

小麦单体系列的酯酶同工酶分析

童一中 沈革志*

摘 要

以鉴定单体为目的,利用聚丙烯酰胺平板凝胶电泳的方法,结合酶的染色,测定了中国春小麦二体及21份单体的剑叶、茎节、颖壳、雌蕊、雄蕊提取液中的酯酶同工酶。测定的结果表明:单体3A、3B与二体相比,在酶谱上存在着明显的差异。本研究不仅有助于单体的鉴定,而且,也有助于酯酶同工酶结构基因的定位。

引 言

在小麦中,关于单体和二体间同工酶酶谱的比较,曾有人做过部分的研究^{[1],[2],[3]}。Barber^[1]在小麦酯酶同工酶结构基因的定位中,测定过3A、3B、3D单体和二体的酯酶同工酶。结果,仅报道了酯酶同工酶的结构基因和小麦3A染色体的左臂有关,而没有报道二体与这三个单体在同工酶酶谱上存在着差异。

关于小麦全部单体系列的同工酶酶谱测定的研究,目前,尚未见到有关的文献报道。

本研究从同工酶酶谱分析的角度出发,结合细胞学的鉴定,在前人研究的基础上,测定了中国春小麦二体及21份单体五种组织中的酯酶同工酶(EST)。进行了二体和单体酶谱之间的比较,主要想解决以下三个问题:

1. 通过酶谱间的比较,找出单体与二体间的差异,为单体植株的鉴定,提供酯酶同工酶鉴定的指标。
2. 利用单体系列,进行酯酶同工酶结构基因的染色体定位。
3. 对于同工酶鉴定的选材,应选取哪种组织最为有效。

材 料 和 方 法

一、材料来源及其种植

本研究所用的中国春小麦二体及21份单体,均引自中国农业科学院作物所。

材料分二批种植:第一批,于80年11月种于本系农场网室。81年4月中旬抽穗,从中提取试验材料。

为了重复检验,第二批材料于81年7月30日将种子发芽,待萌动后,放入4℃冰箱内春化20—25天,9月3日播种于室外花盆,10月底移入温室内栽培,12月中,下旬抽穗,从中提取试验材料。

* 生物系植物遗传学专业研究生
本文于82年6月2日收到

二、预备试验

为了减少实验误差，在研究时曾做了下列预备试验：电泳条件，取材部位，发育时期，酶液浓度，加样多少，材料冰冻时间等对比试验。在此基础上，选用了中国春二体及 21 份单体的剑叶、茎节、颖壳、雌蕊，雄蕊为材料，在各种条件相对一致的情况下，测定了酯酶同工酶。

三、单体植株的鉴定及样品提取

所用的单体植株，事先都经过严格的细胞学鉴定，经确定为单体后，才进行样品提取。

单体确定的标准：取幼穗经卡诺氏固定液固定 24 小时后，在 70% 酒精中保存，观察时以醋酸洋红染色，压片观察减数分裂的中期 I、后期 I 细胞中有无落后染色体存在。以 5 个显微镜视野中，具有落后染色体的单体细胞占细胞总数的 40% 以上的植株为单体株。

供试材料的取材标准：都取麦穗当天全部抽出剑叶的植株为试验材料，放入 -15℃ 低温冰箱内保存。

样品的提取，参照吴少伯^[4]的方法。样品重量与缓冲液体积的比例为 1:3 及 1:5。

四、凝胶制备及电泳

本研究所用的凝胶配方和凝胶的制备，系参照吴少伯^[4]和莽克强^[6]的方法。

所用的电泳槽为双面垂直平板电泳槽，每次可以分析 22 个样品。

每个样品槽加样品液 50μl，20% 蔗糖 5μl，溴酚兰 5μl。

电流控制在 30 毫安，电压为 240—280V。电泳时间为 3 个小时左右。

五、凝胶染色及其扫描

酯酶的染色体方法参照吴少伯^[4]。经染色，摄影后的凝胶，对二体及有差异的单体的酶谱进行了色谱扫描，仪器型号为 C.S-910，津岛——双相色谱扫描仪。扫描形式属于线型。酯酶的吸收波长是 520nm。

结果和讨论

中国春小麦的二体及 21 份单体的剑叶，颖壳、茎节、雌蕊、雄蕊提取液，经电泳、染色后，在酶谱上发现只有 3A、3B 二个单体和二体存在着明显的差异(图 1)。

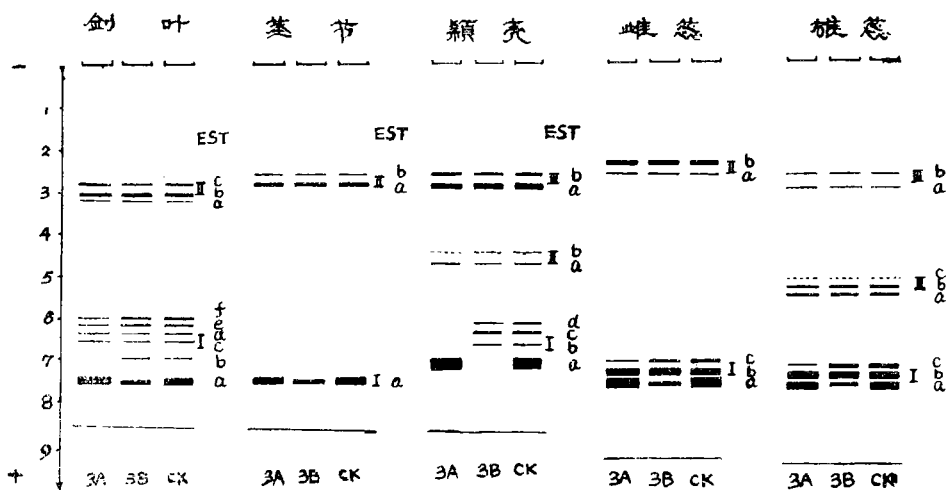


图 1 剑叶、茎节、颖壳、雌蕊雄蕊中酯酶同工酶酶谱模式图

根据各组织中各条酶带从阴极向阳极的迁移顺序,大体上可以划分为 2—3 个活性区。这些活性区,分别称为 EST-I、EST-II、EST-III。同时,为了酶带之间相互区别的方便,根据各区中酶带迁移的快慢,分别进行酶带编号:EST-I a、EST-I b……EST-III b。

为了正确地辨别酶带的有无及染色强度的强弱,对中国春小麦的二体和单体 3A、3B 五种组织的同工酶谱分别进行了扫描测定(图 2)。

现将中国春小麦二体和单体 3A、3B 五种组织中酯酶同工酶的差异汇总于表 1。

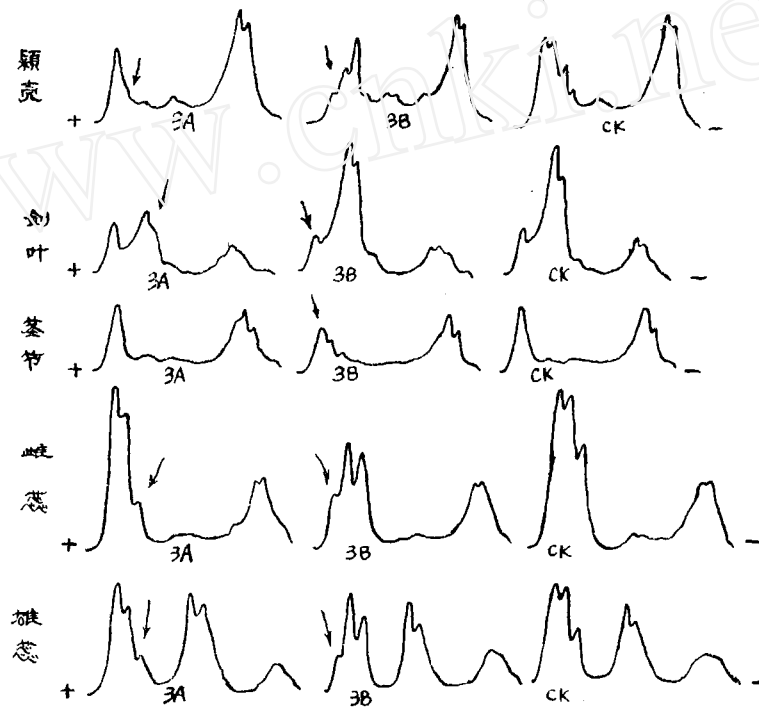


图 2 颖壳、剑叶、茎节、雌蕊、雄蕊的酯酶同工酶谱扫描

表 1 二体与单体 3A、3B 酯酶同工酶酶带差异的比较

组 织 器 官	类 别	二 体							单 体 3A							单 体 3B													
		总 数	EST-I 区					EST I 区	EST II 区	总 数	EST-I 区					EST I 区	EST II 区	总 数	EST-I 区					EST I 区	EST II 区				
			a	b	c	d	e				f	a	b	c	d				e	f	a	b	c			d	e	f	
剑 叶		9	+	+	+	+	+	+	3		8	+	-	+	+	+	+	3		9	+	+	+	+	+	+	3		
颖 壳		8	+	+	+	+	+		2	2	5	+	-	-	-			2	2	7	-	+	+	+			2	2	
茎 节		3	+						2		3	+								3	+					2			
雌 蕊		5	+	+	+				2		5	+	+	+						5	+	+	+			2			
雄 蕊		7	+	+	+				2	2	7	+	+	+						7	+	+	+			2	2		

注: † 代表正常。+ 代表染色强度比正常的弱、- 代表缺少

结合上述图表,可以清楚地看出:在五种组织中,二体与单体3A、3B的差异,主要集中在酶带数较多的EST-I区。这种差异表现为单体3A、3B的EST-I区中的酶带少于二体,或部分酶带的染色强度低于二体。单体3A,在剑叶、颖壳的EST-I区中,除EST-Ia为正常外,其余酶带均表现为酶带缺少,或酶带染色强度减弱。在雌蕊、雄蕊中,表现为EST-Ic的染色强度减弱。单体3B,除了颖壳中发现EST-Ia缺少外,其余四种组织中都表现为EST-Ia的染色强度减弱。

根据上述结果,可以认为:

1. 单体3A、3B在EST-I区中所出现的酶带差异,是由于3A、3B染色体数目从二条减少为一条所造成的,不可能是由于其它环境因素的干扰所造成的。因为,如果是其他因素造成的话,就不可能在五种组织中,在同一个活性区,相同的酶带上表现出差异的一致性。

2. 3A染色体上可能存在着控制EST-I区大部分酶带的结构基因。3B染色体上可能存在着控制着EST-Ia酶带的结构基因。这个结果和以前Barber^[1];Bozzini^[6];May^[7];Cubadda^[8];Lelley^[9];Jaaska^[10]所报道的结果基本上是一致的。

3. 在单体3A、3B所测定的组织的酶谱上,发现与3A、3B染色体有关的酶带的染色强度普遍比二体来得弱,部分酶带在某些组织中甚至缺少。可以认为这是由于位于3A、3B染色体上的这些酶带的结构基因具有剂量效应所引起的。这和Hart^[11]提出的“小麦非整倍体之间,所观察到的大部分同工酶的变异,应归于编码同工酶的结构基因的剂量不同”的结论是一致的。此外,Wolf^[2]也曾报道过与5B单体和二体在磷酸二酯同工酶上表现出差异,是由于磷酸二酯酶同工酶调节基因具有剂量效应所引起的。但关于单体和二体之间同工酶结构基因的剂量效应,目前还没有见到有关文献报道。

4. 酯酶同工酶能够作为鉴定3A、3B单体在电的一种可靠的生物化学的指标,在五种组织的测定中,以颖壳作为材料,对于单体植株的鉴定效果最为明显。

参 考 文 献

- [1] Barber, H. H. 1968 *Nature* 218 p. 450
- [2] Wolf, G. 1977 *Genetics* 86 p. 597
- [3] Nishikawa, K. 1981 *Jap. J. Genetics* 56. 4. p. 385
- [4] 吴少伯 1979 *植物生理学通讯* 1 p. 30
- [5] 莽克强 1975 《聚丙烯酰胺凝胶电泳》科学出版社出版
- [6] Bozzini, A. 1973 *Proc. IV. Int. Wheat Genet. Symp.* p. 783
- [7] May C. E. 1973 *Proc. IV. Int. Wheat Genet. Symp.* p. 843
- [8] Cubadda, R. 1975 *Theor. Appl. Genet.* 45 p. 290
- [9] Lelley, J. 1976 《小麦的基因符号及绘制基因图》童一中译
- [10] Jaaska, V. 1980 *Theor. Appl. Genet.* 56 p. 273
- [11] Hart, G. E. 1977 *Heredity* 39 p. 263

Analysis of Esterases Isozymes in Monosomic Wheat System

Tong Yizhong Shen Gezhi

ABSTRACT

In order to identify monosomics one disomic ($2n=42$) and twenty one monosomics ($2n=41$) of common wheat (*T. aestivum*) Chinese Spring were determined for their esterases isozymes in flag leaves, Stem-nodes, gluma, pistils and stamens by Polyacrylamide gel electrofocusing method.

The obtained results show that monosomic 3A, 3B obviously differ from disomic in esterases zymogram.

The study is useful not only for identification of monosomic, but also for esterases isozymes structural gene location.