

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*

黄雪清 高东迎 杨安南 孙立华 张金渝

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理研究所, 江苏南京 210014)

提 要 在幼穗发育的雌、雄蕊形成期, 用化学杀雄剂Ⅲ号 (30 mg/m^2) 处理水稻后, 研究其幼穗、颖花、花药中蛋白质和核酸的代谢特点。在处理后的第 5 天的幼穗中, 核酸和蛋白质含量明显低于对照, 而相应水解酶活性明显高于对照。随幼穗发育, 这种特点越来越显著, 至处理后第 15 天, 花药中核酸总量、DNA、RNA 含量和蛋白质含量比对照低 40% 以上, 而相应水解酶活性比对照高达 46% 以上。这些结果显示化学杀雄剂Ⅲ号处理能使核酸和蛋白质严重匮乏, 这可能是诱导水稻雄性不育的生化基础。

关键词 水稻; 化学杀雄剂; 雄性不育; 核酸; 蛋白质

Metabolism of Nucleic Acid and Protein in the Anther, Spikelet and Young Panicle of Rice (*Oryza sativa*) after Treatment with Chemical Hybridizing Agent III

HUANG Xue-Qing GAO Dong-Ying YANG An-Nan SUN Li-Hua ZHANG Jin-Yu

(Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract The metabolism of nucleic acid and protein in anther, spikelet and young panicle of rice was studied after Zhendao 88 (*japonica*) and HX-3 (*indica*) were sprayed with Chemical Hybridizing Agent III (CHA III) at the stamen and pistil primordia formation stage. At the 5th day after treatment, the contents of protein, DNA and RNA in the young panicles of the treated materials were obviously lower than those of the control, while the related enzyme (proteinase, DNase and RNase) activities were higher. With the development of young panicle, these features were more pronounced. At the 15th day after treatment, the contents of nucleic acid and protein in treated anthers were 40% lower than those of the control and the related enzyme activities were 46% higher. These results suggested that the enhanced enzyme activities of proteinase, DNase and RNase and lower contents of nucleic acid and protein caused by the application of CHA III might be the reason of the induced male sterility in rice.

Key words Rice; Chemical hybridizing agent; Male sterility; Nucleic acid; Protein

化学杀雄剂Ⅲ号 (CHA III) 是江苏省农业科学院遗传生理研究所筛选出的一种吡喃酮类

* 本研究由江苏省应用基础项目 (BJ97130) 资助。
收稿日期: 2000-04-13, 接受日期: 2000-10-07
Received on: 2000-04-13, Accepted on: 2000-10-07

衍生物,对水稻不同品种具有良好、稳定的杀雄效果^[1],在杂交水稻生产上具有很大应用潜力。

以前,人们从同工酶以及细胞形态学角度对化学杀雄剂诱导雄性不育的机理进行了探讨^[2],但有关化学杀雄诱导雄性不育的生理生化特点报道较少,特别是关于化学诱导水稻雄性不育与生命信息大分子化合物代谢的关系未见报道。本文研究了化学杀雄剂III号处理水稻后,在幼穗发育的不同时期,幼穗及花药中核酸、蛋白质代谢的特点,进一步探讨了核酸和蛋白质代谢与雄性不育发生的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为镇稻 88(*japonica*)和 HX-3(*indica*),按常规方法进行播种,移栽及管理,每个品种(系)种植 2 个小区,每小区 10m²,一个小区为 CHA III 处理,另一个小区为对照。

1.2 处理

于水稻幼穗发育的雌、雄蕊形成期(IV期)(按叶龄指数和手工剥检确定,幼穗发育时期按丁颖^[3]的方法划分),叶面喷洒化学杀雄剂III号,用药量为 30 mg/m²,用水量为 300 mL/m²,对照喷等量清水。于抽穗时(开花扬花前)用半透明硫酸纸袋每小区单穗套袋 30 穗。成熟时收取套袋稻穗考种,以自交结实率的高、低评价杀雄效果。

1.3 取样

于处理后 2 天、5 天、10 天、15 天取样进行生化测定,对照植株同步取样。处理后第 2 天取生长锥,每份材料 0.2g,处理后第 5 天取整个幼穗,剪去顶端和基部各 1/3,每份材料 0.5g,处理后第 10 天取穗中部颖花,每份 0.5g,处理后第 15 天取水稻花药,每份 0.2g,每个样品重复取样 30 份,迅速置入-20℃ 冰箱保存待用。

1.4 样品测定

1.4.1 蛋白质含量测定 按 Bradford^[4]的方法测定,以牛血清白蛋白作标准。

1.4.2 核酸含量测定 按朱治平^[5]的方法,核酸总含量($\mu\text{g}/\text{mL}$) = $0.0629A_{260} - 0.036A_{280}$,DNA 含量用二苯胺法测定,RNA = 核酸总量 - DNA 含量。

1.4.3 蛋白水解酶活性测定 按吴光南等^[6]的方法。

1.4.4 核糖核酸酶活性测定 按戴秋杰等^[7]的方法,以 $0.1 A_{260}$ 为一个活性单位。

1.4.5 脱氧核糖核酸酶活性测定 按吴登如等^[8]的方法,以 $0.1 A_{260}$ 为一个活性单位。

2 实验结果

2.1 化学杀雄III号诱导水稻雄性不育的效果

表 1 结果表明,与对照相比,经药剂处理的镇稻 88 和 HX-3 自交结实率分别下降 89.5 和 91.6 个百分点,可见化学杀雄剂III号具有显著的诱导水稻雄性不育的效果。

2.2 化学杀雄剂III号处理后,水稻幼穗发育进程中幼穗及花药蛋白质含量

由表 2 结果看出,水稻花药中蛋白质含量高于幼穗中含量,化学杀雄剂III号处理后,随幼穗发育进程,蛋白质含量较正常植株明显低,处理后第 10 天镇稻 88 的颖花中蛋白质含量比对照低 34.59%,HX-3 比对照低 39.67%,在处理第 15 天的花药中差异最大,镇稻 88 和 HX-3 分别比对照低 50.93% 和 56.84%。

2.3 蛋白水解酶活性变化

图1表明, 化学杀雄剂III号处理后, 蛋白水解酶活性均比对照高, 在处理后的第5、10、15天的幼穗、颖花、花药中, 镇稻88比对照高12.20%、29.54%和54.09%; HX-3比对照高9.89%、35.01%和58.79%。

2.4 化学杀雄剂III号处理后, 水稻幼穗发育进程中核酸含量的变化

由表3结果看出, 化学杀雄剂III号处理后, 核酸总

表2 化学杀雄剂III号处理后, 水稻幼穗发育不同时期各组织蛋白质含量

Table 2 The protein contents in various tissue during development after treated with CHA III (mg g⁻¹ FW)

材料 Materials		发育时期 Development stage			
		A	B	C	D
镇稻88	CK	68.42 ± 3.5	45.79 ± 2.9	38.62 ± 3.6	98.66 ± 3.8
Zhendao 88	Treatment	67.38 ± 4.2	37.50 ± 3.4	25.26 ± 2.6	48.41 ± 2.9
HX-3	CK	60.31 ± 2.8	40.28 ± 2.6	35.57 ± 2.7	81.76 ± 5.6
	Treatment	61.25 ± 1.9	35.19 ± 3.1	21.46 ± 1.5	35.29 ± 4.1

A: 生长锥 Growth tip, B: 幼穗 Young panicle, C: 颖花 Spikelet, D: 花药 Anther.

A、B、C、D、分别指处理后2、5、10、15天的各组织

A、B、C、D indicate various treated tissues after 2、5、10、15 days respectively.

DNA 含量两品种分别比对照低42.67%和40.91%, RNA 含量比对照低43.37%和40.46%。

2.5 核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶活性变化

图2和图3表明, 化学杀雄剂III号处理后, 核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶活性均比对照高。处理后第10天的颖花中, 镇稻88和HX-3两个品种(系)的核糖核酸酶活性分别比对照高29.09%和30.40%, 脱氧核糖核酸酶活性分别比对照高30.35%和37.14%, 在处理后的第15天的花药中, 差异最为显著, 两个品种的脱氧核糖核酸酶活性分别比对照高46.14%和50.88%, 核糖核酸酶活性分别比对照高54.92%和53.47%。

3 讨论

信息大分子化合物(核酸和蛋白质)是

表1 化学杀雄剂III号诱导水稻雄性不育的效果

Table 1 The effect of CHA III on male sterility in rice

材料 Materials		自交结实率 Self fertility
镇稻88	CK	89.6 ± 8.5
Zhendao 88	Treatment	0.1 ± 0.1
HX-3	CK	92.1 ± 7.9
	Treatment	0.5 ± 0.1

量、DNA 和RNA 含量均比对照低。在处理后的第10天的颖花中, 镇稻88和HX-3两品种(系)的核酸总量分别比对照低33.94%和33.67%, DNA 比对照低31.82%和31.58%, RNA 比对照低34.88%和34.18%。在处理后的第15天的花药中差异最为明显, 核酸总量镇稻88比对照低44.27%, HX-3比对照低40.85%,

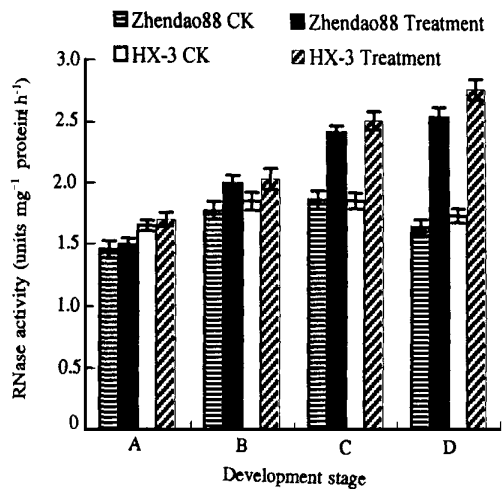


图1 化学杀雄剂III号处理后, 水稻幼穗发育不同时期各组织中蛋白水解酶活性变化

Fig. 1 The dynamic changes of proteinase activity in various tissues during development after treated with CHA III

表 3 化学杀雄剂Ⅲ号处理后, 水稻幼穗发育不同时期各组织核酸含量

材料 Materials		发育时期 Development stage					
		A			B		
		总量 Total	DNA	RNA	总量 Total	DNA	RNA
镇稻 88 Zhendao 88	CK	3.18 ± 0.15	0.63 ± 0.05	2.52 ± 0.12	2.12 ± 0.13	0.43 ± 0.05	1.69 ± 0.09
	Treatment	3.01 ± 0.12	0.62 ± 0.06	2.39 ± 0.09	1.58 ± 0.08	0.32 ± 0.03	1.26 ± 0.06
HX-3	CK	2.96 ± 0.08	0.59 ± 0.04	2.37 ± 0.11	1.85 ± 0.09	0.37 ± 0.04	1.48 ± 0.06
	Treatment	2.87 ± 0.07	0.56 ± 0.06	2.31 ± 0.06	1.27 ± 0.06	0.26 ± 0.02	1.01 ± 0.05

材料 Materials		发育时期 Development stage					
		C			D		
		总量 Total	DNA	RNA	总量 Total	DNA	RNA
镇稻 88 Zhendao 88	CK	1.09 ± 0.08	0.22 ± 0.03	0.87 ± 0.05	3.84 ± 0.15	0.75 ± 0.04	3.09 ± 0.12
	Treatment	0.72 ± 0.05	0.15 ± 0.05	0.57 ± 0.03	2.14 ± 0.11	0.43 ± 0.04	1.75 ± 0.08
HX-3	CK	0.98 ± 0.04	0.19 ± 0.03	0.79 ± 0.04	3.28 ± 0.15	0.66 ± 0.05	2.62 ± 0.10
	Treatment	0.65 ± 0.05	0.13 ± 0.04	0.52 ± 0.04	1.94 ± 0.09	0.39 ± 0.04	1.55 ± 0.07

A: 生长锥 Growth tip, B: 幼穗 Young panicle, C: 颖花 Spikelet, D: 花药 Anther.

A、B、C、D 分别指处理后 2、5、10、15 天的各组织。

A、B、C、D indicate various treated tissues after 2、5、10、15 days respectively.

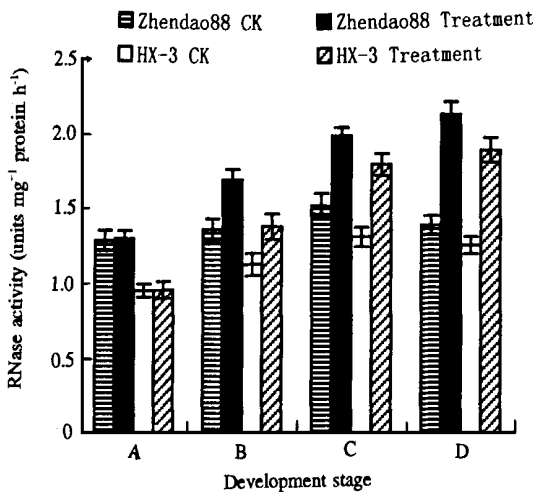


图 2 化学杀雄剂Ⅲ号处理后, 水稻幼穗发育不同时期各组织中 DNA 水解酶活性变化

Fig. 2 The dynamic changes of DNase activity in various tissues during development after treated with CHAⅢ

影响植物生长最重要的物质。它们的变化对于细胞的分化和器官形成有着重大影响^[9]。陈建明等^[10]对 T 型和太谷核雄性不育小麦花药发育各期的核酸含量进行比较, 发现可育花药核酸含量随花药的花育而逐渐增加。不育花药核酸含量的下降和花药停止生长相一致。谢学良等^[14]研究发现, 用乙烯利和均三嗪二酮诱导小麦雄性不育, 均是致使小麦雄蕊中核酸(DNA、RNA)、蛋白质的代谢受到阻碍与抑制。黄厚哲等^[11]报道, 水稻细胞质雄性不育花药可溶性蛋白含量随不育度的加深而下降, 不育系仅为保持系的 18% ~ 24%。黄庆榴等^[12]也报道, 粳型光敏核不育水稻 7001s 在育性转换过程中可育的花药可溶性蛋白质含量高于不育的, 蛋白质组分也有变化。李平等^[13]

用两用核不育系水稻培矮 64 和常规稻粳粳 89 为材料, 发现培矮 64S 的可溶性蛋白含量比粳粳 89 普遍较低, 尤以花粉成熟期的颖花与花药中的可溶性蛋白含量差异为明显。本文结果表明: 化学杀雄剂Ⅲ号诱导水稻雄性不育过程中, 核酸和蛋白质含量明显低于对照。这说明核酸和蛋白质代谢异常在植物雄性不育中具有普遍性。

化学杀雄剂III号处理水稻后, 核酸总量、DNA、RNA 含量和蛋白质含量的下降还预示着与核酸、蛋白质代谢密切相关的聚合酶及水解酶活性也受化学杀雄剂III号的影响。研究结果表明, 化学杀雄剂III号处理后, 脱氧核糖核酸酶、核糖核酸酶和蛋白水解酶活性增强, 加速了DNA、RNA 及蛋白质的水解。这与逆境胁迫下, 其他一些植物中的研究结果基本相吻合^[15~17]。邓继新等^[18]研究湖北光周期敏感核不育水稻 105S 花粉发育期的DNA、RNA 及蛋白质的合成动态, 发现长日诱导的 105S 花药在花粉发育过程中核酸及蛋白质的合成活性一直很低, 无明显峰值。由此可见, 化学杀雄剂III号诱导水稻雄性不育过程中核酸和蛋白质代谢的异常可能是对其分解和合成两方面综合影响的结果, 但这还需从DNA 转录及蛋白质合成方面进一步研究证实。

根据上述结果分析, 我们推测化学杀雄剂III号处理水稻后, 幼穗发育中核酸、蛋白质等物质合成受阻, 同时与蛋白质、核酸代谢密切相关的水解酶活性增加, 分解远远大于合成, 最终核酸和蛋白质等信息大分子严重匮乏, 进而影响各种生理生化代谢, 从而致使水稻雄性不育。

参 考 文 献

- 1 黄雪清, 杨安南, 周月兰, 张金渝 江苏农业学报, 1999, 15(1): 17~ 20
- 2 徐汉卿, 廖廪麟 作物学报, 1981, 7(3): 195~ 200
- 3 丁颖 中国水稻栽培学 北京: 农业出版社, 1961: 81~ 83
- 4 Bradford M M. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248~ 254
- 5 朱治平 植物组织中核酸含量的测定 见: 薛应龙, 夏镇澳主编, 植物生理学实验手册, 上海: 上海科技出版社, 1985, 44
- 6 吴光南, 刘宝仁, 张金渝 江苏农业学报, 1985, 1(1): 1~ 10
- 7 戴秋杰, 汪宗立 江苏农业学报, 1988, 4: 31~ 35
- 8 吴登如, 赵毓橘 植物生理学报, 1993, 19(1): 49~ 52
- 9 Farkas G L. *Nucleic Acids and Proteins in Plants* Vol II. Springer-Verlag, Berlin 1982 224~ 262
- 10 陈建明, 秦泰辰 江苏农业学报, 1989, 5(4): 14~ 19
- 11 黄厚哲, 楼士林, 王候聪等 厦门大学学报(自然科学版), 1984, 23(1): 82~ 98
- 12 黄庆榴, 唐锡华, 茅剑蕾 作物学报, 1994, 20(2): 156~ 160
- 13 李平, 刘鸿先, 王以柔等 中国水稻科学, 1997, 11(2): 83~ 88
- 14 谢学民, 张全德, 张勤争 浙江农业大学学报, 1985, 11(1): 41~ 47
- 15 张惠, 汪沛洪 植物生理学报, 1991, 17: 259~ 263
- 16 Dave IC, S Kannan. *Z pflanzenphysiol*, 1980, 97: 261~ 265
- 17 王震宇, 沈康, 张福锁 植物生理学报, 1995, 21(2): 189~ 194
- 18 邓继新, 刘文芳, 肖翊华 武汉大学学报(自然科学版), 1992, 3: 85~ 88

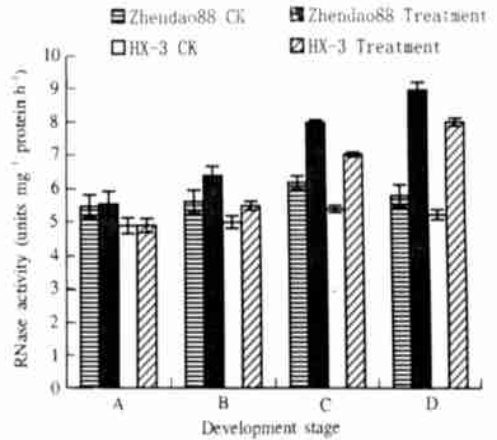


图3 化学杀雄剂III号处理后, 水稻幼穗发育不同时期各组织中RNA 水解酶活性变化

Fig. 3 The dynamic changes of RNase activity in various tissues during development after treated with CHA III