

# 冰核细菌对仁用杏花粉超微结构的影响

彭伟秀<sup>1</sup> 杨建民<sup>1</sup> 张 芹<sup>1</sup> 孟庆瑞<sup>1</sup> 李绍华<sup>2</sup> 孙福在<sup>3</sup> 赵廷昌<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>河北农业大学林学院, 保定 071000; <sup>2</sup>中国农业大学园艺学院, 北京 100094; <sup>3</sup>中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

**摘 要:**应用透射电镜对几个仁用杏品种接种冰核细菌并低温处理后的花粉超微结构进行观察, 发现冰核细菌对花粉的超微结构有很大影响: (1) 使花粉壁的覆盖层在某些区域解体消失或整个花粉外壁缺失; (2) 使花粉中的细胞器受到破坏, 包括线粒体被膜不完整, 嵴呈囊泡状; 内质网呈同心圆卷绕或折叠状排列包围部分细胞质而形成膜内含物; 核糖体数量明显减少等。因为花粉中细胞器的破坏, 花粉细胞内部形成一些空腔, 花粉失去生活力。接种冰核细菌并低温处理比单纯低温处理对花粉超微结构的破坏程度加重。

**关键词:**冰核细菌; 杏; 花粉; 超微结构

中图分类号: S 662.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2001) 05-0453-04

## 1 目的、材料与方法

自然界广泛存在着冰核细菌 (Ice nucleation active bacteria, 简称 INA 细菌), 它可在 -2 ~ -5℃ 诱发植物细胞水结冰而发生霜冻; 无 INA 细菌存在的植物一般能耐 -7 ~ -8℃ 的低温而不发生霜冻<sup>[1, 2]</sup>。我们从 1999 年开始以仁用杏品种为试材研究了冰核细菌对花粉超微结构的影响, 旨在从细胞结构的变化方面探讨冰核细菌与杏树霜冻害的关系。试材选用河北省涿鹿县杏树园的 3 个仁用杏品种 (白玉扁、优一和一窝蜂), 树龄 8 年, 管理水平较高。取 20~ 30 cm 长的盛开花枝, 将每一品种盛开花朵分别做 3 种处理: 接种 INA 细菌后放入人工模拟霜箱中, 先以 19℃/h 降温, 降至 4℃ 时再以 2℃/h 降温至 -3℃, 持续 30 min; 不接种 INA, 放入人工模拟霜箱中进行上述处理; 不接种 INA 细菌, 置常温下作为对照。取处理及对照的花药, 用 pH 7.2 的磷酸缓冲溶液配制的 2.5% 戊二醛溶液, 在 -4℃ 下固定 24 h 后用磷酸缓冲溶液冲洗, 转入 1% 锇酸固定液 0~ 4℃ 下固定 4 h, 用磷酸缓冲液洗 3 次, 经丙酮系列脱水 Epon812 包埋, LKB 超薄切片机切片, 厚度 60~ 90 nm, 醋酸双氧铀—柠檬酸铅双重染色后, 于日立 H-650 型透射电镜下观察并照相。

## 2 结果与分析

**2.1 冰核细菌对花粉壁的影响** 常温下 3 个品种的花粉壁均正常, 可明显分为外壁 (exine) 和内壁 (intine)。外壁又可分为外壁外层 (覆盖层和基粒棒) 和外壁内层两部分 (图版 I, 1)。不接冰核细菌的经 -3℃ 低温处理后, 白玉扁的花粉壁基本保持正常状态 (图版 I, 3); 优一的花粉壁其覆盖层在某些区域被破坏, 呈颗粒状 (图版 I, 2); 一窝蜂的花粉壁在某处断裂, 呈反卷状 (图版 I, 4), 极少数花粉的整个花粉外壁反卷成一团。接种 INA 并经 -3℃ 低温处理后, 无论是抗霜性强的白玉扁, 还是抗霜性弱的一窝蜂, 均加

收稿日期: 2001-04-05; 修回日期: 2001-07-04

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (399147)

重了花粉壁的破坏程度。白玉扁花粉外壁的覆盖层在某些区域上解体消失 (图版 I, 5); 而一窝蜂整个花粉外壁被破坏而消失 (图版 I, 6)。

2.2 冰核细菌对花粉细胞器的影响 常温下花粉细胞中线粒体结构正常 (图版 II, 1)。-3℃低温处理后, 抗霜性强的白玉扁线粒体结构正常 (图版 II, 2); 一窝蜂的线粒体轮廓尚依稀可见, 但有的嵴膨大形成囊泡 (图版 II, 3), 二者线粒体数量未见明显变化。白玉扁的花粉中可见许多小液泡, 有的小液泡膜发生反卷, 形成吞噬泡 (图版 II, 2); 吞噬泡中包含基础细胞质和核糖体。这种吞噬泡的内含物被液泡中的水解酶分解, 使液泡液溶质浓度提高, 有利于抗霜。而抗霜性弱的一窝蜂未见到此现象。抗霜性强的白玉扁有大量游离的核糖体存在于花粉细胞的细胞质中, 数量明显多于一窝蜂 (图版 II, 2, 3)。

接种 INA 并低温处理的 3 个品种的花粉均受到破坏。尤其是抗霜性弱的一窝蜂, 其花粉内部结构解体, 形成大的空腔。线粒体被膜不完整, 嵴也受到破坏, 难以辨认 (图版 II, 4); 而抗霜性较强的白玉扁的花粉内部结构受到一定程度的破坏, 形成小空腔 (图版 II, 5)。需要特别指出的是, 抗霜性较强的优一花粉中, 可看到在几个区域存在一种特殊的呈双层或多层同心圆排列的膜结构, 称之为膜内含物 (图版 II, 6、7)。双膜内含物是由两层完整的被膜包围, 在被膜的内外表面可看到附在膜上的核糖体颗粒。因此认为它是由内质网的双层膜系统包围一部分细胞质形成的。所包围的细胞质部分与附近未被包围的细胞质相比, 未看到明显的形态差异 (图版 II, 6)。多膜内含物其膜层为 3~7 层, 大多呈同心圆排列。膜层间的细胞质呈解体状或完全透明 (图版 II, 7)。从图象上分析, 这些膜层是内质网同心圆排列或转绕折叠而成。

总之, 低温处理下冰核细菌对花粉壁及内部细胞器等产生明显的影响, 而且在不同抗霜性品种之间有明显的差别, 这充分说明冰核细菌是加重霜害的一个主要因素。

#### 参考文献:

- 1 刘建华, 陶毓汾, 何维勋, 等. 冰核活性细菌与玉米和大豆霜冻关系研究. 中国农业气象, 1990, 11 (2): 1~6
- 2 Lindow S E. The role of bacteria ice nucleation in frost injury to plant. Ann. Rev. Phytopathol. 1983, 21: 362~384

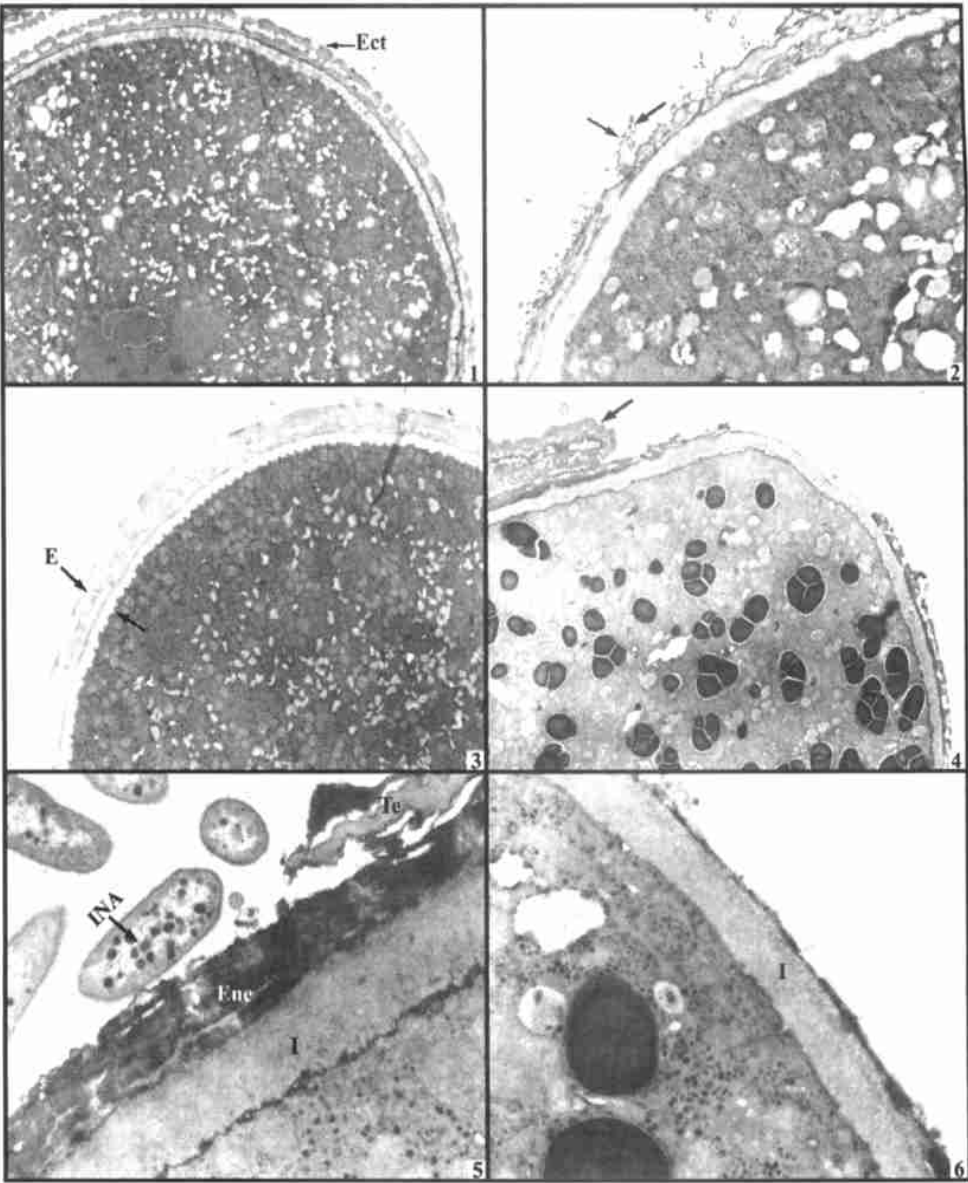
## Effect of Ice Nucleation Active Bacteria on the Ultrastructure of Apricot Variety Pollen

Peng Weixiu<sup>1</sup>, Yang Jianmin<sup>1</sup>, Zhang Qin<sup>1</sup>, Meng Qingrui<sup>1</sup>, Li Shaohua<sup>2</sup>, Sun Fuzai<sup>3</sup>, and Zhao Tingchang<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000; <sup>2</sup>College of Horticulture, China Agricultural University, Beijing 100094; <sup>3</sup>Institute of Plant Protection, CAAS, Beijing, 100094)

**Abstract:** The ultrastructure of three kinds of Apricot pollens by INA and low temperature was investigated with transmission electron microscopy. The results showed that the ultrastructure of pollen was influenced by the INA. (1) The pollen exine was disintegrated by INA. (2) The organelles in pollen were destroyed. The membrane of mitochondrion vanished. The ridge of mitochondrion was changed into vesiculation; Some membraned inclusions appear to be derived from the endoplasmic reticulum elements which arrange themselves in a multipleconcentric or convoluted manner around portions of cytoplasm; The quantity of ribosome was reduced. Because the organelles in pollen were destroyed, there were some cavities in pollen grain. The pollen grain had no life force. In addition, more serious damage was shown in ultrastructure of pollen by INA and low temperature. Therefore, INA bacteria was one major factor to incite frost damage to Apricot flowers.

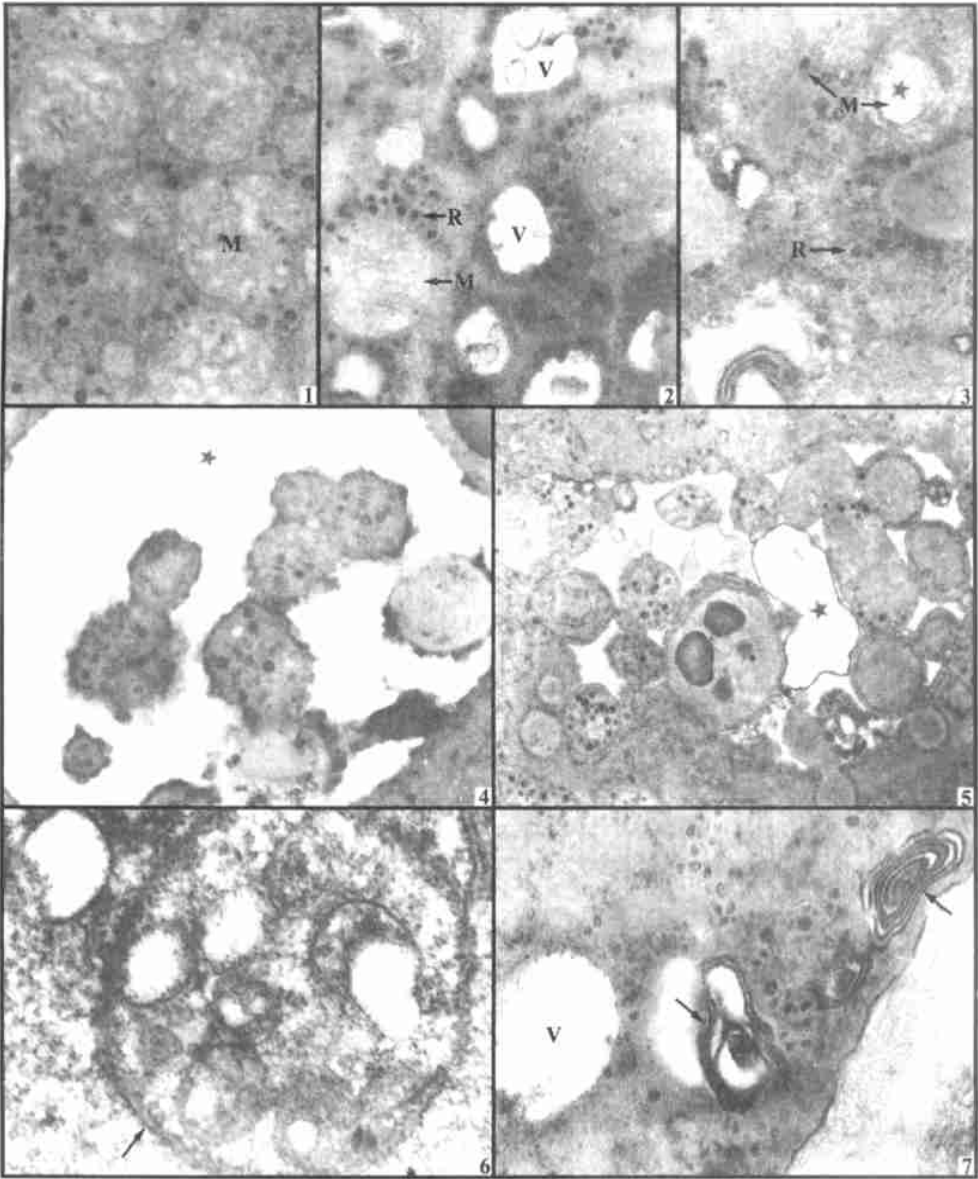
**Key words:** INA; bacteria; Apricot; Pollen; Ultrastructure



图版I 说明 1. 常温下正常花粉的花粉壁×3500; 2. - 3℃低温处理后优一的花粉壁覆盖层在某些区域呈颗粒状 (箭头所示) ×8000; 3. - 3℃低温处理后白玉扁的花粉壁基本正常×3500; 4. - 3℃处理后一窝蜂的花粉壁在某处断裂, 呈反卷状 (箭头) ×3500; 5. 接种 INA 并低温处理, 白玉扁花粉的覆盖层在某些区域解体×20000; 6. 接种 INA 并低温处理, 一窝蜂整个花粉外壁被破坏而消失×20000。

INA: 冰核细菌; E: 花粉外壁; I: 花粉内壁; Ed: 花粉外壁外层; En: 花粉外壁内层; T: 覆盖层。

**Explanation of Plates I** 1. the normal pollen at 18℃. ×3500; 2. the pollen exine of 'Youyi' was changed pellet (arrow) under - 3℃, ×8000; 3. The pollen wall of 'Baiyubian' Apricot was basically normal under - 3℃treatment, ×3500; 4. The pollen exine of 'Yiwofeng' was rolled up under - 3℃. (arrow), some area. ×20000; 5. After inoculated INA and low temperature, the pollen exine of 'Baiyubian' disappeared in some area. ×20000; 6. After inoculated INA and low temperature, the pollen exine of 'Yiwofeng' disappeared. ×20000. INA: Ice nucleation active bacteria; E: Exine; I: Intine; Ed: Ectexine; En: Endexine; T: Tectum.



图版 II 说明 1. 常温下花粉细胞线粒体结构正常 $\times 40000$ ; 2.  $-3^{\circ}\text{C}$ 低温处理后白玉扁花粉中线粒体结构正常, 液泡膜发生反卷, 形成吞噬泡 $\times 40000$ ; 3.  $-3^{\circ}\text{C}$ 处理后一窝蜂花粉中线粒体轮廓依稀可见, 嵴膨大成囊泡 (★) $\times 40000$ ; 4. 接种 INA 并 $-3^{\circ}\text{C}$ 处理后一窝蜂花粉中形成大的空腔 (★) $\times 40000$ ; 5. 接种 INA 并 $-3^{\circ}\text{C}$ 低温处理后白玉扁花粉中有小空腔 (★) $\times 40000$ ; 6. 接种 INA 并 $-3^{\circ}\text{C}$ 低温处理后优一花粉中存在双膜内含物 (箭头) $\times 40000$ ; 7. 接种 INA 并 $-3^{\circ}\text{C}$ 处理后优一花粉中存在多膜内含物 (箭头) $\times 50000$ 。M: 线粒体; V: 液泡; R: 核糖体。

**Explanation of Plates II** 1. The mitochondrion of normal pollen at  $18^{\circ}\text{C}$ ,  $\times 40000$ ; 2. The normal mitochondrion in 'Baiyubian' pollen by  $-3^{\circ}\text{C}$  treatment,  $\times 40000$ ; 3. The vesiculation of ridge, of mitochondrion in 'Yiwofeng' pollen by  $-3^{\circ}\text{C}$ , (★),  $\times 40000$ ; 4. There was large cavity (★) in 'Yiwofeng' pollen by  $-3^{\circ}\text{C}$  and INA,  $\times 40000$ ; 5. There was small cavity (★) in 'Baiyubian' pollen by  $-3^{\circ}\text{C}$  and INA,  $\times 40000$ ; 6. The double membraned inclusion was in 'Youyi' pollen by  $-3^{\circ}\text{C}$  and INA, (arrow),  $\times 40000$ ; 7. The multi membraned inclusion was in 'Youyi' pollen by  $-3^{\circ}\text{C}$  and INA, (arrow),  $\times 50000$ .

M: Mitochondrion; V: Vacuole; R: Ribosome.