

黄瓜花药和花粉高温伤害与多胺和脯氨酸含量的关系

缪璐璐 曹碁生

(扬州大学农学院园艺系, 扬州 225009)

摘 要: 黄瓜花药在开花期比花粉母细胞形成期(阶段1)和单核花粉期(阶段2)腐胺、精胺、亚精胺含量较低, 游离脯氨酸(Pro)含量较高。高温(35/25)使阶段1、阶段2花药中上述3种内源多胺含量及开花期花药和花粉中Pro含量下降。黄瓜花粉在萌发培养基上培养1 h时3种内源多胺含量达峰值, 此后下降; Pro含量随着花粉萌发逐步下降; 高温(35)下黄瓜花粉萌发后3种内源多胺含量的上升和Pro水平的下降趋势被抑制, 但耐热品系XC-1、NY-1受高温的影响小于热敏品系新泰密刺或不受影响, 表明多胺和Pro代谢与耐热性有关。外源鸟氨酸转氨酶(OAT)的抑制剂3-氨基-2,3-二羟基安息香酸(Gabaculine)能降低黄瓜花粉的萌发能力, 同时提高花粉中内源多胺的含量并降低Pro的含量, 表明黄瓜花粉萌发过程中可能存在由Pro合成多胺的途径。

关键词: 黄瓜; 高温; 花药; 花粉; 多胺; 游离脯氨酸

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 03-0233-05

高温下黄瓜花药发育不良、花粉活力下降并最终导致授粉受精不良, 是夏季非单性结果黄瓜产量和品质下降的重要原因^[1]。目前关于作物雄性器官受到高温伤害的显微证据已有不少报道, 如高温下花药发育不良, 绒毡层畸形, 药室内壁解体, 出现畸形花粉粒等^[2,3], 但关于高温对作物雄性器官造成伤害生理生化方面的报道较少。大量研究表明, 多胺和游离脯氨酸(Pro)是作物雄性器官发育及花粉萌发过程中的重要代谢物质^[4,5], 为此, 作者研究了耐热性不同的黄瓜品系常温和高温下花药发育和花粉萌发过程中内源多胺和Pro含量的变化, 以期初步揭示高温伤害黄瓜花药发育和花粉萌发过程的生化机理以及黄瓜不同品系雄性器官耐热性差异的原因。

已有研究表明, 在一定的条件下, 植物体内的Pro可转化为鸟氨酸(Orn), 而后进一步合成多胺, 鸟氨酸转氨酶(OAT)的逆向催化活性在此过程中起关键作用^[6,7]。为了探索黄瓜花粉萌发过程中多胺与Pro之间是否存在上述代谢上的关系, 作者研究了外源多胺、外源Pro及OAT的抑制剂3-氨基-2,3-二羟基安息香酸(Gabaculine)对黄瓜花粉管生长及内源多胺和Pro含量的影响。

1 材料与方 法

材料为黄瓜(*Cucumis sativus* L.)耐热品系XC-1(湘春7号株选品系, 华北型)、NY-1(台湾农友公司提供, 华南型)及不耐热品系新泰密刺(Xintaimici, 从南京市蔬菜研究所种子门市部购得, 华北型)。试验于1999~2000年在扬州大学农学院园艺系蔬菜试验温室和人工气候室中进行。将试材播种于40 cm × 40 cm盆中, 以蛭石为基质, 用Hogland完全营养液每3 d浇灌1次。温室昼温23~28℃, 夜温13~18℃。当植株陆续有雄花发生时, 将其转移至气候室进行温度处理。气候室光照强度1 000 μmol · m⁻² · s⁻¹, 日照时间14 h, 空气相对湿度60%~70%。处理温度为: 常温25/15℃, 高温35/20℃。

收稿日期: 2001-06-01; 修回日期: 2001-09-19

基金项目: 江苏省教委自然科学基金资助项目(H9909418); 江苏省高校重点实验室开放基金资助项目(K99080)

花药发育期间的观测：据先前研究结果^[1]，黄瓜雄花蕾长度为 1 mm 时约处于花粉母细胞形成期，5 mm 时约处于单核花粉期。故温度处理后 10 d，选取大量长度为 1 mm 的雄花蕾（阶段 1），一部分摘下剥取花药，投入液氮保存，用于测定腐胺（Put）、精胺（Spm）、亚精胺（Spd）和 Pro 含量，另一部分挂牌标记，继续处理，待标记雄花分别长至 5 mm（阶段 2）和开花当天（前 1 d 下午夹花，防止污染）剥取花药测定上述指标。并在开花当天取各处理花粉测定 Pro 含量，同时观测 25 ℃ 下花粉培养 4 h 时的花粉管长度（培养基成分：80 mg/kg 硼酸 + 100 g/kg 蔗糖，每次统计 100 粒），花药和花粉的取样在早晨 6 时左右进行。试验重复 4 次。

花粉萌发期间的观测：取 3 品系正常花粉，在萌发培养基（同上）上常温（25 ℃）和高温（35 ℃）下培养，分别于培养 0 h、1 h、2 h、3 h、4 h 时，取花粉测定 3 种内源多胺和 Pro 含量，并测量培养 4 h 时的花粉管长度（每次统计 100 粒）。试验重复 4 次。

外源 Cabaculine、Put 和 Pro 的作用试验：取新泰密刺正常花粉，在萌发培养基（同上）上于下述 5 种条件下萌发：（1）25 ℃；（2）35 ℃；（3）25 ℃，培养基中加 10^{-4} mol L^{-1} Cabaculine（Fluka）；（4）35 ℃，培养基中加 10^{-4} mol L^{-1} Put；（5）35 ℃，培养基中加 2 mg g^{-1} Pro。观测培养 1 h 时花粉中 3 种内源多胺和 Pro 的含量以及培养 4 h 时的花粉管长度。试验重复 4 次。内源多胺含量的测定参照马志超等的方法^[8]，Pro 含量的测定参照 Bates 等的方法^[9]。

2 结果与分析

2.1 常温与高温下花药发育期间内源多胺和 Pro 含量的变化

图 1 表明，3 品系常温（25 ℃）下花药发育过程中 3 种内源多胺的含量均在阶段 1、阶段 2 维持较高水平，至开花当天下降。其中 XC-1、NY-1 在阶段 1、阶段 2 的含量高于新泰密刺，但至开花当天，3 品系间差异不显著。高温（35 ℃）处理使新泰密刺花药阶段 1、阶段 2 的多胺含量有所降低，其中阶段 2 下降幅度最大，而对 XC-1、NY-1 的影响不显著。

由图 2 可知，3 品系在 25 ℃ 常温下花药中 Pro 含量在阶段 1、阶段 2 均维持较低水平，至开花当天大幅上升。35 ℃ 高温对 3 品系花药阶段 1、阶段 2 的 Pro 含量影响不大，但显著降低开花当天的水平。常温下开花当天 3 品系成熟花粉中 Pro 的含量高于此时整个花药中的含量，表明此时花药中花粉 Pro 的含量要高于其他非花粉成分。高温下新泰密刺花粉中 Pro 含量大幅下降，而在 XC-1、NY-1 中仍能维持较高水平。

2.2 常温与高温下花粉萌发期间内源多胺和 Pro 含量的变化

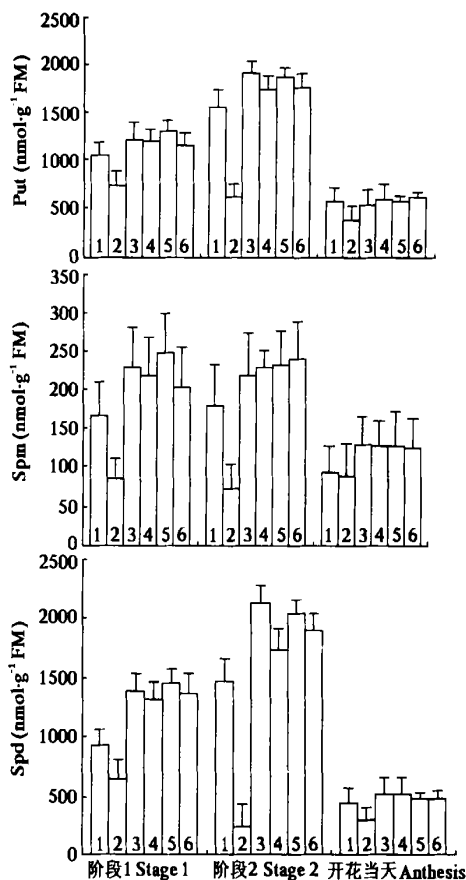


图 1 不同温度下黄瓜花药各发育阶段内源多胺含量的变化
阶段 1 为花粉母细胞形成期，阶段 2 为单核花粉期，图 2 同。
图中短线为 4 次测量的标准差，图 2~4 同。

1. 新泰密刺 Xintaimici 25 ℃；2. 新泰密刺 Xintaimici 35 ℃；
3. XC-1 25 ℃；4. XC-1 35 ℃；5. NY-1 25 ℃；6. NY-1 35 ℃。

Fig. 1 Changes of endogenous polyamines contents of cucumber anthers at different developmental stages growing under different temperatures

Stage 1 is pollen mother cell formation stage, stage 2 is monokaryotic pollen stage, Fig. 2 is the same. Bars in Fig. 1 are SDs from 4 measurements, Fig. 2-4 is the same.

由图 3 可知, 3 品系花粉萌发期间 3 种内源多胺均在培养 1 h 时达峰值而后下降。高温处理使新泰密刺花粉培养 1~3 h 期间的 3 种多胺含量显著低于常温处理, 其中以培养 1 h 时的峰值下降幅度最大。高温处理使 XC-1、NY-1 花粉培养 1 h 时 3 种多胺含量的峰值也有所下降, 但下降幅度小于新泰密刺, 在培养 2~4 h 期间与常温处理间差异不显著。

供试 3 品系常温下花粉萌发期间 Pro 含量均呈逐步下降趋势。高温处理使新泰密刺的这一下降趋势变缓, 而对其他 2 品系影响不显著 (图 4)。

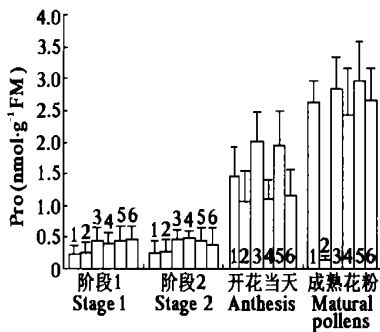


图 2 不同温度下黄瓜花药各发育阶段及成熟花粉中的 Pro 含量

Fig. 2 Free proline contents of cucumber anthers at different developmental stages and maturat pollens growing under different temperatures
1. 新泰密刺 Xintaimici 25 ; 2. 新泰密刺 Xintaimici 35 ;
3. XC-1 25 ; 4. XC-1 35 ; 5. NY-1 25 ; 6. NY-1 35 .

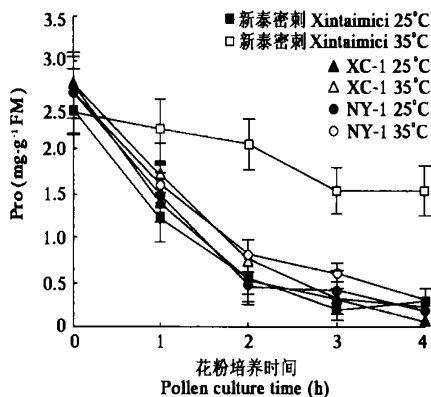


图 4 不同温度下黄瓜花粉萌发期间 Pro 含量的变化

Fig. 4 Changes of free proline contents during cucumber pollen germination under different temperatures

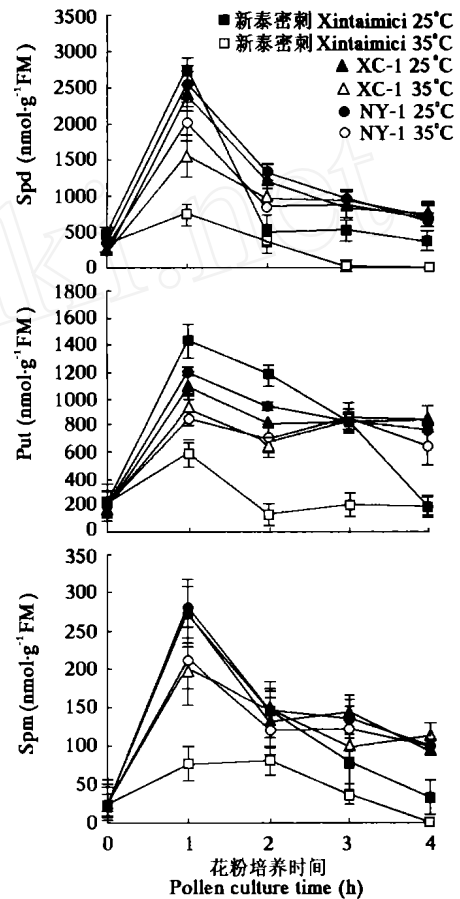


图 3 不同温度下黄瓜花粉萌发期间内源多胺含量的变化

Fig. 3 Changes of endogenous polyamines contents during cucumber pollen germination under different temperatures

表 1 新泰密刺黄瓜花粉在常温和高温下培养 1 h 的内源多胺和 Pro 含量及培养 4 h 的花粉管长度

Table 1 Contents of endogenous polyamines and free proline of 1 hr germinated pollens and pollen tube length of 4 hr germinated pollens of Xintaimici under different conditions

培养条件 Cultural conditions	花粉管长 Pollen tube length (μm)	多胺 Polyamine (nmol g ⁻¹ FM)			脯氨酸 Free proline (mg g ⁻¹ FM)
		Put	Spm	Spd	
25	4 362 d	1 432 b	276 d	2 698 c	1.238 a
35	1 346 a	578 a	76 a	747 a	2.236 c
25 + Gabaculine	2 754 b	746 a	172 c	1 059 b	1.632 b
35 + Put	3 052 c	—	124 b	1 148 b	2.428 c
35 + Pro	3 174 c	1 024 b	128 b	827 a	—

注: 不同培养条件的 FLSD 法多重比较, P=0.05。

Note: FLSD test between different germination conditions (between lines), P=0.05.

2.4 外源 Gabaculine、Put 和 Pro 对新泰密刺花粉管的影响

由表 1 可知, 新泰密刺花粉培养 4 h 时的花粉管长度在 5 种培养之间存在显著差异, 其中高温下花粉管生长受抑最严重, 外源 Pro 和外源 Put 能缓解高温对花粉管生长的抑制, 常温下 Gabaculine 的

存在降低了花粉管的萌发长度。进一步测定花粉培养 1 h 时的内源多胺和 Pro 的含量, 结果表明 Gabaculine 的存在会显著降低花粉中内源多胺的含量, 提高 Pro 的含量。高温下外源 Put 可提高其他 2 种内源多胺的含量, 但对 Pro 的含量无显著影响。外源 Pro 的施用能显著提高花粉内源 Put、Spm 的含量, 但对 Spd 不产生显著影响。

3 讨论

多胺在植物细胞分裂过程中具有重要作用^[10], 黄瓜花药发育过程中阶段 1 至阶段 2 大约是花粉母细胞形成及其减数分裂并形成单核花粉的时期^[11], 此期花药内源多胺含量的上升(图 1)可能与花药组织中旺盛的细胞分裂有关。耐热性较强的 XC-1、NY-1 在花药发育阶段 1 和阶段 2 腐胺、精胺和亚精胺的水平高于热敏品系新泰密刺, 且高温下耐热品系内源多胺的下降幅度小于热敏品系, 表明高温导致的此期间 3 种内源多胺水平的下降与高温对黄瓜花药发育造成伤害关系密切。

Pro 是作物花粉萌发期间的重要代谢物质^[11], 黄瓜开花前花粉中 Pro 的大幅上升可能是为花粉即将萌发积累原料。高温下热敏品系花粉中 Pro 含量锐减至极低水平, 而耐热品系仍能维持相对较高的水平, 表明成熟花粉中 Pro 的大量积累对花粉的正常萌发至关重要。

尽管目前还不清楚多胺在作物花粉萌发过程中的具体作用, 但从高温下热敏品系花粉萌发期间内源多胺水平下降幅度明显大于耐热品系这一点, 可以推测多胺在黄瓜花粉萌发过程中具有重要作用, 外源 Put 能缓解高温对花粉管生长的抑制支持了上述推测。

黄瓜花粉萌发期间 Pro 含量逐步下降, 可能与 Pro 在花粉萌发期间被逐步消耗有关^[11]。高温使新泰密刺花粉萌发期间 Pro 含量一直维持较高水平, 同时造成了花粉管生长的抑制, 表明黄瓜花粉萌发过程中 Pro 被消耗利用的重要性。

在 Pro 大量积累的植物组织中, Pro 可转化为 Orn, 然后进一步合成多胺^[7]。本试验中, 黄瓜花粉从开始萌发至萌发后 1 h, 多胺水平上升而 Pro 含量下降, 且高温能同时抑制此期多胺水平的上升和 Pro 含量的下降, 这一现象令笔者推测此时花粉中内源多胺和 Pro 之间可能存在上述代谢上的关系。为初步验证这一推测, 将 OAT 的抑制剂 Gabaculine 加入花粉萌发培养基, 结果表明 Gabaculine 显著抑制了新泰密刺花粉萌发 1 h 后 Pro 的下降趋势, 同时造成了内源多胺含量的下降, 表明黄瓜花粉萌发过程中可能存在由 Pro 至多胺的代谢途径。外源 Pro 能够提高花粉中 Put 的浓度, 为此提供了进一步的证据。抑制剂的存在降低了花粉的萌发能力, 表明由 Pro 至多胺的代谢途径对黄瓜花粉的正常萌发可能具有重要意义。

参考文献:

- 1 缪琳. 黄瓜热伤害与热适应生理机制及耐热栽培技术研究: [博士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2000. 94 页
- 2 韩笑冰, 利容千, 王建波, 等. 热胁迫对辣椒花粉发育及其生活力的影响. 园艺学报, 1996, 23 (4): 359 ~ 364
- 3 Monterroso V A, Chris Wiem H. Flower and pod abscission due to heat stress in beans. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1990, 115 (4): 631 ~ 634
- 4 Chibi F, Matilla A J, Angosto T, et al. Changes in polyamine synthesis during anther development and pollen germination in tobacco (*Nicotiana tabacum*). Physiologia Plantarum. 1994, 92: 61 ~ 68
- 5 Song J, Nada K, Tachibana S. Ameliorative effect of polyamines on the high temperature inhibition of in vitro pollen germination in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Scientia Horticulturae, 1999, 80: 203 ~ 212
- 6 赵福庚, 刘友良. 胁迫条件下高等植物体内脯氨酸代谢及调节的研究进展. 植物学通报, 1999, 16 (5): 540 ~ 546
- 7 Le Dily F, Billard J P, Gaspar T, et al. Disturbed nitrogen metabolism associated with the hyperhydric status of fully habituated callus of sugarbeet. Physiologia Plantarum. 1993, 88: 129 ~ 134
- 8 马志超, 藏荣春, 储可铭. 高效液相色谱法测定番茄愈伤组织中的多胺. 分析化学, 1991, 19 (1): 1317 ~ 1319
- 9 Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil., 1973, 39: 205 ~ 207
- 10 Bagni N, Bachrach U, Heimer Y M, et al. Polyamines in plant growth and development. Boca Raton: CRC Press, 1989. 107 ~ 120

11 加藤幸雄, 志佐诚. 植物生殖生理学. 周永春, 刘瑞征译. 北京: 科学出版社, 1987. 519 ~ 520

The Relationship Between Heat Injury and Polyamines or Proline Contents During Anther Development and Pollen Germination in Cucumber

Miao Minmin and Cao Beisheng

(Department of Horticulture, Agricultural College of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Cucumber (*Cucumis sativus* L.) anthers had lower Put, Spm, Spd contents and higher free proline (Pro) contents at anthesis than those at pollen mother cell formation stage and monokaryotic pollen stage, high temperature (35 / 20) could reduce Put, Spm, Spd contents at stage 1 and stage 2, and reduce Pro contents in anthers and pollens at anthesis. During cucumber pollen culturing, Put, Spm, Spd contents reached max in 1 h then descended, Pro contents descended gradually, Put, Spm, Spd contents decreased and Pro contents increased when cucumber pollen germinated under high temperature (35). In heat sensitive line Xintaimici, the effects of high temperature on physiological processes above were more serious than those in heat tolerant line XC-1 and NY-1, which indicated polyamine and Pro might play a key role in cucumber anther development and pollen germination. Gabaculine, a inhibitor of ornithine aminotransferase, could inhibit cucumber pollen germination, improve polyamine contents and reduce Pro contents during pollen germination, which indicated there might be a Pro to polyamine biochemistry route during cucumber pollen germination.

Key words: Cucumber; High temperature; Anther; Pollen; Polyamine; Free proline

新书推荐

《英汉生物学词汇》(第二版)

本书是《英汉生物学词汇》1983年版的增修订本, 是一部综合生物学各分支学科词汇的大型工具书。收有动物学、植物学、人体解剖学、组织胚胎学、微生物学、遗传学、细胞学、生物化学、生物物理学、时间生物学、生物工程、分子生物学、生态学等学科以及医学、农学的词汇, 共约 130 000 条。

定价: 99 元 (含邮费)

《汉英生物学词汇》

本书是一部汉英对照的中型工具书。收有动物学、植物学、人体解剖学、组织胚胎学、微生物学、遗传学、细胞学、生物化学、生物物理学、时间生物学、生物工程、分子生物学、生态学等学科以及医学、农学的名词, 共约 14 万条。

定价: 106 元 (含邮费)

《英汉生物化学及分子生物学词典》

本词典收集生物化学、分子生物学及与其相关的细胞生物学、免疫学、遗传学、微生物学及医药学等方面词条约 21 000 条, 大部分词条附有简明释义。书中还收录一些缩写词和同义词, 供读者查阅文献、翻译文章使用。

定价: 88 元 (含邮费)

以上工具书可供大专院校师生、生物学各专业科技人员以及有关信息资料和翻译工作者参考。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。