

doi:10.11937/bfyy.20173823

簇生朝天椒雄性不育系及保持系的花器官及生理特性研究

姜 童, 付 翔, 王 辉, 杨 延 杰, 林 多

(青岛农业大学 园艺学院, 青岛市园艺植物遗传改良与育种重点实验室, 山东 青岛 266109)

摘 要:以簇生椒不育系‘001A’和同型保持系‘002B’为材料,观察花器官的形态差异,研究不同器官和不同花蕾发育时期不育系与保持系的能量物质含量和保护酶活性的差异,以探索 CMS 型簇生椒物质代谢与雄性不育之间的关系,从理化方面研究簇生朝天椒不育系‘001A’的败育机理。结果表明:不育系‘001A’花药干瘪、无花粉、花器比正常花器小、柱头露出花药,而保持系‘002B’花药饱满,柱头不外露。不同植株器官和不同开花时期均存在保持系‘002B’中的游离脯氨酸、可溶性糖、蛋白质含量高于不育系‘001A’;各个开花时期不育系‘001A’的丙二醛含量高于保持系‘002B’,植株茎和叶的丙二醛含量表现则相反。辣椒不同植株器官均存在保持系‘002B’中的 CAT 活性高于不育系‘001A’,SOD 活性表现则相反;在各个开花时期不育系‘001A’的 POD、SOD 活性均显著高于保持系‘002B’,而不育系‘001A’的 CAT 活性显著低于保持系‘002B’。因此,不育系花药中营养物质的缺乏和保护酶间的异常,是导致簇生朝天椒 CMS 花粉败育的关键。

关键词:朝天椒;CMS;花器官;能量物质;保护酶

中图分类号:S 641.303.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)11-0022-05

辣椒(*Capsicum annuum* L.)属茄科辣椒属,簇生椒为辣椒中的一种类型,是一种重要的特色经济作物。雄性不育作为植物界中普遍存在的特殊生理现象,由于 CMS 这种类型的不育性既能筛选到保持系,又能找到恢复系,以实现“三系配套”^[1-2]。在辣椒育种上,通常通过三系配套高效的人工制种,以降低制种成本,提高效率,因此在杂交种选配中受到高度重视,研究辣椒雄性不育

具有重要的应用价值。一些国内学者对大白刺、甘蓝、芹菜等^[3-5]多种作物开展了雄性不育生理生化特征的研究,证明不育系与保持系存在较大的差异。孙立全等^[6]研究发现,在基础性代谢对辣椒不育材料和可育材料的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及可溶性糖、可溶性蛋白质和游离脯氨酸含量变化会影响花的育性。辣椒雄性不育类型主要包括细胞质雄性不育、细胞核雄性不育和核质互作雄性不育。刘金兵等^[7]对不同核背景下甜椒胞质雄性不育(CMS)系和相应保持系花药的全套游离氨基酸差异进行了分析,表明核遗传背景差异导致 3 份同质异核甜椒不育系花药中同种游离氨基酸含量间存在差异。随着三樱椒类型簇生朝天椒的栽培面积不段扩大,急需三系配套杂交种在生产上推广。该试验分析了簇生椒核质互作不育(CMS)系 100%雄性不育系和相应保持系的花器官形态及理化特性,以揭示簇生椒雄性不育系发

第一作者简介:姜童(1995-),男,硕士研究生,研究方向为蔬菜遗传育种与分子生物学。E-mail: 583944745@qq.com.

责任作者:林多(1973-),女,博士,教授,硕士生导师,现主要从事蔬菜遗传育种与分子生物学等研究工作。E-mail: linduo73@163.com.

基金项目:山东省农业良种工程资助项目(2016LZGC011);山东省农业重大应用技术创新资助项目(682214007);山东省自然科学基金资助项目(ZR2014CQ034)。

收稿日期:2018-03-01

生理理及生理指标差异,以期为该类型雄性不育的研究和利用提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

以簇生朝天椒 100%核质互作雄性不育系‘001A’和同型保持系‘002B’为试材,均由青岛农业大学园艺学院辣椒课题组提供。待盛花期选取植株茎、生长点下第一片叶片及以 4 个不同发育时期花蕾(第 1 时期:花蕾<1.5 mm;第 2 时期:小花 2.0~2.5 mm;第 3 时期:小花约 4.0 mm;第 4 时期:开花前 2 d)。

1.2 试验方法

簇生椒盛花期中每个材料选取 2~3 个典型单株分别观察测定花冠、花药大小、形状等。分别采摘植株茎、叶片及分级后的 4 个花蕾时期进行理化指标测定。

1.3 项目测定

游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮比色法测定,可溶性糖含量采用蒽酮法测定,可溶性蛋白质

含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定,丙二醛(MDA)含量采用 TBA 法测定^[8],过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定,过氧化氢酶(CAT)活性参照张治安等^[9]方法测定。

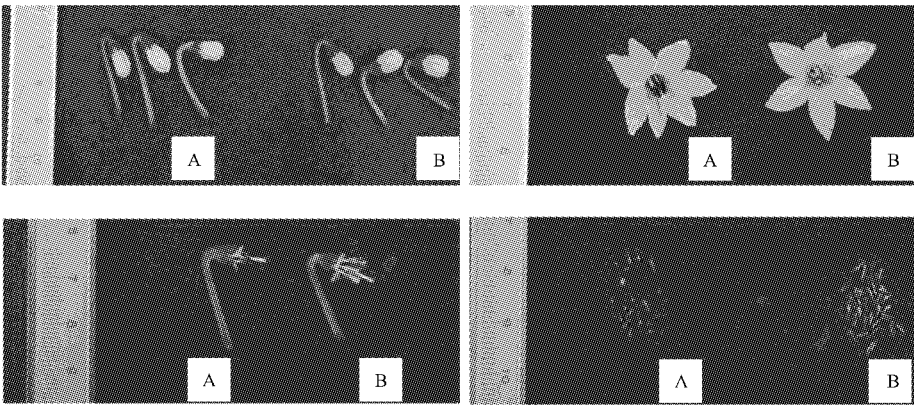
1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2007 和 DPS 软件进行统计分析处理。

2 结果与分 析

2.1 不育系与保持系花器官形态特征差异

图 1 对簇生椒雄性不育系及保持系的花粉形态特性进行了比较。簇生朝天椒 A 和 B 的花朵均有 6 片花瓣,呈白色,外形相同(图 1);A 花药干瘪,柱头露出花药,而 B 花药饱满,柱头不外露。A 无生活力的花粉,花器比正常花器小,这种植株为花药败育型。由表 1 可以看出,不育系‘001A’的花冠直径、花药粗度均小于保持系‘002B’,不育系‘001A’无花粉粒,而保持系‘002B’存在大量的花粉粒。



注:A:不育系‘001A’;B:保持系‘002B’。

Note: A, Sterile line ‘001A’; B, Mantainer line ‘002B’.

图 1 簇生椒不育系‘001A’和保持系‘002B’花器官比较

Fig. 1 Floral organ comparison between male sterile lines ‘001A’ and maintainer lines ‘002B’ of cluster pepper

表 1 簇生椒不育系‘001A’及保持系‘002B’花药形态特征

Table 1 Morphological characteristics of anther of pepper CMS line ‘001A’ and maintainer line ‘002B’

品系编号	花冠直径	花药粗度	花粉粒
Cultivar number	Corolla diameter/cm	Anther coarseness/cm	Pollen grains
‘001A’	2.599 2±0.133 8	0.346 7±0.014 3	无
‘002B’	2.650 1±0.074 7	0.401 0±0.031 2*	有

注: * 表示差异显著。

Note: * show significant difference.

2.2 不育系与保持系植株能量物质含量差异

由图2可以看出,在植株茎和叶中簇生椒雄性不育系‘001A’的可溶性糖含量高于保持系‘002B’,而游离脯氨酸含量与之相反,蛋白质含量并无显著差异。但是随着花蕾的不断发育,在花蕾的不同发育时期,不育系与保持系的可溶性糖含量变化趋势相似,花蕾第1时期到花蕾发育的第3时期呈上升趋势,尤其从第2时期开始,不育系与保持系的差距逐渐增大,从第4时期花蕾的可溶性糖含量呈下降趋势。从花蕾发育的第2时期开始,不育系蛋白质含量随花蕾的不断发育逐渐减少,而保持系蛋白质含量随花蕾的不断发育逐渐积累,不育系与保持系在不同的花蕾发育时期呈显著差异,因而不育系蛋白质含量的缺乏

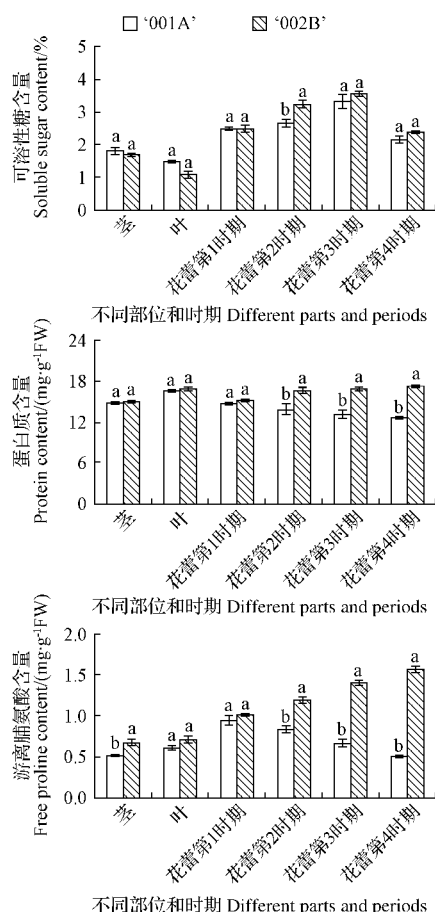


图2 簇生椒雄性不育系与保持系不同部位、不同时期能量物质含量差异

Fig. 2 The comparison of energy substance contents in different parts and periods between CMS line '001A' and maintainer line '002B'

及保持系含量的增加,有可能影响花蕾中小孢子的正常代谢。不育系与保持系花蕾中的游离脯氨酸含量变化规律各不相同,不育系随着花蕾的发育游离脯氨酸含量呈递减趋势,而保持系随着花蕾的发育游离脯氨酸含量则迅速积累,呈上升趋势。总体来看,在花蕾发育的各个时期保持系的可溶性糖、蛋白质、游离脯氨酸含量高于不育系。

2.3 不育系与保持系植株丙二醛含量

图3显示,簇生椒保持系‘002B’植株中叶和茎的丙二醛含量明显低于不育系‘001A’植株,而在花蕾的不同发育时期,二者的丙二醛含量变化相似,呈逐渐下降趋势,从花蕾的第2时期开始出现显著差异,且不育系植株的丙二醛含量始终高于保持系植株。

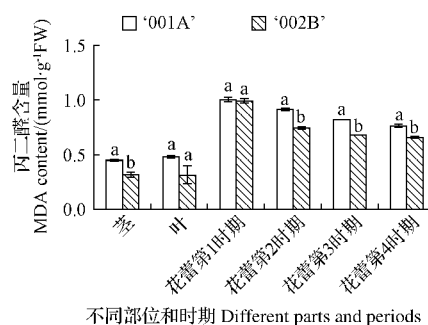


图3 簇生椒雄性不育系与保持系不同部位、不同时期丙二醛含量

Fig. 3 The comparison of MDA contents in different parts and periods between CMS line '001A' and maintainer line '002B'

2.4 不育系与保持系植株保护酶活性差异

图4表明,簇生椒雄性不育系‘001A’中茎和叶的POD活性与保持系‘002B’并无显著差异,SOD活性均高于保持系,而叶中的CAT活性不育系低于保持系。在花蕾各个时期不育系的POD活性呈上升趋势,而保持系中的POD活性呈下降趋势,保持系的POD活性低于不育系。POD活性对控制植物体内生长素含量水平起着关键的作用,随着POD活性的增强促进了花蕾内生长素的氧化分解,则造成花蕾生长素的亏缺,这可能会对小孢子的正常发育造成一定的影响。二者各个时期花蕾中的SOD活性为下降趋势,且不育系的SOD活性高于保持系,呈显著差异。而不育系与保持系CAT活性在不同的花蕾发育时期

的变化趋势与 POD 活性的变化趋势相反,保持系的 CAT 活性显著高于不育系。在辣椒不育系中 CAT 活性的降低会造成活性氧的积累,产生毒害作用,对小孢子的正常发育产生一定的影响。

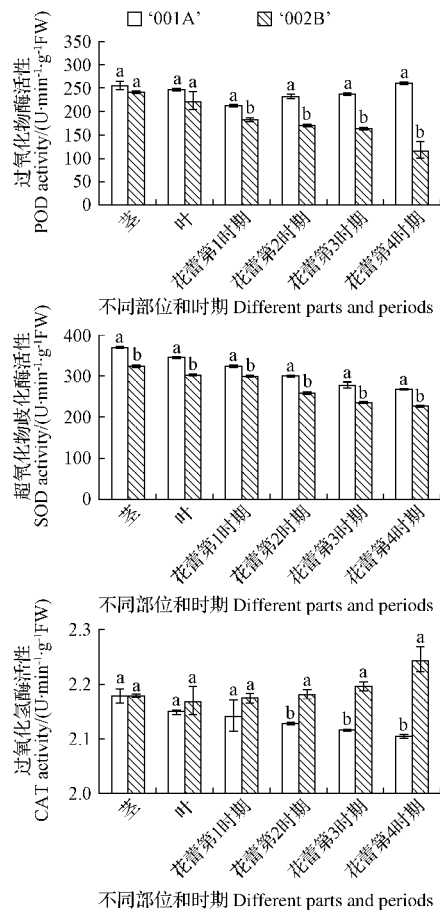


图 4 簇生椒雄性不育系与保持系不同部位、不同时期保护酶活性

Fig. 4 The comparison of protective enzyme activity contents in different parts and periods between CMS line '001A' and maintainer line '002B'

3 讨论与结论

植物正常发育的小孢子在发育过程中需要积累大量的蛋白质、氨基酸和糖类物质,一方面,这类营养物质虽然作为植物进行正常生长发育和生理代谢的必要功能物质,但是这些物质的亏损也可能对雄性不育的发生起到诱导作用。另一方面,酶的活性也作为衡量植物体内代谢强度的重要指标之一,植物中的膜脂过氧化对小孢子的发育也起着关键性的作用。该研究结果表明,簇生

椒雄性不育和雄性可育在植株、花药及花蕾形态存在显著差异,可能是由于植株体内游离脯氨酸、蛋白质、丙二醛、可溶性糖含量以及活性酶等重要组成成分的能量代谢变化而导致形态差异。游离脯氨酸、蛋白质、可溶性糖是植物正常生长发育和代谢物质信号,而膜脂过氧化产物丙二醛、过氧化物酶、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶均是植物体内清除活性氧的酶保护系统的重要组成部分,这些与植物的生理生化过程联系紧密。游离脯氨酸是花粉代谢活动中一种极活跃的物质^[10],从辣椒开花期的不同时期和不同器官比较来看,保持系随着花蕾的发育游离脯氨酸含量则迅速积累,呈上升趋势,其茎、叶及不同花蕾期的游离脯氨酸含量明显高于不育系,可能是由于在营养分配中出现障碍,导致花粉败育,与刘金兵等^[11]的结论一致。随着辣椒花蕾的发育,保持系在不同花蕾期的可溶性糖含量均高于不育系,在植株茎和叶的可溶性糖含量保持系低于不育系,可能是由于不育系中糖代谢紊乱,所需物质和能量供应不足,可能与花药败育有关。蛋白质是细胞的重要组成部分,随着小孢子的发育,保持系花蕾的各种代谢活动逐渐旺盛,这就需要多种酶和蛋白质的参与^[12],从花蕾发育的第 2 时期开始,不育系蛋白质含量随花蕾的不断发育逐渐减少,而保持系蛋白质含量随花蕾的不断发育逐渐积累,不育系与保持系在不同的花蕾发育时期呈显著差异,而植株的茎和叶中的蛋白质含量差异不显著,表明不育系中蛋白质代谢的变化对花粉败育产生一定的影响。丙二醛作为自由基作用于脂质发生过氧化反应的产物,衡量膜脂遭破坏程度,植株叶和茎的丙二醛含量明显低于不育系植株,而在花蕾的不同发育时期,不育系植株的丙二醛含量始终高于保持系植株,说明不育系花蕾中脂膜遭破坏程度比保持系的高,推测丙二醛含量的积累对花药的败育造成影响,与彭靖等^[13]研究结果一致。该研究簇生椒不同植株器官均存在保持系中叶的 CAT 活性高于不育系 '001A', SOD 活性低于不育系 '001A';而在花蕾发育的不同时期,不育系的 SOD 活性均显著高于保持系,与颜秀娟等^[14]研究结果一致。不育系的 POD 活性显著高于保持系,可能是不育系内源激素含量的变化或使激素平衡,致使物质代谢紊乱,引起雄性不育的发生,而 CAT 活性显著低于保持系,由于氧自由基

含量变化,膜脂结构受损而引起花药的败育,与前人结果一致^[15]。综上所述,认为不育系花药中营养物质的缺乏和保护酶活性间的异常,成为簇生朝天椒 CMS 花粉败育的重要因素。

参考文献

- [1] 吴峰,刘玉梅,孙德岭,等. 辣椒胞质雄性不育系与保持系生化特性研究[J]. 天津农业科学, 2008, 14(2): 50-52.
- [2] 石雅丽,张锐,任茂智,等. 棉花雄性不育的研究进展[J]. 生物技术进展, 2013(5): 328-335.
- [3] 窦振东,燕玲,刘哲荣,等. 大白刺雄性不育株超微结构和生理生化特性研究[J]. 干旱区资源与环境, 2013(12): 137-141.
- [4] 高国训,王武台,彭立新,等. 芹菜胞质雄性不育系与保持系生理生化特性分析[J]. 天津农业科学, 2013(8): 1-4.
- [5] 高营营. 结球甘蓝细胞质雄性不育系细胞学及生理生化分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [6] 孙立全,霍治军,常彩涛,等. 辣椒雄性不育系小孢子发育及脯氨酸等含量的研究[J]. 华北农学报, 2003, 18(4): 39-41.
- [7] 刘金兵,侯喜林,王述彬,等. 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.
- [8] 李合声,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 164-165.
- [9] 张治安,张美善,蔚荣海,等. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.
- [10] 刘齐元,朱肖文,刘飞虎,等. 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.
- [11] 刘金兵,侯喜林,陈晓峰,等. 甜椒胞质雄性不育系及其保持系生化特性研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 629-633.
- [12] 邓明华,邹学校,周群忻,等. 辣椒细胞质雄性不育系与保持系生化特性研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(6): 492-294.
- [13] 彭靖,巩振辉,黄炜,等. 辣椒雄性不育材料 H9A 小孢子败育机理[J]. 植物学报, 2010, 45(1): 44-51.
- [14] 颜秀娟,何鑫. 宁夏羊角椒雄性不育与膜脂过氧化和保护酶的关系初步研究[J]. 北方园艺, 2014(21): 34-36.
- [15] 王晓琳,王兰兰. 辣椒胞质雄性不育系与保持系的生理生化特性[J]. 甘肃农业大学学报, 2013, 12(6): 64-67.

Flower Morphological and Physiological Characters Between Male Sterile Line and Maintainer Line in Cluster Pepper

JIANG Tong, FU Xiang, WANG Hui, YANG Yanjie, LIN Duo

(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University/Key Laboratory of Genetic Improvement and Breeding of Qingdao, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: In order to explore the relationship between CMS metabolism and male sterility, the mechanism of the failure of the ‘001A’ was studied from the physiological and biochemical aspects. The cluster pepper sterile line ‘001A’ and their corresponding maintainer lines ‘002B’ were chosen as experimental material, either observations of both buds and anthers the cluster pepper were carried out, the changes of the content of energy substance and protective enzyme were determined at different development stage and organ. The results showed that, sterile line ‘001A’ was dry, no pollen and the flower device was smaller than the normal flower and the stigma was exposed to the anthers, the ‘002B’ was full and the stigma was not exposed. The contents of proline, soluble sugar and protein in sterile line ‘001A’ was significantly lower than that of in maintainer line ‘002B’ were determined at different development stage and organ. Malondialdehyde in each flowering period were higher in sterile lines ‘001A’ than maintainer lines ‘002B’, whereas malondialdehyde in plant stems and leaves vice versa. The activity of CAT in sterile line ‘001A’ was significantly lower than that of in maintainer line ‘002B’ were determined at different development organ, where as SOD in different development organ vice versa. The activities of POD and SOD in each flowering period were higher in sterile lines ‘001A’ than maintainer lines ‘002B’, but the specific activity of CAT in sterile line ‘001A’ significantly lower than that of in maintainer line ‘002B’. Therefore, the deficiency of nutritive substances in sterile line anthers and the abnormality of protective enzymes were the key to the pollen abortion of the cluster.

Keywords: cluster pepper; CMS; flower; energy substance; protective enzyme