

363-367

14499(14)

# 杉木不同无性系过氧化物酶同工酶的研究

吕洪飞 陈建华 周春红<sup>1)</sup> 沈煜<sup>2)</sup>

(浙江师范大学生物系, 金华 321004)

5791.270.1

A

**摘要** 本文对杉木 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.) 不同无性系及其不同株龄的叶和不同发育时期的雄球花进行了过氧化物酶同工酶检测。结果表明: 杉木 414 号无性系叶和雄球花的过氧化物酶同工酶酶谱与其它无性系都具明显差异; 同一无性系叶与雄球花的过氧化物酶同工酶酶谱存在显著差异; 不同发育时期的雄球花的过氧化物酶同工酶存在顺序表达。作者认为: 过氧化物酶同工酶作为种内分类的鉴定性状较为合适, 而科、属、种的分类依据则应更侧重于形态特征。根据杉木 414 号无性系的过氧化物酶同工酶的特异性及其短叶、叶端钝圆和多雄花等特点, 可以把它定为杉科杉属杉木物种的一个变型: 多雄花杉木。

**关键词** 杉木; 无性系; 过氧化物酶; 同工酶; 分类 同工酶

## STUDIES ON THE PEROXIDASE ISOZYME FROM THE DIFFERENT ASEXUAL SERIES OF CUNNINGHAMIA LANCEOLATA

Lu Hongfei Cheng Jianhua Zhou Chunhong<sup>1)</sup> Sheng Yu<sup>2)</sup>

(Biology Department, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004)

**Abstract** This paper studies on the peroxidase isozyme of the leaves of several kinds of the *Cunninghamia lanceolata* asexual series, their leaves of different ages and their male cones of the different periods of development. There is considerable difference between the peroxidase isozymes of leaves and microtrichium in the 414 asexual series and those of others, prominently difference exists between the peroxidase isozyme of leaves and microtrichium in same asexual series; the peroxidase isozyme of the microtrichium exist sequence of expression in different periods of development. So it seems that their peroxidase isozymes may be suitable for the index to the classification of intraspecies, and the index to the determination of families, genera or species is to lay particular emphasis on their morphological characteristics. Based on the speciality of the peroxidase isozyme of the 414 asexual series and its short leaf, blunt leaf apex, multi-masculinus, etc. We think the 414 asexual series ought to be *C.lanceolata* (Lamb.) Hook. var. *multi-masculinus* Lu.

**Key words** *Cunninghamia lanceolata*; asexual series; peroxidase; isozyme; classification

过氧化物酶同工酶被认为是较好的遗传信息表达标志, 其合成受一系列遗传基因的控制<sup>[1,2]</sup>, 已被广泛应用于植物分类学研究<sup>[3-8, 12, 13]</sup>。杉木无性系繁多, 至今还无人对杉

1) 浙江省金华市防疫站 Epidemic Prevention Station, Jinhua, Zhejiang

2) 浙江省金华市第一制药厂 Zhejiang Jinhua No. 1 Pharmaceutical Factory, Jinhua 321000)

木无性系进行归类, 是否存在变种或变型, 作者试图通过其过氧化物酶同工酶的检测分析, 确定杉木不同无性系的过氧化物酶同工酶是否存在差异, 同时探讨同工酶在植物分类学上的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料采集与样品的制备

杉木属杉科杉属植物, 其不同无性系材料采自浙江省临安县横畈林场, 包括414号无性系、雄性不育株系(S)、1号、2号、3号、7号、8号、9号等8个无性系; 定期、定株采集各无性系各5个植株的雄球花和叶, 各取0.1g样品, 置冰浴研钵中, 然后加1mL 0.05 M Tris-0.38 M 甘氨酸缓冲液 (pH: 8.3), 研磨成匀浆后, 离心10 min (12 000 r/min), 取其上清液加1滴0.1% 溴酚蓝和适量蔗糖, 置冰箱中备用。

### 1.2 电泳及染色条件

测定采用聚丙烯酰胺凝胶直板电泳, 分离胶(浓度7%)上加1cm的浓缩胶(浓度3%), 每槽加样30  $\mu$ L, 稳流16 mA, 电压约200 V左右, 电泳3 h左右(指示带达正极8 cm), 用联苯胺-愈创木酚液染色20 min<sup>[2]</sup>, 重复电泳3次。

### 1.3 扫描

用岛津CS-930型双波色谱扫描仪, 波长580 nm 线型扫描。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同无性系叶的过氧化物酶同工酶的比较

杉木同一无性系叶的过氧化物酶同工酶酶谱不随株龄、发育阶段的变化而变化, 只存在酶活性强弱的差异, 这与胡志昂等<sup>[7]</sup>结果基本相似。雄性不育株系(S)、1号、2号、3号、7号、8号、9号等无性系叶的过氧化物酶同工酶酶谱间无明显差异, 只存在酶活性的不同。414号无性系与其它无性系叶的过氧化物酶同工酶酶谱存在较大差异, 缺少中带区第16条酶带, 而增加快带区第25、26条酶带(图1、表1)。414号无性系在叶的不同发育阶段一直保持有13条酶带, 而其它无性系只有12条酶带。

遗传基因在叶中的表达不受发育阶段及株龄和育性的影响, 这一结果与水稻<sup>[9]</sup>、玉米<sup>[10]</sup>、高粱<sup>[11]</sup>等研究结果相符。杉木414号无性系叶的编码基因不仅表现在过氧化物酶同工酶酶谱特异性上, 还表现于其叶短、先端钝圆不刺人、多雄花及叶的呼吸强度较弱等, 这反映了杉木基因表达的全息性。

杉木414号无性系与其它无性系叶的过氧化物酶酶谱存在差异, 与松科的红松种内<sup>[6]</sup>和黑杨源无性系<sup>[3]</sup>的结论相似, 而与杉科和松科的多数种——种内过氧化物酶酶谱没有显著差异的结论不同<sup>[4, 6, 7]</sup>。

### 2.2 不同无性系的雄球花的过氧化物酶同工酶的比较

除雄性不育株外<sup>[2]</sup>, 杉木414号无性系与其它无性系的雄球花的过氧化物酶同工酶的酶谱也存在差异, 表现于慢带区缺少第4、8两条带, 而增加第6条带; 414号无性系共12条酶带, 而其它无性系为13条酶带(图1、表1)。在雄球花的发生和发育过程中, 414号无性系的过氧化物酶同工酶酶谱及酶活性发生变化; 小孢子囊分化期有12条酶带; 造孢“休眠”期只有9条, 减少第2、10、11等三条带, 其中第10、11条带可能与其雄球花的呼吸强度降至最低点相关; 减数分裂——四分体时期为10条酶带, 恢复第10、11条带, 减少第

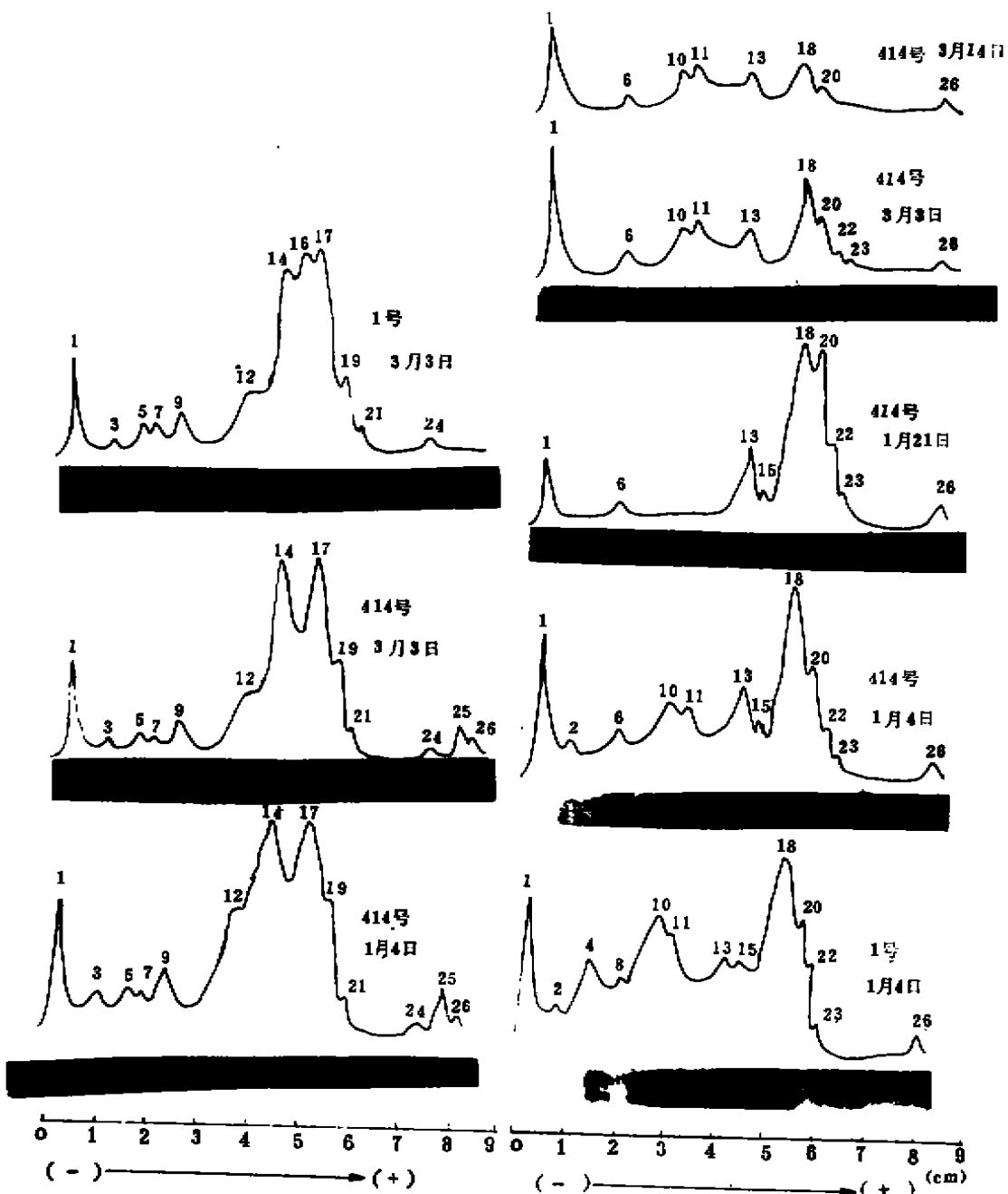


图 1 不同无性系以及不同时间的叶的过氧化物酶同工酶扫描( $\lambda=580\text{ nm}$ )  
 Fig. 1 The leaf Peroxidases scanning in different asexual series and different time of *C. lanceolata*

图 2 不同无性系及不同发育时期的雄球花的过氧化物酶同工酶扫描( $\lambda=580\text{ nm}$ )  
 Fig. 1 The male cones Peroxidases scanning in different asexual series and different periods of *C. lanceolata*

15条带;小孢子收缩期减至8条带,缺第22、23条酶带;说明存在着遗传信息的顺序表达<sup>[1]</sup>(图2、表2)。

杉木叶和雄球花的过氧化物酶同工酶之间存在显著差异(图1、图2、表1),414号无性系叶与雄球花只有第1、26条酶带是共有的,其它无性系只有第1条酶带是共有的。这与玉米、高粱的研究结果相似——不同器官的过氧化物酶同工酶受某些不同的结构基因所控制<sup>[10,11]</sup>。

### 2.3 对过氧化物酶同工酶作为分类指标的评估

在正常的植物个体中,基因组中的90%左右的基因处于不活化的阻遏状态<sup>[11]</sup>。一般植物的薄壁细胞具有全息性——该植物的完整的基因组。同一植株或同一无性系的不同器官或部位,基因组的去阻遏作用是不同的,表现出不同器官或部位的外部形态、解剖结构及生理生化特征都有一定的差异。同一无性系的不同植株基因组的去阻遏作用具较大相似性或相同,不同无性系或不同变型、变种、亚种之间的基因组的去阻遏作用相似;而同属不同种、同科不同属、不同科之间的相似性则逐渐减少,甚至完全不同,其过氧化物酶同工酶酶谱差异逐渐增大。

有报道:植物的分子进化速度是稳定的<sup>[14]</sup>,过氧化物酶同工酶能较直接的表达遗传基因和分子进化。而植物形态特征是多基因控制的数量性状<sup>[15]</sup>,其形态进化中还涉及基因调控<sup>[16,17]</sup>及更复杂的变化<sup>[18]</sup>,在物种形成中形态变化更主要、更复杂<sup>[5]</sup>。因此,过氧化物酶同工酶作为物种内不同无性系或变型、变种、亚种之间的分类鉴定特征较为合适,而科、属、种间的分类则应更侧重于形态特征。

### 2.4 对杉木414号无性系的定名

杉木414号无性系具有不同于其它无性系的性状:其过氧化物酶同工酶酶谱特殊,与其它无性系间的酶谱距离<sup>[5]</sup>为0.21,叶短,叶端钝圆和多雄花等特点。因此,作者认为:可以把杉木414号无性系定为杉科属杉木的一个变型:多雄花杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. f. *multi-masculinus* Lii)

表1 杉木414号无性系与其它无性系叶和雄球花的过氧化物酶同工酶酶谱表(1月4日)

器官	酶谱带数(谱号)	
	414号无性系	其它无性系
叶	13(1,3,5,7,9,12,14,17,19,21,24,25,26)	12(1,3,5,7,9,12,14,16,17,19,21,24)
雄球花	12(1,2,6,10,11,13,15,18,20,22,23,26)	13(1,2,4,8,10,11,13,15,18,20,22,23,26)

表2 414号无性系雄球花不同发育时期的过氧化物酶同工酶酶谱表

发育时期	带数(谱号)
小孢子囊分化期	12(1,2,6,10,11,13,15,18,20,22,23,26)
造孢“休眠”期	9(1,6,13,15,18,20,22,23,26)
造数分裂—四分体时期	10(1,6,10,11,13,18,20,22,23,26)
小孢子收缩期	8(1,6,10,11,13,18,20,26)

## 参 考 文 献

- 1 朱治平,唐锡华.高等植物胚胎的发育生物学研究—转录和翻译抑制剂对水稻胚胎发育和萌发过程中氧化物酶形成的影响.中国科学,1981,7:880~885
- 2 李平,余象煜,吕洪飞.杉木雄性不育株小孢子叶球的发育解剖和生理生化的比较研究.林业科学,1992,28(2):115~121.
- 3 王明麻等.用同工酶分析法鉴定黑杨派无性系.南京林产工学院学报,1982,105~111

- 4 李启任等. 昆明地区松科植物的过氧化物同工酶. 云南大学学报, 1984, 128 ~ 138
- 5 胡志昂. 杨属植物的同工过氧化物酶. 植物分类学报, 1981, 19: 291 ~ 297
- 6 胡志昂, 王洪新, 阎龙飞. 裸子植物的生化系统学(一)——松科植物的过氧化物酶. 植物分类学报, 1983, 21: 423 ~ 432
- 7 胡志昂, 王洪新, 刘长江. 裸子植物的生化系统学(四)——杉科植物的种子蛋白和针叶过氧化物酶. 植物分类学报, 1986, 24(6): 471 ~ 474
- 8 苏冬梅. 柿属君迁子和湖南九个乡土柿品种过氧化物酶同工酶的研究. 武汉植物学研究, 1991, 9(3): 253 ~ 258
- 9 彭永康等. 植物学通报, 1985, 3(5): 29 ~ 31
- 10 彭永康等. 玉米黄早4雄性不育系、保持系过氧化物酶同工酶的比较研究. 实验生物学报, 1987, 20(3): 259 ~ 266
- 11 彭永康等. 高粱雄性不育系、保持系正负极向过氧化物酶同工酶的电泳比较. 作物学报, 1989, 15(1): 67 ~ 73
- 12 吴文瑜. 植物同工酶的研究的应用. 武汉植物学研究, 1990, 8(2): 83 ~ 88
- 13 Scandalios J. G. Isozymes in development and differentiation, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1974, 25: 225 ~ 258
- 14 Wilson A C et al, Biochemical evolution. *Ann. Rev. Biochem.* 1977, 46: 573 ~ 639
- 15 Gottlieb, L. D. , Electrophoretic evidence and plant systematics. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 1977 64: 161 ~ 180
- 16 Jacob F et J Monod. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* , 1961, 3: 318 ~ 356
- 17 Kimura M. The neutral theory of molecular evolution scient. *Amer.*, 1979, 241: 98 ~ 129
- 18 Nagl W Search for the molecular basis of diversification in phylogenesis and ontogenesis. *Pl. Syst. Evol., suppl.* 1979, 2: 3 ~ 25