

梨自交不亲和强度不同品种花柱 S 糖蛋白含量的差异

张绍铃¹ 杨记礅² 李秀根² 平 伸³ Joseph Ngwela Wolukau¹

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009; ³三重大学生物资源学部, 日本, 津市 514-8507)

摘要: 提取梨 (*Pyrus*) 自交不亲和强度不同品种花柱可溶性蛋白质, 应用等电聚焦电泳法在凝胶板上分离出 S 糖蛋白, 用图像解析法进行定量。结果表明, 花柱总 S 糖蛋白含量因品种而异, 自交不亲和强、弱及自交亲和的品种每 1 μg 花柱可溶性蛋白中含总 S 糖蛋白分别为 $\geq 1.3 \text{ ng}$ 、 $0.7 \sim 0.9 \text{ ng}$ 、 $\leq 0.7 \text{ ng}$ 。不同的 S 基因所表达的 S 糖蛋白量差异显著, 即使是同一 S 基因所对应的 S 糖蛋白量也因品种而异。

关键词: 梨; 自交不亲和性; S 基因; S 糖蛋白

中图分类号: S 661.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2002) 02-0165-03

1 目的、材料与方法

梨树田间自花授粉坐果率极低, 且存在异花不结实现象。这是由于花粉的 S 基因与雌蕊的一对 S 等位基因之一的基因型相同时, 花粉虽能在柱头上萌发, 但花粉管沿花柱向子房伸长途中被花柱内的抑制物质所抑制, 而不能完成受精坐果^[1]。最近已明确了梨自交不亲和 $S_1 \sim S_7$ 的 7 个等位基因, 在凝胶板上分别确定了各 S 基因所对应的 S 糖蛋白^[2]。在前报^[3]我们指出了花柱 S 糖蛋白在离体条件下特异性地抑制自花花粉管生长, 其抑制程度取决于花粉管周围的 S 糖蛋白浓度。为了进一步探讨花柱内 S 糖蛋白与自交不亲和性表型的关系, 本研究以自交不亲和强度不同的品种为试材, 分析讨论了花柱内 S 糖蛋白含量的品种间差异, 及其与品种自交不亲和强度的关系。

以日本三重大学及江苏高邮市果树实验场梨园的成龄梨树 (*Pyrus*) 为材料, 选用了自交不亲和强、中、弱三类品种 (见表 1)。采集开花前 1~2 d 的花蕾, 切取花柱, 称取 0.5 g 于研钵, 加入少许液态氮研磨后加蛋白质提取液, 经离心 (4°C , $20\,000 \times g$, 10min) 的上清液用 Sephadex G-25 层析柱分离, 回收液用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉析, 得到的蛋白质沉淀用 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液透析后, 贮于冰柜中待用。提取的可溶性蛋白质参照 Bradford^[4]的方法定量。然后, 取各品种可溶性蛋白质 100 μg , 用等电聚焦电泳法 (IEF-PAGE) 电泳银染色后, 确定各 S 糖蛋白谱带, 采用日本 NIFTY 公司发行的 National Institutes of Health (NIH) 图像处理软件, 进行图像解析测定各 S 糖蛋白的含量。

2 结果与分析

2.1 花柱内总 S 糖蛋白量的品种间差异

从梨品种花柱中提取的可溶性蛋白质, 经过等电聚焦电泳后, 各品种在 $\text{pI} = 9 \sim 10$ 处有 2 条明显的 S 糖蛋白特异性谱带。应用图像解析法测定了各 S 糖蛋白的量, 并将 2 个 S 糖蛋白的合计值作为各品种 S 糖蛋白总量。结果 (图 1) 表明, 自交不亲和强的品种, 每 1 μg 的花柱可溶性蛋白含有 1.14 (‘市原早生’) \sim 1.67 ng (‘新世纪’) 的 S 糖蛋白, 平均为 $(1.45 \pm 0.05) \text{ ng}$ 。自交不亲和强度中等的品种为 1.08 (‘八里’) \sim 1.35 ng (‘翠星’), 平均为 $(1.20 \pm 0.05) \text{ ng}$ 。自交不亲和强度弱的品种

收稿日期: 2001-07-23; 修回日期: 2001-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170651); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK2001062); 高校博士学科点专项科研基金资助项目 (20010307012)。第一作者 E-mail: nmsl@sina.com.cn

为 0.68 (‘奥嘎二十世纪’) ~ 0.88 ng (‘豆梨’), 平均为 (0.80 ±0.04) ng。可见, 自交不亲和强的品种花柱总 S 糖蛋白量显著高于自交不亲和强度中等和弱的品种。花柱内总 S 糖蛋白量可作为检测品种自交不亲和强度的一项指标, 即每 1 μg 花柱可溶性蛋白中含总 S 糖蛋白在 0.7 ng 以下时可定为自交亲和的品种, 0.7 ~ 0.9 ng 为自交不亲和强度弱的品种, 在 1.3 ng 以上时为自交不亲和强的品种, 为今后选育和鉴定品种的自交不亲和强度提供了参考。

表 1 梨供试品种的自交不亲和 (SI) 强度及 S 基因型
Table 1 The self incompatibility (SI) strength and S-genotype of the test cultivars

代号 No.	供试品种 Test cultivars	SI 强度 ^[5] SI strength ^[5]	S 基因型 S-genotype	文献 Literature cited
1	奥嘎二十世纪 Osar Nijisseiki (<i>Pyrus serotina</i> Rehd.)	弱 Weak	S ₂ S ₄ sm	[6]
2	新雪 Shinsetsu (<i>P. serotina</i> Rehd.)	弱 Weak	未确定 Unclear	
3	巴梨 Bartlett (<i>P. communis</i> L.)	弱 Weak	未确定 Unclear	
4	豆梨 mamenashi (<i>P. dimorphophylla</i> Nakino)	弱 Weak	未确定 Unclear	
5	晚三吉 Okusankitsu (<i>P. serotina</i> Rehd.)	中 Intermediate	S ₅ S ₇	[7]
6	八里 Yasato (<i>P. serotina</i> Rehd.)	中 Intermediate	未确定 Unclear	
7	菊水 Kikusui (<i>P. serotina</i> Rehd.)	中 Intermediate	S ₂ S ₄	[7]
8	二十世纪 Nijisseiki (<i>P. serotina</i> Rehd.)	中 Intermediate	S ₂ S ₄	[7]
9	喜水 Kisui (<i>P. serotina</i> Rehd.)	中 Intermediate	S ₄ S ₅	[8]
10	翠星 Suisei (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₁ S ₄	[7]
11	青龙 Seiryu (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₂ S ₃	[7]
12	市原早生 Ichiharawase (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₁ S ₅	[8]
13	独逸 Doitsu (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₁ S ₂	[7]
14	八云 Yakumo (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₁ S ₄	[7]
15	今村秋 Imamuraaki (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₁ S ₆	[7]
16	青玉 Seigyku (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₂ S ₃	[7]
17	幸水 Koksui (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₄ S ₅	[9]
18	长十郎 Chojuro (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₂ S ₃	[7]
19	新水 Shinsui (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₄ S ₅	[9]
20	新世纪 Shinseiki (<i>P. serotina</i> Rehd.)	强 Strong	S ₃ S ₄	[9]

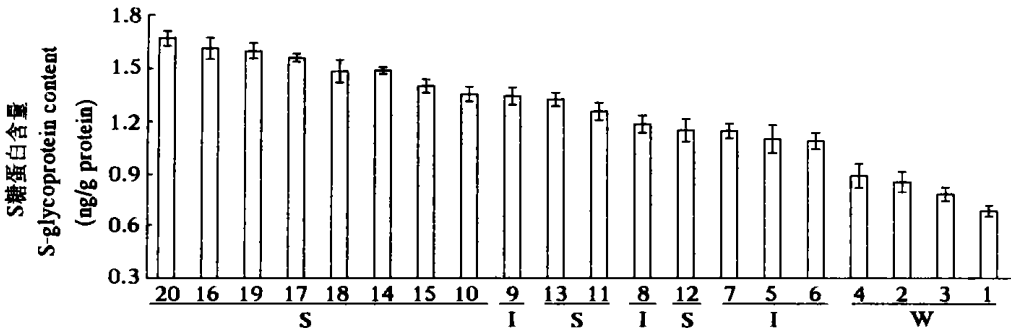


图 1 不同自交不亲和强度的梨品种花柱内总 S 糖蛋白量的比较

代号品种名称见表 1。图上垂直线代表标准误差, S 代表自交不亲和强度强的品种, I 为中强度的品种, W 为弱强度的品种。
Fig. 1 Comparison of the total S glycoprotein content among the styles of pear cultivars differing in self incompatibility strength
Number and cultivar see table 1. Vertical bars indicate SE, S= strong SI cultivar, I= intermediate SI cultivar, W= weak SI cultivar.

2.2 花柱内各 S 糖蛋白量的品种间差异

依据各品种的 S 基因型归类, 测定的各 S 基因所表达的 S 糖蛋白量如图 2。S₁ 基因所表达的糖蛋白量, 每 1 μg 花柱可溶性蛋白中含 0.72 (‘今村秋’) ~ 0.86 (‘八云’) ng, 平均为 (0.80 ±0.03) ng。S₂ 糖蛋白 0.29 (‘奥嘎二十世纪’) ~ 0.51 (‘独逸’) ng, 平均为 (0.42 ±0.04) ng。S₃ 糖蛋白 0.90 (‘青龙’) ~ 1.09 (‘长十郎’) ng, 平均为 (0.97 ±0.04) ng。S₄ 糖蛋白 0.60 (翠星) ~ 0.76 (‘新水’) ng, 平均为 (0.67 ±0.03) ng。S₄sm 糖蛋白 (0.39 ±0.02) ng (‘奥嘎二十世纪’)。S₅ 糖蛋白 0.72 (‘喜水’) ~ 0.84 (‘新水’) ng, 平均为 (0.78 ±0.03) ng。S₆ 糖蛋白 (0.57 ±0.03) ng。

(‘今村秋’)。S₇ 糖蛋白 (0.34 ±0.06) ng (‘晚三吉’)。可见，花柱内不同的 S 基因所表达的糖蛋白量差异显著，即使是同一 S 基因所表达 S 糖蛋白量，不同品种间也有很大差异。如 S₂ 糖蛋白的含量，‘独逸’最高，每 1 μg 花柱可溶性蛋白中含 0.51 ng，而‘奥嘎二十世纪’仅为 0.29 ng，前者比后者高约 1 倍。这种同一 S 基因所表达的糖蛋白量因品种而异的现象，被认为是由于梨品种花柱内还存在着调控 S 基因表达的修饰基因所致。

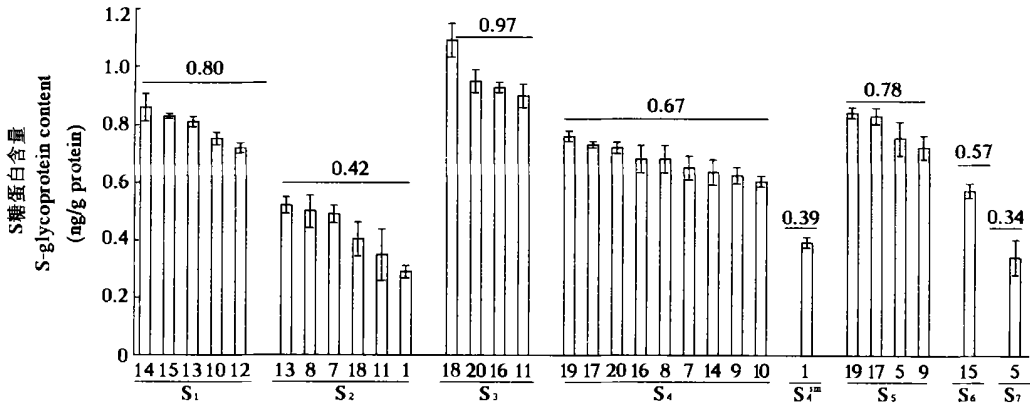


图 2 梨自交不亲和强度不同品种花柱内各个 S 糖蛋白量的比较
代号品种名称见表 1。图上垂直线代表标准误差，图内的数据为各个 S 糖蛋白含量的平均值。

Fig. 2 Comparison of respective S-glycoprotein content among the styles of pear cultivars differing in self incompatibility strength
Number and cultivar see table 1. Vertical bars indicate SE. Numerals in the figure represent the mean contents of each S-glycoprotein.

参考文献:

1 de Nettancourt D. Incompatibility in angiosperms. New York: Springer Verlag, Berlag, Heidelberg, 1977. 1~ 29
2 Sassa H, Hirano H, Ikehashi H. Identification and characterization of stylar glycoproteins associated with self incompatibility genes of Japanese pears, *Pyrus serotina* Rehd. Mol. Gen. Genet., 1993, 241: 17~ 25
3 张绍铃, 平 伸. 梨花柱 S 糖蛋白对离体花粉萌发及花粉管生长的影响. 园艺学报, 2000, 27 (4): 251~ 256
4 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 1976, 72: 248~ 254
5 张绍铃, 平塚 伸. 花柱培養法によるニホンナシの自家および交配不和合反応の品種間差の解析. 園藝學會雜誌, 1999, 68 (2): 373~ 383
6 佐藤義彦, 栗原昭夫, 阿部和幸. ニホンナシにおける自家不和合性の遺伝様式の解明. 園藝學會要旨, 1988, 昭 63 春: 76~ 77
7 寺見廣雄, 島湾博高, 島津裕吉. 日本梨各品の不稔性因子の分析. 園藝學會研究集録, 1946, 3: 267~ 271
8 Hiratsuka S, Kubo T, Okada Y. Estimation of self-incompatibility genotype in Japanese pear cultivars stylar protein analysis. J. Japan Soc. Hort. Sci., 1998, 67: 491~ 496
9 堀浦一郎, 佐藤義彦. ニホンナシの育種および基礎研究と栽培品種の来历および特性. 果树試験場研究报告, 1990, 1: 5~ 25

Differences of S glycoprotein Content in the Styles among Pear Cultivars Differing in Self incompatible Strength

Zhang Shaoling¹, Yang Jigun², Li Xiugen², Shin Hiratsuka³, and Joseph Ngwela Wolukau¹
(¹College of Horticulture, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China; ²Zhengzhou Fruit Research Institute, CAAS, Zhengzhou 450009, China; ³Faculty of Bioresources, Mie University, Tsu 514- 8507, Japan)

Abstract: Stylar soluble proteins were extracted from the whole style of pear cultivars differing in self incompatibility (SI) strength and were separated by isoelectricfocusing polyacrylamide gel electrophoresis (IEF-PAGE) and each S-glycoprotein content was quantified by an image analyzer. Total S-glycoprotein (sum of two allelic-linked S-glycoproteins) content differed among cultivars. The cultivars which were strong SI, weak SI and self compatibility contained ≥1.3 ng, 0.7 – 0.9 ng, and ≤0.7 ng of S-glycoprotein per μg of stylar soluble protein, respectively. S-allele linked glycoprotein content differed greatly in various S-genotypes. Furthermore, the S-glycoprotein content was even different in cultivars with the same S genotype.

Key words: Pear (*Pyrus*); Self incompatibility; S-allele; S glycoproteins