

玉米花粉超低温长期保存后过氧化物酶同工酶的表现

张志城 石思信 肖建平

(中国农业科学院作物品种资源所,北京 100081)

摘要 玉米自交系黄早 4 和郑 1142 的花粉在超低温(-196℃)保存一年后,花粉的过氧化物酶同工酶谱没有变化,保持原自交系花粉酶谱的特征。冷冻花粉产生的第一代种子的过氧化物酶同工酶谱同原自交系种子的酶谱一致也没有差异,保持了原自交系特征。

关键词 玉米 花粉保存 过氧化物酶同工酶 酶谱

经过超低温长期保存后玉米花粉及其后代是否保持原品种特征,遗传上有无变化,是值得研究的。本试验用超低温保存一年的玉米自交系黄早 4 和郑 1142 的花粉及冷冻花粉产生的后代种子为材料,研究其过氧化物酶同工酶的表现,作为评估玉米花粉超低温长期保存后,是否保持其原品种特征的指标之一。

1 材料和方法

1.1 冷冻花粉及其后代种子的来源

1992 年 7 月 10 日收集新鲜的玉米自交系黄早 4 和郑 1142 的花粉,经预处理,保存于液态氮(-196℃)中,1993 年 7 月 19 日将花粉从液态氮中取出解冻^[1]。解冻后的花粉分两份,一份作聚丙烯酰胺电泳,分析过氧化物酶同工酶,另一份田间授粉,母本分别为原自交系黄早 4 和郑 1142,7 月获得冷冻花粉产生的种子。

1994 年将郑 1142 冷冻花粉产生的种子播种田间,单粒播种,每小区 9 行,每行 16 粒,3 个重复。定期观察记载田间农艺性状,8 月获得冷冻花粉的第一代种子,并分析种子的过氧化物酶,原自交系郑 1142 种子为对照。

1.2 过氧化物酶同工酶的测定

采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳。电极缓冲液为 Tris—甘氨酸, pH8.3, 分离胶浓度为 10%, 未作浓缩胶, 联苯胺染色。

2 试验结果

2.1 保存后的玉米花粉和后代种子的过氧化物酶同工酶

玉米自交系黄早 4 和郑 1142 的花粉过氧化物酶同工酶谱有差异(图 1, 酶带 1~5 为黄早 4 花粉, 6~10 为郑 1142 花粉), 代表自交系各自的特征。两种花粉在液态氮和冰箱保存不同时间后, 各自的酶谱类型基本没有变化, 没有酶带数目的增减, 其差异仅在酶带颜色深浅不同, 表示不同温度保存后, 酶活性的差异。两个自交系的新鲜花粉酶带(1 和 6)颜色相对较浅, 酶活尚未启动, 较弱。经液态氮保存一年的花粉的酶带(3 和 7)同冰箱保存 1~3 天的酶带(4.5 和 8.9)相比, 颜色差异不明显, 说明超低温保存一年的花粉酶活同冰箱保存 1~3 天的酶活相近。经低温(0℃和 -196℃)保存后的花粉酶带颜色均比新鲜花粉酶带色深, 这同以往的试验一致^{[1][2]}。因为过氧化物酶是植物体内的一种保护性酶, 在逆境(低温)条件下活性提高。

1994年收获的玉米自交系郑1142的冷冻花粉第一代种子(图2,2)同原自交系郑1142

种子(图2,1)的过氧化物酶同工酶谱基本一致,保持原自交系特征。

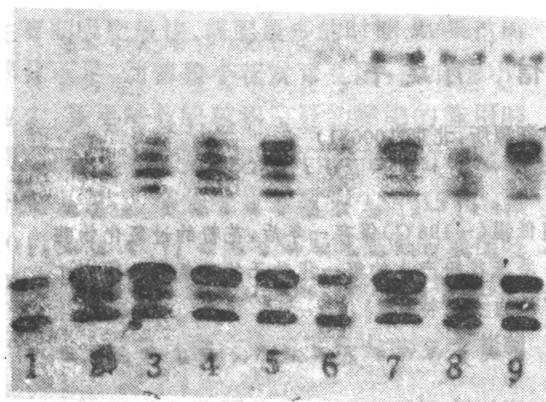


图1. 玉米自交系黄早4和郑1142的花粉超低温(-196°C)保存一年后的过氧化物酶同工酶

1—5 黄早4

1. 新鲜花粉

2. 液态氮保存7天

3. 液态氮保存1年

4. 0℃保存1天

5. 0℃保存3天

6—9 郑1142

6. 新鲜花粉

7. 液态氮保存1年

8. 0℃保存1天

9. 0℃保存3天

1. CK. 郑1142

2. 冷冻花粉的第一代种子



图2 玉米自交系郑1142冷冻花粉产生的种子的过氧化物酶同工酶谱

2.2 冷冻花粉后代植株的农艺性状

玉米自交系郑1142的花粉在超低温(-196°C)保存一年后,田间授粉于原自交系郑1142,获得种子,再播种于大田,其植株农艺性状如幼苗色、叶缘色、叶中脉、花药色、花丝色、果穗和籽粒特征等同对照即未经保存的原自交系郑1142相比,没有发现差异,保持原自交系特征(表1,2)。

上述结果说明,玉米自交系郑1142的花粉在超低温保存一年后,花粉的过氧化物酶同工酶以及冷冻花粉后代种子的过氧化物酶

同工酶同对照相比没有变化,这同后代植株的农艺性状调查结果一致,均保持原自交系特征。

同工酶是生物体内催化同类生化反应而分子结构不同的酶蛋白,其产生受一个或多个基因位点和等位基因的控制。因此同工酶组成和结构的差异,来自基因的差异。目前利用同工酶分析作物起源,分类和品种鉴定。我们在研究黑麦花粉超低温长期保存后的活力同过氧化物酶同工酶的关系时,得到的结果同本试验基本一致^[3]。因此利用过氧化物酶

表 1

玉米自交系郑 1142 冷冻花粉后代植株的农艺性状

样 品	苗 期 性 状				后 期 性 状			
	苗 色	叶缘色	叶中脉	叶 鞘	株高(cm)	花丝色	花药色	雄 髯
对照 郑 1142	深绿	紫色	紫	紫	155.9	红	黄	绿
冷冻花粉后代	深绿	紫色	紫	紫	158.3	红	黄	绿

表 2

玉米自交系郑 1142 冷冻花粉后代果穗性状

样 品	穗 形	穗行数	穗粒数	穗长(cm)	穗轴色	颖粉层	粒 色	粒 形
对照 郑 1142	筒形	12—14	252.1	13.6	白	白	白	马齿
冷冻花粉后代	筒形	12—14	241.2	13.5	白	白	白	马齿

同工酶,同时结合其它指标,作为鉴别花粉长期冷冻保存后的活力和遗传稳定性是可行的。

参 考 文 献

[1]石思信等,玉米花粉超低温(-196℃)保存一年后的结

实能力,《作物学报》,1989,15(3):278

[2]石思信,黑麦花粉超低温保存及过氧化物酶同工酶变化,《作物品种资源》,1992,3:33

[3]CaBHH N. M. (董任瑞译),过氧化物酶是植物的逆境蛋白,《农业科技译丛》,1990,Nov 19 No. 2 39—45