

# 甜菜胞质雄性不育系与其保持系某些酶活性的差异

白 薇<sup>1</sup>, 田自华<sup>1</sup>, 盖连玉<sup>2</sup>, 赵秀红<sup>3</sup>, 闫海鹏<sup>4</sup>, 邵金旺<sup>1</sup>

(1. 内蒙古农业大学甜菜生理研究所, 内蒙古 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古土默特右旗农业技术推广中心, 内蒙古 土右旗 014100;  
3. 包头市农牧学校, 内蒙古 包头 014000; 4. 内蒙古农业大学职业技术学院, 内蒙古 土右旗 014100)

**摘要:**以甜菜 3 个胞质雄性不育系及其相应保持系为材料, 对营养生长阶段叶片中的过氧化物酶、过氧化氢酶和酸性磷酸酯酶活性进行了研究, 结果表明: 在营养生长阶段的 4 个时期, 保持系中的过氧化物酶和酸性磷酸酯酶活性均高于其相应不育系; 过氧化氢酶活性表现为在块根分化形成期, 不育系中的活性高于其相应保持系, 而在糖分积累期则为保持系高于不育系。

**关键词:**甜菜; 胞质雄性不育; 酶活性

中图分类号: S566.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2004)04-0070-04

## Differences of Enzyme Activities in Cytoplasmic Male Sterile Lines and Maintainer Lines in Sugarbeet

BAI Wei<sup>1</sup>, TIAN Zi-hua<sup>1</sup>, GAI Lian-yu<sup>2</sup>, ZHAO Xi-hong<sup>3</sup>, YAN Hai-peng<sup>4</sup>, SHAO Jin-wang<sup>1</sup>

(1. Sugarbeet Physiological Institute Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China;

2. Spread Center of Agricultural Technology of Tuyou County, Inner Mongolia, Salaji County 014100, China;

3. Baotou Agriculture and Animal Husbandry School, Baotou 014000, China; 4. Vocational Technical College, Inner Mongolia Agriculture University, Tuyou County 014100, China)

**Abstract:** Enzyme activities of leaves in three cytoplasmic male sterile lines and their maintainer lines in sugarbeet were studied during their vegetation season. The results showed that the peroxidase(POD) and acid phosphatase(ACP) activities of leaves in maintainer lines were higher than those in sterile lines. The catalase(CAT) activities of leaves in sterile lines were higher than those in maintainer lines on June 12, but were lower on August 29.

**Key words:** Sugarbeet; Cytoplasmic male sterile; Enzyme activity

细胞质雄性不育性(CMS)是一种不能产生有活力花粉的母性遗传性状, 在杂种优势利用和群体改良中有重要的应用价值, 同时又是遗传学中的重大理论问题, 因此, 对细胞质雄性不育机理的研究在生产实践和基础理论研究中都有重要的意义。在甜菜CMS的研究上, 国外从同工酶<sup>[1]</sup>、线粒体基因组的翻译产物<sup>[2,3]</sup>、线粒体基因组结构变异<sup>[4]</sup>等方面进行了研究, 取得了很多有意义的结果。我国在这方面的研究多侧重于雄性不育系及杂交品种的选

育, 对其机制的研究较少。为此, 本试验从生理生化的角度, 研究甜菜营养生长阶段细胞质雄性不育系与保持系在 3 种酶活性上的差异, 以期探讨其相关机理提供一定的参考依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 试验材料

供试材料为甜菜细胞质雄性不育系 97003A、97005A、97006A, 相应保持系 97003B、97005B、

收稿日期: 2004-08-06

基金项目: 内蒙古自治区“人才工程”专项基金; 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(20010903-04)

作者简介: 白薇(1972-), 女, 内蒙古包头人, 硕士, 讲师, 主要从事植物生物技术方面的研究; 田自华为通讯作者。

97006B, (简写为 3A, 5A, 6A, 3B, 5B, 6B)。均为同核异质的细胞质雄性不育材料, 分别由内蒙古农业科学院甜菜研究所及内蒙古甜菜制糖工业研究所提供。

1.2  试验地设置

  试验设置在内蒙古农业大学教学农场。采取随机区组设计, 4 行区, 3 次重复, 小区面积 48 m<sup>2</sup>, 行距 40 cm, 株距 20 cm, 栽培管理条件一致, 在营养生长阶段分别于块根分化形成期(06– 12)、叶丛快速生长期(06– 30)、块根糖分增长期(08– 12)、糖分积累期(08– 29) 4 个时期取功能叶片为材料供测定用。

1.3  测定方法

1.3.1  酶液制备  取新鲜叶片 1 g, 加少许 pH 7.0 磷酸缓冲液在冰浴中研磨, 定容到 10 mL, 于 4 000 r/min 冷冻离心 15 min, 取上清液为酶液。

1.3.2  酶活性测定  过氧化物酶(POD) 活性: 采用愈创木酚法, 用愈创木酚比色在 470 nm 下测定光密度的变化值, 每隔 15 s 读 1 次数, 以每分钟光密度增加 0.01 作为 1 个酶活性单位。

  过氧化氢酶(CAT) 活性: 采用紫外吸收法, 以 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 为底物, 加入酶液后, 紫外分光光度计在 240 nm 下测定光密度的变化值, 每隔 15 s 读 1 次数, 以每分钟光密度减少 0.001 作为 1 个酶活性单位。

  酸性磷酸酯酶(ACP) 活性: 采用对硝基酚磷酸钠盐反应, 在 30 ℃温箱中保温 10 min, 用 NaOH 终止反应, 在 400 nm 下测定密度值, 用公式 nmol/(s·g) = [ (试样的 OD<sub>400</sub>/0.019) × 3.1 × (V/V<sub>1</sub>) ] / [600(s) × W(g)] 计算, 酶活性以每克鲜重材料每秒钟水解底物的纳摩尔(nmol) 数来表示。

2  结果与分析

2.1  过氧化物酶活性的差异

  甜菜细胞质雄性不育系与保持系营养生长阶段 4 个时期叶片中 POD 活性变化特点见表 1。从表 1 可以看出, 4 个时期叶片中 POD 活性都是保持系高于不育系, 而且在块根分化形成期 3A 与 3B、6A 与 6B 达到显著性水平; 在叶丛快速生长期 3A 与 3B、5A 与 5B 以及 6A 与 6B 均达到显著性水平; 在块根糖分增长期 5A 与 5B 达显著性水平; 在糖分积累期 5A 与 5B、6A 与 6B 达显著性水平。

  甜菜细胞质雄性不育系与保持系营养生长阶段叶片中 POD 活性变化规律(图 1)。表现为所有供

试品种在块根分化形成期的 POD 活性最低, 到叶丛快速生长期活性达最高, 块根糖分增长期开始下降, 到糖分积累期又有所回升。分析在块根分化形成期由于植株较小, 叶片较小, 代谢活动较弱, 酶活性很低。到叶丛快速生长期, 由于叶丛生长速度最快, 块根分化形成, 开始大量吸收营养, 代谢也很旺盛, 生长中心以叶丛为主, 因此, 叶片 POD 活性达最高值。到块根糖分增长期, 生长中心逐渐由叶丛转移到块根为主, 叶丛生长速度有所下降, 所以此期 POD 活性有所下降。到糖分积累期, 此期是糖分积累的重要时期, 分解活动大于合成, 光合产物以及叶丛中的糖类物质主要运往块根, 使块根成为主要的物质分配和运输中心, 因此, 从理论上讲此期的 POD 活性应该下降。而本试验中表现为上升, 分析可能由于后期本试验地的甜菜感染了褐斑病, 中外层叶片枯死, 导致新叶生长, 再加上 POD 又与植物的抗病性密切相关, 所以可能导致 POD 活性有所回升。

表 1  甜菜细胞质雄性不育系与保持系叶片 POD 活性  
w/(g·min)

品种	取样时期(月– 日)			
	06– 12	06– 30	08– 12	08– 29
3A	21.200 c	96.000 d	81.640 a	108.580 bc
3B	36.447 ab	131.940 b	83.180 a	115.920 ab
5A	32.627 b	98.360 cd	62.580 c	101.900 c
5B	37.393 ab	150.000 a	74.000 b	117.920 a
6A	21.067 c	108.360 c	72.480 b	91.300 d
6B	40.267 a	120.880 b	74.220 b	109.100 bc

  注: 表中同一测定时间各数值后具相同字母的在 0.05 水平上差异不显著

2.2  过氧化氢酶活性的差异

  甜菜细胞质雄性不育系与保持系叶片中 CAT 活性的差异见表 2。在块根分化形成期, 所有不育系的 CAT 活性均高于其相应保持系, 而且均达到显著水平; 在叶丛快速生长期, 除 3A 中的活性小于 3B 外, 其余两对皆为不育系大于保持系, 且 3 个不育系与保持系间的差异均达到显著水平; 到块根糖分增长期, 除 5A 中的活性依然大于 5B 外, 不育系 3A、6A 中 CAT 的活性都小于其相应的保持系 3B、6B, 且 6A 与 6B 间的差异达到显著性水平; 到了糖分积累期, 也就是营养生长阶段成熟时期, 则表现为保持系的 CAT 活性均大于其相应不育系。综上所述, 甜菜细胞质雄性不育系与保持系的过氧化氢酶活性差异表现为: 苗期, 不育系中活性高, 生长末期, 保持系活性高, 其间, 两系中 CAT 活性没有一致性规律。

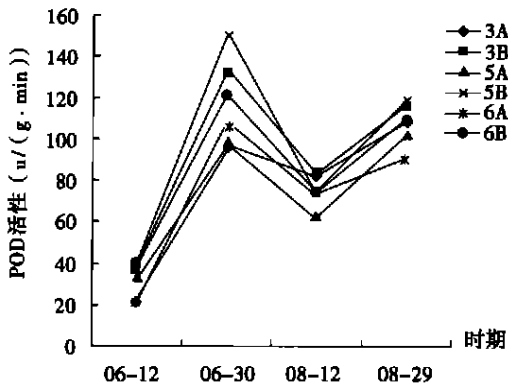


图1 甜菜叶片营养生长阶段 POD 活性变化

表 2 甜菜细胞质雄性不育系与保持系叶片 CAT 活性  
u/(g·min)

品种	取样时期(月-日)			
	06- 12	06- 30	08- 12	08- 29
3A	125.767 b	150.000 c	129.800 a	154.500 b
3B	85.700 c	199.133 a	131.533 a	201.500 a
5A	131.733 b	156.400 c	132.000 a	180.500 a
5B	105.900 c	132.400 d	126.000 a	185.500 a
6A	169.067 a	202.400 a	103.200 c	128.000 b
6B	99.800 c	169.333 b	114.267 b	133.500 b

注:表中同一测定时间各数值后具相同字母的在 0.05 水平上差异不显著

不育系及保持系营养生长阶段叶片中 CAT 活性的动态变化(图 2)。在块根分化形成期 CAT 活性均表现较低,叶丛快速生长期逐渐增加,到块根糖分增长期又有所下降,而在糖分积累期又有不同程度的回升。表现此趋势的原因一方面与 POD 相同,另外也与生长后期甜菜感染褐斑病诱发伤呼吸及体内光呼吸加剧使 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 增多从而使 CAT 活性提高有关。

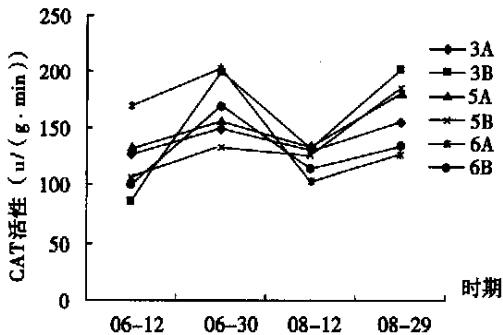


图2 甜菜叶片营养生长阶段 CAT 活性变化

### 2.3 酸性磷酸酯酶活性的差异

甜菜细胞质雄性不育系与保持系叶片中 ACP 活性差异见表 3。块根分化形成期,所有不育系的 ACP 活性均小于其相应的保持系,且均达到显著水

平;叶丛快速生长期,也显示出所有不育系的 ACP 活性小于其相应的保持系,且均达到显著水平;块根糖分增长期,不育系 3A 的活性依然小于保持系 3B,达到了显著水平,但 5A、6A 的活性却大于其保持系 5B、6B,均达到显著水平;到糖分积累期,所有不育系的 ACP 活性又都小于其相应的保持系,且 3A 与 3B、6A 与 6B 都达到了显著水平。

不育系及保持系营养生长阶段叶片中 ACP 活性的动态变化见图 3。块根分化形成期 ACP 活性最低;叶丛快速生长期活性大幅度上升,但保持系上升的幅度大于不育系;块根糖分增长期除 3A 的活性略有下降及 5B 的活性有所下降外,其他品种 ACP 活性均有上升,而且 5A 和 6A 上升达最高;糖分积累期主要以块根积累糖分为主,叶丛生长渐缓,分解活动大于合成,物质分配和运输中心转移到以块根为主,因此除 3A 的下降幅度很小外,其余品种皆大幅度下降。其次,在营养生长阶段除 3A 外,5A 及 6A 两个不育系的 ACP 活性从块根分化形成期(苗期),到块根糖分增长期一直呈上升趋势,几乎是一条直线,这与植物生长特性、体内物质代谢及光合能力的变化趋势相一致。

表 3 甜菜细胞质雄性不育系与保持系叶片 ACP 活性  
nmol/(g·s)

品种	取 样 时 期(月-日)			
	06- 12	06- 30	08- 12	08- 29
3A	8.388 c	35.291 d	34.685 d	33.204 b
3B	9.564 ab	51.849 b	56.771 b	37.374 a
5A	7.065 d	33.901 d	65.019 a	36.921 a
5B	9.404 b	59.644 a	50.638 c	37.344 a
6A	9.469 b	36.802 d	57.357 b	32.812 b
6B	10.314 a	41.636 c	52.209 c	37.585 a

注:表中同一测定时间各数值后具相同字母的在 0.05 水平上差异不显著

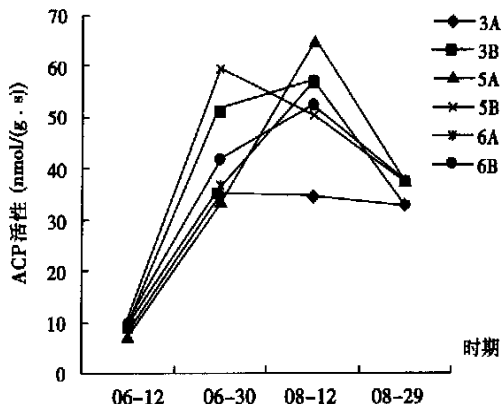


图3 甜菜叶片营养生长阶段 ACP 活性变化

### 3 结论与讨论

过氧化物酶是一种含铁卟啉的线粒体外末端氧化酶, 在植物组织内广泛存在。它一方面与组织的呼吸和物质的氧化等生理生化过程密切相关, 同时又是清除活性氧的酶保护系统的重要成员之一, 因此, 在呼吸代谢和氧自由基清除中有积极功能。本试验的研究结果表明, 甜菜在营养生长阶段叶片中过氧化物酶的活性表现为保持系高于其相应的不育系。这与孙立险在甜菜花药中的研究结果相一致<sup>[5]</sup>。

过氧化氢酶是一种含铁的蛋白, 它能及时分解  $H_2O_2$ , 减轻对植物的伤害, 因此在活性氧的清除和维持植物体内活性氧的正常水平及光呼吸中起作用。本试验的研究结果为叶片中 CAT 活性在块根分化形成期表现为不育系高于其相应保持系, 而在糖分积累期则为保持系高于不育系。

酸性磷酸酯酶是一种能催化磷酸酯发生水解的酶, 同时还具有催化磷酸乙醇酸生成乙醇酸的功能, 在碳水化合物和蛋白质代谢中起着十分重要的作用。本试验的研究显示甜菜在营养生长阶段的 4 个时期, 叶片中 ACP 的活性均表现为保持系高于其相

应的不育系。这与 Debow ski W 对沿海甜菜 L07 及其雄性不育同型系 MS7 一月龄幼苗上的研究结果一致<sup>[1]</sup>。

综合以上研究结果, 我们认为, 甜菜细胞质雄性不育尽管最终表现为生殖生长阶段的小孢子不育, 但在其营养生长阶段, 生理生化代谢上不育系和保持系已经存在差异。

#### 参考文献:

- [1] Debow ski W. 不同育性野生型甜菜、栽培甜菜种幼苗子叶某些酶的活性及同工酶组成[J]. 国外甜菜科技信息, 1994, (1): 15.
- [2] Lind C. Protein synthesis in mitochondria purified from roots, leaves and flowers of sugar beet [J]. Phusiologia Plnatarum, 1991, 83: 7- 16.
- [3] Hallden C. Variation in mitochondrial translation products in fertile and cytoplasmic male-sterile sugar beets [J]. Theo Appl Genet, 1992, 85: 139- 145.
- [4] Sadoch Z, Goc A. Molecular characterization of fertile and sterile cytoplasms in Beta spp [J]. Plant Breeding, 1997, 116: 409- 414.
- [5] 孙立险. 甜菜雄性不育系及保持系的过氧化物酶同工酶初步分析[J]. 中国甜菜, 1986, (4): 21- 25.