

# 石刁柏性别表现与同工酶的关系

范双喜 宋学锋

(北京农学院园艺系,北京 102208)

**摘 要** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳对石刁柏(*Asparagus officinalis* L.)雌雄植株不同器官及不同组织的过氧化物酶同工酶谱进行了研究,结果表明,除根部外,尽管鳞片、茎尖、拟叶等器官酶谱有明显差异,但雌雄株间差异有相同的趋势。雄株均比相应的雌株少一条酶带,雌雄植株组织培养获得的愈伤组织和茎尖过氧化物酶同工酶酶谱差异也有类似的规律。说明石刁柏性别差异与过氧化物酶同工酶的数目有关,过氧化物酶同工酶谱的差异可以作为性别鉴定的指标。

**关键词** 石刁柏 雌株 雄株 同工酶

石刁柏系雌雄异株宿根性植物,开花前无法判定性别。由于雄株高产<sup>[1]</sup>,生产上亟需全雄优良品种,而分株繁殖虽能获得少量遗传一致的植株,但难以大规模进行<sup>[2]</sup>。国外利用茎尖组织培养<sup>[3]</sup>及花药单倍体培养<sup>[4]</sup>已成功地培育出优良全雄植株并应用于生产。国内虽也有这方面的研究,但多停留在试验水平<sup>[5]</sup>,应用于生产尚需配套体系,且成本高,难度大,难以大面积应用。因此,探索石刁柏雌雄差异的本质,进而寻求早期鉴定性别的可靠指标具有重要意义。

植物同工酶的发现,为分析鉴定植物性别提供了新的途径。关于植物组织中广泛存在的过氧化物酶同工酶在生长与分化中的作用曾有不少报道<sup>[6]</sup>。Penel 等<sup>[13]</sup>注意到在菠菜中性别差异与过氧化物酶同工酶的数目有关。Petig 等<sup>[14]</sup>发现过氧化物酶、吲哚乙酸氧化酶与黄瓜性别表现密切有关。1982 年钟海文等<sup>[7]</sup>利用过氧化物酶同工酶图谱成功地鉴定了银杏植物的性别,进一步阐明了过氧化物酶同工酶与性别表现的关系。但有关石刁柏此方面的工作,国内外尚未见报道。本研究分析了石刁柏不同器官雌雄植株间过氧化物酶同工酶谱表现,旨在探讨适宜作为性别鉴定的部位,并在此基础上,对石刁柏组培苗不同组织雌雄株间过氧化物酶同工酶进行了研究,以期对石刁柏性别鉴定提供可靠的科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

试验材料为北京农学院蔬菜试验站栽植的 UC72 雌雄株及 UC72 雌雄株茎尖培养获得的愈伤组织和茎尖。

## 1.2 样品处理

选标定雌雄植株分别制样,重复4次。称鲜样0.5g,置于冰冻研钵中,加入Tris-HCl缓冲液(0.1M pH8.0)2.0ml提取,高速冷冻离心机10000×g离心15min,取上清液作供试酶液,点样量为50 $\mu$ l。

## 1.3 试验方法

采用聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳<sup>[8]</sup>,分离胶及浓缩胶浓度分别为7%和2.5%,2.0mA/管稳流电泳2~2.5h。电泳完毕将凝胶柱取出,放入抗坏血酸—联苯胺染色液染色<sup>[10]</sup>,7%醋酸保存并拍照。画出酶谱图,记录酶带迁移距离,并置于岛津CS-930双波长薄层扫描仪下进行过氧化物酶同工酶染色区带光密度扫描测量。

# 2 结果与分析

## 2.1 不同器官雌雄株之间过氧化物酶同工酶的差异

石刁柏根、鳞片、拟叶、茎尖等器官过氧化物酶同工酶按迁移率(Rf)大小分为三区(表1)。同一生育期各器官间过氧化物酶谱明显不同,雌雄植株间均呈相同的趋势(图1),尤以鳞片酶带最多,茎尖和拟叶次之,根中最少。值得注意的是,除根部外,鳞片、拟叶、茎尖等器官雌雄植株间过氧化物酶同工酶酶谱均有差异,雄株较相应雌株少一条酶带,缺失条带在不同器官中位置不同。鳞片、拟叶在Ⅰ区缺失,而茎尖则在Ⅲ区缺失。根部雌雄植株间酶带无差异,均为两条(图2)。

上述图谱表明,雌雄株间酶谱确有差异,缺失酶带多为弱带,带的缺失决定了性型的差别;而共有的相对稳定的酶带则反映了该器官的基本特征。不仅如此,酶谱扫描图还显示了雌雄株间蛋白质含量存在差异,雄株的蛋白质含量较雌株高。

## 2.2 愈伤组织和茎尖雌雄株间过氧化物酶同工酶的差异

石刁柏雌雄株愈伤组织和茎尖过氧化物酶同工酶酶谱(图3)和各酶带相对迁移率(表2)在不同材料间亦不同。愈伤组织较茎尖多一条酶带,二者有三条酶带

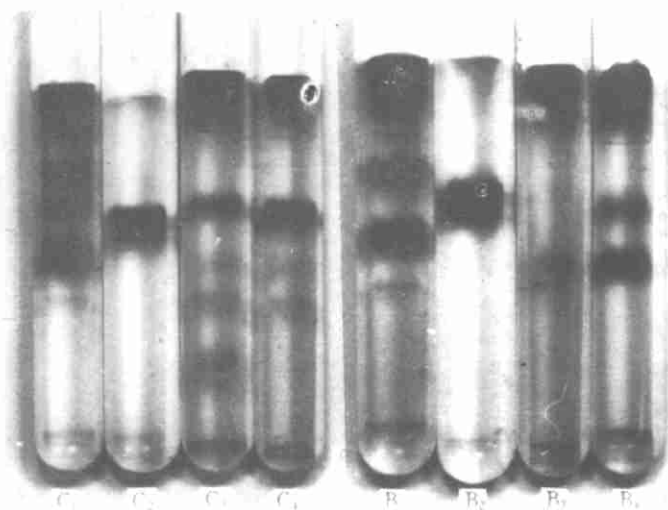


图1 石刁柏雌雄植株过氧化物酶同工酶酶谱

相同,这可能是由于两者来源于同一母体所致,因而具有其特征酶带。同样,不同组织雌雄株间仍是雄株少一条酶带(图4),愈伤组织在中速区(Ⅰ区)缺失,茎尖则在快速区(Ⅲ区)缺失。

表 1 石刁柏不同器官雌雄植株间过氧化物酶同工酶酶带相对迁移率(Rf 值)

区 带	鳞 片		根		拟 叶		茎 尖	
	雌 (C <sub>1</sub> )	雄 (B <sub>1</sub> )	雌 (C <sub>2</sub> )	雄 (B <sub>2</sub> )	雌 (C <sub>3</sub> )	雄 (B <sub>3</sub> )	雌 (C <sub>4</sub> )	雄 (B <sub>4</sub> )
I 1	0.121	0.124			0.124	0.128	0.127	0.131
2					0.154	0.154	0.165	0.160
3	0.212	0.207						
II 1	0.259							
2	0.321	0.319	0.347	0.347	0.345			
3			0.405	0.405			0.349	0.352
III 1	0.485	0.485						
2					0.509	0.504		
3							0.527	0.531
4					0.595	0.592	0.611	
5	0.621	0.621						

表 2 不同组织雌雄植株间过氧化物酶同工酶酶带迁移率(Rf)

区 带	茎 尖		愈 伤 组 织	
	雌株(A <sub>1</sub> )	雄株(A <sub>2</sub> )	雌株(A <sub>3</sub> )	雄株(A <sub>4</sub> )
I 1	0.083	0.089		
2	0.142	0.137	0.140	0.142
3	0.189	0.192	0.187	0.192
II 1	0.292	0.285	0.281	0.275
2				0.343
3			0.445	0.442
III 1			0.553	0.550
2	0.675			

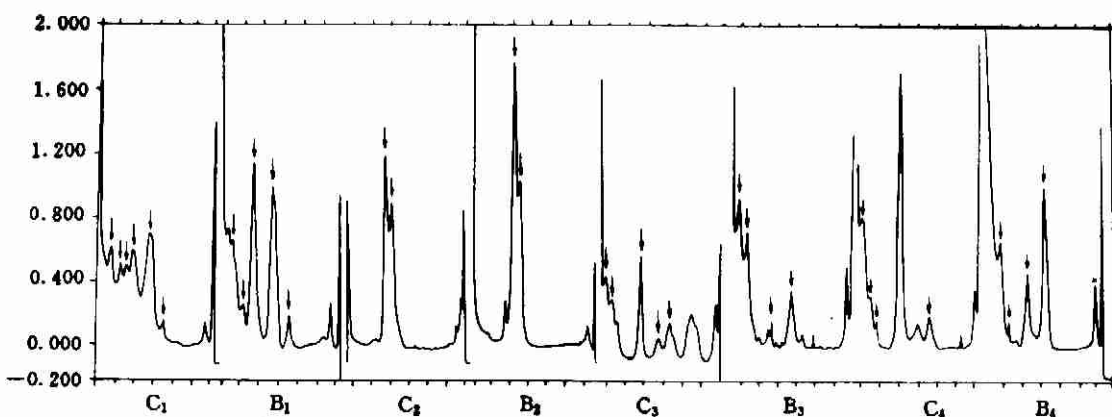


图 2 石刁柏雌雄植株不同器官过氧化物酶同工酶扫描图谱

由于雌雄植株茎尖培养诱导愈伤组织及幼芽分化均在相同的人工控制条件下进行,可以有效地排除环境条件、取样时期及取样方法的影响,使雌雄植株过氧化物酶同工酶酶谱更能反映雌雄性别的本质。

### 3 讨论

石刁柏的性别是由单基因控制的<sup>[9]</sup>,植物不同器官的分化是在一定条件下基因的顺序表达,而同工酶则是基因表达的次级反应<sup>[10]</sup>。因此,同工酶的变化先于性别的表现,从分析同工酶差异入手,就有可能在性型表现前鉴定雌雄性别。

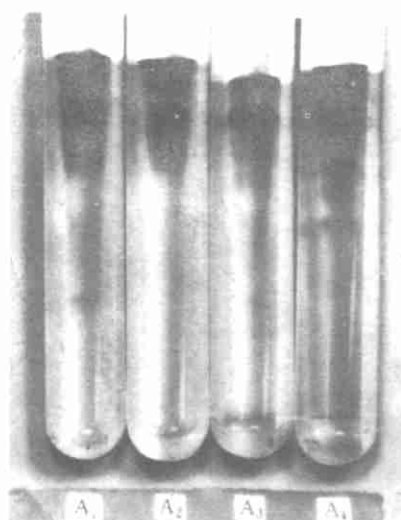


图 3 不同组织雌雄植株过氧化物酶同工酶酶谱

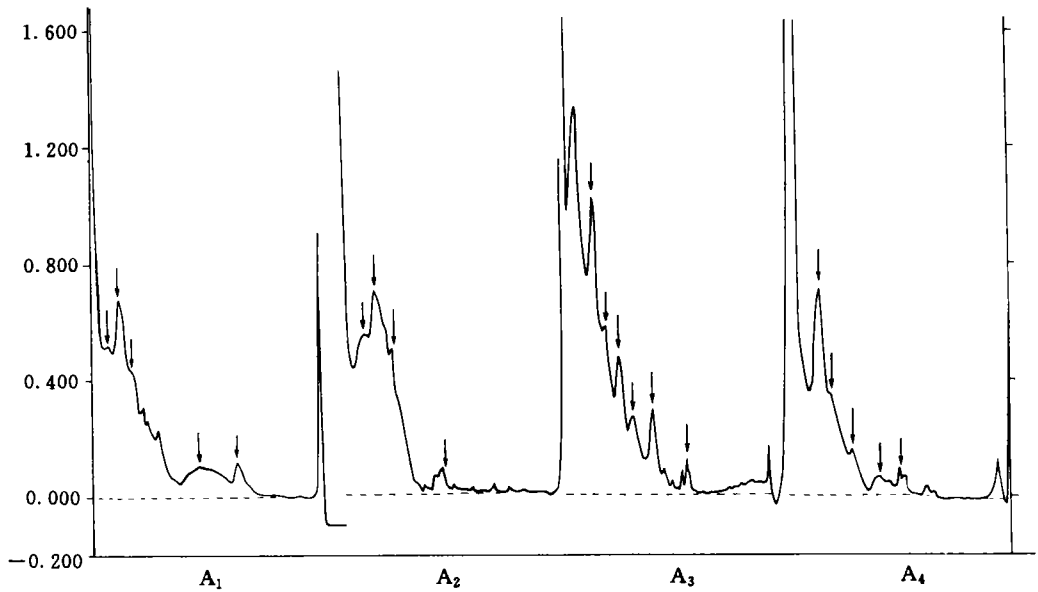


图4 不同组培材料雌雄株过氧化物酶同工酶扫描图

Scandalios 曾指出,由于取样时期,取样部位,样品制备条件和样品保存等因素的影响,往往会引起同工酶多型性假象<sup>[11]</sup>。因此研究同工酶酶谱,不能简单地把谱带的增加或缺失看成是基因的增减,而应首先考虑基因的表达与否。其法就是尽可能多地研究同一植物各部位不同发育时期的酶谱,使酶基因产物有可能被表达而被发现<sup>[12]</sup>。据此,本研究对石刁柏雌雄株不同器官、不同组织进行了分析,以探索适宜作性别鉴定的部位,同时,证明了过氧化物酶同工酶作为石刁柏性别鉴定的可靠性。

按照分子酶学“一个基因一个同工酶亚基”的理论,同工酶是分子水平的指标,是基因水平的变化。因此,分析同工酶的变化可以深入研究植物性别决定、分化、遗传及其控制等影响蔬菜生产的重大课题。在鉴定性别的基础上,通过各种措施,控制性别的分化,使之向着人们需要的方向转化。

### 参 考 文 献

- 1 浦上敦子. アスパラガスの雄株大量増殖法. 农业および园艺, 1988, 63(1): 180~184
- 2 周荣仁. 蔬菜作物的组织培养. 植物生理学通讯, 1981, (2): 8~11
- 3 浦上敦子. アスパラガスの组织培养による増殖とその育种的利用. 农业および园艺, 1988, 63(2): 271~273
- 4 八锹利郎等. アスパラガスのやく培养におけるカールの誘導と器官分化. 园学杂志, 1972, 41(3): 272~280
- 5 严仁玲, 张磊, 张存金等. 石刁柏花药离体培养及单倍体植株再生的研究. 华北农学报, 1992, 7(1): 75~82
- 6 黄永芬, 汪清胤, 王海廷等. 从番茄过氧化物酶同工酶表型差异探讨杂种优势机理. 遗传学报, 1985, 12(3): 193~199
- 7 钟海文, 杨中汉, 朱广廉. 根据过氧化物酶同工酶图谱鉴定银杏植物的性别. 林业科学, 1982(2): 1~4

- 8 汪沛洪等. 基础生物化学实验指导. 西安:陕西科学技术出版社,1986,93~101
- 9 安彩泰. 植物的性别决定和遗传. 遗传,1983,5(3):44~46
- 10 曾宗巽,梅慧生,杨中汉等. 赤霉素和乙烯利对菠菜性别表现的控制及其与同工酶的关系. 植物生理学报,1980,6(2):149~155
- 11 黄大年,谷明光,张雪琴等. 二倍体多年生大乌草及其与玉米的杂种 F<sub>1</sub> 同工酶和可溶性蛋白质电泳研究. 遗传学报,1984,11(6):472~480
- 12 周光宇. 有关同工酶分析的几个问题. 植物生理学通讯,1983(1):1~4
- 13 Penel Ci and Greppin H. Evolution of the auxin-oxidase and peroxidase activity during the spinach's photoperiodic induction and sexualisation. Plant Cell Physiol,1972,13(1):151~156
- 14 Petig N ,Rudich J. Peroxidase and IAA oxidase activity and isoenzyme patterns in cucumber plants as affected by sex expression and ethephon. Physiol Plant , 1972,27:156~160

## Relationship between Sex and Isozymes of Peroxidase in Asparagus Plants

Fan Shuangxi

Song Xuefeng

(Department of Horticulture, Beijing Agricultural College )

**Abstract** Isozymes of peroxidase from different sexual asparagus (*Asparagus officinalis* L . ) plants were analysed by polyacrylamide gel electrophoresis. The result showed that, with the exception of roots ,the enzyme diversity on scaly leaf, stem apex and cladode appeared in both male and female plants,and the enzyme bands in male plants were less than that in female plants. The isozymes of peroxidase on callus and stem apex from tissue culture showed same result as above. The results indicated that sex of asparagus plants has relationship with their enzyme patterns. Therefore ,the latter can be used to identify sex of asparagus plants .

**Key words** ;Asparagus ;Male plant ;Female plant ;Isozymes of peroxidase