

辣椒雄性不育机理与应用研究

吴丽君¹, 吴智明²

(1. 中南林业科技大学 资源与环境学院, 湖南 长沙 410004 2. 华南农业大学 园艺学院 广东 广州 510642)

摘要:介绍了我国辣椒雄性不育研究在细胞学、内源激素、物质代谢等方面取得的新进展, 分析了辣椒雄性不育在生产中的应用, 并提出了展望。

关键词:辣椒; 雄性不育; 细胞学; 内源激素; 物质代谢; 应用

中图分类号: S 641.303.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)03-0127-04

辣椒是我国最重要的蔬菜作物之一, 属于常异花授粉植物, 杂种优势明显, 优良组合比传统主栽品种要增产 30%~50%。辣椒杂种一代已广泛应用于生产, 并取得了显著的经济效益。然而, 我国目前生产上使用的杂交种子主要是靠人工去雄杂交制种, 生产成本低, 种子纯度难保障, 辣椒雄性不育系的选育利用可能是解决这一难题最有效的途径之一。用雄性不育的亲本做母本进行杂交, 生产辣椒杂种可以省去去雄过程, 降低成本, 提高种子纯度, 因此对辣椒雄性不育的研究受到育种家们的高度重视。现对辣椒雄性不育研究和应用的某些进展进行综述, 供参考。

1 辣椒雄性不育的遗传类型

辣椒雄性不育的遗传类型主要有细胞核雄性不育(GMS)和核质互作雄性不育(CMS)两种。核雄性不育性与细胞质无关, 只受核基因控制。核质互作雄性不育性是由核基因与细胞质互作的结果, 只有不育的细胞质与不育的核基因型结合在一起才表现不育。辣椒 GMS 突变体主要来自于地方品种自交分离后代及 X 射线、 γ 射线和 EMS 诱变处理后代。CMS 主要来自于自然突变和种间杂种后代。

2 辣椒雄性不育的细胞学研究

辣椒小孢子形成一般要经过造孢细胞、小孢子母细胞、四分小孢子、单核小孢子和成熟花粉粒等几个时期。对辣椒雄性不育小孢子发育过程中的细胞学研究重点, 通常集中在探寻花药发生败育的时期以及花药败育与绒毡层细胞的异常行为的关系等。Homer^[1] 和 Hirose^[2] 对 Peterson 1958 年发现的辣椒 CMS 系与其保持系花药

的研究表明, CMS 系在减数分裂过程中绒毡层的内外层均解体, 可形成四分体小孢子, 败育发生在四分体小孢子发育后期。石太渊等^[3] 对辣椒 CMS 系 93-1A 的研究结果与他们的相似。吴鹤鸣等^[4] 对 CMS 系 21A 的花药进行细胞学观察和研究表明, 辣椒保持系和不育系花药在减数分裂期有明显差异: 保持系花药绒毡层变薄, 不育系花药绒毡层增厚, 拉长, 细胞质高度液泡化, 小孢子母细胞不能正常进行减数分裂, 败育发生在四分体形成之前。耿三省等^[5] 得到与吴鹤鸣相似的结论。沈火林^[6] 观察表明, 不育系的花瓣不开裂或部分开裂(但开裂时间晚于花朵开裂), 无花粉或仅有极少花粉粒, 雄性不育株花柱也短于育株花柱。刘君等^[7] 发现不育株雄蕊退化, 没有花粉或花粉无生活力, 育性在白蕾期或初花期可剥离花药识别。魏佑营^[8] 发现各不育系的雌蕊功能正常, 花药瘦小、干瘪, 各个花药虽与保持系相似, 但无花粉粒或花粉粒极少。从上述结果可看出, 国内外有关辣椒 CMS 的细胞学比较研究结果不尽一致, 这种不一致可能来自于雄性不育类型、核背景以及植株生长发育条件的差异。对于辣椒 GMS 突变体的细胞学研究尚停留在败育时期的观察上, 缺乏深入研究。

3 辣椒雄性不育与内源激素的关系

长期以来, 人们就认识到植物激素与植物性别表达密切相关, 通过对一些材料内源激素进行分析, 进一步揭示了植物雄性不育的发生涉及到内源激素的变化; 诱发激素生物合成基因突变和转基因研究也证明了植物激素与植物雄性育性表达的关系^[9]。Sawhney 等^[10] 在总结植物激素与雄性不育的关系时指出: 生长素(IAA)含量的增加、乙烯的过度产生、脱落酸(ABA)水平的提高以及赤霉素(GA₃)和细胞分裂素含量(IPA)的降低导致多种植物产生雄性不育。但是, 也有与这种结果不一致的报道, 如在水稻上却发现 IAA 亏缺^[11-12], 在油菜中发现 GA₃ 含量增加^[13] 与雄性不育有关。

辣椒雄性不育与内源激素的关系研究很少, 结果也不尽一致。高夕全等^[14] 研究辣椒雄性不育两用系不育

第一作者简介: 吴丽君(1980-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事蔬菜育种研究工作。E-mail: lijun_wu@126.com.

基金项目: 中南林业科技大学高层次人才引进基金资助项目(101-0650)。

收稿日期: 2008-11-28

株和可育株叶片和花蕾内源激素含量差异表明, IAA 含量在叶片和花蕾都是不育株低于可育株; IPA 含量在叶片和花蕾都是不育株高于可育株; 玉米素(ZR)含量是不育株花蕾明显高于可育株, 不育株叶片略低于可育株; ABA 含量在叶片和花蕾都是不育株显著高于可育株。因此他认为不育株叶片和花蕾中 IAA 亏缺、细胞分裂素含量过高导致能量不足和 ABA 与 IAA 的相互拮抗作用, 可能是辣椒雄性不育发生的原因。唐冬英等^[15]对辣椒 CMS 系 9704A 与保持系 9704B 的不同生长发育时期叶片和盛花期不同大小花蕾中 IAA、ABA、GA₃、IPA、ZR 5 种激素含量进行了比较研究, 结果与高夕全的不尽相同。张子学^[16]研究了辣椒胞质雄性不育系、保持系、恢复系间内源激素含量的差异表明: 在叶、蕾中各种内源激素水平三系间有明显的差异。在三系之间不育系叶、蕾中 IAA 的含量明显增高, 不育系叶中 CTK 的含量最高, 花蕾中 IPA 的含量最低; 在花蕾中不育系 GA₃ 的含量明显最高; ABA 的含量三系之间差异相对较小。进一步分析表明: 花蕾中各种激素水平的比例平衡与辣椒雄性不育有着更密切的关系。邹学校等^[17]研究胞质雄性不育三系内源激素含量差异表明, 花蕾和叶片中 IAA 含量是不育系低于保持系; 不育系 ABA 含量在叶片中高于保持系, 在花蕾中低于保持系; ZR 含量在叶片中不育系低于保持系, 在花蕾中不同不育系表现不一致。进一步研究雄性不育基因对辣椒杂种一代内源激素含量的影响表明, 雄性不育基因对杂种一代内源激素含量有影响, 但不同不育系和不同恢复系之间差异明显, 反映的规律不一致。

总之, 几类内源激素在辣椒雄性不育发生中都有涉及。虽在不同试材中所得结果不尽相同, 但植物激素代谢异常的结论是一致的, 其含量过高过低都会诱发雄性不育。与其他过程一样, 辣椒雄性不育发生过程既受单种植物激素变化影响, 也受到各种激素平衡的影响。植物激素与辣椒雄性不育的关系需要进一步研究。

4 辣椒雄性不育的物质代谢

蒋伟明等^[18]对甜椒雄性不育两用系过氧化物酶同工酶研究结果表明, 可育株与不育株过氧化物酶同工酶的酶谱在不同器官上表现不同。子房和叶片的酶谱无明显差异, 而花药的酶谱可育株与不育株的带型表现出较大的差异, 并呈现一定的规律性变化, 其中 P_{X0}-和 P_{X2a}带差异显著。可育株中这 2 条带明显, 着色深, 而不育株中这 2 条带着色极浅, 甚至全无此带。这表明花药的过氧化物酶同工酶与花药的可育性可能存在着某种比较密切的关系。

耿三省等^[19]研究了胞质雄性不育系和保持系间花药中游离脯氨酸含量、过氧化物酶、过氧化氢酶活性差异, 结果是不育系花药内游离脯氨酸含量明显低于保持

系, 不育系过氧化物酶活性明显高于保持系, 过氧化氢酶活性明显低于保持系, 由此推断不育系脯氨酸的缺乏可能影响小孢子发育过程中许多酶和结构物质的合成, 酶类活性强度和方向的改变会引起花粉粒内新陈代谢的紊乱, 最后导致淀粉、核蛋白物质合成减少或停止, 影响小孢子的正常发育而导致花粉败育。

谢冰等^[20]以 2 份辣椒核雄性不育两用系为试材, 对不育株与可育株小孢子不同发育时期花药的部分生化特性进行了比较分析。结果表明花药中的过氧化物酶活性从小孢子母细胞期以后不育株明显高于保持系, 过氧化氢酶活性从小孢子母细胞时期开始不育株明显低于可育株。辣椒不育株花药中是否由于过氧化物酶活性的增强, 导致不育花药内生长素亏缺, 而低水平的过氧化物酶活性, 又造成 H₂O₂ 等有毒物质的积累, 加强了不育花药中脂膜的过氧化, 最终导致了花粉败育值得进一步研究。此外还发现可溶性蛋白质含量从小孢子母细胞期以后不育株明显低于可育株, 推断随着小孢子的发育, 正常可育株花药内的各种代谢活动渐趋旺盛, 这就需要多种酶和多种蛋白质的参与, 因而可溶性蛋白质的含量会逐渐升高, 而不育株花药中可溶性蛋白质含量比可育株低, 这就可能影响花药的正常代谢。

邓明华等^[21]通过对辣椒细胞质雄性不育系与保持系叶片和不同发育时期的花蕾的可溶性糖、蛋白质和脯氨酸含量以及对过氧化物酶活性的测定, 发现在辣椒花蕾的发育过程中, 保持系可溶性糖含量一直升高, 不育系大花蕾可溶性糖含量明显低于中、小花蕾, 也明显低于保持系大花蕾, 叶片不育系与保持系间差异不明显。小花蕾游离脯氨酸含量不育系略高于保持系, 随着花蕾发育, 不育系含量渐降, 保持系迅速积累。大花蕾的游离脯氨酸含量保持系明显高于不育系, 叶片没有差异。蛋白质含量不育系小花蕾比中、大花蕾时期高, 而保持系花蕾蛋白质含量一直升高, 叶片是不育系高于保持系。叶片和不同发育时期的花蕾中不育系的过氧化物酶比活力均显著高于保持系, 随着花蕾的发育, 不育系花蕾中过氧化物酶的比活力不断增强, 而保持系则不断减弱。

5 辣椒雄性不育在生产中的应用

GMS 和 CMS 在辣椒杂交种子生产中都得到了应用, 配制的许多杂交组合已在生产上推广。例如, 保加利亚先后于 1974 年和 1979 年利用 CMS 和 CMS 生产杂交种子^[22], 并应用于生产; 日本和古巴等也报道了利用辣椒雄性不育系生产杂交一代种子^[23]。在国内, 杨世周等^[24]利用 CMS 两用系配制选出的优势较强的辣椒一代杂交种沈椒系列已广泛应用于生产, CMS 已实现三系配套; 王作义^[25]开始利用两用系育成的辣椒在生产上推广应用; Woong^[26]提议把 CMS 不育和核不育结合起来获

得双交种, 并指出可在辣椒杂交产量优势上利用; 蒋伟明等^[18]以克山尖椒雄性不育两用系为不育源, 将其转育到当地优良材料中, 育成了辣椒雄性不育两用系并选出了一代杂种。袁俊水等^[27]发现功能性雄性不育, 由于自身有可育花粉, 所以无需再选育保持系, 所有开花结果正常。遗传上纯质的品种和自交系均可作为其恢复系。戴祖云等^[28]利用 CMS 三系配制的优势较强的杂交种子开始在生产上应用; 邹学校等利用 CMS 三系配制的强优势杂交组合中, 湘运三号和湘辣一号已通过湖南省审定; 江苏省农业科学院蔬菜所配制的 CMS 三系配套品种苏椒 3 号 A、碧玉等也在生产上推广应用^[29]。比较两种雄性不育类型的实用价值, 可看出: CMS 广泛存在于辣椒品种中, 其雄性不育性较为彻底, 遗传机制简单, 两用系选育较容易, 恢复源广, 容易选育出强优势组合, 但两用系在制种时需拔除 50% 的可育株, 使母本的种子用量和种植面积增加 1 倍, 而且需在开花前准确识别可育株; CMS 系内植株均为雄性不育, 但其雄性不育性的表达往往受温度等环境的影响, 造成种子不纯, 而且 CMS 育性恢复基因源少, 恢复系主要来源于弱长势的羊角椒和线椒类型中, 在甜椒中难以找到恢复源, CMS“三系”选育周期长, 这些限制了强优势组合的选配。

6 展望

辣椒雄性不育的应用研究已取得了显著效益, 而其基础研究却十分薄弱, 尤其是关于辣椒雄性不育的机理研究鲜有报道。为了今后能更有效地将雄性不育作为一种遗传工具应用于辣椒杂种优势利用、群体改良等育种工作中, 进一步加强有关基础研究是十分必要的: 辣椒雄性不育系和恢复系的选育周期长, 如果能找到与不育基因或恢复基因紧密连锁的分子标记, 辅助辣椒育种, 必将有助于缩短育种的进程。除了对个别雄性不育类型开展了一些细胞学观察和零星的生化比较外, 辣椒雄性不育的机理研究几乎是一片空白。为了丰富和发展植物雄性不育理论, 应从控制雄性育性基因的本质、雄性育性表达的调控过程等方面对辣椒雄性不育的机理进行研究, 如核恢复基因的精细定位、分离克隆和功能分析, 细胞质不育基因的鉴别、鉴定等等。

参考文献

- [1] Horner H T. A comparative light and electron microscopic study of micropogonensis in male fertile and cytoplasmic male sterile pepper[J]. Can J Bot, 1974(52): 435-441.
- [2] Hirose T, Fujime A. A new male sterility pepper[J]. Hortiscience, 1975, 10(3): 314.
- [3] 石太渊, 印东生, 胡迎雪等. 辣椒雄性不育系小孢子发生的细胞形态学及减数分裂观察[J]. 辽宁农业科学, 1999(6): 7-10.
- [4] 吴鹤鸣, 余建明, 周邗扬等. 羊角椒雄性不育系及保持系的细胞学观察[J]. 江苏农业学报, 1988, 4(2): 35-38.
- [5] 耿三省, 王志源, 蒋健箴等. 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.
- [6] 沈火林, 蒋健箴, 王志源等. 辣椒雄性不育系选育及遗传研究[J]. 北京农业大学学报, 1994, 20(1): 25-29.
- [7] 刘君, 林高玉, 赵培芳等. 辣椒雄性不育两用系的选育和应用[J]. 北方园艺, 2000(1): 8-9.
- [8] 魏佑营, 王秀峰, 魏秉培等. 辣椒(甜椒)雄性不育系 13733A、1592A、1442A 的特征与形态解剖[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 33(2): 129-133.
- [9] 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: 中国农业大学出版社, 2001.
- [10] Sawhney V K, Shukla A. Male Sterility in flowering plant: are plant growth substances involved[J]. Amer. J. Bot, 1994, 81(12): 1640-1647.
- [11] 张能刚, 周燮. 三种酸性内源激素与农垦 58s 育性转换的关系[J]. 南京农业大学学报, 1992, 15(3): 7-12.
- [12] 黄少百, 周燮. 水稻细胞质雄性不育与内源激素 GA1+4 和 IAA 的关系[J]. 华北农学报, 1994, 9(3): 16-21.
- [13] 夏涛, 刘纪麟. 生长素和玉米素与玉米细胞质雄性不育性关系研究[J]. 作物学报, 1994, 20(1): 26-31.
- [14] 高夕全, 张子学, 夏凯等. 雄性不育辣椒中几种内源植物激素的含量变化[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(1): 31-32.
- [15] 唐冬英. 辣椒雄性不育恢复基因的 RAPD 标记与内源激素含量研究[D]. 湖南农业大学, 2002.
- [16] 张子学, 罗育淮. 辣椒质核互作雄性不育与叶、蕾中内源激素含量的关系[J]. 安徽技术师范学院学报, 2002, 16(2): 5-7.
- [17] 邹学校, 侯喜林, 刘荣云等. 辣椒细胞质雄性不育基因对辣椒不育系及杂种一代农艺性状和生化特性的影响[J]. 园艺学报, 2004, 31(6): 732-736.
- [18] 蒋伟明, 侯仕熙, 周林等. 甜椒雄性不育两用系过氧化物酶同工酶研究[J]. 山西农业科学, 1993, 21(2): 48-52.
- [19] 耿三省, 毛爱军, 蒋健箴. 辣椒雄性不育花药的生化特性[J]. 北京农业科学, 1997, 15(2): 26-27.
- [20] 谢冰, 王志源, 蒋健箴. 辣椒核型雄性不育小孢子发育时期生化特性的初步研究[J]. 中国农业大学学报, 1999, 5(4): 103-106.
- [21] 邓明华, 邹学校, 周群初等. 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): 492-494.
- [22] 刘金兵, 赵华仑, 孙洁波等. 辣(甜)椒雄性不育恢复系的筛选研究[J]. 中国蔬菜, 1999(6): 29.
- [23] 李德超. 辣椒雄性不育研究中几个问题的探讨[J]. 种子科技, 1995, (2): 26-27.
- [24] 杨世周, 杨凤梅, 姜恩国等. 辣椒雄性不育两用系选育和应用的新进展[J]. 中国蔬菜, 1995(1): 19-20.
- [25] 王作义, 杨凤梅, 王志强等. 辣椒雄性不育两用系选育转育及利用[J]. 北方园艺, 1998(1): 10-11.
- [26] Woong L. Inheritance of cytoplasmic male sterility in pepper(Capsicum annuum L.) [J]. Kyung Hee University, South Korea. M Sc thesis, 1985: 1-43.
- [27] 袁俊水, 李锁平. 一个辣椒功能性雄性不育系的花器形态及遗传研究[J]. 遗传, 2000, 22(1): 29-30.
- [28] 戴祖云, 徐继萍, 祁家保等. 辣椒雄性不育三系配套研究[J]. 安徽农业科学, 1996, 24(2): 173-174.
- [29] 钱芝龙, 孙洁波, 丁犁平, 等. 辣椒雄性不育三系在杂交一代中的遗传效应[J]. 江苏农业科学, 1998(4): 54-57.

柑桔类果汁的酶法脱苦研究进展

文 蓉, 黎继烈, 崔培梧, 杨 杰, 黄 凌

(中南林业科技大学 生命科学与技术学院, 湖南 长沙 410004)

摘 要: 类柠檬苦素和柚皮苷是柑桔类果汁中的主要苦味成分, 会明显的降低柑桔类果汁的品质。对柑桔类果汁的苦味形成的机理及酶法脱苦的研究进展进行了综述。

关键词: 柑桔汁; 酶法脱苦; 类柠檬苦素; 柚皮苷

中图分类号: TS 255.44 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)03-0130-04

柑桔中含有柠檬酸、苹果酸、维生素、类胡萝卜素、还原糖、非还原糖和蛋白质等营养成分, 是一种很受欢迎的水果。但在柑桔加工产品中出现过度苦味是柑桔加工业中较重要的问题。目前已报道的脱苦法有: 吸附法、添加苦味抑制剂法、固定化细胞脱苦、超临界 CO₂ 脱苦法、膜技术脱苦、基因工程脱苦、酶法、代谢脱苦法等, 但还没有完全令人满意的方法。当前较为普遍使用的是吸附法和添加苦味抑制剂法, 然后是酶(固定化酶)脱苦法。酶法脱苦能不影响柑桔果汁品质的情况下较好地去除苦味, 将成为今后的发展方向。

柑桔类果汁苦味来源主要由两类物质组成: 一类为柠檬苦素(Limonin)的二萜烯二内酯化合物(A和D环)

引起橙汁和桔汁苦味; 另一类为果实中多种黄酮苷, 其中柚皮苷(Naringin)为葡萄柚和苦橙等柑桔类果汁中的主要黄酮苷。目前, 柑桔果汁脱苦酶主要为作用于柚皮苷的柚苷酶(Naringinase)和作用于类柠檬苦素的脱苦酶。

1 柚苷酶的生产及应用

1.1 柚皮苷酶法脱苦机理

柚皮苷(Naringin)分子式为 C₂₇H₃₂O₁₄, 化学名称是 4, 5, 7-三羟基黄酮-7-鼠李糖葡萄糖苷, 体积约 0.465 nm³, 它是黄酮基与二糖结合形成的, 如果鼠李糖结合在黄酮的第 7 位碳原子上, 这个化合物是苦的; 如果结合在第 2 位碳原子上, 化合物是不苦的, 柚皮苷微溶于水, 溶于丙酮、乙醇和热醋酸中^[1]。

柚苷酶是由 α-L-鼠李糖苷酶(EC 3.201.40)和 β-D-葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.21)组成。α-L-鼠李糖苷酶可将柑桔类果汁中黄酮苷类化合物柚皮苷水解成櫻桃苷(Prunin)和鼠李糖。而櫻桃苷(Prunin)的苦味约为柚皮苷的 1/3, 因此可降低柑桔类果汁中的苦味。櫻桃苷(Prunin)可以在 β-D-葡萄糖苷酶的继续作用下生成无苦

第一作者简介: 文蓉(1984), 女, 硕士, 研究方向为微生物遗传育种。E-mail: wenrongaaa@163.com.

通讯作者: 黎继烈(1959), 女, 湖南岳阳人, 博士, 教授, 现从事微生物育种及发酵过程调控方面研究工作。E-mail: lijilie@163.com.

收稿日期: 2008-10-16

Male Sterility Mechanism and Application Research of Pepper

WU Li-jun¹, WU Zhi-ming²

(1. Resource and Environment College, Central South Forest Science and Technology University, Changsha, Hunan 410004, China; 2. Horticulture College, Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: Progress in cytology, endogenous hormone and matter metabolism of male sterility in pepper were reviewed in this paper. Applications of pepper male sterility in seed production were analyzed and the prospect was discussed.

Key words: Pepper; Cytology; Endogenous hormone; Matter metabolism; Application