

赖草属七个种同工酶研究^{*}

刘 芳 孙根楼

(四川农业大学小麦研究所, 都江堰 611830)

摘 要 用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对赖草属 7 个种的幼根、幼叶进行了酯酶、过氧化物酶同工酶分析, 结果表明: 无论从相同器官进行不同的同工酶分析, 还是从不同器官进行相同的同工酶分析, 这 7 个种的酶谱在各带区存在相似酶带, 但更多的是相异酶带。从酯酶、过氧化物酶这两种酶分析结果来看, 酯酶比过氧化物酶分离效果好些; 从幼根和幼叶这两个器官的酶谱来看, 幼根比幼叶酶带多些, 分离效果也好些。同时也表明这 7 个种的酶谱变化与染色体倍性变化无关。

关键词 赖草属; 酯酶; 过氧化物酶; 同工酶; 电泳

THE STUDY ON ISOZYMES OF SEVEN SPECIES IN LEYMUS

Liu Fang Sun Genlou

(Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830)

Abstract The esterase and peroxidase isozymes for seven species of *Leymus* in young roots and young leaves were studied by means of polyacrylamide electrophoresis. The results showed that these 7 species shared less isozymes but more were difference. From molecular level, this study supported these 7 species are valid. As far as same organ is concerned, the esterase isozyme is better than peroxidase in *Leymus*. As same isozyme was used, zymogram patterns of young roots are better than those of young leaves, the variation of zymogram patterns has not related to variation of chromosome number.

Key words *Leymus*; esterase; peroxidase; isozyme; electrophoresis

赖草属 (*Leymus* Hochstotter) 是禾本科小麦族的一个多年生属, 该属约 30 余种^[7], 分布于欧亚大陆的温带, 南美、北美的热带和亚热带高山地带, 但大部分分布于中亚和北美的高山。我国有 12 个种, 3 亚种^[1]。国产赖草分布于新疆、青海等地。赖草属一些种穗大、粒大、抗旱、耐盐碱、耐践踏及抗病性较强。赖草属是一个含有 $2n = 28 \sim 84$ 条染色体的多倍体属, 已有不少国内外研究者对赖草属部分种的形态学、细胞学进行了研究^[1~4, 8~13]。本文对分布我国的其中 7 个种进行了同工酶分析, 希望能对我国赖草属的系统研究提供一些生化资料, 帮助鉴别一些从外部形态特征上难以鉴别出的遗传变异, 以便更好地利用这些遗传资源。

1995-12-12 收稿

第一作者简介: 刘 芳, 女, 1964 年出生, 助理研究员, 植物生理生化专业。

^{*} 国家自然科学基金资助项目 (批准号: 89370058)

1 材料和方法

1. 1 供试材料（见表 1）。

1. 2 酯酶、过氧化物酶的测定

各材料翻钵取幼根。幼叶，取孕穗前植株顶端的第一片展开叶，洗净晾干，按样品：蒸馏水=1:3 的比例加入蒸馏水后于冰浴中研磨成匀浆，经 3 500 r/min 离心 10 min，上清液再经 13 000 r/min 离心 20 min，离心后的上清液保存于冰箱中待用。

采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳方法，分离胶浓度为 7. 3%，浓缩胶浓度为 3. 1%，凝胶厚度为 1. 5 mm。每个材料酯酶点样 50 μ l，过氧化物酶点样 40 μ l，点样后上面复盖一层 40% 的蔗糖液，每种酶重复两板。酯酶同工酶电泳过程及电泳缓冲液，染色液的配制参见作物学报^[5]。过氧化物酶电泳过程同酯酶，只是染色方法不同。染色采用醋酸联苯胺法^[6]。染色后胶板用水冲洗几次，再用水漂洗一天，照相，然后制成干板保存。

同工酶区带的相对泳动率 Rf 计算参照刘芳等^[5]介绍的方法。

Rf= 酶带迁移距离/溴酚蓝迁移距离

2 结果与讨论

本研究对赖草属 7 个种的幼根、幼叶进行了酯酶和过氧化物酶同工酶分析，根据酶谱特征，按迁移率从负极到正极酶谱大致分为几个带区，幼根的酯酶、过氧化物酶酶带较多，可分为、B、C 三个带区，幼叶的酶谱较少，可明显地分为 A、B 两个带区。现将七个种幼根，幼叶两种酶的酶谱特征分述如下：

(1) 幼根酯酶酶谱特征 根据主酶带集中部位，按迁移率将酶谱划分为 3 个带区，即 A 区（0~0. 36），B 区（0. 36~0. 63），C 区（0. 63~1），各个种的酶带数及各酶带的迁移率 Rf

值列于表 2。在 A 区（见图版 A，模式图 1），除 L₄（*L. multicanlis* (Lam.)）和 L₅（*L. racemosus*）外，其它 5 个种都具有 2~3 条活性较强的主酶带，而 L₄ 和 L₅ 的这两条主酶带迁移至 B 区内，其它 5 个种 B 区内的酶带都是一些弱带和痕迹带。在 C 区，7 个种都具有一条迁移率几乎一致、活性较强的酶带，但是这条酶带在 7 个种间还存在一些细微差异，如着色强度。酶带宽度

表 1 供试材料名称及来源

Table 1 The experimental materials and the source

编号	中文名	学 名	根尖染色体数	来 源
L ₁	天山赖草	<i>Leymus tianshanicus</i> (Drob.) Tzvel	84	新疆, 独山子
L ₂	窄颖赖草	<i>L. angustus</i> (Trin.) Pilg	84	新疆, 哈巴河
L ₃	卡氏赖草	<i>L. karelinii</i> (Turcz.) Tzvel	84	新疆, 博乐
L ₄	多枝赖草	<i>L. multicanlis</i> (Lam.) Tzvel	28	新疆, 阿克苏
L ₅	大赖草	<i>L. racemosus</i> (Lam.) Tzvel	28	新疆, 阿尔太
L ₆	柴达木赖草	<i>L. Pseudaracemosus</i> (Yen and Yang)	28	新疆, 诺木洪
L ₇	赖草	<i>L. secalinus</i> (Georgl.)	28	新疆, 乌鲁木齐

表 2 赖草属 7 个种幼根酯酶同工酶酶谱的 Rf 值

Table 2 The Rf of esterase zymogram of the 7 Leymus species at young roots

材 料	酶带数 (迁移值 Rf)			总带数
	A 区 (0~0.36)	B 区 (0.36~0.63)	C 区 (0.63~1)	
L ₁	3 (0.24, 0.27, 0.29)	3 (0.49, 0.53, 0.59)	1 (0.70)	7
L ₂	4 (0.22, 0.24, 0.27, 0.30)	2 (0.26, 0.47)	1 (0.70)	7
L ₃	4 (0.23, 0.25, 0.27, 0.29)	2 (0.56, 0.59)	2 (0.68, 0.70)	8
L ₄	3 (0.18, 0.25, 0.28)	6 (0.39, 0.41, 0.44, 0.49, 0.56, 0.59)	1 (0.70)	10
L ₅	4 (0.23, 0.25, 0.29, 0.32)	3 (0.42, 0.52, 0.59)	1 (0.70)	8
L ₆	4 (0.24, 0.26, 0.29, 0.31)	4 (0.41, 0.44, 0.56, 0.58)	5 (0.65, 0.68, 0.71, 0.73, 0.82)	12
L ₇	7 (0.18, 0.21, 0.23, 0.26, 0.28, 0.31, 0.34)	1 (0.55)	2 (0.67, 0.71)	10

还存在差异。这 7 个种存在着一定的相似性，它们具有相同或相似的酶带，但是更多存在相异性，7 个种没有任何两个种的酶带完全相同。即使有些种的酶带数相同，如 L₁ 和 L₂ 都有 7 条带，L₃ 和 L₅ 都有 8 条带，但各酶带的特征（着色强度、酶带宽度、酶带迁移率）则完全不同。

(2) 幼根过氧化物酶酶谱特征 同样根据主酶带的集中部位，按迁移率将酶谱分为 3 个带区，A 区（0~0.15），B 区（0.15~0.59），C 区（0.59~1），各个种的酶带数以及各酶带的迁移率列于表 3。在 A、C 区（见图版 B，模式图 2），各个种的酶带数少，主要特征相似。这 7 个种酶带的主要差异在 B 区，酶带多且变化多样，但在 Rf=0.32~0.41 之间这 7 个种仍存在 2~3 条活性较强的酶带。就相同器官幼根，过氧化物酶酶带数比酯酶酶带数多，但分离效果没有酯酶好，有的酶带较宽，拖尾严重，酶带与酶带之间的界线不明显，过氧化物酶各酶带的迁移率、着色强度、酶带的宽度以及酶带数与各个种的酯酶酶谱的这些形态特征无任何关联。

(3) 幼叶酯酶酶谱特征 酶带主要集中在快带区和慢带区，中间带区只有几条痕迹带，所以按迁移率将酶谱划分为两个带区，即 A 区（0~0.35），B 区（0.35~1），各个种的酶带数和各酶带的迁移率列于表 4。在 A 区酶带活性较幼根酯酶酶带活性弱些，在 B 区 L₁、L₂、L₃、L₄、L₅、L₇ 都有 1~2 条迁移较快且活性较强的酶带，L₆ 则无强带。在此区 L₃ 和 L₇ 还有两条活性较强的酶带迁移较慢，这两个种的这两条酶带非常相似，但其它酶带则完全不同。

(4) 幼叶过氧化物酶酶谱特征 幼叶过氧化物酶酶带数少，按各酶带迁移率同样划分为两个带区，A 区（0~0.48），B 区（0.48~1），各个种的酶带数和各酶带的迁移率列于表 5。A 区较 B 区酶带多，活性强些，B 区各个种都只有一条弱带或痕迹带。幼叶的过氧化物酶同幼叶的酯酶比较，酶带少且分离效果极差。这是由于幼叶叶绿素含量大，叶绿素在电泳过程中迁移慢，呈现在胶板的慢带区，此区间过氧化物酶正好有酶带出现，因而干扰酶带的分离。而酯酶在此区间没有酶带出现，所以对幼叶来说，酯酶比过氧化物酶的分离效果好些。

表 3 赖草属 7 个种幼根过氧化物酶同工酶酶谱的 Rf 值
Table 3 The Rf of peroxidase zymogram of the 7 *Leymus* species at young roots

材 料	酶带数 (迁移值 Rf)			总 带 数
	A 区 (0~0.15)	B 区 (0.15~0.59)	C 区 (0.59~1)	
L ₁	1 (0.05)	8(0.19, 0.25, 0.29, 0.33, 0.35, 0.44, 0.48, 0.53)	1 (0.63)	10
L ₂	1 (0.05)	9(0.18, 0.23, 0.27, 0.32, 0.35, 0.39, 0.42, 0.46, 0.51)	1 (0.62)	11
L ₃	1 (0.05)	8(0.20, 0.29, 0.32, 0.35, 0.42, 0.44, 0.47, 0.51)	1 (0.62)	10
L ₄	1 (0.05)	10(0.16, 0.22, 0.30, 0.32, 0.34, 0.36, 0.40, 0.48, 0.54, 0.58)	1 (0.62)	12
L ₅	1 (0.05)	7(0.16, 0.22, 0.32, 0.34, 0.42, 0.48, 0.54)	2 (0.63, 0.73)	10
L ₆	2 (0.07, 0.11)	7 (0.18, 0.31, 0.33, 0.35, 0.42, 0.47, 0.54)	1 (0.63)	10
L ₇	3 (0.04, 0.07, 0.11)	7 (0.19, 0.28, 0.36, 0.41, 0.46, 0.49, 0.54)	1 (0.63)	11

表 4 赖草属 7 个种幼叶酯酶同工酶酶谱的 Rf 值
Table 4 The Rf of esterase zymogram of the 7 *Leymus* species at young leaves

材 料	酶带数 (迁移值 Rf)		总 带 数
	A 区 (0~0.35)	B 区 (0.35~1)	
L ₁	4 (0.20, 0.23, 0.28, 0.30)	3 (0.62, 0.73, 0.85)	7
L ₂	3 (0.20, 0.23, 0.30)	3 (0.47, 0.73, 0.76)	6
L ₃	3 (0.20, 0.23, 0.30)	6 (0.57, 0.60, 0.64, 0.69, 0.73, 0.76)	9
L ₄	3 (0.28, 0.30, 0.33)	4 (0.52, 0.55, 0.75, 0.91)	7
L ₅	3 (0.27, 0.30, 0.33)	6 (0.43, 0.46, 0.62, 0.65, 0.70, 0.75)	9
L ₆	3 (0.25, 0.28, 0.32)	4 (0.57, 0.62, 0.75, 0.89)	7
L ₇	2 (0.26, 0.29)	6 (0.39, 0.45, 0.57, 0.62, 0.65, 0.75)	8

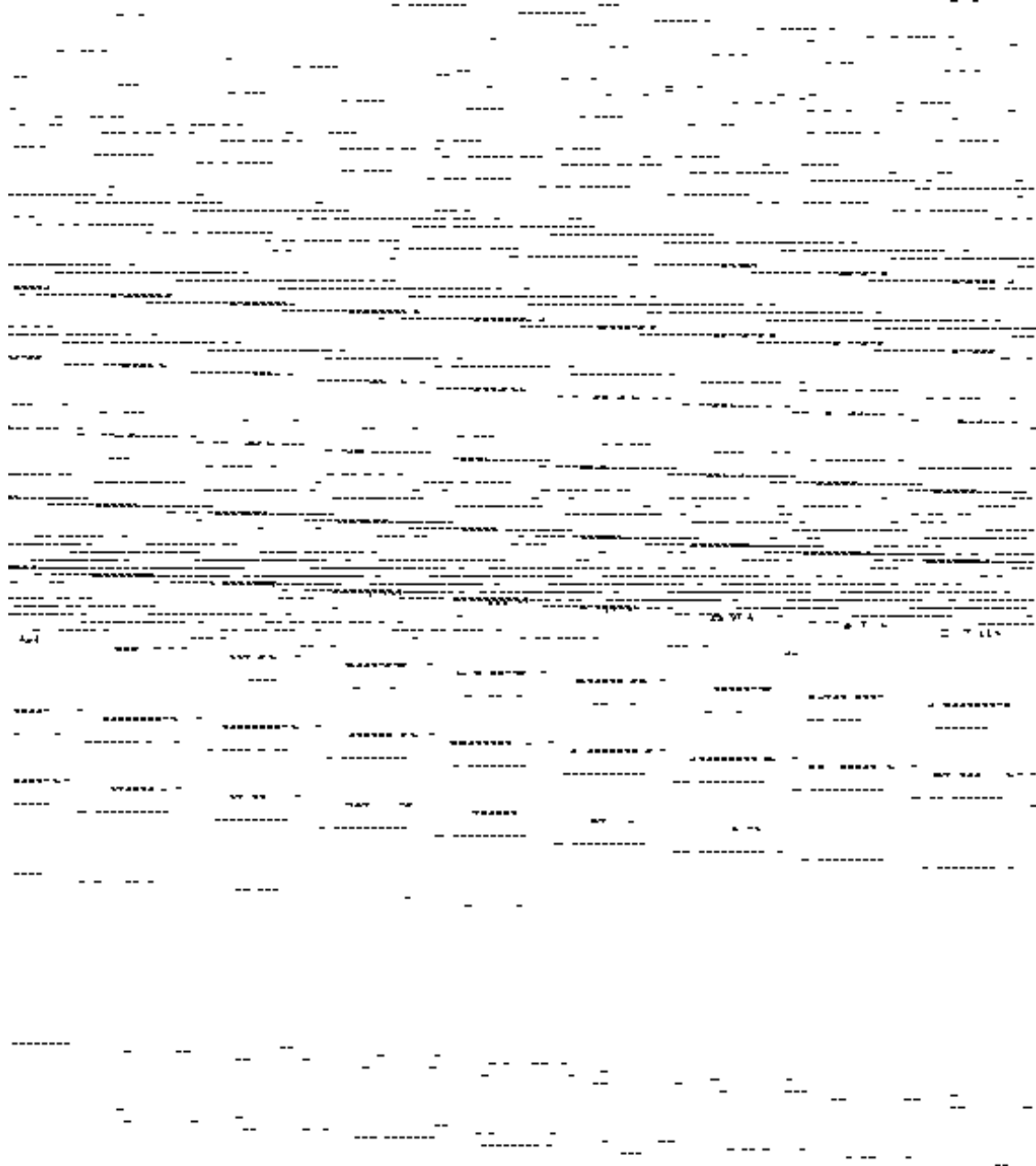
以上描述了幼根和幼叶的酯酶、过氧化物酶酶谱特征, 就相同器官进行不同同工酶分析, 无论是幼根还是幼叶都是酯酶比过氧化物酶的分离效果好些, 酯酶同工酶酶带强弱分明, 带与带之间界线分明。就不同器官进行相同的同工酶分析, 幼根的酯酶和过氧化物酶都比幼叶的酶带多, 而且分离效果也好, 这是由于幼叶的纤维组织多, 该器官比幼根老, 所以酶带少。据我们分析各个器官来看, 器官组织越幼嫩, 酶带越多, 分离效果越好。对大多数禾本科小麦族植物都是酯酶比过氧化物酶分离效果好, 而玉米、油菜则过氧化物酶比酯酶分离效果好, 更适合用来进行遗传分析。赖草属 L₁、L₂、L₃ 的根尖染色体数都是 84 条, L₄、L₅、L₆、L₇ 的根尖染色体数是 28, 在两个器官的两种同工酶分析中, 前 3 个种没有一条酶带是它们的标志带, 后 4 个种也没有一条标志带, 这说明同工酶分析不能反映染色体的倍性变化。总之, 这 7 个种无论从相同器官进行不同同工酶, 还是从不同器官进行相同的同工酶分析, 无论染色体倍性相同还是不同, 这 7 个种的酶谱都不相同, 证明了按形态特征建立起来的这 7 个种是合理的, 不存在同种异名的问题。

表 5 赖草属 7 个种幼叶过氧化物酶同工酶酶谱的 Rf 值
Table5 The Rf of peroxides zymogram of
the7 *Leymus* species at young leaves

材料	酶带数 (迁移值 Rf)		总带数
	A 区(0~0.48)	B 区(0.48~1)	
L ₁	4(0.09, 0.12, 0.23, 0.25)	1(0.77)	5
L ₂	4(0.07, 0.20, 0.25, 0.31)	1(0.77)	5
L ₃	3(0.08, 0.14, 0.18)	1(0.78)	4
L ₄	3(0.07, 0.19, 0.34)	1(0.77)	4
L ₅	5(0.11, 0.19, 0.23, 0.30, 0.33)	1(0.78)	6
L ₆	6(0.07, 0.10, 0.13, 0.21, 0.25, 0.31)	1(0.78)	7
L ₇	6(0.07, 0.10, 0.13, 0.22, 0.25, 0.32)	1(0.79)	7

参 考 文 献

1 崔乃然, 钟骏平. 新疆谷类作物的野生近缘植物. 新疆八一农学院学报, 1984, 1: 11~30
2 郭本兆. 中国植物志, 第九卷第三分册, 北京: 科学出版社, 1987, P 15~22
3 耿以礼. 中国植物图说—禾本科, 1965, P 340~346
4 颜 济, 杨俊良. 中国赖草属新植物. 云南植物研究., 1983, 5 (3): 275~276
5 刘 芳, 孙根楼, 颜 济等. 普通小麦和华山新麦草及其属间杂种 F₁ 同工酶分析. 作物学报, 1992, 18 (3): 169~175
6 胡能书, 万国贤编. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985
7 Dewey, D. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial triticeae. — In gustafson, J Pj (Ed.): Gene manipulation in plant improvement, PP. 209~280. New York: Plenum. 1984
8 Dewey, D R. Genome. Analyses of Hybrids between diploid *Elymus* and five tetriploid *Elymus* species. *Bot. Gaz.* 1972a, 133: 51~57
9 Dewey, D R. Cytogenetics of tetriploid *Elymus cinereus*, *E. triticoides*, *E. multicaulis*, *E. karataviensis* and their F₁ hybrids. *Bot. Gaz.* 1972b, 133: 51~57
10 Barkworth, M E and Riley, R J. *Leymus* Hochst. (Gramineae Triticeae) in North America; Taxonomy and distribution. *Am. J. Bot.* 1984, 71: 609~625
11 Wang, R R—C. and Hsiao, C. . Morphology and cytology and interspecific hybrids of *Leymus mollis*. *J. Hered.* 1984, 75: 488~492
12 Sun G. L, Yen, c. and Yang J. L. The genome constitution of *Leymus aemulis* (Poaceae). *Hereditas*, 1994, 121: 191~195
13 Sun G L, Yen C and Yang J L. Morphology and cytology of intergeneric hybrids involving *Leymus multicaulis* (Poaceae) *Pl. Syst. Evol.*, 1995, 194: 83~91



A: 幼根酯酶同工酶酶谱 B: 幼根过氧化物酶酶谱 C: 幼叶酯酶同工酶酶谱 D: 幼叶过氧化物酶酶谱

A、B、C、D 各图中从左到右依次为 L₁、L₂、L₃、L₄、L₅、L₆、L₇

L₁代表 *L. tianshanicus* (Drob.) Tzvel; L₂代表 *L. angustus* (Trin.) pilg; L₃代表 *L. karelinii* (Turcz.) Tzvel;

L₄代表 *L. multicaulis* (Kar. et Kir.) Tzvel; L₅代表 *L. racemosus* (Lam.) Tzvel; L₆代表 *L. pseudoramosus* (Yen et Yang.);

L₇代表 *L. scalinus* (Georgl.) Tzvel.