

龚宏伟. 小麦雄性不育系花粉发育过程中核糖核酸酶活性的变化[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 63–65.

# 小麦雄性不育系花粉发育过程中核糖核酸酶活性的变化

龚宏伟

(宝鸡职业技术学院生物工程系, 陕西宝鸡 721013)

**摘要:**以 2 种 K 型小麦雄性不育系及保持系、YS 型温敏不育系为材料, 研究花粉发育过程中倒 2 叶和花药中核糖核酸酶活性变化。结果显示, 不育系花药中核糖核酸酶活性在二核期前显著高于保持系, 呈上升趋势; 二核期以后不育系核糖核酸酶活性急剧下降; 不育系核糖核酸酶活性与相应的保持系比较差异显著。温度变化对 K 型不育系及其同型保持系酶活性变化没有影响, YS 型温敏不育系在不同温度下酶活性差异明显。不育系雄蕊的核糖核酸酶活性异常升高可能与小麦雄性不育有密切关系, 核糖核酸酶活性变化的关键时期可能是二核期。

**关键词:**小麦; 雄性不育系; 花粉发育; 核糖核酸酶活性

**中图分类号:** S512.103 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0063-03

核糖核酸酶(ribonuclease, RNase)在植物体内分布广泛, 具有特殊的生物学功能, 除能裂解 RNA 外, 还与植物的衰老、抗逆、自交不亲和、植物雄性不育有密切关系<sup>[1-4]</sup>。尤其近年来, 核糖核酸酶与植物雄性不育花药败育的关系受到人们的广泛关注。植物组织器官中 RNase 活性的强弱直接影响 RNA 及可溶性蛋白质的变化。核糖核酸酶对 RNA 的降解直接阻碍了植物体蛋白质的合成, 而细胞中的蛋白质既能催化许多新陈代谢活动, 又是各种酶、细胞器、膜系统的组成成分。因此, 蛋白质含量下降直接导致代谢紊乱。舒孝顺等研究表明, 水稻温敏不育系的核糖核酸酶活性升高, 引起 RNA 含量下降, 阻碍了蛋白质合成, 使不育系新陈代谢紊乱, 从而导致不育系花药败育<sup>[5]</sup>。杨建军等也认为, 核糖核酸酶活性的增强与植物的雄性不育有直接关系<sup>[6-8]</sup>, 因此核糖核酸酶变化对细胞正常发育和个体的一系列重要生命活动有着重大影响。本试验对小麦雄性不育系中核糖核酸酶及其与小麦雄性不育的关系进行研究, 为小麦雄性不育系培育提供了参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为西北农林科技大学 K 型杂交小麦课题组提供的 1B/1R 类 K 型小麦雄性不育系 3314A 及其保持系 3314B、由 3314A 转育而成的非 1B/1R 类 K 型不育系 732A 及其保持系 732B、732A 的近等基因系 YS 型温敏不育系 A3017。

### 1.2 试验设计

2008 年 3 月在西北农林科技大学农学院实验室人工气候箱盆栽 K 型小麦不育系 732A、3314A 及同型保持系 732B、

3314B 和 YS 型温敏不育系 A3017, 进行人工控温处理。根据 YS 型小麦温敏不育系育性转换条件, 在花粉发育的减数分裂期设置不育和可育温度处理, 不育条件下的温度设为白天 16 ℃/夜间 14 ℃, 可育条件下的温度设为白天 22 ℃/夜间 18 ℃, 光照时间均为 12 h。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 取样** 根据麦株外部形态选取花药处于不同发育时期的麦穗, 用醋酸洋红压片法在显微镜下确定中部小穗的发育时期, 依次剥取不育系和保持系中部小穗上处于减数分裂期、单核期、二核期、三核期小穗的花药及各个生育期的倒 2 叶。

**1.3.2 酶活性测定** 在张静兰等的方法<sup>[9]</sup>基础上进行了改进, 取小麦雄蕊鲜样 0.1 g, 液氮研磨; 然后分 2 次加 4 mL 0.02 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值为 7)于研钵中, 将研钵中核糖核酸酶提取液分别转移至 10 mL 离心管中; 在 4 ℃、12 000 g 条件下离心 15 min, 取上清液 0.2 mL, 加 0.8 mL 含 25 mg/mL 酵母 RNA 的醋酸缓冲液, 以上操作均在冰浴中进行。取另一支 10 mL 离心管加 0.2 mL 0.02 mol/L 磷酸缓冲液和 0.8 mL 0.1 mol/L 醋酸缓冲液作为空白对照。将上述各个离心管放入 37 ℃ 水浴锅, 反应 30 min, 取出分别加 2 mL 95% 乙醇终止反应; 混匀后立即置于 -20 ℃ 冰箱终止反应, 以沉淀未酶解的 RNA。12 h 后取出离心管, 在 4 ℃、10 000 g 条件下离心 10 min; 取上清液稀释 10 倍, 在紫外可见分光光度计上测定 260 nm 处比色, 重复 3 次。一个核糖核酸酶单位(unite)相当于在 37 ℃、260 nm 的条件下使吸光度增大 1.0 时所需的酶量, 酶活力以 1 g 干样所含的 RNase 酶量来表示, 即 U/g DW。

## 2 结果与分析

**2.1 不同气候箱温度处理下不育系育性敏感时期花药核糖核酸酶含量变化**

由图 1 可以看出, 在低温(白天 16 ℃/夜间 14 ℃)处理下, 不育系 732A、3314A 酶活性从减数分裂期开始呈上升趋势, 二核期核糖核酸酶活性达到最高, 三核期迅速下降。保持

收稿日期: 2013-02-23

基金项目: 西北农林科技大学基本科研业务基金(编号: QN2009001)。

作者简介: 龚宏伟(1973—), 女, 陕西眉县人, 硕士, 讲师, 主要从事作物遗传育种教学与研究工作。E-mail: gonghongwei12@126.com。

系 732B、3314B 各发育时期酶活性变化趋势与同型不育系一致,但保持系变化较不育系缓慢;在高温(白天 22 ℃/夜间 20 ℃)处理下,不育系及保持系酶活性变化与低温下相似;温敏不育系 A3017 不同温度下酶活性变化趋势与 K 型不育系相同,但低温下酶活性上升趋势较高温下大,二核期时低温下酶活性是高温下酶活性的 1.56 倍。

表 1 表明,K 型不育系 732A 和 3314A 从减数分裂期到二核期与其相应的保持系核糖核酸酶活性差距逐渐加大,至二核期时达最大,此时不育系 732A、3314A 酶活性分别是同型保持系的 1.38、1.34 倍,到三核期 2 类不育系的酶活性均低于其相应的保持系,且呈继续下降趋势;K 型不育系 732A、3314A 及同型保持系在不同温度下各个生育时期酶活性变化

差异微小,温度变化对 K 型不育系与其同型保持系酶活性变化没有显著影响;温敏不育系 A3017 在不同温度下酶活性在减数分裂期没有区别,单核期后表现出区别,低温下酶活性显著高于高温下酶活性。温度对不育系 A3017 的影响较显著。

不育系 732A、3314A 与同型保持系在不同温度下酶活性没有变化,说明温度对这 2 类不育系酶活性表现没有显著影响。不育系 A3017 在不同温度下酶活性差异显著,低温时酶活性异常升高,表现为不育;高温时整个生育期酶活性变化平缓,表现为可育。低温时酶活性变化异常,可能导致正常的生命活动失调,造成不育。这也可能是导致温敏不育系 A3017 育性转换的因素之一。

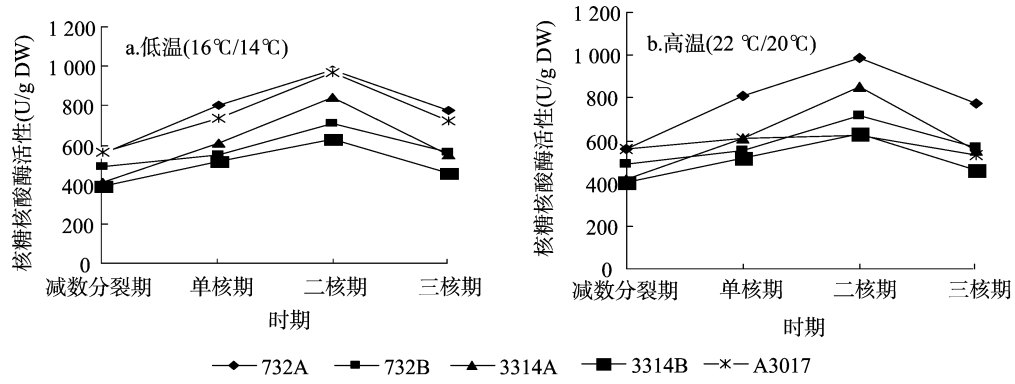


图1 不同温度及不育系发育时期花药中RNase活性变化

表 1 不同温度及不育系发育时期花药中 RNase 活性

温度	材料	不同发育时期 RNase 活性(U/g)			
		减数分裂期	单核期	二核期	三核期
低温(16 ℃/14 ℃)	732A	555.40 ± 5.56a	800.98 ± 5.25a	980.54 ± 11.39a	775.09 ± 4.45a
	732B	493.05 ± 4.04b	552.73 ± 4.21d	709.67 ± 3.98c	565.31 ± 4.27c
	3314A	409.23 ± 7.14c	609.61 ± 3.85c	840.94 ± 6.15b	549.96 ± 2.46d
	3314B	393.97 ± 3.30d	516.75 ± 4.60e	626.90 ± 3.78de	457.22 ± 8.54f
	A3017	563.21 ± 7.14a	766.40 ± 2.47b	969.33 ± 3.23a	720.62 ± 10.24b
高温(22 ℃/18 ℃)	732A	563.24 ± 7.27a	807.00 ± 4.69a	985.42 ± 8.01a	772.09 ± 12.45a
	732B	493.03 ± 4.05b	552.70 ± 2.37d	717.21 ± 2.77c	564.15 ± 5.97c
	3314A	415.83 ± 5.86c	613.90 ± 3.00c	851.03 ± 5.17b	554.72 ± 4.88ed
	3314B	405.99 ± 3.88ed	519.44 ± 7.10e	632.6 ± 3.69d	463.17 ± 4.53f
	A3017	559.85 ± 4.21a	607.27 ± 10.43c	621.58 ± 4.60e	531.93 ± 3.36e

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

2.2 不同气候箱温度处理下不育系育性敏感时期倒 2 叶中核糖核酸酶活性变化

由图 2 可见,在不同温度下不育系 732A、3314A 及其同型保持系核糖核酸酶活性变化趋势与花药中酶活性变化趋势一致,到二核期酶活性达最高,之后下降,但较花药中酶活性升高缓慢;A3017 酶活性变化曲线在二核期前上升,二核期到三核期下降,但不同温度下曲线变化幅度明显不同,不育条件下二核期前曲线上升较快,二核期到三核期下降也较快。倒 2 叶酶活性从减数分裂期到三核期明显低于花药中同期酶活性。

由表 2 可知,不同温度下不育系 732A、3314A 酶活性各个时期变化不明显;温敏不育系 A3017 不育条件下酶活性都显著高于可育条件下酶活性,进一步证明在生育敏感期不同

温度处理对不育系 732A、3314A 中核糖核酸酶活性没有显著影响,而对 A3017 育性和酶活性影响较大。

3 结论与讨论

试验结果表明,K 不育系及保持系的花药、倒 2 叶的核糖核酸酶活性变化趋势一致,从减数分裂期到二核期升高,至二核期达到最高,二核期到三核期下降。但花药中核糖核酸酶活性明显高于倒 2 叶,说明小麦花药的生理代谢旺盛,花药中核糖核酸酶活性对花粉育性影响更大。2 类不育系酶活性显著高于其同型保持系酶活性,但 2 类不育系酶活性在不同温度处理下变化不明显。由此可见,不育系核糖核酸酶活性与小麦雄性不育有直接关系,而温度对 K 型不育系酶活性没有影响。温敏不育系 A3017 酶活性在不同温度下有很大区别,

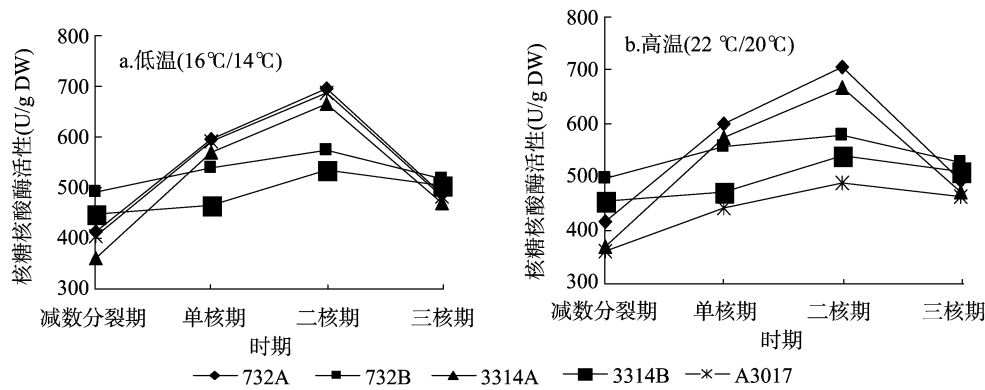


图2 不同温度及不育系二叶中RNase活性变化

表 2 不同温度及不育系发育时期倒二叶中 RNase 活性

温度	材料	不同发育时期 RNase 活性 (U/g)			
		减数分裂期	单核期	二核期	三核期
低温 (16 ℃/14 ℃)	732A	412.05 ± 6.71c	596.30 ± 14.37a	697.15 ± 3.58a	487.31 ± 6.25c
	732B	490.83 ± 7.24a	540.15 ± 3.95c	572.82 ± 4.07c	519.29 ± 5.92a
	3314A	361.17 ± 3.68d	572.96 ± 8.05b	663.78 ± 5.32b	469.51 ± 3.29d
	3314B	446.64 ± 6.05b	466.21 ± 5.41d	533.93 ± 11.4d	502.93 ± 9.94b
	A3017	406.21 ± 5.55c	591.45 ± 7.50a	688.28 ± 2.16a	482.03 ± 4.35c
高温 (22 ℃/18 ℃)	732A	415.10 ± 7.21c	599.58 ± 11.24a	704.93 ± 3.41a	492.28 ± 10.32c
	732B	498.21 ± 8.13a	554.87 ± 6.98c	576.98 ± 6.07c	524.09 ± 3.17a
	3314A	367.19 ± 6.1d	575.13 ± 8.01b	666.39 ± 3.35b	471.13 ± 7.97d
	3314B	451.43 ± 9.6b	470.49 ± 6.21d	537.08 ± 5.81d	509.58 ± 3.77b
	A3017	359.22 ± 12.6d	439.71 ± 5.78e	487.80 ± 6.03e	460.86 ± 12.04d

注同表 1。

低温处理下酶活性高,表现为不育;高温处理下酶活性低,表现为可育。核糖核酸酶活性在小麦温敏不育系育性转换中变化明显,可能与不育系的育性转换有密切关系。

参考文献:

[1]梁凤山,王 斌. 小麦雄性不育遗传及基因定位研究进展[J]. 遗传,2003,25(4):461-465

[2]刘忠松. 植物雄性不育生理生化研究进展与展望[J]. 作物研究,1992(2):7-11,14.

[3]桑 伟,韩新年,田笑明,等. 小麦杂种优势的利用途径及研究进展[J]. 种子,2005,24(5):50-54.

[4]张 颖,李伟军. 核糖核酸酶特殊生物学功能及药理作用研究新

进展[J]. 生物医学工程学杂志,2001,18(3):456-460.

[5]舒孝顺,陈良碧,吕金海. 温敏感不育水稻育性敏感期核糖核酸酶的变化[J]. 作物学报,2000,26(3):381-384.

[6]杨建军,杨汉中,曹宗巽. 太谷核不育小麦不育株花药败育过程中核酸代谢的异常现象[J]. 植物生理,1988,4(4):367-372.

[7]黄雪清,高东迎,杨安南,等. 化学杀雄剂Ⅲ号诱导水稻雄性不育过程中幼穗、颖花、花药中核酸和蛋白质代谢研究[J]. 作物学报,2001,27(6):827-831.

[8]聂明建,王国魁,陈光尧. 几个甘蓝型油菜雄性不育系花药败育过程中核糖核酸酶的变化[J]. 作物学报,2006,32(7):101-103.

[9]张静兰,徐 桂,唐定台,等. 绿豆子叶脱分化过程中核糖核酸酶的变化[J]. 植物学报,1984,26(4):381-385.

《江苏农业科学》加入有关数据库的特别声明

为适应我国信息化建设的需要和扩大作者学术交流渠道,提高作者所发表论文的被引频次,《江苏农业科学》已加入“万方数据——数字化期刊群”、《中国学术期刊(光盘版)》和“中国期刊网”、重庆维普中文期刊数据库、中国生物学文献数据库、台湾华艺中文电子期刊数据库。作者著作权使用费采取与本刊稿酬一次性给付方式。如作者不同意将文章编入上述数据库,请在来稿时声明,本刊将作适当处理。

《江苏农业科学》编辑部