

# 萝卜不育系和保持系几种同工酶分析

张 琪, 司 龙 亭

(沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:**以萝卜细胞质雄性不育系和保持系为试材, 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳方法对花期叶进行过氧化物酶同工酶、淀粉酶同工酶进行分析。结果表明: 不育系和保持系的同工酶存在着谱带增减及强弱的差异。

**关键词:**萝卜; 同工酶; 雄性不育

中图分类号: S 631. 103. 6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2007)10-0025-02

利用杂种优势提高农作物产量是一种有效的方法, 但萝卜的花器较小, 人工去雄不方便, 所以使用雄性不育系进行育种是较为方便的一种方法, 而对雄性不育的机制, 许多学者在白菜、辣椒等作物的雄性不育株理化性质上进行了深入研究, 发现不育系和保持系在很多方面都存在差异, 而这种差异是由它们的基因直接决定的, 而同工酶是基因表达的直接产物, 按照 1 个基因编码 1 个同工酶亚基的理论, 可以由同工酶的差异直接推测基因型的不同, 因此, 不育株与可育株在酶谱上的差异, 与不育基因的表达有关。通过对同工酶的研究, 可以了解雄性不育的原因。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为沈阳农业大学多年选育的萝卜细胞质雄性不育系 HA、SA、DA 及相应的保持系 HB、SB、DB, 取上述材料的花期叶片为试材。

### 1.2 方法

采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分离胶浓度为 7.5%, 浓缩胶浓度为 4%。配方采用郭尧君<sup>[1]</sup>的方法。

**1.2.1 样品制备** 分别取不育系及保持系的花期叶 1 g, 加入少量提样缓冲液, 置于冰浴上研磨匀浆后定容至 5 mL, 4 000 g 离心 15 min, 上清液加入等体积样品处理液, 混匀后贮于冰箱内备用。

**1.2.2 电泳** 将制好的凝胶板夹于电泳槽上, 分别在上下槽内注入电极缓冲液, 取下样梳后, 每槽进样 25 μL。接通电源后, 电压为 200 V, 电流调到 15 ~ 20 mA<sup>[4]</sup>。

**1.2.3 染色** 过氧化物同工酶染色: 称取 0.1 g 联苯胺加 5 mL 无水乙醇, 再加 10 mL 1.5M 乙酸钠及 10 mL 乙

酸, 再加入 75 mL 蒸馏水, 染色前加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 ~ 6 滴。取出凝胶漂洗后, 放入染色液中, 稍加振动, 片刻即显示出蓝色酶带, 待酶带完全出现后, 随即用水冲洗后, 照像。淀粉酶染色: 用不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后, 凝胶在用 0.2 mol/L 醋酸缓冲液 (pH = 5.0) 配制的 1% 淀粉液中保温 2 h, 用水漂洗后在酸化的 0.1% I<sub>2</sub> - 0.5% KI 溶液中显色, 并照相。

## 2 试验结果

### 2.1 过氧化物同工酶酶谱

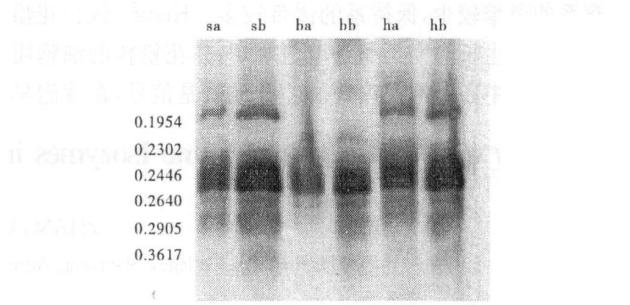


图 1 过氧化物同工酶酶谱

在这 3 对萝卜的品种中有一条公共的迁移率为 0.2446 的条带, 在 3 对品种的保持系中分别比不育系多出迁移率为 0.2640、0.3617 这两条谱带, 在 ba 和 bb 这对品种中, 保持系比不育系多出一条迁移率为 0.2302 的谱带。

### 2.2 淀粉酶酶谱

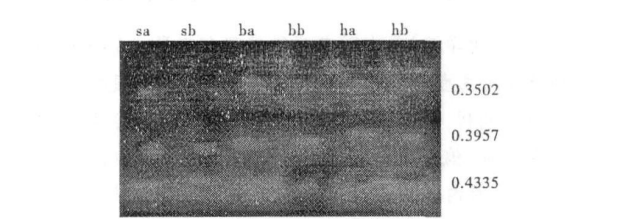


图 2 淀粉酶酶谱

试验中 3 对萝卜品种的淀粉酶带近似, 只是不育系中的酶带比保持系略粗一些, 所以认为不育系中的淀粉

第一作者简介: 张琪 (1979-), 女, 沈阳农业大学在读硕士, 从事蔬菜育种研究, E-mail: zhang\_qi2005@126.com。

通讯作者: 司龙亭 (1955-), 男, 沈阳农业大学教授。

收稿日期: 2007-05-16

酶含量比保持系要高一些。

### 3 讨论

#### 3.1 过氧化物酶同工酶与育性的关系

在许多过氧化物酶同工酶与雄性不育的关系研究中,普遍认为的结论是:不育系的酶带多于保持系。试验的结果也与其一致,龚义勤<sup>[3]</sup>等认为,不育系的雄蕊中过氧化物酶同工酶带的增多,引起新陈代谢方式的紊乱,最后导致糖、蛋白质等物质的合成减弱或停止,影响小孢子的发育造成不育,还有一种观点<sup>[3]</sup>认为过氧化物酶同工酶活性高的时候就是活性氧高的时候,不育系花蕾正在发生强烈的膜脂过氧化作用,进而引起一系列的败育过程。过氧化物酶是一种与生长素有关的酶,而通过花期叶的电泳图谱可以推断在花期叶片中的不育系的 IAA 含量比较高,而叶片作为营养输出的库,过高的 IAA 含量会影响物质的合成和积累,从而影响小孢子的发育。这与戴希尧的结论一致<sup>[5]</sup>。

#### 3.2 淀粉酶与育性的关系

张鲁刚<sup>[6]</sup>指出,大白菜胞质雄性不育系同保持系的淀粉酶的差异,主要表现在不育系花蕾中的淀粉酶的活性较高于保持系,但在种荚内不育系中的淀粉酶活性却弱于保持系。这种逆转现象说明淀粉酶同工酶可能与雄性不育无关。李又华<sup>[7]</sup>认为,青花菜同工酶表现在不育系的谱带较少,保持系的谱带较多。Knox<sup>[8]</sup>认为花粉粒的主要生长时期开始于液泡时期,在花粉粒的细胞质出现小的中心液泡及内壁层的合成就是信号,在液泡早

期,液泡的大小长至花粉粒直径的一半时,内壁多糖类的合成在花粉粒内部开始。而淀粉酶是一种水解酶,其活性升高必然导致花蕾中淀粉含量的降低。而试验的结果与张鲁刚的结果接近,所以认为淀粉酶与作物的育性没有太大的关系。

雄性不育的败育机理是复杂的,一种同工酶不足以阐明雄性不育机制,只有多种生理指标加以综合考虑,才能准确的揭示不育机制,在保持系中基因的表达应该是正常的,不育系中由于基因表达的不正常,引起酶带的迁移率数目的增减,活性的强弱不同,同工酶基因表达上的不正常,干扰了物质、能量代谢固有的平衡,最终导致雄性不育的发生。

#### 参考文献

- [1] 郭尧君. 蛋白质电泳技术[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [2] 龚义勤, 汪隆植, 徐彦, 等. 萝卜雄性不育系和保持系的花蕾同工酶分析[J]. 园艺学进展, 1998(2): 563-566.
- [3] 任雪松, 李成琼, 宋洪元. 甘蓝胞质雄性不育系和保持系花药同工酶分析[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(4): 433-436.
- [4] 胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙: 湖南科学出版社, 1985.
- [5] 戴希尧, 任喜波, 魏毓堂. 春夏萝卜雄性不育与内源激素含量关系的研究[J]. 北方园艺, 2007(1): 9-10.
- [6] 张鲁刚, 柯桂兰. 大白菜胞质雄性不育系和保持系同工酶及可溶性蛋白质分析[J]. 西北农业学报(自然科学版), 1998, 8(4): 64-70.
- [7] 李又华, 杨暹, 罗志刚, 等. 青花菜雄性不育系与保持系花蕾同工酶分析[J]. 华南农业大学学报(自然科学版), 2003, 24(1): 13-15.
- [8] R. B. 诺克斯. 花粉与变态反应[M]. 张金谈译. 科学出版社, 1983, 2022.

## Study on the Activity of Some Isozymes in Radish CMS and Their Main Trainer Lines

ZHANG Qi, SI Long-ting

( Horticulture College, Shenyang Agriculture University, Liaoning 110161, China)

**Abstract:** Using three male sterile lines of radish, the activity of three isozymes were studied during their development of vegetable and reproductive stages. The results showed that the activity of POD in leaves of male sterile plants was lower than in the male fertile ones, and in Anthers showed opposite result.

**Key words:** Radish; Isozyme; Male sterility

### 欢迎订阅 2008 年《果树学报》

《果树学报》是中国农业科学院郑州果树研究所主办的国家级学术期刊, 中文园艺学核心期刊, 中国科技核心期刊, 已被美国化学文摘、俄罗斯文摘杂志、英国 CABI 等 20 余种国内外重要检索系统与数据库收录。据《中国科技期刊引证报告》(2006 年版) 统计结果,《果树学报》的影响因子达 0.723, 已成为国内外有影响的学术刊物之

一。《果树学报》着重选发密切结合我国果树科研、教学、生产实际, 反映学科学术水平和发 展动向的优秀稿件, 及时报道重大科研成果、阶段性成果和科研进展情况。栏目设置有 研究论文、专论与综述、研究报告、技术与方法、新品种选育快报及信息速递等; 内容包括生物技术、品种与种质资源、生理与栽培、土壤与肥料、植物保护、贮藏加工等。读者对象为果树学科的科研人员、高等农业院校师生及基层果树管理技术人员。

本刊为双月刊, 2008 年每期 128 页码, 定价 15 元, 全年 6 期共 90 元。邮发代号: 36-93, 国际代号 BM/1107。欢迎投稿, 欢迎订阅。

编辑部地址: 中国农业科学院  
郑州果树研究所  
邮编: 450009  
电话: 0371-65330927/28  
传真: 0371-65330982  
E-mail: chinagsxb@163.com