

水稻、陆稻根系蛋白质含量和同工酶研究

祁忠占 彭永康* 宋玖雪

(南开大学生物系, 天津 300071)

摘要 对 10 个水稻栽培种和 10 个陆稻栽培种的研究结果表明, 水稻和陆稻根系发育过程中蛋白质含量、POD 和 COD 同工酶都有较明显的差异, 陆稻根系中蛋白质含量高于水稻的含量, 陆稻的 POD 同工酶谱带数虽少于水稻, 但苗期和分蘖期酶谱带总面积却高于水稻。在不同发育时期, 陆稻中 POD 同工酶谱型变化较水稻稳定。陆稻根系中 COD 同工酶谱带数多于水稻, 但苗期和分蘖期大部分 COD 同工酶的相对酶活性低于水稻。陆稻根系发育过程中, 在开花期尚能检测到 COD₇ 酶带。与水稻相比, 陆稻根系发育过程中 COD 同工酶谱型的变化较小。

关键词 陆稻 水稻 细胞色素氧化酶同工酶 聚丙烯酰胺凝胶电泳 耐旱性

水稻和陆稻被认为是栽培稻中两种不同的生态型品种⁽¹⁾, 后者可以栽培在旱地上, 因此具有很强的耐旱性。国内外对于水稻、陆稻比较生理和比较解剖及根系发育特性方面的研究已有报道^(1,2,8-10), 但对这两种不同生态型品种根系中蛋白质含量、同工酶的变化还没有人进行过研究, 尤其在根系不同发育时期蛋白质含量, 某些同工酶变化规律与陆稻耐旱性的关系还没有作系统分析。本项工作以 10 个水稻和 10 个陆稻品种为材料, 对不同发育时期水稻间、陆稻间及水稻与陆稻间根系中蛋白质含量、POD、COD、MDH 同工酶的变化规律作了比较分析, 旨在探讨陆稻耐旱的可能原因, 为我国北方干旱地区推广种植耐旱陆稻提供依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

试验用普通栽培稻(*Oryza sativa* L.)中两个不同的生态种, 其中水稻为冀粳 4 号、品 4、京红 1 号、垦系 2 号、吉粳 2 号、小站 101、花育 15、中丹 2 号、红旗 11 和冀粳 2 号; 陆稻为白芒子、小红芒、羊毛早、旱稻辛 81、农林 14、毫算粳、诺瓦、龙城 30、登陆 2 号和贝利特派纳。所用水稻品种均系我国北方粳稻, 而陆稻品种则分别来自美国、朝鲜、日本和我国华南和华北地区, 具有广泛的代表性。

6 月中旬分期盆栽, 每隔两周播一组材料, 共播 5 组, 以便能在同一时期采收到不

1991-10-15 收稿。

* 天津师范大学生物系。

同发育时期的根系。每组材料选择健壮无病株 15 株, 取苗期(五叶期)、分蘖期、拔节期、开花期和成熟(乳熟)期的根系作蛋白质含量和同工酶分析材料。

1.2 蛋白质含量测定和电泳方法

蛋白质含量测定以 0.1g 鲜重材料加 0.1mol/L 磷酸缓冲液 (pH7.0), 冰浴下研磨成匀浆后于冷冻条件下 10 000r/min 离心 10min, 上清液为待测溶液, 采用紫外分光光度法测定蛋白质含量^[11]。

同工酶的测定采用聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳方法^[12,13]。鉴于苗期和分蘖期水稻与陆稻根系形态特征差异大, 对这 2 个时期 POD、COD 谱带用 C-RIB 微机求出其总面积和每条 COD 谱带的相对酶活性, 以便进一步比较。

2 结果与讨论

2.1 水稻和陆稻根系发育过程中蛋白质含量的比较

测定结果(表 1)表明, 水稻和陆稻从幼苗至成熟期, 根系蛋白质的含量总的趋势是下降的, 尽管水稻 10 个品种间的蛋白质含量有一定差异, 10 个陆稻间也可观察到某些差异, 但在根系各个不同的发育时期, 水稻和陆稻间蛋白质含量上的差异也是存在的, 表现为陆稻中每克鲜根中所含蛋白质的毫克数要比水稻高; 但水稻和陆稻根系不同发育时期蛋白质的含量变化又有各自的特点, 陆稻以苗期的蛋白质含量为最高, 以后随着根系的发育而逐渐下降; 水稻在分蘖期的蛋白质含量出现一个回升, 以后逐渐下降(表 1)。两种稻作中均未观察到白农书^[3]等在研究杂交水稻根系蛋白质含量时出现的抽穗-灌浆期根系蛋白质含量回升的现象。

陆稻苗期蛋白质的含量比水稻高, 这也许与陆稻的耐旱性有关。我们曾分析过很多国内外水、陆稻苗期根系的发育特性, 从形态特征上看, 这一时期两者的差异最大, 陆稻根系比水稻多, 主胚根也比水稻长得多, 这与陆稻直接旱播所需水份须从土壤深层吸收有关^[11]。陆稻根系蛋白质含量高有利于根系吸水, 这是陆稻适应干旱环境的一种生化反应。

2.2 水稻和陆稻根系发育过程中 POD、COD 同工酶的变化

POD、COD 都属于氧化酶类, 这两种酶在水稻和陆稻的根系发育过程中均呈现出很明显的差异, 并且在根系的发育时期, 两种酶的变化也很有规律性。

2.2.1 POD 同工酶 10 个水稻中同工酶谱型可分为 3 种类型, 其中苗期根系的 POD 同工酶分别由 8~10 条酶带组成, 酶带统一编号为 POD₁~POD₁₀。10 个陆稻 POD 同工酶谱型可分为 2 种类型, 其中苗期根系中 POD 同工酶由 6 条酶带组成, 编号为 POD₁、POD₃、POD₄~POD₇(附图)。由于两种稻作根系形态差异大, 我们将水稻冀梗 4 号、品 4、京红 1 号和陆稻白芒子、小红芒及羊毛旱的苗期和分蘖期根系中 POD 同工酶, 用 C-RIB 微机求得酶带总面积, 以期更利于比较, 其中水稻三个品种分别为 6404400 单位, 4905430 单位, 6092307 单位, 陆稻分别为 6593034 单位, 6940052 单位, 6640329 单位。与水稻相比, 苗期陆稻缺少 2~4 条 POD 同工酶谱带, 但其所有酶带扫描总面积经微机测算后数值高于水稻。分蘖期时, 水稻和陆稻根系中 POD 同工酶数目与苗期一样分别由 8~10 条和 6 条组成, 此时酶带的总面积也是陆稻高于水稻, 水稻品种分别为 7436277, 7770409 和

6947036 单位, 陆稻分别为 7906141, 7993209 和 8014893 单位; 到了拔节期时, 水稻由

表 1 陆稻和水稻根系不同发育期蛋白质含量* (mg/g 鲜重)

材料名称	苗 期	分 蘖	拔 节	开 花	乳 熟
冀梗 4 号	25.66 ± 1.68	27.20 ± 1.36	17.76 ± 0.90	16.60 ± 1.05	13.83 ± 0.48
品 4	20.30 ± 0.4	25.10 ± 2.40	17.93 ± 1.13	15.93 ± 1.28	13.46 ± 0.45
京红 1 号	21.80 ± 1.34	24.23 ± 1.20	14.13 ± 0.88	13.66 ± 0.63	13.80 ± 0.92
垦系 2 号	18.16 ± 0.38	22.96 ± 1.13	16.50 ± 0.55	13.76 ± 0.40	13.50 ± 0.58
吉梗 2 号	19.85 ± 0.17	22.40 ± 1.40	19.30 ± 0.60	17.90 ± 1.01	15.56 ± 0.30
小站 101	23.91 ± 0.41	24.96 ± 0.58	20.40 ± 0.88	17.53 ± 0.71	17.70 ± 0.91
花育 15	19.83 ± 0.80	22.40 ± 1.60	19.73 ± 0.82	11.56 ± 1.44	9.83 ± 0.10
中丹 2 号	20.90 ± 0.45	23.53 ± 0.65	18.86 ± 0.90	17.36 ± 0.60	13.63 ± 0.48
红旗 11	23.30 ± 1.89	25.26 ± 1.48	18.46 ± 1.03	14.76 ± 0.33	14.66 ± 0.46
冀梗 2 号	23.26 ± 1.59	25.60 ± 1.40	18.16 ± 0.46	17.00 ± 0.63	15.83 ± 0.52
白芒子	29.33 ± 0.27	27.90 ± 0.16	21.40 ± 0.85	20.06 ± 0.73	14.46 ± 0.73
小红芒	28.60 ± 0.60	27.23 ± 1.02	22.63 ± 1.59	19.50 ± 0.90	15.70 ± 0.92
羊毛早	29.70 ± 0.57	29.16 ± 1.24	22.50 ± 1.46	20.60 ± 0.34	18.73 ± 0.44
早稻辛 31	28.80 ± 0.51	28.26 ± 0.83	20.96 ± 0.08	18.09 ± 1.66	18.13 ± 0.41
农林 14(日本)	27.20 ± 0.29	24.43 ± 1.79	22.09 ± 1.57	18.56 ± 1.31	16.46 ± 0.82
毫算梗	29.36 ± 0.49	25.10 ± 1.36	20.73 ± 0.77	19.50 ± 1.52	18.33 ± 0.69
诺瓦(美国)	28.20 ± 1.29	28.73 ± 0.44	23.40 ± 1.06	18.90 ± 0.49	17.31 ± 0.69
龙城(朝鲜)	29.50 ± 1.56	28.93 ± 0.90	22.53 ± 1.23	18.20 ± 1.23	16.33 ± 1.18
登陆 2(朝鲜)	29.23 ± 1.49	29.73 ± 0.66	23.53 ± 1.34	20.16 ± 0.05	16.86 ± 0.41
贝利特派纳(美国)	29.96 ± 0.41	28.80 ± 0.73	26.90 ± 0.69	20.80 ± 0.57	15.80 ± 0.66

* 表中数据为 3 个重复测定结果的平均值。

原来的 8~10 条 POD 酶带降到 5~6 条, 并且这一酶谱特征一直保持至成熟; 而陆稻拔节期则仅比苗期减少 1 条酶带 (POD₄), 开花期也没有产生明显变化, 到成熟期 POD₇ 消失。从总的酶谱特征看, 水稻中的 POD 同工酶数比陆稻多, 且根系发育过程中变化较明显, 表现为酶带消失多。陆稻中的同工酶较水稻少, 但在根系发育过程中酶谱相对稳定, 酶带消失少。从微机测得的苗期和分蘖期根系的酶带总面积看, 陆稻高于水稻。POD 是一种对不良环境条件反应十分敏感的酶, 植物在受害或处于不良环境时都可以通过诱导或抑制某

些同工酶的产生来适应外界不良环境条件。一些学者将植物的这一特征称为植物的“适应性反应”⁽⁵⁾；而另有一些作者认为，植物根系中的 POD 酶活性的强弱与植物的耐旱性有关⁽⁶⁾。陆稻的这种在根系不同发育时期 POD 同工酶谱型相对稳定和根系两个不同发育时期酶带总面积高于水稻的特征，可能也是陆稻对外界干旱条件相适应的一种“适应性反应”，因而与耐旱性有关。

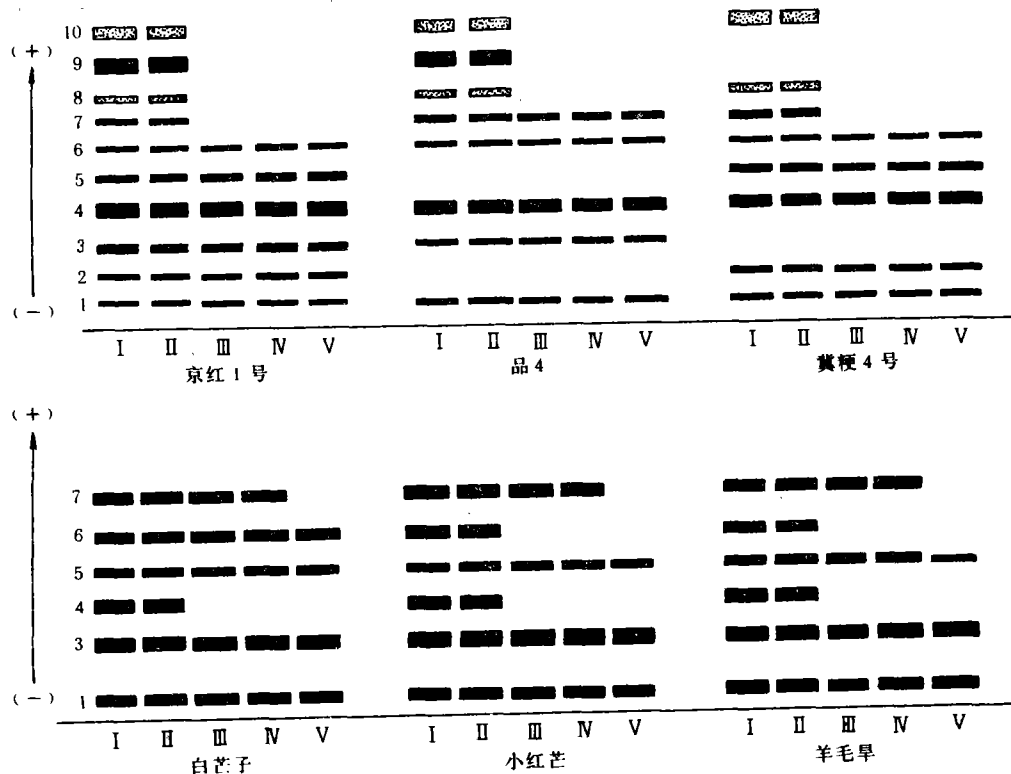


图 陆稻和水稻根系不同发育时期 POD 同工酶

(I)苗期; (II)分蘖期; (III)拔节期; (IV)开花期; (V)成熟期

2.2.2 COD 同工酶 10 个水稻不同发育期根系中 COD 谱型相似; 10 个陆稻间根系不同发育期谱型也未见明显差异; 但水稻与陆稻间 COD 谱型有较明显差异, 如 10 个水稻苗期的 COD 同工酶共有 5 条酶带组成, 而 10 个陆稻中则有 6~7 条, 比水稻多 1~2 条酶带。如将微机中所测得的酶带扫描面积换算成相对酶活性 (以酶谱上各条酶带的总活性为 100%, 其中各条酶带的活性占总活性的百分率)⁽⁷⁾, 即得出表 3。表 3 是水稻冀梗 4 号、品 4、京红 1 号和陆稻白芒子、小红芒、羊毛早的不同发育期根系 COD 的相对酶活性。可以看到, 苗期陆稻中 COD 同工酶数目多于水稻, 大部分酶带的相对酶活性要比水稻低。分蘖期水稻和陆稻根系中的 COD 同工酶与苗期一样, 基本没有产生明显变化; 但到了拔节期和开花期都发生较大变化, 均表现为酶带数目减少, 如水稻中基本由 3 条酶带组成, 而

陆稻则为 2 条;到了成熟期,水稻和陆稻根系中均未检测出较为清晰的酶带(表 2, 3)。

表 2 陆稻和水稻根系不同发育期 COD 同工酶谱带扫描面积

生育期	同工酶	小红芒	羊毛早	白芒子	冀梗 4 号	品 4	京红 1 号
苗期(五叶)	COD ₁	139818	144779	154838	190749	207491	199741
	COD ₂		89097	91050			
	COD ₃	73172	76403	75182	87079	90097	91901
	COD ₄	149488	170091	159698	146767	150311	149001
	COD ₅	136475	140812	138452	187512	189413	181321
	COD ₆	14437	139987	146739			
	COD ₇	144713	155417	145471	164224	169121	170111
分蘖	COD ₁	79088	173718	80248	170739	173718	181711
	COD ₂		81779	85985			
	COD ₃	83874	80849	86979	206855	199695	201695
	COD ₄	139894	138849	147984	93575	92980	91891
	COD ₅	100454	104114	110654	272213	23113	271341
	COD ₆	159190	161604	163009			
	COD ₇	81941	79809	83141	171249	177129	171207
拔节	COD ₁				110374	90310	89904
	COD ₂						
	COD ₃				190650	110131	109157
	COD ₄						
	COD ₅	79904	81037	80114	101451	131417	129439
	COD ₆						
	COD ₇	60013	63101	60103			
开花	COD ₁				89003	88904	89104
	COD ₂						
	COD ₃				103151	98795	101394
	COD ₄						
	COD ₅	63010	61001	66064	120431	110314	100317
	COD ₆						
	COD ₇	49930	50179	55037			
成熟		-	-	-	-	-	-

COD 是一种电子传递过程中催化氧化还原成水的酶,到目前为止,还没有见到 COD 与植物耐旱性关系的报道,但从我们所得结果看,下面一些现象值得引起注意:

(1) 与水稻相比,陆稻苗期和分蘖期根系中大部分(90%)COD 同工酶谱带的酶活性偏低。

(2) 随着根系的发育,水稻和陆稻根系中的 COD 同工酶带均呈减少现象,但陆稻中

的同工酶谱型变化相对小一些。如在开花期, 10 个陆稻中还能检测到活性很强的 COD_7 酶带, 这条酶带在凝胶上的相对位置、活性均与苗期根系中的 COD_7 相似, 而在水稻开花期, 根系中已不能检测出这条酶带。

表 3 陆稻和水稻根系不同发育期 COD 同工酶谱带相对酶活性

生育期	同工酶	小红芒	羊毛早	白芒子	冀梗 4 号	品 4	京红 1 号
苗期(五叶)	COD_1	0.177	0.190	0.169	0.243	0.258	0.252
	COD_2		0.177	0.099			
	COD_3	0.092	0.100	0.082	0.111	0.112	0.116
	COD_4	0.189	0.223	0.175	0.187	0.187	0.188
	COD_5	0.173	0.185	0.151	0.239	0.235	0.228
	COD_6	0.183	0.184	0.160			
	COD_7	0.184	0.204	0.160	0.209	0.210	0.214
分蘖	COD_1	0.123	0.111	0.102	0.145	0.200	0.197
	COD_2		0.112	0.109			
	COD_3	0.130	0.111	0.109	0.175	0.220	0.219
	COD_4	0.217	0.191	0.188	0.079	0.100	0.100
	COD_5	0.156	0.143	0.141	0.231	0.295	0.295
	COD_6	0.248	0.222	0.207			
	COD_7	0.127	0.110	0.106	0.145	0.193	0.187
拔节	COD_1				0.274	0.272	0.273
	COD_2				0.473	0.331	0.332
	COD_3				0.473	0.331	0.332
	COD_4						
	COD_5	0.571	0.613	0.571	0.252	0.396	0.394
	COD_6						
	COD_7	0.428	0.437	0.428			
开花	COD_1				0.280	0.298	0.305
	COD_2						
	COD_3				0.330	0.331	0.348
	COD_4						
	COD_5	0.557	0.548	0.545	0.380	0.370	0.345
	COD_6						
	COD_7	0.442	0.451	0.450			
成熟		—	—	—	—	—	—

上述实验结果表明, 水稻和陆稻不同发育时期 COD 同工酶上存在的差异是明显的, 尤其是在陆稻中 COD_7 带的存在, 这条酶带也许与陆稻的耐旱性有关, 因此, 可以看作是陆稻根系中的标志酶带。尽管现在还没有人报道 COD 与植物耐旱性的关系, 但从水稻和

陆稻根系中 COD 同工酶上存在的差异几乎可以认为与水稻、陆稻所具有的不同耐旱特性有关。

(3) 10 个水稻和 10 个陆稻的根系中的 MDH 同工酶谱型相似, 均由 1 条酶带组成。这种水稻和陆稻根系不同发育时期 MDH 同工酶谱型基本相似, 可以认为 MDH 与陆稻的耐旱性无关。关于这个问题还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 余叔文等. 水、陆稻的比较生理研究. 植物学报, 1958, 7(4): 187~201
- 2 黄建成等. 陆稻和水稻的比较解剖. 陕西师大学报, 1986 (4): 60~68
- 3 白衣书, 肖翊华. 杂交水稻根系生长与呼吸强度的研究. 作物学报, 1988, 14(1): 53~59
- 4 彭永康等. 陆稻和水稻苗期根系的比较研究. 植物学通报, 1989, 6(1): 33~36
- 5 郑光华等. 瓜尔豆(*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub)种子发芽生理的研究. 植物生理学报, 1980, 6(2): 115~126
- 6 华南师范大学生物系. 植物生理学实验指导. 北京: 人民出版社, 1980, 68~73
- 7 廖映芬. 柑桔近缘植物酯酶同工酶的研究. 植物学报, 1988, 30(2): 163~168
- 8 Armenta-soto J I. Genetics analysis of root characters in rice. SABRAO J, 1983, 15(2): 103~106
- 9 Nagai T. Cultivated rice varieties viewed from root characters. Proc Crop Soc Jpu, 1957, 27(2): 217~220
- 10 Singh S P. Studies on the root distribution pattern in paddy cultivars. Indian J Agricul Chem, 1981, 14(1 / 2): 155~161
- 11 Layne E. Methods in Enzymology, 1957 (3): 447~454
- 12 Davis B J. Disc electrophoresis II. Method and application to human serum proteins. Ann N Y Acad Sci, 1964 (121): 404~427
- 13 Siciliano M J. Zone Electrophoresis, 1976 (2) 185~209

Comparative Studies on Root Protein Content and Isozymes of Lowland and Upland Rice

Qi Zhongzhan Peng Yongkang Song Jiuxue

(Department of Biology, Nankai University, Tianjin)

Abstract The study results showed that the protein content in root system of upland rice was higher than that of lowland rice; the POD isozyme bands number in root system of upland rice was less than that of lowland rice, but the total areas of these isozymes bands in the former were larger than that in the latter when they were at seedling and tillering stages. At every development stages the POD isozymes zymograms in root system of upland rice were more stable than that of lowland rice, the COD isozyme bands number in the former was more than that in the latter, but at the seedling and tillering stages the relative activity of COD isozymes in upland rice was mostly lower than that in lowland rice. In the development course of the root system the COD₇ bands could be found out even at the flowering period in the upland rice root. In the same course the COD isozyme zymograms in the root system of upland rice were more stable than that of lowland rice.

Key words: Upland rice; Lowland rice; Protein content; Cytochrome oxidase isozyme; Polyacrylamide gel electrophoresis; Drought tolerance