

# ‘新高’梨花粉败育与内源多胺含量变化的关系

李六林<sup>1,2</sup>, 张绍铃<sup>1\*</sup>, 郭艳玲<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>南京农业大学园艺学院, 南京 210095; <sup>2</sup>山西农业大学园艺学院, 山西太谷 030801)

**摘要:** 以花粉败育的‘新高’梨和花粉可育的‘丰水’梨为试材, 对不同发育阶段的花蕾或花药内不同形态的腐胺 (Put)、亚精胺 (Spd) 和精胺 (Spm) 含量进行了分析, 以探讨多胺种类和形态与新高花粉败育的关系。结果表明: 新高花蕾发育过程中游离态的 Put 和 Spd 含量变化幅度不大, 丰水则在单核花粉到二核花粉时期出现高峰, 在单核花粉期到单核花粉晚期含量是新高的 3~5 倍。新高中游离态的 Spm 也显著低于丰水; 丰水中高氯酸可溶共价结合态 Put、Spd 和 Spm 含量逐渐增加, 新高在花粉败育前期或败育期出现不同于丰水的高峰; 除丰水成熟的花药外, 两个品种中高氯酸不溶结合态多胺含量的变化基本一致; 两个品种的不同形态 Put、Spd 和 Spm 总量在败育前期差异不显著, 此后新高显著低于丰水; 丰水中的多胺均以游离态为主, 新高以高氯酸可溶结合态为主。

**关键词:** 梨; 花粉; 败育; 多胺

中图分类号: S 661.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2007) 02-0301-04

## Relationship Between Pollen Abortion and Change of Endogenous Polyamines Contents in ‘Niitaka’ Pear Cultivars

L I Liu-lin<sup>1,2</sup>, ZHANG Shao-ling<sup>1\*</sup>, and GUO Yan-ling<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; <sup>2</sup>College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

**Abstract:** In order to explore the relationship between polyamines and pollen abortion of pear, the contents of different forms of putrescine (Put), spermidine (Spd) and spermine (Spm) were examined at different stages of pollen development in floral buds or anther of male sterile pear cultivar Niitaka (*Pyrus pyrifolia* Nakai) and fertile pear cultivar Housui. The results indicated that the variation range of contents of both free Put and Spd in Niitaka was small during bud development, whereas the variation of free Put and Spd content of Housui showed a peak during uninucleate pollen stage to later uninucleate pollen stage. At the stage of pollen abortion (from uninucleate pollen stage to later uninucleate pollen stage), the free Put and Spd contents were 3 - 5 times of Niitaka. Free Spm content in Niitaka was significantly lower than that of Housui. The contents of perchloric acid covalently soluble conjugated Put, Spd and Spm of Housui were gradually increased, but the contents of those in Niitaka showed a peak that did not appear in Housui during pollen abortion or ahead. Except developmentally mature anther, variations of perchloric acid covalently insoluble conjugated in two cultivars were similar. Total contents of different forms of Put, Spd and Spm did not have significant differences before pollen abortion, but were significant lower in Niitaka than that of Housui after pollen abortion. The free Put, Spd and Spm were the predominant forms in total contents in Housui, however, the predominant forms in Niitaka were perchloric acid covalently soluble conjugated Put, Spd and Spm.

**Key words:** Pear; Pollen; Abortion; Polyamines

收稿日期: 2006 - 06 - 07; 修回日期: 2007 - 02 - 13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30170651; 30270926)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: nnzsl@njau.edu.cn)

目前多胺对植物雄性不育的调节作用受到了高度关注。多胺在植物体内有以多聚阳离子状态和与高分子物质如蛋白、核酸及细胞膜等以氢键或离子键结合的游离态, 以及与酚类等物质结合的结合态, 而有关多胺的形态与植物雄性不育关系的研究报道不多, 且结果还存在很大差异 (Martin-Tanguy, 1997)。本试验对花粉败育的‘新高’梨 (*Pyrus Pyrifolia* Nakai) 和可育的‘丰水’梨花粉发育过程中不同种类和形态内源多胺进行分析, 以探讨不同形态的多胺在‘新高’花粉败育过程中的作用和意义, 为今后应用外源多胺调节花粉的育性提供理论依据。

## 1 材料与方法

以南京新世纪园艺研究所梨品种园内 6 年生‘新高’和‘丰水’梨为试验材料。结合花药涂片法和 45% 的醋酸洋红染色镜检, 分别在花粉母细胞时期、四分体时期、单核花粉期、单核花粉晚期、二核花粉期和成熟花粉期收集单个的花蕾或花药, 于液氮中冷冻, 放入 -20 的冰箱中保存备用。

游离态腐胺、亚精胺和精胺含量测定参照刘俊等 (2002) 的方法。高氯酸可溶性结合态多胺和高氯酸不溶性结合态多胺测定参照 Kotzahasis 等 (1993) 的方法。试验结果利用 SAS 统计分析软件进行 *t* 检验分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 梨花粉发育过程中腐胺 (Put) 含量的变化

丰水花蕾中游离态 Put 含量随着花的发育逐渐增加, 从单核花粉期开始迅速增加, 于单核花粉晚期和二核花粉期达到高峰。新高游离态 Put 含量的变化与丰水相类似, 但在单核花粉晚期和二核花粉期, 仅是丰水的 31.0% 和 22.0% (图 1)。丰水高氯酸可溶性结合态 Put 含量随着花的发育而逐渐增加, 在成熟期含量最高。新高高氯酸可溶性结合态 Put 在花粉母细胞时期与丰水差异不大, 而后迅速增高, 于单核花粉晚期达到最高, 单核花粉期和晚期的含量是丰水的 4.35 和 3.36 倍。

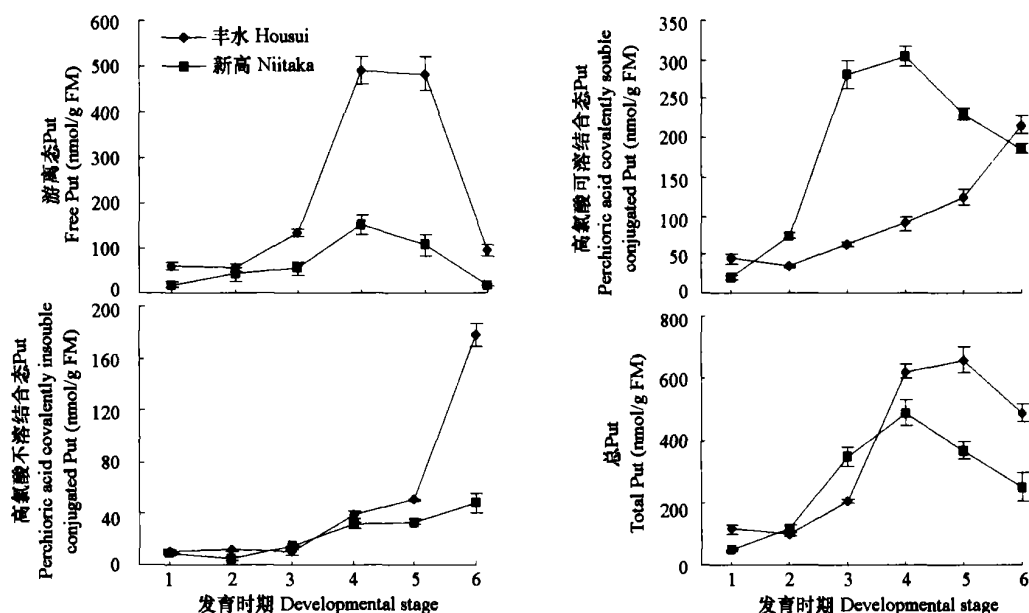


图 1 花粉发育过程中不同形态 Put 含量及总量的变化

1. 花粉母细胞时期; 2. 四分体时期; 3. 单核花粉期; 4. 单核花粉晚期; 5. 二核花粉期; 6. 成熟花粉期。

Fig. 1 Variation of the contents of different forms and total Put during pollen development

1. Pollen mother cell; 2. Tetrad; 3. Mononucleate; 4. Late mono-nucleate; 5. Dinucleate; 6. Mature pollen

丰水高氯酸不溶性结合态 Put 含量在花粉发育的前期变化不明显, 单核花粉期以后逐渐增加。新高高氯酸不溶性结合态 Put 含量虽然在单核花粉期以后有所升高, 但都较丰水低。

除四分体时期和单核花粉期外, 新高 Put 总量显著地低于丰水。丰水在花粉发育过程中 Put 以游离态为主, 在单核花粉期、单核花粉晚期和二核花粉期, 其含量分别占总量的 64.8%、79.1% 和 73.5%。新高则以高氯酸可溶结合态为主, 在上述 3 个时期, 高氯酸可溶结合态的含量占到总量的 80.2%、62.5% 和 62.4%。

## 2.2 梨花粉发育过程中亚精胺 (Spd) 含量的变化

丰水中游离 Spd 的含量于单核花粉期达到最高, 随着花粉发育而下降 (图 2)。新高 Spd 含量变化不明显, 在单核花粉期和单核花粉晚期仅为丰水的 31.7% 和 17.0%。丰水高氯酸可溶结合态 Spd 含量在花粉发育过程中维持在一定水平上变化不明显。新高高氯酸可溶结合态 Spd 含量变化同高氯酸可溶结合态 Put 含量变化一样。两个品种中高氯酸不溶结合态 Spd 的变化与高氯酸不溶结合态 Put 的变化基本一致, 除丰水在发育成熟的花药中有大量积累外, 两品种在其它发育时期的含量均较低。

丰水和新高的花蕾中 Spd 总量于单核花粉期出现一个高峰。两个品种除四分体时期无显著差异外, 其余发育时期新高均显著地低于丰水。丰水游离态 Spd 在总 Spd 含量中所占比重以单核花粉期到单核花粉晚期最高, 分别达到 66.6% 和 67.5%, 而同期高氯酸可溶结合态仅占 29.9% 和 25.8%。新高游离态和高氯酸可溶结合态所占的比例与丰水相反, 高氯酸可溶结合态在单核花粉期占 70.7%, 而游离态仅为 23.5%。

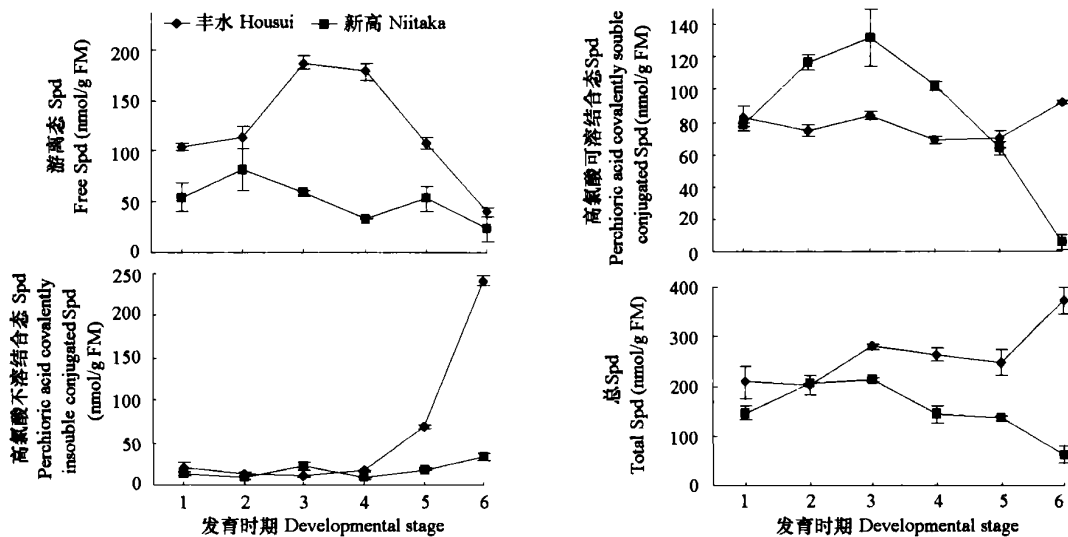


图 2 花粉发育过程中不同形态 Put 含量及总量的变化

1. 花粉母细胞时期; 2. 四分体时期; 3. 单核花粉期; 4. 单核花粉晚期; 5. 二核花粉期; 6. 成熟花粉期。

Fig. 2 Variation of the contents of different forms and total Put during pollen development

1. Pollen mother cell; 2. Tetrad; 3. Mononucleate; 4. Late mono-nucleate; 5. Dinucleate; 6. Mature pollen

## 2.3 梨花粉发育过程中精胺 (Spm) 含量的变化

两个品种的花蕾中游离态的 Spm 与 Put 和 Spd 相比, 含量较低。新高游离态 Spm 的含量于单核花粉期出现小高峰, 但各个时期均显著地低于同期丰水的含量。丰水高氯酸可溶结合态 Spm 含量的变化与 Spd 的变化规律基本一致, 但其含量较 Spd 低较多。新高高氯酸可溶结合态 Spm 含量的高峰出现在四分体时期, 以后逐渐下降。两品种高氯酸不溶结合态的 Spm 含量均非常低, 除丰水在成熟的花药中有所积累外, 其它变化趋势较一致。从 Spm 总量讲, 丰水在发育成熟的花药中积累了一定量的 Spm, 其它的差异不大。

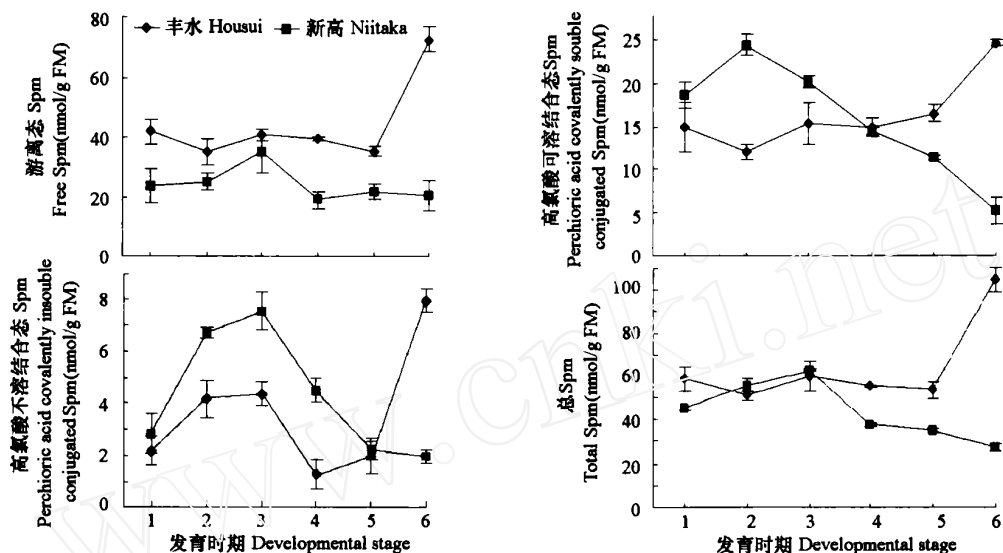


图 3 花粉发育过程中不同形态精胺含量及总量的变化

1. 花粉母细胞时期; 2. 四分体时期; 3. 单核花粉期; 4. 单核花粉晚期; 5. 二核花粉期; 6. 成熟花粉期。

Fig. 3 Variation of the contents of different forms and total Spm during pollen development

1. Pollen mother cell; 2. Tetrad; 3. Mononucleate; 4. Late mono-nucleate; 5. Dinucleate; 6. Mature pollen

多胺被认为是一种生长调节物质, 影响植物的许多生长和发育过程 (Bagni, 1989)。在几种作物的研究中证实多胺的代谢与雄性不育相关 (Aribaud & Martin-Tanguy, 1994), 但研究的结果不完全相同。本试验发现两个品种不同形态多胺的含量存在一定的差异, 尤其是不同形态多胺的相对比例和出现高峰的时间差异更为明显。丰水中多胺以游离态为主, 在与新高花粉败育相对应的时期 (即单核花粉发育和单核花粉发育晚期, 未发表数据) 游离态 Put 和 Spd 占 65.8% ~ 79.1%。而此期新高游离态 Put 和 Spd 仅占 25% 左右, 高氯酸可溶性结合态的占 80.2% 和 70.7%。目前有关高氯酸可溶性结合态多胺对花粉发育效应的机制尚不清楚。有研究表明结合态多胺可以调节细胞内游离态多胺的水平 (Flores & Filner, 1985), 也可作为一种运输的形式 (Havelange et al, 1996) 和氨氧化酶的底物 (Aribaud & Martin-Tanguy, 1994)。新高中高含量的高氯酸可溶性结合态多胺可能加快了多胺的向外运输和降解, 而且在降解过程中产生的氨基醛、 $H_2O_2$ 、自由基等物质积累至一定量时即会损伤质膜, 更重要的是破坏不同形态多胺平衡, 尤其是游离态多胺的减少, 影响花粉的正常发育。

## References

- Aribaud M, Martin-Tanguy J. 1994. Polyamine metabolism in normal and sterile *Chrysanthemum morifolium*. *Phytochem.*, 37: 927 - 932.
- Bagni N. 1989. Polyamines and plant growth and development. In: Bachrach U, Heimer YM. *The physiology of polyamines*. Boca Raton, Florida: CRC Press Incorporation: 107 - 120.
- Flores H E, Filner P. 1985. Polyamine catabolism in higher plants: characterization of pyrroline dehydrogenase. *Plant Growth Regul.*, 3: 277 - 291.
- Havelange A, Lejeune P, Bemier A, Kaur-Sawhney R, Galston A W. 1996. Putrescine export from leaves in relation to floral transition in *Sinapis alba*. *Plant Physiol.*, 96: 59 - 65.
- Kotzahas K, Christakis-Hampas M D, Ronbelakis-Angelakis K A. 1993. A narrow-bore HPLC method for the identification and quantization of free conjugated and bound polyamines. *Analytical Biochem.*, 214: 484 - 489.
- Liu Jun, Ji Xiao-jia, Liu You-liang. 2002. HPLC method for the identification and quantization of polyamines. *Plant Physiology Communications*, 38 (6): 596 - 598. (in Chinese)
- 刘俊, 吉晓佳, 刘友良. 2002. 检测植物组织中多胺含量的高效液相色谱法. *植物生理学通讯*, 38 (6): 596 - 598.
- Martin-Tanguy J. 1997. Conjugated polyamines and reproductive development: biochemical, molecular and physiological approaches. *Physiol Plant*, 100: 675 - 688.