

辣椒雄性不育系小孢子发育及脯氨酸等含量的研究

孙立全¹, 霍治军², 常彩涛¹, 张成合³, 李明³, 刘文明¹

(1. 天津科润农业科技股份有限公司蔬菜研究所, 天津 300384; 2. 榆林市农业干部学校, 陕西 榆林 719000;

3. 河北农业大学, 河北 保定 071001)

摘要:对辣椒雄性不育系 960F A 和保持系 960F B 的小孢子发育过程及其脯氨酸、可溶性蛋白、粗蛋白的含量和过氧化物酶、多酚氧化酶的活性进行了观察和测定。结果表明, 960F A 的雄性败育发生在减数分裂末期 II 阶段, 导致败育的主要原因是花药绒毡层细胞的高度液泡化, 致使小孢子在发育过程中得不到正常的营养供给而死亡; 不育系花药可溶性蛋白和粗蛋白(总蛋白)含量均显著低于其保持系, 而过氧化物酶和多酚氧化酶的活性则高于其保持系。

关键词:辣椒; 雄性不育系; 小孢子发育; 脯氨酸; 过氧化物酶; 多酚氧化酶; 可溶性蛋白; 粗蛋白

中图分类号: S641.301 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2003)04-0039-03

Comparison of Microsporegenesis and Free Praline Content Between Sterile Line and Maintainer Line of Red Pepper

SUN Li quan¹, HUO Zhi jun³, CHANG Cai tao¹, ZHANG Cheng he², LI Ming², LIU Wei ming¹

(1. Vegetable Research Institute, Tianjin Kernel Agricultural Science and Technology Cooperation

Limited, Tianjin 300384, China; 2. Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China;

3. Yulin Agricultural School, Yulin 719000, China)

Abstract: Using paraffin slice technique and biochemical analysis, the microsporegenesis and content of free praline, soluble protein, coarse and viability of peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) of sterile line (9601A) and maintainer line (9601B) of red pepper were studied. The results showed as follows: The development of the microspore mother cells in the sterile line was normal. The microspore abortion occurred before the tetrads formation. At prophase of meiosis (Leptonema), the tapetal cells begin to grow in radial direction and became highly vacuolated which effected on the synthesis and transportation of nutrition materials that microspore needed in formation and development, which is the main course of leading to the microspore abortion. The content of free praline, soluble protein and coarse protein in sterile line anthers was significantly lower than that of in maintainer line anthers, and the viability of peroxidase and polyphenol oxidase in sterile line anther was significantly higher than that of in maintainer line anther.

Key words: Red pepper; Sterile line; Microsporegenesis; Proline; POD; PPO; Soluble protein; Coarse protein

雄性不育是高等植物中较为常见的一种生物学特征, 据统计, 迄今已在 43 科 162 属 617 个种和种间杂种中发现了雄性不育现象。辣椒雄性不育最早发现于 1951 年^[1]。关于辣椒雄性不育系的花粉败育过程国内外都有人进行过观察研究, 但结论并不完全一致: Homer^[2] 认为辣椒雄性不育系小孢子母

细胞减数分裂基本正常, 四分孢子可以形成, 雄性败育发生在小孢子发育后期; 吴鹤鸣^[3] 和耿三省^[4] 则认为辣椒雄性不育系败育发生在四分孢子形成以前, 小孢子母细胞减数分裂不能正常进行。造成认识分歧的原因, 可能是基因型的差异, 也可能与环境条件有关。本研究以大羊角椒雄性不育系及相应保

收稿日期: 2003-04-25

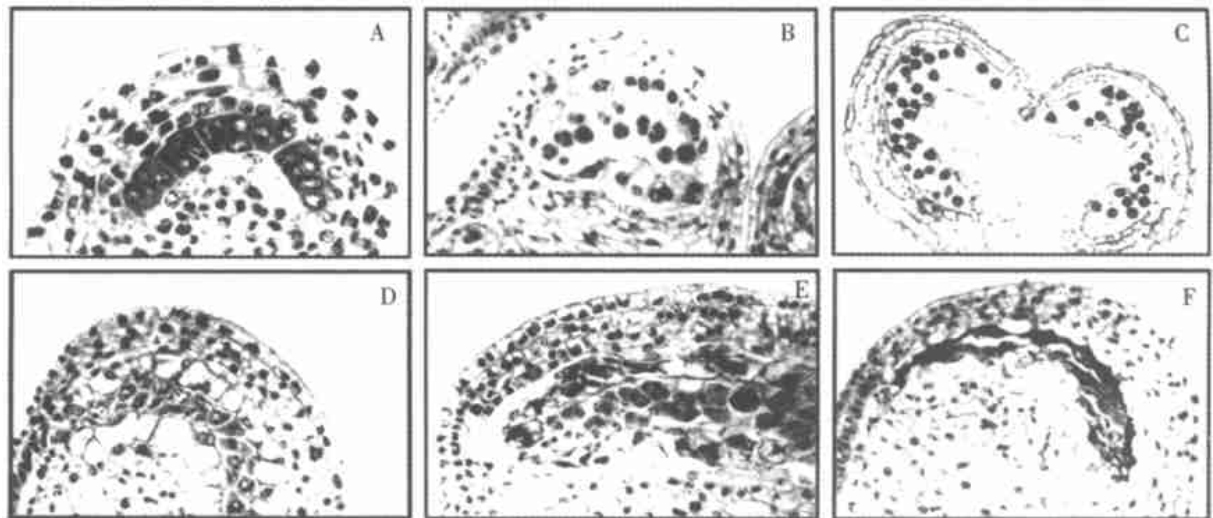
作者简介: 孙立全(1962-), 男, 河北唐山人, 硕士, 副研究员, 主要从事蔬菜育种方面的研究工作。

持系为试材,对其小孢子的发育过程进行观察对比,同时对不育系和保持系花药的脯氨酸、可溶性蛋白、粗蛋白的含量及过氧化物酶、多酚氧化酶的活性进行分析比较,旨在进一步探讨辣椒雄性不育系的败育机理,为辣椒雄性不育系的选育和利用提供理论依据。

1 材料和方法

供试材料为大羊角椒雄性不育系 9601- A 及其保持系 9601- B,由天津市蔬菜研究所选育获得。试材种植于日光温室,于盛花期 9: 00 左右分别取不育

系和保持系不同大小的花蕾固定于 FAA 固定液中,供小孢子发育过程观察。常规石蜡切片法制片,切片厚度 8~ 10 μm,铁矾- 苏木精染色,固绿复染,光学树胶封固,Olympus- BH2 型显微镜观察并照相。取处于减数分裂晚期阶段(末期II- 四分体时期)的花蕾于冰壶中,用于脯氨酸、可溶性蛋白、粗蛋白的含量测定及过氧化物酶和多酚氧化酶的活性分析。脯氨酸含量测定采用酸性茚三铜法;可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝(G- 250) 法;粗蛋白含量测定采用凯氏定氮法;过氧化物酶活性测定采用愈创木酚法;多酚氧化酶活性测定采用邻苯二酚法。



A. 保持系,小孢子母细胞时期,×400; B. 保持系,四分体时期,×160; C. 保持系,成熟花粉粒时期,×120;
D. 不育系,减数分裂前期,绒毡层细胞液泡化×400; E. 不育系,减数分裂末期II,绒毡层细胞出现坏死×400;
F. 不育系,花粉粒成熟期,绒毡层细胞全部坏死,四分体退化消失,×300

图1 辣椒雄性不育系和保持系的小孢子发育

2 结果与分析

2.1 不育系与保持系的小孢子发育比较

石蜡切片观察表明,不育系与保持系在小孢子母细胞发育阶段没有明显差别,小孢子母细胞的细胞质浓厚,细胞核清晰明显,核内多为1~ 3个核仁,绒毡层细胞排列整齐(图1- A)。在减数分裂前期,不育系的绒毡层细胞开始液泡化(图1- D);到减数分裂中、后期阶段,绒毡层细胞已高度液泡化,整个细胞几乎全部被大液泡所占据;到减数分裂末期II阶段,不育系的绒毡层细胞已大量坏死,减数分裂活动停止,个别孢母细胞的细胞核已明显解体(图1- E);到成熟花粉粒阶段,不育系的绒毡层细胞已全部坏死,狭小的药室内仅存留一些坏死细胞残迹(图1- F)。由此可见,雄性不育系的雄性败育发生在四分孢子形成之前。与不育系相比,保持系绒毡层细

胞发育正常,到四分体时期,绒毡层细胞的细胞核依然比较清晰完整,药室内充满染色很深的四分孢子(图1- B);到成熟花粉粒时期,绒毡层细胞才完全退化消失(图1- C)。

2.2 不育系与保持系的脯氨酸、蛋白质含量比较

表1 辣椒雄性不育系与保持系的脯氨酸和蛋白质含量比较

材料	脯氨酸 (mg/g)	可溶性蛋白 (mg/g)	粗蛋白 (mg/g)
不育系	0.74±0.04 A	40.58±0.59 a	74.85 a
保持系	10.05±1.18 B	59.05±0.34 b	88.66 a

由表1可见,雄性不育系花药的游离脯氨酸、可溶性蛋白和粗蛋白的含量分别比保持系低9.19, 18.47和13.81 mg/g,其差异除粗蛋白未达到显著水平外,前两者分别达到显著和极显著水平。绒毡层是贮藏营养物质的主要器官,是小孢子发生和生长发育的“食物库”。由此可见,绒毡层细胞的异常生长发育(高度液泡化),致使营养物质的合成和贮、运

功能受到影响,是导致辣椒雄性不育系败育的一个直接原因。

2.3 不育系与保持系的酶活性比较

由表 2 可见,不育系的过氧化物酶活性和多酚氧化酶活性均显著地高于其保持系,其中不育系的过氧化物酶活性是保持系的 15.48 倍,多酚氧化酶活性是保持系的 1.36 倍,差异均达到极显著水平。过氧化物酶活性对控制体内生长素(IAA) 含量水平起着关键作用,不育系花药中过氧化物酶活性的增强将促进花药内源激素(IAA) 的氧化分解,从而影响小孢子的正常发育。

表 2 辣椒雄性不育系与保持系的酶活性比较

材料	过氧化物酶 ($\Delta OD/(min \cdot mg)$)	多酚氧化酶 ($\Delta OD/(min \cdot mg)$)
不育系	1.499 A	0.033 A
保持系	0.089 B	0.014 B

3 讨论

植物的雄性不育性同其他性状一样是受基因决定的。雄性不育基因的作用方式和时间不尽相同,从以往的研究资料看,雄性不育的败育方式和时期因不同植物种类、基因型和不育类型而异, Laser 等根据对大多数被子植物的雄性不育的细胞学研究结果指出,单子叶植物的雄性败育多数发生在小孢子双核期阶段,双子叶植物的雄性败育多数发生在四分体时期或小孢子早期发育阶段^[5]。辣椒为双子叶植物,从已有的报道看,其雄性败育的时期不完全一致, Homer^[2]的观察结果表明,辣椒雄性不育系的雄性败育发生在小孢子发育的后期阶段;本文的研究结论则与吴鹤鸣^[3]和耿三省^[4]的结论相一致,究其原因,可能主要是不同基因型有不同的表现,环境因素对雄性不育基因的表达也可能具有一定的影响,还需深入研究探讨。

绒毡层是花药药室的内壁层,小孢子生长发育所需要的营养物质必须经过绒毡层才能到达药室,同时有许多小孢子发育所必需的营养物质是在绒毡层细胞内合成的,因此一般认为绒毡层是小孢子发育的“食物库”,而且两者间似乎存在着一种“生化对话”的关系,一旦这种正常的”生化对话“关系出现紊乱,小孢子的生长发育就必然会受到影响。因此不论植物雄性不育的不育类型是核型不育还是核质互作不育,其雄性败育大都与绒毡层细胞的异常发育有关。绒毡层的异常发育行为是多种多样的,如在大白菜核不育雄性不育的观察中看到,绒毡层的异

常行为主要表现在细胞肥大,延缓解体^[6];本研究则表明,不育系绒毡层的异常主要是细胞高度液泡化。绒毡层细胞具有为小孢子发育合成和输送营养物质的功能,绒毡层细胞一旦发生异常,就必然会影响到营养物质的正常合成和转运,从而使小孢子在发育过程中因得不到营养物质而饥饿致死。如本研究看到,不育系花药的可溶性蛋白和粗蛋白(总蛋白)等营养物质的含量均显著地低于其保持系,而过氧化物酶和多酚氧化酶的活性则均显著地高于其保持系,这表明不育系花药绒毡层细胞的高度液泡化影响了其正常生化功能。不育系花药中过氧化物酶活性增强在水稻^[7]、玉米^[8]和高粱^[9]等植物雄性不育系中均有类似的表现。据研究,过氧化物酶活性对控制体内生长素(IAA) 含量水平起着关键作用,而体内 IAA 含量水平直接关系到花药营养物质的积累和运转,不育系花药中过氧化物酶活性的增强将促进花药内源激素 IAA 的氧化分解,影响营养物质的合成和运输。因此,雄性不育系花药中过氧化物酶的增强亦是导致雄性不育的一个重要因素。

参考文献:

[1] Martin J A. Several types of sterility in capsicum frutescens [J]. Proc Amer Soc Hort Sci, 1951, 57: 335- 338.

[2] Homer H. Microsporogenesis in normal and cytoplasmic male sterile pepper[J]. American Journal of Botany, 1973, 60(4) : 7.

[3] 吴鹤鸣,余建明,赵华仑,等. 羊角椒雄性不育系与保持系的细胞学观察[J]. 江苏农业学报, 1988, 4(2) : 35- 38.

[4] 耿三省,王志源,蒋建箴,等. 辣椒雄性不育系小孢子发生的细胞学观察[J]. 园艺学报, 1994, 21(2) : 165- 169.

[5] Laser K D, Lerstern N. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms[J]. Bot Rev, 1972, 38: 425- 454

[6] 张成合,刘世雄,申书兴,等. 核不育大白菜花粉败育观察初报[J]. 河北农业大学学报, 1993, 16(4) : 9- 13.

[7] 黄厚哲. 植物生长素亏损与雄性不育的发生[J]. 厦门大学学报, 1994, 23(1) : 82- 96

[8] 夏涛. 玉米细胞质雄性不育与植物激素关系的研究[A]. 见: 中国科学技术学会首届青年学术年会论文集[C]. 北京: 中国科学出版社, 1983. 128- 158.

[9] 中国科学院遗传研究所四所二组. 细胞质雄性不育系高粱及可育相似体的细胞化学初步研究[J]. 遗传学报, 1976, 3(2) : 156- 158.