

# 棉花晋 A 及其保持系酯酶过氧化物酶 PAGE 电泳分析

李成奇<sup>1</sup>, 石跃进<sup>1</sup>, 潘转霞<sup>1</sup>, 袁 钧<sup>1</sup>, 刘巷禄<sup>1</sup>, 任雪峰<sup>2</sup>

(1. 山西省农业科学院棉花研究所, 山西 运城 044000; 2. 运城市农业局, 山西 运城 044000)

**摘要:** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)方法, 对晋 A 棉花质核雄性不育系及其保持系作了酯酶过氧化物酶同工酶分析。结果表明, 晋 A 及其保持系两种同工酶在所有器官上均具有一些共同的基本酶带, 在营养器官上无较大差别, 说明它们具有基本一致的遗传背景。受育性基因的影响, 进入生殖阶段, 在造孢细胞增殖时期的花蕾上, 晋 A 较其保持系明显缺少特征谱带, 表明在此阶段雄性不育基因调控了同工酶的合成, 导致花粉粒发生败育。

**关键词:** 晋 A; 保持系; 酯酶; 过氧化物酶

**中图分类号:** S562. 01      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000- 7091(2004)04- 0011- 03

## PAGE Analysis on Esterase and Peroxidase of “JinA-line and B-line” in Cotton

LI Cheng-qi<sup>1</sup>, SHI Yue-jin<sup>1</sup>, PAN Zhuang-xia<sup>1</sup>, YUAN Jun, LIU Xiang-lu<sup>1</sup>, REN Xue-feng<sup>2</sup>

(1. Cotton Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng 044000, China;

2. Agricultural Bureau of Shanxi Yuncheng City, Yuncheng 044000, China)

**Abstract:** The PAGE analysis on JinA male sterile and its B-line of cotton showed that there were some responsible bands of esterase and peroxidase for all tissues, and there were less differences in the same nutrient tissue part between them, which indicated that they had similar genetic background. Obvious differences were found due to the influence of male sterile genes, when entering reproduction stage, two isozymes of JinA were obvious less than that of B-line in “sporophyte-cell multiplication” period, which showed that the male sterile genes controlled the synthesis of esterase and peroxidase isozymes, so the abortive pollens were informed.

**Key words:** JinA; B-line; Esterase; Peroxidase

棉花晋 A 是从陆地棉 × 中棉 × 瑟伯氏棉三元杂种后代中选育出的新型质核雄性不育材料, 其不育株率及不育度均为 100%<sup>[1]</sup>。与国内(104-7A)外(哈克尼西棉)不育系相比, 晋 A 表现出早熟、成铃好、异交成铃率高等特点<sup>[2]</sup>。这种优势为实现棉花三系配套, 选育高优势组合提供了可能。为了从理论上探讨晋 A 不育系的不育本质, 我们已在形态特征、细胞学行为以及亚显微结构上作过研究。同工酶是近代遗传学和育种学发展中一个十分活跃的领域, 在生物体内起代谢调控作用, 其活性较强, 在常温下能进行许多复杂的化学反应。有关棉花三系的同工酶研究已有报道<sup>[3, 4]</sup>。本研究采用 PAGE 电泳

技术, 对晋 A 及其同型保持系进行了酯酶过氧化物酶同工酶分析, 试图从生化水平上得出两种材料的遗传差异。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

晋 A 质核雄性不育系(已回交 5 代以上)及保持系(晋棉 23 号)的幼嫩叶片、苞叶、处于造孢细胞增殖时期的花蕾、小孢子母细胞减数分裂时期的花蕾、小孢子形成时期的花蕾。

### 1.2 方法

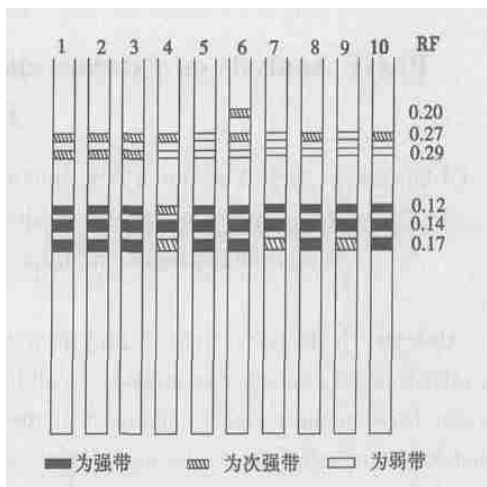
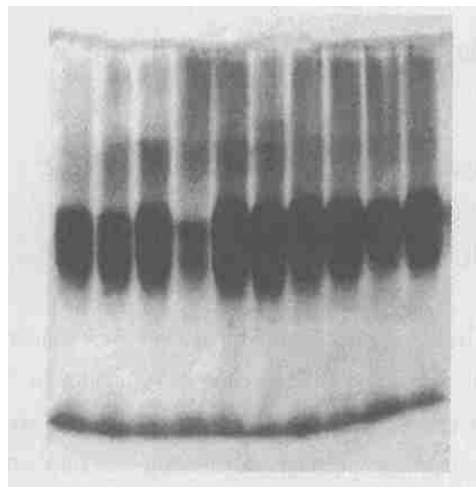
分别取上述材料 0.3 g(鲜重), 剪碎, 加入 1.5

mL Tris-HCl 缓冲液( $\text{pH}=8.0$ ), 水浴研磨成匀浆, 12 000 r/min 冷冻离心 20 min, 取上清液冰箱( $0\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ )保存。

电泳采用 PAGE 系统, 凝胶制备参照陆士伟的方法, 并略有改动。分离胶和浓缩胶浓度分别为 7% 和 4%, 电极缓冲液为 Tris-甘氨酸缓冲液( $\text{pH}=8.3$ ); 加样量酯酶 40  $\mu\text{L}$ , 过氧化物酶 30  $\mu\text{L}$ , 稳压  $0\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中电泳 5~6 h。酯酶染色参照陆士伟的染色法<sup>[5]</sup>, 过氧化物酶染色参照王秀芬的醋酸-联苯胺染色法<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 晋 A 及其保持系酯酶同工酶分析



1, 3, 5, 7, 9 分别为晋 A 不育系的叶片、苞叶、花蕾(造孢细胞增殖时期、小孢子母细胞减数分裂时期、小孢子形成时期), 2, 4, 6, 8, 10 分别为保持系的叶片、苞叶、花蕾(造孢细胞增殖时期、小孢子母细胞减数分裂时期、小孢子形成时期)。图 2 同

图 1 晋 A 及其保持系酯酶酶谱及模式

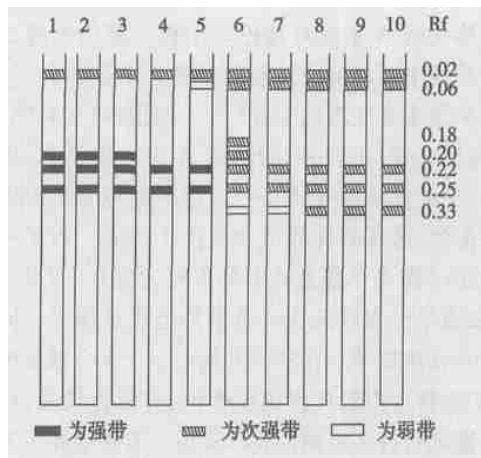
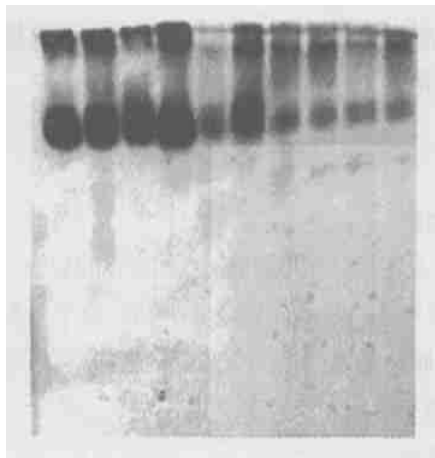


图 2 晋 A 及其保持系过氧化物酶谱及模式

### 2.2 晋 A 及其保持系过氧化物酶同工酶分析

从过氧化物酶酶谱中可以看出, 晋 A 及其保持

系从酯酶同工酶酶谱上可以看出, 晋 A 及其保持系共有 6 条酶带, 且酶带强弱上差异明显, 其中 Rf 为 0.42, 0.44, 0.47 的带既宽又深, 为主酶带。在叶片及苞叶上晋 A 及其保持系酶带基本无差异, 但晋 A 的苞叶较保持系酶活性明显要强, 说明此时的雄性不育基因已开始对酯酶的合成起调控作用。进入生殖阶段, 在造孢细胞增殖时期, 保持系出现两条 Rf 分别为 0.20 和 0.27 的次强带, 而不育系晋 A 酶带较弱且缺少 Rf 为 0.20 的带。在花粉粒形成的后两阶段, 两个材料酶带几乎相同, 这说明晋 A 花粉粒的败育主要发生在造孢细胞增殖时期的花蕾上, 此阶段雄性不育基因调控了酯酶同工酶的合成。

系不同器官共有 7 条酶带, 其中有 3 条为各器官所共有(Rf 分别为 0.02, 0.22, 0.25)。营养器官(叶

片、苞叶) 上两个材料酶带无显著差异, 只是在苞叶上不育系较保持系多一条  $R_f$  为 0.20 的带, 说明不育基因在营养器官上几乎不表达, 两者在生长发育上基本相同。进入生殖阶段, 晋 A 及其保持系酶带存在显著差异, 这种差异亦出现在造孢细胞增殖时期, 晋 A 较保持系缺少 3 条带 ( $R_f$  分别为 0.18, 0.20, 0.33)。在其他两个阶段, 不育系与保持系酶带基本无差异。这说明, 由质核互作控制的雄性不育特性与过氧化物酶同工酶有关, 晋 A 材料雄性不育基因在造孢细胞增殖时期调控了过氧化物酶同工酶的形成。由图中还可看出, 当花粉逐渐成熟时, 不育花药过氧化物酶增加了一条  $R_f$  为 0.33 的新酶带, 此时的过氧化物酶可能参与了药壁组织细胞的形成。

### 3 结论与讨论

棉花晋 A 质核雄性不育系与其保持系主要营养器官两种同工酶酶带均无较大差异, 但在苞叶中, 晋 A 较其保持系过氧化物酶多一条酶带, 酯酶活性明显要强, 这说明棉花的质核雄性不育基因在苞叶上已经开始对这两种同工酶起到调节作用, 只是未能完全表达。这一结果对研究和鉴别棉花雄性不育三系具有实际意义。

晋 A 不育系与其保持系在生殖器官上两种同

工酶存在显著差异, 这种差异主要表现在造孢细胞增殖时期的花蕾上, 晋 A 在酶带条数和活性上均低于保持系, 这与我们在细胞形态学上观察的结果是一致的。此时晋 A 花粉已发生败育, 花粉粒和花药细胞的内含物减少, 酶活性降低。这说明由质核互作控制的雄性不育基因组阻碍了这两种同工酶的合成, 是导致花粉败育的主要原因。在实验中我们还发现, 到花粉粒逐渐成熟时, 酯酶和过氧化物酶酶带均有减弱的趋势, 这种现象可能与植物体内复杂的生理生化过程有关, 这一问题尚待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 袁 钧, 刘巷禄, 潘转霞, 等. 晋 A 棉花质核不育系的发现与观察[J]. 中国棉花, 1996, 23(4): 6-7.
- [2] 袁 钧, 潘转霞, 李成奇, 等. 晋 A 棉花质核不育系的特色与优势[J]. 中国棉花, 1999, 26(39): 6-8.
- [3] 李宗友. 棉属九个同核异质系酯酶过氧化物酶同工酶分析[J]. 棉花学报, 1994, 6(4): 196-200.
- [4] 邱 竟, 张振绪. 棉花雄性不育“三系”过氧化物同工酶等电聚焦电泳分析[J]. 作物学报, 1991, 17(5): 376-379.
- [5] 陆士伟. 同工酶在农业生产上的应用[M]. 广州: 广东科技出版社, 1987. 100-120.
- [6] 王秀芬. 过氧化物酶同工酶最佳染色法[J]. 河北农业大学学报, 1990, 13(4): 78.