



甜菜胞质雄性不育系与保持系某些生理特性的差异

侯建华¹, 田自华¹, 贺学勤¹, 张惠忠², 邵金旺¹

(1. 内蒙古农业大学 甜菜生理研究所, 内蒙古 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古农业科学院 甜菜研究所, 内蒙古 呼和浩特 010031)

摘要:采用比较生理学的方法,对甜菜胞质雄性不育系及其保持系生殖生长阶段的某些生理特性进行了研究。结果表明,甜菜胞质雄性不育系的细胞色素氧化酶及ATP酶活性均表现为不育系低于其保持系;过氧化物酶和过氧化氢酶活性则表现为不育系高于其保持系,这反映线粒体内外末端氧化酶活性的高低可能与胞质雄性不育有一定关系;赤霉素含量表现为胞质雄性不育系低于其保持系。

关键词:甜菜;胞质雄性不育;生理特性

中图分类号:S566.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2003)-0032-04

Difference of Some Physiological Property of Cytoplasmic Male Sterile Line and Maintainer Line in Sugarbeet

HOU Jian-hua¹, TIAN Zi-hua¹, HE Xue-qin¹, ZHANG Hui-zhong², SHAO Jin-wang¹

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

2. Sugarbeet Institute, Inner Mongolia Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010031, China)

Abstract: This thesis studied some physiological property on reproductive growth phase of CMS line and maintainer line of sugarbeet adopting the method of comparative physiology. The result indicated that: The activity of cytochrome oxidase and ATPase of CMS of sugarbeet was not lower than that of maintainer line; The activity of POD and CAT of CMS were higher than that of maintainer line. This result showed that the activity of terminal oxidase in and out of mitochondrion is maybe related to CMS. The content of GA displayed that the activity of which in CMS was lower than in maintainer line. It showed that the content of GA is related to male sterile.

Key words: Sugarbeet; CMS; Physiological property

胞质雄性不育性(cytoplasmic male sterility, CMS)是高等植物中广泛存在的一种现象,目前已在200余种高等植物中被发现^[1],它受细胞质基因和细胞核基因的双重控制^[2],是一种不能产生有活力花粉的母性遗传性状^[3]。甜菜作为我国重要的糖料作物,其花属于两性花,而且是无限花序,花期长且不一致,这就给甜菜优质杂交品种选育及杂种优势的利用带来了一定的难度,因此需要使用甜菜雄性不育系,来获得100%的杂交种,从而最大

限度的发挥杂种优势的潜力,缩短育种周期,已成为国际甜菜育种及用种单位的主题。因而有必要对甜菜胞质雄性不育系在生殖生长阶段的生理机制进行研究,以期对生理育种及杂种优势利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

采用两个典型的甜菜胞质雄性不育系:2033-1、

收稿日期:2003-02-26

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

作者简介:侯建华(1962-),女,内蒙古呼和浩特人,副教授,硕士生导师,在读博士,主要从事饲料作物遗传育种研究与教学工作,田自华同志为通讯作者。

2034-1,及其相应保持系:2033-2、2034-2,各材料中分别取 10 株生长健壮的个体,取花蕾及其下位叶为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 酶液的制备 将花蕾及其下位叶剪碎各称 1 g,加少许 pH 7.0 磷酸缓冲液在冰浴中研磨,定容至 4 mL,于 4 000 r/min 冷冻离心 15 min,上清液为待测酶液。

1.2.2 酶活性测定 细胞色素氧化酶(COD)活性:按 SIMON 的方法^[4],以减少 0.1 OD/min 为一个酶活性单位;ATP 酶活性:采用黄卓辉法^[5],经改进后以 660 nm 下的 OD 值表示酶活性;过氧化物酶(POD)活性:采用张志良的方法^[6],以增加 0.01 OD/min 为一个酶活性单位;过氧化氢酶(CAT)活性:采用蒋全英等方法^[7],以减少 0.001 OD/min 为一个酶活性单位。以上每个指标重复测定 3 次,取平均值。

1.2.3 激素含量的测定 将花蕾及其下位叶经冷冻

处理后,送中国林科院环保所测定。高效液相色谱法,仪器为 waters244 型 HPLC。

2 结果与分析

2.1 细胞色素氧化酶与甜菜胞质雄性不育性

从甜菜细胞质雄性不育系与保持系在生殖生长阶段叶片和花蕾中 COD 活性(表 1,图 1)可以看出:不育系叶片、花蕾中 COD 的活性均低于其相应的保持系,且花蕾中高于叶片中,存在一致的规律性。其中,不育系 2033-1 叶片中 COD 活性仅为保持系 2033-2 的 50.0%,2034-1 的仅为 2034-2 的 69.2%;不育系 2033-1 花蕾中 COD 的活性仅为其保持系 2033-2 的 61.5%,2034-1 的为 2034-2 的 62.5%。

表 1 甜菜细胞质雄性不育系与保持系

	生殖生长阶段 COD 活性 U/(g·min)			
	2033-1	2033-2	2034-1	2034-2
叶片	2.000	4.000	3.000	4.333
花蕾	4.000	6.500	5.000	8.000

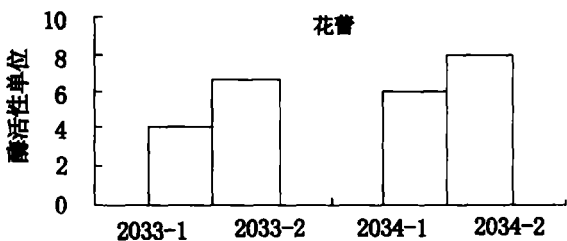
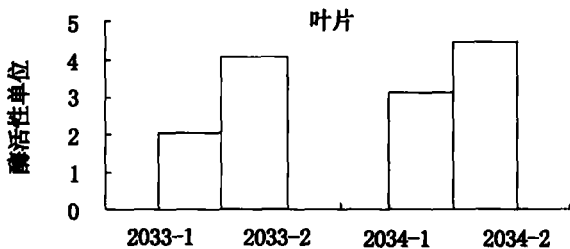


图 1 甜菜细胞质雄性不育系与保持系生殖生长阶段 COD 活性差异

2.2 ATP 酶与甜菜胞质雄性不育性

甜菜细胞质雄性不育系与保持系在生殖生长阶段叶片和花蕾中 ATP 酶活性差异见表 2,图 2。可以看出不育系叶片、花蕾中 ATP 酶的活性均低于其保持系,表现出一致的规律性。其中,不育系 2033-1 叶片中 ATP 酶的活性为其保持系 2033-2 的 93.7%,2034-1 的为 2034-2 的 89.7%;而不育系

2033-1 花蕾中 ATP 酶的活性为其保持系 2033-2 的 75.4%,2034-1 为 2034-2 的 70.5%。

表 2 甜菜细胞质雄性不育系与保持系

	生殖生长阶段 ATP 酶活性 OD ₆₆₀			
	2033-1	2033-2	2034-1	2034-2
叶片	0.479	0.511	0.288	0.321
花蕾	0.307	0.407	0.352	0.499

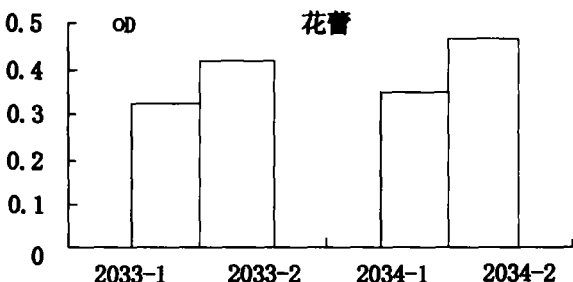
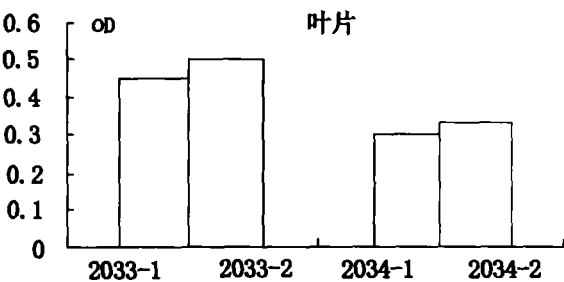


图 2 甜菜细胞质雄性不育系与保持系生殖生长阶段 ATP 酶活性差异

2.3 过氧化氢酶与甜菜胞质雄性不育性

从表3,图3可以看出,在生殖生长阶段不育系叶片和花蕾中CAT的活性均高于其保持系,且叶片中的CAT活性高于花蕾中的,表现出一定的规律性。其中,保持系2033-2叶片中CAT的活性为其不育系2033-1的73.4%,2034-2的为2034-1的81.4%;而保持系2033-2花蕾中CAT的活性为其

不育系2033-1的88.9%,2034-2的为2034-1的70.7%。

表3 甜菜胞质雄性不育系与保持系

	在生殖生长阶段CAT活性			
	U/g.min			
	2033-1	2033-2	2034-1	2034-2
叶片	17.38	12.75	16.75	13.63
花蕾	5.625	5.000	7.250	5.125

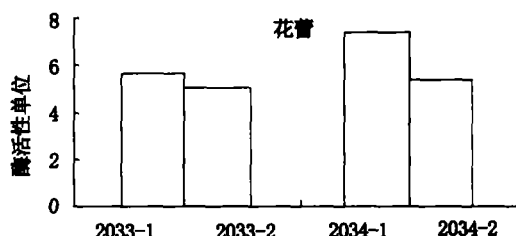
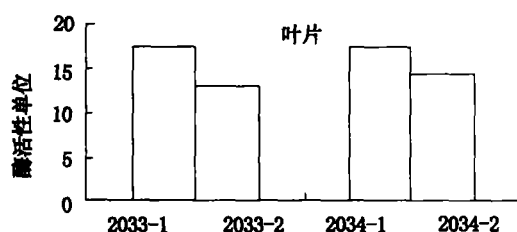


图3 甜菜胞质雄性不育系与保持系在生殖生长阶段CAT活性差异

2.4 过氧化物酶与甜菜胞质雄性不育性

从表4,图4可看出,在生殖生长阶段甜菜胞质雄性不育系叶片及花蕾中POD的活性均高于其保持系,表现为一致的规律性。并且花蕾POD的活性高于叶片,其中保持系2033-2叶片中的POD活性为不育系2033-1的88.9%,2034-2的为2034-1的68.4%;保持系2033-2花蕾中的POD活性为不

育系2033-1的85.7%,2034-2为2034-1的95.4%。

表4 甜菜胞质雄性不育系与保持系

	生殖生长阶段POD活性			
	U/g.min			
	2033-1	2033-2	2034-1	2034-2
叶片	1.800	1.600	1.950	1.333
花蕾	4.186	3.586	4.717	4.500

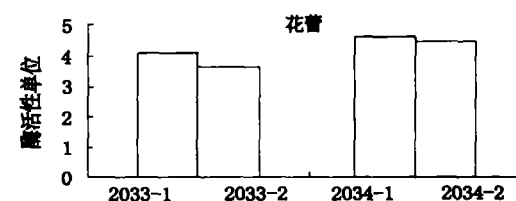
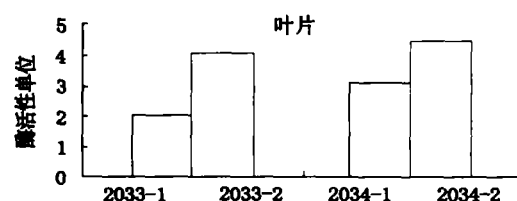


图4 甜菜胞质雄性不育系与保持系生殖生长阶段POD活性差异

2.5 激素含量与甜菜胞质雄性不育性

甜菜胞质雄性不育系与保持系在生殖生长阶段叶片和花蕾中激素的含量见表5。结果表明,(1)在花蕾中保持系GA₃的含量皆高于其不育系,其中2033-2为2033-1的1.03倍,2034-2为2034-1的1.06倍。而在叶片中保持系2033-2GA₃的含量为不育系2033-1的1.5倍,2034-2与2034-1的GA₃含量无差异。(2)保持系2033-2,无论叶片还是花蕾,其IAA的含量皆高于不育系2033-1;而保持系2034-2,其叶片和花蕾中IAA的含量皆低于其不育系2034-1,因此就IAA而言,本试验保持系与不育系间差异无一致规律。(3)保持系2033-2花蕾中ABA的含量与不育系2033-1的无差异,叶片中的存在差异,且2033-2为2033-1的1.05倍;而保持

系2034-2叶片和花蕾中ABA的含量低于其不育系2034-1,分别为67.8%和56.3%,就本试验而言,不育系与保持系相比,其ABA含量差异未显示出一定的规律性。

表5 甜菜胞质雄性不育系与保持系在生殖

	生长阶段激素含量		
	μg/100g		
	GA ₃	IAA	ABA
2033-1花蕾	114.4	44.9	46.2
2033-2花蕾	117.5	71.9	46.3
2034-1花蕾	86.3	82.0	82.3
2034-2花蕾	91.6	71.9	46.3
2033-1叶片	33.2	37.2	69.7
2033-2叶片	49.8	41.7	73.4
2034-1叶片	47.2	138.1	108.7
2034-2叶片	47.2	86.3	73.7

3 讨论

3.1 酶系统与甜菜细胞质雄性不育性间的关系

从以上酶活性的研究结果看出:甜菜 CMS 的细胞色素氧化酶及 ATP 酶在生殖生长阶段均表现为不育系低于保持系。细胞色素氧化酶是重要的末端氧化酶,其活性降低,说明呼吸机能降低,这种核质共同编码的酶的活性降低将导致氧化磷酸化效率降低,从而减弱花药的呼吸速率和能量形成^[8,9],使得能量供应短缺。ATP 酶催化形成的 ATP 具有促进有机物的吸收和运输的作用,它对花粉细胞能量的代谢以及物质吸收运输等生理活动起着一定的效应^[10],雄性不育花粉中其活性降低必然影响能量的供应。这两种酶活性的降低必然会减少 ATP 的形成,使能量供应短缺。王秀珍等^[8]通过对玉米、高粱花药中 ATP 含量与 CMS 的关系的研究表明,可育花药的 ATP 含量均高于不育花药,对水稻的研究也获得了类似的结果。此外邓继新等^[9]通过研究光敏核不育水稻的花粉败育过程,也表明 ATP 含量与育性密切相关,不育花药的 ATP 含量从单核早期就开始明显低于可育株。由此可见,ATP 含量在花粉败育过程中降低具有普遍性。夏涛等^[10]认为由于呼吸系统能量亏损,从而最终导致小孢子的败育和雄性不育的发生。花粉发育时期花药细胞对线粒体的需求最大,任何一个线粒体基因或它的产物发生变化都有可能导致细胞质雄性不育^[3],因而不育花药中能量供求不平衡可能是造成花粉败育的直接原因。

过氧化物酶与过氧化氢酶的活性表现为在生殖生长阶段不育系高于保持系。有人^[11]认为雄性不育花粉的细胞色素氧化酶降低,反应了正常的代谢机能弱,其代谢途径可能是走以黄素蛋白为主要末端氧化酶的氧化途径,因为该酶的末端氧化产物不是水而是过氧化氢,因而导致了过氧化物酶和过氧化氢酶活性的增强。

3.2 激素含量与甜菜细胞质雄性不育性的关系

GA₃ 是赤霉素类中的一种,也是赤霉素类物质中第一个被分离和鉴定出来的物质(赤霉酸)。赤霉素在植物体内可以明显改变碳水化合物代谢过程,促进许多水解酶的活性变化,使贮藏物质发生水解,从而为生长和发育提供所需的能量。研究证实赤霉素可以代替花药的作用。因而施用赤霉素可使花药和花冠发育恢复正常。本试验结果表明,生殖生长

阶段保持系花蕾中 GA₃ 的含量皆高于其不育系,这说明不育系较低的 GA₃ 含量,不能促进水解酶的活性增强,导致不能为生长和发育提供所需能量,结果造成花药中能量形成和能量供应的短缺,从而对小孢子发生及发育产生严重影响。表明 CMS 与 GA₃ 之间存在一定的关系。

生长素(IAA)与 ABA 在本试验中不同的不育系与其保持系相比结果不同,未显示一致的规律,可能与所选用的材料不同有关。

综上所述,甜菜细胞质雄性不育的生理机制是一个复杂的问题,要从植物生长发育的基本特征、细胞学、生理生化及分子生物学的角度来探明其形成的原因。可望初步搞清其不育的机理。

参考文献:

- [1] Hanson M R. Plant mitochondrial mutation and male Sterility[J]. Annu Rev Genet, 1991, (25): 461 - 484.
- [2] 李竞雄, 周洪生, 孙荣锦, 等. 玉米雄性不育生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998. 2 - 3.
- [3] 赖锦盛, 戴景瑞, 谢友菊, 等. 植物细胞质雄性不育系的分子基础研究[A]. 见: 作物雄性不育及杂种优势研究进展(1)[C]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 82 - 86.
- [4] Simon E W. The effect of digitinin in the Cytochrome oxidase activity of plant mitochondria[J]. Biochem J, 1958, (69): 67 - 71.
- [5] 张明永, 梁承郢, 黄毓文, 等. 水稻细胞质雄性不育系与保持系的呼吸途径比较[J]. 植物生理学报, 1998, 24 (1): 55 - 58.
- [6] Тип ИИ Н НВ, ПАПЦЛО В а АН. 袁妙藻, 俞志隆, 李桃生译. 植物胞质雄性不育的遗传学原理[M]. 北京: 农业出版社, 1980. 86 - 142.
- [7] 段俊, 梁承郢, 张明永. 玉米细胞质雄性不育与膜脂过氧化的关系[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(5): 331 - 334.
- [8] 王秀珍, 滕晓月, 闫隆飞, 等. 玉米及高粱花药中 ATP 含量与细胞质雄性不育的关系[J]. 作物学报, 1986, 12 (3): 177 - 181.
- [9] 邓继新, 刘文芳. HPGMR 花粉发育时期花药 ATP 含量及核酸和蛋白质的合成研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1990, (3): 85 - 88.
- [10] 夏涛, 刘纪麟. 玉米雄性不育细胞质细胞色素氧化酶活性及 ATP 含量的研究[J]. 华北农学报, 1994, 9 (4): 33 - 37.
- [11] 潘瑞炽. 植物生理与分子生物学(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 455.