

细胞质雄性不育水稻幼穗和花药的呼吸酶活性研究

张明永 田长恩 梁承邨 黄毓文 刘鸿先

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘要 研究珍汕 97A 和珍汕 97B 的雌雄蕊原基形成期、花粉母细胞形成期和花粉母细胞减数分裂期的幼穗及单核期、二核期和三核期的花药中呼吸代谢三羧酸循环(TCA)的苹果酸脱氢酶(MDH)和异柠檬酸脱氢酶(IDH)及戊糖途径(PPP)的磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)、磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6PGDH)和5-磷酸核糖异构酶(R5PI)的活性。结果表明:可育花药的5种酶活性皆高于同期不育花药;而幼穗中,TCA途径中的MDH和IDH在不育系与保持系之间无差异,PPP途径的G6PDH和6PGDH及R5PI则保持系高于不育系。这说明不育系中PPP发生的变化早于TCA途径,PPP途径的改变可能与小孢子败育有着更为直接的关系。

关键词 呼吸酶; 细胞质雄性不育; 水稻

ACTIVITIES OF RESPIRATORY ENZYMES AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES OF PANICLES AND ANTHERS IN CMS RICE AND ITS MAINTAINER

Zhang Mingyong Tian Chang'en Liang Chengye Huang Yuwen Liu Hongxian

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

Abstract The activities of respiratory enzymes in cytoplasmic male sterile (CMS) rice Zhenshan 97A and its maintainer Zhenshan 97B were studied. The results showed that the activities of malate dehydrogenase (MDH), isocitrate dehydrogenase (IDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), 6-phospho-gluconate dehydrogenase (6PGDH) and 5-phosphoribose isomerase (R5PI) in sterile anthers were all lower than those in fertile ones. But in panicles only the activities of G6PDH, 6PGDH and R5PI in sterile line were lower than those in fertile line. The results indicated that the cytoplasmic sterility of rice was associated with the obvious decrease of tricarboxylic acid cycle (TCA) and pentose phosphate pathway (PPP) activities, and the change in PPP operation was shown to be earlier than that in TCA.

Key words Respiratory enzymes; Cytoplasmic male sterility; Rice

植物雄性不育的生理研究已表明,蛋白质、DNA和RNA^[1]等生命大分子物质合成不足,能量代谢异常^[2],膜结构受到损伤^[3]等同小孢子败育相关。

呼吸代谢是植物体的一种重要生命活动,它一可以为其它生命活动提供能量ATP;二可为

其它代谢提供代谢中间物; 三可以提供还原力NADPH(还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸)和NADH(还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)。已知不育系缺乏抗氰呼吸^[4], 能量亏损^[1], 但未见从呼吸代谢的底物降解途径探讨呼吸同雄性不育的联系。本文比较研究了水稻细胞质不育系中的三羧酸循环及戊糖循环中的酶活性, 以揭示不育系中呼吸底物降解水平的情况。

1 材料与方方法

取珍汕 97A 和 97B 的雌雄蕊原基形成期、花粉母细胞形成期和花粉母细胞减数分裂期(按丁颖^[5]的划分标准判定幼穗发育期)的幼穗, 及花粉单核期、二核期和三核期花药^[6]为试验材料。

酶液制备 用 0.05 mol/L pH8.0 Tris-HCl+1% 不溶性 PVP 提取, 12000 × g 4 °C 离心 10 min, 上清液作测定用。

酶活性测定 MDH 按欧阳光察^[7]的方法, 以增加 1.0 OD min⁻¹为一个酶单位。IDH 按吉尔鲍特^[8]的方法测定, 以增加 0.1 OD min⁻¹为一个酶活单位。G6PDH 和 6PGDH 按欧阳光察^[9]的方法测定, 以增加 0.1 OD min⁻¹为一个酶活单位。R5PI 按汤小仪^[7]的方法测定, 以增加 1.0 OD min⁻¹为一个酶活单位。

2 实验结果

2.1 三羧酸循环(TCA)中的酶活性

图 1 示珍汕 97A 和珍汕 97B 幼穗和花药中 MDH 和 IDH 的活性。可见无论单核、二核、三核花粉期的可育花药的 MDH 和 IDH 的活性皆高于同期的不育花药的酶活性。然而不育系与保持系幼穗中的 MDH 及 IDH 活性无差异。同时可见不育系与保持系幼穗中 MDH 和 IDH

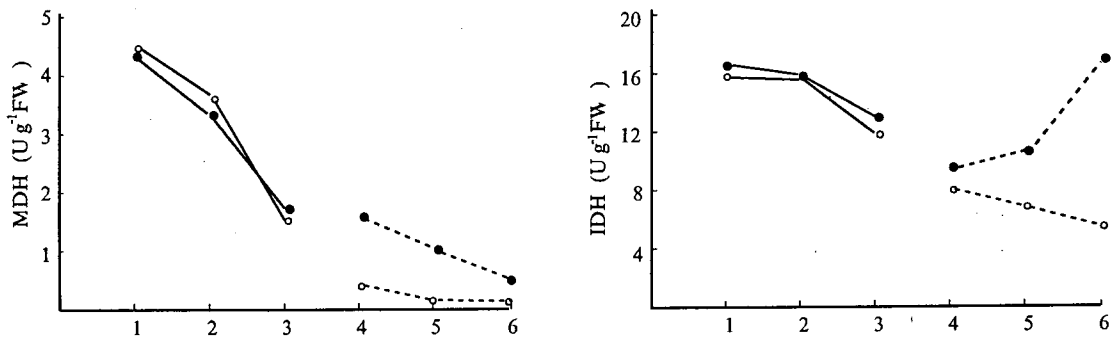


图 1 细胞质雄性不育水稻珍汕 97A 及其保持系 97B 幼穗和花药中 MDH 和 IDH 活性变化
Fig. 1 Changes in activities of MDH, IDH in young panicles and anthers of CMS rice

Zhenshan 97A and its maintainer 97B at various developmental stages

幼穗: 1. 雌雄蕊原基形成期; 2. 花粉母细胞形成期; 3. 花粉母细胞减数分裂期
花药: 4. 花粉单核期; 5. 二核期; 6. 三核期

Panicles at stages of pistil and stamen primordium formation (1), pollen mother cell formation (2), pollen mother cell meiosis (3). Anthers of pollen at uninucleate (4), binucleate (5) and trinucleate (6) stages.

—○— 不育幼穗 Steril panicle; —●— 可育幼穗 Fertile panicle;
----○---- 不育花药 Steril anther; ----●---- 可育花药 Fertile anther

活性高于花药中的活性。但随着幼穗的发育，不育系与保持系幼穗中的这两种酶活性下降。花药中唯有可育花药的 IDH 活性随花粉发育而升高，而不育花药的 MDH、IDH 活性和可育花药的 MDH 活性都随花药发育而活性下降。

2.2 戊糖途径 (PPP) 中的关键酶活性

图 2 示戊糖途径中的三种酶 G6PDH、6PGDH 和 R5PI 的活性。在花药中，从单核期到三核期，保持系的可育花药的三种酶活性都明显高于不育系的不育花药。从雌雄蕊原基形成期到花粉母细胞减数分裂期的幼穗中，保持系幼穗中三种酶活性也高于同期不育系的幼穗中的酶活性。此发育过程中的不育系和保持系幼穗的 G6PDH 和 6PGDH 活性呈下降趋势，而 R5PI 活性则随幼穗发育而呈上升趋势。随着不育花药的发育，不育花药中三种酶活性都呈下降趋势；而可育花药中除 G6PDH 随花药发育略有下降外，6PGDH 和 R5PI 活性都随可育花药的发育活性升高。

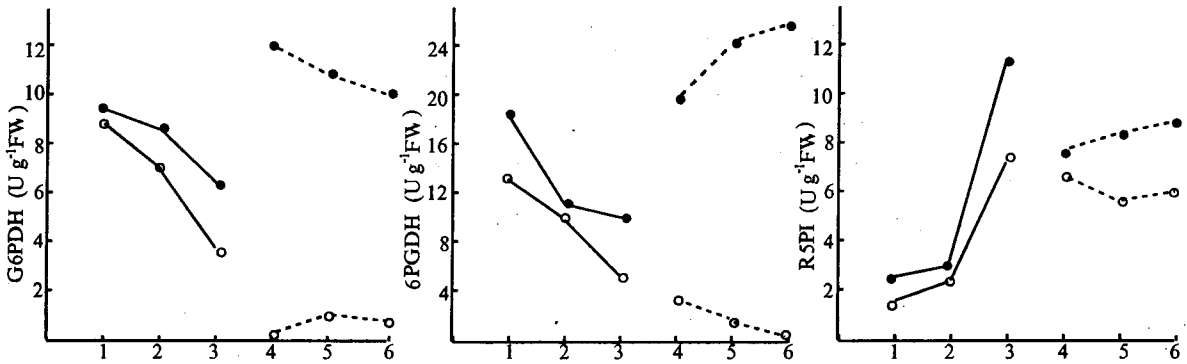


图 2 细胞质雄性不育水稻珍汕 97A 和保持系珍汕 97B 幼穗和花药的 G6PDH、6PGDH 和 R5PI 的活性变化

Fig. 2 Changes in activities of G6PDH, 6PGDH and R5PI in young panicles and anthers of CMS rice Zhenshan 97A and its maintainer 97B at various developmental stages

· 图注同图 1. Symbols and legends are as in Fig. 1

3 讨论

汤佩松^[9]曾指出“高等植物呼吸代谢在底物水平和电子传递链上存在多条途径，植物体内的代谢途径不是一成不变的，而是可以通过内因和外因的改变而改变，代谢的途径和类型是由酶活性来控制的，代谢的改变又控制着生理功能”。生殖生长阶段细胞质雄性不育水稻珍汕 97A 和保持系幼穗和花药有三羧酸循环 (TCA) 和戊糖途径 (PPP) 的几种关键酶 (图 1, 图 2) 的活性，表明水稻生殖生长阶段的幼穗和花药中存在呼吸底物降解途径的 TCA 和 PPP 循环；戴云玲等^[10]曾在水稻幼苗底物氧化水平上论证呼吸存在多条途径；因而可知水稻从营养生长期到生殖生长期的整个生育期在呼吸底物氧化水平都存在多条途径。

不育花药中 TCA 循环的 MDH 和 IDH 活性及 PPP 途径的 G6PDH、6PGDH 和 R5PI 活性都低于可育花药 (图 1, 2)，表明不育花药的呼吸代谢和底物降解途径的 TCA 和 PPP 途径的运行能力较可育花药的。然而在幼穗中，TCA 循环的关键酶在不育系与保持系间不存在差

异; 而幼穗不育系中 PPP 途径的 G6PDH 和 6PGDH 及 R5PI 活性低于保持系, 表明不育系幼穗中 PPP 途径的运转相对低于保持系。戊糖途径的生理功能^[1]主要是为其它代谢途径提供代谢底物如合成核苷酸的五碳糖, 另外在 PPP 途径中形成的 NADPH 是细胞内重要的还原能力之一。PPP 途径中经 6PGDH 脱氢形成的核酮糖 -5- 磷酸有两条去路, 一是经 R5PI 催化进行同分异构而形成核糖 -5- 磷酸, 另一条去路是经戊糖磷酸异构酶催化而形成木酮糖 -5- 磷酸。因而不育系幼穗中 PPP 途径运转的低水平, 尤其 R5PI 活性的低下, 可能造成了不育系中的核糖 -5- 磷酸不足, 而核糖 -5- 磷酸又是合成核苷酸的骨架, 从而造成不育系中核苷酸合成受阻^[2], 和不能提供足够的还原能力 NADPH^[3]。

在随幼穗和花药的发育进程中, 各种酶活性的变化趋势不尽相同, 不育花药中的酶活性一直在较低水平, 可育花药中酶活性则处于较高水平。不育系与保持系幼穗中所测定的 MDH, IDH, G6PDH 和 6PGDH(图 1, 图 2) 活性都随幼穗的发育而活性下降, 这可能由于幼穗的发育, 幼穗中谷壳所占比例的升高, 而降低了可溶性蛋白的含量有关。值得注意的是幼穗从雌雄蕊形成期发育到花粉母细胞减数分裂期的过程中, R5PI 的活性急剧升高, 这是否意味着在花粉母细胞减数分裂期的幼穗中由于减数分裂需要大量核苷酸的合成, 因而需要大量的核糖 -5- 磷酸的原故。

参考文献

- 1 Kaul M L H. Male Sterility in Higher Plants. New York: Springer-Verlag, 1988, 221
- 2 Liu X C, Dickinsen. Cytoplasmic male sterility in *Petunia hybrida*: factors affecting mitochondrial ATP export in normal and cytoplasmically male sterile plants. TAG, 1988, 76:305-310
- 3 陈贤丰, 梁承鄞. 水稻不育花药中 H₂O₂ 的积累与膜脂过氧化的加剧. 植物生理学报, 1991, 17:44-48
- 4 Musgrave M M, Antonovics J, Siedow J N. Is male-sterility in plants related to lack of cyanide-resistant respiration in tissues? Plant Science, 1986, 44:7-11
- 5 丁颖. 中国水稻栽培学. 北京: 农业出版社, 1961, 167-171
- 6 李泽炳, 肖翊华, 朱英国等. 杂交水稻的研究与实践. 上海: 上海科技出版社, 1982, 71-74
- 7 上海植物生理学会编. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科技出版社, 1985
- 8 吉尔鲍特 G G. 酶法分析手册. 上海: 上海科技出版社, 1983, 118-121
- 9 汤佩松. 高等植物呼吸代谢途径的调节控制和代谢与生理功能间的相互制约. 植物学报, 1979, 21:93-106
- 10 戴云玲等. 植物呼吸代谢的研究 V. 水稻幼苗亚细胞颗粒的氧化途径. 植物学报, 1963, 11:359-369
- 11 沈同, 王镜岩, 赵帮梯主编. 生物化学. 北京: 高等教育出版社, 1980, 457-461
- 12 朱英国, 杨代常编. 光周期敏感核不育水稻研究与利用. 武汉: 武汉大学出版社, 1992, 122
- 13 梁承鄞, 陈贤丰, 孙谷畴等. 湖北光周期敏感核不育水稻农垦 58s 花药中的某些生化代谢特点. 作物学报, 1995, 21:64-70