

普通小麦 K、V 型雄性不育系、保持系过氧化物酶同工酶的比较研究

鞠正春

孙兰珍

(山东省农技推广总站, 济南 250100) (山东农业大学农学系, 泰安 271018)

摘 要 利用聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳法, 对普通小麦 K、V 型雄性不育系、保持系在不同发育时期的雄蕊、雌蕊、旗叶的过氧化物酶同工酶进行了系统研究。结果表明, K、V 型不育系、保持系在不同发育时期的花药具有不同的酶谱。根据酶带数量和酶活性的变化, 发现 K、V 型不育系之间在花粉败育时间上有较大差异。认为 V 型不育系败育的关键时期是“单核期”, 而 K 型不育系为“二核期”, 与细胞学观察结果相吻合。K、V 型不育系、保持系之间在不同发育时期的雌蕊、旗叶上的同工酶未见明显差异。

关键词 普通小麦 过氧化物酶 K 型雄性不育系 V 型雄性不育系 保持系

具粘果山羊草 (*Ae. kotschyi*) 细胞质的普通小麦雄性不育系 (简称 K 型不育系) 和具偏凸山羊草 (*Ae. ventricosa*) 细胞质的雄性不育系 (简称 V 型不育系) 是由西北农大于 1988 年选育出的两种新不育类型。由于它们的细胞质效应优于 T 型不育系, 且既易保持, 又易恢复, 克服了 T 型不育系恢复源狭窄的严重缺陷, 有可能成为实现小麦杂种优势利用的重要突破口。但目前人们对 K、V 型不育系间, K、V 型不育系和保持系间的差异研究较少, 尤其是从分子水平上分析它们之间的差异, 尚未见系统报道。本研究以细胞核相同、细胞质不同的普通小麦 83(21)35 不育系、保持系为材料, 分析了它们在不同发育时期花药、雌蕊及旗叶的过氧化物酶同工酶酶谱的差异, 旨在为 K、V 型不育系的应用研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料及取样

所用材料为一套同核异质材料: K 83(21)35A、V 83(21)35A 及相应保持系 83(21)35B, 均由西北农大杨天章处引进, 连续回交 6~8 代。1992 年盆栽于温室。取样时, 配合镜检在花粉母细胞减数分裂期取幼嫩的小穗及同穗之旗叶, 在小孢子单核期、花粉粒双核期和花粉粒三核期取同朵小花之花药、雌蕊和同穗之旗叶。不育系由于在小孢子发育后期花粉粒败育, 则依其生长状态与保持系各取样时期的状态相类似为标准进行取样。

1.2 样品制备

视雄蕊发育的不同时期,将上述材料各取 10~30 个主穗(或一级分蘖穗)中部小穗的第一、二朵小花之新鲜雄蕊、雌蕊和同穗之旗叶叶片的中上部,分别称重后,置冰浴的研钵中加 4~10 倍 Tris-HCl 提取液 (pH 8.0),迅速研成匀浆,置 4℃ 冰箱中沉淀 4h,上清液即为电泳酶液。

1.3 电泳及染色

采用聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳法,参照胡能书等^[1]的方法进行。电极缓冲液为 Tris-Gly (pH 8.9),分离胶浓度为 7.2%,间隔胶浓度 3%,取样 50 μ l 与 40% 蔗糖等量混合后注入凝胶间隔,加一滴溴酚兰做示踪染料。电泳使用 DYY-III 2 型稳流稳压电泳仪,电流 30mA,冰箱内电泳 8~10h,染色用联苯胺法。照像,绘模式图并测定各酶带的相对迁移率 (Rf 值)。

2 结果与分析

2.1 花粉母细胞减数分裂期小穗的过氧化物酶同工酶

K、V 型雄性不育系和保持系的过氧化物酶同工酶酶谱无差异,均具 11 条酶带 (图 1)。

2.2 不同发育时期的花药过氧化物酶同工酶

测试结果表明,在花粉粒发育的不同时期, K、V 型不育系之间, K、V 型不育系和保持系之间,其过氧化物酶同工酶酶谱存在着较明显的差异 (图 2)。

在单核期, K 型不育系和保持系的酶谱表现一致,均为 9 条酶带;而 V 型不育系的酶带则与保持系有较大差异。除 V 型不育系比其保持系多二条酶带 (Rf 0.16、Rf 0.48) 外,还在 Rf 0.06 和 Rf 0.09 两条酶带上染色较深。

在二核期, K 型不育系与其单核期的酶带相比多一条 Rf 0.42 带, V 型不育系与单核期相比则缺少 Rf 0.16、Rf 0.48 两条酶带,却出现了一条 Rf 0.57 新带。保持系比其单核期的酶带多了 Rf 0.42、Rf 0.61 两条酶带。与保持系相比, K 型不育系少了一条 Rf 0.61 酶带,且酶带 Rf 0.66 活性减弱; V 型不育系少了三条酶带 (Rf 0.42、Rf 0.61、Rf 0.66),但出现了一条特有带 (Rf 0.57)。

在三核期, K 型不育系与其二核期的酶带相比多了一条 Rf 0.61 带,但少了一条 Rf 0.42 带,且在四条酶

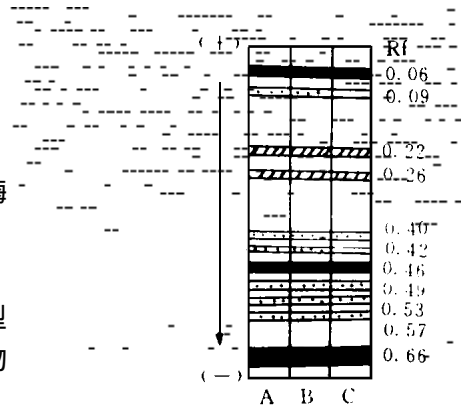


图 1 花粉母细胞减数分裂期小穗过氧化物酶同工酶酶谱
A. K 型不育系; B. V 型不育系; C. 保持系

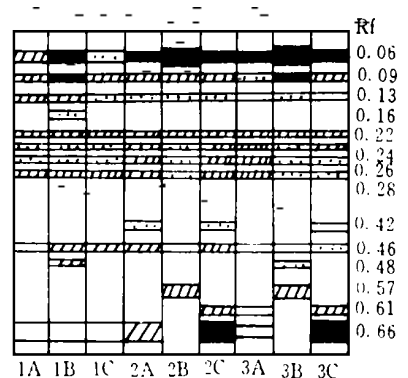


图 2 不同发育阶段的花药过氧化物酶同工酶酶谱
1 单核期; 2 二核期; 3 三核期
A. K 型不育系; B. V 型不育系; C. 保持系

带上 (Rf0.13, Rf0.46, Rf0.61, Rf0.66) 活性较弱。V 型不育系多了一条 Rf0.48 酶带。保持系酶带数不变。K、V 型不育系和保持系相比, K 型不育系少一条酶带 (Rf0.42); V 型不育系少 Rf0.42, Rf0.61, Rf0.66 三条酶带, 但多了 Rf0.48, Rf0.57 两条特有酶带 (见图 2)。

2.3 不同发育阶段的雌蕊过氧化物酶同工酶

在同一发育时期, K、V 型不育系和保持系的酶带数和酶带分布情况一致。随雌蕊器官的正常发育, 酶带数均呈增加的变化趋势; 单核期 7 条, 二核期 8 条, 三核期 9 条 (见图 3)。

2.4 不同发育时期旗叶的过氧化物酶同工酶

从图 4 可以看出, 在不同的发育时期, K、V 型不育系和保持系旗叶的过氧化物酶同工酶酶谱基本一致, 均为 5 条酶带。

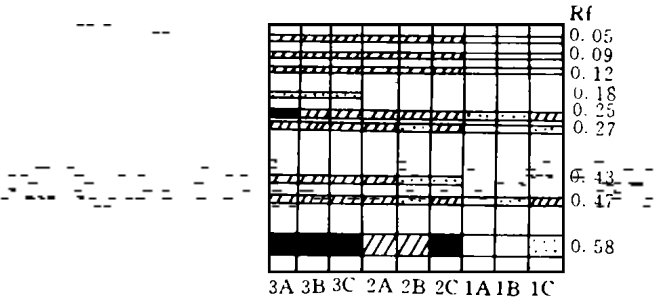


图 3 不同发育阶段的雌蕊过氧化物酶同工酶
1 单核期; 2 二核期; 3 三核期
A. K 型不育系; B. V 型不育系; C. 保持系

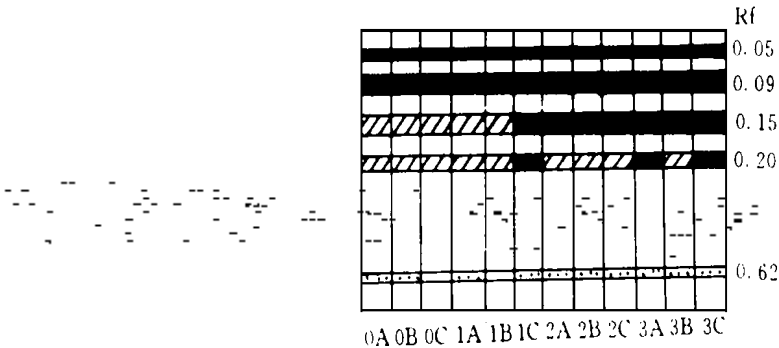


图 4 不同发育时期旗叶的过氧化物酶同工酶酶谱
0 花粉母细胞减数分裂期; 1 单核期; 2 二核期; 3 三核期
A. K 型不育系; B. V 型不育系; C. 保持系。

3 讨论

K、V 型雄性不育系和保持系之间在花粉母细胞减数分裂期的小穗、不同发育阶段的雌蕊和旗叶上, 其过氧化物酶酶谱均无明显差异, 从分子水平上说明 K、V 型不育系和保持系在上述组织器官中的生长发育情况是基本一致的。

从不同发育阶段的花药过氧化物酶同工酶酶谱中可以看出, K、V 型不育系间存在着本质的差异, 二者的败育时期是不同的。在单核、二核、三核 3 个不同时期中, K 型不育系与 V 型不

育系的酶带数量和质量均有很大差异。V型不育系从单核期开始,其酶谱与保持系酶谱有较大不同;而K型不育系到二核期才有差异。说明V型不育系花粉败育较早,单核期是其败育的关键时期;而K型不育系的败育时期主要在二核期。这一结论和我们的细胞学观察结果及王培田^[2]的报道相吻合。

鸣谢 本研究得到山东农大农学系尹承岱、李晴祺两位教授,李斯深、王洪刚、姜丽君、孔令让、于元杰各位老师的大力帮助,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 胡能书等.同工酶及其应用技术.长沙:湖南科技出版社,1985
- 2 王培田.小麦K型CM S系的雄性不育特征.见:小麦核质杂种和细胞质工程学术讨论会论文摘要选集.北京,中国遗传学会编.1987,25
- 3 朱广廉等.太谷核不育小麦(Tal)几种同工酶及其酶活的比较研究.山西农业科学,1983(10): 39~ 42
- 4 杨太兴等.玉米不同细胞质雄性不育类型的同工酶分析.作物学报,1982,8(4): 269~ 274
- 5 代尧仁等.水稻二九南一号雄性不育系及相应保持系花药中某些呼吸酶和游离组蛋白的比较研究.遗传学报,1978,5(3): 227~ 233
- 6 傅鸿仪等.高粱雄性不育系及可育系的呼吸酶和游离组蛋白的电泳分析.遗传,1980,2(3): 28~ 30
- 7 周时佳等.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.作物学报,1985,11(2): 109~ 114
- 8 祁忠占等.小麦雄性不育系保持系过氧化物酶同工酶的比较研究.华北农学报,1988,3(2): 1~ 5
- 9 卢良峰等.普通小麦K型三系花药过氧化物酶同工酶的初步观察.华北农学报,1992,7(4): 19~ 21
- 10 彭永康等.玉米黄早4雄性不育系、保持系过氧化物酶同工酶的比较研究.实验生物学报,1987,20(3): 259~ 265
- 11 褚圻等.水稻五种同核异质雄性不育系的酯酶、过氧化物酶同工酶分析.上海农业学报,1985,1(1): 1~ 10
- 12 Alan S&. SandalPC. Electrophoretic analysis of anther protein from male-fertile and male-sterile sudan-grass *Sorghum vulgare* var *sudanense*(Piper). Crop Science, 1969, 9(2): 157~ 159
- 13 Pedersen S Variation among pollen specific isozymes in barley. Hereditas, 1988, 109 239~ 244
- 14 Yasuo Ohta Zymographic analysis of cytoplasmic male sterile *peunia* and *zea* Annual Report National Institute of Genetics Japan, 1967, (18): 27
- 15 Liu Eh A simple method for determining the relative activity of individual peroxidase isozymes in extract Anal Biochem, 1973, 56 145~ 154

A Comparative Study on Peroxidase Isozymes of K-type V-type Male Sterile Line and Maintenance Line in Common Wheat

Ju Zhengchun

(Shandong Agricultural Extension Centre, Jinan 250100)

Sun Lanzhen

(Department of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an)

Abstract By means of vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis, the isozyme zymograms of peroxidase were analyzed in the stamen, pistil and flag leaf from plants of *Ae. kotschyi* cytoplasmic male sterile line (K-CMS), and of *Ae. ventricosa* cytoplasmic male sterile line (V-CMS) as well as its maintenance line (B) at different developmental stages. The results showed that the isozyme zymograms of anthers of K-CMS, V-CMS and B were different at various developmental stages. According to the change of the isozyme bands and activity, it was found that the stage of pollen abortion was different between K-CMS and V-CMS. It was supposed that the key stage of pollen abortion was "single-nucleus stage" for V-CMS, but "double-nucleus stage" for K-CMS. This was in accordance with the observation of cytology. The isozyme zymograms of pistil and flag leaf of K-CMS, V-CMS, B showed no significantly different at different stages.

Key words Common wheat; Peroxidase isozyme; K-type male sterile line; V-type male sterile line; Maintenance line