

籼型两用核不育系水稻育性转换过程中 可溶性蛋白质组份的变化(简报)

李美茹 刘鸿先 王以柔 李平

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

张旭 林道宣 黄农荣 孔清霓 刘彦卓

(广东省农业科学院水稻研究所, 广州 510640)

CHANGE IN SOLUBLE PROTEIN COMPONENTS IN DUAL-PURPOSE GENIC MALE-STERILE *INDICA* RICES DURING FERTILITY CONVERSION

Li Meiru Liu Hongxian Wang Yirou Li Ping

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

Zhang Xu Lin Daoxuan Huang Nongrong Kong Qingni Liu Yanzhou

(Rice Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640)

关键词 籼型两用核不育系水稻; 育性转换; 可溶性蛋白质组份

Key words *Indica* type genic male sterile rice; Fertility conversion; Components of soluble protein

中图分类号 S511.01

籼型两用核不育系水稻的育性转换是受光周期及温度所调控, 光周期和温度的变化会引起水稻一系列的生理生化特性的改变, 为此, 不少研究者通过研究光温诱导产生的生理生化等的变化与育性表达的关系来探讨两用稻的育性转换的机理。蛋白质是基因表达的稳定产物, 也是生物体内许多生理功能的执行者, 尤其是可溶性蛋白质, 它包含着许多重要生理功能的酶蛋白, 研究它们的组份在育性转换过程中的变化将可为分离和克隆光温敏核不育基因提供一条有效途径。为此, 对光敏核不育水稻的叶蛋白^[1-5]及花药蛋白质^[6-9]已有些研究, 但尚未获得共识。本研究以籼型两用核不育系水稻和常规稻梗籼 89 为材料, 研究光、温诱导下两用稻的育性转换过程中不同生育期的幼穗、花粉完熟期的颖花和花药中可溶性蛋白质组份的变化与育性的关系, 为探讨两用稻育性转换机理, 分离光温敏核不育基因提供依据。

1 材料和方法

供试材料 籼型两用核不育系水稻 GD1S (广东省农业科学院水稻研究所培育) 和 N19S (华南农业大学培育)、常规稻梗籼 89, 采用分期播种、大田小区栽植, 田间管理按常规方法, 依靠自然条件的长日高温获得败育植株, 短日低温获得可育株, 以花粉可育度及自交结实率来检测育性。分别在雌雄蕊形成期(IV)、花粉母细胞减数分裂期(VI)、花粉完熟期

(VII) 取颖花和花药, 同时取同期播种的粳籼 89 作对比试验。

可溶性蛋白质的提取 水稻样品加一定量的 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH7.8) 研磨匀浆后, 于 $1600 \times g$ 下离心 20 min, 上清液作蛋白质分析用。

蛋白质含量测定 采用考马斯亮蓝法。

蛋白质电泳 PAGE 电泳按胡能书等^[10]方法; 等电聚焦电泳 (IEF) 用宋晓轩等^[11]方法略加修改, 电泳缓冲液改用阴极为 0.02 mol/L 的 NaOH, 阳极为 0.01 mol/L 的 H_3PO_4 。蛋白质用银染, 按蔡晓丹等^[12]方法。染色后, 凝胶板用岛津 CS-910 薄层扫描仪扫描, 扫描波长为 540 nm。

2 实验结果

2.1 不同光周期影响下水稻幼穗中可溶性蛋白质组份的 PAGE 分析

PAGE 扫描图出现有 16 条蛋白带, 这些蛋白带在光周期和温度的影响下, 在不同生育期的变化各有异同。图 1 可看出, 花粉完熟期的花药中蛋白带 5 在长日高温下的两用稻均明显大于常规稻粳籼 89 (图 1:I), 而在短日低温下转为可育态时 (图 1:II), 此差异明显减少。蛋白带 1, 2 在败育的 GD1S 和 N19S 中低于粳籼 89, 而在可育状态时则与粳籼 89 类似, 这 3 条带的以上变化规律同样出现在花粉完熟期的颖花 (未列出) 和花粉母细胞减数分裂期的幼穗的可溶性蛋白质组份中 (未列出), 花药与颖花中这种差异更加明显些。颖花的可溶性蛋白组份与花药的不同

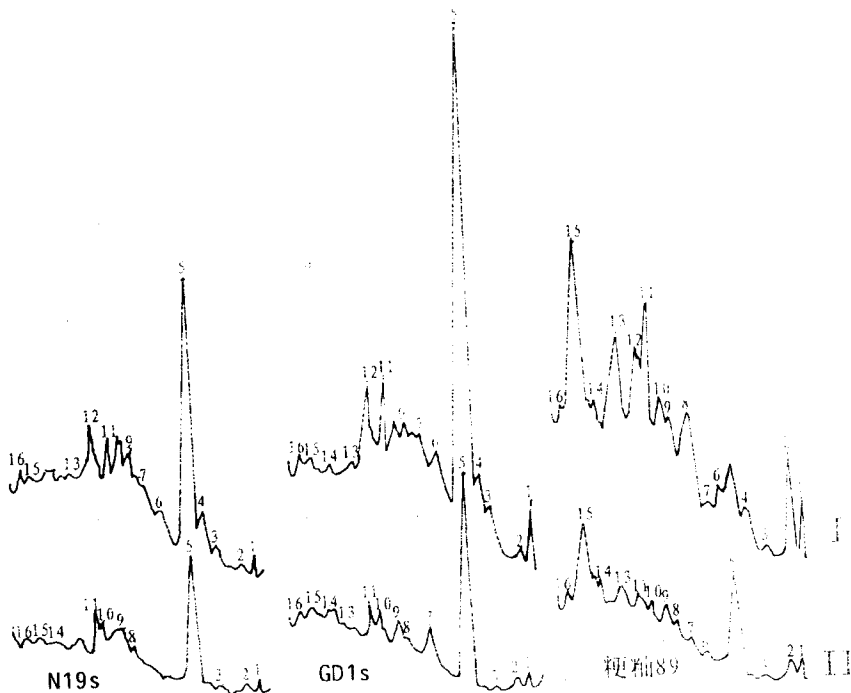


图 1 长日高温 (I) 和短日低温 (II) 下花粉完熟期的花药可溶性蛋白质的 PAGE 光密度扫描图

Fig. 1 PAGE densitometric scanning of soluble protein in anthers at pollen ripening stage under long daylength with high temperature (I) or short daylength with low temperature (II)

处是败育的 GD1S 和 N19S 的蛋白带 9、10 量明显高于粳籼 89, 而当它们转为可育时, 其含量接近粳籼 89 (未列出), 蛋白带 9、10 的变化规律亦存在于花粉母细胞减数分裂期 (未列出) 和雄蕊形成期的幼穗 (未列出) 的可溶性蛋白质组份中, 只是这两个时期的差异不太明显。

2.2 不同光周期影响下水稻幼穗中可溶性蛋白质组份的 IEF 分析

对 PAGE 分析的水稻样品, 再进行了 IEF 的分析, 试图以 IEF 实验结果表现出来的差异来区分可溶性蛋白质组份, 探索两用稻育性转换过程中的相关蛋白组份。从图 2:I 可看出: 两用稻 GD1S 和 N19S 呈败育状态时, 花粉完全成熟的花药中 PI5.0-6.6 的这组蛋白质含量大, 且明显大于常规稻粳籼 89; 当转为可育状态时 (图 2:II), 这组蛋白质在可溶性蛋白质组份中的含量减少, 此时在 GD1S 中的该蛋白量是低于粳籼 89, 而 N19S 的明显少于粳籼 89。相反 PI 8.3-8.7 这组蛋白质在可育花药中明显大于在败育的花药中, 而且该组蛋白质在可育花药 (GD1S) 中接近 PI5.0-6.6 的蛋白量, 于 N19S 中还高于 PI5.0-6.6 的蛋白量, 这种现象在花粉完全成熟的颖花中 (未列出) 有类似的规律, 只是 PI5.0-6.6 组份在败育颖花中略大于粳籼 89, 当两用稻育性转为可育时, 尽管同样地该组蛋白含量有所减少, 但仍大于粳籼 89, PI8.3-8.7 的组份在可育的 GD1S 和 N19S 颖花中亦比不育时有所增加而大于粳籼 89。花粉母细胞减数分裂期的幼穗中 (未列出) 与花药一样, PI5.0-6.6 这组蛋白在转为可育时有所减少及 PI8.3-8.7 这组蛋白有增加但不显著。雌雄蕊形成期 (未列出) 的幼穗中 IEF 图谱与花药不同, 无此变化规律。

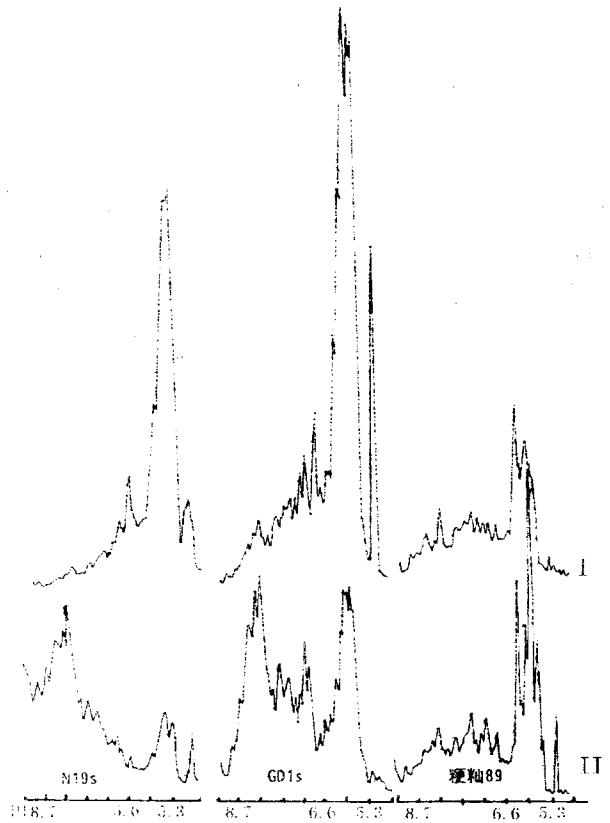


图 2 长日高温 (I) 和短日低温 (II) 下花粉成熟期的花药可溶性蛋白质的 IEF 光密度扫描图

Fig. 2 IEF densitometric scanning of soluble protein in anthers at pollen ripening stage under long daylength with high temperature (I) or short daylength with low temperature (II)

3 讨论

籼型两用核不育系水稻的育性转换受光周期和温度的双重调控, 分析光温诱导育性转换过程中基因表达产物—蛋白质的变化, 找出相关的特异蛋白, 就有可能进行分离光、温敏核不育基因, 这是探明两用稻育性转换机理的有效途径, 因此, 光周期调节与育性转换有直接关系的特异蛋白的研究引起了广泛的注意。有认为叶片是光周期的接受器官, 一些研究者^[1-4]对叶片

的蛋白质组份进行了研究, 刘学群等^[5]亦分析了不同性质的蛋白质, 获得了一些与光周期调节育性转换有关的蛋白组份。另一些研究者^[7-9]着重研究了育性表达的直接部位—花药的特异蛋白在光周期调节下的变化, 找到了一些与育性转换相关的蛋白, 他们发现这些特异蛋白的分子量较小, 但不相同。黄庆榴等^[8]还发现在品种之间这些特异蛋白的种类亦存在差异。以籼型光温敏核不育系水稻为研究对象者的报道尚少, 为此, 我们采用了籼型光温敏核不育系水稻 GD1S 和 N19S 为材料, 与常规粳籼 89 作对比, 采集不同生育期的幼穗、花粉完熟期的颖花和花药, 进行 PAGE 和 IEF 分析可溶性蛋白质组份的变化。APGE 扫描图表明: GD1S 和 N19S 育性转换时蛋白带 5, 1, 2 和 9, 10 (图 1) 的量发生有规律的变化, 且在几个生育期中都有共同之处, 只是花粉完熟期的花药及颖花中与粳籼 89 的差异较大。IEF 分析中显示在败育的 GD1S 和 N19S 中 PI 5.0—6.6 的这组蛋白质组份在花粉完熟期的颖花和花药的可溶性蛋白质组份中占较高的含量, 且大大高于粳籼 89, 相反 PI 8.3—8.7 这组蛋白在败育的 GD1S 和 N19S 中含量较少, 当育性转为可育时则明显增加且大于粳籼 89 (图 2)。众所周知, 可溶性蛋白质组份往往是生理功能上起重要作用的蛋白质, PAGE 分析中蛋白带 5, 9, 10 以及 IEF 分析中的 PI 5.0—6.6 的蛋白组份似乎与败育有关, 而 PI 8.3—8.7 的增加呈可育; 从生育期看, 与育性转换相关蛋白质的表达在花粉完熟期的颖花和花药, 或花粉母细胞减数分裂期的幼穗中较为明显, 根据本实验结果可看出: 两用稻生殖器官尤其是花药中可溶性蛋白组份在育性转换中变化显著, 这些蛋白组份的变化与育性的表达密切相关, 与败育表达相关的蛋白组份是分子量较小的 (图 1 中的谱带 5, 9, 10), 其等电点在 PI 5.0—6.6 之间的蛋白组份。为此, 我们认为探索光周期和温度对籼型两用核不育系水稻育性转换机理, 对这些蛋白组份的功能及其相关基因的研究值得深入。

参考文献

- 1 王台. 光周期诱导 HPGMR 叶蛋白变化的研究. 华中农业大学学报, 1990, 9(4):369—374
- 2 王台, 童哲. 光周期敏感核不育水稻叶绿体的特异性蛋白质. 植物学报, 1992, 34(6):426—431
- 3 王志强, 肖翎华, 刘文芳. 光周期诱导的光敏核不育水稻农垦 58s 叶蛋白变化及其效应研究. 遗传, 1991, 13(5):1—3
- 4 毕学知, 肖翎华, 刘文芳. PGMR 育性转换敏感期叶片蛋白质的双向电泳研究. 肖翎华主编. 光敏核不育水稻的光周期及其生理学. 武汉: 武汉大学出版社, 1993, 93—102
- 5 刘学群, 王春台, 蔡敏等. 不同光周期诱导条件下 PGMR 生长发育中、后期叶片核酸及蛋白质含量的变化分析. 肖翎华主编. 光敏核不育水稻的光周期及其生理学. 武汉: 武汉大学出版社, 1993, 118—126
- 6 肖翎华. 光周期与光敏核不育水稻雄性不育的生理学调控及其利用展望. 肖翎华主编. 光敏核不育水稻的光周期及其生理学. 武汉: 武汉大学出版社, 1993, 1—19
- 7 黄庆榴, 唐锡华, 茅剑蕾. 籼型光敏核不育水稻 700IS 光温反应特性与花粉育性转换及其过程中花药蛋白质的变化. 作物学报, 1994, 20:156—160
- 8 黄庆榴, 唐锡华, 茅剑蕾. 温度对温敏核不育水稻花粉育性与花药蛋白质的影响. 植物生理学报, 1996, 22(1):69—73
- 9 曹以成, 付彬英, 王明令等. 光敏核不育水稻蛋白质双向电泳的初步研究. 武汉大学学报, 两用稻专刊, 1987, (7):73—80
- 10 胡能书, 万国贤编. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985, 104—112
- 11 宋晓轩, 朱荷琴, 邢金松. 棉花叶片过氧化物同工酶等电聚焦电泳分析. 植物生理学通讯, 1995, 31(1):45—47
- 12 蔡晓丹, 王理开, 徐晓利. 一种改良的蛋白质双向电泳银染色法. 生物化学与生物物理进展, 1986, (3):66—68