

## 不同光诱导条件下HPGMR中SOD的比较研究\*

梅启明 朱英国 (武汉大学生物系, 武汉430072)

## Comparative Studies on Superoxide Dismutase (SOD) of Hubei Photoperiod-Sensitive Genic Male-Sterile Rice (HPGMR) under Different Photoperiod Inductions

MEI Qiming, and ZHU Yingguo (Wuhan University, Wuhan 430072)

关键词: 光敏感核不育水稻(HPGMR); 超氧化物歧化酶; 光诱导

Key words: Hubei Photoperiod-sensitive Genic Male-sterile Rice (HPGMR); Superoxide dismutase (SOD); Photoperiod induction

超氧化物歧化酶(SOD, E. C. 1.15.1.1)是一切需氧有机体中普遍存在的一种金属的酶,它在细胞呼吸中十分重要,它能催化超氧化物阴离子自由基(包括 $O_2^-$ 和 $\cdot OH$ 两种自由基)的歧化作用成为 $O_2$ 和 $H_2O_2$ ,控制着细胞膜中脂质的过氧化水平,从而保证了细胞膜行使正常的功能<sup>[9, 12]</sup>。因此, SOD在抵抗不良环境和延迟衰老中发挥了重要作用<sup>[10, 11]</sup>。湖北光敏感核不育水稻(HPGMR)在长日照(LD)下,花粉败育;在短日照(SD)下,花粉发育正常<sup>[1, 2, 8]</sup>。那么, SOD在它们当中又如何表现? 本文进行了比较研究。

## 材料与方法

## (一) 材料

湖北光敏感核不育系农垦58(简称农垦58S)和农垦58对照品种(O. sativa L. subsp. japonica)。

## (二) 方法

1. 材料处理。盆栽直播,短日照SD(10小时)处理诱导其幼穗分化,当幼穗发育至二次枝梗及颖花原基分化期(按丁颖<sup>[3]</sup>的划分标准)进行不同光照:长日照(LD)=14小时日光照+10小时黑暗,短日照(SD)=10小时日照+14小时黑暗,红光(R)=10小时日照+6小时黑暗+5 min红光暗中断+7小时55min黑暗,远红光(FR)=10小时日照+6小时黑暗+5 min红光暗中断+30min远红光+7小时25min黑暗。处理至抽穗。用 $I_2$ -KI溶液染色鉴定花粉育性。

2. 样品制备。称取鲜叶(植株顶端第一全展叶)于研钵中,加1:5(W/V)预冷的0.05mol/L,

pH7.8的磷酸钠缓冲液,在4℃下研磨成匀浆。匀浆液用13000×g/min, 2℃离心20min,取上清液备用。

3. 酶活性测定。采用邹国林等<sup>[4]</sup>改进的邻苯三酚自氧化法。在752型分光光度计中进行比色,酶活性以 $OD_{325nm} \cdot 100\mu l \text{酶液}^{-1} \cdot 10min^{-1}$ 表示。

4. 聚丙烯酰胺凝胶电泳。参照罗广华等<sup>[5]</sup>的方法。采用不连续的双层垂直板凝胶电泳,样品用量100 $\mu l$ 酶液,稳压7 V·cm<sup>-1</sup>·5h<sup>-1</sup>结束电泳。

## 结果与分析

## (一) 不同光照下SOD活性的变化

不同光照下, SOD在幼穗发育进程中活性的变化,如图1。

由图1表明,在农垦58对照品种叶片、幼穗及花药中, SOD活性在LD与SD间的变化极相似。而农垦58S叶片、幼穗及花药中, SOD活性是LD与R处理、SD与FR处理的变化一致,且LD与R处理比SD与FR处理SOD活性明显地高,SD和FR处理则与对照品种LD和SD有近似的变化趋势。这与正常花粉百分率(农垦58对照品种LD=95.2, SD=96.1; 农垦58S LD和R处理=0, SD=93.2, FR处理=84.4)相对应。由此说明HPGMR中SOD的变化可能与花粉败育有关。从图中还看出,在幼穗发育的全过程,农垦58S及农垦58对照品种叶片中的SOD活性明显低于幼穗及花药中酶活性,且农垦58S在不同发育时期中还出现了差异。在幼穗及花药中, LD和R处理在花粉母细胞形成期和减数分裂

1989年4月11日收到。 Received April 11, 1989

\*本研究为国家自然科学基金资助项目。

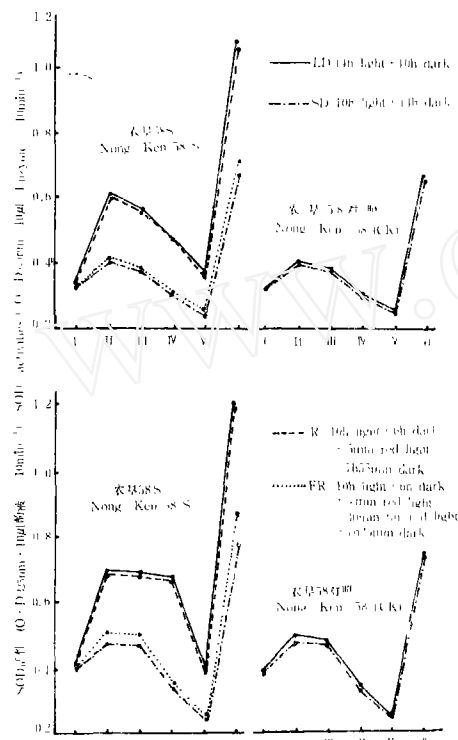


图1 不同光照下叶片、幼穗及花药中的SOD活性在发育进程中的动态变化

Fig. 1. The dynamic change of SOD activities of leaves, anther and inflorescence during panicle development disposed with different light

- I. 二次枝梗及颖花原基分化期  
Secondary peduncle and spikelet primordium differentiation stage
- II. 雌雄蕊原始体形成期  
Pistil and stamen primordium formation stage
- III. 花粉母细胞形成期  
Pollen mother cell formation stage
- IV. 花粉母细胞减数分裂期  
Pollen mother cell meiosis stage
- V. 花粉单核靠边期  
Uninuclear sided stage
- VI. 花粉三核期  
Trinuclear stage

期SOD活性仍保持其雌雄蕊原始体形成期的酶水平,而在叶片中同一光处理的这两时期却下降幅度大。在农垦58S中,这一阶段正是光诱导孢原细胞继续向不育方向发展和定型并进入育性表达阶段的关键时期<sup>[6]</sup>。这时LD和R处理的SOD活性在幼穗中继续加强,就间接表明了核不育基因的表达作用在幼穗分化过程中具有累积效应。叶片接受光信号并很

快传递到茎尖发挥作用,造成局部代谢紊乱,超氧基增多,同时诱导了SOD活性的持续增强。

## (二) 不同光照下SOD同工酶的变化

结果表明,在幼穗发育进程中,不同时期、不同光照处理、不同组织和器官(叶片、幼穗及花药)共显示出8种酶,其sod<sub>5</sub>仅在花粉三核期出现

(图2)。

由图2看出,8种同工酶在农垦58S中,不同光照处理间表现不同。农垦58S叶片中的sod<sub>4</sub>、幼穗及花药中的sod<sub>4</sub>、sod<sub>3</sub>和sod<sub>2</sub>酶在LD与R处理中为强带,而在SD和FR处理中为弱带,这与农垦58对照品种的LD和SD相似。且这种差异明显地表现在发育进程中的不同时期,其谱带的强弱与上述SOD活性的变化趋势较吻合,即酶活性峰值愈高则在酶谱带上的反应是谱带愈亮。因而表明,sod<sub>4</sub>、sod<sub>3</sub>、sod<sub>2</sub>酶谱带的强弱与SOD活性高低变化关系更密切,在SOD中它们对光反应最敏感。

## 讨 论

本实验结果表明,农垦58S中的SOD,在其幼穗发育的雌雄蕊原始体形成期进行LD或R处理,酶活性陡增,出现第一个高峰值。作者研究过的农垦58S过氧化物酶在幼穗发育进程中的变化规律也是在此时出现峰值<sup>[2]</sup>,这可认为是SOD活性增高后,产生大量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,因而底物H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导了过氧化物酶活性增高。

农垦58S在LD和R处理花粉完全败育,本试验花粉镜检结果正常花粉为0;SD或FR处理正常花粉分别为93.2%和84.4%,可见农垦58S中SOD活性的高低与其可育花粉百分率的大小相关联。至于引起花粉败育的生理原因,目前有的研究者认为LD或R处理引起农垦58S体内酶发生变化,造成细胞内物质代谢紊乱,产生有毒物质,导致花粉败育<sup>[2,7,8]</sup>。本实验结果SOD在LD或R处理时活性增高对此观点提供了证据,认为农垦58S体内代谢紊乱,超氧基增多,因而SOD活性增高。

## 参 考 文 献

- [1] 石明松, 1985. 中国农业科学 (2): 44
- [2] 梅启明等, 1989. 实验生物学报22(1): 135—137
- [3] 丁颖, 1961. 中国水稻栽培学, 农业出版社
- [4] 邹国林等, 1986. 生物化学与生物物理进展 (4): 71
- [5] 罗广华等, 1983. 植物生理学通讯 (6): 44—45
- [6] 元生朝等, 1987. 武汉大学学报 (HPGMR专刊): 17—21

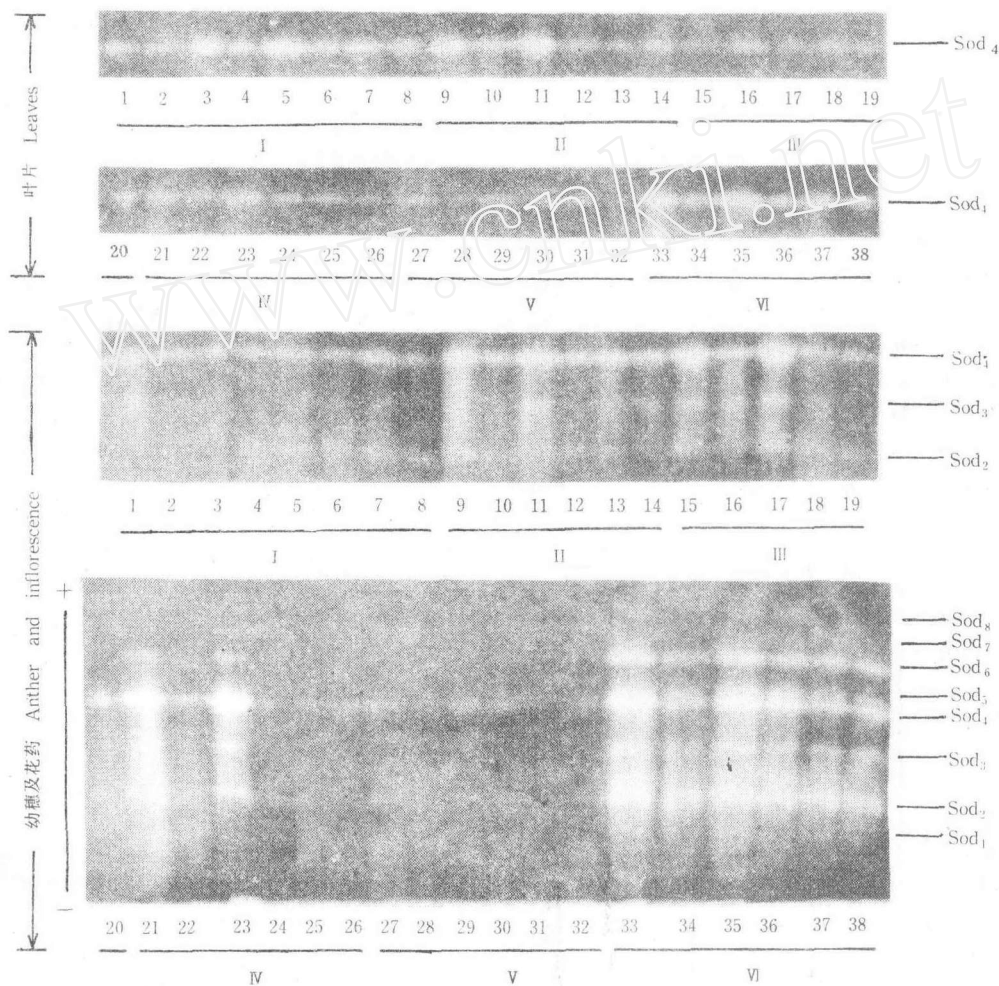


图2 不同光照下叶片、幼穗及花药中SOD在发育各时期电泳图谱

Fig. 2. Electrophoretogram of SOD in leaf, anther and inflorescence during panicle development periods under different light conditions

- i) 农垦58S光处理前 (1) Nong-Ken 58 S predisposed (1)  
 农垦58 (CK) 光处理前 (2) Nong-Ken 58 (CK) predisposed (2)  
 ii) 农垦58S Nong-Ken 58 S, LD (3, 9, 15, 21, 27, 33, 39); SD (4, 10, 16, 22, 28, 34);  
 R (5, 11, 17, 23, 29, 35); FR (6, 12, 18, 24, 30, 36)  
 iii) 农垦58 (CK) Nong-Ken 58 (CK), LD (7, 13, 19, 25, 31, 37); SD  
 (8, 14, 20, 26, 32, 38)  
 iv) 发育时期见图1 Panicle development periods shown in Fig.1

[7] 陈平等, 1987. 武汉大学学报 (HPGMR专刊): 39

[8] 梅启明等, 1990. 遗传学报 (待发表)

[9] Lee EH *et al.*, 1982. *Plant physiol* 69: 1414

[10] Rebinowich HD, 1980. *Planta* 148: 162

[11] Stewart RC. *et al.*, 1980. *Plant Physiol.* 65: 245

[12] Tanaka K. *et al.*, 1980. *Plant Cell Physiol.* 2: 601