3]、*Mh-1*^[4]、02428h^[5]、珍长 A^[6]、协青早 eB-1 和协青早 eB-2^[7]不断被报道。1999 年,湖南师范大学与福建农业大学合作,对从两用温敏核不育系培矮 64S 中选出的育性更稳定的 1 个株系双低 S 进行 γ 辐射诱变,在 M_2 代群体中选育出隐性长穗颈温敏核不育水稻双低培 eS,后命名为长选 3S^[8-9]。已有研究表明,长选 3S 的长穗颈性状为 1 对隐性基因(即 *eui* 基因)控制,它的 *eui* 基因与 *eui1* 等位,不育临界温度低(22℃左右)^[10],温度对 *eui* 基因作用的敏感期与温度对育性作用的敏感期同期^[11]。有关隐性长穗颈温敏核不育水稻幼穗不同发育时期穗颈节间伸长的动态变化及细胞学机制尚未见报道。本文以普通温敏核不育水稻培矮 64S 作对照,对隐性长穗颈温敏核不育水稻长选 3S 幼穗不同发育时期的穗颈节间的长度进行比较分析,并对其进行细胞学观察,为充分利用具有 *eui* 基因的隐性长穗颈不育系资源提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 实验材料

隐性长穗颈温敏核不育水稻(*Oryza sativa* L.)为湖南师范大学选育的长选 3S。对照材料为温敏核不育水稻培矮 64S,由国家杂交水稻工程中心供种。

不同发育时期穗颈节间长度观察 将长选 3S 和培矮 64S 于 2005 年 5 月 17 日播种,6 月 10 日移栽于盆栽桶中,每桶栽 15 株左右,常规肥水管理,按丁颖^[12]和杨文钰等^[13]的划分方法确定幼穗分化时期。当长选 3S 和培矮 64S 进入育性敏感期(即花粉母细胞形成期至减数分裂期)后分别在 25℃温度

人工气候条件下处理 6 d,每天光照 15 h,光照强度 $1\ 000\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,处理前后的材料置于自然长日高温下。在幼穗分化的花粉母细胞减数分裂期、二核期、三核期,始花当天、始花后第 3 天(穗颈节间停止伸长)等 5 个发育时期,用 2%碘-碘化钾溶液染色,在显微镜下检查花粉育性,分别取长选 3S 和培矮 64S 花粉败育率达 99%的单株各 30 个测量穗颈节间长及花后第 3 天材料的茎秆高度、剑叶鞘长、倒一至倒四节间长及穗颈伸出长度,然后进行统计分析。

1.2 不同发育时期穗颈节间细胞切片制备与观察

在幼穗分化的花粉母细胞减数分裂期、二核期、三核期,始花当天、始花后第 3 天(穗颈节间停止伸长)等 5 个发育时期,分别取长选 3S 和培矮 64S 的穗颈节间制片,制片时每段长 1.5 cm(不足 1.5 cm 时作为一小段),然后用 FAA 固定液固定,经酒精脱水、二甲苯透明及石蜡包埋后进行连续纵向切片,切片经 1.0%的番红和苯胺蓝染色。在显微镜下观察时,均取各发育时期穗颈节间切片中靠髓腔一侧的第 1 列薄壁细胞(内层薄壁细胞)和紧靠厚壁纤维细胞层的最外一层薄壁细胞(外层薄壁细胞)进行计数,并用显微测微计测量细胞的长度,统计两列细胞的个数(取其平均值)和平均长度。然后用 OLYMPUS BH-2 型显微摄影机对穗颈节间中部进行拍照。

2 结果和分析

2.1 穗颈节间长度的比较

长选 3S 与培矮 64S 在幼穗分化的花粉母细胞减数分裂期穗颈节间的长度无明显差异,到了二核期,长选 3S 的穗颈节间开始快速伸长,比同时期培矮 64S 的长 0.50 cm,可以用肉眼辨别出两者的差异。从二核期开始,长选 3S 穗颈节间的伸长速度快于培矮 64S,而由二核期至始花当天,长选 3S 穗颈节间的伸长速度显著快于培矮 64S,此时长选 3S 穗颈节间伸长 18.7 cm,伸长的长度占定长(即始花后第 3 天的穗颈节间长度)后穗颈节间总长度的 53.1%。而对照的培矮 64S 穗颈节间仅伸长 8.1 cm,伸长的长度占定长后穗颈节间总长度的 44.3%,从幼穗分化的二核期至始花期,长选 3S 穗颈节间伸长的长度是培矮 64S 的 2.1 倍(表 1),由此可知,长

选 3S 穗颈节间伸长从二核期开始快于培矮 64S, 此后伸长速度不断加快, 由三核期至始花当天穗颈的伸长速度达到最大。

表 1 幼穗不同发育时期穗颈节间长度的比较

Table 1 Length of the uppermost internode during rice panicle development stage

幼穗发育时期 Panicle development stage	穗颈节间长 Length of the uppermost internode (cm)	
	培矮64S Pei'ai 64S	长选3S Changxuan 3S
减数分裂期 Meiotic stage	0.2±0.07	0.3±0.05
二核期 Binucleate stage	1.8±0.12	2.3±0.11
三核期 Trinucleate stage	7.5±0.45	12.5±0.81 *
开花 Anthesis	15.6±1.53	31.2±2.14 **
始花后第3天 The third day after anthesis	18.3±1.98	35.2±2.25 **

* 和 ** 分别为 *t* 测验达 0.05 和 0.01 显著水平。下同。* and ** represent significant differences at 0.05 and 0.01 levels by *t* test, respectively. The same as below.

2.2 秆高及各节间长度的比较

从表 2 可知, 穗颈节间停止伸长后, 长选 3S 的茎秆高度比培矮 64S 的高 26.4 cm, 倒一节间(即穗颈节间)比培矮 64S 长 16.9 cm, 倒一节间增长的长度占长选 3S 茎秆高度增加的 64.02%。倒二节间、倒三节间也有一定伸长, 倒四节间长度与对照基本一致。穗颈伸出度由倒一节间长度和剑叶鞘长度决定, 长选 3S 的剑叶鞘比培矮 64S 长 2.3 cm, 表明隐性长穗颈基因对叶鞘伸长有一定的促进作用, 但这种促进作用远小于对穗颈节间伸长的促进作用,

使隐性长穗颈不育系的稻穗都伸展在叶鞘以上, 而培矮 64S 的剑叶鞘比穗颈节间长 12.3 cm, 故相当一部分颖花被包在叶鞘中。

表 2 穗颈节间停止伸长后秆高及各节间长度的比较

Table 2 Culm and internode lengths after the uppermost internode ceased elongating

性状 Trait	培矮64S Pei'ai 64S	长选3S Changxuan 3S
茎秆高度 Culm length (cm)	52.3±1.30	78.7±4.44 **
剑叶鞘长 Leaf sheath (cm)	30.6±1.75	32.9±3.71
穗颈伸出长度 Panicle extention (cm)	-12.3±0.93	2.3±0.72 **
倒一节间长 The uppermost internode (cm)	18.3±1.98	35.2±2.25 **
倒二节间长 The 2nd internode from the top (cm)	14.7±1.11	20.4±1.62 *
倒三节间长 The 3rd internode from the top (cm)	9.2±0.58	11.1±1.45
倒四节间长 The 4th internode from the top (cm)	5.9±0.59	6.0±0.83

2.3 穗颈节间细胞数目和长度的比较

长选 3S 穗颈节间薄壁细胞个数和细胞平均长度在花粉母细胞减数分裂期时与培矮 64S 差异不明显。随着幼穗的发育, 细胞长度和细胞个数的差异越来越大, 到定长时(即始花后第 3 天)差异达到最大, 定长时长选 3S 穗颈节间薄壁细胞比培矮 64S 的平均长 31.9 μm, 细胞个数较培矮 64S 的多 664 个, 这主要是在幼穗分化的花粉母细胞减数分

表 3 幼穗不同发育时期穗颈节间细胞数目和长度的比较

Table 3 Parenchyma cell numbers and lengths at different panicle development stages

幼穗发育时期 Rice panicle development stage	材料 Cultivar	穗颈节间长 Length of the uppermost internode (cm)	薄壁细胞数 Parenchyma cells	薄壁细胞平均长度 Average length of parenchyma cells (μm)
减数分裂期 Meiosis stage	培矮64S Pei'ai 64S	0.22	208	10.4±0.55
	长选3S Changxuan 3S	0.25	229	10.7±0.61
二核期 Binucleate stage	培矮64S Pei'ai 64S	1.85	1045	17.5±0.71
	长选3S Changxuan 3S	2.41	1283	18.7±0.69
三核期 Trinucleate stage	培矮64S Pei'ai 64S	7.85	2081	37.6±1.41
	长选3S Changxuan 3S	13.34	2687	49.5±1.52*
开花 Anthesis	培矮64S Pei'ai 64S	16.21	3342	48.4±1.21
	长选3S Changxuan 3S	33.41	3988	83.6±1.35**
始花后第3天 The third day after anthesis	培矮64S Pei'ai 64S	18.85	3525	53.4±1.61
	长选3S Changxuan 3S	35.78	4189	85.3±1.73**

裂期至始花期,长选3S穗颈节间薄壁细胞个数的增加及细胞平均长度的增长明显优于培矮64S,在此时段长选3S穗颈节间增加的薄壁细胞个数比培矮64S的多625个,薄壁细胞平均增长的长度比培矮64S的长34.9 μm (表3),其中以穗颈节间中部细胞伸长最显著(图1)。而到始花之后穗颈节间细胞个数增加的速度及细胞长度增长的趋势减慢,直至停止生长。综上所述,长选3S穗颈节间的伸长主要是由幼穗分化的花粉母细胞减数分裂期至始花期的细胞分裂和细胞伸长共同作用的结果,其中后者作用更显著。

3 讨论

eui 基因的表达体现在最上节间的伸长,它在杂交稻育种上的应用不仅可以解除不育系包穗的遗传缺陷,而且还可以选育利于授粉的高秆恢复系,从而使种子生产过程中可不用或少用赤霉素,提高种子产量和质量,降低种子生产成本,减少赤霉素对环境的污染^[14-16]。

长穗颈高秆隐性 *eui* 基因及其相应种质的发现,丰富了高秆隐性种质遗传资源。长选3S是1个通过辐射诱变获得的不育性稳定,配合力高的高秆隐性长穗颈温敏核不育新材料,已有研究表明,它的 *eui* 基因表达与温度有关,在日平均温度低于26℃时,*eui* 基因表达,在28℃高温下被抑制,温度对 *eui* 基因作用的敏感期与温度对育性作用的敏感期同期(即花粉母细胞形成期至减数分裂期)^[10-11]。本研究发现,虽然温度对 *eui* 基因与对温敏不育基因作用的敏感期相同,但穗颈节间(即倒一节间)伸长最快的时期却在幼穗分化的二核期至始花期,这一时段隐性长穗颈不育系长选3S穗颈节间伸长的长度是培矮64S的2.1倍,据此可推测控制长选3S穗颈节间伸长的1对隐性长穗颈基因(*eui* 基因)的表达或感受刺激启动的敏感时期应在幼穗发育的中后期阶段。通过对长选3S与培矮64S幼穗不同发育时期穗颈节间细胞数量和长度进行比较分析,发现长选3S穗颈节间的伸长可分为从幼穗分化的二核期至始花期的细胞快速分裂伸长期和从始花期

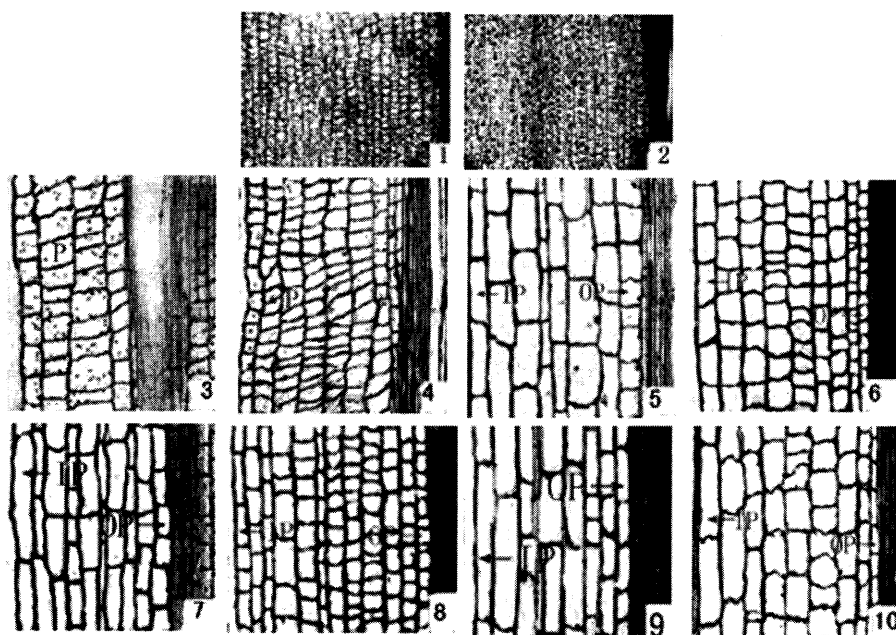


图1 幼穗不同发育时期穗颈节间中部细胞的比较($\times 120$)

Fig. 1 Parenchyma cells in the middle of the uppermost internodes of Changxuan 3S and Pei'ai 64S at rice panicle development stage ($\times 120$)

P: 薄壁细胞 Parenchyma cells; IP: 内层薄壁细胞 Innermost parenchyma cells; OP: 外层薄壁细胞 Outermost parenchyma cells; 1, 3, 5, 7, 9 分别为长选3S花粉母细胞减数分裂期、二核期、三核期、始花当天和始花后第3天的穗颈节间中部细胞; 2, 4, 6, 8, 10 分别为培矮64S花粉母细胞减数分裂期、二核期、三核期、始花当天和始花后第3天的穗颈节间中部细胞。1, 3, 5, 7和9 show parenchyma cells in the middle section of the uppermost internode of Changxuan 3S at pollen mother cell meiosis stage, binucleate stage, trinucleate stage, anthesis and the 3rd day after anthesis, respectively. 2, 4, 6, 8 and 10 show parenchyma cells in the middle section of the uppermost internode of Pei'ai 64S at pollen mother cell meiosis stage, binucleate stage, trinucleate stage, anthesis and the 3rd day after anthesis, respectively.

至定长的细胞缓慢分裂伸长期。在细胞快速分裂伸长期内,长选 3S 穗颈节间细胞分裂和细胞伸长(尤其是节间中部细胞的伸长)明显优于培矮 64S;在细胞缓慢分裂伸长期内,两者穗颈节间增加的细胞个数基本一致,而培矮 64S 的细胞平均增长的长度则稍大于长选 3S 的,但定长后长选 3S 穗颈节间仍比培矮 64S 的长,且长于其自身的剑叶鞘长,不包颈;而对照的培矮 64S 则有相当一部分稻穗被包在剑叶鞘中。这说明 *eui* 基因在穗颈节间中的作用具有位置和时间差异,穗颈节间中部是该基因作用的主要部位,幼穗分化的二核期至始花期是其促进穗颈节间细胞分裂和细胞伸长的主要作用时期。但这只是从微观的角度去解释了部分宏观现象,而其在超微结构以及生理生化方面的机制还没有弄清楚。因此在下一步有关穗颈节间伸长的细胞学机制的研究可以通过特异的荧光染色定位法^[17],弄清细胞壁上纤维素微纤丝的取向及其特异蛋白(如伸展素和膨胀素等)的分布,为进一步揭示其细胞学伸长原理提供可靠的证据。同时还可以通过对细胞内促进细胞生理代谢的物质进行定量比较,从生理生化方面揭示其机理。

参考文献

- [1] Okuno K, Kawai T. Variations of internode length and other characters in induced long-culm mutants of rice [J]. Jpn J Breeding, 1978, (28): 242–250.
- [2] Rutger J N, Carnahan H L. A fourth element to facilitate hybrid cereal production — a recessive tall in rice [J]. Crop Sci, 1981, (21): 373–376.
- [3] Liao C L(廖昌礼), Ni K Y(倪克鱼), Liu Y K(刘远坤), et al. Study on heredity and utilization of *Grlc* recessive tall type in rice: I. Characters of plant and culm type of *Grlc* and its testcross F_1 [J]. SW China J Agri Sci (西南农业学报), 1988, 1(1): 41–46. (in Chinese)
- [4] Wu S B(吴世弼), Zhang Q H(张琦华). Study on induced mutation leading to obtaining a recessive tall-culm gene in Rice [J]. J Fujian Acad Agri Sci (福建省农科院学报), 1988, 3(1): 41–45. (in Chinese)
- [5] Sun L H(孙立华), Wang Y F(王月芳), Jiang N(蒋宁), et al. A recessive tall culm somatic mutant with wide compatibility in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Acta Genet Sin (遗传学报), 1994, 21(1): 67–73. (in Chinese)
- [6] He Z H(何祖华), Shen Z T(申宗坦). Inheritance of panicle exertion and improvement of male sterile line in rice [J]. Chin J Rice Sci (中国水稻科学), 1991, 5(1): 1–6. (in Chinese)
- [7] Huang R H(黄荣华), Zhang Q Q(章清杞), Zhang S B(张书标), et al. A preliminary study on the development of *eui*-CMS line in rice by radiation-induced mutation [J]. J Fujian Agri Univ (福建农业大学学报), 2001, 30(2): 133–137. (in Chinese)
- [8] Xu M L(徐孟亮), Chen L B(陈良碧), Zhou G Q(周广洽). Selecting a new P(T)GMS line with low critical temperature from Pei'ai 64S [J]. Life Sci Res (生命科学研究), 1999, 3(2): 168–174. (in Chinese)
- [9] Zhou G Q(周广洽), Chen L B(陈良碧), Liang M Z(梁满中), et al. Development of TGMS rice with *eui*-gene coincide with double low critical temperature [J]. Life Sci Res (生命科学研究), 2000, 4(4): 290–294. (in Chinese)
- [10] Liang M Z(梁满中), Zhong W H(钟卫华), Xu M L(徐孟亮), et al. Genetic analysis of TGMS rice with *eui* gene Shuangdi Pei Es [J]. Acta Agron Sin (作物学报), 2004, 30(8): 811–815. (in Chinese)
- [11] Xiao H H(肖辉海), Zhong W H(钟卫华), Liang M Z(梁满中), et al. Effect of temperature on the *eui* gene expression of TGMS rice [J]. Sci Agri Sin (中国农业科学), 2005, 38(2): 222–227. (in Chinese)
- [12] Ding Y(丁颖). Rice Cultivation of China [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1961: 81–83. (in Chinese)
- [13] Yang W Y(杨文钰), Tu N M(屠乃美). Individual Introduction to Crop Production [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2003: 14–17. (in Chinese)
- [14] Virmani S S, Dalmacio R D, Lopez M T. *eui* gene for elongated uppermost internode transferred to *indica* rice [J]. Inter Rice Res Newsl, 1988, 13(6): 6.
- [15] Shen Z T(申宗坦), Yang C D(杨长登), He Z H(何祖华). Studies on eliminating panicle enclosure in WA-type MS line of rice (*Oryza sativa* subsp. *indica*) [J]. Chin J Rice Sci (中国水稻科学), 1987, 1: 95–99. (in Chinese)
- [16] Liang K J(梁康迳), Wang N Y(王乃元), Yang R C(杨仁崔). Inheritance and breeding utilization of panicle exertion of rice [J]. J Fujian Agri Coll (福建农学院学报), 1992, 21: 380–385. (in Chinese)
- [17] Yue L L(岳莉莉), Qi Y P(齐义鹏). Green fluorescent protein as a new tag in molecular and cell biology [J]. Progr Biotechn (生物工程进展), 1997, 17(4): 40–45. (in Chinese)