

杂交水稻后代新品系的酯酶同工酶的研究

张维强 唐秀芝

(中国农科院原子能利用研究所, 北京)

摘 要

利用组织培养和系统选育, 从杂交水稻“南优2号”、“汕优2号”中获得的新品系“南花5号”、“南花11号”、“汕二39”、“汕二59”是高产品系, 用淀粉凝胶和聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了这些新品系及“南优2号”、“汕优2号”杂交种和亲本中的酯酶、过氧化物酶、ATP酶、苹果酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶的同工酶。杂种“南优2号”和“汕优2号”及其亲本之间的ATP酶、苹果酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶的同工酶都没有差异。杂种“南优2号”、“汕优2号”酯酶同工酶酶谱、阳极有 EA_2 、 EA , 互补酶带, 阴极有 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 互补酶带, “南花5号”、“南花11号”、“汕二39”、“汕二59”的酯酶同工酶酶谱型能从 F_2 代的杂交稻中选育得到。表明通过组织培养或系统选育或结合理化因素处理都能从优良杂交稻的分离代中获得这些高产新品系。

关键词 杂交水稻; 后代新品系; 酯酶同工酶

为了培育高产品种, 我国水稻育种者^[1,7]已通过系统选育、花药培养等不同途径从杂交水稻后代中选育出一系列高产新品系^[3,7]。本文用五种酶的同工酶对这些新品系进行了比较分析, 为新品系的选育提供依据。

材料与 方法

(一) 材料

“汕二39”、“汕二59”是由“汕优2号”(珍汕97A × IR24), 经系统选育出来的。“南花5号”是由“南优2号”(二九南A × IR24) 经花培选育的, “南花11号”是用激光辐照“南优2号”的愈伤组织培育而成的。1981年取上述材料及其杂种和亲本的干种子和发芽种子分析同工酶。82年将杂种套袋自交, 又分别分析其 F_2 代的酯酶同工酶。

(二) 酶液的制备

1. 干种子的匀浆制备 取“二九南B”、“二九南A”、“南优2号”、“IR24”、“南花5号”、“南花11号”、“汕优2号”、“汕二39”、“汕二59”、“珍汕97A”、“珍汕97B”的干种子。分别去壳并磨成米粉。称取米粉 0.5 g 两份, 一份加入 0.4 mol/l NaCl, 0.5% PVP¹⁾ 的 pH 7.0 0.1 mol/l 磷酸缓冲液 1.5 ml; 另一份加 pH 7.0 0.1 mol/l Tris-HCl 缓冲液 1.5 ml, 在冰浴里研磨成匀浆。用尼龙沙布过滤后, 一份匀浆在 0—4℃ 下澄清一夜, 供淀粉凝胶电泳用。另一份在 0—4℃ 下 13000 g 离心 30 分钟, 供聚丙烯酰胺凝胶电泳用。 F_2 代和新品

本文于 1985 年 2 月收到, 1985 年 12 月收到修改稿。

本文试验材料由范平同志提供, 表示感谢。

1) PVP. 聚乙烯吡咯啉酮 (Polyvinyl Pyrrolidone)。

系及杂种等上述种子是以单粒种子制样。

2. 种子芽的匀浆制备 取上述材料的种子, 在 0.1% 升汞液中消毒 10 分钟, 先后用自来水和蒸馏水洗净, 放在培养皿中, 加蒸馏水, 在黑暗中 28℃ 恒温下发芽 7 天, 取芽 0.5 g 两份, 用蒸馏水和重蒸馏水冲洗再用滤纸吸干。按上述程序制备匀浆。

(三) 同工酶分析

酯酶和过氧化物酶同工酶用淀粉凝胶电泳法^[1]。淀粉凝胶浓度为 12%, 加样品液 30—50 μ l, 电泳在 10℃ 左右的冰箱内进行, 电泳电流 2.5—3.0 mA/cm, 电泳 7 小时。苹果酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶^[10]、ATP 酶的同工酶用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳法^[15,6], 分离胶为 7.0%, 浓缩胶为 4.0%, 加样 50—100 μ l, 用 0.1% 溴酚蓝指示前沿, 电泳是在 10℃ 左右的冰箱内进行。开始电流 5 mA, 10 分钟后调到 10mA, 电泳 3—4 小时。

实 验 结 果

(一) “南优 2 号”、“汕优 2 号”的 F₁ 代与“南花 5 号”、“南花 11 号”、“汕二 39”、“汕二 59”的酯酶同工酶谱比较

在杂种“南优 2 号”的酯酶同工酶酶谱中, 阳极中的 EA₂(E 指酯酶同工酶)、EA₃ 酶带, 分别是“二九南 A”的 EA₂ 与“IR24”的 EA₃ 的互补酶带; 阴极有 EC₁、EC₂、EC₃、EC₄ 酶带, 分别是“二九南 A”的 EC₁、EC₂ 与“IR24”的 EC₂、EC₃、EC₄ 的互补带(图 1,

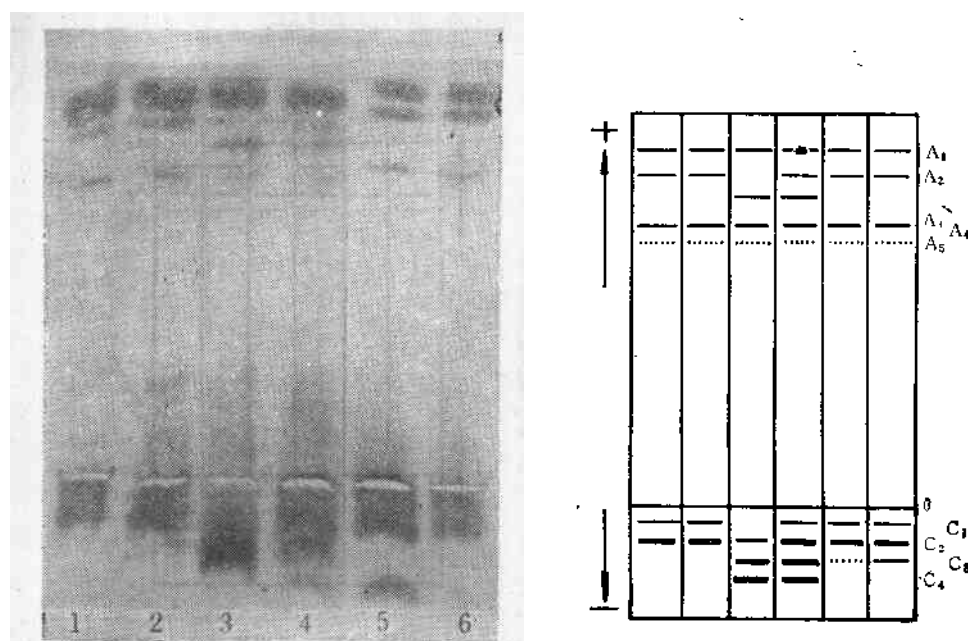


图 1 杂交稻及其亲本和新品系种子中酯酶同工酶谱型

1. 二九南 A 2. 二九南 B 3. IR24 4. 南优 2 号 5. 南花 5 号 6. 南花 11 号

Fig 1. Esterase programs in rice seed of three parental strains, F₁ hybrid and new lines of progeny

1. 29-Nan A 2. 29-Nan B 3. IR24 4. Nanyou 2
5. Nanhua 5 6. Nanhua 11

2). 在“汕优2号”的酯酶同工酶谱中, 阳极的 EA_2 、 EA_3 酶带, 是“珍汕97A”和“IR24”的互补酶带, 阴极的 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 和 EC_4 酶带分别是“珍汕97A”的 EC_1 、 EC_2 以及“IR24”的 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 的互补酶带(图3)。用“南优2号”的后代“南花5号”、“南花11号”的

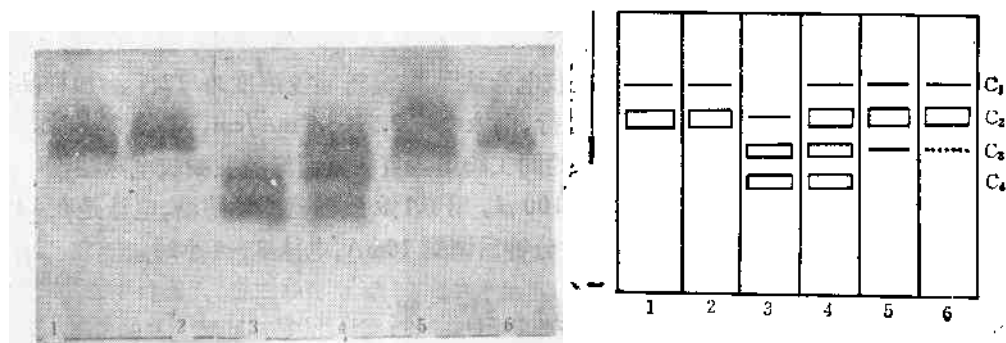


图2 杂交稻及其亲本和新品系种子中负极酯酶同工酶谱型

1. 二九南 A 2. 二九南 B 3. IR24 4. 南优2号 5. 南花5号 6. 南花11号

Fig 2. esterase programs of cathode in seed of three parental strains, F_1 hybrid and new lines of progeny

1. 29-Nan A 2. 29-Nan B 3. IR24 4. Nanyou 2
5. Nanhua 5 6. Nanhua 11

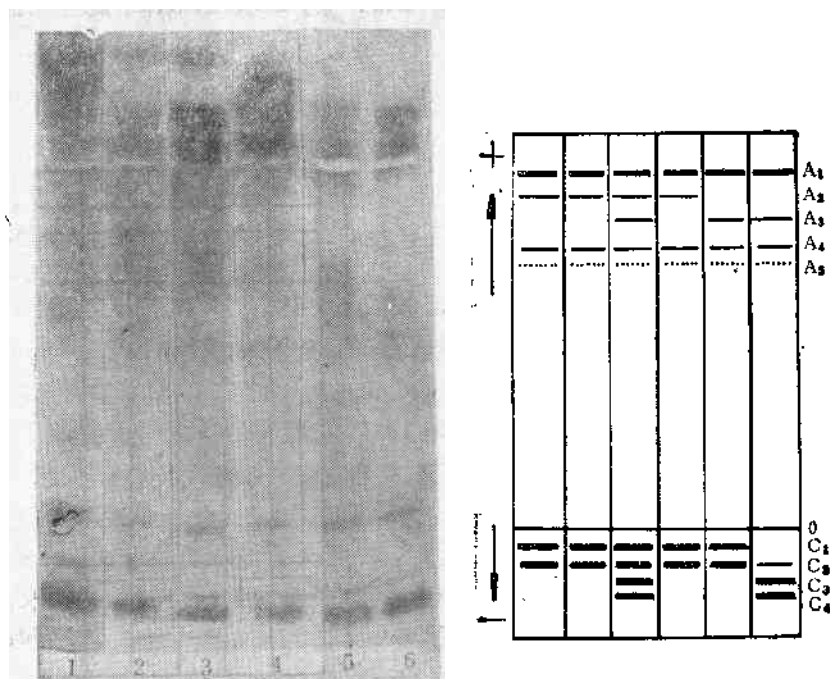


图3 杂交稻及其亲本和新品系种子中酯酶同工酶谱型

1. 珍汕97A 2. 珍汕97B 3. 汕优2号 4. 汕二39 5. 汕二59 6. IR24

Fig 3. Esterase programs in rice seed of three parental strains, F_1 hybrid and new lines of progeny

1. Zhenshan 97A 2. Zhenshan 97B 3. Shanyou 2 4. Shan-2-39
5. Shan-2-59 6. IR 24

实验结果表明, 阳极为 EA_1 、 EA_2 、 EA_4 和 EA_5 , EA_5 显色较浅。阴极为 EC_1 、 EC_2 和 EC_3 , 只有“南花 11 号”的 EC_3 显色浅(图 1、2); “汕优 2 号”后代“汕二 39”的阳极为 EA_1 、 EA_2 、 EA_4 和 EA_5 , EA_5 显色较浅, 阴极为 EC_1 、 EC_2 和 EC_3 ; “汕二 59”阳极为 EA_1 、 EA_3 、 EA_4 和 EA_5 , EA_5 显色较浅; 阴极为 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 , EC_3 显色最浅。

(二) 水稻“南优 2 号”、“汕优 2 号” F_1 代与“南花 5 号”、“南花 11 号”、“汕二 39”、“汕二 59”的过氧化物酶同工酶酶谱的比较

“南优 2 号”阳极有 PA_1 (P 指过氧化物酶同工酶)、 PA_2 、 PA_3 、 PA_4 与“二九南 A”和“IR24”相同; 阴极有 PC_1 、 PC_4 与“二九南 A”和“IR24”不同, 也没有互补酶带。“汕优 2 号”阳极有 PA_1 、 PA_2 、 PA_3 、 PA_4 与“珍汕 97 A”相同, 但 PA_4 比“IR24”显色浅。“南花 5 号”、“南花 11 号”的过氧化物酶同工酶酶谱与杂种“南优 2 号”相同, “汕二 39”与其不育系相同(表 1)。另外芽中的谷氨酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、ATP 酶的同工酶都没有明显差异, 这可能是因为这些酶都是基础代谢所需要的, 品种间差异不大。上述结果表明, “南花 5 号”、“南花 11 号”、“汕二 39”、“汕二 59”与其杂种不同, 是个稳定的后代。

表 1 芽中的过氧化物酶同工酶

Table 1 Peroxidase zymogram in seedling

品 种 Variety	阳 极 Anode				阴 极 Cathode			
	PA_1	PA_2	PA_3	PA_4	PC_1	PC_2	PC_3	PC_4
二九南 B 29-Nan B	+	+	++	++	+++	++		++
二九南 A 29-Nan A	+	+	++	++	+++	++		++
南优 2 号 Nanyou 2	+	+	++	++	+++			++
IR 24	+	+	++	++	+++		++	++
南花 5 Nanhua 5	+	+	++	+++	+++			++
南花 11 Nanhua 11	+	+	++	+++	+++			++
珍汕 97 B Zhenshan 97 B	+	+	++	+++	+++	+++	+	++
珍汕 97 A Zhenshan 97A	+	+	++	+++	+++	+++	+	++
汕优 2 号 Shanyou 2	+	+	++	+++	+++	+++	+	++
IR 26	+	+	++	+++	+++		++	++
汕二 39 Shan-2-39	+	+	++	+++	+++	+++	+	++

* + 显色浅 ++ 显色中等 +++ 显色深

* + Light colour ++ Middle colour +++ Dark colour

(三) 杂交水稻“南优 2 号”、“汕优 2 号”的 F_2 代酯酶同工酶酶谱与“南花 5 号”、“南花 11 号”、“汕二 39”、“汕二 59”的酶谱比较

将“南优 2 号”、“汕优 2 号”套袋自交, 分析其 F_2 代和“南花 5 号”、“南花 11 号”、“汕

二39”、“汕二59”单粒种子中的酯酶同工酶。结果表明,“南优2号” F_2 代阳极的 EA_1 和 EA_3 的分离比例为 $EA_2:EA_3:EA_1=75:155:72$, $\chi^2=0.2716$, $p>1\%$,符合1:2:1的比例(表2)。“汕优2号”阳极酶带 EA_2 、 EA_3 分离比例为 $EA_2:EA_3:EA_1=30:75:41$, $\chi^2=1.76$, $p>1\%$,也符合1:2:1的比例(表2)。表明种子中 EA_2 、 EA_3 是受一对等位基因控制的。 F_2 代阴极酯酶同工酶分离类型:“南优2号” F_2 代的分离类

表2 F_2 代阳极酯酶谱型的分离

Table 2 Segregation of esterase zymogram type of anode in progenies of hybrid rice

组 合 Cross	同工酶基因型 Isozyme genotype	EA_2, EA_1	EA_2, EA_3	EA_3, EA_1	预期结果 Expected ratio	χ^2	P
珍汕 97 A Zhenshan 97A	EA_2/EA_1	128					
珍汕 97 B Zhenshan 97B	EA_2/EA_1	128					
珍汕 97A $\times$ IR24 Zhenshan 97A $\times$ IR24	EA_2/EA_3	30	75	41	1:2:1	1.76	0.50—0.90
IR24	EA_3/EA_1			46			
二九南 A 29-NanA	EA_2/EA_1	20					
二九南 B 29-NanB	EA_2/EA_1	20					
二九南 A $\times$ IR24 29-Nan-A $\times$ IR24	EA_2/EA_3	75	155	72	1:2:1	0.27	0.95—0.98
IR24	EA_3/EA_1			46			

表3 F_2 代阴极酯酶同工酶谱型的分离Table 3 Segregations of F_2 esterase zymogram type of cathode in progenies of hybrid rice

酶 谱 型 Zymogram type	南优2号(F_2) Nan you 2(F_2)		汕优2号(F_2) Shanyou 2(F_2)	
	观 察 数 No. of observation	%	观 察 数 No. of observation	%
$EC_{11}, EC_{12}, EC_{13}, EC_{14}$	83	25.00	25	22.93
$EC_{11}, EC_{12}, EC_{13}$	66	19.87	27	24.77
$EC_{11}, EC_{12}, EC_{14}$	5	1.51		
$EC_{12}, EC_{13}, EC_{14}$	63	18.98	28	25.68
EC_{11}, EC_{12}	22	6.63		
EC_{13}, EC_{14}	53	15.96	19	17.43
EC_{12}, EC_{14}	40	12.05	10	9.17

型有亲本“二九南 A”的 EC_1 、 EC_2 型,占 6.63%; IR24 的 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 型占 18.98%; 杂种型的有 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 和 EC_4 , 占 25.00%; EC_1 、 EC_2 和 EC_3 占 19.87%; EC_1 、 EC_4 占 1.51%; EC_3 和 EC_4 占 15.96%; EC_2 和 EC_4 占 12.05% (表 3)。“汕优 2 号” F_2 代分离类型有亲本“IR24”的 EC_2 、 EC_3 和 EC_4 型,占 25.68%。“珍汕 97A”的 EC_1 、 EC_2 和 EC_3 型占 24.77%。杂种型的有 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 和 EC_4 , 占 22.93%, EC_3 和 EC_4 型的占 17.43%, EC_2 和 EC_1 型的占 9.17% (表 3)。“南花 5 号”、“南花 11 号”的酶谱型(包括阳极和阴极)在“南优 2 号” F_2 代分离中出现的频率为 4.5%;“汕二 39”、“汕二 59”的酶谱型在“汕优 2 号” F_2 代分离中出现的频率为 3.3%, 表明它们都是杂种后代的分离产物。

讨 论

水稻的酯酶和过氧化物酶同工酶的遗传规律已有报道^[1,5,9]。易琼华^[2]等进一步研究了杂交水稻的酯酶同工酶互补带与杂种优势的关系。Cupta^[7]认为酯酶同工酶与水稻籽粒的重量有关。

杂交水稻“南优 2 号”和“汕优 2 号”阳极的 EA_2 、 EA_3 酶带是亲本“二九南 A”、“珍汕 97A”的 EA_2 和“IR 24”的 EA_3 互补酶带。在它们的自交后代中 (F_2), 这些酶带符合 1:2:1 的分离比例。阴极酯酶同工酶有四条酶带 (EC_1 、 EC_2 、 EC_3 和 EC_4), 它们受四个基因位点控制^[7]。在 F_2 分离后代中, 它们的重组类型可能有 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_2 、 EC_3 ; EC_1 、 EC_2 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_2 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_2 ; EC_3 、 EC_4 ; EC_2 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_3 ; EC_2 、 EC_3 等, 在“南优 2 号”的后代中, 因用的单粒种子不多, 所因实际得到的重组类型只有“二九南 A”的 EC_1 、 EC_2 和“IR24”的 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_2 、 EC_3 ; EC_1 、 EC_2 、 EC_4 ; EC_3 、 EC_4 ; EC_2 、 EC_4 等。“南花 5 号”、“南花 11 号”阳极酯酶同工酶带为 EA_1 、 EA_2 、 EA_4 、 EA_5 , 阴极酶带为 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 , 这样的酶谱型在分离代中出现的频率为 4.5%。在“汕优 2 号”后代中, 实际得到的重组类型有“珍汕 97A”的 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 和“IR24”的 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_2 、 EC_3 、 EC_4 ; EC_1 、 EC_2 ; EC_3 、 EC_4 ; EC_2 、 EC_4 等。“汕二 39”、“汕二 59”阳极酯酶酶带为 EA_1 、 EA_2 、 EA_4 、 EA_5 (“汕二 59”无 EA_2 有 EA_3), 阴极酶带为 EC_1 、 EC_2 、 EC_3 , 它在分离代中出现的频率为 3.3%。这表明“南花 5 号”、“南花 11 号”、“汕二 39”、“汕二 59”是由于杂交重组并经选育获得的后代。

因此, 从杂交水稻的优良组合中, 经系统选育或花药培养并结合理化因子处理对选育优良品系有实际价值。

参 考 文 献

- [1] 吴晓煜, 1982: 花培加激光辐照培育“南花 11 号”品种的报告。安徽农业科学, (2): 24—26。
- [2] 易琼华、师素云、姜新若, 1984: 水稻三系及其杂种 F_1 的酯酶同工酶比较及杂种优势预测。植物学报, 26: 506—512。
- [3] 陈先觉, 1982: 杂交水稻系统选育研究报告。种子, (4): 22—31。
- [4] 张维强、唐秀芝, 1981: 同工酶在辐射育种研究中的应用。原子能农业应用, (4): 60—64。
- [5] 黄炳权、陆士伟, 1983: 水稻酯酶同工酶 Est_3 位点的遗传。遗传学报, 10: 459—464。
- [6] 莽克强、徐乃正、方荣祥, 1975: 聚丙烯酰胺凝胶电泳。科学出版社

- [7] Gupta, V. K. and S. P. Singh, 1977: Biochemical basis of hybrid vigour the genetics of grain weight of *Oryza Sativa*. *Theor. Appl. Genet.*, **49**: 259—264.
- [8] Endo, T. 1981: Differential regulation of peroxidase isozymes coded by Px-1 locus in rice. *Jpn. J. Genet.* **56**: 175—183.
- [9] Pai, C., T. Endo and H. I. Oka, 1973: Genic analysis for peroxidase isozymes and their organ specificity in *Oryza perennise* and *O. Sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **15**: 843—853.
- [10] Smith, I., 1976: *Chromatographic and Electroitic Techniques*. William Heinemann Medical Books Ltd. London, 185—193.

STUDIES ON THE ESTERASE ISOZYMES IN THE NEW LINES OF PROGENY OF THE F₁ HYBRID RICE

Zhang Wei-jiang and Tang Xiu-zhi

(Institute for Application of Atomic Energy, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing)

Abstract

The new lines Nanhua 5, Nanhua 11, Shanyou 39, and Shanyou 59, are high-yield lines derived from the F₁ hybrid rice, Nanyou 2 and Shanyou 2 by means of tissue culture and selection. Five isozymes, esterase, peroxidase, ATP-ase, malate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase from the new lines, the F₁ hybrid rices and their parents, were analyzed by starch and polyacrylamid gel electrophoresis. There are no difference in zymogrames of ATPase, malate dehydrogenase, glutamate dehydrogenase, between the F₁ hybrid and its parents. But the F₁ hybrid rice contains complemental bands of anodal esterase EA₂, EA₃ and cathodal esterase EC₁, EC₂, EC₃, EC₄. The esterase zymogram of seeds of Nanhua 5, Nanhua 11 and Shanyou 39, Shanyou 59 could be observed in the progeny of the F₂ hybrid rice. The results indicated that the new lines would be possibly derived from the progeny of the F₁ hybrid by means of tissue culture and selection.

Key words Hybrid rice; New lines of progeny; Esterase isozymes