

研究
简报

温敏感不育水稻育性敏感期核糖核酸酶的变化^X

舒孝顺¹ 陈良碧² 吕金海¹

¹怀化师范高等专科学校生物系K湖南怀化K418008M²湖南师范大学生物系K湖南长沙K410081G

Activity Changing of RNase in the Thermo-sensitive Genic Male Sterile Indica Rice during Fertility-sensitive Period

SHU Xiaoshun¹ CHEN Liangbi² LÜ Jinhai¹

@Department of Biology YHuaier Normal College YHuaier 418008 [²Department of Biology YHunan Normal University YChangsha Y410081S

1973年石明松发现了湖北光敏感核不育水稻K:两用F不育系种质的发现为:两系法F杂交水稻奠定了基础L随着不育材料的增多K人们研究发现P 籼型与粳型不育系基因表达条件存在很大的差别L杨振玉等人的研究认为P 籼型受光、温配合作用且温度尤为主导因素^[1]L孙宗修等对籼型5460不育系的研究结果认为P 该不育系属于温敏雄性不育^[2]L据报道P 对日本水稻品种黎明辐射的M₅代株系选出的材料K进行光、温诱导试验的结果K证明该材料的育性转换主要受控于温度K特别是夜温L陈良碧教授等人的研究表明PN 210SKN 213S 属较低温度不育、较高温度可育类型K安农 S21、W 7415S 属较高温度不育、较低温度可育类型K在人工短日、人工高温;31 °C下的花粉可染率分别是76.2%、82.7%、78.7%、38.4% K结实率分别是1.4%、1.1%、0.0% K结实率都为0^[3]L关于温敏不育材料的生理生化变化报道较少L本文以常规品种特青、紫壳作对照K对温敏不育材料N 210S、N 213S、安农 S21、W 7415S 的RNase 活性及RNA、游离UMP、可溶性蛋白质含量进行了比较分析L

1 材料及方法

1.1 材料

常规品种特青、紫壳、温敏感不育材料N 210S、N 213S、安农 S21、W 7415S; *Oryza sativa* L. subsp. *indica* L.

1.2 方法

1.2.1 材料的培育 紫壳、特青、N 210S、N 213S、安农 S21、W 7415S 于1992年4月20日、5月5日、6月20日分3批播种K待秧苗长到4~5叶时移栽K常规肥水管理K育性敏感期以前K置于人工气候箱K分两组P 一组光照长度12h、日温31 °C、夜温28 °C 另一组光照12h、日温24 °C 夜温22 °C L 育性敏感期按丁颖划分法K解剖幼穗确定K于花粉母细胞形成期和花粉母

X 国家自然科学基金课题;项目名称P 温敏不育水稻雄性不育生理机制及育性人工调控K编号P 39370078G

收稿日期P 1998201223K接收日期P 1999206214

© 1995-2005 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

细胞减数分裂期分别取样——幼穗和叶片;每次上午9:00左右取样K叶片取第一全展叶L

1.2.2 核糖核酸酶;RNaseG活性测定 取材料0.25g加1 mL 0.02 mol/L 磷酸缓冲液; pH7.0G其余部分按张静兰等人的方法进行提取K用M 750A 型多功能紫外可见分光光度计;国营东方仪器厂G于260 nm 处进行测定^[4]K每一数据为3个样品所测得酶活力的平均值K一个核糖核酸酶单位; uniteG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K酶活力以每 g 干样所含的RNase 酶量来表示K即 unite/g DW L

1.2.3 RNA 含量的测定 RNA 的提取和测定按照北大生化实验指导^[5]所叙方法K取样量为0.5gKRNA 的测定;地衣酚反应 OrcineIGRNA 含量以每 g 干样所含的RNA mg 数表示K单位为mg/g DW L 每一数据为3个样品所测得含量的平均值L

1.2.4 游离UMP 含量的测定 取材料0.5g加1 mL 0.6M 冷过氯酸匀浆、提取和测定按杨建军等人的方法进行^[6]K点样量20 μ L K用M 750A 型多功能紫外光可见分光光度计测A 260K含量用每 g 干重所含的游离UM Pmg 数表示K单位mg/g DW L

1.2.5 可溶性蛋白质含量的测定 称取材料0.25gK可溶性蛋白质提取液按Nugon^[7]方法制备K含量测定按李琳等人方法进行K以牛血清蛋白作标准曲线K含量以每 g 鲜重样品所含可溶性蛋白质的mg 数表示K单位为mg/g FW L

2 结果分析

2.1 幼穗中 RNase 活性及 RNA、游离UMP、可溶性蛋白质含量的变化

在花粉母细胞形成期P 常规品种特青、紫壳的RNase 活力KRNA、游离UMP、可溶性蛋白质的含量在31 和24 条件下都很相近;表1GK统计学检验表明没有显著差别L但温敏不育材料N 210SK不育条件下RNase 活力、游离UMP 含量分别是可育条件下的3.37倍、3.25倍K而RNA 及可溶性蛋白质含量却只有可育条件下的42.6%、44.0% K统计学检验表明K两者差异达到极显著水平MN 213S 不育条件下的RNase 酶活力、游离UMP 含量分别是可育的3.66倍、3.47倍K而RNA、可溶性蛋白质含量却只有可育条件下的42.4%、45.1% K统计学检验表明K两者差异也达到极显著水平L温敏不育材料安农 S21K不育条件下RNase 活力、UMP 含量分别是可育条件下的3.29、3.08倍K而RNA 及可溶性蛋白质含量却只有可育条件下的45.3%、45.8% MW 7415SK不育条件下RNase 活力、UMP 含量分别是可育条件下的3.43、3.17倍K而其RNA 及可溶性蛋白质含量却只有可育条件下的43.0%、42.7% K经统计学检验表明K以上各指标在不同育性条件下的差异极显著L

在花粉母细胞减数分裂期P 特青、紫壳在31 和24 两个温度条件下RNase 活性及RNA、游离UMP、可溶性蛋白质含量都很接近;表1GK统计学检验表明K两者没有显著差异L而N 210S 在不育条件下RNase 活力、游离UMP 含量分别是可育条件下的3.61倍、3.78倍K而RNA 及可溶性蛋白质含量分别只有可育条件下的46.1%、35.7% K统计学检验表明K两者差异达到极显著水平MN 213S 在不育条件下的RNase 酶活力、游离UMP 含量分别是可育的3.67倍、3.71倍K而RNA 及可溶性蛋白质的含量分别只有可育条件下的40.0%、42.6% K经统计学检验K两者差异也达到极显著水平L安农 S21K不育条件下RNase 活力、UMP 含量分别是可育条件下的3.73、3.76倍K而其RNA 及可溶性蛋白质含量却只有可育条件下的40

1%、33.2% MW 7415SK 不育条件下 RNase 活力、UMP 含量分别是可育条件下的3.69、3.74 倍K 而其 RNA 及可溶性蛋白质含量却只有可育条件下的40.7%、32.4% K 经统计学检验表明K 以上各指标在不同育性条件下的差异极显著L

表1 幼穗中 RNase 活性及 RNA、游离 UMP、可溶性蛋白质含量
Table 1 the activity of RNase and concentration of RNA, UMP and Protein-soluble in the anther

| | 31 °C | | | | | 24 °C | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------|------------|-----------|-----------|---|--------------|------------|-----------|-----------|---|-------|-------|
| | 特青 TeQing | 紫壳 ZiKe | N2 10S | N2 13S | 安农 S ⁻¹ W 7415S Annong S ⁻¹ | 特青 TeQing | 紫壳 ZiKe | N2 10S | N2 13S | 安农 S ⁻¹ W 7415S Annong S ⁻¹ | | |
| 花粉母细胞形成期 Microsporocyte genesis | | | | | | | | | | | | |
| RNase ; uniteög DW G | 69.80 | 63.10 | 62.50 | 59.70 | 208.10 | 218.20 | 66.10 | 64.20 | 210.70 | 215.40 | 63.20 | 61.20 |
| UMP ; mgög DW G | 0.68 | 0.62 | 0.64 | 0.61 | 2.00 | 2.03 | 0.66 | 0.63 | 2.08 | 2.12 | 0.65 | 0.64 |
| RNA ; mgög DW G | 16.09 | 16.40 | 17.90 | 17.73 | 7.70 | 7.65 | 15.25 | 16.20 | 7.62 | 7.44 | 17.00 | 17.80 |
| Protein2soluble ; mgög FW G | 15.70 | 16.10 | 12.45 | 12.12 | 5.45 | 5.30 | 15.30 | 16.30 | 5.34 | 5.20 | 11.90 | 12.40 |
| 花粉母细胞减数分裂期 Microsporocyte genesis | | | | | | | | | | | | |
| RNase ; uniteög DW G | 75.20 | 73.60 | 71.40 | 73.20 | 251.10 | 260.20 | 68.20 | 67.00 | 261.50 | 268.60 | 67.40 | 70.50 |
| UMP ; mgög DW G | 0.73 | 0.72 | 0.69 | 0.71 | 2.48 | 2.58 | 0.67 | 0.68 | 2.59 | 2.64 | 0.66 | 0.69 |
| RNA ; mgög DW G | 14.79 | 15.20 | 13.40 | 14.45 | 5.90 | 6.01 | 14.61 | 14.47 | 6.18 | 5.78 | 14.70 | 14.75 |
| Protein2soluble ; mgög FW G | 12.72 | 13.10 | 10.68 | 9.85 | 4.00 | 4.11 | 11.71 | 12.60 | 4.20 | 3.82 | 12.05 | 12.70 |

2.2 叶片中 RNase 活性及 RNA、游离 UMP、可溶性蛋白质含量的变化

两个时期各材料的 RNase 酶活力、RNA、游离 UMP、可溶性蛋白质的含量在不同温度；育性条件G下都很相近K 经统计学检验表明K 差异均不显著；表2G

3 讨论

关于核酸与植物雄性不育的关系K 杨建军曾系统地研究了太谷核不育小麦不育条件下花药败育过程中核酸的代谢K 发现在不育花药中 RNA 含量远低于可育的K 并且 RNase 活力远高于可育的K 且其变化趋势一致K 而在旗叶中 RNA、RNase 在育性敏感各时期K 不育条件下与可育条件下均无显著差异^[6]L RNA 代谢的紊乱在小孢子减数分裂期就已强烈地表现出来K 明显早于细胞形态学异常^[8]L 国外琼 里曼等人曾报道将 RNase 基因导入烟草等组织中K 此基因在花药内表达有选择地破坏花药的绒毡层K 阻止花粉的形成^[9]L 因此特定组织器官中 RNase 活力的强弱、RNA 及可溶性蛋白质含量对细胞正常发育的一系列生命活动有着重大的影响L 但 RNase 与温敏不育的育性关系未见有人系统地报道过K 本人研究结果显示K 花粉母细胞形成期和花粉母细胞减数分裂期K 常规品种特青、紫壳的幼穗和叶片以及 N 210S、N 213S、安农 S21、W 7415S 叶片中 RNase 活性、RNA、游离 UMP、可溶性蛋白质在不同的温度；育性条件G下均无显著差异K 叶片中的生理代谢对育性没有显著影响L 但 N 210S、N 213S、安农 S21、W 7415S 幼穗中K 不育条件下的 RNase 活力、游离 UMP 含量是可育条件下的3倍

表2 叶片中 RNase 活性及 RNA、游离 UMP、可溶性蛋白质含量
Table 2 The activity of RNase and concentration of RNA, UMP and Protein-soluble in the leare

| | 31 ö24 | | | | | 24 ö22 | | | | | | |
|------------------------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|----------------------------|---------|--------|--------|--------|----------------------------|--------|--------|
| | 特青 | 紫壳 | N2 | N2 | 安农 S ⁻¹ W 7415S | 特青 | 紫壳 | N2 | N2 | 安农 S ⁻¹ W 7415S | | |
| | TeQ ing | ZiKe | 10S | 13S | AnnongS ⁻¹ | TeQ ing | ZiKe | 10S | 13S | AnnongS ⁻¹ | | |
| | 花粉母细胞形成期 Microsporocyte genesis | | | | | | | | | | | |
| RNase ; uniteögg DW G | 321.50 | 310.20 | 257.20 | 254.20 | 270.50 | 269.20 | 309.40 | 300.50 | 269.50 | 260.70 | 251.50 | 254.60 |
| UMP ; mgögg DW G | 2.75 | 2.65 | 2.38 | 2.32 | 2.50 | 2.49 | 2.60 | 2.51 | 2.48 | 2.41 | 2.24 | 2.29 |
| RNA ; mgögg DW G | 10.58 | 10.12 | 9.83 | 12.69 | 10.00 | 9.95 | 10.25 | 10.10 | 9.04 | 12.53 | 10.51 | 10.12 |
| Protein2soluble ; mgögg FW G | 32.10 | 31.50 | 29.40 | 25.15 | 30.15 | 29.52 | 31.00 | 30.50 | 28.20 | 24.21 | 31.30 | 30.12 |
| | 花粉母细胞减数分裂期 Microsporocyte genesis | | | | | | | | | | | |
| RNase ; uniteögg DW G | 279.60 | 260.20 | 251.20 | 235.70 | 267.50 | 260.50 | 265.40 | 259.00 | 259.80 | 251.50 | 50.10 | 249.80 |
| UMP ; mgögg DW G | 2.52 | 2.39 | 2.29 | 2.15 | 2.46 | 2.40 | 2.45 | 2.30 | 2.39 | 2.30 | 2.20 | 2.18 |
| RNA ; mgögg DW G | 13.52 | 13.15 | 14.75 | 14.17 | 15.01 | 14.95 | 13.01 | 12.95 | 12.51 | 13.05 | 13.41 | 13.35 |
| Protein2soluble ; mgögg FW G | 35.42 | 34.85 | 34.85 | 31.10 | 35.20 | 34.90 | 34.35 | 34.15 | 33.76 | 30.25 | 32.50 | 31.95 |

多K极显著高于可育条件下的活性及含量K不育条件下的 RNA、可溶性蛋白质含量却极显著低于可育条件下L 说明在育性敏感时期、温敏不育材料幼穗中较低活性的 RNase、较高含量的 RNA 及可溶性蛋白质是花粉正常发育的必要条件L 由于 RNase 活性与游离 UMP 含量成正比、而与 RNA、可溶性蛋白质含量成反比K 由此可见不育株幼穗中 RNA 含量的显著降低主要是幼穗中高活性的 RNase 所致K RNA 含量降低又导致可溶性蛋白质合成受阻K 因此作者认为 KRNase 基因可能就是雄性核不育基因K 不育条件可能特异地激活了幼穗中 RNase 基因或增强了 RNase 基因的表达K 结果导致 RNase 大量合成、RNA 被大量降解K 从而使幼穗不能合成足够量的蛋白质K 以供花粉正常发育所需K 造成各种酶、蛋白质等严重不足K 最终严重影响了花粉正常发育的物质和能量代谢K 这可能是导致花粉败育的最根本的生理原因L 至于不育条件是如何特异地激活 RNase 基因K 导致其大量表达K 作者还没有对此进行深入的探讨L