

大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的生理生化特性比较分析

杨龙树¹, 李佳佳^{1,2}, 贺亭亭¹, 丁先龙¹, 张 浩¹, 韩少怀¹, 盖钧锰¹, 杨守萍¹

(1. 南京农业大学 大豆研究所/国家大豆改良中心/农业部大豆生物学与遗传育种重点实验室(综合)/作物遗传与种质创新国家重点实验室/江苏省现代作物生产协同创新中心, 江苏 南京 210095; 2. 安徽农业大学 农学院, 安徽 合肥 230036)

摘 要:以大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 及其保持系 NJCMS1B 的花芽为试验材料,利用试剂盒法和紫外分光光度计测定分析了糖分含量(可溶性糖和淀粉)和总 ATPase、蔗糖磷酸合成酶(SPS)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)、抗坏血酸氧化酶(AO)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)以及过氧化物酶(POD)等酶活性的变化情况。结果表明:相较于保持系 NJCMS1B,总 ATPase、PEPCK、AO 和 CAT 活性在不育系 NJCMS1A 中显著下降;糖分含量、SPS 和 SOD 活性在不育系 NJCMS1A 中下降水平不显著;POD 活性在不育系 NJCMS1A 中显著上升。根据结果分析推测,与能量代谢或胁迫响应等相关的物质或酶活性在不育系 NJCMS1A 中的亏损现象可能是 NJCMS1A 花粉败育的主要原因。

关键词:大豆;质核互作雄性不育;生理生化特性
中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2017. 03. 0391

Comparative Analysis of Physiological and Biochemical Characteristics Between Cytoplasmic-Nuclear Male Sterile Line and Its Maintainer in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]

YANG Long-shu¹, LI Jia-jia^{1,2}, HE Ting-ting¹, DING Xian-long¹, ZHANG Hao¹, HAN Shao-huai¹, GAI Jun-yi¹, YANG Shou-ping¹

(1. Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University/National Center for Soybean Improvement/Key Laboratory for Biology and Genetic Improvement of Soybean (General), Ministry of Agriculture/State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement/Jiangsu Modern Crop Production Collaborative Innovation Center, Nanjing 210095, China; 2. College of Agriculture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: With the young flower buds of the cytoplasmic-nuclear male sterile line NJCMS1A and its maintainer NJCMS1B of soybean as test materials, the content of sugar (soluble sugar and starch), the activities of total ATPase, sucrose phosphate synthase (SPS), phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), ascorbate oxidase (AO), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were measured using the kit method and UV-spectrophotometer. The results showed that the total ATPase, PEPCK, AO and CAT activity were significantly decreased and total sugar content, SPS, and POD activity non-remarkably decreased in the male sterile line NJCMS1A, compared with its maintainer NJCMS1B; the activity of POD showed a significant increase in the male sterile line NJCMS1A, compared with its maintainer NJCMS1B. According to the present analysis results, we concluded that the deficiency phenomenon of substances or enzymes activity associated with energy metabolism or stress response in male sterile line NJCMS1A of soybean, may be the main reason for poller abortion.

Keywords: Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]; Cytoplasmic-nuclear male sterility (CMS); Total sugar content; Enzyme activity

大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]是重要的蛋白质和油料植物资源,然而,其产量较低已严重制约了我国大豆的产业化发展。杂种优势利用已被证明是提高作物产量的有效途径之一,而质核互作雄性不育(cytoplasmic-nuclear male sterility, CMS)在大豆杂种优势利用中具有重要作用。目前,已经从三系选育、遗传学、细胞学、转录组学、蛋白质组学和分子生物学等方面对大豆 CMS 进行了广泛的研究报道^[1-13]。然而,大豆 CMS 相关分子机理仍需进

一步地阐明。
近年来,诸如烟草^[14]、甜椒^[15]、辣椒^[16]、棉花^[17]、白菜^[18-20]、胡萝卜^[21]、葱^[22]、萝卜^[23]、芹菜^[24]、水稻^[25]、油菜^[26]和玉米^[27]等雄性不育相关生理生化特征研究表明植物的雄性不育与其组织器官物质代谢、能量代谢以及相关酶活性的异常有关,雄性不育花药中诸多物质的变化或异常会严重影响花粉的发育及其育性。然而,有关大豆质核互作雄性不育系及其保持系生理生化特征

较少。

本实验室前期对大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的差异转录组学^[11]和差异蛋白质组学^[12]的研究中发现大豆雄性不育性的发生可能与不育系中碳水化合物与能量代谢以及胁迫响应的异常有关。因此,为进一步探索不育系中碳水化合物或酶活性的变化,本研究以大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 花芽为材料,对其生理生化特性进行比较分析,以期获得与大豆雄性不育相关的生理生化机制方面的证据,为大豆雄性不育性的发生以及遗传机制的阐明提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 由国家大豆改良中心选育,以栽培大豆 N8855 作为供体亲本与 N2899(后指定为 NJCMS1B)作为轮回亲本连续回交获得^[2,4]。材料于 2016 年夏种植于南京农业大学国家大豆改良中心当涂试验站。由于难以从大豆花芽的外观形态上准确判断内部花粉的发育时期^[5],因此本研究采用混合花芽作为研究材料,于大豆开花期,分别采集不育系 NJCMS1A 和保持系 NJCMS1B 的不同大小花芽后混合在一起,置于液氮中速冻,然后转存至 -80°C 冰箱中保存备用。采集的花芽样本用于检测不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 中的糖分含量、总 ATPase、蔗糖磷酸合成酶 (SPS)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK)、抗坏血酸氧化酶 (AO)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 的活性。

1.2 方法

1.2.1 糖分含量测定 各糖分含量检测利用 UV - 紫外分光光度计 (南京菲勒仪器,菲勒,南京,中国, <http://www.philes.cn/>) 按葡萄糖/果糖/蔗糖检测试剂盒 (酶法·液体装, BioSenTec, France, <http://www.biosentec.fr/>) 和淀粉检测试剂盒 (酶法·液体装, BioSenTec, France, <http://www.biosentec.fr/>) 的操作程序在 340 nm 处测定不同样本的吸光度值,然后根据说明书公式计算各可溶性糖分 (葡萄糖、果糖和蔗糖) 和淀粉的浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.2 总 ATPase 活性测定 总 ATPase 活性检测利用 UV - 可见分光光度计 (南京菲勒仪器,菲勒,南京,中国, <http://www.philes.cn/>) 按超微量总 ATPase 测定试剂盒 (南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>) 操作程序在 636 nm 处测定样本的吸光度值,并按其说明书公式计算总 ATPase 活性。

总 ATPase 活性定义为:每小时每毫克组织蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个 ATP 酶活性单位 ($\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.3 蔗糖磷酸合成酶 (sucrose phosphate synthase, SPS) 活性测定 SPS 活性检测利用 UV - 可见分光光度计按蔗糖磷酸合成酶测定试剂盒 (南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>) 操作程序在 290 nm 处测定样本的吸光度值,并按其说明书公式计算 SPS 活性。SPS 活性定义为:每毫克组织蛋白在 37°C 条件下每分钟转化底物生成 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 蔗糖所需的酶量为 1 个酶活性单位 ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.4 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 活性测定 PEPCK 活性检测利用 UV - 可见分光光度计按磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶测定试剂盒 (南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>) 操作程序在 340 nm 处分别测定样本的初始吸光度值和 1 min 后的吸光度值,并按其说明书公式计算 PEPCK 活性。PEPCK 活性定义为:每克组织样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活性单位 ($1\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.5 抗坏血酸氧化酶 (ascorbate oxidase, AO) 活性测定 AO 活性检测利用 UV - 可见分光光度计按抗坏血酸氧化酶测定试剂盒 (南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>) 操作程序在 265 nm 处分别测定处理 10 和 130 s 时的样本吸光度值,并按其说明书公式计算 AO 活性。AO 活性定义为: 25°C 中每克样本每分钟氧化 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 抗坏血酸 (ascorbic acid, AA) 为一个酶活性单位 ($1\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.6 过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性测定 CAT 活性检测利用 UV - 可见分光光度计按过氧化氢酶测定试剂盒 (南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>) 操作程序在 405 nm 处测定样本吸光度值,并按其说明书公式计算 CAT 活性。CAT 活性定义为:每毫克组织蛋白每秒钟分解 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 的 H_2O_2 的量为一个活性单位 ($1\text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.7 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性测定 SOD 活性检测利用 UV - 可见分光光度计按植物组织铜锌 - 超氧化物歧化酶测定试剂盒 (南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>) 操作程序在 550 nm 处分别测定样本吸光度值,并按其说明书公式计算总 SOD (T-SOD) 和铜锌 - SOD (Cu Zn-SOD) 活性。SOD 活性定义为:每克植物组

织在本反应体系中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活性单位($1\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.2.8 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定
POD 活性检测利用 UV-可见分光光度计按过氧化物酶测定试剂盒(南京建成生物公司, <http://mall.njjcbio.com>)操作程序在 420 nm 处测定样本吸光度值,并按照说明书公式计算 POD 活性。POD 活性定义为:在 37℃ 条件下,每毫克组织蛋白每分钟催化 $1\text{ }\mu\text{g}$ 底物的酶量定义为一个酶活性单位($1\text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$)。3 次生物学重复。

1.3 数据分析

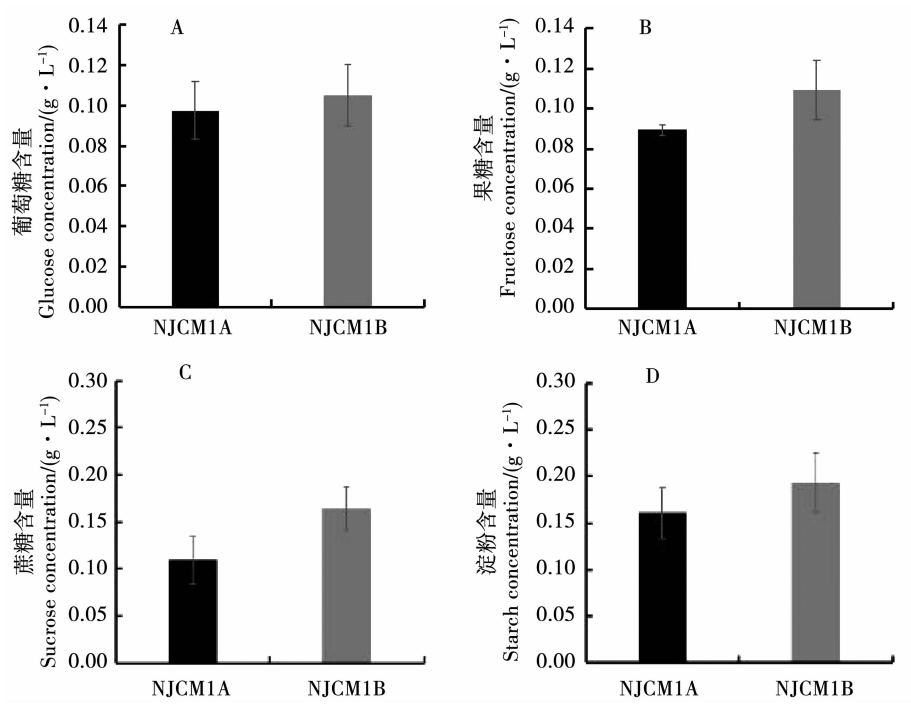
利用 SAS 8.1 软件计算各测定 3 次生物学重复指标平均值、各样本生物学重复数据间的标准差和

两个样本中不同测定指标数据间的差异显著性,柱形图在 Excel 表中绘制。

2 结果与分析

2.1 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的糖分含量比较分析

糖分含量检测结果显示,可溶性糖(葡萄糖、果糖和蔗糖)和淀粉含量在不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 花芽中差异不显著(图 1)。由于糖分含量在植物不同发育阶段是一种动态的表达变化过程,因此,该结果可能与检测样本的发育时期有关,有待进一步研究。



表中数据为 3 次生物学重复计算数据的平均值 ± 标准差。下同。
The data were given as Mean ± SD from three biological replicates. The same below.

图 1 NJCMS1A 与 NJCMS1B 中糖分含量分析
Fig. 1 Sugar content analysis in NJCMS1A and NJCMS1B

2.2 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的总 ATPase 活性比较分析

总 ATPase 活性检测结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,总 ATPase 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中呈 1.4 倍的显著下降趋势($P<0.05$)(图 2A)。

2.3 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的 SPS 活性比较分析

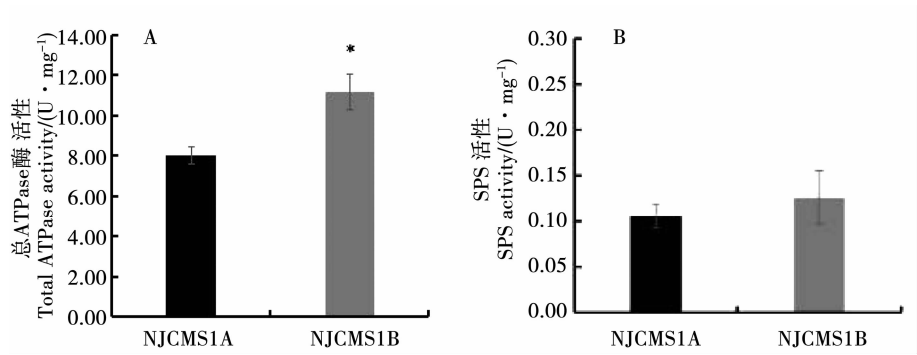
SPS 活性检测结果显示,SPS 活性在不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 花芽中差异不显著(图 2B),这可能与花芽发育时期有关,有待进一步的检测验证。

2.4 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的 PEPCK 活性比较分析

PEPCK 活性检测结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,PEPCK 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中呈 1.6 倍的显著性下降趋势($P<0.05$)(图 3A)。

2.5 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的 AO 活性比较分析

AO 活性检测结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,AO 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中呈 2.5 倍的显著性下降趋势($P<0.05$)(图 3B)。



* 代表 0.05 水平上的显著性差异。下同。
* represented significant difference at 0.05 probability level. The same below.

图 2 NJCMS1A 和 NJCMS1B 中总 ATPase 和 SPS 活性测定
Fig. 2 The activities of total ATPase and SPS in NJCMS1A and NJCMS1B

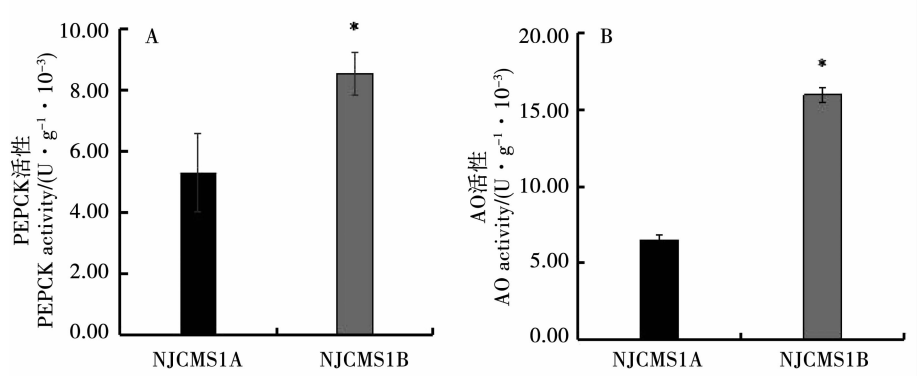
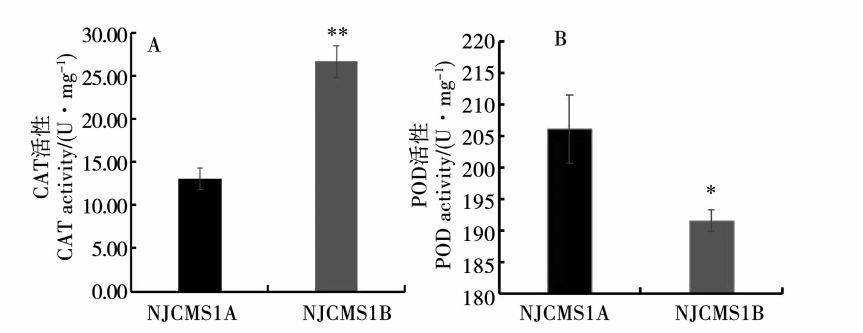


图 3 NJCMS1A 和 NJCMS1B 中 PEPCK 和 AO 活性测定
Fig. 3 The activity assay of PEPCK and AO in NJCMS1A and NJCMS1B

2.6 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的抗氧化酶活性比较分析

CAT 活性检测结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,CAT 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中呈 2.0

倍的极显著性下降趋势($P < 0.01$) (图 4A)。POD 活性检测结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,POD 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中呈显著上升趋势($P < 0.05$) (图 4B)。



*, ** 分别代表 0.05 和 0.01 水平上的显著性。
* and ** represented significant differences at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

图 4 NJCMS1A 和 NJCMS1B 中 CAT 和 POD 活性测定
Fig. 4 The activities of CAT and POD in NJCMS1A and NJCMS1B

2.7 大豆不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 的 SOD 活性比较分析

SOD 活性检测结果显示,保持系 NJCMS1B-

SOD 和 Cu Zn-SOD 活性在不育系 NJCMS1A 与其保持系 NJCMS1B 花芽中差异不显著(图 5)。

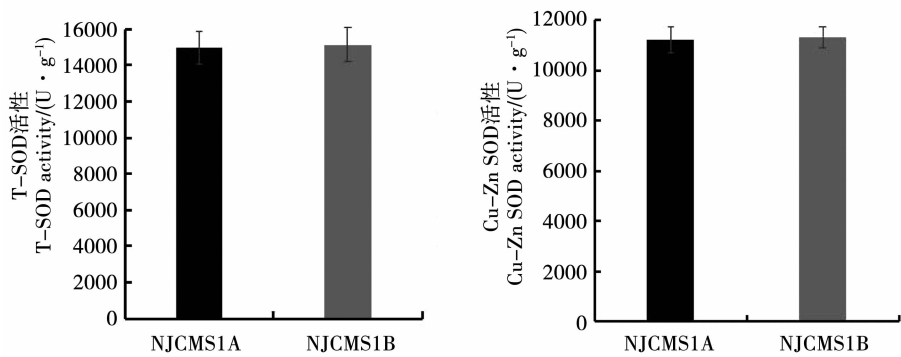


图5 NJCMS1A 和 NJCMS1B 中超氧化物歧化酶活性测定

Fig. 5 The activities of superoxide dismutase in NJCMS1A and NJCMS1B

3 结论与讨论

近年来,许多学者对烟草^[14]、甜椒^[15]、辣椒^[16]、棉花^[17]、白菜^[18-20]、胡萝卜^[21]、葱^[22]、萝卜^[23]、芹菜^[24]、水稻^[25]、油菜^[26]和玉米^[27]等作物不育系的生理生化特性进行了研究分析,发现不育系与其相应保持系之间在可溶性糖、淀粉、氨基酸、脯氨酸、蛋白质以及酶活性等方面存在差异。此外,我们前期的大豆不育系及其保持系间的差异转录组学^[11]和蛋白质组学^[12]分析结果发现碳水化合物与能量代谢途径以及胁迫响应途径中的异常可能是导致大豆雄性不育系 NJCMS1A 发生败育的一个主要原因。因此,为了更好地了解大豆雄性不育与能量供应与储存以及胁迫响应等相关物质或酶活力的变化之间的关系,本试验对一些花芽发育期间的关键物质和酶活性进行了测定分析。

3.1 能量代谢相关物质或酶活性与大豆雄性不育的潜在关系

众所周知,碳水化合物代谢是植物生长发育过程中最基本的代谢途径之一,它的主要生理功能是提供生物体发育所需的能量和碳源^[28]。已有研究表明花粉在发育过程中需要高度的呼吸效率和充足的能量供应^[29],而糖分在花粉的整个发育过程期间无疑是最重要的营养物质之一,其含量的多少可以直接影响到小孢子的育性^[30]。因此,花粉中糖分代谢和转存的异常能够显著性损伤花粉的发育并造成雄性不育^[31]。本研究中,糖分含量检测结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,可溶性糖(葡萄糖、果糖和蔗糖)和淀粉在不育系 NJCMS1A 花芽中均表现出下降趋势,这与甜椒^[15]、辣椒^[16]、白菜^[18-20]、葱^[22]、萝卜^[23]和芹菜^[24]等作物不育系中检测到的结果基本一致。由于要保持与差异转录组学和蛋白质组学所用试验材料的一致性,本研究结果中糖分含量在不育系 NJCMS1A 及其保持系 NJCMS1B 花芽间的差异是不显著的。因此,为了更好地了解糖

分在大豆不育系中的整个动态性表达变化情况,仍需对不同发育时期的大豆花芽进行一次完整的测定分析,才能更全面地了解糖分含量对不育系发育过程的影响;ATP 酶,广泛存在于植物体内,是生物体细胞生物合成过程中产生 ATP 的关键酶,在物质运输、能量转换和信息传递过程中发挥重要作用^[32]。ATP 是促进植物细胞内各种物质合成的直接能源,ATP 水平下降,会导致植物体内各种生物大分子合成受阻或减少,从而影响整个生命代谢活动的正常运行。Bergman 等^[33]和 Teixeira 等^[34]的研究已经证明与能量供给相关的 ATP 含量在不育系中显著性下降,同样,这一结果在玉米^[35]、高粱^[35]和水稻^[36-37]中也被报道。本实验室的差异转录组学研究发现与 ATPase 相关的基因在不育系 NJCMS1A 中显著性下调表达^[11],本研究中,相较于保持系 NJCMS1B,总 ATPase 的活性在不育系 NJCMS1A 花芽中也表现出明显的下降水平,这与我们的差异转录组学结果是相符的,同时,该结果与已报道的葱^[22]和甘蓝^[38]中的研究结果也是一致的;蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 存在于细胞质中,是蔗糖合成系统中的主要限速酶,在绿色植物光和器官中对蔗糖的合成至关重要^[39]。SPS 活性不仅能够影响蔗糖的合成,还能影响光合器官同化碳的分配以及糖分的积累^[39-40]。我们的差异转录组学研究发现与 SPS 相关的基因在不育系 NJCMS1A 中显著性下调表达^[11],本研究结果中,相较于保持系 NJCMS1B,SPS 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中虽然也呈下降趋势,但在两个样本中的差异是不显著的,这可能与花芽的不同发育时期有关,有待一步的测定验证;磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 能够催化三羧酸循环 (TCA 循环) 中产生的草酰乙酸转化成磷酸烯醇式丙酮酸,然后再转化成丙酮酸,最终生产葡萄糖为植物发育提供所需的能量^[12]。差异蛋白质组学研究发现 PEPCK 在不育系中显著性下调表达,本研究中,相较于保持系 NJCMS1B,PEP-

CK 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中也呈现出显著性的下降趋势,这与差异蛋白质组学结果是一致的^[12]。PEPCK 的下调表达可能会干扰大豆雄性不育系中一系列碳水化合物和能量代谢相关途径的正常进行,造成关键能量物质的供应不足,进而显著影响花粉发育期间所需能量的供应效率并可能最终导致不育系 NJCMS1A 雄性不育。

3.2 胁迫响应相关物质或酶活性与大豆雄性不育的潜在关系

抗坏血酸氧化酶(AO)能催化抗坏血酸(AA)的氧化,在高等植物物质代谢中发挥重要作用^[41]。由于抗坏血酸不仅在防御氧化应激中起着关键的作用,而且在光合组织中特别丰富,因此,抗坏血酸氧化酶被认为是花、叶片和茎等质外体中最重要的抗氧化剂。此外,由于 AO 的特殊位置及其在快速扩张组织中的高度活性,AO 被广泛认为在细胞生长中发挥重要作用^[42-43]。差异蛋白质组学研究发现 AO 在不育系 NJCMS1A 中显著性下调表达^[12],本试验中,相较于保持系 NJCMS1B,AO 活性在不育系 NJCMS1A 花芽中也呈现出显著性的下降趋势,与差异蛋白质组学结果相符。AO 在不育系 NJCMS1A 中的低表达可能导致不育系植株体内物质代谢的紊乱,造成抗氧化应激响应失调,加速植物衰老进程,提前发生细胞程序性死亡(PCD),进而出现不育现象;过氧化氢酶(CAT)能够有效清除植物体内产生的自由基,避免活性氧(ROS)的积累而出现的丙二醛(MDA)积累和膜脂过氧化,使得植物组织的生理生化保持相对的稳定^[15-16]。植物花芽发育过程中,需要充足的能量供应来支撑小孢子异常活跃的代谢,而膜脂的损伤会破坏能量的形成与转运,从而阻碍花芽的发育。本研究结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,CAT 活性在不育系 NJCMS1A 中表现出极显著下降趋势,其活性的下降可能导致植物体内积累过多的自由基和 ROS,造成植物体发生膜脂过氧化现象,抑制了植株的正常生长发育,可能是导致 NJCMS1A 雄性不育的一个重要因素;超氧化物歧化酶(SOD)能够清除植物体内超氧自由基 O₂⁻,是植物体内重要的抗氧化物保护酶^[15-16]。植物体中 SOD 可分为 3 种类型:即铜锌 - SOD(Cu Zn-SOD)、锰 - SOD(Mn-SOD)和铁 - SOD(Fe-SOD)。低等植物以 Fe-SOD 和 Mn-SOD 为主,高等植物以 Cu Zn-SOD 为主,三者相加为总 SOD(T-SOD)。本试验分别对 T-SOD 和 Cu Zn-SOD 进行测定,结果显示,相对于保持系 NJCMS1B,T-SOD 和 Cu Zn-SOD 活性在不育系 NJCMS1A 都呈现不同程度的下降趋势,但都未达到显著差异水平。这可能与花芽的不同发育时期有关,还有待于进一步验证^[27];

已有研究表明过氧化物酶(POD)的作用机理与上述 CAT 和 SOD 相同^[15-16],然而同时也有研究表明 POD 能够有效降解植物体内的吲哚乙酸(IAA),对于控制植物体内 IAA 水平、维系植物组织中源库平衡等具有重要作用^[27]。POD 活性与物质代谢水平正相关,POD 活性越高,物质代谢越旺盛,相应地就会降低植物体内的 IAA 水平进而会导致植物体所需的营养水平欠缺并发生生长发育异常,最终造成雄性不育^[44]。本研究结果显示,相较于保持系 NJCMS1B,POD 活性在不育系 NJCMS1A 中呈现显著上升,此结果与已报道的辣椒^[16]和玉米^[27]中的研究结果一致。

本研究在已报道的差异转录组^[11]和蛋白质组^[12]研究基础之上,对大豆质核互作雄性不育系及其保持系的生理生化特性进行了广泛的比较分析。综上所述,大豆不育系与保持系花芽在糖分含量和总 ATPase、蔗糖磷酸合成酶(SPS)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)、抗坏血酸氧化酶(AO)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)以及过氧化物酶(POD)等酶活性方面存在着一定的差异。结果表明,这些与能量代谢或胁迫响应等相关的物质或酶活性在大豆雄性不育系中的亏损现象,可能是 NJCMS1A 发生败育的主要原因。

参考文献

[1] 孙寰,赵丽梅,黄梅. 大豆质 - 核互作不育系研究[J]. 科学通报,1993,38 (16): 1535-1536. (Sun H, Zhao L M, Huang M. Studies on cytoplasmic-nuclear male sterility line of soybean [J]. Chinese Science Bulletin,1993,38(16): 1535-1536.)

[2] Gai J Y, Cui Z L, Ji D F, et al. A report on the nuclear cytoplasmic male sterility from a cross between two soybean cultivars [J]. Soybean Genetics Newsletter,1995,22:55-58.

[3] 盖钧镒,丁德荣,崔章林,等. 大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 的选育及其特性[J]. 中国农业科学,1999,32 (5): 23-27. (Gai J Y, Ding D R, Cui Z L, et al. Development and performance of cytoplasmic-nuclear male sterile line NJCMS1A of soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica,1999,32 (5): 23-27.)

[4] Ding D R, Gai J Y, Cui Z L, et al. Development of a cytoplasmic-nuclear male-sterile line of soybean [J]. Euphytica,2002,124: 85-91.

[5] 丁德荣,盖钧镒. 大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 花粉败育的细胞学研究[J]. 大豆科学,2001,20 (3): 167-171. (Ding D R, Gai J Y. Cytological studies on pollen abortion in cytoplasmic-nuclear male sterile soybean line NJCMS1A [J]. Soybean Science,2001,20 (3): 167-171.)

[6] Yang S P, Duan M P, Meng Q C, et al. Inheritance and gene tagging of male fertility restoration of cytoplasmic-nuclear male sterile line NJCMS1A in soybean[J]. Plant Breeding,2007,126: 302-305.

[7] 曾维英,杨守萍,盖钧镒,等. 大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 及其保持系的花药差异蛋白质组学研究[J]. 中国农业科学,2007,40(12): 2679-2687. (Zeng W Y, Yang S P, Gai J Y,

et al. Proteomic study of anther differentiation between cytoplasmic-nuclear male sterile line NJCMS1A and its maintainer in soybean [*Glycine max* (L) Merr.] [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40 (12) : 2679-2687.)

[8] 曾维英,杨守萍,喻德跃,等. 大豆质核互作雄性不育系 NJCMS2A 及其保持系的花药蛋白质组比较研究[J]. *作物学报*, 2007, 33 (10) : 1637-1643. (Zeng W Y, Yang S P, Yu D Y, et al. A comparative study on anther proteomics between cytoplasmic-nuclear male-sterile line NJCMS2A and its maintainer of soybean [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33 (10) : 1637-1643.)

[9] 韩利涛,姜伟,杨守萍,等. 大豆细胞质雄性不育系 MADS-box 基因的分离分析[J]. *作物学报*, 2010, 36 (6) : 905-910. (Han L T, Jiang W, Yang S P, et al. Isolation and Analysis of MADS-box gene from soybean (*Glycine max* L. Merr.) cytoplasmic male sterile line [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2010, 36 (6) : 905-910.)

[10] Jiang W, Yang S P, Yu D Y, et al. Cloning and characterization of a novel gene *GmMF1* in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10 (12) : 1834-1841.

[11] Li J J, Han S H, Ding X L, et al. Comparative transcriptome analysis between the cytoplasmic male sterile line NJCMS1A and its maintainer NJCMS1B in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (5) : e0126771.

[12] Li J J, Ding X L, Han S H, et al. Differential proteomics analysis to identify proteins and pathways associated with male sterility of soybean using iTRAQ-based strategy [J]. *Journal of Proteomics*, 2016, 138 : 72-82.

[13] Ding X L, Li J J, Zhang H, et al. Identification of miRNAs and their targets by high-throughput sequencing and degradome analysis in cytoplasmic male-sterile line NJCMS1A and its maintainer NJCMS1B of soybean [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17 : 24.

[14] 刘齐元,刘飞虎,何宽信,等. 烟草雄性不育的细胞形态学及生理生化研究进展(综述)[J]. *亚热带植物科学*, 2004, 33 (1) : 69-72. (Liu Q Y, Liu F H, He K X, et al. A review of progress in cytomorphology, physiology and biochemistry of male sterility in tobacco [J]. *Subtropical Plant Science*, 2004, 33 (1) : 69-72.)

[15] 刘金兵,侯喜林,陈晓峰,等. 甜椒胞质雄性不育系及其保持系生化特性研究[J]. *园艺学报*, 2006, 33 (3) : 629-631. (Liu J B, Hou X L, Chen X F, et al. Studies on biochemical characters in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) CMS line and its maintainer [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33 (3) : 629-631.)

[16] 邓明华,邹学校,周群初,等. 辣椒细胞质雄性不育系与保持系生化特性研究[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2002, 28 (6) : 492-494. (Deng M H, Zou X X, Zhou Q C, et al. Study on some biochemical character in cytoplasmic male-sterile lines and their maintainer lines of hot pepper[J]. *Journal of Hunan Agricultural University*, 2002, 28 (6) : 492-494.)

[17] 马小定,邢朝柱. 棉花雄性不育研究和应用进展[J]. *棉花学报*, 2006, 18 (5) : 309-314. (Ma X D, Xing C Z. Advanced study and utilization of the male sterility in cotton [J]. *Cotton Science*, 2006, 18 (5) : 309-314.)

[18] 汤伟华,张蜀宁,孔艳娥,等. 不同倍性不结球白菜 Pol CMS 及保持系生理生化特性比较[J]. *西北植物学报*, 2009, 29 (1) : 80-84. (Tang W H, Zhang S N, Kong Y E, et al. Comparison on physiological and biochemical properties of Pol CMS lines and their maintainer lines in different ploid materials of non-heading chinese cabbage [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, 29 (1) : 80-84.)

[19] 孔艳娥,张红梅,韩业飞,等. 茎芥菜胞质四倍体白菜雄性不育系及保持系生理生化特性研究[J]. *江西农业学报*, 2011, 23 (7) : 12-15. (Kong Y E, Zhang H M, Han Y F, et al. Study on physiological and biochemical characters of tetraploid MtCMS and its maintainer line [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2011, 23 (7) : 12-15.)

[20] 王书强,崔辉梅,石国亮. 大白菜 *Ogura* 雄性不育系及保持系生理生化分析[J]. *新疆农业科学*, 2011, 48 (1) : 110-115. (Wang S Q, Cui H M, Shi G L. Analysis on physiological and biochemical characteristics of *Ogura* CMS line and its maintainer line in *Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis* [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48 (1) : 110-115.)

[21] 安岩,沈火林,乔志霞. 胡萝卜雄性不育系和保持系生理生化特性的比较分析[J]. *中国瓜菜*, 2008 (1) : 3-7. (An Y, Shen H L, Qiao Z X. Physiological and biochemical characterization of a carrot (*Daucus carota* L.) male-sterile line and its maintainer line [J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2008 (1) : 3-7.)

[22] 苗锦山,杨文才,刘彩霞,等. 葱胞质雄性不育花蕾生化物质含量和能量代谢酶活性的动态变化特征[J]. *西北植物学报*, 2010, 30 (6) : 1142-1148. (Miao J S, Yang W C, Liu C X, et al. Dynamic changes of physiological and biochemical substances and energy metabolism enzyme activities in bud of welsh onion CMS line [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sinica*, 2010, 30 (6) : 1142-1148.)

[23] 韩晓雨,王淑芬,魏佑营,等. 萝卜雄性不育系与保持系的生理生化指标分析[J]. *山东农业科学*, 2012, 44 (12) : 36-38. (Han X Y, Wang S F, Wei Y Y, et al. Physiological and biochemical characterization of radish male-sterile line and its maintainer line [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2012, 44 (12) : 36-38.)

[24] 高国训,王武台,吴锋,等. 芹菜胞质雄性不育系与保持系生理生化特性分析[J]. *天津农业科学*, 2013, 19 (8) : 1-4. (Gao G X, Wang W T, Wu F, et al. Analysis on physiological and biochemical characteristics of cytoplasmic male sterile line and its maintainer line in celery [J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2013, 19 (8) : 1-4.)

[25] 陈秒,尹超,刘烨,等. 水稻温敏核不育系育性转换因素及生理生化特性[J]. *作物研究*, 2013, 27 (2) : 164-168. (Chen M, Yin C, Liu Y, et al. Fertility conversion factors and physiological and biochemical characteristics in thermo-sensitive genic male-sterile (TGMS) rice [J]. *Crop Research*, 2013, 27 (2) : 164-168.)

[26] 鲁美宏,孙万仓,孔德晶,等. 白菜型冬油菜不育系 LRCMS 花器生理生化特性及其雄蕊发育特征研究[J]. *西北植物学报*, 2014, 34 (3) : 509-515. (Lu M H, Sun W C, Kong D J, et al. Physiobiochemical characteristics and stamen development characteristics of LRCMS flower in winter rapeseed (*Brassica campestris*) [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34 (3) : 509-515.)

[27] 邹佳,蔺万煌,罗红兵,等. 玉米 C 型胞质雄性不育系 POD、CAT、SOD 活性及 POD 酶谱分析[J]. *玉米科学*, 2009, 17 (6) : 45-49. (Zou J, Lin W H, Luo H B, et al. Comparison the activities of peroxidase, catalase, superoxide dismutase and peroxidase zymogram in C-cytoplasmic male sterile line on maize [J]. *Journal of Maize Sciences*, 2009, 17 (6) : 45-49.)

[28] Wu Z M, Cheng J W, Qin C, et al. Differential proteomic analysis of anthers between cytoplasmic male sterile and maintainer lines in

Capsicum annuum L. [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14: 22982-22996.

[29] Tadege M, Kuhlemeier C. Aerobic fermentation during tobacco pollen development [J]. Plant Molecular Biology, 1997, 35: 343-354.

[30] 刘齐元, 朱肖文, 刘飞虎, 等. 烟草雄性不育花蕾发育过程中几种物质含量的变化[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29 (3): 336-340. (Liu Q Y, Zhu X W, Liu F H, et al. Changes of the contents of several substances during the development of male sterile flower buds in tobacco [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2007, 29 (3): 336-340.)

[31] Mamun E A, Alfred S, Cantrill L C, et al. Effects of chilling on male gametophyte development in rice [J]. Cell Biology International, 2006, 30: 583-591.

[32] Siedow J N, Umbach A L. Plant mitochondrial electron transfer and molecular biology [J]. The Plant Cell, 1995, 7: 821-831.

[33] Bergman P, Edqvist J, Farbos I, et al. Male-sterile tobacco displays abnormal mitochondrial *atp1* transcript accumulation and reduced floral ATP/ADP ratio [J]. Plant Molecular Biology, 2000, 42: 531-544.

[34] Teixeira R T, Knorr P, Glimelius K. Modified sucrose, starch, and ATP levels in two alloplasmic male-sterile lines of *B. napus* [J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56 (414): 1245-1253.

[35] 王秀珍, 滕晓月, 阎隆飞, 等. 玉米及高粱花药中三磷酸腺苷(ATP)含量与细胞质雄性不育的关系[J]. 作物学报, 1986, 12 (3): 177-181. (Wang X Z, Teng X Y, Yan L F, et al. The relationship between the ATP content in anthers of maize and sorghum and cytoplasmic male-sterility [J]. Acta Agronomica Sinica, 1986, 12 (3): 177-181.)

[36] 邓继新, 刘文芳, 肖翊华. HPGMR 花粉发育期花药 ATP 含量及核酸与蛋白质的合成研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1990(3): 85-88. (Deng J X, Liu W F, Xiao Y H. Changes in ATP content and nucleic acid and protein synthetic activities of the anther of HPGMR during pollen development [J]. Journal of Wuhan University (Natural Science Edition), 1990(3): 85-88.)

[37] 陈贤丰, 梁承邨. HPGMR 不育花药能量代谢, H₂O₂ 的积累与雄性不育的关系[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27 (1): 21-24. (Chen X F, Liang C Y. Relation of energy metabolism in HPGMR abortive anthers and accumulation of H₂O₂ to male sterility [J]. Plant Physiology Communications, 1991, 27 (1): 21-24.)

[38] 任雪松, 李成琼, 宋洪元. 甘蓝胞质雄性不育系和保持系花药同工酶分析[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26 (4): 433-436. (Ren X S, Li C Q, Song H Y. Analysis of isozymes in anthers of male sterile line and its maintainer of cabbage [J]. Journal of Southwest Agricultural University (Natural Science Edition), 2004, 26 (4): 433-436.)

[39] Huber S C. Role of sucrose-phosphate synthase in partitioning of carbon in leaves [J]. Plant Physiology, 1983, 71: 818-821.

[40] Winter H, Huber S C, Sharkey T. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: Localization and regulation of activity of key enzymes [J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 35: 253-289.

[41] 宫长荣, 宋朝鹏, 张骏, 等. 烘烤条件下烟叶抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统的变化[J]. 中国农学通报, 2005, 21 (10): 185-187. (Gong C R, Song Z P, Zhang J, et al. The changes of ascorbic acid-glutathione recycle system in tobacco leaves under different curing conditions [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21 (10): 185-187.)

[42] Esaka M, Fujisawa K, Goto M, et al. Regulation of ascorbate oxidase expression in pumpkin by auxin and copper [J]. Plant Physiology, 1992, 100: 231-237.

[43] Kato N, Esaka M. Changes in ascorbate oxidase gene expression and ascorbate levels in cell division and cell elongation in tobacco cells [J]. Physiologia Plantarum, 1999, 105: 321-329.

[44] 何之常, 徐乃瑜. 吡啶乙酸氧化酶和过氧化物酶关系的同工酶研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1994 (1): 91-95. (He Z C, Xu N Y. Studies on relationship between the indole-3-acetic acid oxidase and the peroxidase in isoenzyme analysis [J]. Journal of Wuhan University (Natural Science Edition), 1994 (1): 91-95.)