

# 光周期和温度对小麦(*Triticum aestivum* L.) 酯酶、 $\alpha$ -淀粉酶同工酶的影响

罗定泽

肖翊华

(四川师范大学生物系, 成都)

(武汉大学生物系)

**提 要** 本工作考察了三个春麦品种的抽穗习性及其品种间光周期敏感性差异。以聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了三个品种在冬季自然条件下, 秋季较高温度与不同光周期条件下, 叶酯酶、 $\alpha$ -淀粉酶同工酶的变化。结果表明: 小麦叶内两种酶系的电泳类型随植物生长年龄而变动, 并可在5叶期和2叶期形成特定强带。供试品种在冬播自然条件下表现熟期相近, 5叶期同工酶电泳类型彼此类同。在秋季较高温度下品种间对短日照敏感性表现出的明显差异, 5叶期同工酶表型出现相应分歧: 两个较不敏感品种在连续光照下5叶期产生的特征性酶带, 在敏感品种中则提早出现于2叶期, 或者于短日照下5叶期。

**关键词** 春小麦; 光周期; 酯酶同工酶;  $\alpha$ -淀粉酶同工酶

小麦中酯酶和 $\alpha$ -淀粉酶在酶多型的遗传控制方面, 是研究较多的同工酶系统<sup>[5,9]</sup>。但涉及小麦叶组织特异的同工酶类型及其随不同发育时期的变化则报道不多。其中叶酯酶同工酶类型被认为缺乏变化<sup>[9]</sup>,  $\alpha$ -淀粉酶则主要限于籽粒成熟过程及种子萌发早期阶段发育变化的研究<sup>[7]</sup>。

有关小麦光周期敏感性遗传基础的研究很多, 但对于光周期和温度所调节的植物花原基分化和发育的生理学过程仍了解甚少。而应用同工酶系统的发育变化研究出小麦中开花习性的遗传多型与环境相互作用, 以缩小遗传控制与生理分化之间的知识空白<sup>[4]</sup>, 这是我们试图探索的途径。为此, 本试验系统追踪了小麦在冬季自然生长条件下, 以及在较高生长温度与探制光周期条件下, 叶酯酶、 $\alpha$ -淀粉酶电泳类型的发育变化。目的在于考察光周期和温度对小麦各发育时期叶片同工酶系统的影响, 比较品种间同工酶表达类型的差异, 以及这种差异与品种间光周期敏感性类型差异的关系。并寻找一种判别小麦光周期敏感性遗传差异的生理指标, 探讨关于同工酶用作植物分化与发育指标问题上, 品种与光周期、温度等环境因子的相互关系。

## 材 料 与 方 法

**供试材料** 为三个春性小麦品种: (1)鄂麦7号, (2)稀凡23, (3)温江

026。

**试验设计** 包括网室盆栽和大田小区试验两种, 分别在三年内重复两次。盆栽试验设三种处理: (1) 连续光照, (2) 每日8小时短日照, (3) 武昌地区自然日照。盆栽材料在秋季同期播种, 每钵8株, 并采用从连续光照下逐次转移入短日照下的方法, 设置一系列长日照处理天数的差异梯度。大田试验在同年初冬同期播种, 各品种在秋、冬季试验采用同批种子。栽培管理按当地习惯进行。

**观察与取样** 对小麦各物候期发生按常规观察记载。抽穗期数据按 Vergara 等人<sup>(9, 12)</sup>对禾谷类作物光周期敏感期(PSP)划分方法处理。镜检茎尖分化及幼穗发育进度。盆栽材料从2至7叶期, 按不同叶层次分别对连续光照与短日照下的植株, 取其发生年龄相同的展开叶片分析。大田小区中用毛笔在叶上点红点标记不同层次叶的发生, 从1至8叶期逐次取全展叶片分析。

**酯酶同工酶的测定** 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳法。样品按1:3(W/V)加0.15mol醋酸缓冲液(pH 5.0)研磨, 匀浆经离心后取上清液分析。电泳采用7%下层胶, 4%上层胶, 以及低离子强度的阴离子缓冲系统。酶活性以醋酸- $\alpha$ -萘酯加坚牢兰(RR盐)染色显示。

**$\alpha$ -淀粉酶同工酶的测定** 酶的制备和电泳同酯酶。电泳结束后取凝胶置1%可溶淀粉中吸收1小时, 再转入37°C保温1.5小时后, 用稀碘液负染<sup>(7)</sup>显带。

## 结果与分析

1. 在秋季试验中(表1), 温江026表现的光周期敏感期(PSP)为66天, 鄂麦7号和稀凡23的敏感期(PSP)分别表现为32天和27天。温江026的PSP长度为另两个品种的二倍以上。这一结果表明三个小麦品种中以温江026对光周期敏感性强, 另两个品种对光周期较不敏感。

温江026在同期自然日照下生长期为74天(表1)。但该品种在生长早期(2—3叶期)仅经连续光照诱导6天, 随后转短日照至抽穗, 其出苗到抽穗天数(图1)为76天, 这已接近自然日照下的生长期长度, 而比短日照下的106天最大生长期(表1)缩短了30天。由此可见温江026较之另两个品种, 在生长早期即存在较强的光周期敏感性。

茎尖解剖观察表明(图2), 温江026、鄂麦7号和稀凡23三个品种分别在连续光照下处理25天、28天和30天, 幼穗进入雌雄蕊形成期。参照图1可知, 温江026在雌雄蕊形成期以后, 连续光照仍促进抽穗10天, 而另两个品种仅为3天和1天。可见温江026在幼穗生长期仍表现较强的光周期敏感性。

2. 鄂麦7号、稀凡23和温江026三个品种冬播试验(11月17日播种)从出苗到抽穗天数分别为135天、133天和136天, 熟性表现接近。但秋播(8月30日播种)在自然日照下从出苗到抽穗天数分别为55天、57天和74天(表1)。秋播试验中小麦生长期处于较高气温下(日平均气温18—28°C), 较高温度促进抽穗, 但供试品种间出苗到抽穗天数的差异却增大。其中温江026在秋季自然日照下抽穗期明显较另两个品种推迟。

表1 在不同光周期处理下小麦从出苗到抽穗天数的变化  
Table 1 Changes in the number of days from emergence to heading under various photoperiod treatments

品 种 Name of cultivar	短日照 (天) 8 h. Short day (Days)	连续光照 (天) Cont. illum. (Days)	自然日照 (天) Natural day (Days)	光周期敏感期 (天) (PSP) Photoperiod- sensitively phases (Days)
鄂麦7号 Em.No. 7	82±0.5	50±0.5	55±0.5	32±1
稀 凡23 Xf.No.23	83±0.5	56±0.5	57±0.5	27±1
温 江026 WJ.No.026	106±1.5	40±0.5	74±0.5	66±2

注: 三个小麦品种播种期: 8月30日, 出苗期: 9月4日, 实验结束日期: 12月20日。

表中光周期敏感期 (PSP) = 短日照下天数 - 连续光照下天数

Note: Sowing Date (date/mon.) for 3 wheat CV.: 30/8, Seeding stage (date/mon.): 4/9, Terminal Date of the test (date/mon.): 20/12.

PSP = Days under SD - Days under cont illum.

图1 三个小麦品种生长期长度与连续光照处理天数的关系

Fig. 1. Relationship between the growth-period in 3 wheat cv. and the duration (Days) of cont illum treatments

A. 鄂麦7号 EM.No. 7

B. 稀凡23 XF.No.23

C. 温江026 WJ.026

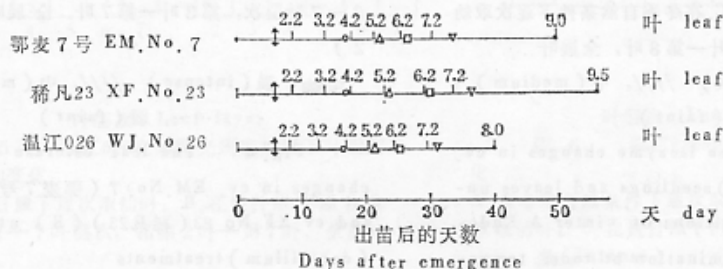
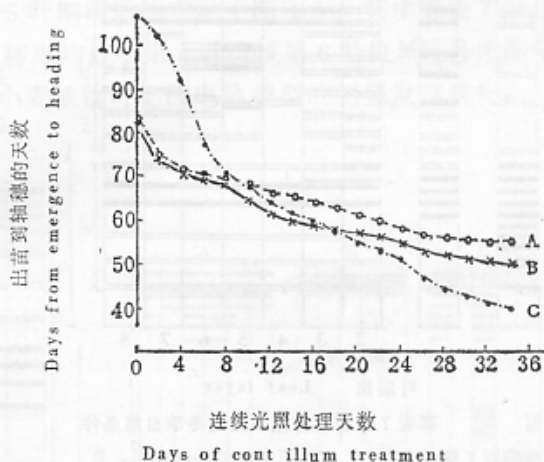


图2 三个小麦品种在诱导光周期下生长进程  
Fig. 2 Growth progression in 3 wheat cv. under inducing-photoperiods (cont. illum)

↓: 开始长日照处理, the onset of LD treatments; ○: 茎尖伸长, Shoot apex elongation, △: 小穗原基出现, Spikelet primordia initiation; □: 小花原基出现 Floret primordia initiation; ▽: 雌雄蕊分化, The differentiation of stamen and pistil; ●: 抽穗 Heading.

取样按不同叶龄取叶片分析, 从2.2叶到7.2叶分别标记为2-7. (参见图4) Sampling was made on a series young leaves of different leaf-age. The increase of 2.2-7.2 leaf-age was designated series 2-7, respectively. (cf. Fig. 4.)

从图1可知,三个品种在秋播生长早期(2—3叶期)以连续光照处理8天,随后移入短日照下,品种之间抽穗期差异可减到极小。这一结果表明较高温度下温江026抽穗期的相对推迟,可在茎尖分化前8天用连续光照诱导消除。

3. 在冬播自然条件下,三个品种于小穗原基形成期一致在第5叶位产生三条酯酶同工酶强带(图3:C)。其中鄂麦7号和温江026的三条特征性酶带位置相同:分布在F区与M<sub>2</sub>区之间一条, M<sub>2</sub>区一条, M<sub>2</sub>区与M<sub>1</sub>区之间一条。稀凡23(华南品种)的三条酶带位置略有不同:分布在M<sub>2</sub>区两条, M<sub>1</sub>区一条。

在秋季较高温度下,小麦第5叶位酯酶电泳类型表现与冬播试验不同。在秋季形成两条特征性强带(图4),其中M<sub>2</sub>区一条,其位置与冬季三条强带的中间一条带相同,另一条位于M<sub>1</sub>区与S区之间,为冬季第5叶位酶谱中所没有。

4. 供试小麦叶内 $\alpha$ -淀粉酶同工酶变化明显发生于5叶期前后。三个品种在冬季5叶

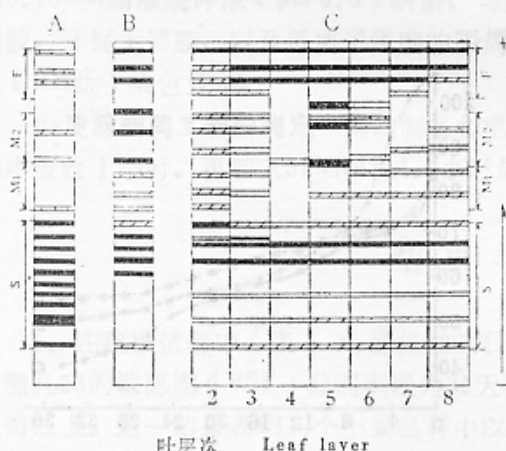


图3 鄂麦7号在幼苗期以及在冬季自然条件下叶酯酶同工酶的变化。A.室温下萌动24小时胚乳; B.室温下萌发24小时幼苗; C.在冬季自然条件下逐次取幼叶; 2—8叶层次; 第2叶—第8叶, 全展叶

■: 强(intense) // // //; 中(medium)  
 .....: 弱(faint)

Fig. 3 Esterase isozyme changes in cv. EM.No. 7 (鄂麦7号) seedlings and leaves under the natural conditions of winter. A. Endosperm 24h, after germination at room temperature; B. Seedling 24h, after germination at room temperature; C. The successive young leaves from under the natural conditions of winter. 2—8 Leaf layer; 2nd leaf—8th leaf of newly expanded

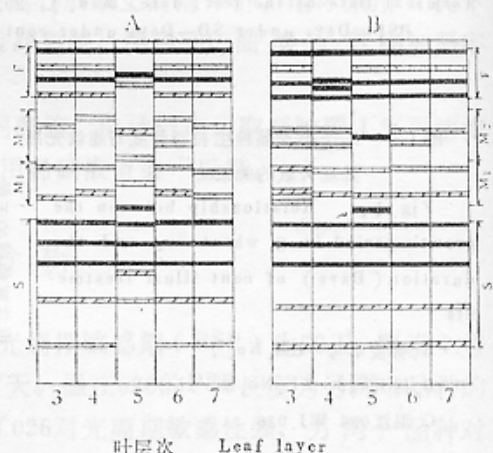


图4 鄂麦7号(A)和稀凡23(B)在长日照处理下叶酯酶同工酶的变化

3—7叶层次; 第3叶—第7叶, 全展叶(参见图2)

■: 强(intense) // // //; 中(medium)  
 .....: 弱(faint)

Fig. 4 The leaf esterase isozyme changes in cv. EM.No. 7 (鄂麦7号) (A) and cv. XF.No. 23 (稀凡23) (B) under LD (cont illum) treatments  
 3—7 Leaf layer; 3rd leaf—7th leaf of newly expanded (cf. Fig. 11.)

期(双稜初期)均产生M区两条酶带(图6.A)而在秋季5叶期, M区出现三条强带。

其中两条带与冬季5叶期M区酶带位置相同(图6:C)。

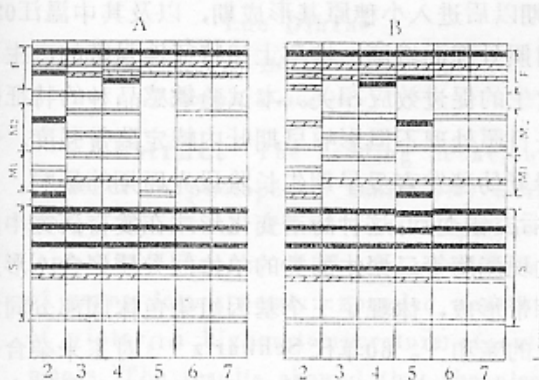
5. 在秋播不同光周期处理下, 叶酯酶、 $\alpha$ -淀粉酶同工酶的变化模式在供试品种间出现明显差异:

5.1. 敏感品种温江026的酯酶同工酶在2叶期形成两条与5叶期相同的特征性酶带。如果从出苗到2叶期植物处于连续光照下, 2叶期两条酶带可表现极大强度(图5:A)。

5.2. 两个较不敏感的品种在连续光照下5叶期产生上述两条酶带(图4)。而在敏感品种温江026中, 同样两条酶带则以极大强度出现在短日照下5叶期(图5:B), 此时植物茎尖尚未分化。

5.3.  $\alpha$ -淀粉酶同工酶变化模式在品种间的差异与酯酶的表现相似: 两个较不敏感品种在连续光照下5叶期产生M区三条酶带, 而敏感品种温江026则在连续光照下2叶期, 以及短日照下5叶期产生同样三条酶带(图6:C)。

6. 本试验同工酶酶谱随不同叶层次发生的变化有两种: (1) 酶带强度或数目的改变, 如 $\alpha$ -淀粉酶M区同工酶在小麦5叶期后的变化(图6)。(2) 酶带迁移率先后交错变动, 如酯酶同工酶M区酶带位置在5叶期前后的变动(图4), 其中鄂麦7号在第5叶位形成的两条特征性新酶带, 其迁移率均处于第4叶位或第6叶位M区各条酶带之间(图4:A)。这种酶带交错构成了小麦植物叶酯酶电泳类型的明显发育变化。



叶层次 Leaf layer

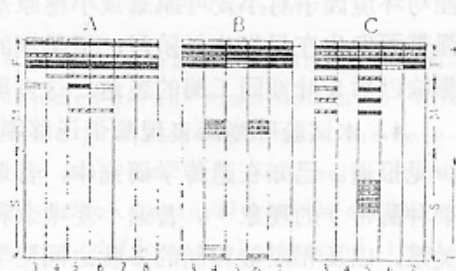
图5 温江026在不同光周期处理下叶酯酶同工酶的变化

A. 在长日照下逐次取幼叶; B. 在短日照下逐次取幼叶; 2—7叶层次: 指第2叶—第7叶, 全展叶片

■: 强(intense) // // //: 中(medium)  
.....: 弱(faint)

Fig. 5. The leaf esterase isozyme changes in cv. WJ, No. 026 (温江026) under different photoperiod treatments

A. The successive young leaves under LD (cont illum); B. The successive young leaves under SD (8h.); 2—7 Leaf layer; 2nd—7th leaf of newly expanded.



叶层次 Leaf layer

图6 温江026叶内 $\alpha$ -淀粉酶同工酶的变化

A. 在冬季自然条件下逐次取幼叶; B. 在长日照下逐次取幼叶; C. 在短日照(8h.)下逐次取幼叶

■: 强(intense) // // //: 中(medium)  
.....: 弱(faint)

Fig. 6  $\alpha$ -Amylase isozyme changes in wheat cv. WJ, No. 026 leaves

A. The successive young leaves from under the natural conditions of winter; B. The successive young leaves under LD (cont illum); C. The successive young leaves under SD (8h.)

## 讨 论

1. 小麦生长发育需要在不同温度与光周期条件下才能正常进行。这是其冬麦型祖先在向中、低纬度生境繁衍过程中所形成的适应性特征<sup>[8]</sup>。本试验的三个春麦品种,在正常种植季节熟性相近,在秋播自然日照下,品种间抽穗期出现明显差异,其中温江026抽穗期显著推迟。可看出温江026在生长早期较之另两个品种更需要较低温度。这种对较低温度的适应差异导致在秋季较高温度下,温江026早期发育延迟。本试验中,温江026在较高温度下早期发育延迟的现象,可在茎尖分化前用长日照处理而消除,这与前人试验结果<sup>[10]</sup>一致。

2. 小麦叶酯酶电泳类型明显表现随植物轴向生长年龄而变动。其中表现受植物所处光周期和温度条件影响同工酶变化,以在2—3叶期或5叶期前后最明显。上述时期特征性酶带变化的模式,则显示出小麦品种间光周期敏感性类型的差异。 $\alpha$ -淀粉酶变化特点与酯酶相近。这两种酶系的测定结果表明,短日照与较高温度可导致品种之间5叶期同工酶表型明显不同。可见上述同工酶变化模式的差异,是小麦品种中光周期敏感性的遗传多型与特定环境相互作用的结果。我们认为,选择适当的环境因子,以突出植物品种(系)间遗传型差异的表现,是同工酶用作植物分化与发育状态分析的重要原则。

3. 据三个品种在正常种植季节5叶期以后进入小穗原基形成期,以及其中温江026在秋季2叶期特征性酶带染色强度因长日照处理而增高,推测上述特征性强带的产生可能与环境因子对小麦叶原基或小穗原基发生的促进效应相关。本试验敏感品种的特征性强带可发生在早期生长阶段,但早期的长日照处理不但影响早期叶内特定酶带强度,也影响以后5叶期同工酶的表达。这表明春麦幼穗发育受早期生长阶段光周期的影响。

4. 本试验叶酯酶表现酶带迁移率先后交错变动,这种酶谱变化形式在发育研究中尚少见报道。已知在遗传学研究中,普遍发现酯酶等二聚体酶类的单体间异质聚合(形成杂种酶带)的现象<sup>[1]</sup>。普遍小麦中杂种酶带形成,体现了三个基因组染色体间部分同源关系,以及相应被控制的多肽之间化学上的亲和<sup>[9]</sup>。60年代Schwartz<sup>[11]</sup>对玉米杂合子中酯酶杂种酶形成的研究表明,两单分子异聚化发生于酶成熟之前,在不同mRNA结合的模板上合成,因而体现在转译水平上不同mRNA之间的相互作用。本试验叶酯酶同工酶迁移率先后交错变动,可推测是酯酶单体(亚基)之间同质与异质聚合变化的结果。但同工酶在发育中这种变化的控制机理尚待研究。

曾有人<sup>[9]</sup>报道普通小麦酯酶F区同工酶受A和B两个基因组控制,F区三条酶带中间一条含有两个基因组控制的原体(亚基),为一异质聚合酶带。本试验中不同温度可改变叶酯酶F区及S区电泳类型,并相应导致小麦5叶期特征性强带形成位置的改变(图3:C,图4,图5)。例如在冬季生长的叶内F区酶带有三条(图3:C),而在秋季较高温度下,上述三条中间一条极弱(或消失),在该区靠M<sub>2</sub>区位置却增加一条,达到四条酶带。由此可推测,温度可能引起三个基因组部分同源染色体所编码的多肽群之间亲和关系的改变。而本试验中光周期除了表现限制2叶期及5叶期上述特征性同工酶分子产生或生活性增强以外,不同光周期并未引起同龄叶的同工酶酶谱背景显示质量性

差异。在动物组织中,曾有报道<sup>[2]</sup>认为LDH分子亚基聚合可受小分子代谢物(还原Co II)水平调节。由此我们认为,光周期可能是在叶酯酶特定同工酶分子亚基间异质聚合过程中起调节作用。

### 参 考 文 献

- 1 李继耕. 作物学报, 1980; 6: 245—252
- 2 Ananthakrishnan R et al, *Biol zbl*, 1976; 95: 649—666
- 3 Barber H N et al, *Proc 3th Int Wheat Genet Symp*, 1968; 116—122
- 4 Frankal O H, *Proc R Soc London*, 1976; 192: 273—298
- 5 Gale M D et al, *Theor Appl Genet*, 1983; 64: 309—316
- 6 Major D J, *Can J Plant Sci*, 1980; 60: 777—784
- 7 Marchylo B A et al *Can J Plant Sci*, 1980; 60: 433—443
- 8 Murfet I C, *Ann Rev Plant Physiol*, 1977; 28: 253—278
- 9 Nakai Y, *Bot Mag Tokyo*, 1976; 89: 219—234
- 10 Riddell J A et al, *Agron J*, 1958; 50: 739—742
- 11 Schwartz D, *Pro N A S*, 1962; 48: 750—756
- 12 Vergara B S et al, *Int Rice Res Inst Tech Bull*, 1976; 8

## EFFECTS OF PHOTOPERIOD AND TEMPERATURE ON THE ESTERASE, $\alpha$ -AMYLASE ISOZYMES IN WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Luo Dinzhe

(Department of Biology, Sichuan  
Normal University)

Xiao Yihua

(Department of Biology,  
Wuhan University)

**Abstract** The heading behaviour of 3 spring wheat cv. and their difference in photoperiod sensitivity were subjected to an examination in this study. By means of the vertical polyacrylamide gels electrophoresis the developmental changes of the esterase,  $\alpha$ -amylase isozymes in a successive series of young leaves newly expanded were studied under a natural growth-condition of winter, a higher temperature of autumn and different photoperiod treatments. The results showed that the electrophoretic patterns of the two isozyme systems varied with plant growth-ages, and all may develop certain intense enzyme bands at the 5th or 2nd leaf stage. Under the natural growth-condition of winter the 3 wheat cv. have a similar mature periods, and their zymogram patterns at 5th leaf stage appear to be the same. But at the higher temperature of autumn the intervarietal difference in the types of photoperiod sensitivity were displayed, and the isozyme phenotypes at the 5th leaf stage exhibited a corresponding variation; for the two lower sensitive wheat cv. under LD (cont. illum.) treatments some characteristic enzyme bands appear at 5th leaf stage, whereas for the higher sensitive wheat cv. under LD treatments the similar enzyme bands may develop a very high intensity at 2nd leaf stage, or at 5th leaf stage under SD (8hr) treatments.

**Key words** Spring wheat; Photoperiod; Esterase isozyme;  $\alpha$ -Amylase isozyme