

几种高粱—苏丹草杂交种的光合特性 及同工酶酶谱差异

秦永梅,于 卓,赵 娜,赵晓杰,刘永伟

(内蒙古农业大学 农学院,内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要:分析了5种高丹草和2种苏丹草的光合特性和同工酶酶谱特征。依据净光合速率、气孔导度、胞间CO₂浓度和蒸腾速率4个光合指标的测定结果,综合评定7种供试材料光合能力的强弱顺序为:蒙农青饲3号高丹草>蒙农青饲1号高丹草=蒙农青饲2号高丹草=佳宝高丹草>黑壳苏丹草=白壳苏丹草>健宝高丹草。在分蘖期7种供试材料叶片的POD和SOD同工酶酶带数、酶带位点和酶带强弱均存在着一定的差异,从蛋白质分子水平上为各材料的鉴定提供了重要依据;同一种同工酶酶谱表型在同一植物的不同发育阶段和不同器官材料均表现不同,所获得的酶带遗传信息量比测定单一生育阶段和单一器官材料要大的多,更能系统地反映各供试材料间的遗传差异性。

关键词:高粱;苏丹草;杂交种;光合特性;同工酶酶谱表型

中图分类号:Q945;S544.035.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2004)03-0018-04

Differences of Photosynthesis Characteristics and Isozyme Zymograms in Several Hybrids Between Sorghum and Sudangrass

QIN Yong-mei, YU Zhuo, ZHAO Na, ZHAO Xiao-jie, LIU Yong-wei

(Agronomy College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China)

Abstract: The isozyme zymograms and photosynthetic characteristics of 5 pacesetters (hybrids between Sorghum and Sudangrass) and 2 sudangrasses were analyzed. Based on the results measured by 4 photosynthetic indices including net photosynthetic rate, stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration and transpiration, the results of comprehensive evaluation of photosynthesis capability of 7 tested plants showed that Mengnong Qingsi No. 3 > Mengnong Qingsi No. 1 = Mengnong Qingsi No. 2 = Jiabao > Black hull sudangrass = White hull sudangrass > Jianbao. 7 tested plant materials were different in the number, locus and intensity of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) isozyme bands at tillering stage, which are the important basis for identifying tested plants in protein level; the zymogram phenotypes of an isozyme are varied with different developing stages and different organs of a plant, to analyze and compare isozyme zymograms of tested plant materials at different developing stages and different organs could reflect the genetic differences more accurately to enhance the accuracy of identified result than at only one stage and one organ.

Key words: Sorghum; Sudangrass; Hybrid; Photosynthetic characteristics; Isozyme zymogram phenotype

利用不同的高粱(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)品种与不同的苏丹草(*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.)品种进行杂交产生的杂交种类型,一般称作高丹草,它们可集合双亲的优点,既有高粱的

抗旱抗寒性、耐倒伏性、高产等特性,又有苏丹草的分蘖性强、抗病性好、营养价值高、氰化物含量低、适口性佳等特性,为综合农艺性状优良的一年生饲用作物^[1,2]。近十几年来,国内外学者在高粱—苏丹

收稿日期:2004-04-01

作者简介:秦永梅(1981-),女,包头人,在读硕士研究生,从事饲用作物遗传育种研究;于卓为通讯作者。

草远缘杂交育种方面已取得卓著成就,并育成一批新品种应用于生产^[3,4]。以往的研究多着重于对亲本及其杂交种高丹草的形态特征、生态生物学特性、细胞遗传学特性、农艺特性等方面^[5,6],而对于高丹草新品种(或新品系)之间的光合性能及同工酶谱的比较研究还未见报道。

本研究拟对 5 个高丹草新品种(或新品系)和 2 个父本苏丹草的光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度、蒸腾速率和过氧化物酶同工酶(POD)、超氧化物歧化酶同工酶(SOD)酶谱等指标进行测定,旨在了解各品种间在光合性能及酶蛋白分子水平上的遗传差异,为杂交种高丹草的栽培利用及种质鉴定提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

材料为内蒙古农业大学选育的新品种蒙农青饲 1 号高丹草(高粱雄性不育系 $A_2 \times$ 黑壳苏丹草)、新品系蒙农青饲 2 号和蒙农青饲 3 号,以及分别从加拿大和美国引进的佳宝高丹草、健宝高丹草,用当地栽培种黑壳苏丹草和白壳苏丹草作对照。供试材料种植在内蒙古农业大学作物试验场内,该试验场位于呼和浩特市东郊,年降水量 400 mm 左右,无霜期 145 d,土壤为沙壤质暗栗钙土, pH 7.8~8.2,肥力适中,具有灌溉条件。试验于 2003 年 4~8 月在田间和室内进行。

1.2 研究方法

1.2.1 光合特性测定 试验于 2003 年 8 月 3 日 10:00~14:00 时在晴天条件下进行,用美国 LICOR 公司生产的 LI-6400 光合测定系统仪,在田间测定各供试材料叶片的净光合速率 $[\text{Pn}, \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})]$ 、蒸腾速率 $[\text{Tr}, \text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})]$ 、气孔导度 $[\text{Gs}, \text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})]$ 、细胞间隙 CO_2 浓度 $[\text{Ci}, \mu\text{mol}/\text{L}]$,设定光强的光子数为 $2\,500 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、叶室温度 25°C 、 CO_2 浓度 $350 \mu\text{mol}/\text{mol}$,每种材料均取旗叶中部进行测定,10 次重复。

1.2.2 同工酶酶谱分析

酶液提取 分别剪取各供试植物分蘖期的嫩叶和抽穗期的幼穗,蒸馏水洗净,称取 0.5 g 置于研钵内,POD 同工酶加 10% 甘油 1.2 mL、SOD 同工酶加 0.05 mol/L pH 7.8 的磷酸钠缓冲液 1.2 mL,冰浴研磨成匀浆,移至 1.5 mL 离心管中,POD 同工酶

4 000 r/min 离心 15 min, SOD 同工酶 13 000 r/min 冷冻离心 20 min,取上清液置 0°C 以下冰箱中备用。

电泳 采用不连续垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳法,胶板厚度 1.5 mm。POD 同工酶浓缩胶浓度为 4%, pH 6.8;分离胶浓度 5%, pH 8.9;电极缓冲液为 pH 8.3 的 Tris-甘氨酸,每样孔进样量 $15 \mu\text{L}$ 。SOD 同工酶浓缩胶浓度为 2.5%, pH 6.7;分离胶浓度 12%, pH 8.9;凝胶的光化学聚合在恒温光照培养箱中进行, $4 \times 8\text{W}$ 日光管灯下照光 15~20 min 凝胶聚合;电极缓冲液为 pH 8.3 的 Tris-甘氨酸,每样孔进样量 $30 \mu\text{L}$,电泳时浓缩胶电流为 15 mA,分离胶电流为 20 mA,电泳时间 3.5 h 左右。

染色 POD 同工酶染色采用醋酸联苯胺法,染色时间 5~10 min。胶板用清水漂洗后,测量酶带迁移率 R_f 值($R_f = \text{酶带迁移距离}/\text{前沿指示剂距离}$),用 Olyompus-400 万像素数码相机照相。SOD 同工酶染色程序:①将胶板放入 $2.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 氮蓝四唑(NBT)溶液中,黑暗染色 20 min;②转入 $2.8 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 四甲基乙二胺、 $2.8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 核黄素、 $3.6 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ pH 7.8 磷酸钠缓冲液、 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ KCN 混合液中,黑暗染色 15 min;③转入 $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ EDTA、 $5 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ pH 7.8 磷酸钠缓冲液混合液中,在光照培养箱中照射 20~25 min,清水漂洗后测量酶带 R_f 值,照相。

2 结果与分析

2.1 光合特性的差异

不同植物光合特性的表现受到内部遗传因素的控制及外界环境条件的影响^[7]。本试验在设定光强度、温度及 CO_2 浓度的条件下,测定 7 种供试材料叶片的净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度、蒸腾速率 4 个光合生理指标的结果见表 1。

从净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度 3 个指标的测定值来看,新品系蒙农青饲 3 号高丹草为最高,蒙农青饲 1 号高丹草、蒙农青饲 2 号高丹草和佳宝高丹草次之,父本黑壳苏丹草和白壳苏丹草再次之,健宝高丹草为最低;从蒸腾速率的测定值来看,健宝和佳宝 2 种高丹草较大,蒙农青饲 2 号高丹草、白壳苏丹草和黑壳苏丹草相对较小,蒙农青饲 1 号和蒙农青饲 3 号 2 种高丹草居中,各供试材料间差异显著,个别达到极显著水平。

表 1 供试植物叶片光合特性差异显著性分析

植物名称	净光合速率 ($\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)	气孔导度 ($\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)	胞间 CO_2 浓度 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	蒸腾速率 ($\text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)
蒙农青饲 1 号	36.63 b A	0.44 b AB	126.60 b AB	3.04 b A
蒙农青饲 2 号	34.44 b A	0.41 b AB	123.24 b BC	2.40 c B
蒙农青饲 3 号	41.20 a A	0.53 a A	140.30 a A	3.03 b A
黑壳苏丹草	28.10 c B	0.31 c B	98.75 c C	2.58 c B
白壳苏丹草	27.15 c B	0.33 c B	101.50 c C	2.64 c B
佳宝	35.80 b A	0.42 b AB	122.53 b AB	3.73 a A
健宝	22.26 d B	0.13 d C	78.11 d D	3.84 a A

注:小写英文字母表示 $P<0.05$ 水平差异显著,大写字母表示 $P<0.01$ 水平差异极显著

表 2 供试植物分蘖期和抽穗期幼穗 POD 同工酶谱的 Rf 值

酶带号	蒙农青饲 1 号		蒙农青饲 2 号		蒙农青饲 3 号		黑壳苏丹草		白壳苏丹草		佳宝		健宝
	分蘖	幼穗	分蘖	幼穗	分蘖	幼穗	分蘖	幼穗	分蘖	幼穗	分蘖	幼穗	分蘖
1	0.01 [#]	0.02 [#]	0.01	—	—	0.02 [#]	0.01 [#]	0.02 [#]	0.01 [#]	0.02 [#]	0.01 [#]	—	0.01
2	0.03 [#]	0.04 [#]	0.03	—	0.03	—	0.03 [#]	—	0.03 [#]	—	0.03 [#]	—	0.03 [#]
3	0.06 [#]	0.07 [#]	0.06 [#]	—	0.06	0.07 [#]	0.06 [#]	0.07 [#]	0.06 [#]	—	—	0.07 [*]	0.06 [#]
4	0.08 [#]	0.11	0.08 [#]	—	0.08 [#]	—	0.08 [#]	—	0.08 [#]	—	—	—	—
5	0.12 [*]	0.15 [*]	0.12 [*]	0.15 [*]	0.12 [*]	0.15 [#]	0.12 [*]	—	0.12	—	0.12 [*]	0.15 [*]	0.12 [*]
6	0.15 [*]	0.20 [*]	0.15 [*]	0.20 [*]	0.15 [*]	0.20 [*]	0.15 [*]	0.20 [*]	0.15 [*]	0.20 [#]	0.15 [*]	0.20 [*]	0.15 [*]
7	0.17 [*]	0.27 [#]	0.17 [*]	—	0.17 [*]	0.27	0.17 [*]	0.27 [#]	0.17 [*]	0.27 [#]	0.17 [*]	—	0.17 [*]
8	0.64 [*]	0.47 [#]	0.64 [*]	0.47 [#]	0.64	0.47 [#]	0.64 [*]	0.47 [#]	0.64 [*]	0.47 [#]	0.64	0.47 [#]	0.64
9	0.65 [*]	—	0.65 [*]	—	0.65 [*]	—	0.65	0.52 [#]	0.65	0.52 [#]	0.65 [#]	—	0.65 [#]
10	0.70 [*]	0.67 [#]	0.70 [*]	0.67 [#]	—	0.67 [#]	0.70 [#]	0.67 [#]	0.70 [#]	0.67 [#]	—	0.67 [#]	—
11	0.76 [#]	0.71 [*]	—	0.71 [*]	—	0.71 [*]	—	0.71 [*]	—	0.71 [*]	—	0.71 [*]	—
12	0.88 [*]	0.76 [#]	0.88 [*]	0.76 [#]	0.88 [*]	0.76 [#]	0.88 [*]	0.76 [#]	0.88 [*]	0.76 [#]	0.88 [*]	0.76 [#]	0.88 [*]
13	—	—	—	—	—	—	—	0.98 [#]	—	—	—	—	—
总数	12	11	11	6	9	9	11	10	11	8	8	7	9

注:①*强带;无标记的为中强带;#弱带,下同。②健宝高丹草在呼和浩特地区种植不抽穗

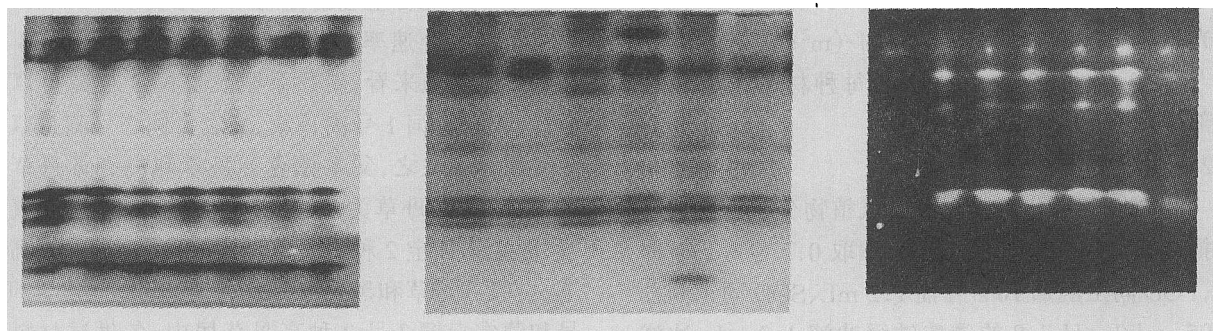
综合上述各项指标可以得出:蒙农青饲 3 号高丹草的光合性能表现最好,即光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度均较高,蒸腾速率相对较低,说明其叶片 CO_2 固定能力强而对水分消耗相对较少,这是其产量高的重要生理表现;蒙农青饲 1 号、蒙农青饲 2 号和佳宝 3 种高丹草差异不很明显,光合性能表现较好;白壳苏丹草与黑壳苏丹草之间无显著差异,光合性能表现一般;健宝高丹草的光合性能表现较差,因其 CO_2 固定能力较弱、蒸腾耗水量大,生长相

对较慢,将影响产量的形成。这与我们在田间产量测定结果一致。

2.2 同工酶谱差异

2.2.1 POD 同工酶谱特征 从表 2,图 1 可以看出,各供试植物在分蘖期及抽穗期幼穗 POD 同工酶谱特征明显不同,在分蘖期酶带数变幅为 8~12 条,抽穗期酶带数变幅为 6~11 条,酶带位点(Rf 值)和酶带强弱(活性)存在着不同程度的差异,说明同一材料不同发育时期 POD 同工酶谱具有

1 2 3 4 5 6 7 1 2 3 4 5 6 1 2 3 4 5 6 7



分蘖期 POD 同工酶谱

抽穗期幼穗 POD 同工酶谱

分蘖期 SOD 同工酶谱

1. 蒙农青饲 1 号;2. 蒙农青饲 2 号;3. 蒙农青饲 3 号;4. 黑壳苏丹草;5. 白壳苏丹草;6. 佳宝高丹草;7. 健宝高丹草。

图 1 同工酶谱

遗传多样性;同一时期不同材料间 POD 同工酶谱表型(酶带数、酶带位点、强弱)也均存在着一定的差异,这说明不同材料的 POD 同工酶蛋白质表达水平不同,体现了基因水平上的差异。POD 同工酶谱表型的差异可作为几种高丹草品种(或品系)间识别的重要依据。

2.2.2 SOD 同工酶谱特征 各供试材料分蘖期

表 3 供试植物分蘖期 SOD 同工酶谱的 Rf 值

酶带号	蒙农青饲 1 号	蒙农青饲 2 号	蒙农青饲 3 号	黑壳苏丹草	白壳苏丹草	佳宝	健宝
1	—	0.15 [#]	—	—	—	—	—
2	—	0.17 [#]	—	—	—	0.17	—
3	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19 [*]	0.19
4	—	—	—	0.22 [#]	—	—	—
5	0.25 [#]	0.25 [*]	0.25 [*]	0.25 [*]	0.25 [*]	0.25 [*]	0.25
6	—	—	—	—	0.27 [#]	0.27	—
7	—	0.30 [#]	0.30 [#]	0.30 [#]	0.30	0.30	—
8	—	—	—	—	0.36 [#]	0.36 [#]	0.36 [#]
9	0.43 [#]	—	—	—	—	—	0.43 [#]
10	0.46 [#]	—	—	—	0.46 [#]	0.46 [#]	0.46 [#]
11	—	0.48 [*]	0.48 [*]	0.48 [*]	0.48 [*]	0.48 [*]	—
12	0.50 [#]	—	—	—	—	—	0.50
总数	5	6	4	5	7	8	6

3 结论与讨论

植物光合特性与产量的形成有密切关系,光合能力越强的植物,其产量也就越高^[7]。高粱和苏丹草及它们的种间杂交种虽然均属于高光效 C4 植物,但因亲本间存在着遗传差异,由不同亲本组合产生的杂交后代,其光合性能表现也就不同,本试验通过测定净光合速率、气孔导度、胞间 CO₂ 浓度和蒸腾速率 4 个光合生理指标,综合评定各供试高丹草品种(或品系)光合能力的强弱顺序为:蒙农青饲 3 号高丹草>蒙农青饲 1 号高丹草=蒙农青饲 2 号高丹草=佳宝高丹草>黑壳苏丹草=白壳苏丹草>健宝高丹草。

同工酶谱是蛋白质分子水平的表型,是基因的直接产物,同工酶谱带的差异可反映基因的差异^[8,9]。试验结果表明,在分蘖期 5 种高丹草和 2 种苏丹草叶片的 POD 和 SOD 同工酶酶带数、酶带位点(Rf 值)和酶带强弱(酶活性)均存在着一定的差异,这种酶谱表型的差异体现了基因水平上的差异,在蛋白质分子水平上为 7 种供试材料的鉴定提供了重要依据。

本试验取 7 种供试植物分蘖期的叶片和抽穗期的幼穗为材料进行 POD 同工酶酶谱的对比分析,结果显示,同工酶酶谱表型在同一植物的不同发育阶

叶片 SOD 同工酶酶谱测定结果见图 1 和表 3。7 种材料出现的 SOD 同工酶酶带总数为 41 条,每种材料平均为 5.86 条、变幅为 4~8 条,说明分蘖期 SOD 同工酶酶带比较丰富;各品种(或品系)间 SOD 同工酶酶带数、酶带位点、酶带强弱存在着不同程度的差异,它们反映了基因水平上的差异,可作为各供试材料鉴定的依据。

段和不同器官材料均表现不同,且不同植物间酶谱表型差异明显,所获得的酶带遗传信息量比单一生育阶段和单一器官材料要大的多,更能系统地反映各供试材料间的遗传差异性,使同工酶电泳技术鉴定的结果更为准确、可靠。

参考文献:

- [1] 松蒲正宏,前田光裕,土居嘉明,等.青刈メルガム新品种「グリーンホープ」の育成について[J]. 廣島農技試験報,1992,55:17-28.
- [2] 汪建飞,段立珍,罗自琴.杂交苏丹草中 CN⁻含量的测定[J]. 草业学报,2002,11(1):43-46.
- [3] 孙守钧.不同种植和收获方式对两种类型饲用高粱产量及杂种优势的影响[J]. 中国草地,1993,(6):52-55.
- [4] 杨恒山,王国君,郭志明,等.健宝、牧特利、科多 4 号草产量及品质比较[J]. 草业科学,2003,(10):37-40.
- [5] 于卓,赵晓杰,秦永梅.高粱与苏丹草 2 个杂交组合 F₂ 代的生育及细胞遗传学研究[J]. 草业科学,2004,(7):13-17.
- [6] 于卓,秦永梅,赵晓杰,等.饲用作物新品种—蒙农青饲 1 号高丹草选育[J]. 中国草地,2004,26(2):1-9.
- [7] 郭晓云,杨允菲,李建东.松嫩平原不同旱地生境芦苇的光合特性研究[J]. 草业学报,2003,12(3):16-21.
- [8] 李阳春,谢可军.早熟禾属 10 种植物酯酶同工酶分析[J]. 草地学报,2003,11(3):214-219.
- [9] Hazard L, Ghesouiere M. Evidence from the use of isozyme markers of competition in swards between short-leaved and long-leaved perennial ryegrass [J]. Grass and Forage Science,1995,50:241-248.