

野生稻的遗传学研究*

II、普通野生稻过氧化物酶同工酶的多态性研究

王卫建 汪向明

(武汉大学生物系)

提 要 本文利用电泳方法, 研究了普通野生稻, 尤其是中国和印度普通野生稻的过氧化物酶同工酶的多态性, 结果表明:

1). 普通野生稻中, 过氧化物酶同工酶能分离出24条酶带, 各酶带的出现频率不同, 其中第3、5、6、9、10、11、19、20、21和22号酶带出现频率超过50%, 又以第3、20和22三条酶带出现频率最高, 这10条带可以做为普通野生稻过氧化物酶同工酶的基本酶谱, 而第3、20和22三条带可能是其原始酶带。

2). 中国和印度的普通野生稻过氧化物酶同工酶有一定差异, 但在基本酶谱和原始酶带的表现上是一致的。

因此, 尽管普通野生稻过氧化物酶同工酶具有高度的分子多态性, 但仍能反映种的分子特征。本文还讨论了过氧化物酶同工酶与普通野生稻的演化, 和我国栽培稻的起源及其在进化学研究中的价值。

关键词 过氧化物酶; 电泳; 多态性; 进化; 普通野生稻

过氧化物酶同工酶与高等植物生长、发育和进化有密切的关系^[18, 22]。稻属种(主要是栽培稻和其近缘野生种)的过氧化物酶同工酶的多态性, 自60年代末和70年代初, 就有报道^[17, 18, 24]。最近, Endo^[18]和Second^[23]进一步研究了栽培稻等的过氧化物酶同工酶, 并深入到了基因水平。尽管如此, 关于栽培稻的近缘祖先种——普通野生稻(尤其是中国普通野生稻)过氧化物酶同工酶, 与普通野生稻的分化和栽培稻的起源等关系, 仍是一个有研究价值的课题。

中国和印度是栽培稻的两大起源中心^[11, 21, 11, 14], 普通野生稻的分布又十分广泛, 变异类型繁多^[6], 因此, 比较中国和印度的普通野生稻的分子多态性, 可能抓住了普通野生稻演化、栽培稻起源等问题的要点。本文研究了普通野生稻的过氧化物酶同工酶的多态性, 并且对中国和印度的普通野生稻的过氧化物酶同工酶的多态性进行了比较。

本文于1987年1月21日收到。

* 本研究为国家自然科学基金资助的课题。

实验材料和方法

1. 实验材料 供试材料由湖南农科院水稻研究所、中国农业科学院作物品种资源研究所和日本国立遗传所及国际水稻研究所等单位提供,共54份,它们的产地是中国的七个省份(包括台湾)、印度、泰国、马来西亚、西非、巴西和澳大利亚(详见表1)。

表1 普通野生稻的产地和数目
Table 1 Origin and number of common wild rice

产地 Origin	湖南	江西	福建	云南	广东	广西	台湾	中国 China	
数目 Number	4	2	2	2	7	4	3	24	
产地 Origin	印度	泰国	孟加拉国	斯里兰卡	马来西亚	巴西	西非	澳大利亚	其它国家和地区 Other countries and regions
数目 Number	16	3	2	1	1	2	3	2	30

2. 实验方法 聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳。

样品的制备 取普通野生稻鲜嫩、全展的功能叶片,按重量体积比1:3(w/v)加蒸馏水,研磨成浆,四层纱布过滤,然后于6000g、0°C离心20分钟,上清液备用。

胶的制备和电泳 试剂的具体配法、胶的制备参见《植物同工酶及其测定技术》过氧化物酶同工酶电泳方法二^[12]。分离胶浓度为7.5%,浓缩胶浓度为3.3%。电泳时,点样量为100 μ l,50伏,预电泳5分钟;140伏,溴酚兰线过浓缩胶;280伏至终。重复取样和实验三次。

染色 染色液和染色方法参见曹以诚¹⁾。

照像或制成干板保存。

结果与分析

经聚丙烯酰胺凝胶电泳,过氧化物酶同工酶能分离出24条带,模式图见图1;各酶

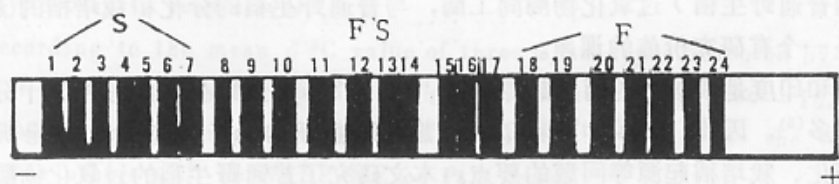


图1 普通野生稻POX聚丙烯酰胺凝胶电泳模式图
Fig.1 The model diagram of polyacrylamide gel electrophoresis of POX isozyme of common wild rice

1)曹以诚,水稻光周期敏感性的遗传和幼穗分化前后的同工酶变化(武汉大学硕士学位论文),1981,

带的迁移率及其普通野生稻中出现的频率见表2; 中国和印度普通野生稻群体中, 各酶带出现的频率见图2。

表2 POX各酶带的迁移率及在普通野生稻中的出现频率
Table 2 The mobility and appearing frequency of POX isozyme bands in common wild rice

酶带编号 No. of POX isozyme bands	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
迁移率(×100) Mobility(×100)	3.6	7.3	10.0	12.3	15.0	17.3	20.0	24.6	28.2	32.3	36.8	41.4
出现频率(×100) The appearing frequencies	20.5	46.9	83.7	38.8	59.2	55.1	44.9	32.7	65.3	61.2	51.0	34.7
酶带编号 No. of POX isozyme bands	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
迁移率(×100) Mobility(×100)	45.0	47.3	52.3	54.6	57.3	61.8	66.4	71.4	75.5	78.6	82.7	85.3
出现频率(×100) The appearing frequencies (×100)	34.7	14.3	26.5	18.4	16.3	46.9	69.4	89.8	57.1	79.6	38.8	32.7

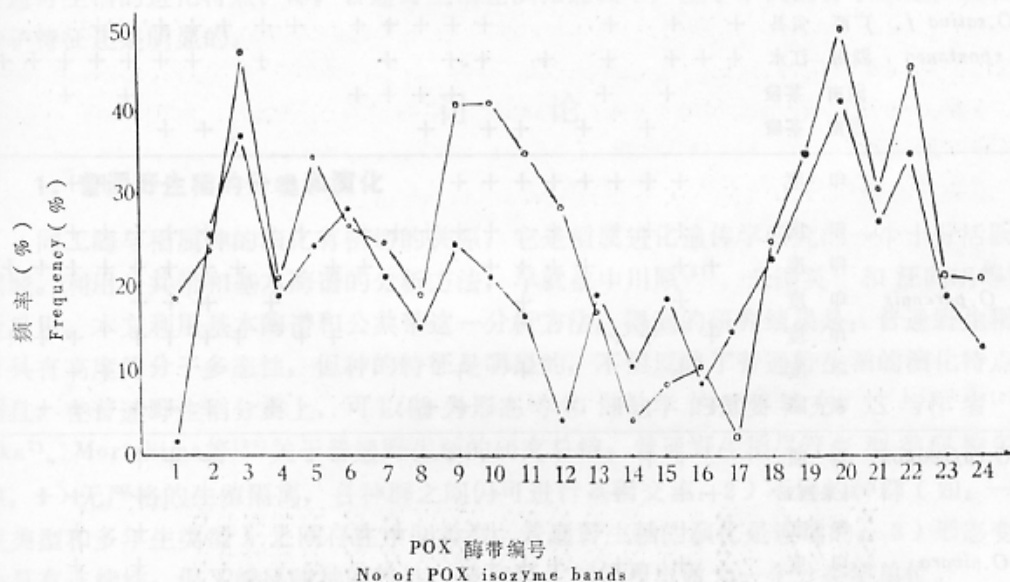


图2 POX各酶带在中国和印度等南亚和东南亚国家的普通野生稻中的出现频率

a. 中国普通野生稻; b. 印度等南亚和东南亚国家的普通野生稻

Fig. 2 The appearing frequencies of POX isozyme bands in common wild rice distributed in China, India and other countries of South Asia, Southeast Asia

a. Chinese common wild rice; b. Common wild rice of India and other countries of South Asia, Southeast Asia

1. 普通野生稻中过氧化物酶同工酶的多态性:

不同的普通野生稻种群(如一年生类型和多年生类型)。不同的生态学种(中国、印度、巴西和西非等),不同的生态类型(如:茶陵和东乡普通野生稻);同一生态类型的不同个体(如:茶陵普通野生稻群体内的不同个体),过氧化物酶同工酶的酶谱表型不同(见表3),酶带数目最多的有18条(如东乡普野),酶带数目最少的仅5条(如:印度Cuttack的一种多年生类型)。同工酶是基因存在的生化标志,普通野生稻中,高度的过氧化物酶同工酶的多态性反映了基因的多态性,是普通野生稻多型性的分子根源。

从图1和表2可知:24条酶带中,第1到7号带,迁移率不超过20%,称为慢带区(S);第18到24号带,迁移率超过60%,属于快带区(F);其他的属于中间带区。在慢带区,三条带(3、5、6)在普通野生稻中,频率超过了50%;同样,在快带区和中间带区分别有四条(19、20、21、22)和三条(9、10、11)带的频率超过

表3 部分普通野生稻的POX表型

Table 3 The POX zymograms of some strains of common wild rice

种名 Name of species	产地 Origin	酶带编号												No. of POX isozyme bands										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
<i>O. sativa f. spontanea</i>	云南 景洪			+	+	+	+	+	+	+	+							+	+	+	+	+	+	+
	江西 东乡	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+			+	+			+	+	+	+	+	+
	广西 贵县	+	+	+						+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+
	湖南 江永	+	+	+	+	+				+	+	+				+		+	+	+	+	+	+	+
	湖南 茶陵			+	+					+	+	+	+							+	+			
	湖南 茶陵				+	+		+	+	+								+	+					
<i>O. perennis</i>	印度			+	+	+	+	+	+	+	+							+	+	+	+	+	+	+
	印度			+	+	+		+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	+	+	+	+	+
	印度	+	+					+	+	+	+			+	+			+	+	+	+	+	+	+
	印度	+								+								+	+	+	+		+	+
	印度	+	+											+	+			+	+	+	+		+	+
	印度			+						+	+											+	+	
	泰国	+			+						+	+					+	+	+	+		+	+	+
<i>O. rufipogon</i>	泰国			+	+													+	+	+				
	马来西亚	+	+		+					+										+	+	+		
	印度			+	+					+			+	+						+	+			
<i>O. nivara</i>	印度			+	+			+	+	+										+	+			
	印度	+	+		+	+							+	+	+			+	+	+	+	+	+	+
	斯里兰卡	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+					+	+	+	+	+	+	+
	孟加拉国			+	+					+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
<i>O. rufipogon</i>	印度	+	+	+						+							+	+	+	+		+	+	

50%；而又以第3、20、22三条带出现频率最高。因此，第3、5、6、9、10、11、19、20、21、22十条带可能是普通野生稻过氧化物酶同工酶的基本酶谱，而第3、20、22三条带，可能是普通野生稻过氧化物酶同工酶的原 始酶带。另外，第1、14、16、17四条带（主要是位于中间带区）出现频率较低，可能是普通野生稻演化晚期出现的。

2. 中国和印度普通野生稻，过氧化物酶同工酶的酶谱特征比较：

从图2可知：按照各酶带出现频率的多少，中国和印度普通野生稻的基本酶谱分别为：3、5、6、9、10、11、19、20、21、22（10条）和2、3、5、6、9、19、20、21、22（9条），它们中，均以第3、20、22三条带出现频率最高，与普通野生稻种群的基本酶谱比较，中国的完全吻合，而印度的仅存在少量差异；另一方面，中国普通野生稻中，各酶带的频率，除少数几条（2、6、13、14、15、17）外，均比印度的普通野生稻高，尤其是第9、10、11、12四条带，似乎中国和印度普通野生稻在演化过程中，过氧化物酶同工酶在中间带有分化，即：印度的普通野生稻群体中，第13、14、15、17这四条接近快带区的带出现频率增高，而中国的第9、10、11、12这四条接近慢带区的带频率在提高，第14、15、16、17四条带出现频率最低。这进一步说明了普通野生稻的分子多态性。

中国和印度是栽培稻的两大起源中心，它们之间存在明显的地理隔离——云贵高原和喜马拉雅山脉。而这种地理隔离出现较晚，原来中国和印度等南亚国家的普通野生稻是连续分布的^[11]，因此，中国和印度普通野生稻过氧化物酶同工酶的结果，反映了普通野生稻的进化特点：即，普通野生稻在演化过程中产生了不同的分子类型，但种的分子特征还是明显的。

讨 论

1. 普通野生稻的分类和演化

同工酶与稻属种的演化有密切的关系，它是稻属进化遗传学研究的一个十分活跃的领域。利用公共带和基本酶谱的分析方法，早就被中川原^[21]、朱国英^[7]和汪向明等^[25]所采用。本文利用基本酶谱和公共带这一分析方法，得到的研究结果是：普通野生稻尽管具有高度的分子多态性，但种的特征是明显的，不但反映了普通野生稻的演化特点，而且，在普通野生稻分类上，可以做为形态学和细胞学的重要补充。这与作者^[3]、Oka^[2]、Morishima等^[20]关于普通野生稻的研究总结：普通野生稻尽管变型类型繁多，但，1）无严格的生殖隔离，各种群之间仍可进行基因交流；2）不同的种群（如：一年生类型和多年生类型）之间存在中间类型，普通野生稻的演化是连续的；3）形态变异也具有连续性，但又能反映种的特性，普通野生稻仍可以做为一个分类学单位。

2. 我国栽培稻的起源

一般认为栽培种起源于野生种，从我国广泛的水稻栽培和普通野生稻的分布来看，

2) Oka H I. Evolutionary Genetics in Rice, Lectures at Wuhan University, 1984.

我国的栽培稻肯定起源于我国的普通野生稻,但是,根据从栽培稻分成 *Indica*、*Javanica* 和 *Javonica* 及一些关于栽培稻起源的学说^[2, 14]来看,实际上否认了我国普通野生稻在栽培稻驯育中的重要作用。我国的许多工作者已从生态学^[14]、形态学^[9, 15]、染色体组型^[10]和同工酶分析^[6, 7]、甚至考古学^[8]提出了自己的看法;认定:中国的栽培稻起源和演化必然以中国的普通野生稻驯化为基础。本文的结果:我国普通野生稻过氧化物酶同工酶具有高度的分子多态性,并且与印度普通野生稻比较,似乎更具有普通野生稻的典型特征(见表2和图2),这为我国栽培稻的起源提供了一个分子方面的证据。

3. 过氧化物酶同工酶在进化学研究中的价值

过氧化物酶同工酶与高等植物的生长、发育和进化密切相关,而其本身多态性较高,因此,在进化学研究中是一个较好的指标。但是,正因为它与生长发育的关系密切,环境对它的影响也较大,它的表现也就比较复杂,因此,要特别注意其组织、器官特异性、发育阶段的特异性和实验条件的特异性^[13]。同时,还应研究同工酶的遗传控制和基因调控,使其研究深入下去,同工酶是生命的“第三信息”,还有第二和第一信息^[4]。

参 考 文 献

- 1 丁颖. 农业学报, 1957; 8(3): 243—260
- 2 中川原, 捷洋. 水稻育种和高产生理(译文集), 上海科技出版社, 1979; 28—40
- 3 王卫建. 武汉大学学报(自然科学版), 待发表
- 4 史密斯, P M. 植物化学分类学, 科学出版社, 1980
- 5 全国野生稻资源考察协作组. 中国农业科学, 1984(6): 27—34
- 6 朱英国等. 遗传, 1985; 4(5): 16—18
- 7 朱英国等. 中国农业科学, 1985(1): 32—40
- 8 李璠. 中国栽培植物发展史, 科学出版社, 1984; 22—36
- 9 吴妙燊. 作物品种资源, 1983(1): 12—16
- 10 陈瑞阳等. 遗传学报, 1982; 24(3): 226—230
- 11 张德慈. 世界科学, 1980(5): 1—4
- 12 武汉大学遗传研究室. 植物同工酶及其测定技术(单行本), 1980
- 13 周光宇. 植物生理学通讯, 1983(1): 1—4
- 14 梁光商. 作物品种资源研究, 农业出版社, 1982; 10—17
- 15 戚经文等. 作物品种资源研究, 农业出版社, 1982; 35—44
- 16 Balasimha D. *Plant Physio Biochem*, 1982; 9(2): 130—143
- 17 Chiang Par et al. *Canadian J Genet Cytol*, 1973; 15: 845—853
- 18 Endo T. *Japan J Genet*, 1971; 46: 1—5
- 19 Endo T, H Morishima. *Isozymes in plant Genetics and Breeding (Part B)*, Elsevier Science Publishers B V Amsterdam, 1983; 129—146
- 20 Morishima H. *Biology of Rice*, Japan Scientific societies, 1984; 3—30
- 21 Nakagahra M et al. *Japan J Genet*, 1975; 50(5): 373—382
- 22 Scandalis J G. *Ann Rev Pl physiol*, 1974; 25: 225—258

23 Second G. *Japan J Genet*, 1982; 57: 25—57

24 Shahi B B et al, *Japan, J Genet*, 1969; 44(5): 303—319

25 Wang Xiangming et al, *Proceedings of 15th Intal Congr Genet (Part I)*, OXFORD and IBH Publishing CO, 1983; 392

GENETIC STUDIES ON THE WILD RICE (ORYZA)

II、The polymorphism of peroxidase isozymes of common wild rice

Wang Weijian, Wang Xiangming

(Department of Biology, Wuhan University)

Abstract The polymorphism of peroxidase isozymes of the common wild rice, particularly China and India common wild rice was studied by using isozyme electrophoresis methods. The results were:

1) 24 bands of peroxidase were separated in the common wild rice. The frequency of differential band is different from each other. The frequency of the 3rd, 5th, 6th, 9th, 10th, 11th, 19th, 20th, 21th and 22th bands is equal to 50 percent and more, among which the 3rd, 20th, 22th appear the most frequently. This suggests that the 10 bands can be treated as the basic zymogram, and the 3th, 20th, 22th may be the original bands of peroxidase in the common wild rice.

2) The zymograms of peroxidase in China and India common wild rice differ, however are similar to in the basic zymogram and the original band.

Therefor, although the common wild rice shows higher polymorphism of peroxidase, its specific molecular characters are obvious. According to the study of peroxidase isozymes, the origin of cultivated rice and the evolution of the common wild rice are discussed. The significance of peroxidase isozymes in evolutionary studies is also discussed.

Key words Peroxidase; Electrophoresis; Polymorphism; Evolution; Common wild rice