

# 小麦远缘杂种酯酶、过氧化物酶 同工酶的初步研究\*

徐乃瑜 王许莲\*\*

(武汉大学生物系)

## A PRELIMINARY STUDY ON THE ESTERASE AND PEROXIDASE ISOZYMES OF DISTANT HYBRIDS OF WHEAT

Xu Naiyu and Wang Xulian

(Department of Biology, Wuhan University)

### 提 要

本工作采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法,对四个小麦远缘杂种及其双亲的酯酶和过氧化物酶同工酶谱进行了分析比较,并结合田间生物学特性、形态特征和农艺性状的观察,探讨酶谱差异与杂种遗传性变异之间的关系。实验结果表明:变异大的杂种其酶谱与双亲相比也出现较大的差异,有些组合杂种的微小变异在酶谱上也有所反映,如在形态上与母本无明显变异但长势较强的杂种,常显现新的杂种酶带或双亲的互补酶带。这些酶谱的变化反映了遗传信息的重组和丰富,使杂种出现一些新性状或生长优势较强。

近年来已经确证:一个基因决定一条肽链的形成。酶是特异蛋白质遗传密码的复制产物。酶在结构上的差异主要来源于基因。因此不少学者(2-7)认为同工酶谱分析可作为从分子水平识别基因存在和表达的一种生化指标。一些研究揭示应用同工酶谱分析,可以较可靠的从分子水平鉴别许多从外部性状上难以鉴别的遗传性变异,因而可在细胞杂交工作中,早期鉴定细胞的发育时期和体细胞融合杂种,以及对远缘杂种,尤其是对那些被认为是非精卵结合的远缘杂种的鉴定是一种比较成功的方法。L. R. Wetter(8)曾分析了大豆——烟草体细胞杂种细胞系和其亲本的某些同工酶谱,结果表明在天门冬氨酸氨基转移酶酶谱方面,体细胞融合杂种有一条酶带来自大豆亲本系,有两条酶带来

本文于1983年8月9日收到。

\*承河南农科院赵德芳同志赠给小麦试验材料,特此致谢。

\*\*参加实验工作的还有董玉凤、李咏洲。

自芬兰蕨草亲本系,另外还有一条双亲都有的酶带:在醇脱氢酶酶谱方面,双亲各具一条不同的酶带,体细胞融合杂种则具有来自双亲的两条酶带;这些资料证实了体细胞融合杂种的真实存在。周光宇等<sup>(4)</sup>在研究鉴定高粱稻远缘杂种时,发现在高粱稻的酯酶同工酶酶谱中,出现一条与父本高粱相同,而母本水稻没有的酶带。他们进一步的研究<sup>(5)</sup>证实了高粱与水稻的DNA序列互有16%的同源性,父本高粱的DNA序列已存在于稳定的高粱稻内;因而作者提出:亲缘关系愈远的生物间的染色体和染色体外DNA的结构愈不易亲和,很易互相排斥,但从局部DNA分子看,部分基因间的结构却可能保持一定的亲和性,因而当杂交时远缘父本DNA片段在母本DNA复制过程中有可能被重组整合到母本的DNA序列中来,因而导致杂种产生许多新的变异。

我们应用酯酶和过氧化物酶同工酶酶谱分析技术,结合田间形态、生育特性和农艺性状的观察,对四个小麦远缘杂种及其亲本的萌动种胚和乳熟期种子提取液,采用薄层垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳法进行了分析比较。

## 材 料 和 方 法

供试材料有我校自己培育的野生二粒小麦×圆锥小麦,河南农科院提供的G598(硬粒小麦)×郑州763、(阿小黑麦×郑州742)×郑州742、和郑州741×早熟3号大麦等已经稳定的四个组合的高代材料。这些远缘杂种从F<sub>1</sub>开始育性都比较正常,分离比较小,形态上倾向于普通小麦,但有变异。

同工酶分析采用Tris—柠檬酸缓冲系统(pH8.9)检测酯酶同工酶,凝胶浓度分离胶为7.3%,成层胶为2.5%,电极缓冲系统为低离子强度的Tris—甘氨酸系统(Tris 0.62克,甘氨酸0.20克加水至500毫升,pH8.7)<sup>(4)</sup>。过氧化物酶同工酶用1 M Tris-HCl系统(pH8.9)检测,凝胶浓度分离胶为7%,成层胶为4%,电极缓冲系统为高离子强度的Tris—甘氨酸系统(Tris 3.0克,甘氨酸14.4克加水至100毫升,用时稀释20倍,pH8.3)<sup>(1)</sup>。酯酶电泳电流强度开始为1.5—2毫安/厘米,半小时后下降为1—1.5毫安/厘米,电压为160—240伏,电泳时间3—4小时。过氧化物酶电泳电流强度为0.6—1毫安/厘米,电压为40—60伏,电泳时间17—18小时。电泳在冰箱中进行。

染色方法酯酶用1毫克/毫升的醋酸- $\alpha$ -萘酯加1毫克/毫升的坚牢兰(RR盐)染液在37℃染10—15分钟,即可出现棕褐色同工酶酶带<sup>(4)</sup>。过氧化物酶采用1毫克/毫升的醋酸联苯胺加少量30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,在室温下染半分至1分钟,看到酶带显现兰色,即从染液中取出浸入水中漂洗多次,酶带逐渐变为亮棕黄色<sup>(1)</sup>。

萌动种胚制样是取在20℃浸种催芽24小时,刚露胚芽和胚根的种子切下10个胚(带少量胚乳),加0.5毫升蒸馏水在冰浴中研磨成糊状,然后离心(3500转/分)15分钟,取出上清液加入等体积10%的甘油,混合均匀后放入冰箱备用。乳熟期种子制样是取开花后15—18天乳熟后期的30粒颖果,加蒸馏水1.5毫升,在冰浴中研磨成糊状,然后如上法离心制样备用。电泳时每样槽分别点样80微升。

## 结果和分析

### 1. 杂种与亲本生物学特性、形态特征和农艺性状的比较

杂种与亲本生育特性和农艺性状的比较参见表1和表2。试验资料表明:

表1: 杂种与亲本生育特性的比较

(1980.11.2播于武昌)

| 试验材料               | 抽穗期     |          | 开花期     |          | 成熟期<br>(月/日) |
|--------------------|---------|----------|---------|----------|--------------|
|                    | 始期(月/日) | 50%(月/日) | 始期(月/日) | 50%(月/日) |              |
| 野生二粒               | 4/24    | 4/26     | 4/27    | 4/28     | 5/29         |
| 野生二粒×圆锥小麦          | 4/2     | 4/8      | 4/12    | 4/14     | 5/22         |
| 圆锥小麦               | 4/24    | 4/26     | 4/26    | 4/28     | 6/2          |
| G598姊妹系378         | 4/20    | 4/21     | 4/23    | 4/24     | 6/6          |
| G598×郑州763         | 4/11    | 4/15     | 4/18    | 4/21     | 5/23         |
| 郑州763              | 4/11    | 4/15     | 4/18    | 4/21     | 5/24         |
| 阿小黑麦               | 4/2     | 4/8      | 4/13    | 4/15     | 5/24         |
| (阿小黑麦×郑州742)×郑州742 | 4/8     | 4/10     | 4/14    | 4/18     | 5/22         |
| 郑州742              | 4/5     | 4/9      | 4/13    | 4/18     | 5/22         |
| 郑州741              | 4/8     | 4/12     | 4/17    | 4/18     | 5/23         |
| 郑州741×早熟3号大麦       | 3/23    | 4/6      | 4/9     | 4/14     | 5/23         |
| 早熟3号大麦             | 3/24    | 3/27     | —       | —        | 5/10         |

表2: 杂种与亲本农艺性状的比较

(调查株数:20)

| 试验材料         | 株高<br>(厘米) | 分蘖数 | 穗长<br>(厘米) | 小穗数   | 有效<br>小穗数 | 千粒重<br>(克) | 单株粒重<br>(克) |
|--------------|------------|-----|------------|-------|-----------|------------|-------------|
| 野生二粒         | —          | —   | —          | —     | —         | —          | —           |
| 野生二粒×圆锥小麦    | 97.44      | 6.6 | 10.16      | 23.96 | 20.84     | 48.5       | 11.2        |
| 圆锥小麦         | —          | —   | —          | —     | —         | —          | —           |
| G598姊妹系378   | 78.10      | 5.9 | 7.9        | 19.6  | 18.00     | 31.3       | 8.1         |
| G598×郑州763   | 94.30      | 6.5 | 7.7        | 18.5  | 16.70     | 42.2       | 10.5        |
| 郑州763        | 74.90      | 6.3 | 7.7        | 21.0  | 18.00     | 38.6       | 9.4         |
| 阿小黑麦         | 93.90      | 7.5 | 7.8        | 21.3  | 18.30     | 45.4       | 10.5        |
| (阿小黑麦×郑州742) | 69.20      | 6.9 | 7.6        | 19.9  | 16.10     | —          | —           |
| 郑州742        | 69.90      | 5.9 | 7.2        | 18.9  | 16.10     | 41.2       | 8.3         |
| 郑州741        | 72.60      | 8.4 | 7.5        | 19.2  | 15.90     | 38.9       | 11.0        |
| 郑州741×早熟3号大麦 | 77.50      | 7.4 | 6.8        | 17.4  | 14.60     | 47.0       | 9.1         |
| 早熟3号大麦       | 98.30      | 7.7 | 6.6        | 27.6  | 27.10     | 46.5       | 8.4         |

(1) 野生二粒×圆锥小麦 杂种的抽穗期、开花期和成熟期比双亲都大大提前,株高也比双亲明显下降,杂种株高变异范围在90—110厘米之间,多数个体在100厘米左右,考种资料株高为97.44厘米,而双亲株高都在140厘米以上;杂种具有双亲茎秆粗壮、大穗、多粒、粒大的特点,并且由于根系发达,植株较亲本矮,抗倒伏能力强;穗形倾向圆锥小麦,籽粒白色,粉质居多,千粒重高达48.5克。

(2) G598×郑州763 杂种生育特性与父本相同,但茎叶披散相似于母本,株高、有效分蘖数、千粒重和单株粒重都超双亲,穗形和粒形则似父本,田间长势也表现出明显的优势。

(3) (阿小黑麦×郑州742)×郑州742 双亲生育特性比较相似,杂种比较倾向父本;在株高、穗形、粒形、株型等外部形态性状方面,杂种也都与父本相似,看不到小黑麦的特征。

(4) 郑州741×早熟3号大麦 杂种在抽穗期方面个体间差别较大,前后延续达13天(从3/23—4/10),但后期发育比较一致,与母本相同都在5月23日成熟,早抽穗的个体虽然开花较早,但成熟期提前并不显著。母本郑州741茎叶无蜡粉,早熟3号大麦茎叶具蜡粉,杂种茎叶上的蜡粉比父本还多,但株高、株型、穗形、粒形等外部形态则又都似母本,唯穗子比母本明显要小,千粒重比母本要大,可能又受父本的影响。

根据上述生物学特性、农艺性状和外部形态特征,四个组合的杂种与双亲相比,存在有明显的差异。

## 2. 杂种与亲本同工酶谱的比较

### (1) 酯酶谱的比较

①野生二粒×圆锥小麦 在萌动期〔图I—1(1)〕和乳熟期〔图I—1(2)〕,双亲酶谱存在有一些差异,但杂种与双亲相比却差异较大。在萌动胚的快带区,杂种酶谱与母本野生二粒相似,但在慢带区,杂种酶带数比双亲多,着色也较深,酶活力较强。在乳熟期由于杂种发育比双亲快,杂种酯酶酶谱与双亲差异较大,杂种的酶带数比双亲多,而且着色深,有些酶带的迁移率与双亲也有不同。

②G598×郑州763 在萌动期和乳熟期,双亲酶谱差异不大,杂种在萌动期酶带数和双亲相似,只在部分酶带的着色深浅上略有差异;在乳熟期杂种酶带数比双亲多出4条弱带,并且E<sub>5</sub>、E<sub>7</sub>、E<sub>8</sub>、E<sub>12</sub>和E<sub>16</sub>5条酶带比双亲着色显著要深,在相同电泳和染色条件下,酶带着色深浅可能反映着酶的数量和活性的强弱。

③(阿小黑麦×郑州742)×郑州742 在萌动期〔图I—2(1)〕,双亲酶谱、酶带数和酶带着色深浅都表现有较大差异,而杂种酶谱则完全同父本。在乳熟期〔图I—2(2)〕,双亲酶谱在快带区和慢带区也都出现差异,在快带区小黑麦出现5条着色较深的标志强带,而普通小麦一般只有3条,杂种在快带区和中间带区酶谱都和父本相同,但在慢带区杂种除具有小黑麦特有的2条酶带外,还出现2条双亲都不具备的杂种酶带。

④郑州741×早熟3号大麦 在萌动期和乳熟期,双亲酶谱都有较大差异。杂种在萌动期酶谱完全同母本郑州741。但在乳熟期,杂种酶谱虽然仍倾向母本,但慢带区略有

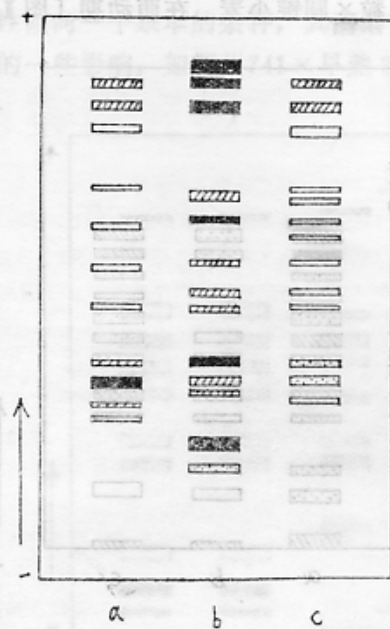


不同,与母本相比多出 $E_1$ 酶带,但缺少 $E_6$ 酶带, $E_2$ 和 $E_3$ 酶带着色比母本深。

图 I-1(1)  
萌动期



图 I-1(2)  
乳熟期



(野生=粒×圆锥小麦) 杂种与其亲本酯酶谱比较

a. 野生二粒(♀);

b. 杂种;

c. 圆锥小麦

■ 强带

▨ 次强带

▤ 弱带

□ 极弱带

图 I-2(1)  
萌动期

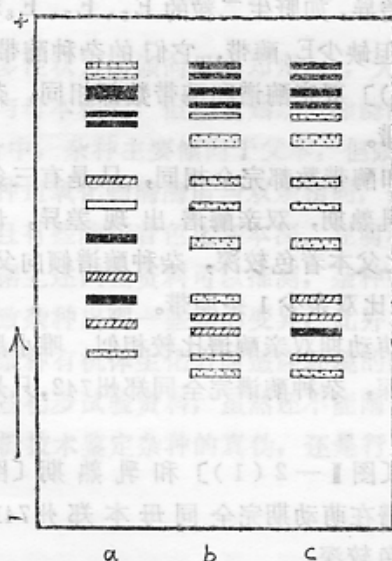
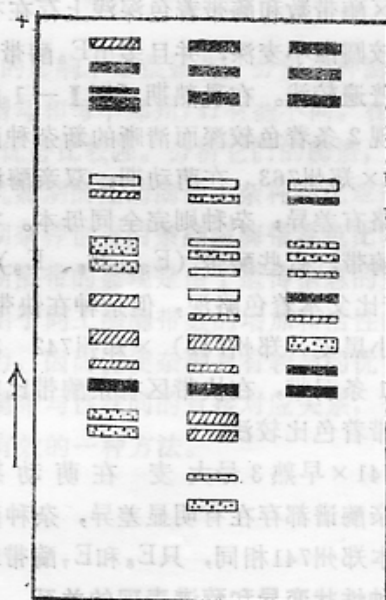


图 I-2(2)  
乳熟期



a. 阿小黑麦(♀)

b. 杂种

c. 郑州742(♂)

■ 强带

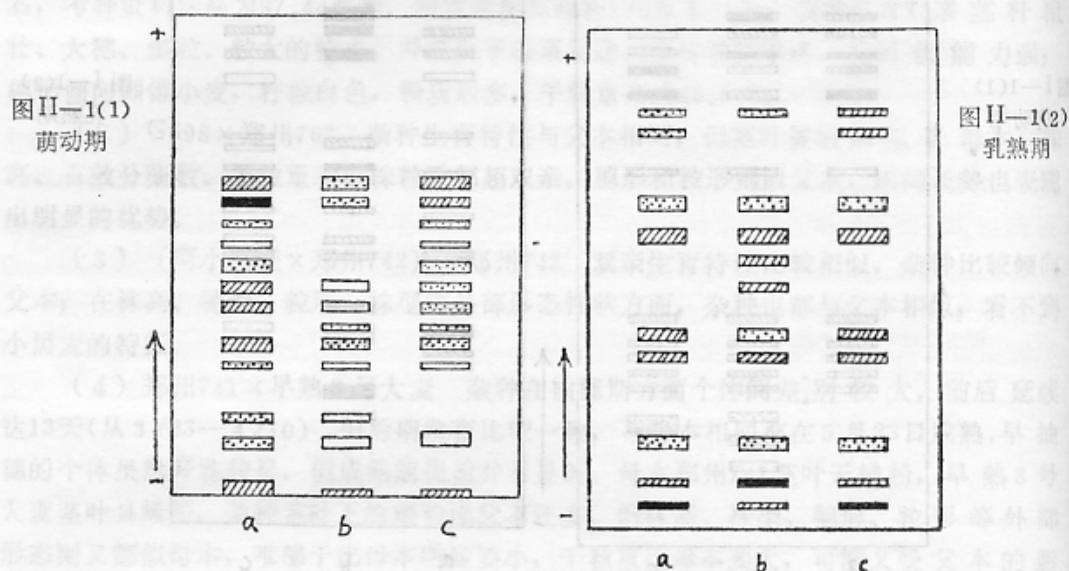
▨ 次强带

▤ 弱带

□ 极弱带

## (2) 过氧化物酶酶谱的比较

①野生二粒×圆锥小麦 在萌动期〔图Ⅱ—1(1)〕双亲酶谱基本相似,但在慢带



(野生=粒×圆锥小麦) 杂种与其亲本酶谱比较

a. 野生=粒(♀)      b. 杂种      c. 圆锥小麦  
 ■ 强带    ▨ 次强带    ▤ 弱带    □ 次弱带

区和中间带区酶带数和酶带着色深浅上存在有差异,如野生二粒的  $E_5$ 、 $E_7$ 、 $E_8$  和  $E_{12}$  4 条酶带着色较圆锥小麦深,并且多出  $E_3$  酶带,但缺少  $E_9$  酶带,它们的杂种酶带数比双亲少,着色普遍较浅。在乳熟期〔图Ⅱ—1(2)〕双亲酶谱和酶带数都相同,杂种在中间带区则出现 2 条着色较深而清晰的新杂种酶带。

②G598×郑州763 在萌动期,双亲酶谱和酶带数都完全相同,只是有三条酶带在着色深浅上略有差异;杂种则完全同母本。在乳熟期,双亲酶谱出现差异,母本比父本多出两条酶带,有些酶带( $E_3$ 、 $E_8$ 、 $E_9$ )比父本着色较深,杂种酶谱倾向父本,唯  $E_3$  和  $E_9$  酶带比父本着色略深,但杂种在快带区比双亲少 1 条弱带。

③(阿小黑麦×郑州742)×郑州742 在萌动期双亲酶谱比较相似,唯小黑麦在中间带区多出 1 条弱带,在快带区有条酶带比较深,杂种酶谱完全同郑州742,只是中间带区的三条酶带着色比较浅。

④郑州741×早熟3号大麦 在萌动期〔图Ⅱ—2(1)〕和乳熟期〔图Ⅱ—2(2)〕,双亲酶谱都存在有明显差异,杂种酶谱在萌动期完全同母本郑州741,在乳熟期也与母本郑州741相同,只  $E_6$  和  $E_7$  酶带着色较深。

### 3. 杂种性状变异和酶谱表现的关系

田间试验和考种资料表明:上述四个组合的杂种在形态上、生物学特性上和农艺性状上都与母本有一定差异,因而可以肯定它们都是真杂种。结合同工酶谱资料分析,凡外部形态和生物学特性与亲本差异大的杂种,其酶谱与双亲也有较显著的差异,

如野生二粒 $\times$ 圆锥小麦的杂种,外部形态和生物学特性与双亲差别很大,其酶谱和双亲也有明显的不同。而外部形态和生物学特性倾向一个亲本的杂种,其酶谱也与该亲本相似,但在某些发育时期可以看到另一亲本的一些影响,如郑州741 $\times$ 早熟3号大麦的杂

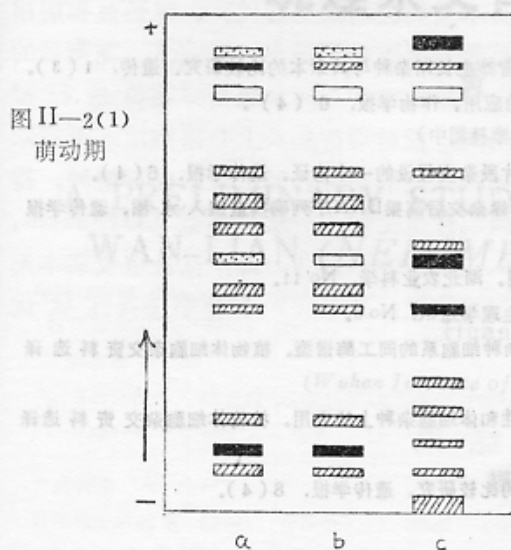


图 II-2(1)  
萌动期

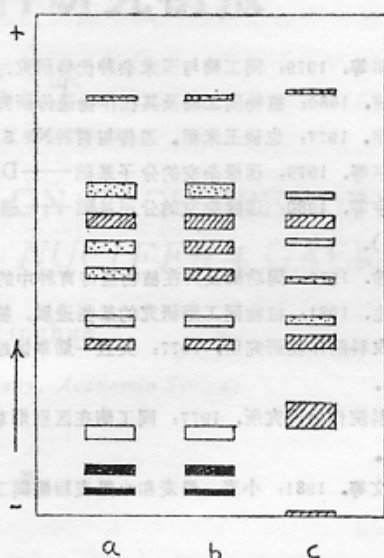


图 II-2(2)  
乳熟期

(郑州741 $\times$ 早熟3号大麦)杂种与其亲本过氧化物酶酶谱比较

a. 郑州741(♀);

b. 杂种;

c. 早熟3号大麦

■ 强带

▨ 次强带

▤ 弱带

□ 极弱带

种在很多性状方面倾向母本郑州741,大麦的影响不是很显著,分析杂种酶谱类型虽然基本上与母本相似,但在乳熟期的酯酶酶谱却和母本郑州741有些不同。在G598 $\times$ 郑州763组合中,杂种主要倾向于父本,但杂种优势比较强。分析它们的酶谱,双亲差异不大,杂种过氧化物酶酶谱与双亲相同,但乳熟期的酯酶酶谱,杂种却比双亲多出4条酶带,并且有些酶带着色比亲本深。在萌动期杂种也有两条酯酶酶带着色比较深。

根据上述试验资料可以推测,杂种中新酶带的显现是由于遗传信息的重组和丰富,结果导致杂种出现一些新的变异;此外,由于同工酶酶带数的增加和活性的提高,可能增强了杂种有机体生化方面适应环境的能力,因而促使杂种具有较高的优势和活力。

这些初步试验资料,虽然还不能阐明酶带与性状间的直接对应关系,但应用同工酶酶谱分析技术鉴定杂种的真伪,还是行之有效的一种方法。

