

黑穗醋栗不同生长期和部位 过氧化物酶同功酶研究

徐 锡 成

(黑龙江省宾县多种经营办)

一、前 言

同功酶是指在同一有机体中的一种酶存在的多种分子形式。它们具有相同的催化活性,但溶解度、分子量和对激活剂、抑制剂的反应都可能不同。过氧化物酶同功酶广泛地存在于动物和微生物中。随着生物化学的进展,证明了酶蛋白的氨基酸排列顺序是由 DNA 分子上的核苷酸排列顺序决定的。同功酶的结构差异主要反映了基因的差异。过氧化物酶同功酶的谱型和活性等有其器官和组织的特异性和阶段性。

王延枝等对不同发育时期的水稻花粉测定,指出过氧化物酶同功酶是变化的。Larry (1987)对八个月季品种的研究表明,不同叶位的叶片其过氧化物酶同功酶谱带浓度不同,认为过氧化物酶同功酶系随生长发育的进展而增加的,还认为酯酶和其它酶类的同功酶的数目和浓度也不稳定。目前,在黑穗醋栗上有关同功酶的研究尚未见报道。

过氧化物酶同功酶在植物的不同部位、不同发育阶段的不稳定性无疑给果树从生理生化上的分类和种质资源、遗传规律的研究带来了许多困难。为此,本试验企图以黑穗醋栗为试材探寻过氧化物酶同功酶的相对稳定时期和相对稳定部位。为进一步应用过氧化物酶同功酶的方法进行生化分类、品种鉴定、种质特性、果树育种及其遗传规律的研究提供理论依据和取样方法。

二、材料与方 法

(一)取材:分三个不同时期取其不同部位

1、休眠期:于四月十六日剪取薄皮丰产和厚皮亮叶品种的一年生枝条,取其皮、芽、髓部位分别制样。2、萌芽展叶期:于四月三十日取厚皮亮叶、薄皮丰产、厚皮长穗三个品种的基生枝,再取其幼叶、叶柄、芽、皮和髓部制样;并同时取长穗薄皮、亮叶长穗的杂种苗基生枝分别十二条和十五条,取其髓部制样。3、新稍速长期:于六月四日分别取薄皮、亮叶长穗基生枝的叶、叶柄、韧皮和髓部,以及取亮叶薄皮二十株,长穗薄皮九株,薄皮长穗二十株杂种苗的髓制样。

(二)方法:采用聚丙烯酰胺立槽式电泳法。

三、结果与分析

1、不同时期各器官或组织的适宜提取液的量欲得不同组织或器官在一定时期的清晰谱
本试验是在李光裕、睢微老师指导下进行的。

带, 研磨时所需提取液(蛋白提取液)的量是不同的, 即使同一器官的同一组织在不同时期最佳的提取液的量也是有变化的。同功酶谱型的清晰与否, 直接影响着今后的一切分析研究工作。因此, 首先摸清不同器官或组织在不同时期的最佳提取液量是十分必要的。谱带是否清晰, 与不同时期各器官组织内所含有的过氧化物酶同功酶的含量以及染色质量有关。我们在实验中发现, 随着黑穗醋栗休眠期、萌芽期和新梢速长期的进展, 必须不断加大提取样品中过氧化物酶同功酶的含量。在新梢速长期甚至由原来的取样量 0.5 克改为 1.5 克再加少量提取液 (2ml/g) 仍不能获得满意效果, 这说明了黑穗醋栗的过氧化物酶同功酶的含量是不断变化的, 这同 Larry 对月季品种研究认为的过氧化物酶系随着发育的不同时期的数目和浓度不稳定是一致的。试验发现, 黑穗醋栗的不同品种在休眠期和新梢速长期, 同一器官所需的提取液量基本相同, 不同器官和组织之间则差异较大。

不同时期、器官较适宜的蛋白提取液量

(单位: ml/g)

部 位	芽	皮	髓	叶	叶柄
休眠期	10	12	8	—	—
速长期	—	3	2	5	4

2、不同的器官或组织在一定时期具有其特征酶谱, 我们认为: 直到萌芽期前的休眠期的髓部是研究黑穗醋栗遗传规律等的最佳部位。

(图 1) 是薄皮黑豆品种的不同组织或器官的谱型。从中可以看出, 薄皮品种在休

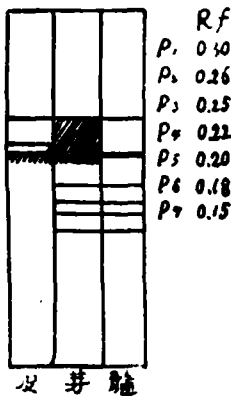


图 1 薄皮丰产

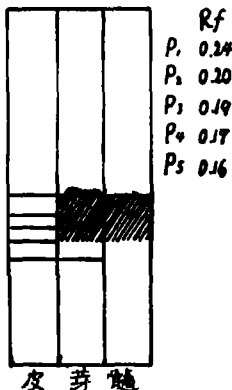


图 2 厚皮亮叶

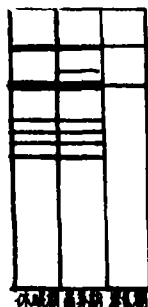


图 3 薄皮髓不同时期谱比

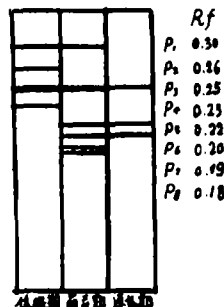


图 4 薄皮的皮不同时期谱型比

眠期 P_1 、 P_2 两条主谱为皮、芽、髓部所共有, 其间变化不大, 也比较稳定, 故可以作为薄皮品种的特征性酶谱带; 皮部有三条谱带, 即 P_1 、 P_2 、 P_3 , 其中 P_3 谱带染色较深, 浓度较大, 有一正极向的扩散酶区。谱带不甚明显, 浓度较小, 染色很淡。在芽和髓部有相同的带数, 但是在芽中 P_1 、 P_3 带浓度较大, P_1 的正极向 P_3 的正负极向都有较大的扩散酶区, 有时甚至影响了整个谱型的明晰程度; 在髓部, 其中所显示的几条谱带都不存在扩散酶区; 彼此清晰可辨, 而且每条谱带也都比较集中。

(图 2) 为厚皮亮叶品种皮、芽髓在休眠期的酶谱, 它表明: 谱带在三个部位都存在, 而且浓度大、着色深, 可以认为 P_1 谱带是厚皮亮叶品种的特征性酶谱带。皮部有四条, 芽部有二条, 髓部有一条酶带。在芽中, P_1 谱带的上下都有较长的扩散酶区, 使谱型变得模糊, 难以辨析带型; 在髓部, 仅一条 P_1 酶带, 且有一正极向的扩散酶区。

在春季萌芽期, 亮叶 × 长穗、长穗 × 薄皮的 F_1 代杂种苗基生枝髓部的电泳酶谱表明: 杂

种苗髓部的酶谱谱带都比较清楚,谱带数目较多,而且每个杂种苗的过氧化物酶同功酶的谱型差异显著。以上观察表明,黑穗醋栗直到萌芽期之前休眠期的髓部为研究其遗传规律等的最佳部位。

3、黑穗醋栗的休眠期为研究某种质资源、育种、地理分布、类型划分、群体遗传规律等的最佳时期。

如果我们欲研究黑穗醋栗的细胞和组织的分化和发育,为了获得较好的谱型而进一步加大制样浓度是有效的。本人追随物候期的进展,分别对黑穗醋栗的皮、芽、髓、叶做了不同时期的电泳酶谱,发现不同时期各组织或器官所含过氧化物酶同功酶的浓度和谱型都是不断地变化的。尤其是在其内部生理生化变化剧烈的萌芽展叶期和新梢速长期,谱型的变化更为明显。其中变化较大的谱带可能同这一时期的某一控制基因的启动及其特异反应有密切关系。

(图3)和(图4)分别为薄皮丰产品种的髓和皮在休眠期、萌芽期和新梢速长期谱型和浓度的变化。在髓部,休眠期时的谱型包含了该品种、该部位的主要谱带,谱型清晰稳定。而到萌芽期和新梢速长期谱型和浓度的变化都比较大,萌芽期增加了一条 P_2 带,到新梢速长期仅留存两条特征性谱带,染色很浓。在皮中也同样看到,随着基生枝的萌动生长,皮的过氧化物酶同功酶酶谱发生了显著变化,同休眠期相比,芽期韧皮部的谱带 P_2 、 P_4 消失。同时出现了 P_6 、 P_8 、 P_7 、 P_9 四条谱带,而到新梢速长期仅存有 P_3 、 P_5 和 P_9 带。同一器官或组织在不同时期的变化对研究有机体内基因的活动规律、遗传变异规律都带来许多困难,稳定在一定基因活动代谢水平的过氧化物酶同功酶存在的种类和多寡能够反映不同基因的差异。

综上所述,我们认为:虽然同一组织在不同的时期其谱型变化较大,但是黑穗醋栗的休眠期较长,各部位在这一时期都相对稳定而且包含该品种、该组织的特征性谱带,能代表不同的基因代谢的差别。所以,研究黑穗醋栗遗传、分类等的最佳时期为休眠期。

4、为得到标准清晰的谱带,我们在试验中有三点体会:①若是用胶布粘的凝胶玻璃板,电泳前应将上部的一半揭下;②在将玻璃板放入电泳槽之前,可用吸尔球吸入电极缓冲液首先充满用刀割开的下部胶布缝隙;③电泳时不必为维持一定的电流或电压而调整。

同功酶是由等位基因编码或多位等基因编码而成,所以同功酶系的变化直接反映着基因及其活性的变化。因此,过氧化物酶同功酶从理论上是可以研究生物有机体内的基因变化和生物的遗传、分类、种质资源及其地理分布等。许多人对多种植物的不同部位和时期的过氧化物酶同功酶做过较系统的研究,指出同一品种不同部位和时期同功酶酶谱差异显著。我们对黑穗醋栗的薄皮丰产、厚皮亮叶和长穗三个品种及其杂种 F_1 代的研究,同样发现了类似的现象,这可能同各组织或器官在不同时期的特殊功能有关。所以,应用过氧化物酶同功酶的分析方法对细胞和组织分化、形态速成、系统发育研究是一种有效手段。此外,各品种不同部位在一定时期较稳定的特征酶谱,为品种的鉴别提供了生理指标。

一般果树的童期都比较大,这就给果树的育种工作带来了很大困难。果树的分类和种质资源的研究通常都须要观察其花器和果实的形态植物学特征,甚至必须在研究其诸方面的植物学特征和生物学特征之后,才能得出相对可靠的结论。为此,就要长期地浪费许多土地、人力和物力。过氧化物酶同功酶在植物个体间及定期、定位的稳定性,为在苗期的分类和果树早期鉴定从生理的理论和实践上都提供了可行性。如果能深入研究各种酶谱的组合、活性等变化规律同各种宏观性状的关系,那么必将对加速果树育种工作起到大大的推动作用。

(收稿时间为1987.12.7)