

粗厚山羊草细胞质普通小麦核代换系 SOD, CAT 活性研究^{*}

马翎健, 丁 勤, 王 巍, 宋喜悦, 胡银刚, 奚亚军, 何蓓如, 刘曙东

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 对3个普通小麦F94-111, 772, 7859及其粗厚山羊草细胞质核代换系, 在花药发育的不同时期倒二叶、花药的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性进行了比较研究。结果表明, 粗厚山羊草细胞质小麦核代换系SOD, CAT活性均低于其核供体普通小麦, 二者变化趋势一致; 核代换系表现不同程度的雄性不育性, 育性普遍低于其核供体普通小麦; 核代换系的育性与其SOD, CAT活性呈正相关关系。异质系核质关系不协调, 酶代谢失调, SOD、CAT活性下降, 活性氧积累导致膜系统损伤, 可能是异质系花粉败育的根本原因之一。

[关键词] 粗厚山羊草; 小麦核代换系; SOD; CAT

[中图分类号] S512.103.51

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)02-0017-04

粗厚山羊草小麦核代换系表现不同程度的雄性不育性^[1~3], 作物雄性不育花粉在发育过程中存在着内膜及细胞器膜解体退化现象^[4,5]。生物体内活性氧过多积累, 可导致细胞膜的伤害, 代谢失调甚至死亡。膜脂过氧化的主要产物之一是丙二醛(MDA), 而超氧化物歧化酶(SOD)能有效的清除超氧自由基(O_2^-), CAT也具有抵御膜损伤的作用^[5,6]。本研究通过对小麦核代换系与普通小麦的倒二叶和花药在花粉发育不同时期SOD, CAT活性的比较研究, 旨在探索粗厚山羊草细胞质小麦核代换系花粉败育特点及生理机制。

1 材料与方法

试验材料 普通小麦F94-111, 772和7859, 粗厚山羊草细胞质(*Ae. crassa* 6X, 简称C₆)小麦核代换系C₆F94-111, C₆772和C₆7859。

取样方法 倒二叶 分别于减数分裂期、单核期、二核期、三核期每个材料选取正常倒二叶3片, 置于冰壶中备用; 花药 据麦株外部形态选取花药处于不同发育时期的麦穗, 然后用醋酸洋红压片法镜检, 确定中部小穗的发育时期, 依次选取中部小穗上处于单核期、二核期和三核期的花药。

酶活测定 SOD活性采用氮蓝四唑(NBT)光

化还原法^[7], 测定SOD对NBT的光化还原抑制作用, 以抑制NBT光化还原的百分数作为一个酶活性单位表示, 即Units/g鲜重。CAT活性采用紫外吸收法^[7], 2.9 mL反应液中含200 mmol的H₂O₂ 0.5 mL, 0.1 mL酶液, 1 mL pH 7.0的Tris HCl缓冲液, 在240 nm下测定每分钟吸收值的减少量。

育性调查 每材料随机取10穗, 采用国内法调查。

2 结果与分析

2.1 异质系与普通小麦倒二叶SOD, CAT活性比较

2.1.1 SOD活性 由图1可见, 在花粉发育的不同时期, 异质系与普通小麦倒二叶SOD活性变化趋势相似, 呈下降趋势; C₆F94-111, C₆772, C₆7859与其核供体普通小麦相比, 从单核期开始下降幅度加快, 二核期以后下降幅度均明显大于普通小麦, 到三核期异质系倒二叶SOD活性普遍低于其核供体普通小麦。

2.1.2 CAT活性 小麦核代换系与其核供体普通小麦倒二叶CAT活性变化趋势相似, 从减数分裂期到三核期均处于下降趋势; 从二核期开始异质系小麦CAT活性下降幅度高于普通小麦, 到三核期异质系CAT活性均低于其核供体普通小麦(图1)。

* [收稿日期] 2001-04-30

[基金项目] 陕西省自然科学基金资助项目(2001SM02)

[作者简介] 马翎健(1967-), 男, 陕西靖边人, 副教授, 博士, 主要从事小麦杂种优势利用研究。

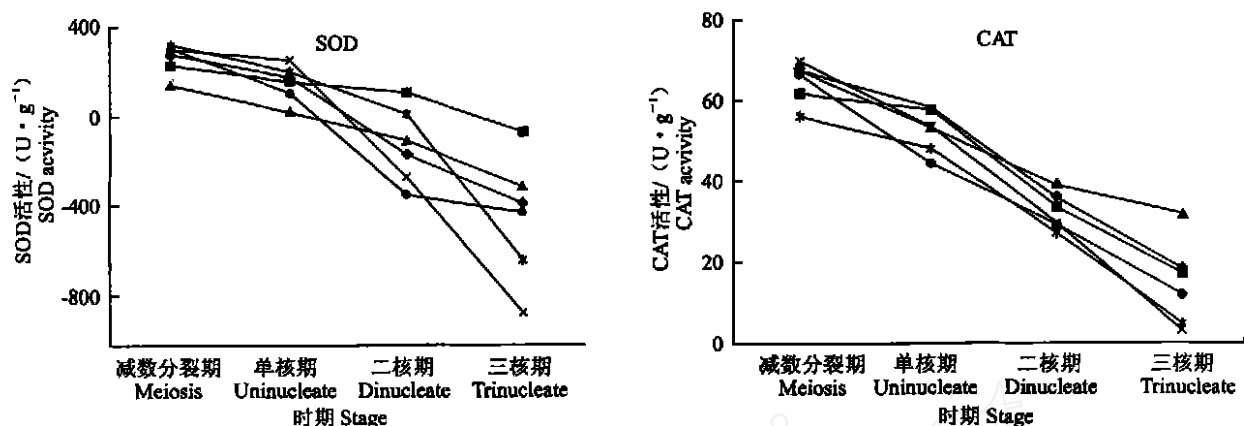


图 1 异质系与普通小麦不同时期倒二叶 SOD, CAT 活性

Fig 1 The activities of SOD and CAT in penultimate leaves at different development stages of pollens

- - F94-111; - □ - 772; - - 7859; - × - C₆ F94-111; - * - C₆ 772; - • - C₆ 7859

2 2 异质系与普通小麦花药 SOD, CAT 活性比较

2 2 1 SOD 活性 如图 2 所示, 核代换系与普通小麦花药的 SOD 活性总的变化趋势都是下降, 与倒二叶中的 SOD 变化趋势相同。从单核期到二核期, 异质系与普通小麦变化幅度都不大。但二核期以后, 异质系下降幅度明显大于普通小麦, 到三核期异质系的 SOD 活性均低于其核供体普通小麦, 这一点与倒二叶 SOD 活性变化表现一致。异质系间酶活性以

C₆ 7859 最高, C₆ 772 次之, C₆ F94-111 最低。

2 2 2 CAT 活性 由图 2 还可看出, F94-111 和 C₆ F94-111 在单核期到三核期 CAT 活性变化幅度相近, 但 C₆ F94-111 CAT 活性始终低于 F94-111。772 与 C₆ 772、7859 与 C₆ 7859 的变化情况与 F94-111 和 C₆ F94-111 的变化相似。从总体上看, 异质系 CAT 活性均低于普通小麦。异质系间酶活性以 C₆ 7859 最高, C₆ 772 次之, C₆ F94-111 最低。

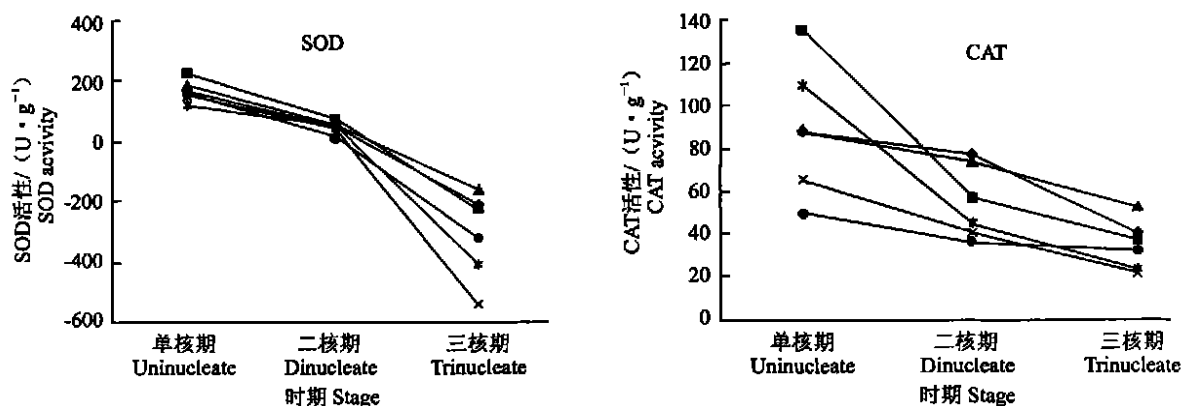


图 2 异质系与普通小麦不同发育时期花药 SOD, CAT 活性

Fig 2 The activities of SOD and CAT in anthers at different development stages

- - F94-111; - □ - 772; - - 7859; - × - C₆ F94-111; - * - C₆ 772; - • - C₆ 7859

2 3 异质系与普通小麦育性比较

由表 1 可见, 异质系的结实率均明显低于其核供体普通小麦, 这表明粗厚山羊草细胞质能普遍降低小麦育性; 但不同核质组合育性下降幅度不同, C₆ F94-111 表现高度不育 (结实率 19.8%, 降幅

77.3%), C₆ 772 育性下降也比较大 (结实率 30.1%, 降幅 64.6%), C₆ 7859 育性下降相对较小 (结实率 69.8%, 降幅 25.3%), 这表明粗厚山羊草核代换系的育性表现是核质互作的结果。将异质系的结实率与 SOD, CAT 活性分别作相关分析, 其相关系数分

别为 $r=0.899$ 和 $r=0.95$, 均达极显著水平, 可见育性越低, 育性越差。
性与三核期 SOD, CAT 活性呈明显正相关关系, 酶

表 1 核代换系的育性表现及与酶活性的关系

Table 1 The relationship between fertility and enzyme activities in anthers of nuclear substitutional lines

材料 Materials	结实率/% Fertility	降幅/% Decrement	三核期花药 SOD 活性/(U · g ⁻¹) SOD activities of anthers at trinucleate stage	三核期花药 CAT 活性/(U · g ⁻¹) CAT activities of anthers at trinucleate stage
C ₆ F94-111	19.8	77.3	- 533.5	12.6
F94-111	87.2			
C ₆ 772	29.5	64.6	- 400	22.1
772	83.3			
C ₆ 7859	69.8	25.3	- 314.5	31.7
7859	93.4			

3 结论与讨论

1) 在花粉的发育过程中, 粗厚山羊草小麦核代换系与普通小麦倒二叶和花药的 SOD, CAT 活性都呈下降趋势, 但由于受粗厚山羊草细胞质影响, 异质系酶活性下降速率明显大于普通小麦, 且均低于其核供体普通小麦。SOD, CAT 活性下降势必会使 O₂⁻ 的产生速率加快, 导致 MDA 积累, 使花粉的膜系统受到破坏, 最终影响异质系花粉的正常发育。

2) 小麦核代换系酶活性变化的主要时期在二核期, 酶活性下降趋势最大, 到三核期达最低点。这表明二核期到三核期是粗厚山羊草小麦核代换系花粉败育的关键时期。小麦核代换系酶活在三核期与其育性呈正相关关系, 因此可将三核期花药和倒二叶 SOD, CAT 活性作为考察小麦异质系育性的一个生

理指标。

3) O₂⁻, H₂O₂ 和 MDA 是对细胞极为有害的物质。O₂⁻ 和 H₂O₂ 可通过 Fenton 反应或 Haber-Weiss 反应生成氧化性更强的羟基自由基(·OH), 对蛋白质、核酸和脂类等生物大分子产生破坏作用, 使其断裂、交联、聚合, 进而使其结构和功能受到损伤, 还可直接与膜脂中不饱和脂肪酸发生作用, 对生物膜造成伤害; MDA 作为交联剂使膜蛋白、酶分子和 DNA 等生物大分子发生交联反应, 导致代谢失调^[5,8]。小麦核代换系 SOD, CAT 活性在花粉发育过程中受粗厚山羊草细胞质影响, 酶活均低于其核供体普通小麦, 而核代换系育性普遍低于其核供体普通小麦。因此, 异质系核质关系不协调, 酶代谢失调, SOD, CAT 活性下降, 活性氧积累导致膜系统损伤, 可能是异质系花粉败育的根本原因之一。

[参考文献]

[1] Sasakuma T, Ohtsuka I. Cytoplasmic effects of Aegilops species having D in wheat I. Cytoplasmic differentiation among five species regarding pistillody induction[J]. Seiken Zihou, 1979, 27: 59- 65

[2] 徐乃瑜, 刘江东. 光周期敏感细胞质雄性不育小麦的初步研究[J]. 小麦育种通讯, 1994, (1): 11- 13

[3] 何蓓如, 孟荣华, 宋喜悦, 等. 粗厚山羊草(Ae crassa)细胞质普通小麦核代换系在中国不同光温条件地点的雄性育性变异[J]. 西北植物学报, 1999, 19(6): 10- 16

[4] Laser K D, Larten N R. A anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male-sterile angiosperms[J]. Bot Rev, 1972, 38: 425 - 454

[5] 赵会杰, 刘华山, 林学梧, 等. 小麦细胞质不育花粉败育与活性氧代谢关系的研究[J]. 作物学报, 1996, 22(3): 365- 367.

[6] 陈贤平, 梁承岷. 水稻不育花药中H₂O₂的积累与膜氧化的加剧[J]. 植物生理学报, 1991, 17(1): 44- 48

[7] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000. 194- 196

[8] Halliwell B. Chloroplast metabolism, the structure and function of chloroplast in green leaf cell[J]. Oxford: Charendon Press, 1981. 186- 187.

Study on activities of superoxide dismutase and catalase of wheat nuclear substitutional lines in *Ae crassa* cytoplasm

MA L ing-jian, D ING Qin, WANG Wei, SONG Xi-yue, HU Y in-gang,

XI Ya-jun, HE Pei-ru, LIU Su-dong

(College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Three types of common wheat and their nuclear substitutional lines in 6X *Ae crassa* cytoplasm were selected to study the activities of Superoxide Dismutase (SOD) and Catalase (CAT) in functional leaves and anthers. The results showed that SOD and CAT activities of nuclear substitutional lines in *Ae crassa* cytoplasm were lower than those of nuclear donor, common wheat. There was difference among the male sterilities of the nuclear substitutional lines whose fertilities were generally lower than those of nuclear donor, and there was significantly positive correlation between the fertilities and SOD and CAT activities of nuclear substitutional lines. It was suggested that one of the radical reasons resulting in microspore abortion of alloplasm was the disorder between nucleus and cytoplasm, which caused unbalance of enzymatic metabolism, decrease of activities of SOD and CAT, and damage of membrane systems led by accumulated active oxygen.

Key words: *Ae crassa*; wheat nuclear substitutional lines; SOD; CAT

本刊 2000 年影响因子及被引频次在全国及全省的位置

据中国科技信息研究所 2000 年度的《中国科技期刊引证报告》(CJCR), 2000 年所选源期刊共 1 411 种, 本刊被引频次及影响因子分别位居第 238 名和第 516 名。在陕西省出版的 71 种源期刊中, 本刊被引频次及影响因子分别位居第 4 名和第 19 名。在本学科 89 种源期刊中, 本刊被引频次及影响因子分别位居第 9 名和第 25 名, 详见下表(《编辑科技》, 2001, 13(4): 25)。

附表 2000 年度在陕西出版的中国科技论文统计源期刊影响因子及总被引频次排序前 20 名

名次	期 刊	影响因子			名次	期 刊	被引频次		
		影响因子/%	全国名次	学科名次/总数			总次数	全国名次	学科名次/总数
1	西北地质科学	127.6	6	3/41	1	第四军医大学学报	552	84	3/97
2	机械科学与技术	64.0	82	-	2	光子学报	358	197	5/31
3	探测与控制学报	55.4	111	1/11	3	西安交通大学学报	339	212	4/70
4	水土保持学报	50.4	143	7/89	4	西北农业大学学报	306	238	9/89
5	光子学报	46.2	174	2/31	5	实用放射学杂志	285	267	6/17
6	稀有金属材料与工程	43.1	203	6/32	6	水土保持学报	276	274	15/89
7	中国皮肤性病杂志	38.3	245	10/26	7	机械科学与技术	261	299	-
8	干旱地区农业研究	36.4	267	12/89	8	实用口腔医学杂志	253	307	3/10
9	水土保持通报	35.0	287	14/89	9	干旱地区农业研究	246	317	17/89
10	细胞和分子免疫学杂志	32.8	314	9/97	10	西北植物学报	234	339	25/44
11	第四军医大学学报	31.2	335	12/97	11	水土保持通报	233	343	21/89
12	中国公路学报	30.8	342	2/35	12	中国皮肤性病杂志	226	356	15/26
13	火炸药学报	30.7	344	3/11	13	中国油脂	215	379	4/28
14	中国油脂	26.9	428	6/28	14	神经解剖学杂志	207	400	7/15
15	实用口腔医学杂志	26.2	447	6/10	15	化学工程	187	441	18/55
16	西安电子科技大学学报	25.5	460	11/49	16	棉纺织技术	174	474	5/28
17	电力电子技术	24.0	491	10/36	17	西安电子科技大学学报	173	478	11/49
18	神经解剖学杂志	24.0	491	9/15	18	西北大学学报	171	482	18/84
19	西北农业大学学报	23.3	516	25/89	19	电力电子技术	170	484	7/36
20	西北林学院学报	23.0	526	5/15	20	稀有金属材料与工程	160	509	12/32