

陆地棉双隐性核不育系(ms_5ms_6)花药发育过程中 POD 活性和内源激素动态变化初探

宋宪亮¹, 孙学振¹, 王明林², 刘英欣¹, 刘继华¹

(¹ 山东农业大学农学院; ² 山东农业大学食品科学学院, 泰安 271018)

摘要: 研究了陆地棉双隐性核不育系(ms_5ms_6)不育株和可育株不同发育时期花药中 POD 活性、IAA、GA₃ 和 ABA 含量的动态变化。结果表明,在花药主要败育时期以前,不育花药与可育花药相比,POD 活性、ABA 含量明显偏高;IAA、GA₃ 含量明显偏低。不育花药中 IAA、GA₃、ABA 含量异常和 POD 活性偏高与其败育有关。

关键词: 陆地棉; ms_5ms_6 ; 双隐性核不育; POD; 植物激素

S561 A

Preliminary Study on the Changes of POD Activity and Phytohormones in Anthers of Double Recessive Genetic Sterile Line of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.)

SONG Xian-liang¹, SUN Xue-zhen¹, WANG Ming-lin², LIU Ying-xin¹, LIU Ji-hua¹

(¹ College of Agronomy, Shandong Agricultural University;

² College of Food and Science, Shandong Agricultural University, Taian 271018)

Abstract: POD activity and contents of IAA, GA₃ and ABA in anthers at different stages of double recessive genetic male sterile line (ms_5ms_6) were measured. Results indicated that ahead of the main abortion stage, the sterile anthers had higher POD activity and ABA content, lower IAA and GA₃ contents than the fertile anthers. Higher POD activity and abnormal contents of IAA, GA₃ and ABA may be associated with the pollen abortion.

Key words: Upland cotton; ms_5ms_6 ; Double recessive genetic sterility; POD; Phytohormones

业已发现,雄性不育基因的表达具有严格的时空顺序^[1]。不育基因的表达不但涉及花药细胞形态学上的异常,也反映其生化代谢上的改变。正常的生化代谢是花粉获得正常发育所需物质和能量的基础,否则花粉就会退化或死亡^[2]。酶和激素是生化代谢的重要调节物质,有研究表明,植物雄性不育系的生殖器官中内源激素含量与保持系的不同^[3,4],雄性不育的发生伴有内源激素的变化^[5-8],但在陆地棉双隐性核不育系上尚未见这方面的报道。陆地棉双隐性核不育系的杂种 F₁、F₂ 代都有利用价值,是棉花雄性不育系中较有利用前途的一种^[9]。印度利用 ms_5ms_6 核不育系培育的杂种棉已经在生产上

应用。笔者在研究双隐性核不育花药发育过程中过氧化物酶和内源激素变化的基础上,对雄性不育与过氧化物酶、内源激素的关系进行了分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

双隐性核不育两用系(ms_5ms_6)由中国农业科学院棉花研究所靖深蓉研究员惠赠。根据花蕾大小,取不育株和可育株各时期的花蕾(取样时间为上午 6:00~6:30),结合花药涂片法、三酸法镜检,将花药整个发育时期划分为 4 个时期:花粉母细胞减数分裂时期;单核时期;双核时期;成熟花粉时期。花蕾

收稿日期:2002-01-06

基金项目:山东省科委资助项目(棉研 99-2-2)

作者简介:宋宪亮(1972-),男,山东淄博人,讲师,博士研究生,主要从事棉花遗传育种研究兼教学工作。孙学振为通讯作者, Tel:0538-8242487;

E-mail: sunxz@sdau.edu.cn

大小以剥去苞叶,花托至花蕾顶部的长度为准。各时期经验尺度分别为: $< 3\text{ mm}$; $4 \sim 5\text{ mm}$; $7.5 \sim 9\text{ mm}$;开花前一天。按照发育时期将花蕾归为4类,将各时期的花药各 1 g 保存于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。花蕾均取自 30 株以上长势相似的植株。

1.2 方法

将上述材料用 80% 预冷的甲醇在弱光下冰浴研磨成匀浆,然后按吴颂如等^[10]的方法分离纯化,用酶联免疫测定法测试 IAA(吲哚乙酸)、 GA_3 (赤霉素)和 ABA(脱落酸)。各种试剂盒购自南京农业大学激素研究室。每个样品测定 4 次,取平均值进行分析。

POD 活性的测定按张龙祥等的方法, $20\text{ }\mu\text{l}$ 提取液加 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ H}_2\text{O}_2$ 40 ml ,再加入愈创木酚,在

470 nm 波长下测定 OD 值,以每克每分钟吸光率的变化表示酶活性。

2 结果与分析

2.1 POD 活性的动态变化

在花粉母细胞减数分裂期,不育花药 POD 活性略低于可育花药,但之后不育花药 POD 活性迅速上升,而可育花药中的则保持相似的水平,到单核期不育花药 POD 活性已明显高于可育花药,二者差异在花粉成熟期达最大(图)。细胞学研究表明, ms_5ms_6 的花粉败育主要是由于配子体形成、成熟过程中出现严重液泡化所致^[11]。POD 活性在花药主要败育时期之前已出现明显差异,而且变化趋势不同,表明 POD 活性与 ms_5ms_6 的花粉败育有关。

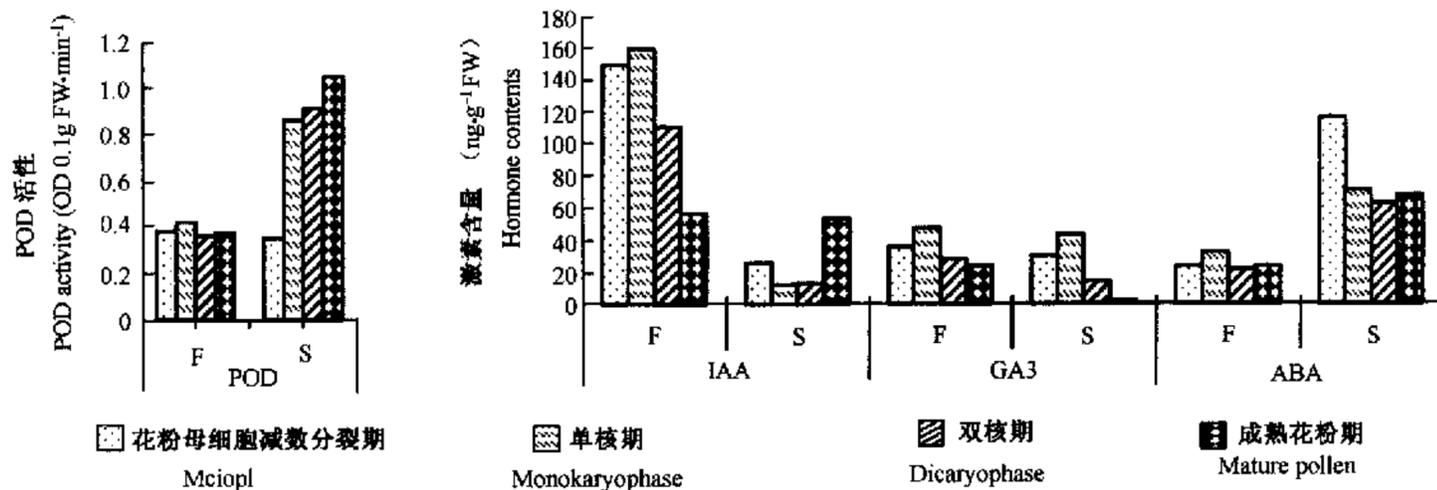


图 ms_5ms_6 可育(F)与不育(S)花药不同时期 POD 活性和 3 种激素含量变化

Fig. Changes of POD activity and hormone contents in anthers of ms_5ms_6 at different stages

2.2 IAA 含量的动态变化

在花粉母细胞减数分裂期,可育与不育花药 IAA 含量差异已非常明显,可育花药高于不育花药,之后可育花药 IAA 含量先升后降,呈倒“V”字形变化,不育花药则先降后升,呈“V”字形变化。结合细胞学研究结果,不育与可育花药间 IAA 含量在花药败育主要时期之前更早出现显著差异,很可能与不育基因的表达诱导有关。

2.3 GA_3 含量的动态变化

在花药发育进程中,不育花药和可育花药 GA_3 含量变化趋势相似,都是先升后降呈倒“V”字形,但各期的含量都是不育花药低于可育花药。表明在花药发育过程中 GA_3 含量出现了异常。

2.4 ABA 含量的动态变化

从图中可以看出,可育与不育花药 ABA 含量呈现不同的变化趋势,可育花药 ABA 含量始终维持在较低的水平,而不育花药在花粉母细胞减数分裂期

ABA 含量明显偏高,是可育花药的 4.93 倍,之后明显下降并维持在一定水平,但各期含量都明显高于可育花药。不育花药主要败育时期之前的 ABA 含量异常,可能也是其败育的重要原因之一。

3 讨论

Singh 等^[14]在总结前人相关研究时指出,生长素含量的增加、乙烯的过度产生、ABA 水平的提高以及赤霉素和细胞分裂素含量的降低将导致多数植物产生雄性不育^[3,5,7,12,13],不过也有例外^[15]。研究表明,陆地棉双隐性核不育系(ms_5ms_6)花药发育过程中,不育花药 POD 活性、ABA 含量明显偏高,IAA、 GA_3 含量偏低。POD 活性在不育与可育花药中的变化趋势不同,且二者的明显差异出现在花药主要败育时期之前,表明 POD 活性与该不育系的败育有关。这与在棉花细胞质不育系^[16]和洞 A 单隐性核不育系^[17]的结果一致。POD 活性偏高将加速 IAA

的分解、降低 IAA 活性,导致生长素浓度偏低,对营养物质的竞争不利,导致败育。这与 Murithi 等^[11]将该不育系的败育归结于小孢子发育中营养物质的缺乏相似。

在主要败育时期之前,不育花药 IAA 含量明显低于可育花药,ABA 含量高于可育花药,且变化趋势不同,表明 IAA、ABA 含量异常是花药败育的重要原因之一。这与对多数材料^[4~8]的研究结果相符,但与对油菜^[8]的研究结果不同。

GA_3 含量的变化趋势在可育与不育花药中相似,但各期都是不育花药低于可育花药,这与在水稻^[5,7]、黄瓜^[12]等上的结果相似,但与玉米^[6]上的研究结果不同。前人研究表明, GA_3 可以通过调节 IAA 变化来实现对育性的调控^[8]。 GA_3 偏低可以促进 IAA 氧化酶或过氧化物酶(POD)活性,抑制色氨酸向 IAA 转化以及降低 IAA 活性,从而降低 IAA 水平。

本试验表明,POD 活性、内源 IAA、 GA_3 和 ABA 含量在不育花药中出现异常可能与雄性不育发生有关,但其确切机理还有待深入研究。

References

- [1] Wang X D, Zhu Y G. Mrna differential display between fertile and sterile anther of rice and analyses of cDNA differential fragments. *Science of China (Series C-life Sciences)*, 1998, 28(3): 257 - 263.
- [2] 王学德. 棉花细胞质雄性不育花药的淀粉酶与碳水化合物. *棉花学报*, 1999, 11(3): 113 - 116.
Wang X D. Amylase and carbohydrate in anthers of cytoplasmic male sterile cotton. *Acta Gossypii Sinica*, 1999, 11(3): 113 - 116. (in Chinese)
- [3] Shukla A, Sawhney V K. Abscisic acid; one of the factors affecting male sterility in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum*, 1994, 91: 522 - 528.
- [4] Singh S, Sawhney V K. Endogenous hormones in seeds, germination behaviour early seedling characteristics in a normal an *ogura* cytoplasmic male sterile line of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Experimental Botany*, 1992, 43: 1 497 - 1 505.
- [5] 张能刚, 周 燮. 三种酸性内源激素与农垦 58s 育性转换的关系. *南京农业大学学报*, 1992, 15(3): 7 - 12.
Zhang N G, Zhou X. Relation between endogenous acidic phytohormones (IAA, GA_{1+4} , ABA) and fertile transformation of photoperiod sensitive genetic male sterile rice (PGMR) Nongken58. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1992, 15(3): 7 - 12. (in Chinese)
- [6] 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的研究. *作物学报*, 1994, 20(1): 26 - 32.
Xia T, Liu J L. Study on the relation between auxin zeatin and cytoplasmic male sterility in maize *Zea mays* L. *Acta Agronomica Sinica*, 1994, 20(1): 26 - 32. (in Chinese)
- [7] 黄少白, 周 燮. 水稻细胞质雄性不育与内源 GA_{1+4} 和 IAA 的关系. *华北农学报*, 1994, 9(3): 16 - 20.
Huang S B, Zhou X. Relation between rice cytoplasmic male sterility and contents of GA_{1+4} and IAA. *Acta Agriculture Boreali Sinica*, 1994, 9(3): 16 - 20. (in Chinese)
- [8] 田长恩, 张明永, 段 俊, 黄毓文, 刘鸿生, 梁承郅. 油菜细胞质雄性不育系及其保持系不同发育阶段内源激素动态变化初探. *中国农业科学*, 1998, 31(4): 20 - 25.
Tian C E, Zhang M Y, Duan J, Huang Y W, Liu H X, Liang C Y. Preliminary study on the changes of phytohormones at different development stage in cytoplasmic male sterility line and its maintainer of rape. *Scientia Agricultura Sinica*, 1998, 31(4): 20 - 25. (in Chinese)
- [9] 靖深蓉, 刘少林, 袁有禄, 邢朝柱. 棉花双隐性核不育的利用研究. *棉花学报*, 1994, 6(增刊): 28 - 30.
Jing S R, Liu S L, Yuan Y L, Xing C Z. Study on the utilization of double recessive genetic male sterility of cotton. *Acta Gossypii Sinica*, 1994, 6(Suppl.): 28 - 30. (in Chinese)
- [10] 吴颂如, 陈婉芬, 周 燮. 酶联免疫法(ELISA)测定内源植物激素. *植物生理学通讯*, 1988, (5): 53 - 57.
Wu S L, Chen W F, Zhou X. Enzyme linked immunosorbent assay for endogenous plant hormones. *Plant Physiology Communications*, 1988, (5): 53 - 57. (in Chinese)
- [11] Murithi A N, Weaver J B Jr. Histological studies on five sterile lines of upland cotton. *Crop Science*, 1974, 14: 658 - 663.
- [12] Sawhney V K, Shukla A. Male sterility in flowering plants: are plant growth substances involved? *American Journal of Botany*, 1994, 81(12): 1 640 - 1 647.
- [13] 夏玉先, 唐尚格. 棉花 473A 育性表达中花药脱落酸和玉米素 + 玉米素核苷含量变化. *棉花学报*, 1995, 7(3): 169 - 171.
Xia Y X, Tang S G. Changes in abscisic acid (ABA) content and zeatin plus zeatin riboside (Z + ZR) content of anthers of "473A" cotton during fertile expression. *Acta Gossypii Sinica*, 1995, 7(3): 169 - 171. (in Chinese)
- [14] Singh S, Sawhney V K. Temperature effects on endogenous indole-3-acetic acid levels in leaves and stamens of the normal and male sterile "stamenless-2" mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Cell & Environment*, 1992, 15: 373 - 377.
- [15] Phari R P. Gibberellines and reproductive development in seed plants. *Annual Review of Physiology*, 1985, 36: 517 - 568.
- [16] 俞志华, 王学德. 棉花细胞质雄性不育的研究及改良. *棉花学报*, 1999, 11(5): 268 - 274.
Yu Z H, Wang X D. Study on and improvement of cytoplasmic male sterility in cotton. *Acta Gossypii Sinica*, 1999, 11(5): 268 - 274. (in Chinese)
- [17] 李学斌. 棉花雄性不育的生化研究. *湖南农学院学报*, 1987, (3): 15 - 22.
Li X B. Study on biochemistry of sterility in cotton. *Journal of Hunan Agricultural Academy*, 1987, (3): 15 - 22. (in Chinese)

(责任编辑 卞海军)