

番茄温敏雄性不育系 T-4 生理生化特性研究

王先裕¹, 梁聪耀¹, 邓廖芬¹, 于分弟¹, 刘政国¹, 黄元姣²

(1. 广西大学 农学院, 广西 南宁 530005; 2. 广西医科大学, 广西 南宁 530005)

摘 要:以温敏型雄性不育系 T-4 及保持系 First 为试材, 通过观察花粉发芽情况、统计果实种子数、观察花器官, 并测定花药内脯氨酸、淀粉及可溶性糖含量, 探究不同温度处理条件下, 番茄生殖生长期不育系与保持系生理生化特性差异。结果表明: T-4 在昼 28℃/夜 18℃的可育温度条件下花粉发芽率、果实种子数、脯氨酸、淀粉及可溶性糖含量均高于昼 28℃/夜 24℃及昼 28℃/夜 12℃的不育温度条件下的处理; 与保持系 First 不存在显著差异。

关键词:番茄; 雄性不育; 花粉育性; 脯氨酸; 淀粉; 可溶性糖

中图分类号: S 641.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)15-0029-03

植物雄性不育基因在表达过程中包括一系列物质代谢和能量代谢, 涉及各种复杂的生理生化反应。国内外对苕麻^[1]、萝卜^[2]、水稻^[3]、玉米^[4]、辣椒^[5]、大白菜^[6]等作物雄性不育的生理生化特性进行了广泛的研究, 发现在败育过程中蛋白质、核酸、氨基酸、同工酶、可溶性糖等物质发生了变化。雄性不育性与碳水化合物代谢的严重破坏有关, ms 株的花药和成熟花粉几乎完全不含淀粉。这已在小麦、玉米、水稻、高粱、黑麦、胡萝卜、向日葵等许多植物中得到证实。有关脯氨酸含量与植物雄性不育性的关系已有人做了大量研究, 在 CMS 水稻、高粱、小麦、玉米、甜菜、矮牵牛、番茄、辣椒、萝卜、NMS 小麦、花椰菜、水稻^[7-8]和烟草^[9]中均发现不育花药游离脯氨酸含量比可育花药中低得多。众多研究结果表明, 植物正常发育的花药和花粉在发育过程中会积累一些物质, 如核酸、蛋白质、碳水化合物(可溶性糖和淀粉)和某些氨基酸等, 而不育系花药或花粉则相对缺乏。而目前有关番茄温敏型雄性不育系物质代谢的研究还鲜有报道。鉴于此, 该试验在人为控温条件下对番茄温敏型雄性不育系和可育系花药的花粉发芽率、可溶性糖、淀粉及脯氨酸的含量进行了比较分析, 探索其与番茄雄性不育性的关系, 旨在为深入研究番茄温敏雄性不育机理提供生理生化的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为番茄温敏型雄性不育系 T-4 及对照 First。

第一作者简介: 王先裕(1962-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向为蔬菜育种。E-mail: wang12261962@yahoo.com.cn。

基金项目: 国家科技部国际合作资助项目(2006DFA33380); 广西科技厅科学研究与技术开发计划资助项目(0718007B-38); 南宁市青秀区科学技术局科技攻关与新产品试制资助项目(20080211B); 桂林市科技攻关与新产品试制资助项目(20100112-1)。

收稿日期: 2011-04-28

T-4 是由原种 First 经 γ 射线辐照后所得的变异突变体, 由日本冈山大学农学部作物繁殖研究室榭田正治教授提供。

1.2 试验方法

番茄温敏型雄性不育系 T-4 在广西大学农学院玻璃实验室内播种, 当植株长到 4 片真叶后放入人工气候箱中进行控温处理, 共设 3 个处理, 处理的温度分别为昼 28℃/夜 24℃, 昼 28℃/夜 18℃以及昼 28℃/夜 12℃, 每天光照 12 h(07:00~19:00), 湿度为 70%。每个处理共 4 株, 对照为 First, 3 次重复。

1.2.1 花粉的发芽培养 一般于上午 8:00~10:00 采集当天开放的花。用镊子取花朵, 置于干净器皿中, 并做好标记。吸取 2 滴花粉培养基(花粉培养基: H_3BO_3 50 mg/L, $CaCl_2$ 100 mg/L 以及 Sucrose 100 g/L)滴于玻片凹槽内, 把花粉轻轻抖落于培养基上, 置于 25℃的培养室中培养 2 h, 其间要添加培养基, 避免培养基干涸影响花粉的萌发。然后在电子显微镜下观察花粉发芽情况, 选取 5 个视野观察花粉, 记录观察区域的花粉发芽数及花粉总数, 计算出花粉发芽率。

1.2.2 测定果实种子数 于果实成熟期, 每个处理各取 9 个果, 统计种子数。

1.3 测定项目与方法

待其开花后, 借助显微镜观察当天开放花朵的花粉发芽率, 并观察其花器官; 同时取其花药, 测定脯氨酸、淀粉及可溶性糖的含量。可溶性糖和淀粉测定采用乙醇提取, 硫酸蒽酮比色法; 游离脯氨酸测定采用酸性茚三酮法^[10]。

2 结果与分析

2.1 不同温度处理下 T-4 及对照 First 的花器官比较

从图 1~4 可看出, 昼 28℃/夜 24℃和昼 28℃/夜 12℃的花药比较瘦小, 不饱满, 尤其昼 28℃/夜 12℃的植株, 部分花的花柱较长。昼 28℃/夜 18℃ T-4 的花和 First 的花, 花药饱满, 花粉发芽率高。说明在昼



图1 昼 28°C/夜 24°C 时 T-4 的花
Fig. 1 The flower of T-4 at day 28°C/night 24°C



图2 昼 28°C/夜 18°C 时 T-4 的花
Fig. 2 The flower of T-4 at day 28°C/night 18°C

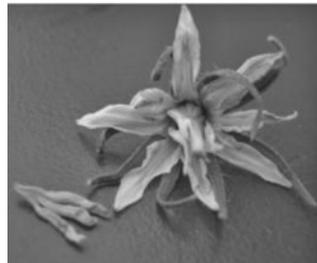


图3 昼 28°C/夜 12°C 时 T-4 的花
Fig. 3 The flower of T-4 at day 28°C/night 12°C

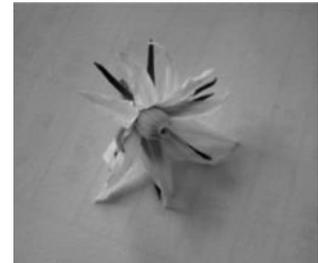


图4 对照 First 的花
Fig. 4 The flower of the control 'First'

28°C/夜 24°C 和昼 28°C/夜 12°C 的处理下, T-4 表现为雄性不育; 昼 28°C/夜 18°C 处理下, T-4 恢复部分育性表现为可育。

2.2 不同温度处理下 T-4 与 First 的生理生化指标的差异

2.2.1 花粉发芽率 由表 1 可知, 不同温度处理间差异很大, 对照 First 发芽率高, 一般都在 66% 以上。在昼 28°C/夜 24°C 及昼 28°C/夜 12°C 时, T-4 和对照 First 的花粉发芽率存在显著差异, 可以看出 T-4 在这 2 个处理时, 花粉发芽率很低, 说明 T-4 表现为不育。日本冈山大学农学部作物繁殖研究室榊田正治教授研究得知, T-4 的育性受到夜温的影响, 在高于 12°C、低于 18°C 的夜温条件下可恢复部分育性且实现自身繁殖^[11]。通过数据比较可知, T-4 在昼 28°C/夜 18°C 时的花粉发芽率与夜温分别为 12°C 及 24°C 的发芽率存在显著差异, 与对照 First 不存在显著差异, 说明恢复了部分育性, 可以实现自身的繁殖。该试验结果和榊田正治教授研究的结果基本一致。

2.2.2 果实种子数比较 在昼 28°C/夜 24°C 及昼 28°C/夜 12°C 时, T-4 和对照 First 的果实种子数存在显著差异。而在昼 28°C/夜 18°C 时, T-4 和对照 First 的表现基本一致, 不存在显著差异, 说明此时的 T-4 恢复部分可育。这与上述的结论一致。

2.2.3 脯氨酸含量比较及与花粉育性的关系 许多研究表明, 从四分小孢子时期, 正常花药就开始迅速积累游离脯氨酸, 这一过程延续到接近花粉粒成熟^[12], 游离脯氨酸是花粉代谢活动中一种极活跃的物质, 不育系花药中游离脯氨酸缺乏与花粉败育密切相关。从数据分析可知, T-4 在昼 28°C/夜 18°C 时的脯氨酸含量显著高于另 2 个温度处理, 且接近对照 First 的水平。花药中游离脯氨酸含量同花粉发芽率的关系: 以花粉发芽率作为花粉育性的数量指标进行相关分析。结果表明, 花药中游离脯氨酸含量同花粉发芽率呈极显著正相关, $r=0.98^{**}$ 。推测番茄花药游离脯氨酸含量同花粉育性有极密切关系。花药游离脯氨酸含量同果实种子数的关系: 对 T-4 及对照 First 的花药游离脯氨酸含量和单果平均种子数进行相关分析, 结果表明, 二者呈不显著正相关, $r=0.73$ 。该结论与柑桔游离脯氨酸含量与单果平均种子数呈极显著正相关关系的结论不尽相同^[13]。

2.2.4 淀粉、可溶性糖含量的比较 由表 1 可看出, 可育温度下的昼 28°C/夜 18°C 时的淀粉、可溶性糖含量显著高于不育条件下的昼 28°C/夜 24°C 及昼 28°C/夜 12°C 时的含量。且夜温为 18°C 时的淀粉、可溶性糖含量与对照 First 相当, 差异不显著。结果表明, 不育株花蕾(花药、花粉)中可溶性糖含量低于可育株^[14], 该结果与前人的结论一致。

表 1 不同温度处理下 T-4 与 First 各项生理生化指标的差异分析

Table 1 Difference analysis of physiological and biochemical properties of T-4 and First under different temperature

处理温度(昼/夜) Treatment temperature (day/night)	名称 Name	花粉发芽率 Pollen of germination rate/%	单果平均种子数 /粒	脯氨酸 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	淀粉 /%	可溶性糖 /%
28°C/24°C	First	69.76a	38.14b	562.68ab	2.87ab	1.17a
	T-4	23.82b	2.94c	24.16c	1.67c	0.71b
28°C/18°C	First	70.90a	132.64a	641.52a	3.22a	1.18a
	T-4	64.11a	122.66a	407.49b	2.47b	1.07a
28°C/12°C	First	68.67a	65.58b	555.78ab	2.83ab	1.15a
	T-4	30.15b	6.35c	50.12c	1.85c	0.73b

3 结论与讨论

3.1 脯氨酸含量变化与温敏型雄性不育的关系

富含脯氨酸是正常花粉的重要特征, 在花粉中与含量丰富的碳水化合物互相配合, 具有提供营养、促进

花粉发育、发芽和花粉管伸长的作用, 是花粉代谢活动中一种极活跃的物质, 且可直接用于蛋白质的合成。不育系花药中脯氨酸的降低或缺乏, 必然导致花粉的正常发育受阻, 花粉败育的产生^[15]。对烟草、茄子、甜椒、棉花和小麦的研究均表明, 不育系花药内完全没有

脯氨酸或脯氨酸含量明显低于保持系,花药内的游离脯氨酸含量与其雄性育性呈正相关,可以作为花粉粒及花粉育性的指标,脯氨酸缺乏是植物雄性不育系花粉败育的原因^[16-20]。

根据前人研究可知,不育系花药的脯氨酸含量低于可育系。试验对游离脯氨酸的研究结果与前人一致。不育条件下夜温为 12℃ 及 24℃ 花药的脯氨酸含量显著低于可育条件下夜温为 18℃ 处理的含量。

3.2 淀粉和糖含量变化与温敏型雄性不育的关系

小孢子发育和形态建成需要正常的物质代谢和能量供应,光合产物运输到花药后,尤其在花药的药室内壁和中层细胞中有大量的淀粉积累^[21],淀粉在淀粉酶的催化下转化为可溶性糖,供花粉发育所需。同时大量研究表明,植物器官中物质代谢的异常与植物的雄性不育有关^[13,22-24]。糖类是输入花药的主要营养物质,缺糖会导致苜蓿^[25]、萝卜^[26]和棉花^[27]等的小孢子败育。该研究结果与前人一致,可育条件下夜温为 18℃ 时淀粉和糖的含量均高于不育条件下夜温为 12℃ 及 24℃ 的含量。

参考文献

- [1] 宋军,张中华,潘光堂.苜蓿雄性不育材料的生理生化特性初探[J].热带亚热带植物学报,2007,15(5):428-432.
- [2] 梁艳荣,胡小红,陈源闽,等.胡萝卜雄性不育系生理生化特性研究[J].华北农学报,2006,21(3):19-22.
- [3] 陈静,吕金海.水稻雄性不育机理的研究进展[J].中国农学通报,2001,17(3):69-70.
- [4] 夏涛,刘纪麟.玉米细胞质雄性不育系物质代谢系统的研究[J].华中农业大学学报,1993(12):1-6.
- [5] 邓明华,文锦芬,邹学校,等.辣椒细胞质雄性不育系的物质代谢和过氧化物酶分析[J].云南农业大学学报,2007(6):791-794.
- [6] 张凤兰,冯忠梅,张德双,等.大白菜新型细胞质雄性不育生理生化机制的研究[J].华北农学报,2007,22(5):101-105.
- [7] 刘忠松,官春云,陈社员.植物雄性不育机理的研究及应用[M].北京:中国农业出版社,2001.
- [8] Kaul M L H. Male sterility in higher plants[M]. Berlin: Springer-Verlag,1988.
- [9] 刘齐元,朱肖文,刘飞虎,等.烟草游离脯氨酸含量与雄性不育性的关系[J].烟草科技,2007(5):58-61.

- [10] 朱广廉,邓兴旺.植物体内游离脯氨酸的测定[J].植物生理通讯,1983(2):35-37.
- [11] Masuda M, Kato K, Murakami K, et al. Partial fertility restoration as affected by night temperature in a male-sterile T-4 mutant tomato, *Lycopersicon esculentum* L. [J]. Japan. Soc. Hort. Sci, 2007, 76: 41-46.
- [12] 朱广廉,邓兴旺,左卫能,等.太谷核不育小麦花药内游离脯氨酸含量的变化及其与育性的关系[J].植物学报,1984,26(6):616-622.
- [13] 孙日飞,方智远,张淑江,等.萝卜胞质大白菜雄性不育系的生化分析[J].园艺学报,2000,27(3):187-192.
- [14] 刘建军,陈克玲,漆巨容,等.柑桔花药中游离脯氨酸含量与花粉育性的关系研究[J].中国柑桔,1992,21(4):7-9.
- [15] 朱广廉,曹宗巽.花粉中的游离脯氨酸及生理功能[J].植物生理学通讯,1985(4):7-12.
- [16] 刘齐元,朱肖文,刘飞虎.烟草雄性不育花蕾发育过程中几种物质含量的变化[J].江西农业大学学报,2007,29(3):336-340.
- [17] 郭丽娟,申书兴,张成合,等.茄子雄性不育系的可溶性糖、淀粉、氨基酸分析[J].河北农业大学学报,2004,27(4):34-36.
- [18] 刘金兵,侯喜林,王述彬.甜椒胞质雄性不育(CMS)系及其保持系花药中游离氨基酸含量[J].江苏农业学报,2006,22(1):68-70.
- [19] 宋宪亮,孙学振,刘英欣.棉花 ms5 ms6 核雄性不育花药中碳水化合物和游离氨基酸的变化[J].棉花学报,2001,13(6):334-336.
- [20] 朱广廉,孙超,曹宗巽.太谷核不育小麦可育花药内游离脯氨酸的来源、利用及与不育花药败育的关系[J].植物生理与分子生物学报,1985,11(2):122-129.
- [21] 李正理.棉花形态学[M].北京:科学出版社,1979.
- [22] Wu F S, Murry L E. Changes in protein and amino acid content during anther development in fertile and cytoplasmic male sterile petunia [J]. Theor Appl Genet, 1985, 71: 68-73.
- [23] 王淑华,魏毓棠,冯辉.大白菜雄性不育株与可育株花蕾生理生化特性比较分析[J].沈阳农业大学学报,1998,29(2):132-137.
- [24] 冯义军.哈克尼西棉雄性不育胞质对杂种一代某些生理生化指标的影响[J].作物学报,1993,19(1):17-22.
- [25] 宋军,张中华,潘光堂.苜蓿雄性不育材料的生理生化特性初探[J].热带亚热带植物学报,2007,15(5):428-432.
- [26] 张丽,李霄燕,魏毓棠,等.萝卜雄性不育小孢子发育过程中物质代谢的研究[J].安徽农业科学,2002,30(3):326-327.
- [27] 宋宪亮.陆地棉双隐性不育系(ms5 ms6)花药发育过程中 POD 活性和内源激素动态变化初探[J].中国农业科学,2003,36(7):861-863.

(注:该文作者还有杜永臣,单位为中国农业科学院蔬菜花卉研究所;曾东,单位为广西壮族自治区人民政府)。

Studies on Physiological and Biochemical Characters in Thermo-sensitive Male Sterile Line Tomato *Solanum lycopersicum* L. T-4

WANG Xian-yu¹, LIANG Cong-yao¹, DENG Liao-fen¹, YU Fen-di¹, LIU Zheng-guo¹, HUANG Yuan-jiao², DU Yong-chen³, ZENG Dong⁴
(1. College of Agricultural, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004; 2. Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530004; 3. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; 4. Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530004)

Abstract: Take thermo-sensitive male sterile tomato line 'T-4' and maintainer line 'First' as the material, and researches on physiological and biochemical properties of male-sterile line and maintainer under different temperature, by observing pollen germination, floral organ, counting seeds number, and measuring the contents of proline, starch, as well as soluble sugar respectively in anthers during the reproductive stage were conducted. The results showed that pollen germination, seeds number, the proline, starch and soluble sugar content of 'T-4' in fertile conditions (at day 28℃/night 18℃) were respectively significantly higher than those which were in sterile conditions (at day 28℃/night 24℃ and day 28℃/night 12℃). There were no significant differences between 'T-4' and maintainer line 'First'.

Key words: tomato; male sterile; pollen fertility; proline; starch; soluble sugar