

甘蓝自交不亲和性的化学控制

刘璐, 李成琼*, 任雪松, 宋洪元, 司军

西南大学园艺园林学院, 重庆市蔬菜学重点实验室, 重庆 400715

Chemical Control of the Self-Incompatibility of *Brassica oleracea* L.

LIU Lu, LI Cheng-Qiong*, REN Xue-Song, SONG Hong-Yuan, SI Jun

Chongqing Key Laboratory of Olericulture, College of Horticulture and Landscape, Southwest University, Chongqing 400715, China

摘要: 本文介绍甘蓝自交不亲和性的化学控制研究进展。

关键词: 甘蓝; 自交不亲和性; 化学控制

甘蓝(*Brassica oleracea* L.)是我国栽培面积较大的蔬菜作物之一。以前,甘蓝杂种一代的制种主要采用自交不亲和系,这虽然有杂种优势强、选育较容易和周期短等优点,但长期连续自交会致后代生活力的衰退,种子繁殖系数下降,而且繁殖自交不亲和系需要在蕾期进行人工授粉,操作麻烦,费时费工,效率低,大大增加了制种的成本。

所谓自交不亲和性(self-incompatibility, SI)是指雌雄二性配子均有正常的生活受精能力,在不同基因型的株间授粉能正常结籽,但花期自交则不能结籽或结籽率极低。植物自交不亲和的实质是:雌蕊细胞分泌出识别物质以识别或拒接同源花粉的分子反应(华志明 1999)。

按照形态学和遗传学的分类方法,自交不亲和性分成异型(heteromorphic)和同型(homomorphic)两大类。同型自交不亲和性又分成孢子体自交不亲和性(sporophytic self-incompatibility, SSI)和配子体自交不亲和性(gametophytic self-incompatibility, GSI)。异型自交不亲和性又分为二形花柱的自交不亲和性和三形花柱的自交不亲和性。

1763年, Kolreuter首次从紫毛蕊花(*Verbascum phoeniceum*)中发现了自交不亲和现象(胡适宜 1982)。在自然界大约有3 000种以上的植物存在自交不亲和性,而在十字花科植物中自交不亲和性最为普遍(East 1940), Bateman (1955)分析182种十字花科作物的结果表明,有80种作物表现自交不亲

和。Takahata 和 Hinata 曾考察十字花科芸薹属(*Brassica*)植物及其近缘野生种组成的芸薹族(Brassicaceae)植物59种,有50种表现为自交不亲和(官春云 1981)。

1 甘蓝的自交不亲和性

甘蓝是一种典型的孢子体型自交不亲和性植物,SI识别系统主要受S位点基因家族的复等位基因控制,具有独特的遗传规律(吴能表2003;杨继涛2008;Edh等2009)。迄今为止,认为在甘蓝S位点上,至少有3个蛋白参与花粉与柱头的相互识别过程,它们分别是:受体激酶(S-locus receptor kinase, SRK)、S位点特异糖蛋白(S-locus glycoprotein, SLG)、花粉外壁蛋白(S-locus cysteine-rich protein, SCR)。除此以外,还鉴定出一些与自交不亲和性相关但不与S位点连锁的蛋白,如ARC1、SLG、水孔蛋白、THL1/THL2、MLPK等等,但对它们的生物学功能的了解还甚少(芦岩和李玉花2005;卢军等2007;Holdereqger等2008)。

在甘蓝SI反应中,各个成员紧密配合,调控着这一精细的反应。因此,有人将甘蓝SI信号转导模式总结为:SRK在开花前一天其柱头上乳状突起

收稿 2009-07-30 修定 2009-10-21

资助 国家科技部支撑项目(2006BAD01A7-2-03)、重庆市“十一五”科技攻关项目(10376)和西南大学校基金(2070403)。

* 通讯作者(E-mail: chqli@swu.edu.cn; Tel: 023-68251611)。

细胞中迅速积累,而SCR在花药中表达。自交授粉后,SCR经过花粉胞被蛋白形成的附着区转运到乳状突起细胞表面时,立刻在花粉和柱头之间形成接触层。当SRK胞外域与配体SCR发生特异性作用后,胞内丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的活性得到激活,于是SRK磷酸化,形成一系列信号级联反应,最终花粉萌发受到抑制。而SRK下游的信号由ARC1、THL1/THL2、MOD等因子传递到乳状突起细胞的一种水孔蛋白中,调节水孔蛋白的活性,防止柱头分泌水分,以致花粉不能发生水合作用,最终导致花粉不能在柱头上萌发(汤青林 2002; 刘珠琴和张绍铃 2008; Rea 和 Nasrallah 2008)。

2 甘蓝自交不亲和性的化学控制

为了在授粉期间降低甘蓝自交不亲和性,以利于其繁殖和自交不亲和系的保存,现已有多种方法用于克服甘蓝的自交不亲和性(李惠民 2008),例如高温处理(Roggen 和 van Dijk 1976)、电刺激(Roggen 等 1972)、CO₂处理(Nakanishi和Hinata 1975; Taylor 1982)、混合花粉授粉(Pandey 1979)、钢刷授粉(Roggen 和 van Dijk 1972)、 γ 射线辐射(Stone 等 1999)等物理、生物学和机械方法,这些方法可在一定程度上提高甘蓝的自交结实率,但操作起来较为繁琐,柱头也容易受到损伤。

目前,甘蓝自交不亲和系的繁殖,一般都采用蕾期授粉的方法,但这种方法繁殖亲本工作量大,种子生产成本高。因此认为喷洒化学药剂是克服甘蓝自交不亲和性中较为有效的方法。从20世纪70年代以来,人们越来越关注用化学方法来克服甘蓝的自交不亲和性,并取得了一定的效果。

2.1 生长调节物质 NAA、IBA和GA₃等植物生长调节物质均可以克服矮牵牛属、万寿菊属、白车轴草和甘蓝属植物等的自交不亲和性。推测其效应是抑制花的脱落,因而生长很慢的花粉管可以到达子房,也可能是由于这些物质可以中和子房分泌到花柱里的阻碍花粉管发育的物质生成的结果(杨平华和叶青敏 1989)。

2.2 糖类和植物凝集素 Sharma等(1985)研究花粉中类似植物凝集素成分和雌蕊中特殊含糖物质在自交不亲和性识别中的作用的结果表明,在开花前用糖类处理花粉或用植物凝集素处理柱头,可以有效

地遮蔽自交不亲和性的识别作用。这一方法在克服自交不亲和性中有很大的应用潜力,特别是对于那些抑制区存在于柱头中的不亲和体系来说,更为重要。

2.3 NaCl溶液 杨锐等(1995)经过1979~1981三年四代的试验研究,筛选出可克服油菜、甘蓝和大白菜等芸薹属作物自交不亲和性的极其普通而有效的药剂——NaCl溶液。3% NaCl溶液(肖祥和严家芸 1997)对克服大白菜的效果最为明显,白菜结荚率和结籽率可显著提高,而且简便易行和经济有效,现已广泛用于生产实践。NaCl的作用主要是由于Na⁺和Cl⁻都是酶的激活剂,能改变柱头表膜某些可溶蛋白的极性,进而使之变性和失去自交不亲和性的识别作用,从而克服自交不亲和性。

后来,曹必好和王远欧(1998)在5% NaCl溶液中加入0.3%硼酸,也可提高甘蓝的亲指数。由于硼可促进一些植物花粉的萌发和花粉管的生长,致使植株体内可溶性糖含量增加,抗坏血酸氧化酶活性受到激活,故两者一起喷施可提高甘蓝自交不亲和系的亲指数,同时也提高种子的千粒重和活力。

不过,在实验中这种方法具有一定的可逆性。药剂处理的时间很重要,以NaCl喷施柱头后0.5~1 h的授粉效果较明显。处理1 h以后,相隔时间愈长,授粉效果愈低,推测是柱头上蛋白质的“隔离层”被NaCl破坏后还可以逐渐重新形成所致。此现象可能与甘蓝自交不亲和性中的信号转导有关,具体转导机制尚不清楚。

2.4 槲皮素(quercetin) 槲皮素是一种具有生物活性的天然黄酮类化合物,具有多种药理作用,能抑制血小板聚集和癌细胞的DNA合成,还可抑制多种激动剂信号传递通路中蛋白激酶C (protein kinase C, PKC)的活性和某些受体酪氨酸蛋白激酶活性(Kang 和 Liang 1997)。

甘蓝自交不亲和系开花前2周的花蕾以槲皮素处理并授粉后,其乳状突起细胞壁变薄而透明,有些破裂,花粉粒大多能萌发长出花粉管,并伸入到乳状突起细胞内部。与花期对照相比,自交亲和指数明显提高,甚至转变为自交亲和系。柱头蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳显示,槲皮素处理后柱头蛋白

质有所增加,初步推测其新增蛋白为逆境蛋白(周庆红 2004)。

槲皮素作为蛋白激酶抑制剂,还可抑制自交不亲和系柱头中的SRK活性,从而阻止自交不亲和性的信号转导,并可克服甘蓝的自交不亲和性(吕俊等 2001)。其中以 $1\ 500\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 槲皮素处理的效果最佳(李成琼等 2005)。

2.5 其他化学物质 其他一些化学物质也可以克服自交不亲和性。例如用 KH_2PO_4 溶液处理甘蓝柱头后,可能是 K^+ 能激活某些酶催化分解柱头上某些表膜蛋白后,糖蛋白活性受抑制,以致柱头表膜失去对自交花粉的识别能力,从而促使自交花粉萌发,于是自交不亲和得到克服(周庆红 2004)。尤其是 KH_2PO_4 溶液本身就是一种营养物质,其对植株和土壤非但没有危害,而且还可以促进植株生长。

多效唑是一种植物生长调节物质,有抑制赤霉素的生物合成和调节代谢平衡的作用。多效唑之所以能提高甘蓝的自交结实率,可能是其可抑制柱头识别蛋白形成的缘故,但其具体作用机制尚待进一步研究(雷建军等 1995)。

其他的化学物质也常常用于克服甘蓝的自交不亲和性。授粉前用乙烷处理柱头就非常有效。一般认为,乙烷的作用是其可消除柱头上的不亲和因子或者是可促使这些因子失去活性(方瑾 1996)。

除了上述物质以外,乙醚和KOH溶液(景士西 2000)也均有一定的克服芸薹属植物自交不亲和性的效果。

总之,为了解决甘蓝自交不亲和亲本繁殖过程中的问题,今后应在探明自交不亲和反应内部的调控机制、完善细胞信号转导模式的基础上,寻找更经济实用的克服方法。而用化学方法克服甘蓝自交不亲和性的潜在应用前景较大,值得关注。

参考文献

曹必好,王远欧(1998). 克服甘蓝自交不亲和性的探讨. 天津农业科学, 4 (1): 32~34
 方瑾(1996). 植物的生殖讲座(五)——被子植物的自交不亲和性. 生物学通报, 31 (7): 28~30
 官春云(1981). 油菜的自交不亲和性和杂种优势育种. 湖南农业大学学报(自然科学版), (4): 101~109
 胡适宜(1982). 被子植物生殖生物学. 北京: 高等教育出版社, 1~4
 华志明(1999). 植物自交不亲和分子机理研究的一些进展. 植物

生理学通讯, 35 (1): 77~82
 雷建军,李成琼,宋明(1995). 甘蓝自交不亲和性克服方法研究初报. 四川果树, 23 (1): 4~6
 李成琼,周庆红,宋洪元,任雪松,司军,吴能表(2005). 槲皮素对甘蓝自交不亲和性及SRK活性的影响. 园艺学报, 32 (5): 878~880
 李惠民(2008). 化学药剂处理克服库尔勒香梨自交不亲和性及影响香梨品质因素研究[硕士学位论文]. 石河子: 石河子大学
 刘珠琴,张绍铃(2008). 孢子体型自交不亲和反应中信号转导的研究进展. 安徽农业科学, 36 (32): 13959~13962
 卢军,李乐玉,陈晓丹,朱利泉,王小佳(2007). 芸薹属自交不亲和功能因子及分子机制研究进展. 广西农业科学, 38 (6): 601~605
 芦岩,李玉花(2005). 芸薹属中自交不亲和反应的信号转导. 植物生理学通讯, 41 (4): 547~552
 吕俊,朱利泉,王小佳(2001). 利用蛋白激酶抑制剂和激活剂调控甘蓝自交不亲和性. 园艺学报, 28 (3): 235~239
 景士西(2000). 园艺植物育种学总论. 北京: 中国农业出版社, 173~174
 汤青林(2002). 甘蓝自交不亲和系花粉与柱头离体保存及相互识别效应研究[硕士学位论文]. 重庆: 西南农业大学
 吴能表(2003). 甘蓝自交不亲和性引起的蛋白质磷酸化及其相关特征研究[博士学位论文]. 重庆: 西南农业大学
 肖祥,严家芸(1997). 盐水处理克服大白菜自交不亲和性的应用. 云南农业科技, (1): 31~32
 杨继涛(2008). 芸薹属植物自交不亲和性研究进展. 陕西农业科学, (3): 115~121
 杨平华,叶青敏(1989). 利用理化因素克服植物自交或杂交不亲和性. 核农学通报, (4): 190~192
 杨锐,余阳俊,徐家炳,陈广,张凤兰,孙既志,孙天水(1995). 花期喷盐水结合蜜蜂授粉克服大白菜自交不亲和性试验. 华北农学报, 10 (2): 77~81
 周庆红(2004). 化学方法克服甘蓝自交不亲和性及其机理研究[硕士学位论文]. 重庆: 西南农业大学
 Bateman AJ (1955). Self-incompatibility systems in angiosperms III. Cruciferae. Heredity, 9: 52~68
 East EM (1940). The distribution of self-sterility in the flowering plants. Proc Am Philos Soc, 82: 449~518
 Edh K, Widen B, Ceplitis A (2009). Molecular population genetics of the SRK and SCR self-incompatibility genes in the wild plant species *Brassica cretica* (Brassicaceae). Genetics, 181 (3): 985~995
 Holdereqger R, Haner R, Csencsics D, Anqelone S, Hoebee SE (2008). S-allele diversity suggests no mate limitation in small populations of a self-incompatible plant. Evolution, 62 (11): 2922~2928
 Kang TB, Liang NC (1997). Effect of quercetin on activities of protein kinase C and tyrosine protein kinase from HL-60 cells. Acta Pharmacol Sin, 18 (4): 374~376
 Nakanishi T, Hinata K (1975). Self-seed production by CO₂ gas treatment in self-incompatible cabbage. Euphytica, 24 (1): 117~120

- Pandey KK (1979). Overcoming incompatibility and promoting genetic recombination in flowering plants. *New Zealand J Bot*, 17: 645~663
- Rea AC, Nasrallah JB (2008). Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants. *Int J Dev Biol*, 52 (5~6): 627~636
- Roggen H, van Dijk AJ (1972). Breaking incompatibility of *Brassica oleracea* L. by steel-brush pollination. *Euphytica*, 21: 424~425
- Roggen H, van Dijk AJ (1976). 'Thermally aided pollinations': a new method of breaking self-incompatibility in *Brassica oleracea* L.. *Euphytica*, 25: 643~646
- Roggen H, van Dijk AJ, Dorsman C (1972). 'Electric aided' pollination: a method of breaking incompatibility in *Brassica oleracea* L.. *Euphytica*, 21: 181~184
- Sharma N, Bajaj M, Shivanna KR (1985). Overcoming self-incompatibility through the use of lectins and sugars in *Petunia* and *Eruca*. *Ann Bot*, 55: 139~141
- Stone SL, Arnoldo M, Goring DR (1999). A breakdown of *Brassica* self-incompatibility in *ARC1* antisense transgenic plants. *Science*, 286 (5445): 1729~1731
- Taylor JP (1982). Carbon dioxide treatment as an effective aid to the production of selfed seed in kale and Brussels sprouts. *Euphytica*, 31: 957~964