

普通小麦—*Aegilops crassa* 核质杂种的同工酶研究

吴晓华¹, 张爱民², 李元清¹, 刘冬成², 于美玲¹

(1. 内蒙古农业科学院作物研究所, 内蒙古 呼和浩特 010031; 2. 中国科学院遗传研究所, 北京 100101)

摘要:对普通小麦—*Aegilops crassa* 核质杂种及其核亲本灌浆期旗叶过氧化物酶和酯酶同工酶进行了研究, 结果表明: 3 个测试核亲本的过氧化物酶同工酶的谱带数和带有 *Aegilops crassa* 细胞质的 3 个核质杂种的酶谱数不尽一致, 但其中谱带 1 的酶活性均以弱势表达; 核质杂种的酯酶同工酶与相应的核亲本比较酶带数目变化不明显, 只是存在活性上的差异, 这种差异在不同测试材料间也并未发现规律性的变化, 表现了不同的核质杂种灌浆期旗叶过氧化物酶与酯酶同工酶的活性有所不同。说明 *Aegilops crassa* 细胞质与普通小麦的细胞核结合产生的特异核质互作, 在灌浆期旗叶的有关同工酶上也有所体现。

关键词: 普通小麦; *Aegilops crassa*; 核质杂种; 同工酶

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2003)04-0005-04

Study on Isoenzymes of Alloplasmic Common Wheats with *Aegilops crassa* Cytoplasm

WU Xiao-hua¹, ZHANG Ai-min², LI Yuan-qing¹, LIU Dong-cheng², YU Mei-ling¹

(1. Crop Institute, Inner Mongolia Academy of Agricultural Sciences, Huhhot 010031, China;

2. Institute of Genetics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Isoenzymes of Peroxidase and Esterase were analyzed in flag leaf from 3 group's alloplasmic common wheats with *Aegilops crassa* 6x cytoplasm. The bands number of peroxidase isoenzymes is 8 for Norin 26, 7 for Yongliang 4 and 6 for CAU-wu-01, while the number of peroxidase isoenzyme's bands of 3 NC hybrids with *Aegilops crassa* 6x cytoplasm were all the same. The isoenzyme activity for band 1 expressed weakly in all the NC hybrids wheats. Compared with nuclear donor parents, the number of esterase bands did not show change obviously but the activity of the enzyme showed a bit different. The esterase activity among different supplied materials did not change regularly. All these results show that the interaction of *Aegilops crassa* 6x cytoplasm and common wheat nucleus can be expressed by relative activity of isoenzymes in flag leaves at filling stage.

Key words: Common wheat; *Aegilops crassa*; NG-hybrid; Isoenzyme

关于小麦细胞质的雄性不育性, 已有许多学者从细胞学、生理生化等方面进行了一系列的研究。同工酶是基因的直接产物, 是基因表达的结果, 具有良好的遗传标志特性, 因而可以被用来鉴别许多外部形态难以鉴别的遗传差异。在植物的生长发育过程中, 过氧化物酶与酯酶同工酶是广泛存在于植物体内的两种重要酶类, 参与各种生理生化活动, 同时表现为一定的组织特异性和阶段特异性, 因此引起

人们的极大关注。从 20 世纪 80 年代开始, 人们就利用同工酶来研究作物雄性不育的过程及其机理。周时佳等、祁忠占等分析了小麦不育系与保持系的花药酯酶和过氧化物酶等同工酶, 并指出不育系花药的这些同工酶异常与雄性不育性有关^[1,2]。刘春光等对 D² 型细胞质雄性不育系发育不同时期的花药、雌蕊、同期旗叶及授粉 20 d 左右的灌浆期种子胚乳的过氧化物酶同工酶、酯酶同工酶活性进行了

收稿日期: 2003-07-04

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(39770459)

作者简介: 吴晓华(1963-), 女, 黑龙江人, 副研究员, 硕士, 主要从事小麦种质资源及遗传育种研究工作。

分析后指出,三核期花药的同工酶的明显差异可能是 D^2 型细胞质不育基因对核基因的调控表达所致,而这种调控作用可能是导致雄性不育性的原因之一^[3]。Murai 发现并研究了具有 *Aegilops crassa* 细胞质(D^2 型细胞质)光敏雄性不育小麦^[4,5]。但对普通小麦—*Aegilops crassa* 核质杂种灌浆期旗叶同工酶的研究还未见报道。本研究选取 3 组 D^2 型细胞质光敏雄性不育材料(核质杂种)及相应的核供体亲本作研究对象,对灌浆期旗叶的酯酶及过氧化物酶同工酶进行了分析,旨在探索普通小麦—*Aegilops crassa* 核质杂种表现出的雄性不育性在小麦生育后期旗叶同工酶上的变化规律。

1. 材料和方法

1.1 供试材料

试验材料为普通小麦—*Aegilops crassa* 核质杂种 *Ae. crassa*-Norin26、*Ae. crassa*-CAU-乌 01 (BC_1F_1)、*Ae. crassa*-永良 4 号(BC_1F_1)及其相应核供体。1999 年将测试材料播种于内蒙古农科院农场试验地中,于 7 月初小麦灌浆期采样测定。

1.2 样品制备

取灌浆期供试材料小麦旗叶的鲜叶片各 1 g,加上 5 mL 蒸馏水,在冰浴中研磨成匀浆,离心(4 000 r/min) 15 min 后,取上清液于冰箱中备用。

1.3 电泳

采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳法。分离胶浓度为 7.5%,浓缩胶浓度为 4.0%,电极缓冲液为 pH 7.5 的 Tris-甘氨酸缓冲液。点样量为 50 μ L,在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中电泳。过氧化物酶染色采用醋酸联苯胺染色法,酯酶采用醋酸萘酯—坚牢兰 RR 盐染色法,室温下染色至酶带清晰后用 7% 冰醋酸固定,再用清水漂洗后照相。

1.4 扫描

电泳胶板的扫描使用日本岛津 CS-930 型双波长薄层扫描仪。过氧化物酶同工酶谱是在 460 nm 下扫描,酯酶同工酶谱在 490 nm 下扫描。

2. 结果与分析

为叙述和分析方便起见,把核质杂种及其相应核供体的过氧化物酶、酯酶同工酶谱扫描曲线重叠在一起,并对酶带从负极到正极进行依次编号(图 1~5)。

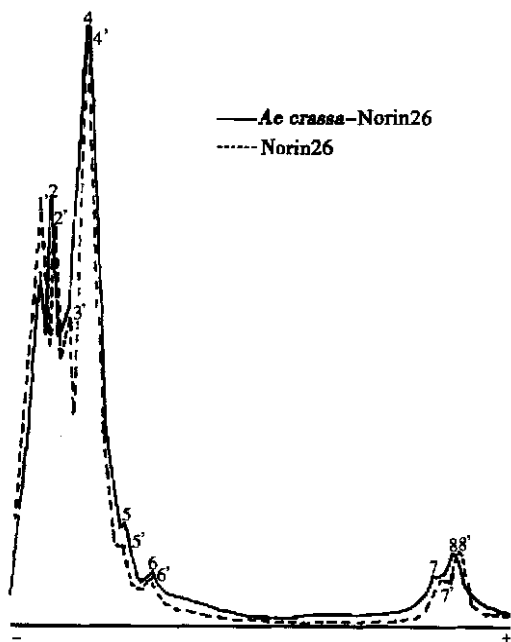


图 1 灌浆期旗叶 POD 同工酶谱的扫描曲线

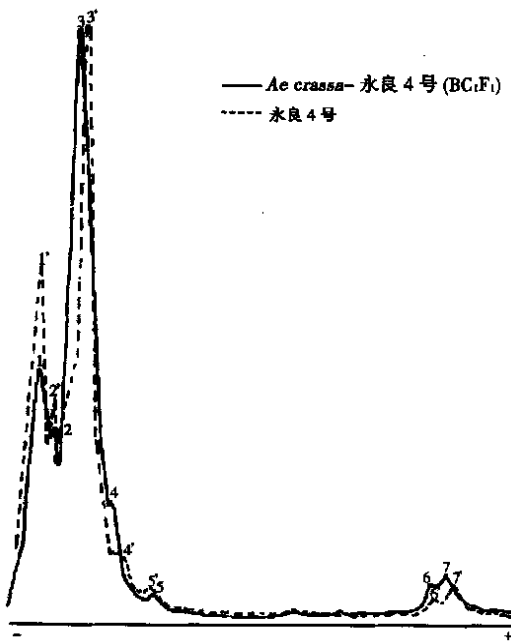


图 2 灌浆期旗叶 POD 同工酶谱的扫描曲线

2.1 过氧化物酶(POD)同工酶

如图 1 所示,光敏雄性不育系 *Ae. crassa*-Norin26 灌浆期旗叶的过氧化物酶同工酶谱由 7 条酶带组成,而其核供体却有 8 条酶带组成,不育系少了酶带 3,该酶带的缺失,说明有关的基因表达受到了抑制,且不育系的酶带 1 活性也明显低于核亲本相应酶带活性,其他酶带与核亲本比差异不明显。分析图 2 可知,核质杂种 *Ae. crassa*-永良 4 号(BC_1F_1)及其核

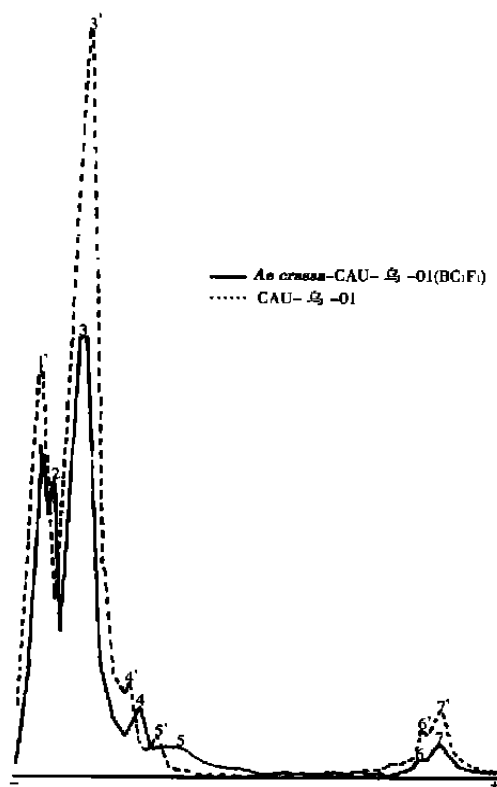


图3 灌浆期旗叶 POD 同工酶谱的扫描曲线

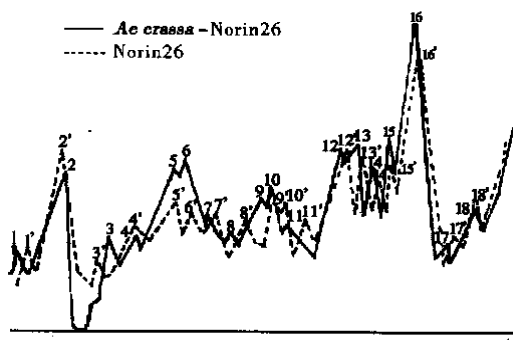


图4 灌浆期旗叶酯酶同工酶谱的扫描曲线

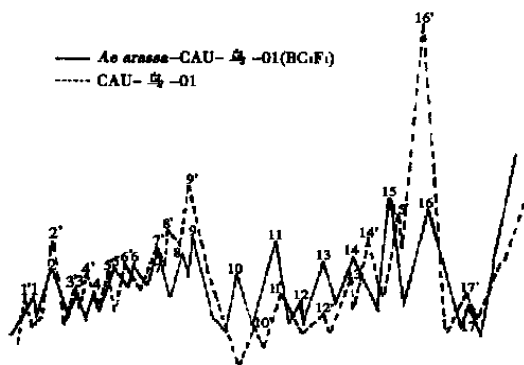


图5 灌浆期旗叶酯酶同工酶谱的扫描曲线

亲本过氧化物酶同工酶谱均有 7 条酶带组成, 其中除了不育系的酶带 1 和酶带 2 活性略低于核亲本相应的酶带外, 其他酶带的表达与核亲本基本一致。

测试材料中与核亲本灌浆期旗叶过氧化物酶同工酶差异比较明显的是 *Ae. crassa* - CAU - 乌 - 01 (BC₁F₁)。由图 3 可以看出, 其旗叶过氧化物酶同工酶谱由 7 条带组成, 而核亲本只有 6 条带组成, 与不育系比, 少了酶带 2。就该组测试材料而言, 核亲本的灌浆期旗叶过氧化物酶同工酶的活性普遍高于不育系, 其中谱带 3 表现尤其明显。测试材料中具有 D² 细胞质的核质杂种酶带数及酶的活性与核亲本比较表现出一定差异, 这种差异主要表现在近阴极端区第 1~3 条酶带上, 并且在不同核代换系间表现不一样。

尽管供试核亲本 POD 同工酶酶带数由 6~8 条带组成, 但测试材料中 3 个核质杂种的 POD 同工酶谱却均有 7 条带组成, 且酶带 1 的活性均低于相应的核亲本。核质杂种在灌浆期旗叶过氧化物酶编码基因的这种表达方式是否为 D² 型细胞质光敏不育基因的特异调控表达, 需要进一步研究。

2.2 酯酶 (Est) 同工酶

由图 4, 5 可以看出灌浆期旗叶 Est 同工酶酶谱变化, 不育系与核亲本比较在酶带数目上无明显不同, 只是存在活性上的差异。光敏不育系 *Ae. crassa* - Norin26 与其核亲本灌浆期旗叶的酯酶同工酶比较具有一些共同的特点和变化规律 (图 4)。其中除了核亲本的酶带 2 的活性略高于其核质杂种以外, 其余核质杂种的酯酶同工酶酶带活性略高于对应核供体的酶带活性; 对核质杂种 *Ae. crassa* - CAU - 乌 - 01 (BC₁F₁) 灌浆期旗叶酯酶同工酶的分析发现 (图 5), 该材料的第 10, 11, 13, 15 条酶带活性高于其核亲本相应酶带活性, 其余均比核亲本相应的酶带活性低, 其中尤以酶带 16 的活性差异大。

3 讨论与结论

同工酶是蛋白质、基因的直接产物, 是基因表达的结果, 因而是良好的遗传标志。生物种群间同工酶的差异较直接地反映了遗传基础的差异, 过氧化物酶和酯酶同工酶是广泛存在于植物体内的两种重要酶类, 参与多种生理生化活动。过氧化物酶是一种线粒体外末端氧化酶, 在植物组织内广泛存在, 它一方面与组织的呼吸和物质的氧化等生理生化过程密切相关, 同时又是清除活性氧的酶保护系统的重要成员之一。酯酶是催化酯类化合物进行水解的酶系, 在代谢中可能有转酯作用。由于可水解大量非生理状态存在的酯类化合物, 包括一些药物, 因此认

为酯酶可能对植物有解毒作用。过氧化物酶和酯酶同工酶在不同材料中表现一定的组织特异性、阶段特异性和遗传多样性,因此,在细胞的分化和形态建成过程及功能的行使中起着重要作用。众多的研究表明,在小麦的雄性不育过程中,过氧化物酶和酯酶同工酶的变化与雄性不育有着密切的关系。沈银柱等也对杂交剂诱导雄性不育进行了研究,认为在小孢子母细胞减数分裂期,4种处理均对过氧化物酶和酯酶同工酶有抑制作用^[6],其中有一个处理(冀化2号)的部分过氧化物谱带有增强作用;不同的杂交剂通过干扰花药的物质代谢和能量代谢而导致雄性生理性不育。另外,范平也对T型和K型胞质不育系进行了同工酶的研究^[7],其中K型三系的酯酶谱区别不大,二核期和三核期的不育系比B、R二系各少1条带,这种差异可能与雄性不育性有关;而T型三系的区分却很大,其中不育系的酶带条数在各时期,各个酶区都少于B、R二系,在酶量上不育系各区的染色也都浅于B、R二系。本文对具有 *Aegilops. crassa* 细胞质的核质杂种小麦及其核亲本灌浆期旗叶过氧化物酶、酯酶同工酶进行了研究,结果表明,3个测试核亲本的过氧化物酶同工酶的谱带数分别是Norin26为8条、永良4号为7条、CAU-乌-01为6条,而相应带有 *Ae. crassa* 细胞质的3个核质杂种的过氧化物酶同工酶谱却均有7条带组成,其中谱带1的酶活性均以弱势表达。与相应核亲本比较,核质杂种的酯酶同工酶酶带数目变化不明显,只是存在活性上的差异,这种差异在不同测试材料间也并未发现规律性的变化,表现了不同的核质杂种灌浆期旗叶过氧化物酶与酯酶同工酶的活性

有所不同。这与其他有关的一些研究结果是基本一致的,说明D²型细胞质雄性不育和化学杂交剂及三系在同工酶的表现上是相似的,都是由于环境或细胞质的变化导致核基因的表达发生了变化,尤其是和育性相关的基因发生了变化,这种变化在灌浆期旗叶的有关同工酶上也有所体现。

参考文献:

- [1] 周时佳. 太谷核不育小麦可育株、不育株及T型不育系小麦同工酶的比较研究[J]. 作物学报, 1985, 11(2): 109-114.
- [2] 祁忠占. 小麦不育性系保持系过氧化物酶同工酶的比较研究[J]. 华北农学报, 1988, 3(2): 1-5.
- [3] 刘春光, 吴郁文, 张翠兰, 等. 小麦D²型细胞质雄性不育系雄性配子发育的细胞形态学特征和同工酶的研究[J]. 遗传学报, 1995, 22(3): 199-205.
- [4] Murai K. Genetic characteristics of *Aegilops crassa* cytoplasm and its use for hybrid wheat breeding, Classical and molecular cytoplasmic male sterility in wheat with *Aegilops Crassa* cytoplasm[J]. Euphytica, 1994, 67: 41-48.
- [5] Murai K. PCMS induced in Japanese wheat cultivars by transferring *Aegilops crassa* cytoplasm[J]. Breeding Science, 1995, 45: 199-203.
- [6] 沈银柱, 刘植义, 黄占景, 等. 不同化学杂交剂(CHA)对小麦花药同工酶影响的研究[J]. 遗传, 1999, 21(5): 41-46.
- [7] 范平. 普通小麦T型和K型胞质雄性不育系败育过程细胞学观察和同工酶检测[J]. 华北农学报, 1996, 11(1): 2-9.