

荔枝胚珠中多胺含量变化与胚胎发育的关系

陈伟¹, 吕柳新²

(1. 福建农业大学植物生物学教研室, 福建 福州 350002; 2. 福建农业大学园艺系, 福建 福州 350002)

摘要: 荔枝胚胎发育与胚珠中 3 种多胺 (PAs) 含量及其比例变化关系密切。试验结果表明: 正常发育的胚珠中腐胺 (Put)、亚精胺 (Spd) 和精胺 (Spm) 的含量在胚胎发育的各个阶段均高于败育胚珠, 并在花后 7 d 即达到最高值, 其中 Put 的含量最高, 随后都呈下降趋势。但正常胚珠中 Spm 含量在花后 22 至 31 d (球形胚至心形胚发育阶段) 均有所回升, 而败育胚珠无此现象。败育胚珠中的 Spd 和 Spm 在胚胎败育期的下降速度显著大于正常胚珠, 两者含量低以及在胚珠发育进程中较大的降幅与胚胎败育密切相关。(Spd + Spm)/Put 和 Spm/PAs 比值低亦不利于胚胎发育。多胺合成高峰先于 DNA 和蛋白质, 因而多胺可能通过调控生物大分子的合成影响胚胎发育。

关键词: 荔枝; 胚珠; 多胺; 胚胎发育

中图分类号: Q945.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2000)03-0229-06

CHANGES IN POLYAMINE CONTENT IN RELATION TO EMBRYO DEVELOPMENT IN LITCHI OVULES

CHEN Wei¹, LÜ Liu-xin²

(1. *Laboratory of Plant Biology, Fujian Agricultural University, Fuzhou 350002, China;*

2. *Department of Horticulture, Fujian Agricultural University, Fuzhou 350002, China)*

Abstract: Three cultivars of 15 to 20-year-old litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) trees grown at Zhangzhou, Fujian Province, were chosen for the experiment. Cultivar Wuye is normal in embryo development, cv. Luhebao being abortive, and cv. Lanzhu having both normal and abortive embryo development. Polyamine (PAs) contents in the ovules were tested at 7, 14, 22, 31, 41 and 52 days after anthesis, i.e. from the stage of polar nuclei division to cotyledonary embryo stage, which coincided respectively with each stage of embryo development. The results showed that the contents of putrescine (Put), spermidine (Spd) and spermine (Spm) in normal ovules were all higher than those in abortive ones during the whole embryogenetic process, and reached highest level on the 7th day after anthesis, with Put content being the richest. The contents of these PAs appeared subsequently a downward tendency. However, Spm content increased slightly from the 22nd day to 31st day after anthesis (from globular to heart stages) in normal ovules. But such a phenomenon did not

收稿日期: 2000-01-03

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (C9810021)

appear in the abortive ones. The contents of Spd and Spm evidently dropped more rapidly in the abortive ovules than those in the normal, which indicates that lower contents and more rapid decrease of Spd and Spm during embryogenetic process might have a close relationship with embryo abortion. The studies also showed that low ratios of (Spd + Spm)/Put and Spm/PAs might hindered embryo development. PAs contents hit the peak before the contents of DNA and protein reached maximum, which suggests that PAs might affect embryo development by regulating the synthesis of biomacromolecules.

Key words: Litchi; Ovules; Polyamines; Embryo development

荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 胚胎的发育状况与果核大小、果实品质及座果率密切相关。胚胎早期败育的品种, 生理落果严重, 产量低。有关荔枝胚胎发育的研究, 过去大多集中在对整体和细胞的形态描述上, 在生理生化机制方面的研究较少^[1]。多胺作为新发现的一类植物生理活性物质, 已知与细胞分裂、开花结果、胚胎发育、生长和休眠以及衰老等生命活动紧密相关。关于多胺和植物胚胎发育关系的研究, 在胡萝卜(体细胞胚)^[2]、水稻(合子胚)^[3]等少数几种植物已有报道。然而, 多胺是否也影响荔枝合子胚的发育, 则尚未见报道。

本文通过比较胚胎发育状况不同的3个荔枝品种, 在其胚胎发育不同阶段的胚珠中多胺、DNA和蛋白质含量的动态变化, 研究多胺在荔枝胚胎发育中可能的生理作用, 探讨多胺与核酸、蛋白质等生物大分子物质之间的内在联系及其对胚胎发育的影响, 以阐明荔枝胚胎发育的生理生化机制。

1 材料与方法

材料 荔枝品种为乌叶(胚胎发育正常)、绿荷包(胚胎完全败育)和兰竹(部分胚胎败育, 部分胚胎发育正常), 种植在福建省漳州市内寮荔枝品种园。选用生长和结果正常的15-20年生、花期基本一致的植株各3株, 供试样采集。

试样采集 根据荔枝胚胎发育的不同阶段, 于谢花后7、14、22、31、41、52 d(分别为极核分裂、合子分裂、球形胚、心形胚、鱼雷胚、子叶胚发育阶段)^[4], 采集正常果实, 贮于冰壶中带回实验室, 立即剥离胚珠(兰竹正常与败育胚珠通过形态解剖观察确定), 称重后保存于低温冰箱(-20℃)供测试。试验于1998-1999年进行, 2年重复。

多胺含量测定 按照 Flores 等^[5]的方法提取多胺。含量测定采用高效液相色谱法(HPLC), 参照 Redmond^[6]的方法略加改进。供作标样的 Put、Spd、Spm 均为 Sigma 产品。高效液相色谱仪为 Beckman 338 型, 紫外检测器波长为 254 nm, 色谱柱为 C18 反相柱(ODS 4.6×250 mm), 流动相为甲醇:乙腈:水 = 65:5:31, 流速 0.5 ml min⁻¹。柱温 25℃, 进样量为 20 μl, 用外标法定量计算。每个样品重复 3 次。

DNA 和蛋白质含量测定 按照覃章铮等^[7]方法。每个样品重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 乌叶和绿荷包荔枝胚珠多胺含量的变化

荔枝胚胎发育受胚珠中多胺含量及其变化的影响。表1结果显示,胚胎发育正常的乌叶和胚胎完全败育的绿荷包在花后7 d, Put含量无明显差异,但乌叶的Spd和Spm含量均显著高于绿荷包。在此后的各发育阶段中多胺含量呈快速下降趋势,虽在含量上乌叶仍始终高于绿荷包,但降幅则是后者大于前者,在花后14 d降幅最大,随后各发育阶段的降幅差异不大。上述结果表明,荔枝胚胎败育和胚珠中较低的多胺含量及其在发育进程中较大的降幅有关,这与形态学上观察到的绿荷包胚胎在花后14 d开始败育,而乌叶胚胎则继续发育的结果是一致的。值得注意的是,在花后22 d乌叶的Spm含量降至一低值后于花后31 d又稍有回升,此期正值球形胚向心形胚发育的阶段,而绿荷包无此现象。Spm含量的这一特征性变化在胚胎发育中的作用值得探讨。

表1 乌叶和绿荷包荔枝胚胎发育进程中胚珠多胺含量的变化
Table 1 Changes in PAs contents (nmol g⁻¹FW) in ovules of litchi
cv. Wuye and Luhebao during embryogenetic process

多胺 Polyamine	品种 Cultivars	谢花后天数 Days after anthesis					
		7	14	22	31	41	52
Put	Wuye**	4658	1644(-2.8)*	667(-2.5)	521(-1.3)	414(-1.3)	291(-1.4)
	Luhebao**	4492	1284(-3.5)	660(-2.0)	326(-2.0)	265(-1.2)	231(-1.2)
Spd	Wuye	1123	518(-2.2)	228(-2.3)	205(-1.1)	176(-1.2)	95(-1.9)
	Luhebao	796	160(-5.0)	96(-1.7)	62(-1.6)	55(-1.1)	50(-1.1)
Spm	Wuye	1447	514(-2.8)	219(-2.3)	295(+1.4)	161(-1.8)	124(-1.3)
	Luhebao	1042	116(-9.0)	83(-1.4)	71(-1.2)	53(-1.3)	41(-1.3)
PAs	Wuye	7228	2676(-2.7)	1114(-2.4)	1021(-1.1)	751(-1.4)	510(-1.5)
	Luhebao	6330	1560(-4.1)	839(-1.9)	459(-1.8)	373(-1.2)	322(-1.2)

* 括号内数字表示前后两个发育阶段多胺含量的降低(-)或增加(+)倍数。The numbers in parentheses show decrease(-) or increase(+) in multiple of polyamine contents between every two development stages. **Embryo development in cv. Wuye is normal, whereas that in cv. Luhebao abortive.

2.2 兰竹荔枝胚珠多胺含量的变化

兰竹荔枝在同一植株上,同时存在正常与败育的两种胚珠,其中胚胎败育者一般始于花后22 d^[4],为验证两种典型胚胎发育状况的荔枝胚珠多胺的变化规律,本试验对兰竹正常和败育胚珠中多胺含量亦进行了测定,表2结果表明:同一荔枝品种中胚胎发育正常与败育两种胚珠中多胺的变化规律分别与乌叶和绿荷包极其相似,所不同的是:兰竹败育胚珠中多胺含量的急剧下降时期,始于花后22 d(绿荷包在花后14 d),此时恰好是兰竹胚胎开始败育时期。而在此之前,胚胎发育正常。以上结果再次证实了荔枝胚珠中多胺含量的变化与胚胎发育密切相关。

2.3 荔枝胚珠(Spd+Spm)/Put和Spm/PAs比值的变化

(Spd+Spm)/Put和Spm/PAs比值变化可以反映出荔枝胚胎发育的状况。试验结果表明,无论是品种间(乌叶与绿荷包)或品种内(兰竹),荔枝胚胎的发育与胚珠中这两个比值都有密切关系。图1显示,在胚胎发育的各个时期,两个比值均是胚胎发育正常者大于胚胎败育者,正常胚珠在花后31 d都有一个明显的峰值,此时正是球形胚向心形胚形成时期;败育胚珠

在花后 14 d(绿荷包)和 22 d(兰竹)亦各有一个明显的低谷,此时恰好分别是绿荷包和兰竹胚胎开始败育的时期。以上结果表明荔枝胚胎发育不仅与 3 种多胺的含量及变化有关,而且还受其比值变化的影响。两者比值高有利于胚胎发育,反之则不利于胚胎发育。

表 2 兰竹荔枝胚胎发育进程中胚珠多胺含量的变化

Table 2 Changes in PAs contents (nmol g⁻¹FW) in ovules of litchi cv. Lanzhu during embryogenetic process

多胺 Polyamine	胚胎发育状况 Embryo development	谢花后天数 Days after anthesis					
		7	14	22	31	41	52
Put	正常 Normal	4172	2145	1023(-2.1)*	839(-1.2)	408(-2.1)	235(-1.7)
	败育 Abortive			870(-2.5)	522(-1.7)	357(-1.5)	184(-1.9)
Spd	正常 Normal	830	345	254(-1.4)	162(-1.6)	84(-1.9)	44(-1.9)
	败育 Abortive			68(-5.1)	40(-1.7)	23(-1.7)	13(-1.8)
Spm	正常 Normal	919	497	352(-1.4)	456(+1.3)	168(-2.7)	81(-2.1)
	败育 Abortive			91(-5.5)	71(-1.3)	39(-1.8)	28(-1.4)
PAs	正常 Normal	5921	2987	1629(-1.8)	1457(-1.1)	660(-2.2)	360(-1.8)
	败育 Abortive			1047(-2.9)	633(-1.7)	419(-1.5)	225(-1.9)

* Numbers in parentheses are explained in Table 1.

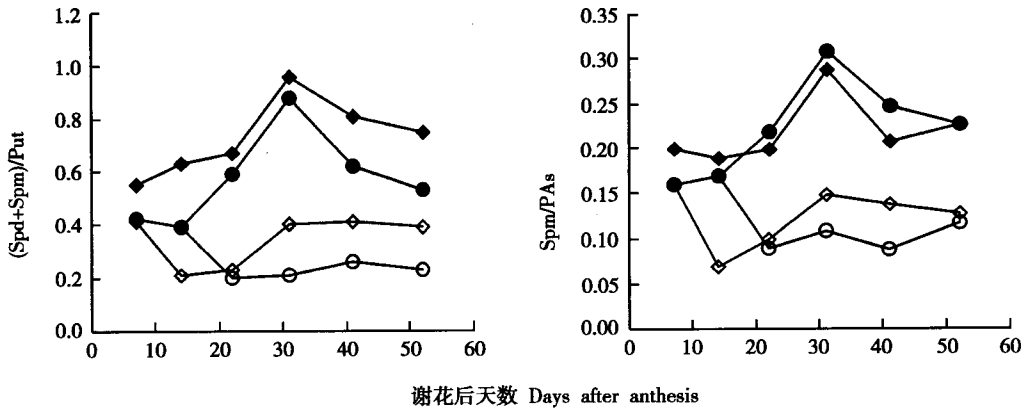


图 1 荔枝胚胎发育进程中胚珠 (Spd+Spm)/Put 和 Spm/PAs 比值的变化

Fig. 1 Changes in (Spd+Spm)/Put and Spm/PAs ratios in litchi ovules during embryogenetic process

◆乌叶 Wuye; ◇绿荷包 Luhebao; ●兰竹(正常) Lanzhu (normal); ○兰竹(败育) Lanzhu (abortive)

2.4 荔枝胚珠 DNA 和蛋白质含量的变化

DNA 和蛋白质是与细胞分裂、分化和增殖过程密切相关的主要生物大分子,其含量变化和胚胎发育也有密切关系。如图 2 所示,虽然荔枝品种间或品种内胚珠发育正常和败育者,其 DNA 和蛋白质含量变化趋势基本相似,但发育正常胚珠中两者含量均明显高于败育胚珠;败育胚珠的两者含量在花后 14-22 d(绿荷包)和 22-31 d(兰竹)下降速度明显快于正常胚珠,分析认为这可能和胚珠败育后的细胞分裂受阻及蛋白质合成减慢有关。而 DNA 和蛋白质的合成则直接影响胚胎的发育。

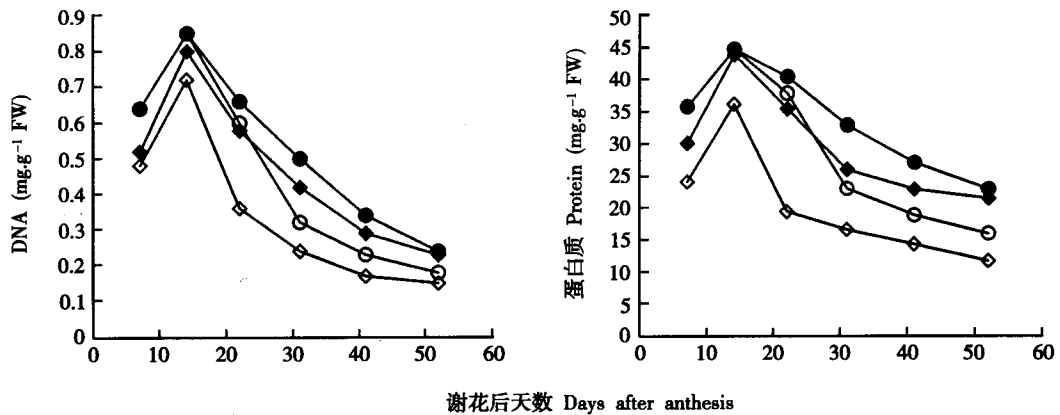


图2 荔枝胚胎发育进程中胚珠DNA和蛋白质含量的变化

Fig. 2 Changes in DNA and protein contents in litchi ovules during embryogenetic process

◆ 乌叶 Wuye; ◇ 绿荷包 Luhebao; ● 兰竹(正常) Lanzhu (normal); ○ 兰竹(败育) Lanzhu (abortive)

3 讨论

荔枝授粉约2 d后完成双受精,紧接着初生胚乳核开始连续分裂,受精卵代谢活动迅速增强。合子6 d后即开始分裂,进入原胚阶段^[8,9]。3个品种的荔枝胚珠中多胺含量在受精后的胚胎发育初期即已达最高值,其中Put含量约占多胺总量的70%。这一结果与发育早期正在旺盛进行细胞分裂的水稻胚及胚乳^[3]和烟草受精子房^[10]的多胺含量,尤其是Put含量保持较高水平的报道相似。因此认为,荔枝胚珠发育早期较高含量的多胺可能对促进胚胎的发生发育起重要作用,而较高的Put含量和早期胚胎的细胞分裂密切相关。

多胺含量及其比例的变化在荔枝胚胎发育进程中亦有重要意义。正常胚珠中3种多胺的含量在胚胎发育的各阶段均高于败育胚珠,说明较高含量的多胺保证了合子胚的分化发育。本试验发现:败育胚珠中,尤其在胚胎败育期Spd和Spm含量的下降速度比正常胚珠快得多,(Spd+Spm)/Put和Spm/PAs比值均为最低点,说明此期多胺代谢发生了紊乱,平衡已经失调,这可能是造成荔枝胚胎败育的重要生理原因;正常胚珠中,在胚胎从辐射对称的球形胚向两侧对称的心形胚分化的转折时期,Spm含量有所回升,并且(Spd+Spm)/Put和Spm/PAs比值均达到最高点,说明Spd和Spm,尤其是后者与胚胎分化发育的关系更为密切。由于多胺氨基数目越多,生理活性越大^[11],较高的Spm(四胺)含量在荔枝合子胚分化发育中可能有重要作用。Faure等^[12]认为适当的多胺种类间的比值可提高葡萄体细胞胚的质量,反之则可导致其异常发育。我们的试验结果也提示了荔枝胚胎的正常发育可能需要各种多胺的相互作用及动态平衡。

多胺在DNA复制、转录和翻译三个水平上都能影响生物大分子的合成^[13,14]。Tabor等^[15]曾指出:细胞中多胺含量的增加先于核酸和蛋白质的大量合成,并认为多胺可能通过与核酸的相互作用而参与核酸和蛋白质合成的调节。本试验亦发现多胺含量在花后7 d为最高,而DNA和蛋白质的含量都在14 d才达到高峰。这一结果再次证明了多胺具有促进DNA和蛋白质合成的作用。胚胎发育过程是特定的基因在机体内外因素的协调作用下,在时间和空间上顺序表达

的过程。因此,各发育阶段出现或消失的特异蛋白在荔枝胚胎发育中的重要作用值得进一步研究。

Galston^[16]认为多胺可能是类似cAMP那样的“第二信使”,调节植物的生长和发育。从本试验结果来看,荔枝胚胎发育与否和胚珠中3种多胺的含量及比例变化密切相关,多胺积极参与了荔枝胚胎的发育调节,这种调节作用可能是通过促进核酸的合成和蛋白质的翻译而实现的。

参考文献:

- [1] 陈伟,吕柳新,叶明志.植物胚胎发育的生化与分子基础[J].农业生物技术学报,1999,7(3)增刊:119-123.
- [2] Sung Z R. Developmental biology of embryogenesis from carrot culture [J]. Plant Mol Biol Rep, 1984, 2:3-14.
- [3] 郭枫,唐锡华.水稻胚与胚乳分化发育中的内源多胺[J].植物生理学报,1990,16(2):173-178.
- [4] 吕柳新,朱小玲,叶明志,等.荔枝胚胎发育机制的探讨[J].福建农学院学报,1989,18(2):149-155.
- [5] Flores H E, Galston A W. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography [J]. Plant Physiol, 1982, 69:701-706.
- [6] Redmond J W. High-pressure liquid chromatographic determination of putrescine, cadaverine, spermidine and spermine [J]. J Chromatogr, 1979, 170:479-481.
- [7] 覃章铮,唐锡华.高等植物胚胎的发育生物学研究 VI. 梗稻胚分化发育期间一些大分子物质的动态[J].植物生理学报,1982,8:295-305.
- [8] 叶秀麟,王伏雄,钱南芬.荔枝的胚胎学研究[J].云南植物学研究,1992,14(1):59-65.
- [9] 邱燕平,张展薇,丘荣熙.荔枝胚胎发育的研究[J].植物学通报,1994,11(3):45-47.
- [10] Slocum R D, Galston A W. Changes in polyamines biosynthesis associated with postfertilization growth and development in tobacco ovary tissue [J]. Plant Physiol, 1985, 79:336-339.
- [11] 潘瑞炽.多胺是植物生长发育的调节物[J].植物生理学通讯,1985,6:63-68.
- [12] Farue O, Mengoli M, Nougarede A, et al. Polyamine pattern and biosynthesis in zygotic and somatic embryo stages of *Vitis vinifera* [J]. J Plant Physiol, 1991, 138:545-548.
- [13] 李宗霆,周燮.植物激素及其免疫检测技术[M].南京:江苏科学技术出版社,1996,214-215.
- [14] 李新利,唐锡华.水稻开花受粉前后雌蕊中多胺和核酸及蛋白质含量的变化[J].植物生理学通讯,1997,33(2):88-90.
- [15] Tabor C W, Tabor H. 1,4-Diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine [J]. Ann Rev Biochem, 1976, 45: 285-306.
- [16] Galston A W. Polyamines as modulators of plant development [J]. Bioscience, 1983, 33:382-388.