

# 白菜核雄性不育两用系生理生化特性的分析

王永勤 曹家树\* 虞慧芳 叶纨芝 余小林 向珣 卢钢

(浙江大学蔬菜研究所细胞与分子生物学实验室, 杭州 310029)

**摘 要:** 白菜核隐性雄性不育两用系开花期, 可育株群花蕾抗氰呼吸强度显著高于不育株群; 不育株群花蕾的 IAA 缺乏, 而 ZT 盈余; 过氧化物同工酶带不育株群的中花蕾和大花蕾强于可育株群; 细胞色素氧化酶同工酶可育株群中的小花蕾和中花蕾的两条带强于不育株群; 可育株群的中花蕾可溶性蛋白电泳表现出两条特异带, 而不育株群的中花蕾有一条特异带。

**关键词:** 白菜; 雄性不育; 抗氰呼吸; 激素; 同工酶; 蛋白凝胶电泳

**中图分类号:** S 634.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 02-0212-03

## 1 目的、材料与方

白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino) 雄性不育系的选育及应用研究深受人们的重视。许多学者对核雄性不育大白菜<sup>[1]</sup>、萝卜胞质雄性不育大白菜<sup>[2]</sup>、同核异质雄性不育大白菜<sup>[3]</sup>的生理生化进行了研究, 但未见白菜核隐性雄性不育两用系可育株群与不育株群的生理生化的研究报道, 本试验在此方面进行比较分析, 旨在为深入了解核雄性不育的机理提供其生理生化的证据。

以白菜‘矮脚黄’核隐性雄性不育两用系为材料。2001 年秋播于试验田, 田间管理同常规。莲座期取莲座叶备用, 并对调查的植株 (132 株) 编号挂牌, 开花期调查其育性。抽薹开花期, 分别取叶片和小 (0.5 mm 以下)、中 (0.8~1.2 mm)、大 (1.8 mm 以上) 花蕾进行呼吸速率、抗氰呼吸速率、激素含量的测定以及过氧化物同工酶、细胞色素氧化酶同工酶和可溶性蛋白的电泳分析。各项生理生化指标测定及电泳参照余小林<sup>[4]</sup>的方法进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 白菜核隐性雄性不育两用系的不育株群与可育株群呼吸速率及抗氰呼吸速率的比较

总呼吸速率和抗氰呼吸速率测定并经统计分析表明 (表 1), 可育株群和不育株群叶片在开花期两者差异均不显著, 但是, 可育株群的小花蕾、中花蕾、大花蕾的呼吸速率和抗氰呼吸速率均显著高于不育株群; 总呼吸速率减去抗氰呼吸部分, 剩余的呼吸速率, 可育株群和不育株群之间的差异不显著, 说明它们之间呼吸速率的差异主要是由于抗氰呼吸差异造成的。

### 2.2 白菜核隐性雄性不育两用系的不育株群与可育株群的生化特性的比较

表 1 白菜核隐性雄性不育两用系的不育株群与可育株群呼吸速率的比较

Table 1 Comparison of respiratory rate between the male sterile (MS) and fertile plants (MF) of genic male sterile AB line in Chinese cabbage ( $O_2$  mmol·h<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup> FM)

育性 Fertility	叶与花蕾 Leaves and buds	抗氰呼吸 Cyanide-resistant respiratory rate	总呼吸 Total respiratory rate
不育 MS	叶 Leaves	0.827	1.654
	小花蕾 Little buds	0.954	2.393
	中花蕾 Middle buds	1.043	2.410
	大花蕾 Big buds	1.087	2.667
可育 MF	叶 Leaves	0.813	1.635
	小花蕾 Little buds	1.212	2.529
	中花蕾 Middle buds	1.292	2.639
	大花蕾 Big buds	1.296	2.880

收稿日期: 2002-05-13; 修回日期: 2002-08-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39670512)

\* 通讯作者, Author for correspondence; E-mail: jshcao@zju.edu.cn

2.2.1 同工酶分析 电泳分析表明, 莲座期和开花期可育株群和不育株群叶片的过氧化物酶同工酶无差异 (图 1, A); 可育株群小花蕾过氧化物酶同工酶稍强于不育株群; 中花蕾、大花蕾的过氧化物酶同工酶的活性, 不育株明显高于可育株。莲座期和开花期细胞色素氧化酶同工酶, 可育株群和不育株群间带的强弱相近 (图 1, B), 可育株群的小花蕾的 c 和 d 带强于不育株群, 中花蕾 c 带较强, 而不育株群的 c 带很弱, 可育和不育株群均未见 d 带; 大花蕾间未见明显差异。不育株群和可育株群的上述两种同工酶活性均表现出从小花蕾到大花蕾递减的规律。

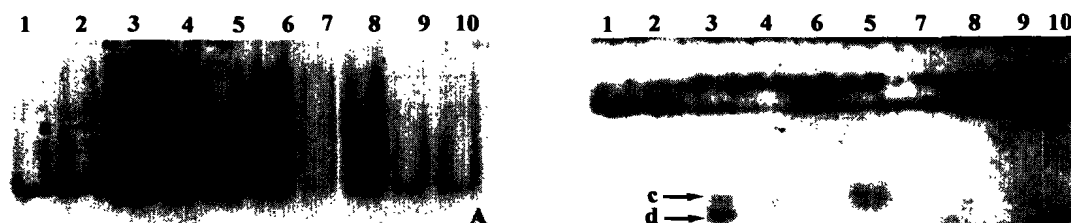


图 1 白菜核隐性雄性不育可育株群与不育株群过氧化物酶和细胞色素氧化酶同工酶酶谱

A. 过氧化物酶同工酶酶谱; B. 细胞色素氧化酶同工酶酶谱。1. 可育株群莲座期叶片; 2. 不育株群莲座期叶片; 3. 可育株群小花蕾; 4. 不育株群小花蕾; 5. 可育株群中花蕾; 6. 不育株群中花蕾; 7. 可育株群大花蕾; 8. 不育株群大花蕾; 9. 可育株群开花期叶片; 10. 不育株群开花期叶片。

Fig. 1 POD and CAT data of the male sterile (MS) and fertile plants (MF) of genic male sterile AB line in Chinese cabbage

A. POD; B. CAT data. 1, 2. Leaves of rosette MF and MS respectively; 3, 4. Little buds of MF and MS respectively; 5, 6. Middle buds of MF and MS respectively; 7, 8. Big buds of MF and MS plants respectively; 9, 10. Leaves of flowering MF and MS plants.

2.2.2 可溶性蛋白 SDS-PAGE 电泳分析 开花期可育株群与不育株群叶片和小花蕾的可溶性蛋白电泳结果未见差异。两条分别约为 34.5 kD (图 2, a) 和 24 kD (图 2, b) 的条带在可育株群的中花蕾特异表达; 一条约为 34 kD (图 2, c) 的条带只在不育株群的中花蕾中表达。可育株群与不育株群的大花蕾中未见差异条带。

2.2.3 激素含量分析 可育株群和不育株群之间的叶片 IAA 含量差异不大; 可育株群小花蕾、中花蕾和大花蕾的 IAA 含量分别比不育株群高 22.7%、92.1%和 38.3%。可育株群和不育株群之间的 GA 差异不大。可育株群叶片中的 ZT 含量高于不育株群; 不育株群小花蕾、中花蕾和大花蕾的 ZT 含量分别比可育株群高 86.5%、



图 2 白菜核隐性雄性不育可育株群与不育株群可溶性蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳

1. 可育株群叶片; 2. 不育株群叶片; 3. 可育株群小花蕾; 4. 不育株群小花蕾; 5. 蛋白 Marker; 6. 可育株群中花蕾; 7. 不育株群中花蕾; 8. 可育株群大花蕾; 9. 不育株群大花蕾。

Fig. 2 Soluble protein SDS-PAGE electrophoresis in the male sterile (MS) and fertile plants (MF) of genic male sterile AB line in Chinese cabbage

1, 2. Leaves of MF and MS plants respectively; 3, 4. Little buds of MF and MS plants respectively; 5. Protein marker; 6, 7. Middle buds of MF and MS plants respectively; 8, 9. Big buds of MF and MS plants respectively.

表 2 白菜核隐性雄性不育两用系的不育株群与可育株群激素含量比较

Table 2 Comparison of levels of endogenous hormones between the male sterile (MS) and fertile plants (MF) of genic male sterile AB line in Chinese cabbage ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$ )

育性 Fertility	叶与花蕾 Leaves and buds	IAA	GA	ZT
不育 MS	叶 Leaves	0.104	0.055	0.132
	小花蕾 Little buds	0.273	0.113	0.802
	中花蕾 Middle buds	0.215	0.145	0.702
	大花蕾 Big buds	0.175	0.207	0.560
可育 MF	叶 Leaves	0.124	0.057	0.154
	小花蕾 Little buds	0.335	0.123	0.430
	中花蕾 Middle buds	0.413	0.141	0.421
	大花蕾 Big buds	0.242	0.205	0.439

66.7% 和 27.6%。

#### 参考文献:

- 1 王亚馥, 胡昌勤, 林志刚, 等. 大白菜雄性不育两用系可育株与不育株的比较分析. 园艺学报, 1984, 11 (3): 182 ~ 186
- 2 孙日飞, 方智远, 张淑江, 等. 萝卜胞质大白菜不育系的生化分析. 园艺学报, 2000, 27 (3): 187 ~ 192
- 3 梁 燕, 王 鸣, 赵雅雅. 结球白菜同核异质雄性不育系同工酶研究. 园艺学报, 1994, 21 (3): 164 ~ 168
- 4 余小林. 白菜育性相关基因 *cyp86mf* 的功能验证及其人工不育系的创建: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2002. 91 ~ 94

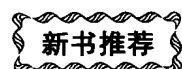
## Analysis on Physiological and Biochemical Characteristics between Male Sterile and Fertile Plants of Genic Male Sterile AB Line in Chinese Cabbage

Wang Yongqin, Cao Jiashu, Yu Huifang, Ye Wanzhi, Yu Xiaolin, Xiang Xun, and Lu Gang

(Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** The male sterile plants were significantly higher than male fertile plants during rosette and anthesis in recessive genic male sterile AB line in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino). Cyanide-resistant respiratory rate of buds in male fertile plants were significantly higher than that in male sterile plants. Buds of male sterile plants had deficient IAA and surplus ZT. The bands of peroxidase isozyme of middle and big buds in male fertile plants were more obvious than in male sterile plants. There were two tapes of cytochrome oxidase isozyme of little and middle buds and more obvious in male fertile plants. There were two specific tapes in soluble protein electrophoresis in male fertile plants, and one in male sterile plants.

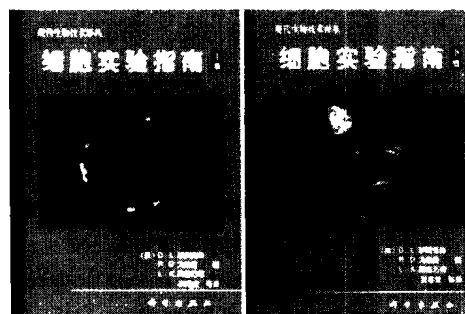
**Key words:** Chinese cabbage; Male sterility; Cyanide-resistant respiration; Hormones; Isozymes; Protein SDS-PAGE electrophoresis



#### 新书推荐

#### 《细胞实验指南》

由美国冷泉港实验室邀请 125 位专家共同研讨和撰稿, 本书汇总了被细胞生物学家们证明行之有效的众多的技术和方法, 它们由三大主体组成: 细胞的培养及其生物化学分析、光学显微镜及细胞结构和基因及其产物的亚细胞定位。本书与备受称赞的冷泉港实验室出版社的《分子克隆实验指南》和《抗体》两本实验指南具有同样的特点, 对即使具有多年工作经验的研究者也极其有用。定价: 244 元 (上、下册, 含邮资)。



#### 基因工程原理 (第二版) 上、下册 吴乃虎著译

本书由科学出版社出版。全书共十二章, 分上下两册, 书末附有基因工程名词术语解释及索引。

上册: 一至六章 (基因与基因工程、基因操作的主要技术原理、基因克隆的酶学基础、基因克隆的质粒载体、噬菌体载体和柯斯载体、基因的分离与鉴定)。定价 58 元 (含邮费)。

下册: 七至十二章 (基因的表达与调节、真核基因在大肠杆菌中的表达、植物基因工程、哺乳动物基因工程、重组 DNA 与现代生物技术、重组 DNA 与医学研究)。定价 78 元 (含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。