

## 郁金香授粉后雌蕊生理生化变化的初步研究

王彩霞<sup>1</sup>, 欧阳彤<sup>1</sup>, 姜彦成<sup>2\*</sup>, 栾启福<sup>1</sup>

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400;

2. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

关键词: 郁金香; 种间杂交; 保护酶; 蛋白质

中图分类号: S682.2<sup>+</sup>63

文献标识码: A

## Study on Physiological and Biochemical Changes of Tulip Pistil after Pollination

WANG Cai-xia<sup>1</sup>, OUYANG Tong<sup>1</sup>, JIANG Yan-cheng<sup>2</sup>, LUAN Qi-fu<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, Xinjiang, China)

**Abstract:** The protective enzyme (SOD, POD, CAT) activities and soluble protein content of pistil after pollination were compared between interspecific-cross and self-cross of cultivar, using *Tulipa* specie (*T. tianschanica*) from Xinjiang and *T. gesneriana* cultivars ('Kees Nelis', 'Negrita') as test materials. The results showed that all the SOD, POD, CAT activities and soluble protein content changed after interspecific and self pollination, which means that the recognition between pollen and stigma can be initiated effectively when pollen fell on stigma despite of genetic relationship. Fluctuant changes were observed in 5 hours after pollination for protective enzyme activities and soluble protein content, and the fluctuation tendencies were different between interspecific and self pollination, as well as between 'Kees Nelis' × *T. tianschanica* and 'Negrita' × *T. tianschanica*. Self pollination appeared peaks of POD and CAT activities preceding interspecific pollination. Self pollination showed a larger rise and maintained rise for longer time than interspecific pollination. The SOD activity of 'Kees Nelis' × *T. tianschanica* changed more than that of 'Negrita' × *T. tianschanica*, meanwhile, the soluble protein content of the former declined preceding that of the latter. These differences were probably attributed to genetic relationship.

**Key words:** tulip, interspecific cross; protective enzyme; protein

受精作用是高等植物产生种子的前提条件,而受精作用能否完成受多种因素的影响,其中信号能否被有效传导是精子能否进入胚囊完成受精的关键所在。花粉与柱头的相互识别过程涉及许多酶系的活动<sup>[1-2]</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)以及过氧化氢酶(CAT)是植物细胞的保

护酶,授粉所引起的信号刺激会导致柱头及子房内这些酶的活性变化<sup>[3-5]</sup>。研究授粉后花粉与雌蕊相互作用引起的保护酶活性的变化,对揭示亲本之间的杂交亲和性,指导杂交育种的进行具有重要意义。

郁金香(*Tulipa* spp.)是世界著名的球根花卉,

品种间杂交、品种群(型、系)间杂交以及种间杂交等手段被广泛用于培育郁金香新品种。针对其杂交育种过程中出现的障碍已展开大量研究,且多集中在使用子房手术、胚培养、胚珠培养、子房培养等技术克服杂交障碍方面<sup>[6-8]</sup>。关于郁金香授粉后雌蕊生理生化指标的变化规律,及其与杂交亲和性关系的研究则少见报道。因此,本文以郁金香栽培品种与新疆野生种为试材,对种间杂交授粉和栽培品种自交授粉后雌蕊内保护酶活性以及可溶性蛋白质含量的变化进行了初步研究,旨在探讨授粉后各项指标的变化规律及其与杂交亲和性的关系,为郁金香杂交育种的开展提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所用郁金香材料包括2份栽培品种和1份新疆野生种。栽培品种‘克斯奈丽斯’(*T. gesneriana* ‘Kees Nelis’)和‘小黑人’(*T. gesneriana* ‘Negrita’)种球购自浙江虹越花卉有限公司。新疆野生种天山郁金香(*T. tianschanica* Regel)种球采自伊犁特克斯。

2007年12月中旬将种球盆栽,翌年4月花期以‘克斯奈丽斯’、‘小黑人’为母本,天山郁金香为父本进行杂交授粉,同时,对‘克斯奈丽斯’、‘小黑人’进行人工辅助自交授粉。在花苞将开放、花药未散开之前去雄套袋,次日上午柱头呈现晶莹的粘液时,采集正开放的新鲜花粉授于其上并套袋。分别在授粉后0、0.5、1、2、3、4、5 h取雌蕊(包括柱头、花柱、子房)进行分析,重复3次。

### 1.2 分析方法

SOD、POD、CAT活性及可溶性蛋白质含量参照陈建勋<sup>[9]</sup>的方法测定,稍作修改。将刚摘取的新鲜雌蕊称质量,剪碎后加入5 mL预冷提取液及少许石英砂,冰浴研磨,4 12 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清液稀释适当倍数后测定保护酶活性及可溶性蛋白质含量。SOD、POD、CAT活性分别采用氮蓝四唑(NBT)法、愈创木酚法、紫外吸收法测定,均以每克鲜质量的酶活性单位(U·g<sup>-1</sup>)表示。SOD以抑制NBT光化还原的50%为1个酶活性单位(U),POD以每分钟A<sub>470</sub>增加0.1为1个酶活性单位,CAT以每分钟A<sub>240</sub>减少0.1为1个酶活性单位。可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250法测定,以每克鲜质量的毫克数(mg·g<sup>-1</sup>)表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 授粉后郁金香雌蕊 SOD 活性的变化

图1所示:自交授粉后,SOD活性在初期均略有上升,并在0.5 h出现第1个小高峰,随后,SOD活性下降呈波动变化;杂交授粉的起伏变化比自交授粉的大,杂交授粉中‘克斯奈丽斯’×天山郁金香的起伏变化大于‘小黑人’×天山郁金香。‘克斯奈丽斯’×天山郁金香及‘小黑人’×天山郁金香均在授粉后2 h出现第2个SOD活性高峰。

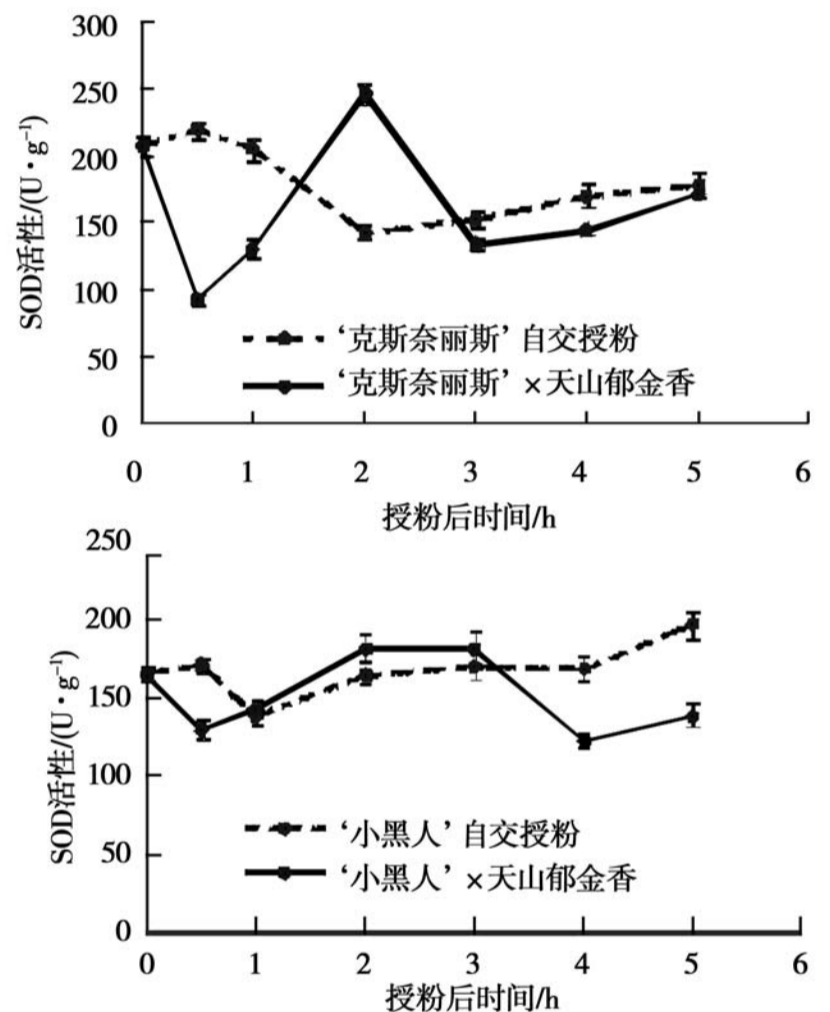


图1 授粉后郁金香雌蕊 SOD 活性的变化

### 2.2 授粉后郁金香雌蕊 POD 活性的变化

由图2可看出:杂交授粉与自交授粉后郁金香雌蕊的POD活性均先升高,随后呈波动变化;但杂交授粉与自交授粉之间的波动规律不同,自交授粉的首次高峰出现早于杂交授粉。‘克斯奈丽斯’及‘小黑人’自交授粉后,POD活性变化呈现双峰曲线,分别在0.5 h和3 h存在酶活性高峰;杂交授粉后,‘克斯奈丽斯’×天山郁金香及‘小黑人’×天山郁金香的POD活性均在3 h出现酶活性高峰,其活性值分别达授粉前的3.07和1.99倍。杂交授粉在授粉后3 h的POD活性高峰值高于自交授粉,且除‘克斯奈丽斯’4 h和‘小黑人’0.5 h以外的其它测试时间点,POD活性值均高于自交授粉。

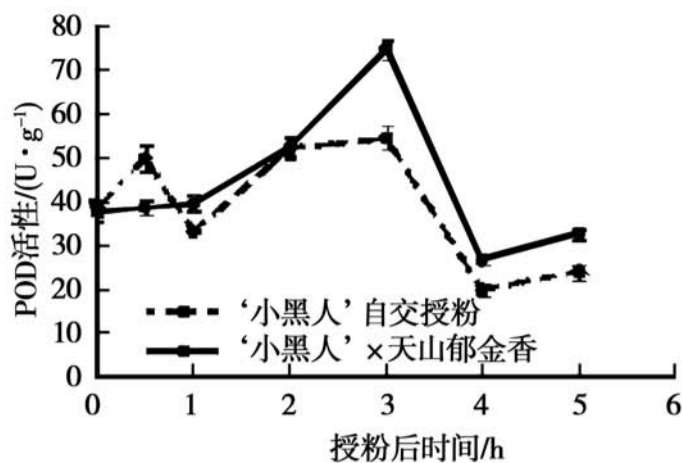
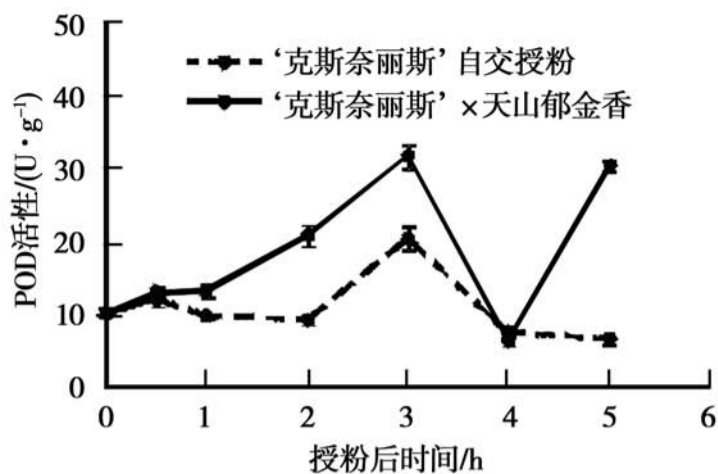


图2 授粉后郁金香雌蕊 POD 活性的变化

### 2.3 授粉后郁金香雌蕊 CAT 活性的变化

授粉后郁金香雌蕊 CAT 活性的变化规律与 POD 较相似, 自交授粉与杂交授粉后 CAT 活性均先升高, 并呈现波动性变化(图3); 杂交授粉后, '克斯奈丽斯' × 天山郁金香及 '小黑人' × 天山郁金香的 CAT 活性均在 2 h 出现一个酶活性高峰, 而 '克斯

奈丽斯' 自交授粉及 '小黑人' 自交授粉后的 CAT 活性变化呈现双峰曲线, 分别在 1 h 和 3 h 存在酶活性高峰。自交授粉的首次高峰出现在授粉后 1 h, 早于杂交授粉, 与 POD 不同的是, 杂交授粉的 CAT 活性高数值低于自交授粉。

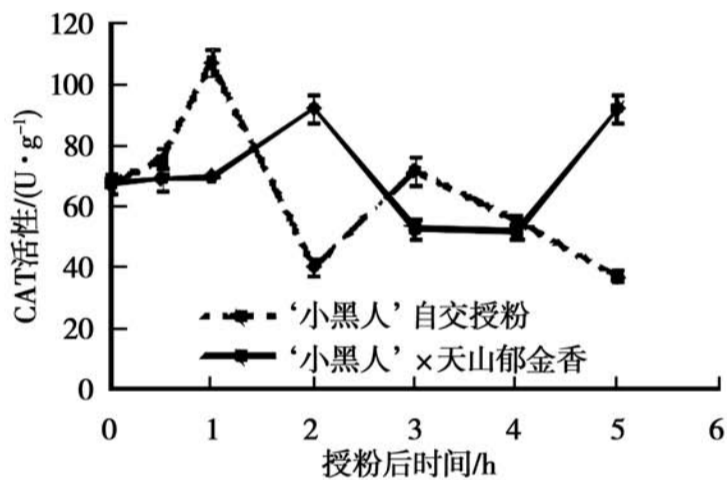
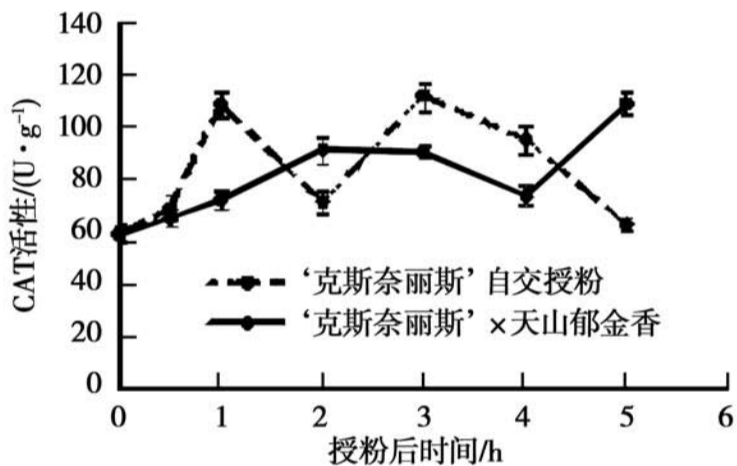


图3 授粉后郁金香雌蕊 CAT 活性的变化

### 2.4 授粉后郁金香雌蕊可溶性蛋白质含量的变化

图4所示: 可溶性蛋白质含量的变化早期均呈上升趋势, 且自交授粉要高于杂交授粉。随后, 可溶

性蛋白质含量下降并略有波动, 杂交授粉的下降早于自交授粉。就杂交授粉而言, '克斯奈丽斯' × 天山郁金香先于 '小黑人' × 天山郁金香下降。

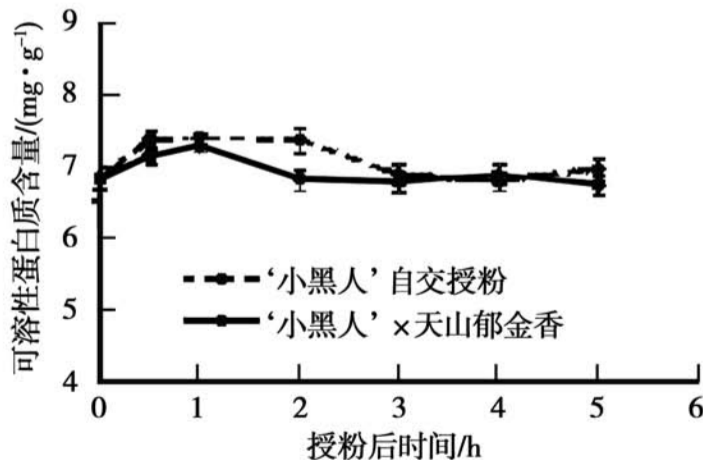
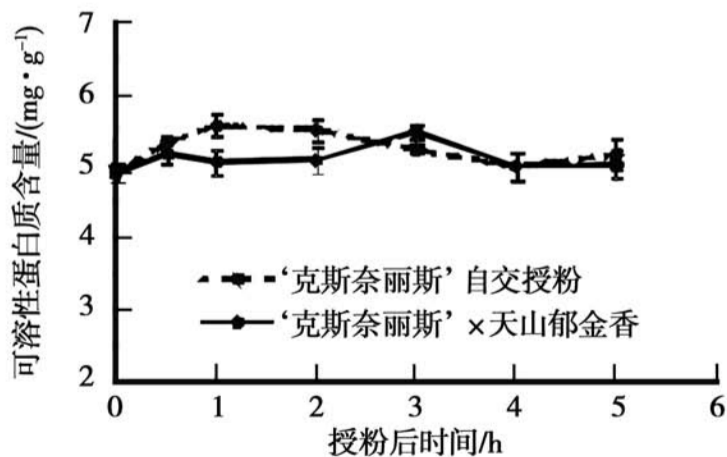


图4 授粉后郁金香雌蕊可溶性蛋白质含量的变化

## 3 小结与讨论

在植物授粉过程中, 花粉落到柱头上后与雌蕊发生互作, 二者的代谢均显著增强<sup>[10]</sup>。生物膜既是物质进出细胞器必要的屏障, 也是许多内外信号的

感受器, 细胞的生命活动在很大程度上受生物膜控制, 而 SOD、POD、CAT 在保护生物膜, 维持其正常生理功能方面发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。授粉后, 雌蕊内蛋白质代谢以及保护酶系统发生相应变化。根据已有的研究, 这种变化体现在质和量两方面。苹果 (*Ma-*

*lus pumila* Mill.) 子房授粉后蛋白质的合成增加并且维持在较高水平, 同时, 与未授粉子房相比出现 2 条大分子量的过氧化物同工酶带<sup>[3]</sup>。水稻 (*Oryza sativa* L.) 杂交不亲和授粉后柱头中出现新的蛋白条带, 新的蛋白可能与杂交不亲和授粉后的识别反应有关<sup>[2]</sup>。自交不亲和甘蓝 (*Brassica oleracea* L.) 授粉后花柱内 SOD、POD 和 CAT 活性以及蛋白质含量都显著上升, 但自花授粉上升幅度低于异花授粉<sup>[4]</sup>。

本研究显示: 种间杂交授粉和自交授粉均引起郁金香雌蕊 SOD、POD、CAT 活性及可溶性蛋白质含量的变化, 说明郁金香与甘蓝等相同, 无论亲缘关系远近, 花粉落到柱头上后均能有效启动二者的相互识别, 从而引起一系列生理生化变化。在授粉后 5 h 内, SOD、POD、CAT 活性及可溶性蛋白质含量呈波动变化, 这种波动可能对应于识别反应的不同阶段。SOD、POD、CAT 活性及可溶性蛋白质含量变化的波动趋势在自交授粉与杂交授粉之间, 以及不同杂交组合之间具有差异, 并有一定规律可循。就自交授粉和杂交授粉之间而言, POD、CAT 活性均是自交授粉先于杂交授粉出现高数值。自交授粉后可溶性蛋白质含量上升的幅度大于杂交授粉, 且上升趋势维持的时间长于杂交授粉。在杂交组合‘克斯奈丽斯’×天山郁金香以及‘小黑人’×天山郁金香之间, 前者的 SOD 活性变化起伏大于后者, 可溶性蛋白质含量先于后者下降。郁金香自交亲和, 而种间杂交具有不同程度的不亲和性。根据欧阳彤等<sup>[12]</sup>的研究, ‘小黑人’×天山郁金香的亲合性要好于‘克斯奈丽斯’×天山郁金香, 因此, 这些自交授粉与种间杂交授粉之间, 以及不同种间杂交组合之间授粉后雌蕊生理生化变化的差异可能是由亲缘关系的远近不同所致。亲缘关系越近, POD、CAT 活性升高越早, 可溶性蛋白质含量上升的幅度越大, 上升趋势持续的时间越长; 因此, 在郁金香杂交育种中通过

测试这些指标的变化, 根据 POD、CAT 活性高峰出现的早晚以及可溶性蛋白质含量上升的幅度和持续时间可快速判断双亲的亲合程度, 依此推断杂交的难易, 从而决定杂交的规模以及是否需要采取措施克服可能出现的杂交不亲合等。

#### 参考文献:

- [1] 郭云, 支崇远, 赵宇中. 显花植物受精早期阶段的酶作用[J]. 种子, 2007(2): 45 - 48
- [2] 李新利, 黄庆榴, 唐锡华. 授粉对水稻柱头蛋白质合成及钙离子富集的影响[J]. 植物生理学报, 1997, 23(1): 47 - 52
- [3] 赵东旭, 刘萍, 粟本文. 苹果受粉前后子房的生化变化[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 1997, 25(4): 86 - 89
- [4] 吴能表, 徐光德, 唐于婷, 等. 自交不亲和甘蓝的花粉萌发与花柱内保护酶活性变化[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2004, 29(5): 848 - 851
- [5] 杨红花, 秦宏伟. 李、杏属间杂交时花粉 - 雌蕊相互作用的生理生化变化研究[J]. 泰山学院学报, 2007, 29(3): 102 - 105
- [6] Kho Y O, Ba r J. Incompatibility problems in species crosses of tulip [J]. Euphytica, 1971, 20(1): 30 - 35
- [7] Van Eijk J P, Van Ramsdonk L W D, Eikelboom W, et al. Interspecific crosses between *Tulipa gesneriana* cultivars and wild *Tulipa* species: a survey [J]. Sexual Plant Reproduction, 1991, 4(1): 1 - 5
- [8] Custers J B M, Eikelboom W, Bergervoet J H W, et al. Embryo-rescue in the genus *Tulipa* L.: successful direct transfer of *T. kaufmanniana* Regel germplasm into *T. gesneriana* L. [J]. Euphytica, 1995, 82(3): 253 - 261
- [9] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002
- [10] 曾广文, 蒋德安. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000
- [11] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002
- [12] 欧阳彤, 姜彦成, 栾启福, 等. 新疆野生郁金香与栽培品种的杂交性状[J]. 植物学通报, 2008, 25(6): 656 - 664