

雄性不育枸杞几种物质含量动态变化

郑蕊^{1,2} 岳思君¹ 韩璐¹ 刘文森¹

(1. 宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021; 2. 南京农业大学 大豆研究所/国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要: 以雄性不育株宁杞 5 号和可育株宁杞 1 号为试材, 研究了花蕾发育过程中游离脯氨酸含量、游离氨基酸、可溶性糖、可溶性蛋白质和丙二醛含量的动态变化。结果显示: 花蕾发育过程中, 宁杞 1 号花蕾游离脯氨酸和游离氨基酸含量变化均呈先上升后下降的趋势, 而宁杞 5 号花蕾游离脯氨酸含量呈先上升后下降, 游离氨基酸含量呈持续下降趋势; 在花蕾发育各时期, 宁杞 5 号花蕾可溶性糖、丙二醛(MDA)和可溶性蛋白质含量均高于宁杞 1 号, 几种物质含量在宁杞 1 号和宁杞 5 号花蕾发育各时期的变化趋势有所不同。

关键词: 枸杞; 雄性不育; 游离脯氨酸; 游离氨基酸; 可溶性糖; 可溶性蛋白; 丙二醛

中图分类号: S567.1⁺9 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)05-0880-05

Dynamic Changes of the Contents of Several Substances in Male Sterile *Lycium barbarum* L.

ZHENG Rui^{1,2}, YUE Si-jun¹, HAN Lu¹, LIU Wen-miao¹

(1. College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China; 2. Nanjing Agricultural University, National Center for Soybean Improvement, and National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, China)

Abstract: The dynamic changes in the contents of free proline, free amino acid, soluble sugar, MDA and soluble protein in bud of male sterile *Lycium barbarum* L., Ning qi 5 and the control, Ning qi 1 were studied. The results showed that the contents of free proline and amino first increased and then decreased during the development of the bud in Ning qi 1. In Ning qi 5, the content of free proline first increased and then decreased too, but the content of amino declined continuously; the contents of soluble sugar, MDA and soluble protein in Ning qi 5 bud were higher than those in Ning qi 1 during the developmental stages, and the trend of content changes of those substances were different.

Key words: *Lycium barbarum* L.; male sterility; free proline; free amino acid; soluble sugar; soluble protein; MDA

宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)为宁夏五宝之一,其补肾益精、养肝明目等保健作用享誉中外。杂种优势利用是提高枸杞产量、缓解品质与产量矛盾、增强抗(耐)逆性的有效途径,而雄性不育是杂种优势利用中的一种重要遗传工具和途径^[1-2]。枸杞雄性不育种质宁杞 5 号的发现和选育,开创了枸杞遗传育种的新篇章^[3],由于其能推动杂交育种优势,提高产量与品质,引起了相关研究者的广泛关注,但其不育机理及应用尚处于研究阶段。近年来,许多学者对玉米、水稻、小麦、大白菜、甘蓝、大豆和棉花等

收稿日期: 2011-06-23 修回日期: 2011-07-13

基金项目: 国家自然科学基金(30960208)和宁夏大学科学研究基金项目(NDZR10-50)

作者简介: 郑蕊(1972-)女,副教授,博士生,主要从事植物生物技术与植物蛋白质组学研究 E-mail: xlzheng@126.com。

作物的雄性不育机理进行了广泛而深入的研究,发现许多生理生化指标在不育系和保持系之间存在较大的差异^[4]。

有关枸杞雄性不育株的细胞学、活性氧代谢及部分生理指标等相关研究已有一些文献^[5-9]。本文研究了枸杞雄性不育花蕾不同发育时期游离脯氨酸、游离氨基酸、可溶性糖、可溶性蛋白及MDA含量的动态变化及各指标之间的相关性,以期揭示不育株与可育株在物质代谢水平方面的差异,以及不育材料中各指标与育性的相关性,为后续研究奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料:宁夏枸杞主栽品种宁杞1号及其雄性不育突变体宁杞5号,花蕾取样方法参考米海莉^[8]的标准。于2010年5月中旬至下旬根据镜检结果,结合花药的形态指标,分别取花粉母细胞期、花粉母细胞减数分裂期和花粉成熟期的花蕾。取样后迅速置液氮中,带回实验室后置于-80℃超低温冰箱保存备用。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 游离氨基酸及游离脯氨酸含量测定 分别采用茚三酮法和酸性茚三酮法^[10]测定宁夏枸杞花蕾不同发育时期的游离氨基酸含量和游离脯氨酸含量。

1.2.2 可溶性糖、可溶性蛋白及丙二醛(MDA)含量测定 参考何开跃^[11]方法分别测定枸杞花蕾发育不同时期的可溶性糖、及丙二醛(MDA)及可溶性蛋白含量。

1.3 数据处理

所得数据用Microsoft Excel 2003和SPSS 13.0软件处理,分别进行各生化指标的差异显著性检验和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 游离脯氨酸和游离氨基酸含量的动态变化

由图1A可知:不育株和可育株不同发育时期花蕾游离脯氨酸的含量都有所变化,宁杞1号花蕾三个时期游离脯氨酸含量变化达到显著($p < 0.05$)差异,宁杞5号不同时期脯氨酸含量变化达到极显著($p < 0.01$)差异。随着花蕾生长发育,宁杞1号脯氨酸含量逐渐升高,而宁杞5号中脯氨酸含量先升高,从花粉母细胞减数分裂期开始急剧下降;在同一发育时期二者脯氨酸含量也有所不同,花粉母细胞时期宁杞1号脯氨酸含量低于宁杞5号,其余两个时期宁杞1号均明显高于宁杞5号。

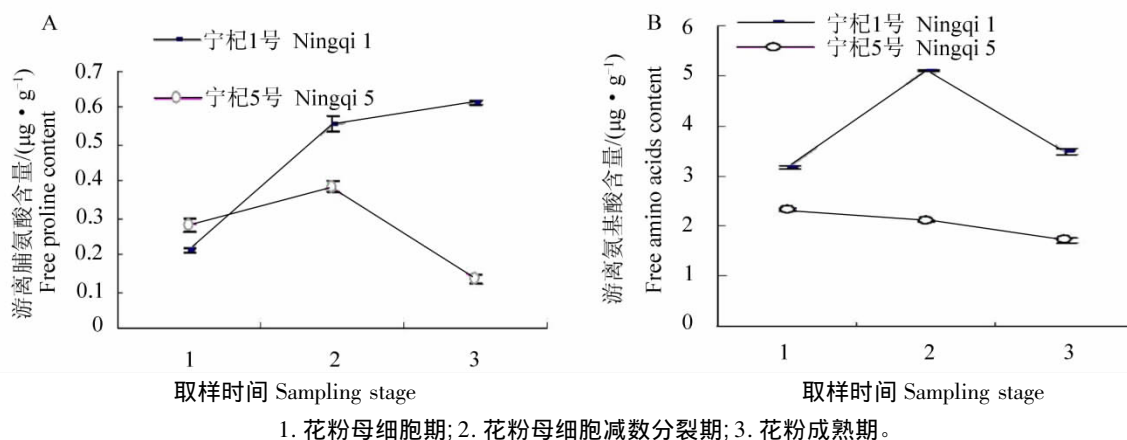


图1 枸杞花蕾游离脯氨酸(A)和游离氨基酸(B)含量动态变化

Fig. 1 Changes of free proline (A) and free amino acids (B) in *Lycium barbarum* L. buds

由图1B可知:宁杞1号氨基酸含量在花蕾发育三个时期均明显高于宁杞5号;宁杞1号游离氨基酸含量先升高后下降,并且变化均达到极显著水平($p < 0.01$),宁杞5号三个时期游离氨基酸呈下降趋

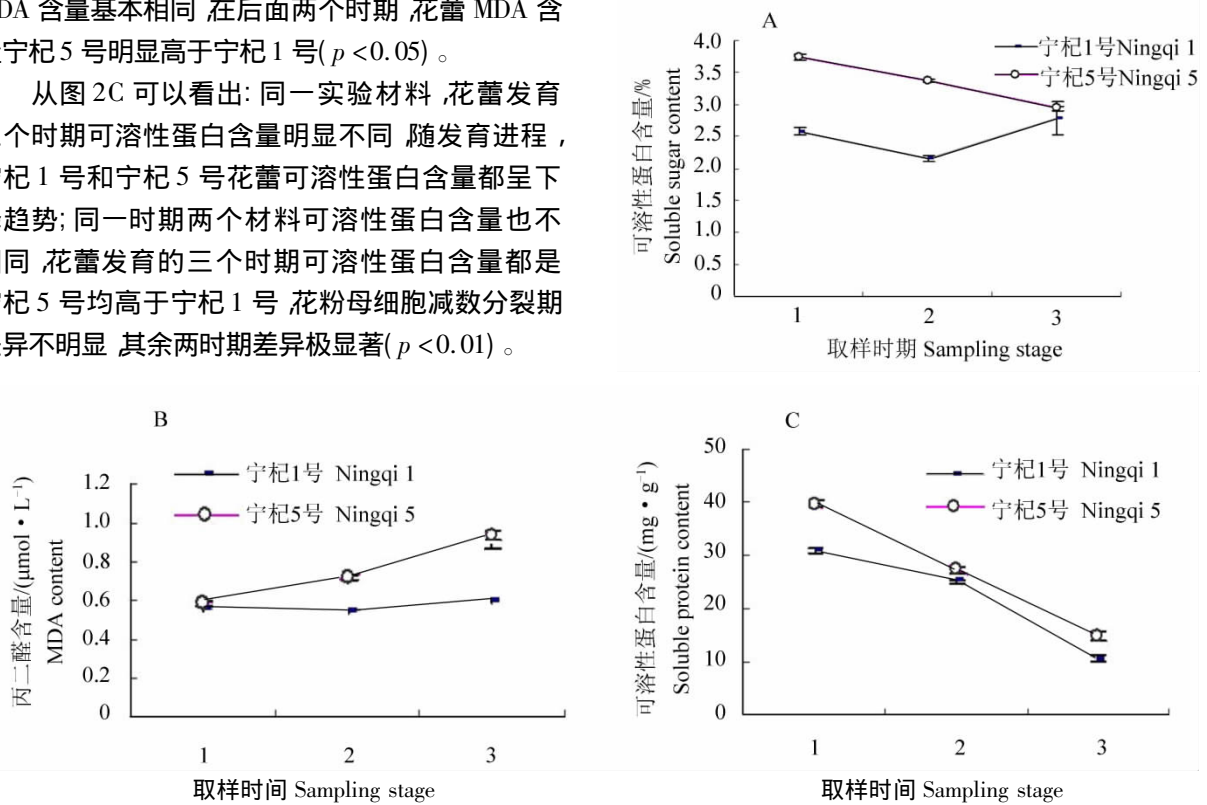
势,但下降程度不显著。

2.2 可溶性糖、可溶性蛋白及丙二醛含量动态变化

枸杞花蕾发育不同时期同一实验材料中可溶性糖含量是不同的图 2A,宁杞 1 号呈先下降后上升趋势,宁杞 5 号呈一直下降趋势;在枸杞花蕾发育三个时期可溶性糖含量宁杞 5 号均显著 ($p < 0.05$) 高于宁杞 1 号。

从图 2B 可以看出,在花蕾发育三个时期,宁杞 1 号 MDA 含量变化不显著,而宁杞 5 号 MDA 含量呈上升趋势,且变化显著 ($p < 0.05$);同一时期可育与不育材料 MDA 含量也不相同,花粉母细胞时期两个材料 MDA 含量基本相同,在后面两个时期,花蕾 MDA 含量宁杞 5 号明显高于宁杞 1 号 ($p < 0.05$)。

从图 2C 可以看出:同一实验材料,花蕾发育三个时期可溶性蛋白含量明显不同,随发育进程,宁杞 1 号和宁杞 5 号花蕾可溶性蛋白含量都呈下降趋势;同一时期两个材料可溶性蛋白含量也不相同,花蕾发育的三个时期可溶性蛋白含量都是宁杞 5 号均高于宁杞 1 号,花粉母细胞减数分裂期差异不明显,其余两时期差异极显著 ($p < 0.01$)。



1. 花粉母细胞期; 2. 花粉母细胞减数分裂期; 3. 花粉成熟期。
1. Pollen mother cell stage; 2. Pollen mother cell meiosis; 3. Pollen maturity.
图 2 枸杞花蕾可溶性糖 (A)、MDA (B) 和可溶性蛋白 (C) 含量动态变化

Fig. 2 Changes of soluble sugar (A), MDA (B) and soluble protein (C) in *Lycium barbarum* L. buds

2.3 各项生理生化指标的相关性分析

由表 1 可知,宁杞 1 号花蕾发育不同时期游离脯氨酸与可溶性蛋白呈负相关,相关系数为 -0.807。游离氨基酸与可溶性糖及可溶性蛋白分别呈负相关和正相关,相关系数分别为 -0.877 和 0.087。可溶性糖与 MDA 呈正相关,相关系数为 0.798。可溶性蛋白与 MDA 呈负相关,相关系数为 -0.859。表明在可育枸杞花蕾发育过程中,游离氨基酸的含量的增加有利于可溶性蛋白的积累,但可导致可溶性糖的缺乏。可溶性糖和可溶性蛋白的积累分别可导致 MDA 含量的增加和减少。

宁杞 5 号中花蕾发育不同时期游离氨基酸与可溶性糖及可溶性蛋白均呈正相关,与 MDA 呈负相关,相关系数分别为 0.984、0.979 和 -0.979。可溶性糖与可溶性蛋白呈正相关,与 MDA 呈负相关,相关系数分别为 0.995 和 -0.942。表明在不育花蕾发育过程中,游离氨基酸含量的增加有利于可溶性糖及可溶性蛋白的积累,但可导致 MDA 的缺乏;可溶性糖含量的增加有利于可溶性蛋白的表达但可能会抑制 MDA 的积累。

3 讨论

植物雄性不育现象涉及质核互作、基因表达调控、环境因素以及花粉发育和雄性器官发育的时空调控过程等诸多复杂因素,外源(光、温、气和重力等)和内源(激素和细胞因子等)因素的共同作用导致物

表1 枸杞花蕾发育过程中各项生理生化指标之间的相关系数

Tab.1 Correlation coefficients of Physiological and biochemical indexes during the buds development of *Lycium barbarum* L.

各项指标 Indicators		游离脯氨酸 Free proline	游离氨基酸 Free amino acids	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	丙二醛 MDA
宁杞1号	游离脯氨酸 Free proline	1.000	0.511	-0.066	-0.807 **	0.433
Ningqi1	游离氨基酸 Free amino acids	0.511	1.000	-0.877 **	0.087	-0.498
	可溶性糖 Soluble sugar	-0.066	-0.877 **	1.000	-0.515	0.798 **
	可溶性蛋白 Soluble protein	-0.807 **	0.087	-0.515	1.000	-0.859 **
	丙二醛 MDA	0.433	-0.498	0.798 **	-0.859 **	1.000
	游离脯氨酸 Free proline	1.000	0.680 *	0.615	0.573	-0.671 *
宁杞5号	游离脯氨酸 Free proline	1.000	0.680 *	0.984 **	0.979 **	-0.979 **
Ningqi5	游离氨基酸 Free amino acids	0.680 *	1.000	0.984 **	0.979 **	-0.979 **
	可溶性糖 Soluble sugar	0.615	0.984 **	1.000	0.995 **	-0.942 **
	可溶性蛋白 Soluble protein	0.573	0.979 **	0.995 **	1.000	-0.943 **
	丙二醛 MDA	-0.671 *	-0.979 **	-0.942 **	-0.943 **	1.000
	游离脯氨酸 Free proline	1.000	0.680 *	0.615	0.573	-0.671 *

* 表示在 0.05 水平相关性显著, ** 表示在 0.01 水平相关性显著。

* means significant correlation at 0.05 level, ** means significant correlation at 0.01 level.

质和能量等代谢紊乱或异常,小孢子发育所需营养和能量亏缺,从而引发不育发生。国内外对苧麻、甘蓝、萝卜、油菜、水稻、玉米、大白菜、胡萝卜和辣椒等作物不育系的生化特性进行了广泛研究^[12],发现不育系和保持系在蛋白质、氨基酸、MDA和可溶性糖等方面存在差异。脯氨酸在花粉小孢子发育过程中为花粉的萌发和花粉管的伸长提供能量、还原力和碳骨架^[13-14],富含游离脯氨酸是正常花粉的重要特征之一。研究表明,不育花药严重缺乏脯氨酸积累,且比可育花低很多。脯氨酸普遍存在于蛋白质中,花药内脯氨酸缺乏必定影响蛋白质的合成,进而影响小孢子的正常发育^[15]。碳水化合物的代谢与花粉育性的关系,前人做了大量的工作。认为输入花药的营养物质主要是糖类,其含量多少是影响小孢子育性的重要因素^[16]。丙二醛(MDA)含量的上升可能会抑制细胞保护酶的活性从而进一步加剧膜脂过氧化作用,从而导致生物体的严重损伤甚至死亡,植物体中较高的氧自由基与MDA含量是雄性不育的重要原因之一^[17]。蛋白质是基因表达的产物,雄性不育相关基因表达的改变,必然体现在蛋白质丰度的变化上。

本研究结果表明:雄性不育株花蕾的脯氨酸含量从花粉母细胞减数分裂期开始降低,可育株花蕾中的脯氨酸含量在整个发育过程中一直增加,因而不育株花蕾脯氨酸含量在花粉成熟时期比可育株的低得多,这与前人的研究结果一致^[18-19]。脯氨酸含量的降低是雄性不育的原因还是结果,曾经有不同的研究观点^[12]。雄性不育枸杞脯氨酸含量降低是否是引起败育的原因,还待进一步研究。研究发现可溶性糖在枸杞不育株花蕾中保持较高的水平,与王学德^[20]报道棉花CMS花粉母细胞减数分裂期不育花药中无淀粉粒积累,而可育花药则积累大量淀粉粒结果相反,这可能是由于花蕾发育时期雄性不育株一些育性相关生命活动停滞,淀粉等能量物质大量积累,对于可溶性糖在雄性不育枸杞中的具体代谢途径有待于进一步研究;不育株中MDA含量在花蕾发育的各个阶段都高于可育株,该结果与前人研究结果一致^[8-19]。研究还发现不育株花蕾可溶性蛋白含量在不同发育时期均高于可育株,与前人研究结果在花药败育过程中可溶性蛋白含量减少,随着花药的发育,不育系与保持系蛋白质含量差异也表现明显^[21]。不尽一致,这也许是不育因素引发的植物响应不适宜条件而诱导的一些蛋白的高表达,具体机理尚待研究。

综上所述,枸杞雄性不育株与可育株花蕾在基础物质代谢方面存在着一定的差异,这种差异与枸杞的雄性不育性有一定的关系。本研究仅对枸杞雄性不育部分生理生化特性进行了初步探索,今后还有待于从激素、分子和蛋白质组等方面对其不育机理进行进一步研究。

参考文献:

- [1]王瑞雪,沈亮余,邹燕,等.龚慧明甘蓝型油菜雄性不育系09A花蕾发育过程中生理生化特性研究[J].中国农学通报 2011 27(9):176-179.

- [2]廖志强,况晨光,许丽芳,等.中国甘蓝型油菜细胞质雄性不育的主要类型及在育种实践中的应用[J].中国农学通报,2010,26(3):105-110.
- [3]秦垦,李云翔,洪凤英.首个宁夏枸杞雄性不育种质个体 YX-1 研究初报[J].宁夏农林科技,2005,6:1-3.
- [4]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,2007,22(6):791-794.
- [5]徐青,秦垦,张炎,等.不育枸杞花药营养物质代谢与花粉败育的关系[J].安徽农业科学,2009,37(31):15566-15569.
- [6]曹君迈,任贤,刘建利,等.枸杞雄性不育株花药败育的显微结构观察[J].西北农业学报,2009(6):187-191.
- [7]田英,李云翔,秦垦,等.宁夏枸杞雄性不育材料小孢子发生的细胞形态学观察[J].西北植物学报,2009(2):263-268.
- [8]米海莉,张曦燕,樊云芳,等.枸杞雄性不育与植株发育进程中活性氧代谢的关系[J].江西农业大学学报,2008,30(5):796-798.
- [9]米海莉,樊云芳,张曦燕,等.枸杞花粉发育进程中花蕾和叶片物质代谢与育性的关系[J].西北植物学报,2009,29(3):482-486.
- [10]李合生,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,2000:192-195,258-260.
- [11]何开跃,李晓储,黄利斌,等.3种含笑耐寒生理机制研究[J].南京林业大学学报,2004,28(4):62-64.
- [12]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.
- [13]朱广廉,孙超,曹宗巽.太谷核不育小麦可育花药内游离氨基酸的来源、利用及与不育花药败育的关系[J].植物生理学报,1985,11(2):122-129.
- [14]逯红栋,巩振辉,黄炜,等.9个辣椒雄性不育材料花蕾生理生化特性研究[J].西北植物学报,2006,26(4):832-835.
- [15]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.
- [16]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.
- [17]朱肖文,范东东,彭耀东,等.细胞质雄性不育烟草花蕾膜质过氧化研究[J].中国烟草学报,2010,16(4):40-44.
- [18]刘金兵,侯喜林,王述彬,等.甜椒胞质雄性不育(CMS)系及其可育株花药中游离氨基酸含量[J].江苏农业学报,2006,22(1):68-70.
- [19]罗来水,霍光华,刘勇,等.桃雄性不育性与花器官内游离氨基酸含量的关系[J].果树科学,2000,17(4):255-260.
- [20]王学德.棉花细胞质雄性不育花药的淀粉酶与碳水化合物[J].棉花学报,1999,11(3):113-116.
- [21]邓晓辉,张蜀宁,侯喜林,等.不结球白菜 Pol 胞质雄性不育系及其保持系的部分生理生化指标分析[J].江西农业大学学报,2007,29(4):522-525.