

V型杂种小麦及亲本三系幼苗同工酶研究^{*}

李玉红¹, 郭蔼光², 陈 鹏², 杨天章³

(1 西北农林科技大学 园艺学院; 2 生命科学学院; 3 农学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 以V型杂种小麦及亲本三系为材料, 对其幼苗酯酶(EST)、过氧化物酶(POD)、ATP酶同工酶进行了研究。结果表明, V型不育系(V-59A)与相应保持系(V-59B)幼苗的酯酶、过氧化物酶、ATP酶同工酶谱型都存在较大差异。说明这3种酶的表达都是核质互作的结果。综合分析供试材料幼苗POD、EST、ATPase同工酶的变化, 发现单用一种同工酶不能将杂种及亲本三系完全区分开。

[关键词] 杂种小麦; 三系幼苗; 同工酶

[中图分类号] S512 101

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2002)06-0118-03

从同工酶的角度研究小麦细胞质雄性不育系和保持系, 探讨其不育机理, 已有大量报道^[1~3]。但利用杂种小麦及亲本三系幼苗同工酶的变化规律, 探讨杂种小麦及亲本三系的鉴别和核质互作关系, 目前还尚未见报道。为此, 本实验通过对杂种小麦及亲本三系幼苗的过氧化物酶(POD)、酯酶(EST)、ATP酶同工酶变异和表达情况的研究, 一方面为杂种及三系的鉴别工作进行初步尝试, 另一方面对核质互作的遗传基础进行一定的探讨。

1 材料和方法

1.1 材 料

供试8个材料种子均由西北农林科技大学农学院提供, 分别为小麦V型细胞质雄性不育系(V-59A)、保持系(V-59B)、杂种(F_v)、恢复系(A F₅₄), 分别简称为V_A、V_B、F_v和R₀。常规品种陕229、1376、陕354和8727, 依次编号为1、2、3、4。

1.2 方 法

1.2.1 同工酶样品制备 供试材料干种子经质量分数10%安替福民消毒10 min, 用自来水冲洗干净, 清水浸泡8 h, 置25℃黑暗中发芽5 d后转入室内光照培养, 分别取3、6、9、12日龄幼苗分析POD同工酶, 取3、5、9日龄幼苗分析EST同工酶, 取5、9、13日龄幼苗分析ATP酶同工酶。将一定日龄的幼苗用蒸馏水冲洗干净后, 用滤纸吸干多余

的水分, 剪碎置冰浴的1.5 mL离心管中, 分别加入70 μL预冷至4℃的提取液, 在冰浴中迅速研成匀浆, 离心后上清液即为电泳样品。

1.2.2 同工酶电泳及染色 采用聚丙烯酰胺垂直板电泳, 酯酶分离胶浓度为7.1%, 过氧化物酶为6%, ATP酶为5.1%, 酯酶、过氧化物酶电泳及染色方法参见胡能书等^[4]的方法, ATP酶参见彭永康等^[5]的方法。

2 结果与分析

2.1 POD同工酶电泳图谱比较

V型杂种小麦及亲本三系幼苗POD同工酶测定结果表明, 4个供试品种3日龄幼苗的POD同工酶谱基本相同(图1), 6日龄幼苗的POD同工酶谱呈现一定的差异性, 但并不显著, 这种趋势在9日龄幼苗的POD同工酶谱型中表现较为明显, 12日龄幼苗的POD图谱与9日龄幼苗的POD图谱基本接近。

2.2 EST同工酶电泳图谱比较

V型杂种小麦及亲本三系幼苗的酯酶同工酶谱型, 在3、5、9日龄这3个取样时期中, 5日龄幼苗的酯酶同工酶谱型差异较大, V-59A和V-59B谱型明显不同(而A F₅₄与V-59B图谱基本相同)。V-59A和V-59B相比, 其差别主要在A₁和A₂这两条酶带上。V-59A具有A₂酶带, V-59B和A F₅₄具A₁酶带。

^{*} [收稿日期] 2001-10-08

[作者简介] 李玉红(1973-), 女, 河南淅川人, 讲师, 硕士, 主要从事种子科学研究。

F_v 则兼有 A F₅₄ 的 A₁ 和 V-59A 的 A₂ 酶带, 表明了 杂种真实性 (图 1)。

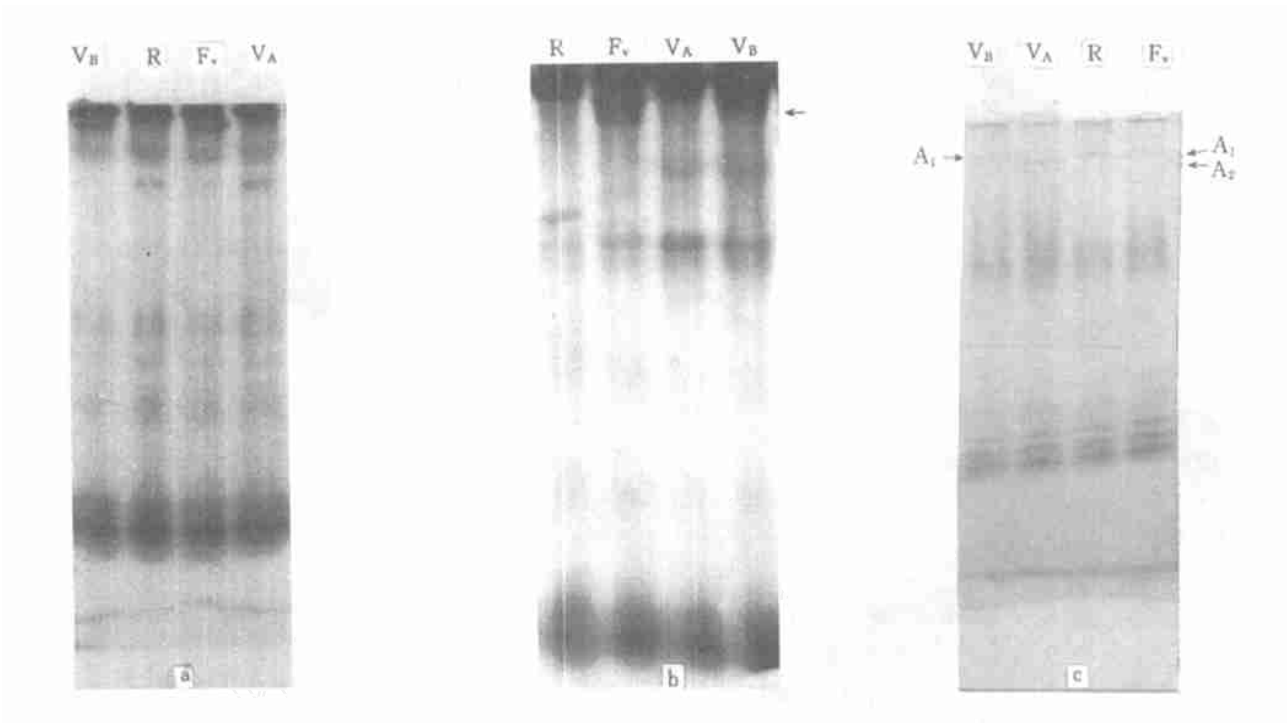


图 1 V 型杂种小麦及亲本三系不同日龄幼苗的 POD 图谱
a 3 d 幼苗; b 9 d 幼苗; c 5 d 幼苗

Fig 1 The POD isozyme zymogram of seedlings at different growth period in V-type hybrid wheat and its three lines
a 3 d seedlings; b 9 d seedlings; c 5 d seedlings

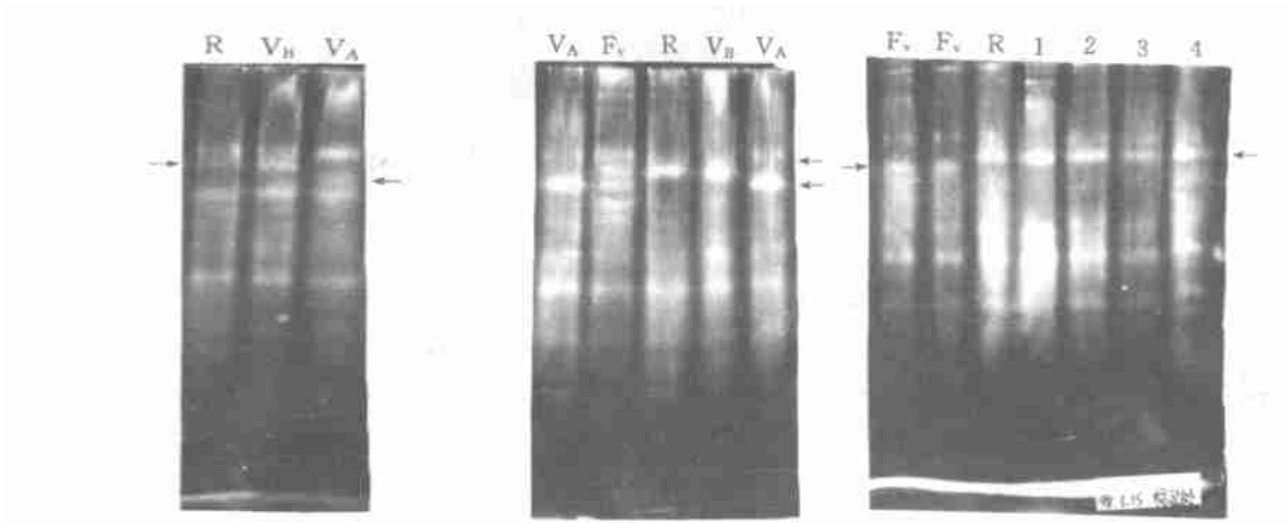


图 2 V 型不育系及相应保持系
5 d 幼苗 ATP 酶同工酶谱
Fig 2 The ATPase isozyme zymogram
of 5 d seedlings
in V-59A and V-59B

图 3 V 型杂种小麦及亲本三系
9 d 幼苗 ATP 酶同工酶谱
Fig 3 The ATPase isozyme zymogram
of 9 d seedlings in V-type
hybrid wheat and its three lines

图 4 F_v 与常规种 13 d 幼苗
ATPase 同工酶谱
Fig 4 The ATPase isozyme zymogram
of 13 d seedlings in
F_v and common varieties

2 3 ATP 酶同工酶电泳图谱比较

V 型杂种小麦及亲本三系幼苗 ATP 酶同工酶
测试结果表明, V-59B 和 A F₅₄ 在 3 个取样时期,

ATP 酶同工酶谱基本相同, 而 V-59A 与 V-59B
ATP 酶同工酶在幼苗生长的不同时期其酶谱均不
相同。如 5 日龄幼苗酶谱 V-59A 比 V-59B 在正极

区多出 1 条强活性酶带 (图 2)。9 日龄幼苗酶谱, V-59A 与 V-59B 在正极区酶带迁移率不同 (图 3), F_v 则兼有双亲的酶带, 表明了杂种的真实性, 对 13 日龄幼苗进行了 F_v , $A_{F_{54}}$ 与常规种的比较, 结果表明 F_v 和 $A_{F_{54}}$ 及常规种都能相互区分 (图 4)。据此, 有可能用 ATP 酶同工酶方法鉴别 F_v 与常规种及其父本 $A_{F_{54}}$ 之间, 以及 V-59A 和 V-59B 之间的差异。

3 讨 论

1) 运用同工酶对三系作物进行鉴定并已投入实际应用的最典型例子是水稻^[6]和油菜^[7], 二者均通过萌动胚或幼芽的酯酶同工酶来进行杂交种子纯度检验。对供试的 V 型杂种小麦及相应的亲本三系幼

苗的同工酶研究结果表明, 单用一种同工酶不能将杂种及亲本三系完全区分开。从鉴定效果看, ATP 酶同工酶由于谱带较丰富, V-59A 和 F_v 具有特征性的谱带, 这些谱带在常规种及恢复系中都不表达。因此, ATP 酶同工酶是鉴定 V-59A 和 F_v 较理想的酶类。

2) V 型不育系 (V-59A) 幼苗在 EST 和 ATP 酶同工酶谱上所具有的特征性酶带, 在细胞质相同、细胞核不同的杂一代 (F_v) 中均表达, 而在细胞质不同、细胞核相同的保持系 (V-59B) 和细胞质、细胞核均不相同的恢复系 ($A_{F_{54}}$) 中均不表达, 这一现象说明这些特征性谱带有可能是不育系细胞质表达或调控的结果。

[参考文献]

- [1] 薛 玺, 王同昌, 徐香玲, 等 小麦细胞质雄性不育与不同核基因组及其染色体的关系 [J]. 遗传学报, 1995, 22 (6): 445- 454
- [2] 曲志才, 栗翼玖 普通小麦 T 型和 V 型雄性不育系同工酶的比较研究 [J]. 遗传, 1994, 16 (6): 20- 23
- [3] 易自力 小麦细胞遗传学的研究进展及应用前景 [J]. 植物学通报, 1992, 9 (2): 21- 25
- [4] 胡能书, 万国贤 同工酶电泳技术及其应用 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985
- [5] 彭永康, 郝泗城 低温对玉米、高粱和白菜幼苗生长的伤害与 ATPase 同工酶变化的关系 [J]. 西北植物学报, 1995, 15 (4): 294- 300
- [6] 文方德, 李卓杰, 傅家瑞 种子纯度鉴定技术进展及其评论 [J]. 种子, 1995, 5: 36- 38
- [7] 李殿荣 同工酶谱分析鉴定杂交油菜秦油二号种子纯度技术研究 [J]. 陕西农垦科技 (杂交油菜专辑), 1992, 22: 2- 7

Studies on isozymes in the seedlings of V-type hybrid wheat and its three parent lines

LI Yu-hong¹, GUO Ai-guang², CHEN Peng², YANG Tian-zhang³

(1 College of Horticulture, 2 College of Life Sciences, 3 College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The isozymes of peroxidase, esterase and ATPase in V-type hybrid wheat and its three parent lines are conducted. V-type CMS as well as its maintainer line can be distinguished with peroxidase, esterase and ATPase. From the result, it is proposed that the cytoplasm could act as a element to regulate or express the function of nuclear genes in the seedling developing process. There is a relationship between the nuclear genes and cytoplasmic genes. V-type hybrid wheat and its three parent lines can not be completely discriminated with only one kind of isozyme.

Key words: hybrid wheat; three parent line seedling; isozymes