

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

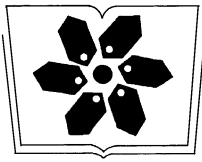
Acta Ecologica Sinica



第33卷 第7期 Vol.33 No.7 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 7 期 2013 年 4 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 线虫转型发育和寄主识别的化学通讯研究进展..... 张 宾,胡春祥,石 进,等 (2003)
- 生物物种资源监测原则与指标及抽样设计方法..... 徐海根,丁 晖,吴 军,等 (2013)

个体与基础生态

- 呼伦贝尔草原人为火空间分布格局..... 张正祥,张洪岩,李冬雪,等 (2023)
- 青藏高原草地地下生物量与环境因子的关系..... 杨秀静,黄 玫,王军邦,等 (2032)
- 1961—2010 年桂林气温和地温的变化特征 陈 超,周广胜 (2043)
- 黄泥河自然保护区狗冬季卧息地选择..... 朱洪强,葛志勇,刘 庚,等 (2054)
- 青藏高原草地植物叶解剖特征..... 李全发,王宝娟,安丽华,等 (2062)
- 青藏高原高寒草甸夏季植被特征及对模拟增温的短期响应..... 徐满厚,薛 娴 (2071)
- 高温影响番茄小孢子发育的细胞学研究..... 彭 真,程 琳,何艳军,等 (2084)
- 黄土丘陵半干旱区柠条林株高生长过程新模型..... 赵 龙,王振凤,郭忠升,等 (2093)
- 柝属 7 种植物种子的发芽抑制物质研究..... 李庆梅,刘 艳,刘广全,等 (2104)
- 水分胁迫和杀真菌剂对黄顶菊生长和抗旱性的影响..... 陈冬青,皇甫超河,刘红梅,等 (2113)
- 铜尾矿废弃地与相邻生境土壤种子库特征的比较..... 沈章军,欧祖兰,田胜尼,等 (2121)
- 云雾山典型草原火烧不同恢复年限土壤化学性质变化..... 李 媛,程积民,魏 琳,等 (2131)
- 根系分区交替灌溉条件下水肥供应对番茄果实硝酸盐含量的影响..... 周振江,牛晓丽,李 瑞,等 (2139)
- 喀斯特山区土地利用对土壤团聚体有机碳和活性有机碳特征的影响..... 李 娟,廖洪凯,龙 健,等 (2147)
- 自生固氮菌活化土壤无机磷研究..... 张 亮,杨宇虹,李 倩,等 (2157)
- 德国鳶尾对 Cd 胁迫的生理生态响应及积累特性 张呈祥,陈为峰 (2165)
- 施污土壤重金属有效态分布及生物有效性..... 铁 梅,宋琳琳,惠秀娟,等 (2173)
- 基于叶面积指数改进的直角双曲线模型在玉米农田生态系统中的应用..... 孙敬松,周广胜 (2182)
- 中稻田三种飞虱的捕食性天敌优势种及农药对天敌的影响..... 林 源,周夏芝,毕守东,等 (2189)

种群、群落和生态系统

- 珠江口超微型浮游植物时空分布及其与环境因子的关系..... 张 霞,黄小平,施 震,等 (2200)
- 输水前后塔里木河下游物种多样性与水因子的关系..... 陈永金,刘加珍,陈亚宁,等 (2212)
- 南海西北部陆架区鱼类的种类组成与群落格局..... 王雪辉,林昭进,杜飞雁,等 (2225)
- 滇西北高原碧塔湖滨沼泽植物群落分布与演替 韩大勇,杨永兴,杨 杨 (2236)
- 石羊河下游白刺灌丛演替过程中群落结构及数量特征..... 靳虎甲,马全林,何明珠,等 (2248)

资源与产业生态

- 土壤深松和补灌对小麦干物质生产及水分利用率的影响..... 郑成岩,于振文,张永丽,等 (2260)

豆科绿肥及施氮量对旱地麦田土壤主要肥力性状的影响..... 张达斌,姚鹏伟,李 婧,等 (2272)

沟壑全覆盖种植方式对旱地玉米生长及水分利用效率的影响..... 李 荣,侯贤清,贾志宽,等 (2282)

城乡与社会生态

北京北护城河河岸带的温湿度调节效应 吴芳芳,张 娜,陈晓燕 (2292)

西安太阳总辐射时空变化特征及对城市发展的响应..... 张宏利,张纳伟锐,刘敏茹,等 (2304)

研究简报

安徽琅琊山大型真菌区系多样性..... 柴新义,许雪峰,汪美英,等 (2314)

中国生态学会 2013 年学术年会征稿通知 (2320)

第七届现代生态学讲座、第四届国际青年生态学者论坛通知 (I)

中、美生态学会联合招聘国际期刊主编 (i)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 318 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 32 * 2013-04



封面图说: 金灿灿的小麦熟了——小麦是世界上最早栽培的农作物之一,是一种在世界各地广泛种植的禾本科植物,起源于中东地区。全世界大概有 43 个国家,近 35%—40% 的人口以小麦为主要粮食。小麦是禾谷类作物中抗寒能力较强的越冬作物,具有一定的耐旱和耐盐碱能力。中国的小麦分布于全国各地,主要集中于东北平原、华北平原和长江中下游一带。小麦秋季播种、冬季生长、春季开花、夏季结实。子粒含有丰富的淀粉、较多的蛋白质、少量的脂肪,还有多种矿物质元素和维生素 B,是一种营养丰富、经济价值较高的粮食。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201112261972

彭真,程琳,何艳军,王洁,关小燕,刘松瑜,卢钢. 高温影响番茄小孢子发育的细胞学研究. 生态学报, 2013, 33(7): 2084-2092.

Peng Z, Cheng L, He Y J, Wang J, Guan X Y, Liu S Y, Lu G. Cytological study on microsporogenesis of *Solanum lycopersicum* var. Micro-Tom under high temperature stress. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(7): 2084-2092.

高温影响番茄小孢子发育的细胞学研究

彭 真,程 琳,何艳军,王 洁,关小燕,刘松瑜,卢 钢*

(浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310058)

摘要:以番茄‘Micro-Tom’为材料,利用形态观察、DAPI 染色、石蜡切片等方法对正常情况下番茄小孢子发生过程进行时期划分。通过连续 7 d 的高温胁迫((35±1)℃/(30±1)℃)处理试验,结合细胞学观察,研究高温对番茄花粉小孢子发育的影响。研究表明,高温胁迫不仅导致花粉畸形或败育、花粉数量减少、活力低萌发力差,而且还导致花药绒毡层、药隔组织、药室内壁、花药表皮、环状细胞簇等花药细胞结构的发育异常。结果有助于阐明热胁迫对番茄小孢子发育的影响,并为培育耐高温农作物新品种提供思路。

关键词:高温胁迫;番茄;小孢子发育;花粉活力;绒毡层

Cytological study on microsporogenesis of *Solanum lycopersicum* var. Micro-Tom under high temperature stress

PENG Zhen, CHENG Lin, HE Yanjun, WANG Jie, GUAN Xiaoyan, LIU Songyu, LU Gang*

Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: Tomato (*Solanum lycopersicum*), one of the most important vegetables, is susceptible to high-temperature injury. High temperature adversely affects its anther development and fertilization, resulting in poor fertilization and fruit set. Therefore, the present study aimed to examine the cellular morphology of anther development and microsporogenesis under optimal and high temperature conditions in a miniature dwarf tomato cultivar, Micro-Tom, a preferred variety for genetic and genomic studies. Based on morphological observation, DAPI staining and anatomical study, the microsporogenesis process of tomato anther could be divided into six stages including premeiotic, tetrad, early uninucleate microspore, vacuolated microspore, binucleate pollen, and mature pollen grain stage. Meanwhile, a defined correlation was found between the flower bud size and the stage of pollen development under optimal conditions, which makes possible the accurate prediction of anther and pollen development stages for the reproductive study. Subsequently, the effect of high temperature stress on the microsporogenesis was checked by the paraffin section assay and pollen viability test, using the flowering plants successively exposed to high temperature ((35±1)℃/(30±1)℃, day/night) for 7 days. The results showed that high temperature exposure induced the abnormality of early pollen or the abortion of pollen maturation, leading to the reduction of pollen number and decrease of pollen viability. So the anthers failed to develop maturity pollen under high temperature stress, thereby causing reduced tomato yields. Furthermore, cytological analysis of anther development in tomato plants under different temperature during 6 different periods showed that there was no significant difference in anthers structure between high temperature-treated and control plants at early microspore developmental stages. Their difference was firstly observed at the tetrad stage. The tapetal cells, the innermost cell layer of the anther wall, began to swell under high

基金项目:国家自然科学基金(31071804;31272178);浙江省科技厅资助项目(2009C32025)

收稿日期:2011-12-26; **修订日期:**2012-09-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: glu@zju.edu.cn

temperature stress. In the later stage, this abnormal swelling further dilated into the locular space. On the other hand, it led to delay degrading of tapetum as well. Since tapetum supplied nutrients and several enzymes required for pollen development, pollen mother cells stopped to develop into pollen. At the later development stage, the abnormality of connective tissue, endothecium, epidermis, stomium and circular cell cluster was also observed during pollen development. Our data indicated that male sterility under high temperature might be mainly due to malfunctioning of the tapetum resulting in defects in pollen development. The present results will help to understand the basic mechanisms of anther development and microsporogenesis under high temperature condition in tomato.

Key Words: *Solanum lycopersicum*; high-temperature stress; microsporogenesis; pollen viability; tapetum

高温严重影响植物的生长发育及生理代谢,已成为限制植物分布、生长和生产力的一个主要环境因子。大多数栽培作物(如番茄^[1]、辣椒^[2]、菜豆^[3]、拟南芥^[4]、水稻^[5]、大麦^[6]等)的生殖生长时期比营养生长期对高温更敏感,前人的研究表明这主要是因为花粉发育与萌发对高温非常敏感^[7-8]。番茄作为重要的园艺作物其产量和质量却受到高温或者低温的影响。在日温高于 32 ℃ 的环境下生长的番茄植株其雄配子的发育与功能比雌配子更易受到影响,从而导致授粉受精不良、坐果率下降、果实品质变劣等^[9-11]。

关于番茄高温胁迫的影响,前人研究重点主要涉及高温对番茄种子萌发和植株生长的影响、番茄耐热性鉴定方法和高温影响成熟花粉粒表达谱差异分析等诸多方面^[12-14],但对于持续高温胁迫对番茄花粉小孢子发育影响的细胞与分子生物学研究尚未见报道。正常条件下的番茄小孢子发育过程的研究表明,绒毡层细胞在孢母细胞减数分裂时开始出现自溶迹象,而且同一花药不同药室内,孢母细胞减数分裂高度同步^[15]。同时证实小孢子发育时期与花器形态密切相关^[16-18]。本研究以番茄‘Micro-Tom’为材料,通过 DAPI(4', 6-diamidino-2-phenylindole)染色、石蜡切片等方法对正常情况下小孢子发育各时期进行划分;并研究了高温胁迫对番茄小孢子发育细胞学结构的影响,旨在探索高温胁迫下小孢子败育的细胞学基础。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为番茄品种‘Micro-Tom’(*Solanum lycopersicum* L.),由美国番茄遗传资源中心(Tomato Genetics Resource Center, TGRC)本实验室多代自交保存的稳定自交系。在基质(草炭:蛭石:珍珠岩=3:1:1)上培育的幼苗,种植于智能光照培养箱内,光照强度约为 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光周期为 16 h/8 h(光/暗),空气湿度保持在 70%—85%。植株正常生长温周期为(25±1)℃/(20±1)℃(昼/夜),高温胁迫处理的温度为(35±1)℃/(30±1)℃。植株培育现第一花序时开始高温胁迫,处理时间为 7 d。对照组植株与热处理组植株相比,除生长环境温周期不同外,保证其他条件均相同。

1.2 方法

1.2.1 DAPI 染色法检测小孢子发育时期

进行番茄小孢子发育观察和时期划分的材料种植温度为(25±1)℃/(20±1)℃。于开花期取处于不同发育阶段的花蕾(图 1),保持新鲜,用 Leica 体视显微镜拍照并测量花蕾长度。取不同发育阶段的花药,于洁净载玻片上用手术刀横切花药并分离出小孢子,用 1 mg/mL 的 DAPI 溶液于黑暗环境下染色小孢子 30 s,在 Leica DMLB 荧光显微镜下观察小孢子发育各阶段的形态,并用 Zeiss CCD 系统拍照记录。

1.2.2 TTC 染色法检测花粉活力

9:00 以前取花瓣初展开的番茄花蕾,放入培养皿中,并注意保湿,备用。将 50 μL 0.5g/100mL 浓度的 TTC(Triphenyltetrazolium chloride)溶液滴到洁净载玻片上,用手术刀横切不同发育阶段的花药,放入载玻片上溶液中挤出花粉粒,加盖玻片。将制片放入垫有湿吸水纸的培养皿,于 37 ℃ 恒温箱中,避光,放置 90 min 左右,然后取出制片,置于低倍显微镜下观察染色情况并拍照记录。每份材料观察不同植株上的 3—4 个花蕾,每一花蕾制一个制片,每片取 5 个视野,统计并计算花粉的活力百分率。

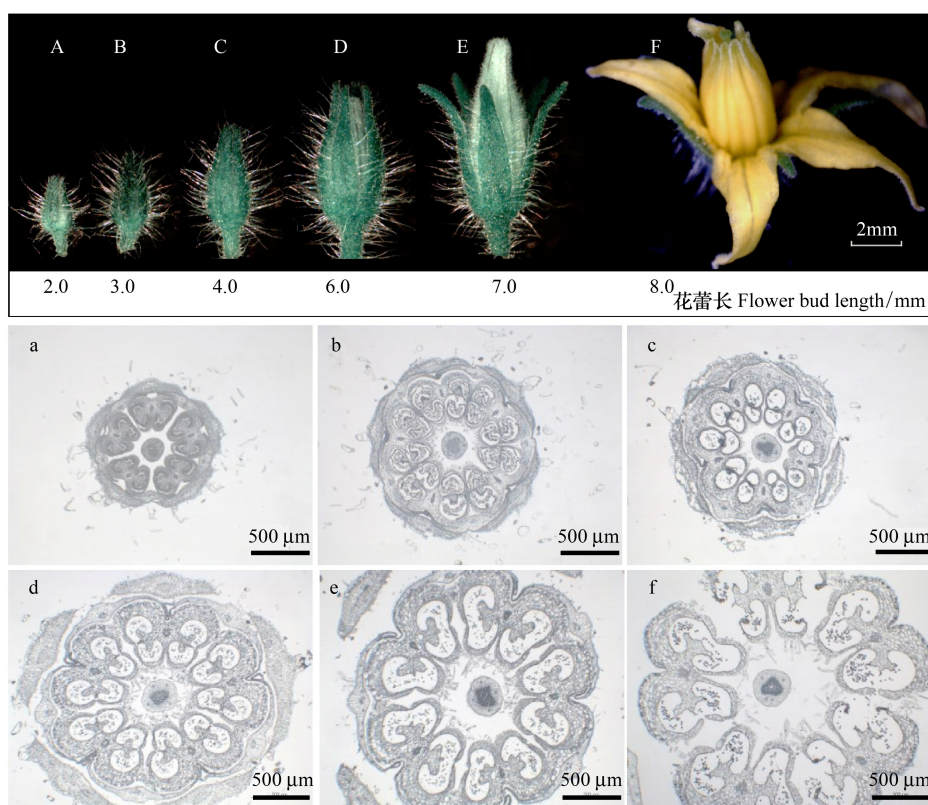


图1 番茄‘Micro-Tom’小孢子发育各时期花蕾形态观察

Fig.1 Investigation of bud morphology of *Solanum lycopersicum* var. Micro-Tom during microspores development stages

A, a: 孢母细胞时期; B, b: 四分体时期; C, c: 单核小孢子早期; D, d: 单核小孢子中后期; E, e: 双核花粉粒时期; F, f: 成熟花粉粒时期

1.2.3 花粉体外萌发法检测花粉萌发力

上午9时以前取花瓣初展开的番茄花蕾,于体外进行花粉萌发实验。花粉萌发液体培养基^[19]各成分、工作浓度及培养基pH值分别为:蔗糖 120 g/L, H_3BO_3 50 mg/L, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 300 mg/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 200 mg/L, KNO_3 100 mg/L, pH 值=6.5。向液体培养基中添加琼脂粉(终浓度为0.1%)使培养基有适量粘性,防止花粉粒在培养基上漂移到液滴边缘,保证花粉粒能够均匀分布。

对照花粉[CK (25℃), Control Check]分别置于25℃和35℃温度下萌发,高温胁迫处理花粉[HS (35℃), Heat Stress]也分别置于25℃和35℃温度下萌发。花粉萌发60 min后在培养基上滴加20 μL 0.1 g/100 mL浓度的苯胺蓝溶液对花粉管荧光染色3 min,然后在Leica荧光显微镜下镜检拍照,统计各处理的花粉萌发率。

1.2.4 石蜡切片

制作石蜡切片,观察高温胁迫前后番茄小孢子发育各阶段的花药、药室、绒毡层、小孢子等的变化。分别取对照和高温胁迫番茄的各级花蕾,固定于FAA固定液(50%乙醇:冰醋酸:福尔马林=18:1:1)中48 h,随后将固定好的材料依次转入50%、70%、85%、95%、100%乙醇中逐级脱水(各1 h),然后经二甲苯彻底透明后,进行透蜡和石蜡包埋,包埋好的蜡块放入4℃冰箱中保存备用。切片时制成厚度为8 μm的连续切片,用铁矾-苏木精法染色,中性树胶干燥封片。Leica DMLB荧光显微镜观察,并用Zeiss CCD系统拍照记录。

2 结果与分析

2.1 番茄花粉发育过程的细胞学特征

2.1.1 番茄花粉发育进程

番茄花蕾初期发育比较慢,从花芽开始分化到可见萼片,以及花瓣的发生大约需要10 d,到能观察到初生

的雄蕊又需要 3 d 左右。以后发育加快,雄蕊发育到花粉母细胞可见需要 5 d,以后进行减数分裂形成四分体小孢子直到四分体小孢子分离而形成单核花粉粒大约需要 4 d,单核花粉粒经过约 3—4 d 就可以形成完全成熟的花粉粒。

2.1.2 小孢子母细胞形成期至前减数分裂期

花蕾完全闭合,被萼片包被,呈绿色,有稠密绒毛,花蕾长度约 2 mm(图 1 A)。剥离花被,可见各花药独立未形成花药筒,呈浅黄绿色,透明。石蜡切片观察,该时期花药壁的各层已分化明显。最外层是表皮,细胞小,具角质层,有保护功能。表皮下层近于方形的较大细胞为药室内壁,内部 1—3 层较小的、呈切向延长的扁细胞,为中层。最内一层是绒毡层,为质浓、核大的长柱状细胞,其功能是提供小孢子发育所需的营养物质。药室呈马蹄形,内含许多有棱的小孢子母细胞(图 1 a)。小孢子母细胞拥有一个较大的核(图 2 A),并被具有双核的绒毡层细胞所包围。

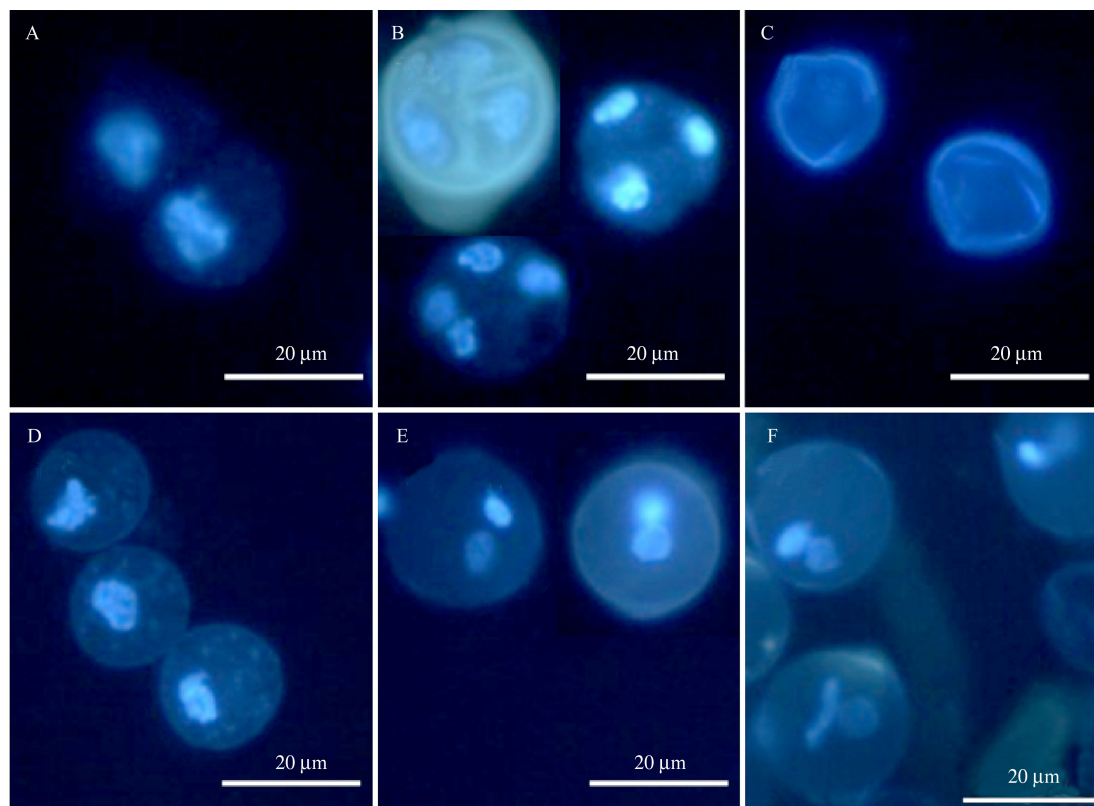


图 2 番茄花粉小孢子发育各时期的 DAPI 染色观察

Fig. 2 Investigation of tomato microspores development using DAPI staining

A: 孢母细胞; B: 四分体小孢子, 左上图片为经 DAPI 染色细胞核后苯胺蓝复染胼胝质层的效果图; C: 单核早期小孢子; D: 单核中后期小孢子; E: 双核花粉粒; F: 成熟花粉粒

2.1.3 前减数分裂期至四分体时期

花蕾仍完全闭合,被萼片包被,呈绿色,蕾长 2.5—3.5 mm(图 1 B)。各花药相互靠近结合但未形成花药筒,呈浅黄绿色,半透明,药室内空间增大(图 1 b)。小孢子母细胞完成正常的减数分裂,分裂完成时在 4 个核间产生细胞壁,并分隔成由胼胝质所包围的 4 个细胞,形成正四面体形的小孢子四分体,4 个小孢子处于共同的胼胝质中,通常只能观察到 3 个小孢子(图 2 B)。

2.1.4 四分体至单核早期

花蕾明显长大,萼片微高于花冠,花蕾呈浅绿色,蕾长约 3.5—4.5 mm(图 1 C)。花药基部独立,上部结合,呈浅黄绿色,药室内空间继续增大(图 1 c)。这一阶段小孢子已从四分体的胼胝质中释放出来,此时小孢

子具有不规则形状(图 2 C)。

2.1.5 单核小孢子中后期

花蕾明显长大,花冠接近萼片长度,花蕾呈浅绿色、淡黄,蕾长约 4.5—6.5 mm(图 1 D)。花药基部结合,形成花药筒,呈黄绿色。花粉粒的三条萌发沟清晰可见,细胞质中含有大液泡,细胞核靠边,花粉粒形状接近圆球形(图 2 D)。

2.1.6 双核花粉粒形成期

花蕾充分膨大,花萼裂开,呈黄绿色,花冠微露于萼片外,黄色,绒毛稀疏,花蕾长约 6.5—7.5 mm。各花药联合形成完整的花药筒,呈浅黄色(图 1 E, e)。花粉粒经过一次有丝分裂后形成双核花粉粒,此时期可见一个染色较淡的营养细胞和一个染色较深的生殖细胞(图 2 E)。

2.1.7 成熟花粉粒时期

萼片、花瓣全部开裂,暴露出花药,花冠深黄色,花朵长度约 7.5—8.5 mm(图 1 F)。花药黄色,花粉囊开裂,能够散粉(图 1 f)。花粉粒发育完成,形成颗粒饱满充实、细胞质染色较深的成熟花粉粒(图 2 F)。

2.2 高温胁迫对番茄小孢子发育影响的分析

2.2.1 花粉 TTC 染色结果

在正常温度环境(25 °C/20 °C)下,花药内的成熟花粉粒数目多,花粉粒生活力强,花粉红染率为 84.65%。高温胁迫环境(35 °C/30 °C)下,花药内的成熟花粉粒数目减少,花粉生活力显著减弱,红染率为仅为 10.72%(图 3)。

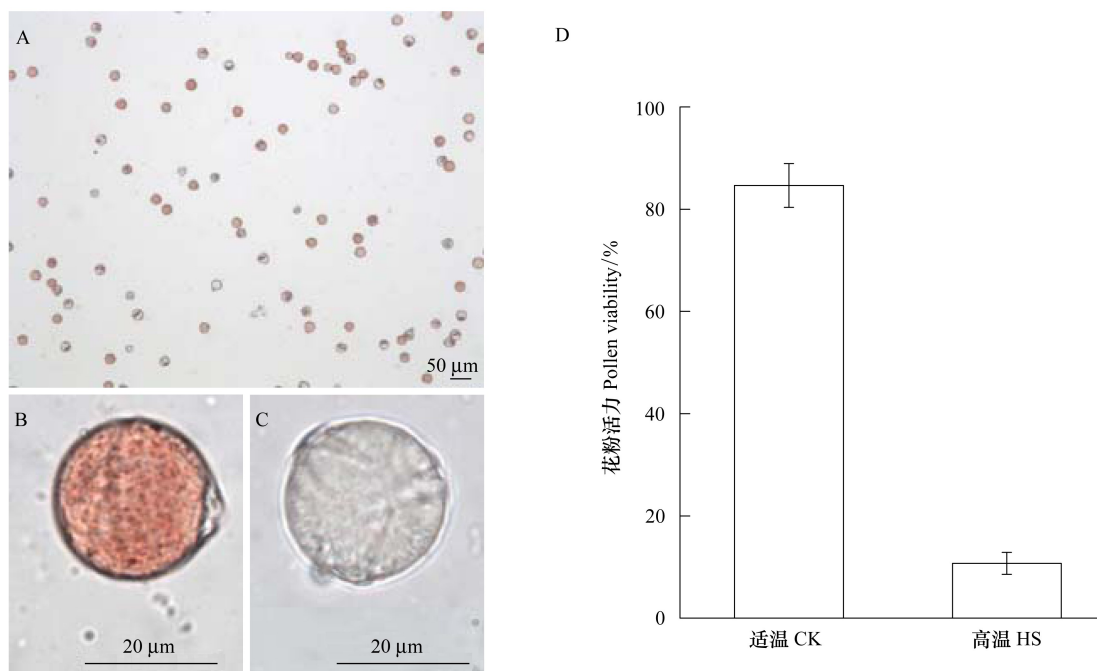


图 3 TTC 染色法检测 Micro-Tom 番茄成熟花粉粒在高温胁迫前后的生活力变化

Fig. 3 Analysis of pollen viability of these plants subjected to normal (25 °C/20 °C) and high (35 °C/30 °C) temperature treatments by TTC staining

A: TTC 染色后的花粉粒; B: 有活力花粉粒; C: 无活力花粉粒; D: 有活力花粉占总花粉粒数的百分比, 实验花粉粒数超过 500 粒

2.2.2 花粉萌发结果

对照花粉饱满、颗粒之间无粘连(图 4 A, B); 在 25 °C 和 35 °C 温度下的萌发率分别为 57.08% 和 52.62%, 35 °C 下的萌发率略有降低, 但差异不显著。高温胁迫花粉有空瘪、外壁凹陷、颗粒粘连现象, 正常花粉粒数目比例较低(图 4 D); 无论是在 35 °C 还是在 25 °C 的温度下, 均没有发现处理后番茄的花粉管伸长, 重复萌发实验并将萌发时间延长至 4 h 仍然未观察到花粉管伸长(图 4 C)。以上结果表明 35 °C/30 °C 高温胁迫

迫影响了小孢子发育,导致花粉败育,而 35 ℃ 高温对正常花粉粒萌发的影响不显著。

2.2.3 石蜡切片结果

高温胁迫处理材料与对照材料均能够正常分化花药壁的各层,药室内的小孢子母细胞排列整齐(图 5 A, G)。小孢子发育在四分体时期开始表现出差异。与对照相比,高温胁迫处理材料的绒毡层细胞异常肥厚(图 5 H)。到了单核小孢子时期,对照材料的小孢子从胼胝质中释放出来,形状逐渐变圆,小孢子大小一致,细胞核接近小孢子中央,绒毡层开始降解并且贴近药室内壁(图 5 C);此时期,高温胁迫处理材料中只有一部分小孢子从四分体中释放出来,大部分畸形并且聚集成团,绒毡层没有降解反而明显膨大、挤压进入药室内部(图 5 I)。单核小孢子中后期,对照材料的小孢子相互独立分散于药室内、染色加深,绒毡层降解留下丝线状残骸,药室内壁细胞降解消退,花药表皮细胞呈细长状纵向排列,药隔细胞减少,花药同侧两药室间隔膜变薄,裂口处的环状细胞簇形成正常的圆环为花药开裂做准备(图 5 D);高温胁迫处理材料中,畸形小孢子则较多、大小不一致,绒毡层细胞体积增大、具有大液泡和较大细胞核,部分绒毡层细胞相互挤压而破裂,花药表皮细胞呈方形,裂口处的环状细胞簇形成的圆环形状不规则(图 5 J)。

双核花粉粒时期(开花前一天),对照花粉粒充实,细胞质染色较深,仅有个别花粉粒畸形,绒毡层完全消失或仅存残余,花药同侧的两个药室之间的药隔解体,两个药室相互连通成为一体,裂口附近花药壁仅剩一层表皮细胞且排列整齐,花药开裂(图 5 E);高温胁迫处理材料花药中的正常花粉粒极少,多数花粉粒畸形或停止发育,而且花粉粒被绒毡层细胞包围而积聚粘连,花药开裂但裂口不规则,裂口附近花药壁细胞畸形(图 5 K)。花朵开放时,对照材料药室完全打开,都能散粉,花药维管等组织仍保持原有结构(图 5 F);然而,高温胁迫材料的药室塌陷,花药表现出萎缩状(图 5 L)。

对番茄小孢子发育过程的连续观察研究,表明 35 ℃ 热胁迫处理影响了小孢子、绒毡层、药隔、花药壁等的正常发育,从而导致花粉粒畸形或败育,产生的正常花粉粒数量严重减少,花药散粉障碍等,进而影响花朵的正常授粉受精过程。

3 讨论

番茄品种‘Micro-Tom’由于其生长周期短,易于栽培等特性,已经成为番茄遗传与发育研究的重要模式品种。本研究通过对番茄‘Micro-Tom’小孢子细胞核形态学以及 DAPI 染色观察,依据核发育变化,将小孢子发育过程分为孢母细胞时期、四分体小孢子时期、单核小孢子早期、单核小孢子中后期、双核花粉粒时期和成熟花粉粒时期等 6 个主要时期,这与 Brukhin^[16]、辛建华^[17]等对番茄小孢子发育主要时期的划分基本一致。依据番茄‘Micro-Tom’小孢子发育时期与花蕾外部形态、花蕾长度和花药发育特征的对应关系,划分出的小孢子发育时期依次对应于 Brukhin^[16]划分的花发育阶段的 stage7-8、stage9-11、stage12-13、stage14-15、stage16-17 和 stage18-20。因此,依据花蕾形态观察能够判断‘Micro-Tom’番茄小孢子发育时期,为后续番茄生殖发育分子生物学研究提供取材依据。但由于花蕾的大小会因环境的变化而存在差异^[17],实验中应注意环境条件的控制,在精细实验中有必要借助于小孢子的镜检观察来准确无误地确定发育时期。

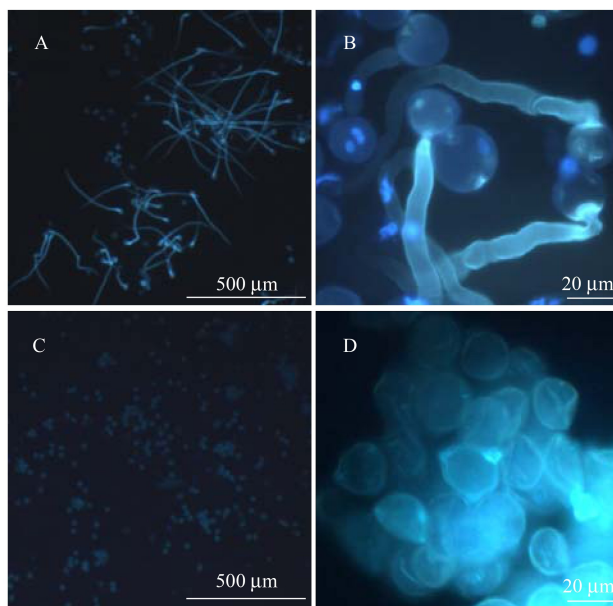


图 4 适温与高温胁迫条件下发育的番茄‘Micro-Tom’成熟花粉粒体外萌发比较

Fig. 4 In vitro germination of tomato pollen grains under optimum (CK, 25 °C/20 °C) or high temperature (HS, 35 °C/30 °C)

A, B: 对照 (25 °C/20 °C) 花粉粒正常萌发; C, D: 高温胁迫 (35 °C/30 °C) 花粉粒没有萌发

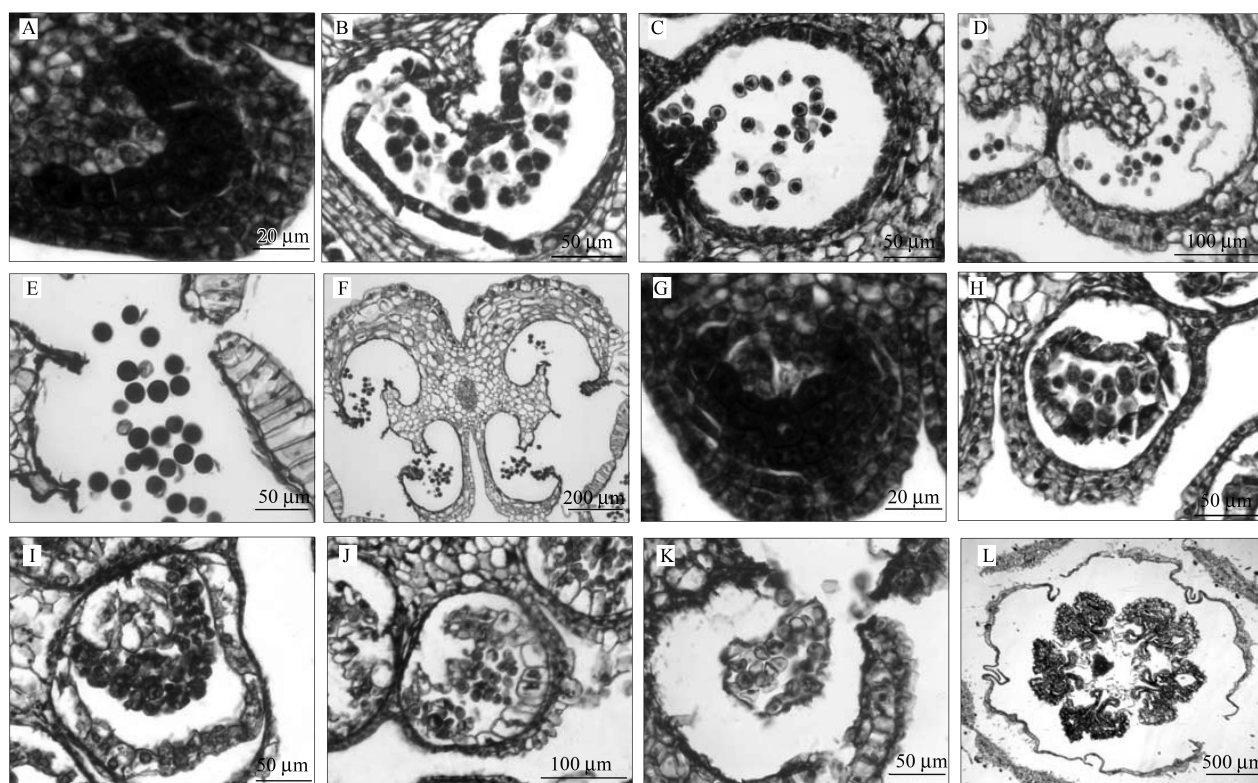


图5 番茄‘Micro-Tom’各级花蕾的石蜡切片观察

Fig. 5 Investigation of tomato microspores development stages using paraffin section

A—F:对照 (25℃/20℃) 材料,G—L:热胁迫 (35℃/30℃) 材料; A, G:孢母细胞时期;B, H:四分体时期;C, I:单核小孢子早期;D, J:单核小孢子中后期;E, K:双核花粉粒时期;F, L:成熟花粉粒时期

可育番茄小孢子在正常发育情况下,绒毡层在单核小孢子发育早期启动 PCD (Programmed Cell Death) 进程,不断自我降解而提供营养给小孢子发育。本研究发现,高温胁迫 (35℃/30℃) 后,花药绒毡层内绒毡层细胞液泡化膨大、裂口附近细胞延迟降解,而番茄小孢子畸形或败育、空瘪凹陷花粉粒数量比例大等现象。绒毡层发育异常现象在番茄雄性不育材料中的研究较多。本研究表明,热胁迫处理番茄的小孢子败育从四分体小孢子时期到花粉成熟时期均有发育异常表现,这一结果与毛秀杰^[20]、袁亦楠^[21]等研究的番茄雄性不育系小孢子发育异常发生在广泛时期内的结果基本一致。本研究结果表明,热胁迫处理造成花粉畸形或败育与绒毡层细胞的发育紊乱密切相关。绒毡层细胞降解延迟,未提供充足的营养物质供小孢子发育和花粉壁结构的形成,类似现象在水稻^[22]、拟南芥^[23-24]等作物研究中也有报道。同时,绒毡层细胞高度液泡化并向药室内生长使药室内空间变小;花朵开放花药开裂时,破碎的绒毡层细胞及其内含物使花粉粒粘连成团,该现象在本研究花粉萌发实验中同样可被观察到,表明高温胁迫不仅使花粉畸形或败育,而且使花药散粉困难。

本研究还发现,热胁迫还引起了药隔组织、药室内壁、花药表皮、环状细胞簇等花药细胞结构的发育异常。张桂莲等^[25]对水稻的研究发现,水稻耐热品系在高温胁迫下花药维管组织正常,而热敏感品系在高温胁迫下花药维管组织发育异常。高温胁迫使番茄植株韧皮部形成胼胝质,胼胝质因阻塞胞间连丝而增加韧皮部的阻力^[11],而高温对番茄花药维管组织发育是否有类似影响尚需研究考证。有关热胁迫引起的番茄小孢子和花药组织发育异常的分子生物学研究在本实验室还在进行中,希望有助于阐明热胁迫对番茄小孢子发育的影响机制,并为培育耐高温农作物新品种提供新途径。

References:

- [1] Peet M M, Bartholemew M. Effect of night temperature on pollen characteristics, growth and fruit set in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

- Journal of the American Society for Horticulture Science, 1996, 121(3): 514-519.
- [2] Erickson A N, Markhart A H. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. Plant, Cell and Environment, 2002, 25(1): 123-130.
- [3] Suzuki K, Takeda H, Tsukaguchi T, Egawa Y. Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. Sexual Plant Reproduction, 2001, 13(6): 293-299.
- [4] Zinn K E, Tunc-Ozdemir M, Harper J F. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(7): 1959-1968.
- [5] Zhang G L, Chen L Y, Lei D Y, Zhang S T. Progresses in research on heat tolerance in rice. Hybrid Rice, 2005, 20(1): 1-5.
- [6] Sakata T, Takahashi H, Nishiyama I, Higashitani A. Effects of high temperature on the development of pollen mother cells and microspores in Barley *Hordeum vulgare* L. Journal Plant Research, 2000, 113(4): 395-402.
- [7] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad M R. Heat tolerance in plants: an overview. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(3): 199-233.
- [8] Lu M H, Gong Z H, Chen R G, Huang W, Li D W. High temperature stress on crop pollen: a review. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(6): 1511-1516.
- [9] Peet M M, Willits D H, Gardner R. Response of ovule development and post-pollen production processes in male-sterile tomatoes to chronic, sub-acute high temperature stress. Journal of Experimental Botany, 1997, 48(1): 101-111.
- [10] Peet M M, Sato S, Gardner R G. Comparing heat stress effects on male-fertile and male-sterile tomatoes. Plant, Cell and Environment, 1998, 21(2): 225-231.
- [11] An F X, Li J F, Xu X Y. Study on present condition of heat tolerance of tomato. Journal of Northeast Agricultural University, 2005, 36(4): 507-511.
- [12] Du Y C, Mao S L, Wang X X, Zhu D W, Li S D, Dai S S, Gao Z H. The different changes of endogenous polyamines in tomato plants with different heat-tolerance under high temperatures. Acta Horticulturae Sinica, 2003, 30(3): 281-286.
- [13] Alsadon A A, Wahb-allah M A, Khalil S O. *In vitro* evaluation of heat stress tolerance in some tomato cultivars. Agricultural Sciences, 2006, 19(1): 13-24.
- [14] Frank G, Pressman E, Ophir R, Althan L, Shaked R, Freedman M, Shen S, Firon N. Transcriptional profiling of maturing tomato (*Solanum lycopersicum* L.) microspores reveals the involvement of heat shock proteins, ROS scavengers, hormones, and sugars in the heat stress response. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(13): 3891-3908.
- [15] Chen G J, Cheng Y J, Wu D H, Wu X Y. Microsporogenesis, megasporogenesis and male, female gametophyte development in tomato (*Lycopersicon esculentum*). Journal of South China Agricultural University, 1999, 20(2): 36-40.
- [16] Brukhin V, Hernould M, Gonzalez N, Chevalier C, Mouras A. Flower development schedule in tomato *Lycopersicon esculentum* cv. sweet cherry. Sexual Plant Reproduction, 2003, 15(6): 311-320.
- [17] Xin J H, Zhang Y H, Yuan Y W. Study on interrelation of cytological development period of processing tomato microspor and morphology of flower organ. Northern Horticulture, 2007, (5): 15-17.
- [18] Shen J, Cao G Q, Liang Q X, Ying F Q, Ding X B. Identification of cytological development period and activity of tomato's microspore. Journal of Changjiang Vegetables, 2008, (16): 21-24.
- [19] Karapanos I C, Akoumianakis K A, Olympios C M, Passam H C. Tomato pollen respiration in relation to *in vitro* germination and pollen tube growth under favourable and stress-inducing temperatures. Sexual Plant Reproduction, 2010, 23(3): 219-224.
- [20] Mao X J, Liu T, Sun Z F, Yan J G. Cytological observation on microsporogenesis of the male sterile of tomato. Seed, 2009, 25(8): 1-3.
- [21] Yuan Y N, Zhu D W, Lian Y, Dai S S, Lu C X. Cytological investigations on microspore development in the male sterile *L. esculentum* vat. 95305. Acta Agriculturae Boreall-Sinica, 2000, 15(3): 61-65.
- [22] Li N, Zhang D S, Liu H S, Yin C S, Li X X, Liang W Q, Yuan Z, Xu B, Chu H W, Wang J, Wen T Q, Huang H, Luo D, Ma H, Zhang D B. The rice tapetum degeneration retardation gene is required for tapetum degradation and anther development. The Plant Cell, 2006, 18(11): 2999-3014.
- [23] Vizcay-Barrena G, Wilson Z A. Altered tapetal PCD and pollen wall development in the Arabidopsis ms1 mutant. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(11): 2709-2717.
- [24] Xu J, Yang C Y, Yuan Z, Zhang D S, Gondwe M Y, Ding Z W, Liang W Q, Zhang D B, Wilson Z A. The *ABORTED MICROSPORES* regulatory

network is required for postmeiotic male reproductive development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 2010, 22(1): 91-107.

- [25] Zhang G L, Chen L Y, Zhang S T, Liu G H, Tang W B, Li M H, Lei D Y, Chen X B. Effects of high temperature stress on pollen characters and anther microstructure of rice. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(3): 1089-1097.

参考文献:

- [5] 张桂莲, 陈立云, 雷东阳, 张顺堂. 水稻耐热性研究进展. *杂交水稻*, 2005, 20(1): 1-5.
- [8] 逯明辉, 巩振辉, 陈儒钢, 黄炜, 李大伟. 农作物花粉高温胁迫研究进展. *应用生态学报*, 2009, 20(6): 1511-1516.
- [11] 安凤霞, 李景富, 许向阳. 番茄耐热性研究现状. *东北农业大学学报*, 2005, 36(4): 507-511.
- [12] 杜永臣, 毛胜利, 王孝宣, 朱德蔚, 李树德, 戴善书, 高振华. 高温胁迫下耐热性不同番茄多胺水平变化的差异. *园艺学报*, 2003, 30(3): 281-286.
- [15] 陈国菊, 程玉瑾, 吴定华, 吴筱颖. 番茄大、小孢子的发生及雌、雄配子体的发育. *华南农业大学学报*, 1999, 20(2): 36-40.
- [17] 辛建华, 张永华, 苑育文. 加工番茄小孢子发育时期与花器形态相关性研究. *北方园艺*, 2007, (5): 15-17.
- [18] 申娟, 曹刚强, 梁秋霞, 应芳卿, 丁晓兵. 番茄小孢子发育时期的检测和活性鉴定. *长江蔬菜*, 2008, (16): 21-24.
- [20] 毛秀杰, 刘婷, 孙中峰, 闫建国. 番茄雄性不育系 JL-2 小孢子发育的细胞学观察. *种子*, 2009, 25(8): 1-3.
- [21] 袁亦楠, 朱德蔚, 连勇, 戴善书, 陆长句. 番茄雄性不育突变体小孢子发育的细胞学研究. *华北农学报*, 2000, 15(3): 61-65.
- [25] 张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 刘国华, 唐文邦, 李梅华, 雷东阳, 陈信波. 高温胁迫对水稻花粉粒性状及花药显微结构的影响. *生态学报*, 2008, 28(3): 1089-1097.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 7 April, 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Research progress on chemical communication of development and host-finding of nematodes ZHANG Bin, HU Chunxiang, SHI Jin, et al (2003)
- Principles, indicators and sampling methods for species monitoring XU Haigen, DING Hui, WU Jun, et al (2013)

Autecology & Fundamentals

- Spatial distribution pattern of human-caused fires in Hulunbeir grassland ZHANG Zhengxiang, ZHANG Hongyan, LI Dongxue, et al (2023)
- Belowground biomass in Tibetan grasslands and its environmental control factors YANG Xiuqing, HUANG Mei, WANG Junbang, et al (2032)
- Analysis on variation characteristics of air temperature and ground temperature in Guilin from 1961 to 2010 CHEN Chao, ZHOU Guangsheng (2043)
- Winter bed-site selection by roe deer (*Capreolus capreolus*) in Huangnihe Nature Reserve ZHU Hongqiang, GE Zhiyong, LIU Geng, et al (2054)
- Leaf anatomical characteristics of the plants of grasslands in the Tibetan Plateau LI Quanfa, WANG Baojuan, AN Lihua, et al (2062)
- A research on summer vegetation characteristics & short-time responses to experimental warming of alpine meadow in the Qinghai-Tibetan Plateau XU Manhou, XUE Xian (2071)
- Cytological study on microsporogenesis of *Solanum lycopersicum* var. Micro-Tom under high temperature stress PENG Zhen, CHENG Lin, HE Yanjun, et al (2084)
- A new plant height growth process model of *Caragana* forest in semi-arid loess hilly region ZHAO Long, WANG Zhenfeng, GUO Zhongsheng, et al (2093)
- Germination inhibitory substances extracted from the seed of seven species of *Quercus* LI Qingmei, LIU Yan, LIU Guangquan, et al (2104)
- Effects of water stress and fungicide on the growth and drought resistance of *Flaveria bidentis* CHEN Dongqing, HUANGFU Chaohe, LIU Hongmei, et al (2113)
- Characters of soil seed bank in copper tailings and its adjacent habitat ... SHEN Zhangjun, OU Zulan, TIAN Shengni, et al (2121)
- Changes of soil chemical properties after different burning years in typical steppe of Yunwun Mountains LI Yuan, CHENG Jimin, WEI Lin, et al (2131)
- Effects of water and fertilizers on nitrate content in tomato fruits under alternate partial root-zone irrigation ZHOU Zhenjiang, NIU Xiaoli, LI Rui, et al (2139)
- Effect of land use on the characteristics of organic carbon and labile organic carbon in soil aggregates in Karst mountain areas LI Juan, LIAO Hongkai, LONG Jian, et al (2147)
- Mobilization of inorganic phosphorus from soils by five azotobacters ZHANG Liang, YANG Yuhong, LI Qian, et al (2157)
- Physiological-ecological responses of *Iris germanica* L. to Cd stress and its accumulation of Cd ZHANG Chengxiang, CHEN Weifeng (2165)
- The available forms and bioavailability of heavy metals in soil amended with sewage sludge TIE Mei, SONG Linlin, HUI Xiujuan, et al (2173)
- LAI-based photosynthetic light response model and its application in a rainfed maize ecosystem SUN Jingsong, ZHOU Guangsheng (2182)
- The dominant species of predatory natural enemies of three kinds of planthoppers and impact of pesticides on natural enemies in paddy field LIN Yuan, ZHOU Xiazhi, BI Shoudong, et al (2189)

Population, Community and Ecosystem

- Spatial and temporal variation of picophytoplankton in the Pearl River Estuary ZHANG Xia, HUANG Xiaoping, SHI Zhen, et al (2200)

Analysis of the relationship between species diversity and hydrologic factors during an interval of intermittent water delivery at the Lower Reaches of Tarim River, China	CHEN Yongjin, LIU Jiazhen, CHEN Yaning, et al (2212)
Fish species composition and community pattern in the continental shelf of northwestern South China Sea	WANG Xuehui, LIN Zhaojin, DU Feiyan, et al (2225)
Distribution and succession of plant communities in Lake Bita coastal swamp on the plateau region, northwestern Yunnan	HAN Dayong, YANG Yongxing, YANG Yang (2236)
Analysis on community structure and quantitative characteristics of <i>Nitraria tangutorum</i> nebkhas at different succession stage in lower reaches of Shiyang River	JIN Hujia, MA Quanlin, HE Mingzhu, et al (2248)
Resource and Industrial Ecology	
Effects of subsoiling and supplemental irrigation on dry matter production and water use efficiency in wheat	ZHENG Chengyan, YU Zhenwen, ZHANG Yongli, et al (2260)
Effects of two years' incorporation of leguminous green manure on soil properties of a wheat field in dryland conditions	ZHANG Dabin, YAO Pengwei, LI Jing, et al (2272)
Effects of planting with ridge and furrow mulching on maize growth, yield and water use efficiency in dryland farming	LI Rong, HOU Xianqing, JIA Zhikuan, et al (2282)
Urban, Rural and Social Ecology	
Effects of riparian buffers of North Mort of Beijing on air temperature and relative humidity	WU Fangfang, ZHANG Na, CHEN Xiaoyan (2292)
Characteristics of spatial and temporal variations of global solar radiation in Xi'an and relevant response in urban development	ZHANG Hongli, ZHANG Naweirui, LIU Minru, et al (2304)
Research Notes	
A analysis of macrofungal flora diversity in Langyashan Nature Reserve, Anhui Province, China	CHAI Xinyi, XU Xuefeng, WANG Meiyang, et al (2314)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索自然奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 陈利顶

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 7 期 (2013 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 7 (April, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元