

红莲型水稻细胞质雄性不育花粉总蛋白质初步比较分析

文李^{1,2}, 刘盖², 王坤², 彭晓珏², 李国民¹, 陶钧¹, 朱英国²

(1. 长沙理工大学生物与食品工程学院, 长沙 410076; 2. 武汉大学生命科学学院, 植物发育生物学教育部重点实验室, 武汉 430072)

摘要:采用固相 pH 梯度/SDS-PAGE 双向电泳对红莲型细胞质雄性不育水稻的不育系(YTA)和保持系(YTB)二核期花粉总蛋白质进行了分离,通过银染显色,获得了分辨率和重复性较好的双向电泳图谱。用 PDQuest 2DE 软件可识别约 1500 个蛋白质点,其中差异表达的蛋白质点数为 120。将其中 15 个差异点采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)进行了肽质指纹图分析,通过采用 Mascot 软件对 MSDB 数据库查询,其中 7 个蛋白质点得到了鉴定。YTA 相对于 YTB 有部分参与物质和能量代谢的蛋白质缺失或表达量降低,这些蛋白质分别是水稻线粒体 H⁺-转运 ATPase(H⁺-ATPase)α 链、盐诱导型膜联蛋白、线粒体 NAD⁺-依赖型苹果酶和磷酸核糖焦磷酸合成酶等。这些蛋白质的表达下调或缺失可能与线粒体提供能量不足而导致的花粉不能正常发育有关。线粒体电压依赖性阴离子通道(VDAC)这一重要蛋白质在 YTA 中的上调表达有可能与花粉败育过程中细胞的程序性死亡相关。

关键词:水稻; 花粉; 细胞质雄性不育; 蛋白质组学

中图分类号: Q946.1; S511 文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)02-0112-06

Preliminary Analysis of the Total Proteins of HL Type Cytoplasmic Male Sterility Rice Pollen

WEN Li^{1,2}, LIU Gai², WANG Kun², PENG Xiao-Jue², LI Guo-Ming¹, TAO Jun¹, ZHU Ying-Guo²

(1. College of Biological and Food Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410076, China;

2. Key Laboratory of MOE in Plant Developmental Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The proteins of HL type cytoplasmic male sterility (CMS) rice pollen of YTA (male-sterile line) and YTB (maintenance line) were separated by two-dimensional electrophoresis with immobilized pH (3-10 non-linear, NL) gradients as the first dimension and SDS-PAGE as the second. The silver-stained protein spots were analyzed using Image Master 2D software, there were about 1500 detectable spots on each 2D-gel, and about 120 spots were differentially expressed. With direct MALDI-TOF mass spectrometry analysis and protein database searching, 7 protein spots out of 15 were identified. Among those proteins, there were 4 proteins were down-regulated or absent in YTA, which were a putative phosphoribosyl pyrophosphate synthase, a putative membrane-associated salt-inducible protein, a putative mitochondrial NAD⁺-dependent malic enzyme and a rice mitochondrion H⁺-transporting two-sector ATPase alpha chain respectively. It seemed reasonable to infer that the decrease or absence of those proteins in pollen might relate to the pollen sterility caused by the mitochondrial insufficient energy. While the up-regulation of the protein, mitochondrial voltage-dependent anion-selective channel (VDAC) protein, in YTA, might involve in the programmed cell death during the pollen abortion.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.); Pollen; Cytoplasmic male sterility; Proteomics

细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)普遍存在于高等植物中,其特点为植物雄性生殖系统不能正常发育,不能产生有功能的花粉或花药不开裂,而同时雌性生殖系统发育不受限制。由于 CMS 植株自身不能产生有功能的花粉,避免了作

物制备杂种过程中人工去雄这一繁琐的大量机械劳动,同时也克服化学去雄的不彻底性和对环境的潜在影响,因此它成为众多具有经济价值的作物制备杂种和利用杂种优势的重要基础。研究 CMS 分子机理不仅具有重要的生产利用价值,还具有重要的

收稿日期: 2006-11-07, 修回日期: 2006-12-26。

基金项目: 国家重大基础研究 973 项目(2001CB108806) [Chinese National 973 Program (Grant number: 2001CB108806)]; 中国高校博士点专项研究基金(20020486037) [Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (20020486037)]。

作者简介: 文李(1971-),女,长沙理工大学生物与食品工程学院讲师,武汉大学生命科学学院博士研究生,主要从事有关水稻蛋白质组学及水稻雄性不育机理研究。

理论意义^[1]。目前对雄性不育机理的研究主要集中在分子生物学水平的研究,对恢复基因的研究取得了很大的突破,CMS-S型玉米和CMS-BT型水稻不育相关的恢复基因均得到了深入的研究^[2,3]。本实验室在此方面已进行了大量研究工作,获得了水稻红莲型细胞质雄性不育基因的嵌合基因^[4,5],并且通过遗传作图的方法对该基因的恢复基因进行了染色体定位^[6],但是目前对水稻细胞质雄性不育及育性恢复的分子基础仍不清楚。

水稻红莲型细胞质雄性不育材料主要表现在小孢子发育二核期花粉败育,对不育系和保持系二核花粉蛋白质的研究有助于了解水稻红莲型细胞质雄性不育的败育机理。在对水稻红莲型细胞质雄性不育的不育系和保持系花药总蛋白质比较研究的基础上^[7],我们利用蛋白质组技术对水稻红莲型细胞质雄性不育的不育系和保持系花粉总蛋白质进行分析,为进一步开展水稻红莲型细胞质雄性不育败育机理的研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻(*Oryza sativa L.*)红莲型细胞质雄性不育系粤泰A(YTA)和保持系粤泰B(YTB)于2004年夏天栽种于武汉大学试验田。根据形态学和显微镜观察,确定小孢子发育时期。取花粉发育至二核期穗子,立即置-70℃冰箱备用。

1.2 方法

1.2.1 花粉的提取 临用前取出穗子,匀浆(匀浆缓冲液为:30 mmol/L Hepes-Tris, 250 mmol/L 甘露醇, 3 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT; pH 7.4),用300目微孔滤膜过滤,取滤液4℃ 800 g离心5 min,弃上清,沉淀用匀浆缓冲液重悬,4℃沉淀过夜,收集沉淀即为含量丰富且杂质极少的花粉。用匀浆液重悬花粉,4℃ 200 g离心5 min,重复该清洗步骤5次,并于光学显微镜下观察,视野内可观察到不含杂质的花粉,将花粉冻干,置-70℃冰箱备用。

1.2.2 花粉蛋白质提取方法 临用前取出冻干的花粉,加液氮和石英砂将花粉研磨成粉末,用TCA/丙酮法提取总蛋白^[5]。用-20℃预冷蛋白提取液(10% TCA, 0.07% β-ME)沉淀蛋白质,置-20℃沉淀过夜,期间振荡多次,18 000 g离心30 min,弃上清,用含0.07% β-ME丙酮溶液冲洗沉淀过夜,18 000 g低温离心30 min,重复6次,直至蛋白质沉淀物为纯白色。取沉淀物,冻干,制成干粉,置

-20℃冰箱备用。

1.2.3 第一向固相pH梯度等电聚焦 主要按Görg等^[8]的方法和IPGphor™等电聚焦系统指南进行。花粉总蛋白质提取物与水化液[8 mol/L尿素+4% CHAPS+18 mmol/L DTT+2 mmol/L TBP(tributylphosphine)+0.5% IPG缓冲液]充分混合,室温震荡处理30 min,上样前14 000 g离心1 h。采用Bradford方法测定蛋白质浓度,将含样本蛋白质500 μg和2DE蛋白质标准(Amersham)的样本液(总体积为350 μL)加入IPG strip持胶槽,将IPG非线性干胶条(Amersham)pH 3~10 NL(180 mm×3 mm×0.5 mm)去保护膜,胶面朝下,轻轻置入持胶槽中,覆盖一层矿物油盖好持胶槽盖子,置于IPGphor™等电聚焦仪(Amersham)的电极板上,水化和聚焦在20℃自动进行,总电压时间积为55 890 Vh,其中水化在30 V低电压进行13 h,然后经过500 V 1 h、1000 V 1 h,最后稳定在8000 V下进行。

1.2.4 第二向垂直板SDS-PAGE电泳 等电聚焦结束后,迅速取出带样品的IPG胶条分别于20 mL平衡液A(50 mmol/L Tris-HCl pH 8.8+6 mol/L尿素+30%甘油+2% SDS+0.2%DTT+痕量溴酚蓝)和20 mL平衡液B(50 mmol/L Tris-HCl pH 8.8+6 mol/L尿素+30%甘油+2% SDS+3%碘乙酰胺+痕量溴酚蓝)中各平衡15 min。将平衡后IPG胶条移至厚度为0.75 mm的12%连续分离胶上端,并在其一端的外侧加上SDS标准蛋白质,排净气泡并用1%琼脂糖凝胶封闭,15℃循环水冷却,用25 mA/2块胶恒流电泳30 min,换用50 mA/2块胶恒流电泳直至溴酚蓝到达距胶底边约1 cm处停止电泳。

1.2.5 银染 按Pharmacia公司的蛋白质银染试验盒的操作手册进行。其基本过程依次是:40%乙醇+10%冰乙酸固定30 min;30%乙醇+0.2%Na₂S₂O₃+6.8%乙酸钠,洗涤3次,每次5 min;0.25%AgNO₃+0.0148%甲醛染色20 min;洗涤2次,每次1 min;2.5%Na₂CO₃+0.0074%甲醛显影至斑点清晰为止;加入1.46%EDTA-Na₂·2H₂O终止10 min;洗涤3次,每次5 min;用30%乙醇+4.6%甘油保存。

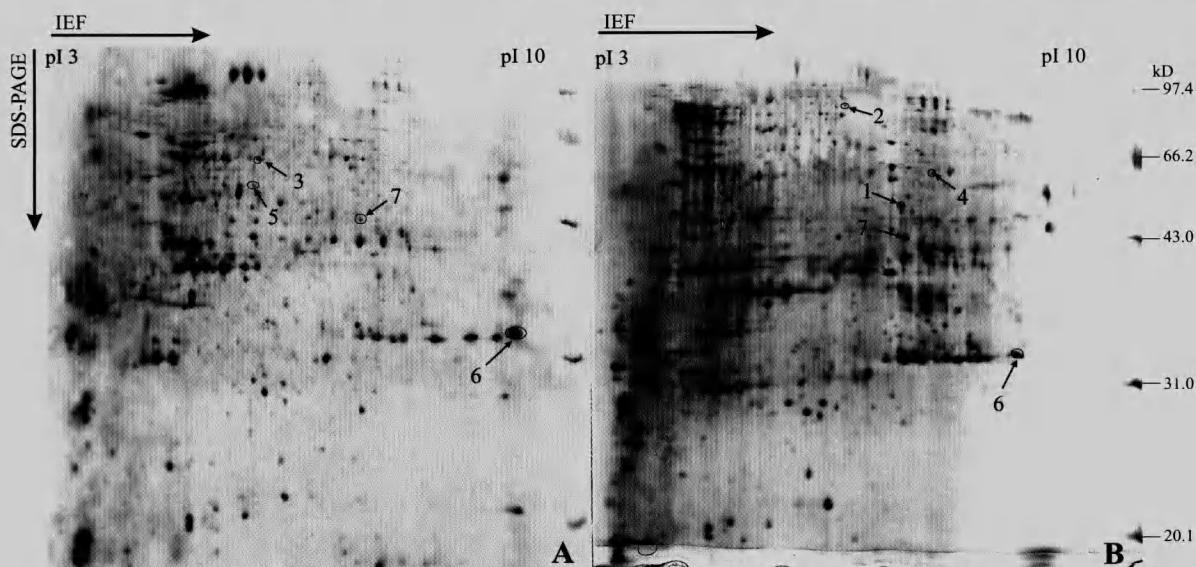
1.2.6 凝胶图像分析 银染显色的凝胶扫描获取图像,用PDQuest 7.40(Bio-Rad)分析软件对图像进行背景消减、斑点检测、匹配和获取斑点位置坐标等。

1.2.7 2D胶蛋白质点的肽质谱指纹图分析 参照谢锦云等^[9]方法进行。

2 实验结果

图1中A和B分别为红莲型细胞质雄性不育水稻不育系(YTA)和保持系(YTB)在小孢子发育

二核期花粉总蛋白质的双向电泳图谱。经扫描获得2D胶银染图像后,用PDQuest 2DE分析软件在pI 3.0~10.0,分子量9.0~97.0 kD范围内平均识别出约1500个蛋白质点。通过严格一致的操作程序,

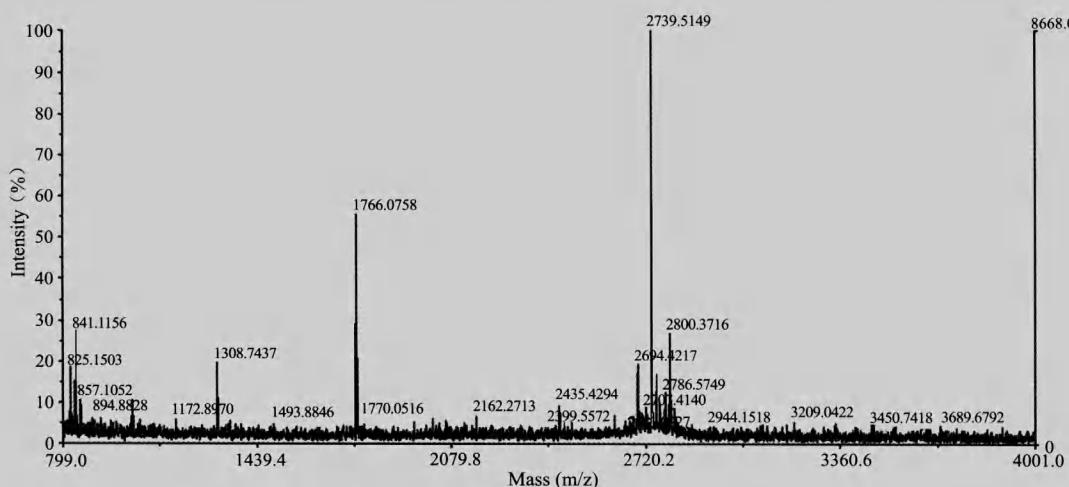


A: YTA; B: YTB。已经鉴定出的蛋白质点用箭头标出并用数字标明

A: YTA; B: YTB. The analyzed spots by MALDI-TOF/MS are indicated by arrows, and the arbitrary identifiers correspond to those listed in Table 1

图1 YTA 和 YTB 花粉总蛋白质双向电泳银染图谱(采用 PDQuest 7.40 软件分析)

Fig. 1 2-DE silver-stained maps of pollen proteins from YTA and YTB (Analyzed by PDQuest 7.40 software)



蛋白质点从2D胶上切下并用胰酶降解后对酶解片段进行质谱分析,利用MASCOT软件对MSDB数据库进行搜索,该蛋白质为线粒体NAD⁺-依赖型苹果酶。图中与数据库中相匹配的肽片段分子量(D)分别是:1308.7437、1766.0758、2694.4217、2739.5149、2786.5749和2800.3716。

The protein excised from gels was digested with trypsin and the resulting peptides were analyzed, database searching using MASCOT software against MSDB database identified the protein as putative mitochondrial NAD⁺-dependent malic enzyme protein. Among the detected peptides, 6 peptides were well matched with the data in databases, and their experimental molecular masses (D) were 1308.7437, 1766.0758, 2694.4217, 2739.5149, 2786.5749 and 2800.3716, respectively.

图2 双向凝胶电泳图谱中蛋白质点4的肽质指纹图谱

Fig. 2 Peptides mass fingerprinting of protein spot 4

包括电泳温度、电流电压和样品上样量,得到了重复性很高的2D电泳图谱,不育系和保持系花粉总蛋白质2D电泳图谱十分接近,蛋白质大部分分布在分子量30.0~90.0 kD、等电点4.0~7.0之间。

通过对不育系和保持系花粉总蛋白质2D图谱的分析,发现在YTA/YTB之间差异85点,其中YTB相对于YTA表达上调的有58点,表达下调的

有27点。仅对其中的15个点进行MALDI-TOF/MS分析,有7个蛋白质得到鉴定。对蛋白质点4的肽质指纹图谱分析结果见图2。

表1中列出了采用MALDI-TOF/MS技术鉴定出来的蛋白质信息,表中编号对应图1中标出的数字,并用箭头标明所对应在2DE胶上的蛋白质点。

表1 肽质指纹图鉴定图1中部分差异蛋白质点

Table 1 Rice pollen proteins identified by peptides mass fingerprinting in Fig. 1

编号 No.	匹配蛋白质 Matched protein	来源物种 Organism	数据库登录号 Accession No.	分子量/等电点* Mr/pI	表达量调节** Spot regulation	
					粤泰A YTA	粤泰B YTB
1	水稻线粒体H ⁺ -转运ATPase α链 H ⁺ -transporting two-sector ATPase alpha chain - rice mitochondrion	<i>O. sativa</i>	P15998	55.53/7.9	-	+
2	盐诱导型膜联蛋白 Putative membrane-associated salt-inducible protein	<i>O. sativa</i>	Q8W2V6	78.02/9.2	-	+
3	黄连素桥酶 Putative berberine bridge enzyme	<i>O. sativa</i>	Q84PV5	60.10/6.0	+	-
4	线粒体NAD ⁺ -依赖型苹果酶 Putative mitochondrial NAD ⁺ -dependent malic enzyme	<i>O. sativa</i>	Q9FVY8	57.34/8.2	-	+
5	OSJNBa0033H08.6蛋白 OSJNBa0033H08.6 protein	<i>O. sativa</i>	Q7XXL2	59.38/5.7	+	-
6	线粒体电压依赖性阴离子选择通道蛋白 Mitochondrial voltage-dependent anion-selective channel protein	<i>O. sativa</i>	Q6L515	29.58/9.6	++	+
7	磷酸核糖焦磷酸合成酶 Putative phosphoribosyl pyrophosphate synthase	<i>O. sativa</i>	Q8S2E5	44.17/6.9	+	++

*:相匹配蛋白质的分子量和等电点; **: -, 表示蛋白质点缺失; +, 表示蛋白质点出现; ++, 表示表达量增加2倍以上。

*: Molecular weight and pI of matched protein. **: -, Indicates that the protein spot is absent; +, Indicates that the spot is present; ++, Indicates more than two-fold increase.

3 讨论

双向电泳作为蛋白质组学研究的核心技术之一,目前已广泛地应用在植物领域^[10~12],并且成功应用于水稻代谢和调节等方面的研究^[11]。利用蛋白质组学技术分析花药总蛋白,旨在找到花粉发育过程中与CMS相关的蛋白质,为更进一步了解水稻红莲型细胞质雄性不育败育发生的机理提供依据。在比较不育系和可育系花药总蛋白质^[7]及线粒体膜蛋白质^[13]时发现,不育系花粉发育过程中氮代谢、碳代谢、淀粉和蛋白质的合成受到影响,引起花粉发育所必需的底物和能量降低,可能是导致花粉败育的重要原因。水稻红莲型细胞质雄性不育为配子体不育,不育系花粉在二核期败育,选用发育至二核期花粉为实验材料,旨在找到与花粉败育密切相关的蛋白质。通过比较不育系和保持系二核期花粉蛋白质发现,不育系较保持系的花粉蛋白质数目和部分蛋白质表达量均有下降,说明在花粉败育后,有大量蛋白质损失。

长期以来,大量的研究工作证明线粒体功能与

高等植物的细胞质雄性不育密切相关^[14~17]。目前,对于细胞质雄性不育机理比较认同的假说是,由于线粒体功能失调,不能提供小孢子发育所需的大量能量,从而导致花粉败育^[18,19]。本研究鉴定的7个蛋白质点中,有3个为线粒体蛋白质,分别为H⁺-ATPase α链(ATPA),NAD⁺-依赖型苹果酶和VDAC(表1),其中前两种蛋白质在YTA中表达缺失,最后一种在YTB中表达上调。

线粒体膜H⁺-ATPase属于F₀F₁型ATP酶,具有ATP水解和ATP合成功能,是线粒体内膜上电子传递链的重要酶,也是线粒体产能的重要功能酶。α链是F1亚基的重要组成单位之一^[20],此链的缺失必然与ATPase的功能丧失或减弱相关。目前,已发现多个线粒体ATPase亚基与细胞质雄性不育相关,如水稻^[21,22]、玉米^[23]、高粱^[24]和向日葵^[16]等。Wen等研究发现,在不育突变体中检测到ATPA转录本表达量下降^[25],其表达调节单倍体花粉的败育,说明该蛋白质与不育直接相关,本文的研究结果与之吻合。

植物NAD⁺-依赖型苹果酶催化苹果酸氧化脱

羧反应生成丙酮酸同时产生 CO_2 , CO_2 可以参与卡尔文循环, 形成淀粉等^[26]。丙酮酸是糖代谢和脂类代谢的重要中间产物, 丙酮酸经丙酮酸脱氢酶系催化即可生成乙酰辅酶 A。由于乙酰辅酶 A 是 TCA 循环、脂肪酸代谢的重要底物, 乙酰辅酶 A 缺乏可能导致 TCA 循环不能正常进行, 因而不能产生小孢子发育所需要的足够能量。本研究中不育系二核期花粉中 NAD^+ -依赖型苹果酶的缺乏, 可能与这些代谢途径相关联。

VDAC 是存在于线粒体外膜上的膜蛋白, 能在膜上形成亲水性通道, 调控阴离子、阳离子、ATP 以及其他代谢物进出线粒体, 在调节细胞代谢、维持胞内钙稳态, 调节细胞凋亡和坏死等过程中发挥重要作用^[27]。本实验室 Li 等^[28]的实验证明红莲型水稻 CMS 花粉败育过程是细胞程序化死亡 (programmed cell death, PCD) 的过程, PCD 过程首先也是线粒体失去功能, 植物线粒体在 PCD 中起着同动物线粒体相似的介导细胞死亡信号的作用, 线粒体膜完整性消失, 细胞色素 C 释放, 乃至核膜完整性消失、液泡膜破裂, 最后水解酶释放到细胞质中, 引起细胞死亡等。本实验结果表明, 雄性不育系中线粒体内某些酶缺失或减少, 也可能导致线粒体功能失调, 影响能量代谢。而不育系中与淀粉合成相关酶缺失以及能量缺乏是引起雄性不育的主要原因。本研究结果发现不育系中 VDAC 表达量上调, 可能与花粉败育过程中 PCD 相关。

本研究采用蛋白质组学方法获得了水稻红莲型细胞质雄性不育系与保持系间二核期花粉差异表达蛋白质的重要信息, 实验进一步分析这些差异蛋白质与水稻红莲型细胞质雄性不育系之间的关系, 将有助于进一步认识水稻该类型细胞质雄性不育的机理。

参考文献:

- [1] 朱英国, 利容千, 王明全, 何之常, 王建波. 水稻雄性不育生物学 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2000. 100–123.
- [2] Wang Z, Zou Y, Li X, Zhang Q, Chen L, Wu H, Su D, Chen Y, Guo J, Luo D, Long Y, Zhong Y, Liu Y G. Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing [J]. *Plant Cell*, 2006, 18: 676–687.
- [3] Xiao H L, Zhang F D, Zheng Y L. The 5' stem-loop and its role in mRNA stability in maize S cytoplasmic male sterility [J]. *Plant Journal*, 2006, 47(6): 864–872.
- [4] Li S, Yang G, Li S, Li Y, Chen Z, Zhu Y. Distribution of fertility-restorer genes for wild-abortive and Honglian CMS Lines of rice in the AA genome species of genus *Oryza* [J]. *Ann Bot (Lond)*, 2005, 96(3): 461–466.
- [5] Yi P, Wang L, Sun Q P, Zhu Y G. Discovery of mitochondria chimeric gene associated with male sterility of Honglian-rice [J]. *Chin Sci Bull*, 2002, 47: 744–747.
- [6] Liu X Q, Xu X, Tan Y P, Li S Q, Hu J, Huang J Y, Yang D C, Li Y S, Zhu Y G. Inheritance and molecular mapping of two fertility-restoring loci for Honglian gametophytic cytoplasmic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Mol Gen Genom*, 2004, 271(5): 586–594.
- [7] 文李, 刘盖, 张再君, 陶钧, 万翠香, 朱英国. 红莲型水稻细胞质雄性不育花药总蛋白质组学初步分析 [J]. 遗传, 2006, 28(3): 311–316.
- [8] Görg A, Obermaier C, Boguth G, Weiss W. Recent developments in two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients: wide pH gradients up to pH 12, longer separation distances and simplified procedures [J]. *Electrophoresis*, 1999, 20(4–5): 712–717.
- [9] 谢锦云, 李小兰, 陈平, 曹梦林, 陈良碧, 梁宋平. 温敏核不育水稻花药蛋白质组初步分析 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2003, 19(2): 215–221.
- [10] Rakwal R, Agrawal G K, Rice proteomics: current status and future perspectives [J]. *Electrophoresis*, 2003, 24(19–20): 3378–3389.
- [11] Tsuneyzuka H, Fujiwara M, Kawasaki T, Shimamoto K. Proteome analysis of programmed cell death and defense signaling using the rice lesion mimic mutant cdr2 [J]. *Mol Plant-Mic Intr*, 2005, 18(1): 52–59.
- [12] Tanaka N, Mitsui S, Nobori H, Yanagi K, Komatsu S. Expression and function of proteins during development of the basal region in rice seedlings [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2005, 4(6): 796–808.
- [13] Wen L, Liu G, Zhang Z J, Wan C X, Zhu Y G. Proteomic analysis of the mitochondrial membrane proteins of HL type cytoplasmic male sterile rice [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2004, 3(10): S209.
- [14] Kadowaki K, Suzuki T, Kazama S. A chimeric gene containing the 5' portion of atp6 is associated with cytoplasmic male-sterility of rice [J]. *Mol Gen Genet*, 1990, 224(1): 10–16.
- [15] Formanova N, Li X Q, Ferrie A M, Depauw M, Keller W A, Landry B, Brown G G. Towards positional cloning in *Brassica napus*: generation and analysis of doubled haploid *B. rapa* possessing the *B. napus* pol CMS and Rfp nuclear restorer gene [J]. *Plant Mol Biol*, 2006, 61(1–2): 269–281.
- [16] Sabar M, Gagliardi D, Balk J, Leaver C J. ORFB is a subunit of $F_1F_{(0)}$ -ATP synthase: insight into the basis of cytoplasmic male sterility in sunflower [J]. *EMBO Rep*, 2003, 4(4): 381–386.
- [17] Hanson M R, Wilson R K, Bentolila S, Kohler R H, Chen H C. Mitochondrial gene organization and expression in petunia male fertile and sterile plants [J]. *J Hered*, 1999, 90(3): 362–368.
- [18] Hanson M R, Bentolila S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development [J]. *Plant Cell*, 2004, 16: S154–S169.
- [19] Linke B, Börner T. Mitochondrial effects on flower and pollen

- development [J]. *Mitochondrion*, 2005, 5:389 – 402.
- [20] Boutry M, Briquet M, Goffeau A. The alpha subunit of a plant mitochondrial F₁-ATPase is translated in mitochondria [J]. *J Biol Chem*, 1983, 258(14):8524-8526.
- [21] Iwabuchi M, Kyozuka J, Shimamoto K. Processing followed by complete editing of an altered mitochondrial atp6 RNA restores fertility of cytoplasmic male sterile rice [J]. *EMBO J*, 1993, 12(4):1437 – 1446.
- [22] Akagi H, Sakamoto M, Shinjyo C, Shimada H, Fujimura T. A unique sequence located downstream from the rice mitochondrial atp6 may cause male sterility [J]. *Curr Genet*, 1994, 25(1):52 – 58.
- [23] Gallagher L J, Betz S K, Chase C D. Mitochondrial RNA editing truncates a chimeric open reading frame associated with S male-sterility in maize [J]. *Curr Genet*, 2002, 42(3):179 – 184.
- [24] Salazar R A, Pring D R, Kempken F. Editing of mitochondrial atp9 transcripts from two sorghum lines [J]. *Curr Genet*, 1991, 20(6):483 – 486.
- [25] Wen L, Ruesch K L, Ortega V M, Kamps T L, Gabay-Laughnan S, Chase C D. A nuclear restorer-of-fertility mutation disrupts accumulation of mitochondrial ATP synthase subunit alpha in developing pollen of S male-sterile maize [J]. *Genetics*, 2003, 165(2):771 – 779.
- [26] Long J J, Wang J L, Berry J O. Cloning and analysis of the C4 photosynthetic NAD-dependent malic enzyme of amaranth mitochondria [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269:2827 – 2833.
- [27] 汤新慧,高静,徐强.线粒体电压依赖性阴离子通道及其调控功能[J].细胞生物学杂志,2005,27(2):113 – 116.
- [28] Li S Q, Wan C X, Kong J, Zhang Z J, Li Y S, Zhu Y G. Programmed cell death during microgenesis in a Honglian CMS line of rice is correlated with oxidative stress in mitochondria [J]. *Funct Plant Biol*, 2004, 31(4):369 – 376.

《武汉植物学研究》又被两家知名国际检索系统收录

从相关数据库统计机构获悉,《武汉植物学研究》2006 年度被日本《科学技术文献速报》(JST) 和美国《乌利希国际期刊指南》(UIPD) 收录。

日本《科学技术文献速报》(JST),由日本科学技术情报中心(JICST)编辑出版,是世界三大综合性文摘杂志之一。它以文摘形式快速报道世界各国文献资料,并在一些大型商业数据库系统(如 Dialog、STN 等)中设有网络数据库供联机检索。文摘范围涵盖化工、机械、生命科学、管理科学等领域,是一套全面快速反应世界科技发展状况的综合性文摘。不仅具有综合性(包括社会科学领域和经济领域),而且具有快速报道的特点。报道时差仅一个月左右,能与美国的《工程索引》和《化学文摘》相比。

美国《乌利希国际期刊指南》(UIPD)是一部权威的、反映世界各国期刊和报纸出版信息的综合性指南。该指南虽为国际性,但以西方的刊物为主。该指南的一个非常有价值的特点是能指明某刊物被哪些索引和文摘所收录,因而不仅可以籍此判断某刊物的质量和参考价值,也可以帮助检索并利用收录该刊的索引或文摘查找登载在该刊上的文章。

《武汉植物学研究》编辑部
2007 年 3 月