

# 低温预处理对辣椒花药内源激素变化的影响

张菊平<sup>1,2</sup>, 巩振辉<sup>2</sup>, 张兴志<sup>1</sup>

(1. 河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003; 2. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**应用 ELISA 方法测定了辣椒花药低温预处理过程中内源激素 IAA 和 ABA 含量。结果表明:低温预处理改变了花药内源 IAA 和 ABA 含量,阻断了花粉原来的发育方向,使其由配子体的发育途径转向孢子体的发育途径。

**关键词:**辣椒;花药;内源激素;低温预处理  
**中图分类号:**S 641.304<sup>+</sup>.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2008)11—0005—03

低温预处理可以明显提高花粉愈伤组织的产量,这在烟草、水稻、大麦、马铃薯等多种植物中已得到证实。但对于低温预处理的机理,至今研究报道很少。Sunderland 等发现烟草在低温贮藏过程中花药内源 ABA 含量上升,认为低温预处理有助于花粉由配子体途径转向孢子体途径发育<sup>[1]</sup>。但黄斌在大麦花药培养中发现低温预处理对花药内源 ABA 含量无影响<sup>[2]</sup>,曾推测经过低温预处理的花药内源激素有变化,进而影响花粉愈伤组织的形成。徐武等推测低温预处理改变了花药内源 IAA 和 iPA 含量,阻断了花粉原来的发育方向,使其由配子体的发育途径转向孢子体的发育途径<sup>[3]</sup>。左秋仙等认为低温前处理可能在花粉的启动和早期细胞分裂中起重要作用<sup>[4]</sup>。但辣椒花药内源激素的研究相对较少,因而对内源激素的改变影响花粉发育途径的机制探讨则难以深入。利用酶联免疫吸附法(ELISA)测定了辣椒花药在低温预处理过程中 IAA 和 ABA 两种内源激素含量的变化,试图进一步探讨低温预处理在花粉由配子体途径向孢子体途径发育转化过程中的作用机理,为研究植物细胞的分化与发育提供一条新途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

所用材料为花药培养易出胚状体的辣椒品种 P60 和 P51。

### 1.2 方法

1.2.1 样品制备 根据辣椒小孢子发育时期与花蕾形态相关性的结论<sup>[5]</sup>,选取花粉粒处于单核靠边期的花

蕾,放入铺有一层湿润滤纸的培养皿中,并用封口膜封口,置于 4℃冰箱中分别进行 1、2、3、4、5、6、7 d 的低温预处理,之后剥取花药,以没有低温处理的花药为对照(CK),同时取花蕾 4℃处理 3 d 后接种于培养基(MS+0.1 g·L<sup>-1</sup> NAA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> KT+0.8% Agar+3% Suc+0.2% AC)上生长 50 d 的花药,称重,用锡箔纸包裹,液氮速冻,-70℃超低温冰箱保存备用。

1.2.2 样品激素的提取和测定 按中国农业大学生物技术学院开发的(ELISA)试剂盒所附的测定方法,提取和测定花药内 IAA 和 ABA 两种内源激素的含量。

### 1.3 数据分析

采用 Excel 分析软件进行数据处理分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温预处理时间对于花药反应频率的影响

表 1 P60 和 P51 在不同低温预处理时间下的花药反应频率

基因型	低温预处理天数							
	0	1	2	3	4	5	6	7
P60	72.5	88	97	97.3	98	97	68	48
P51	68.6	72	88	99	100	98	86	52

从表 1 可知,未经 4℃低温预处理的花药反应频率较低,P60 为 72.5%,P62 为 68.6%。随预处理时间加长,反应频率逐渐升高,到 4 d 时花药反应频率达最大,之后随着处理时间的延长,反应频率逐渐反而降低,到 7 d 时只有近 50%。

### 2.2 低温预处理过程中辣椒花药内源 IAA 的变化

P60 和 P51 两个基因型在取材时 IAA 含量相差很多。P60 和 P51 两个材料在低温预处理过程中 IAA 的动态变化从 3 d 后大致相同,均表现为随低温保存时间的延长,IAA 含量先降后升。在 3 d 前 P51 表现明显下降,而 P60 则明显的提高。尽管二者差异较大,但经过 7 d 低温预处理之后,两者含量几乎相同(图 1)。

### 2.3 低温预处理过程辣椒花药内源 ABA 的动态变化

第一作者简介:张菊平(1968-),河南汝阳人,女,博士,副教授,主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究工作。E-mail: jupingzhang@163.com。

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD01A7);西北农林科技大学植物育种专项资助项目(05YZ024.1)。

收稿日期:2008-06-10

P60 和 P51 的内源 ABA 含量随低温预处理时间延长而表现出较为平稳的波动式变化, 低温预处理的花药 ABA 含量总比对照低。在低温预处理前以及预处理过程中 P60 的 ABA 含量都明显高于 P51, 说明 ABA 的含量存在明显的基因型差异(图 2)。

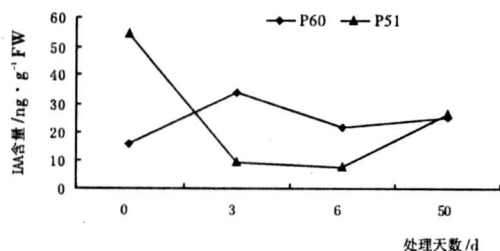


图 1 低温预处理过程辣椒花药内源 IAA 的变化

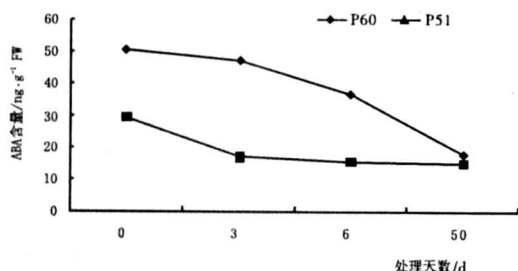


图 2 低温预处理过程辣椒花药内源 ABA 的变化

### 3 讨论

低温预处理可以明显提高花粉的出愈率。这在烟草、水稻、大麦等多种植物中都已得到证实。低温预处理的一种可能的作用机制是: 一段时间的低温环境改变了花药内的 IAA 含量, 阻断了花粉原来的发育方向, 使其由配子体的发育途径转向孢子体的发育途径, 从而在培养过程中表现为花药反应频率的升高。Loschitto 提出生长素在任何时候对发育方向的重新决定都是必需的, 因为高生长素使细胞 DNA 高甲基化, 而高甲基化则可消除以前的分化程序。

植物激素几乎参与了植物生长过程中所有生理调节, 包括从组织的生长、分化到种子休眠、果实发育、性别的分化以及衰老、抗逆性等等。细胞分裂素能够促进细胞分裂生长, 促进芽的分化, 而植物生长素则促进植物愈伤组织的形成和根的发生, 所以, 调控植物组织培养过程中细胞分裂素与生长素之间的合理比值, 有助于实现各阶段的培养目的, 并取得理想效果<sup>[6]</sup>。ABA 在雄核诱导中的作用之一可能是细胞死亡的抑制剂<sup>[7]</sup>。而 Wang 等认为 ABA 的作用至少表现在以下两个方面: 防止小孢子的死亡, 从而增加有活力小孢子的数量; 抑制小孢子进一步发育成成熟花粉<sup>[8]</sup>。

Kiyosue 等和 Rajasekaran 等认为相对高的内源 ABA 含量与狼尾草、胡萝卜细胞高的胚胎发生潜力有相关关系<sup>[9,10]</sup>。但 Hoekstra 等认为大麦在预处理过程中 ABA 合成抑制剂的添加负面影响再生效率<sup>[11]</sup>。Reynolds 等论证了 ABA 含量的增加与在发育中的花粉胚状体早期金属硫蛋白基因的表达直接正相关<sup>[12]</sup>。skum 等提出花蕾冷处理 48~96 h, 花药中 ABA 含量始终比没处理对照花药的低。大多数胚是从对照花药中获得的。花药中 ABA 含量不是从辣椒花药获得胚的唯一因素<sup>[13]</sup>。

花药接种前一般采用低温处理。将花药置于 5~8℃冰箱中处理适当的时间, 诱导率会明显提高, 其原因是低温处理影响了细胞的有丝分裂, 使花粉细胞改变了正常的发育途径, 从而促进了花粉的脱分化, 但低温处理时间过长, 花药失水, 养分不断消耗, 其诱导率也会降低。花药在接种以后, 是否产生胁迫应急 ABA 还不清楚, 有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Sundekand N, Wang T L, Francis R et al. Stress pretreatment and endogenous ABA levels in tobacco anthers//[C]. 71st John Innes Annual Report, 1980: 68-69.
- [2] 黄斌. 大麦花药培养中低温预处理对花粉愈伤组织形成的影响[J]. 植物学报, 1985, 27(3): 439-443.
- [3] 徐武, 李明, 张敬, 等. 低温预处理过程中大麦花药内源激素的变化[J]. 遗传学报, 1997, 24(2): 165-169.
- [4] 左秋仙, 李淑媛, 林自安, 等. 马铃薯花粉粒的分离培养和愈伤组织的形成[J]. 马铃薯杂志, 1990, 4(1): 19-22.
- [5] 张菊平, 巩振辉, 刘珂珂, 等. 辣椒小孢子发育时期与花器形态的相关性[J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(3): 153-158.
- [6] 夏时云, 麦瑜玲, 许继勇, 等. 红掌叶片离体培养过程中内源激素含量的变化[J]. 华北农学报, 2006, 21(3): 16-18.
- [7] van Bergen S, Kottenhagen M J, van der Meulen R M, et al. The Role of Abscissic Acid in Induction of Androgenesis: A Comparative Study Between *Hordeum vulgare* L. Cvs. Igri and Diggef[J]. Journal of Plant Growth Report, 1999, 18(3): 135-143.
- [8] Wang M, van Bergen S, Duijn B V. Insights into a key developmental switch and its importance for efficient plant breeding[J]. Plant Physiology, 2000, 124: 523-530.
- [9] Kiyosue T, Nakajima M, Yamaguchi I et al. Endogenous levels of abscisic acid in embryogenic cells non-embryogenic cells and somatic embryos of carrot (*Daucus carota* L.)[J]. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1992, 188(5): 343-347.
- [10] Rajasekaran K, Hein M B, Davis G C, et al. Endogenous growth regulators in leaves and tissue culture of *Pennisetum purpureum* Schum[J]. Journal of plant physiology, 1987, 130(1): 13-25.
- [11] Hoekstra S, van Bergen S, van Brouwershaven I R, et al. Androgenesis in *Hordeum vulgare* L.: Effects of mannitol, calcium and abscisic acid on anther pretreatment[J]. Plant Science, 1997, 126(2): 211-218.
- [12] Reynolds T L, Crawford R L. Changes in abundance of an abscisic acid-responsive early cysteine-labeled metallothionein transcript during pollen embryogenesis in bread wheat (*Triticum aestivum*) [J]. Plant

# 三种豆科植物种子萌发特性的研究

廖建良<sup>1</sup>, 贺握权<sup>2</sup>, 许灿英<sup>1</sup>, 尹艳<sup>1</sup>

(1. 惠州学院 生命科学系 广东 惠州 516015; 2. 广东教育学院 生物系 广东 广州 510303)

**摘 要:**通过温度、光照、浸种时间及发芽床对3种豆科植物种子萌发影响的研究。结果表明:绿豆种子萌发温度以15~25℃为最佳;阴暗条件比光照条件下萌发速度更快;浸种6~10 d可极显著地提高发芽数;发芽床以纸上和纸间为最佳。大豆种子萌发温度以20℃为最佳;阴暗条件比光照条件下萌发速度更快;浸种6 d可显著地提高发芽数;发芽床以黄壤土为最佳。豇豆种子萌发温度以15℃为最佳;浸种2~3 d可显著地提高发芽数,阴暗条件比光照条件下萌发速度更快,发芽床以黄壤土为最佳。

**关键词:**豆科植物;种子萌发;绿豆;大豆;豇豆

**中图分类号:**S 52 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2008)11—0007—04

绿豆(*Vicia radiatus* L.)营养价值高,含有丰富的蛋白质、淀粉、矿物质、多种维生素和氨基酸,可被用于制作植物蛋白饮料和绿豆芽饮料、绿豆糕、杏仁饼等产品<sup>[1]</sup>;而大豆(*Glycine max* Merrill, 亦称为黄豆)种子的蛋白质、氨基酸含量高、能抗癌、大豆磷脂具有降血脂、可防中风等优良品质<sup>[2]</sup>;袁华玲研究了青霉素对豇豆种

子萌发及下胚轴生长的影响<sup>[3]</sup>;豇豆[*Vigna unguiculata* W. ssp. *sesquipedalis*(L.) Verd.], 别名豆角、长角豆、带豆、裙带豆,种中能形成长形豆荚的栽培种,1 a生缠绕草本植物,豇豆具有能使人头脑宁静、调理消化系统,消除胸膈胀满、可防治急性肠胃炎、呕吐腹泻、还有解渴健脾、补肾止泻、益气生津等功效。贾振伟、赵志强研究了温度对野生大豆种子萌发的影响<sup>[4]</sup>。李益锋等研究了梔子种子在不同温度、光照、浸种时间及发芽床下的萌发特性<sup>[5]</sup>;绿豆、大豆、豇豆均为豆科1 a生草本植物,在我国各地广泛分布,是我国广大地区主栽的粮、菜兼用作物,是有重要开发利用价值的植物资源。对于绿豆、大豆、豇豆等种子在广东惠州地区不同温度、光照、浸种

**第一作者简介:**廖建良(1965-),男,广东紫金县人,硕士,副教授,惠州学院生命科学系副主任,主要从事植物学教学及研究工作。  
E-mail: liaojl@hzu.edu.cn.  
**基金项目:**广东省科技计划资助项目(2007B020711001)。  
**收稿日期:**2008-05-24

Molecular Biology, 1996, 32(5): 823-829.

[13] skum D, Tipirdamaz R, Ellialtioglu S. The relationship between the endogenous absisic acid content of anthers and in vitro androgenesis in peppers (*Capsicum annuum* L)[J]. Acta Horticulturae, 2001, 560: 327-329.

## The Effect of Low Temperature Pretreatment on Variation of Endogenous Hormones of Pepper Anther

ZHANG Ju-ping<sup>1,2</sup>, GONG Zhen-hui<sup>2</sup>, ZHANG Xing-zhi<sup>1</sup>

(1. College of Forestry, Henan University of Science and Technology, Luoyang Henan 471003 China; 2. College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** We assayed the content of endogenous hormones IAA and ABA of barley anther in the process of the pretreatment using ELISA (Enzyme Linked Immunaborbent Assay) method. On the basis of results of our test, we suggest that low temperature pretreatment changes content of endogenous IAA and ABA of anther, thus interrupts previous developmental direction of pollen and induces microspores develop from a gametophytic way to a sporophytic way.

**Key words:** Pepper(*Capsicum annuum* L.); Anther culture; Endogenous hormones; Low temperature pretreatment