

李建欣,代西梅,李林玉,等.核质互作型雄性不育水稻分蘖期超氧化物歧化酶和丙二醛含量变化[J].江苏农业科学,2014,42(8):81-83.

核质互作型雄性不育水稻分蘖期超氧化物歧化酶和丙二醛含量变化

李建欣,代西梅,李林玉,黄群策

(郑州大学/河南省离子束生物工程重点实验室,河南郑州 450052)

摘要:为进一步了解水稻雄性不育现象,研究了核质互作型雄性不育水稻不育系 451A 及保持系 451B 分蘖期叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)含量的动态变化情况。结果表明,不育系水稻营养生长阶段的分蘖期 SOD、POD、CAT 活性以及 MDA 含量表现异常,不育系水稻 SOD 活性高于保持系,不育系水稻 CAT 活性低于保持系,导致不育系水稻 MDA 含量较高,这可能引起了水稻能量、物质代谢异常,膜脂过氧化逐渐积累,从而造成了花粉败育。

关键词:水稻;雄性不育系;分蘖期;超氧化物歧化酶;丙二醛

中图分类号: S511.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0081-02

雄性不育是雄性器官退化、发育不良或花粉败育,不能行使生殖能力而雌蕊发育正常的现象。雄性不育起源于遗传性远缘异质的植物杂交,后代产生了生理、代谢紊乱,致使雄性生殖细胞败育。植物雄性不育有 2 种类型:一种为生理上的雄性不育,是由逆境胁迫及各种理化因素造成的,不育性不能传给后代,育种上不能连续利用;另一种为遗传上的雄性不育,是受雄性不育基因控制,这种基因一般属隐性,有重要的利用价值^[1]。核质互作型雄性不育又称细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS),属于遗传不育。植物育性的表达是由基因控制的生理过程、生化反应、形态构建的最终结果,包括一系列物质代谢、能量代谢,涉及各种复杂的生理生化反应。基因控制酶蛋白的合成,酶又调控代谢反应,多个代谢反应的综合集中表现便是性状。因此育性的变化也是酶活性变化引起的结果之一^[2]。植物在代谢过程中产生有氧自由基,遇逆境胁迫时,植物体内大量增生自由基,致使膜脂过氧化严重,造成膜结构受损,蛋白质结构被改变,最终对生物体产生伤害。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)是植物抗氧化酶促防御系统中的 3 个主要酶类。SOD 对活性氧的清除反应过程为: $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, POD、CAT 进一步催化 H_2O_2 分解成 H_2O 从而彻底解毒,使植物体内活性氧保持在较低水平,这 3 种酶协同作用,可减轻自由基对生物体造成的毒害,提高机体抗逆能力。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物,它的含量高可反映细胞膜受损害的程度。前人对水稻生殖生长阶段的生理生化反应进行了研究,但是关于水稻营养生长阶段的动态研究还比较少。本研究以核质互作型雄性不育水稻为材料,调查了分蘖期水稻叶片中 SOD、POD、CAT、MDA 含量变化,以探讨水稻

不育系不育的生理机制,旨在为进一步丰富水稻雄性不育理论提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

核质互作型雄性不育水稻 451A 及保持系 451B 均由河南省新乡市农业科学院秋粮研究所提供。供试水稻种植于河南省新乡市农业科学院内,采用常规管理。水稻分蘖初期到后期每隔 5 d 取 1 次材料。取每株主茎上面第 1 张全展叶,每次取 3 张叶中部,放冰上带回实验室统一进行酶活测定。

1.2 粗酶液提取和酶活性测定

称取叶片样品 0.5 g 置于预冷的研钵中,加入 1 mL 预冷的磷酸缓冲液(pH 值为 7.8),冰浴研磨成浆,加缓冲液使终体积为 5 mL,于 $11\ 000 \times g$ 、4℃下离心 15 min,上清液即为 SOD、POD、CAT 粗提液,3 次重复^[3-4]。采用 NBT(氮蓝四唑)光还原法测定叶片 SOD 活性。反应液为 3 mL NBT、1 mL 酶液,对照液为 3 mL NBT、1 mL 磷酸缓冲液(pH 值为 7.8),25~30℃、4 000 lx 于日光下反应 20 min,调零液遮光,560 nm 下测定吸光度值。SOD 活性单位以抑制 NBT 光还原的 50% 为 1 个酶活性单位来表示。采用愈创木酚法测定 POD 活性。反应液为 2.7 mL 磷酸缓冲液、100 μL 愈创木酚、100 μL H_2O_2 、100 μL 酶液,470 nm 下测定吸光度值,每隔 1 min 读数 1 次,共测 4 min,磷酸缓冲液调零。采用紫外吸收法测定 CAT 活性。反应液为 2.8 mL 磷酸缓冲液(pH 值为 7.8)、100 μL H_2O_2 、100 μL 酶液,240 nm 下测定吸光度值,每隔 1 min 读数 1 次,共测 4 min,磷酸缓冲液调零。MDA 提取与活性测定:称取叶片样品 1 g 置于预冷的研钵中,加入 2 mL 10% TCA、少量石英砂,研磨至匀浆,再加 8 mL TCA 进一步研磨匀浆,4 000 r/min 离心 10 min,上清液为样品提取液。采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量。吸取离心的上清液 2 mL,加入 2 mL 0.6% TBA 溶液,混匀于沸水浴上反应 15 min,迅速冷却后再离心。取上清液测定 532、450 nm 波长下的吸光度值,蒸馏水调零。

收稿日期:2013-11-05

作者简介:李建欣(1989—),男,河北张家口人,硕士研究生,研究方向为离子束生物效应。E-mail:714062351@qq.com。

通信作者:代西梅,从事离子束生物效应研究。E-mail:daiximei@zzu.edu.cn。

2 结果与分析

2.1 MDA 含量的变化

由表 1 可见,分蘖期前期不育系水稻叶片中 MDA 含量极显著高于保持系,分蘖期后期不育系仍然显著高于保持系,但是没有分蘖前期显著。总体来说,不育系由分蘖前期到分蘖后期有下降的趋势,保持系变化没有不育系大。

2.2 SOD 活性的变化

由表 1 可见,分蘖期前 3 个时间点不育系及保持系水稻叶片 SOD 活性均下降,分蘖期后 3 个时间点不育系及保持系水稻叶片 SOD 活性均上升。每个时期不育系水稻叶片 SOD

活性均高于保持系。

2.3 CAT 活性的变化

由表 1 可见,从分蘖期开始到最后,不育系水稻叶片 CAT 活性有波动但是整体变化不大,保持系水稻叶片 CAT 活性下降趋势明显,总体而言,不育系水稻分蘖期不育系叶片 CAT 活性略低于保持系。

2.4 POD 活性的变化

由表 1 可见,分蘖期前 2 个时间点不育系及保持系水稻叶片 POD 活性均下降,分蘖期后 4 个时间点不育系及保持系后 3 个时间点水稻叶片 POD 活性均上升。从总体趋势来看,不育系水稻叶片 POD 活性高于保持系。

表 1 雄性不育水稻不育系、保持系叶片中抗氧化酶活性及 MDA 含量

类型	编号	MDA 含量(μg/g)	SOD 活性(U/g)	CAT 活性(U/g)	POD 活性(U/g)
不育系	1	4.19 ± 0.17Aa	14.11 ± 0.54Aa	28.42 ± 4.52DEde	84.95 ± 7.46Aa
	2	2.73 ± 0.12Bb	7.83 ± 0.33Dd	47.25 ± 2.31BCb	12.81 ± 1.96EFGe
	3	2.66 ± 0.13BCbc	5.34 ± 0.2Ee	40.43 ± 1.32Cc	16.23 ± 2.11EFe
	4	1.65 ± 0.12Ee	8.75 ± 0.52Cc	18.31 ± 3.26Ff	19.98 ± 2.08DEde
	5	1.62 ± 0.12EFef	11.45 ± 0.34Bb	23.32 ± 1.68EFef	80.80 ± 6.13Aa
保持系	1	2.10 ± 0.21Dd	11.53 ± 0.51Bb	75.75 ± 4.57Aa	49.08 ± 7.96Bb
	2	2.49 ± 0.12Cc	5.15 ± 0.3Ee	45.74 ± 2.32BCb	9.97 ± 1.51FGef
	3	1.97 ± 0.15Dd	3.97 ± 0.12Ff	48.79 ± 1.23Bb	4.55 ± 1.47Gf
	4	1.29 ± 0.1Gg	5.75 ± 0.38Ee	30.48 ± 4.23Dd	27.24 ± 1.12Dd
	5	1.41 ± 0.11FGfg	7.71 ± 0.45Dd	19.74 ± 2.42Ff	37.98 ± 3.25Cc

注:同列数据后不同大写字母表示差异极显著,不同小写字母表示差异显著。

3 结论与讨论

酶是生物体内的一种特殊的催化刑,由活的生物体合成。酶的活性取决于其蛋白质结构的完整性,任何破坏酶蛋白的因素都能导致酶活性丧失。酶有调控代谢反应的功能,正是由于酶、代谢、生理功能之间的相互关系,使得酶活性变化与育性变化有着密切的关系。植物体内酶的种类、存在量的多少、酶的方向都会直接影响植株生长发育、可育与不育等特性。

植物生长过程中,不断吸收 H₂O 及 CO₂ 进行光合作用,生产有机物质并放出 O₂,氧在自身还原过程中形成阴离子自由基、羟自由基的活性氧。在光合作用中,植物不可避免地要经受强光、高温环境,光激发产生的多余能量在光合器中形成单线态氧^[5-8]。在光呼吸等代谢过程中,也会有许多 H₂O₂ 产生,这些 H₂O₂ 可以通过 Haber - Weiss 反应产生毒性更强的 OH·自由基。OH·可引发脂质尤其是膜不饱和脂的过氧化,损害生物膜结构,改变蛋白质结构,损伤 DNA 等生物大分子的结构与功能等。在生物进化过程中,生物也形成了抵抗活性氧伤害的防御系统。SOD 是植物体内解除 O₂⁻ 毒害作用的关键性酶。CAT、POD 则将 H₂O₂ 通过 Haber - Weiss 反应进一步分解而彻底解毒。

以往学者们对于不育水稻抗氧化酶防御系统几种关键指标的研究结果不尽相同。陈贤丰等以 PTGMS 不育系农垦 58S 和 w6154S 为材料研究发现,单核早期、单核晚期、二核及三核期的不育花药 2 种酶在每小穗花药中的总活性普遍低于其可育花药^[9]。张明永等比较了 CMS 水稻不育系珍汕 97A 及其同核异质保持系珍汕 97B,结果表明,与可育三核期花药

相比,不育三核期 2 种酶活性较低^[10]。梅启明等研究发现,从穗发育雌雄蕊原基分化期到三核期,不育系农垦 58S 幼穗或花药中 SOD 活性明显比其可育状态下的高^[11]。邹国林等研究发现,穗分化第 2 次枝梗原基分化期至花粉母细胞形成期,农垦 58S 叶片 SOD 比活力高于农垦 58,同一品种,长日 SOD 活性高于短日,农垦 58S 叶片 CAT 比活力变化较显著,但无规律^[12]。

本研究表明,分蘖期不育系水稻 SOD 活性比保持系高,推测不育系受到了更强的 H₂O₂ 伤害,在此时期不育系水稻 CAT 活性反而远远小于保持系,由此可推测不育系有更多的 OH·自由基没有被清除,导致 MDA 含量增大。分蘖期不育系水稻 SOD 活性始终高于保持系也从侧面证明了不育系受到比保持系更多的 H₂O₂ 伤害。不育系水稻 CAT 的酶活性比保持系少,由此可推测在此过程中不育系受 OH·自由基的损害作用大,证明不育系一直有较多的脂质尤其是膜不饱和和脂过氧化。前人发现,细胞质雄性不育水稻的花粉败育大多数发生在减数分裂期到二核期,分蘖期要远远早于花粉败育时期。根据 MDA、SOD、POD、CAT 一系列变化结果说明了水稻核质互作型雄性不育花粉败育是一个逐渐积累的、由量变到质变的过程,而不是一个“跃迁”的过程,推测可能从分蘖期甚至更早的发育时期花药的酶促系统已出现了异常,最后发育至花粉败育时期。本试验中,不育系水稻营养生长阶段的分蘖期 SOD、POD、CAT 活性以及 MDA 含量表现异常,不育系水稻 SOD 活性高于保持系,不育系水稻 CAT 活性低于保持系,导致不育系水稻 MDA 含量较高,这可能引起了水稻能量、物质代谢异常,膜脂过氧化逐渐积累,从而造成了花粉败育。

孙君艳,董丽平,李淑梅,等. 利用外引杂交种对自交系玉米植株性状改良的潜势分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):83-86.

利用外引杂交种对自交系玉米植株性状改良的潜势分析

孙君艳,董丽平,李淑梅,王苏燕

(信阳农林学院,河南信阳 464000)

摘要:以玉米自交系品种郑 58 为父本,与 7 个杂交种杂交组配 7 个杂交组合,分析了 F_2 群体的株高、穗位高、穗上叶片数、叶长、叶宽等 9 个植株性状的分离情况并与其自交系相比较。结果表明: F_2 群体各性状均有较大的分离,且分离情况各不相同。针对单个性状选出最优群体,并从中选出了综合性状比较好的群体,即 626、631、638 是改良郑 58 的最优群体。

关键词:玉米; F_2 群体;植株性状;最优群体;优良自交系

中图分类号: S513.03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0083-04

人口数量持续增长、动物饲料需求不断增加与耕地资源减少的矛盾日益突出,决定了在相当长时间内,我国玉米育种目标应以提高单位面积产量为主导^[1-4]。为提高产量而进行的品种改良有 2 条途径:一是株型改良,二是杂种优势利用^[5-6]。目前我国玉米种植密度还处于较低水平,进一步提高产量的最大潜力就在于培育良好株型,以提高其种植密度,但配合力高、产量高、株型好、外观性状整齐、抗病抗逆性强的自交系是极其有限的,因此对现有的自交系进行改良就变得十分必要。

郑 58 是一个良好的自交系,以其为母本培育出的郑单 958 在全国范围已经累计推广接近 3 333 万 hm^2 ,但是笔者也发现,它与先玉 335 的母本 PH6WC 无论在株高、穗位高等方面都存在差异,因而如何对其加以改良,以发挥其更好的作用是本研究的主要目的。本研究以同一个自交系郑 58 为父本,与不同的杂交种杂交组配 7 个 F_2 群体,同时种植了郑单 958 和先玉 335 的母本 PH6WC,将 F_2 群体与之比较,考察各群体及亲本的株高、穗位高等 9 个植株性状,同时分析郑 58 的各

性状的变化,从而挑选出改良郑 58 各性状的适宜群体,以期能够对玉米育种挑选优良自交系提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其组配方法

2012 年在信阳农林学院南湾实习农场以玉米自交系郑 58 作父本,分别与 7 个杂交种组配得到 F_1 , F_1 自交得到 F_2 ,分别标记为群体 615、621、633、638、641、631、626。2013 年种植 7 个 F_2 ,同时种植郑单 958、先玉 335 的母本——PH6WC、郑 58。

1.2 田间试验和性状考察

2013 年在信阳农林学院试验基地夏播种植 2 个自交系和 7 个 F_2 群体,亲本为 2 行区, F_2 群体单粒播种,行长 4 m,每行种植 17 株,行距 0.67 m。各 F_2 群体种植的植株数见表 1。田间管理同一般大田。

测定供试材料的株高、穗位高、穗上叶片数、雄穗长、雄穗分枝数、茎粗、叶长(L , cm)、叶宽(B , cm),计算叶面积(cm^2),其计算公式为:叶面积 = $L \times B \times 0.75$ (0.75 为叶面积系数)。各项测定结果见表 2。

1.3 数据分析

用 SPSS Statistics V19.0 软件计算 2 个亲本自交系和 F_2 群体各性状的平均值、标准差、偏度、峰度和变异系数。

收稿日期:2014-01-22

基金项目:信阳农林学院资助项目(编号:20121009)。

作者简介:孙君艳(1972—),女,河南信阳人,硕士,副教授,主要从事作物育种研究。E-mail: xysjy66@163.com。

参考文献:

- [1] 朱英国,利容千,汪明全. 水稻雄性不育生物学[M]. 武汉:武汉大学出版社,2000.
- [2] 梅启明,朱英国,张红军. 湖北光敏核不育水稻中酶的反应特征研究[J]. 华中农业大学学报,1990,9(4):469-471.
- [3] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [4] 杜士云,王德正,吴爽,等. 三类雄性不育水稻花药和叶片中抗氧化酶活性变化[J]. 植物生理学报,2012,48(12):1179-1186.
- [5] 舒孝顺,陈良碧. 温敏核不育水稻育性敏感期过氧化物酶活性(简报)[J]. 植物生理学通讯,1999,35(6):466-468.
- [6] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.

- [7] 王志强,刘文芳,肖翊华. HPGMR 农垦 58S 叶片中过氧化物酶活性变化的比较研究[J]. 华中农业大学学报,1990,9(4):466-468.
- [8] Wan C X, Li S Q, Wen L, et al. Damage of oxidative stress on mitochondria during microspores development in Honglian CMS line of rice[J]. Plant Cell Reports, 2007, 26(3):373-382.
- [9] 陈贤丰,梁承邳. 水稻不育花药中 H_2O_2 的积累与膜脂过氧化的加剧[J]. 植物生理学报,1991,17(1):44-48.
- [10] 张明永,梁承邳,段俊,等. CMS 水稻不同器官的膜脂过氧化水平[J]. 作物学报,1997,23(5):603-606.
- [11] 梅启明,朱英国. 不同光诱导条件下 HPGMR 中 SOD 的比较研究[J]. 中国水稻科学,1990,4(1):43-45.
- [12] 邹国林,刘俊松,陈克成,等. 光敏核不育水稻育性转变敏感期超氧化物歧化酶与丙二醛的变化[J]. 武汉大学学报:自然科学版,1991(4):95-100.