

## 辣椒核型雄性不育小孢子发育时期生化特性的初步研究

谢冰<sup>①</sup> 王志源 蒋健箴<sup>②</sup>

(中国农业大学园艺学院)

**摘要** 以2份辣椒核型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,并初步探讨了这些生化特性的异常与不育性表达之间的关系。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可育株,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;可溶性蛋白含量从小孢子母细胞期以后不育株明显低于可育株。

**关键词** 辣椒;核型雄性不育;酶活性;可溶性蛋白

**分类号** S641.3; Q343.34

## Biochemical Characteristics of the Stages of Microsporogenesis of Genic Male Sterile Pepper

Xie Bing Wang Zhiyuan Jiang Jianzhen

(College of Horticulture Sciences, CAU)

**Abstract** Comparison and analysis were made on a few biochemical characteristics during the stages of microsporogenesis, between the fertile and the sterile plants that genic male sterile pepper (*Capsicum annuum* L.) AB154 and AB1691. At the same, the relation of the abnormality of biochemical characters with the expression of sterility were also studied. The results showed that anthers of the sterile plants revealed significantly higher peroxidase (POD) activities but lower catalase (CAT) activities beginning from the stage of microsporocyte. After that stage, the soluble protein contents in anthers of the sterile plants were distinctively lower than that of the fertile ones.

**Key words** *Capsicum annuum* L.; genic male sterility; enzyme activity soluble protein

雄性不育是被子植物中的一种普遍现象,作物雄性不育为杂种优势在农业生产上的利用提供了十分有利的条件,使得众多研究者对其机理揭示给予了极大的关注。对辣椒的雄性不育,除蒋伟明<sup>[1]</sup>等研究了甜椒雄性不育两用系的过氧化物同工酶外,未见有关辣椒雄性不育生化特性方面的报道。本试验对核型雄性不育辣椒不育株与可育株小孢子各个发育时期花药中酶活性及可溶性蛋白的变化进行了研究,同时初步探讨了这几方面因素与辣椒核型不育之间的关系,希望能为进一步完善辣椒雄性不育理论体系及阐明植物雄性不育的本质提供一点依据。

收稿日期:1998-02-23

①谢冰,现在山东农业大学园艺系工作,271000

②蒋健箴,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以沈阳市农业科学院提供的辣椒核型雄性不育两用系 AB145 和 AB 充 1691 为试材,于 1995 年 1 月 10 日播种于 72 孔育苗盘中,4 月 7 日定植于北京农业大学科学园区塑料大棚。田间管理按常规方法进行。利用石蜡切片法,并经光学显微镜观察,确定 2 份试材不育株与可育株小孢子 4 个发育时期(即造孢期、小孢子母细胞期、四分小孢子期和花粉粒成熟期)花蕾的外部形态特征。据此,在盛花期取小孢子各发育时期的花蕾,小心剥取花药备测。

### 1.2 方法

过氧化物酶活性用愈创木酚法测定,过氧化氢酶用碘量法测定,可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝 G-250 法测定。每次取样量为不育株与可育株 4 个时期各 10 朵花的花蕾,分别称重,每次试验重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 不育株与可育株花药中酶活性变化的比较

**2.1.1 过氧化物酶活性变化的比较** 小孢子不同发育时期花药中过氧化物酶活性的测定结果见图 1。随着小孢子的逐渐发育,AB154 与 AB 充 1691 花药中过氧化物酶活性的变化虽略有差异,但总的变化趋势是相似的,即不育株与可育株花药中过氧化物酶活性随着小孢子发育而呈上升趋势。AB154,在造孢期、小孢子母细胞期,花药中过氧化物酶活性不育株比可育株略低,至四分小孢子期不育株已明显高于可育株,不育株在四分小孢子期和花粉粒成熟期的酶活性分别为可育株的 1.47 倍和 1.46 倍。AB 充 1691 造孢细胞期花药中过氧化物酶活性不育株与可育株很接近,但从小孢子母细胞期开始,不育株明显高于可育株,不育株在四分小孢子期和花粉粒成熟期的酶活性分别为可育株的 3.38 倍和 2.08 倍。此结果表明,不育花药中的过氧化物酶活性从小孢子母细胞期以后明显高于正常可育株花药,这与胞质不育水稻<sup>[6]</sup>、小麦<sup>[5]</sup>、甘蓝型油菜、萝卜<sup>[1]</sup>等的研究结果基本一致。过氧化物酶是与生长素有关的一种重要的酶,它以自由 IAA 为底物,其活性的增强,将有可能导致花药中生长素的亏缺,影响小孢子的正常发育。

**2.1.2 过氧化氢酶活性变化的比较** 随小孢子的发育,可育株花药中过氧化氢酶活性逐步上升,而不育株花药中过氧化氢酶活性在小孢子发育过程中基本保持一个平稳的水平,至四分小孢子期以后略有下降(图 1)。而且,不育株过氧化氢酶活性从小孢子发育早期的造孢期即低于正常可育株。2 份试材表现相近。在小孢子母细胞期、四分小孢子期、花粉成熟期,不育株花药的过氧化氢酶活性,AB154 分别为可育株的 20.21%,39.43%和 20.66%;AB 充 1691 分别为可育株的 70.38%,59.95%,4.47%。过氧化氢酶是清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等活性氧毒害的一种重要的酶,其活性的降低,势必造成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的积累,产生一定的毒害作用,影响花粉粒的正常代谢活动,致使小孢子的发育异常,直至败育。

### 2.2 不育株与可育株花药中可溶性蛋白含量变化的比较

随小孢子的发育,可育株花药中可溶性蛋白含量呈上升趋势,而不育株的变化较为平稳

(图 1)。在造孢细胞期,不育株与可育株花药中的可溶性蛋白含量很接近;但到小孢子母细胞期和四分小孢子期,不育株花药中可溶性蛋白含量有所下降,花粉粒成熟期略有提高,2 份材料的变化趋势是一致的。四分小孢子期和花粉粒成熟期花药中的可溶性蛋白的含量,AB154 的不育株分别为可育株的 43.67%和 63.47%;AB 充 1691 的不育株分别为可育株的 59.26%和 38.57%。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,这就需要多种酶及蛋白质的参与,因而可溶性蛋白的含量会逐渐升高。而实验结果表明,不育株花药中可溶性蛋白含量比可育株高,这就有可能影响花药的正常代谢。可溶性蛋白的这一变化规律与育性表现是相符合的。

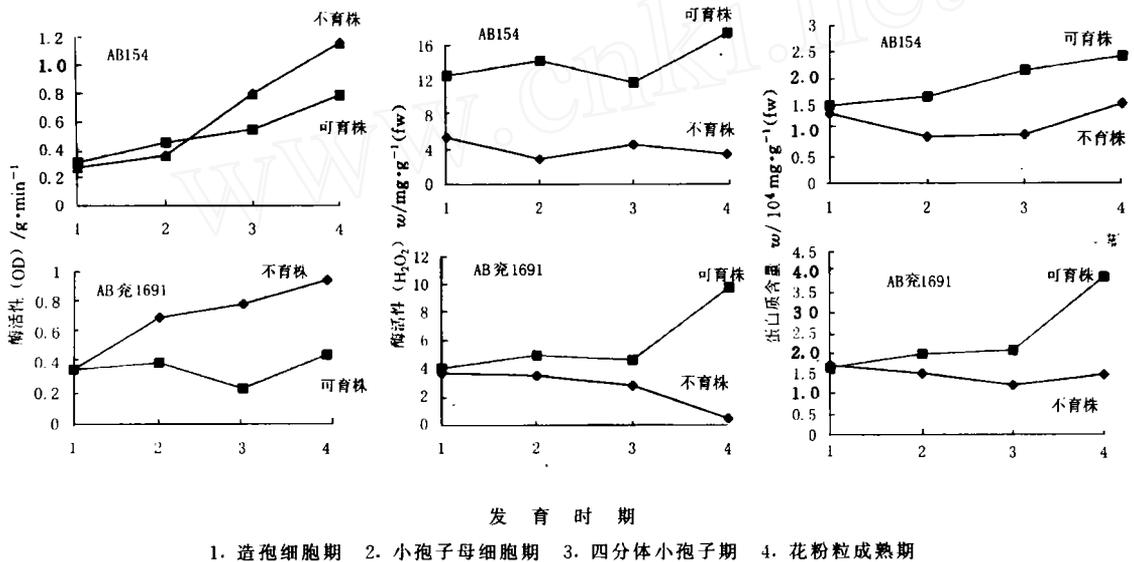


图 1 辣椒 AB154 和 AB 充 1691 小孢子发育时期生化特性的比较

### 3 讨论

#### 3.1 花药中酶活性的变化与核型雄性不育的关系

本试验测定了 2 份辣椒核型雄性不育材料与可育株花药中过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性在小孢子不同发育时期的表现,其变化规律基本一致,而且,总的变化趋势与小麦、水稻等作物的研究结果相似。POD 是一种包含多种复杂成分的酶,具有多种生理功能;而 CAT 则具有清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等活性氧毒害的作用。许多研究表明,一方面由于 POD 活性的增强,导致不育花药内生生长素亏缺,引起小孢子的败育;另一方面,不育花药中低水平的 CAT 活性,又造成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等有毒物质的积累,从而加剧了不育花药中脂膜的过氧化。本试验仅测得 POD、CAT 的变化在不育株与可育株之间存在显著差异,至于是否在辣椒不育株花药中也存在与 POD、CAT 活性变化相伴发生的生长素亏缺及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等有毒物质的积累,值得进一步研究。

#### 3.2 花药中可溶性蛋白的变化与核型雄性不育的关系

本试验结果显示,不育株与可育株花药中可溶性蛋白的含量在小孢子的各个发育阶段均存在明显的差异,这说明,编码这些蛋白的基因的表达,可育花药与不育花药是有各自特异性

的,而且其含量的变化与育性的表现相伴发生。编码这些蛋白质的基因是否全部位于核基因组上,这些基因的表达与不育基因的表达及调控之间存在怎样的关系等问题,还需要深入的研究。

### 参 考 文 献

- 1 王保仁. 甘蓝型萝卜细胞质雄性不育系的研究. 中国油料,1989,4:1~4
- 2 赵明. 作物雄脆性的提出及雄性不育的理论探讨. 中国博士后首届学术大会论文集. 1993
- 3 郭尧君. SDS电泳技术的实验思考及最新进展. 生物化学与生物物理进展,1991,18(1):332~337
- 4 袁朝兴等. 水分胁迫对棉花叶片中 IAA 含量 IAA 氧化酶活性的影响. 植物生理学报,1990,16(2):179, 180
- 5 袁文静. 小麦不同细胞质雄性不育系花药过氧化物酶活性的研究. 武汉大学学报,1988,3:101~110
- 6 黄厚哲等. 植物生长素亏损与雄性不育的发生. 厦门大学学报,1984,32(4):466~477
- 7 蒋伟明等. 甜椒雄性不育两用系过氧化物酶的同工酶研究. 山西农业科学,1984,2