

湖北大麦品种酯酶同工酶酶谱 与地区分布关系的研究*

丁毅¹ 冯伟国¹ 丁晓民¹ 袁文静¹ 李水莲²

(1 武汉大学生命科学学院 武汉 430072) (2 湖北省农业科学院粮食作物研究所 武汉 430064)

提要 对产于湖北的 105 份大麦品种,采用聚丙烯酰胺凝胶电泳 进行了酯酶同工酶酶谱分析,共得到 8 种酶谱类型。8 种酶谱聚为 4 类。其中具酶谱类型 I、Ⅱ、Ⅲ 和 VII 的品种约占供试材料的 94%,构成湖北大麦酯酶同工酶酶谱的主要类型。对这些品种来源地的分析表明,具有相同或相近酶谱的品种分布在一些相对集中的地区,这些地区的气候条件较相似。对湖北大麦酯酶同工酶酶谱类型与地区分布和气温条件的关系,以及酯酶在大麦引种育种生产实践中的应用进行了讨论。

关键词 大麦品种, 酯酶同工酶, 地区分布

酯酶同工酶遗传上稳定,酶谱类型丰富,作为遗传标记可以看作是基因和性状的联结物,用以识别基因的存在与表达,是一个可靠的遗传标记。由于其技术简单、灵敏、直观、快速,因而广泛地用于作物品种资源研究以及遗传与进化等理论和应用的研究中^[1~4]。丁毅等对我国野生大麦和栽培大麦的酯酶同工酶的研究表明,地理来源相同或相近的不同亚种或不同变种,酯酶同工酶酶谱一般表现出相同或相近^[5]。孙立军等对我国大麦酯酶同工酶的地理分布研究也表明,具有相同或相近带型的品种分布与大麦生态区划和基因传播关系密切^[6]。这些研究都在一定程度上说明酯酶同工酶与地理环境密切相关。

大麦在湖北全省各地长期都有栽培,并且由于气候、地理环境的差异,形成了具有地方特色的品种资源,已有 134 份湖北地方大麦品种资源被汇编进《中国大麦品种资源目录》中^[7]。但是,长期以来湖北省对大麦主要限于形态性状的研究和田间育种工作,缺乏系统进行的分子标记研究工作。为此,我们以酯酶同工酶作为标记,对湖北大麦品种进行了酯酶 同工酶与地区分布关系的研究,以搞清湖北大麦不同品种的酶谱类型,探讨它们与我省地理环境的分布关系,以便能为我省大麦遗传资源的利用、遗传育种和生产实践提供有价值的参考。

* 收稿日:1997-02-17,修回日:1997-04-10。第一作者:男,40岁,副教授(博士),现从事细胞及分子遗传学研究。

* 湖北省自然科学基金资助项目。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料共 105 份, 均为编入《中国大麦品种资源目录》的湖北省大麦品种 (*Hordeum vulgare L.*), 由湖北省农业科学院大麦组提供。

1.2 方法

1.2.1 酯酶同工酶方法

样品制备及酯酶同工酶分析参照丁毅等的方法^[3]。取大麦分蘖期第三叶, 按 1 mL/g 的比例加蒸馏水, 冰浴中研磨成匀浆, 离心, 取上清液, 加等体积 10% (V/V) 甘油, 冰箱保存备用。采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 凝胶缓冲系统为 Tirs-柠檬酸系统 (pH8.9), 分离胶浓度 10%, 浓缩胶浓度 3%, 电极缓冲液为 Tirs-Gly 系统 (pH8.7), 电泳时每孔加样 50 μL, 每个样品重复 2 次, 稳压。电泳完毕, 取下凝胶, 流水冲洗片刻, 置于染色液 [0.1 g 醋酸 α-萘酯溶于 10 mL 丙酮, 加入 100 mL 0.1 mol · L⁻¹ pH6.4 磷酸缓冲液, 然后加入 0.1 g 坚牢蓝 (RR 盐) 搅拌至完全溶解] 中, 25℃ 染色 15~20 min, 流水漂洗后观察结果并照相记录。

1.2.2 R_f 值和相同系数的计算及聚类方法

$$R_f = L/l \quad (L \text{ 代表酶带移动的距离}, l \text{ 代表溴酚蓝移动的距离})$$

$$\text{相似度指数} = \frac{\text{两相比较类型所相同的酶带数}}{\text{两相比较类型所有的酶带总数}} \times 100$$

利用相似度指数进行聚类, 聚类分析采用 UPGMA 法^[3]。

2 结果和分析

2.1 大麦品种酯酶同工酶酶谱分析

经电泳分析 105 份湖北大麦品种的酯酶同工酶酶谱, 可以归为 8 种酶谱类型, 见图 1。将所有类型的酶谱排在一起, 从负极至正极按顺序总共可以数出 15 条酶带, 其相应的 R_f 值见表 1。与以往我们所报道的大麦酯酶同工酶酶谱相似, 供试材料的酶谱也可分为 3 个基本酶带区, 慢带区 (带 1 至带 7) 多数为宽带, 染色深; 中间带 (带 8 至带 13) 稍窄, 染色较浅; 快带区 (带 14 至带 15), 带窄, 带 15 染色深。其中着色深的酶带 3 ($R_f = 0.29$)、酶带 5

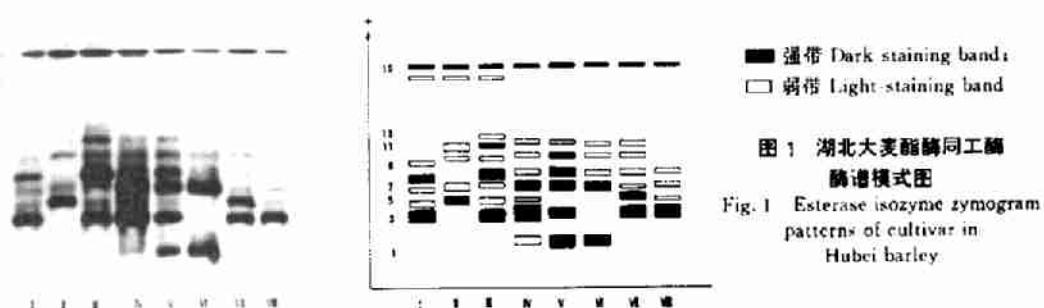


表 1 105 份湖北大麦酯酶同工酶酶带的 R_f 值Table 1 R_f value of enzyme-band for esterase isozymes of 105 cultivars in Hubei barley

带号 Code of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
R_f 值 R_f value	0.18	0.23	0.29	0.33	0.36	0.40	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.58	0.63	0.92	0.95

($R_f = 0.36$)、酶带 15 ($R_f = 0.95$) 出现在包含大麦品种数目较多的酶谱类型中。8 种酶谱中, 酶谱类型 I、II、III 和 VII 这 4 种酶谱类型占供试品种数的 94% (见表 2), 构成湖北大麦酯酶同工酶酶谱的主要类型。105 份材料构成 8 种酶谱类型, 同时也说明了湖北大麦品种酯酶同工酶酶谱类型是较丰富的, 而这是与地理环境相联系的。

2.2 酶谱类型与地区分布及酶谱聚类

对 8 种酶谱类型及其相应

的品种来源进行归纳整理, 得到表 2。从表 2 可知, 具酶谱类型 I 的品种有 16 个, 占供试材料的 15.09%, 主要分布在鄂中和鄂东丘陵岗地地区, 包括京山、当阳、襄阳、南漳、黄梅、新洲、鄂城、石首等地, 少数分布在鄂东南低山丘陵地带, 如鄂城、黄梅等地。具酶谱类型 II 的品种有 15 个, 占供试材料的 14.15%, 主要分布在鄂东南、鄂西南地区, 包括武昌、黄梅、阳新、恩施、当阳等地, 仅有 2 个品种例外, 1 个在罗田, 1 个在大悟。具酶谱类型 III 的品种有 29 个, 占供试材料的 27.36%, 主要分布在鄂西北包括竹溪、兴山、南漳, 鄂西南包括恩施、宜都、五峰和鄂东南包括孝感、黄梅等地。具酶谱类型 VII 的品种有 38 个, 占供试材料的 35.84%, 主要分布在除了鄂西以外的广大地区, 其中有鄂中(京山、远安、当阳、襄阳、随州、枣阳)和鄂东(浠水、鄂城、黄梅、阳新)丘陵岗地和江汉平原的广大地区(包括江陵、天门、钟祥、宜都、武昌等地)。而酶谱类型 IV、V、VI 和 VII 总共仅有 7 个品种, 只占供试材料的 6%, 为恩施、枣阳、兴山和黄冈少数地区的特有材料。

对湖北大麦酯酶同工酶酶谱的相似度(表 3)进行聚类, 得到酶谱聚类图(图 2)。从图 2 和表 3 可知, 若以相似度 0.6 为标准时, 可将 8 种酶谱类型聚成三大类。酶谱类型 I 和 VII 聚为一类, 类型 II 单独为一类, 类型 III、VI 和 IV、V、VI 同聚为一类。若以相似度 0.7 为标准时, 可聚为四类。其中类型 III 和类型 VI 聚为一类, IV、V 和 VI 聚为新的一类, 类型 I 和 VII 仍为一类, 类型 II 也为一类。从以上可以看出酶谱类型相同或相近的大麦品种在湖北集中在某些地方, 地理来源相近的不同品种, 酶谱类型相近时, 更趋聚为一类。

表 2 105 份湖北大麦品种所具酯酶同工酶酶谱类型及品种来源地

Table 2 Esterase isozyme zymogram patterns and origin of 105 cultivars in Hubei barley

酶谱类型 Zymogram pattern	品种个数 No. of cultivar	比例(%) Percentage	品种来源地 Origin of cultivar
I	16	15.09	京山、当阳、襄阳、宜都、南漳、黄梅、新洲、鄂城、石首
II	15	14.15	恩施、当阳、武昌、黄梅、阳新、孝感、罗田、大悟、钟祥
III	29	27.36	竹溪、兴山、南漳、恩施、宜都、五峰、孝感、黄梅、襄阳、武昌、钟祥
IV	1	0.01	恩施
V	1	0.01	枣阳
VI	2	0.02	江陵、兴山
VII	3	0.03	黄冈、武昌
VII	38	35.84	京山、远安、当阳、襄阳、随州、枣阳、宜都、阳新、江陵、天门、钟祥、黄石、武昌、浠水、鄂城等

表 3 湖北大麦酯酶同工酶 8 种酶谱的相似度指数

Table 3 The similarity index of 8 patterns of esterase isozyme zymogram from Hubei barley

酶谱类型 Zymogram	酶谱类型 Zymogram pattern							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I	100	18.2	40.0	33.3	33.3	25.0	62.5	71.4
II		100	40.0	50.0	37.5	50.0	57.1	37.5
III			100	77.7	66.6	50.0	75.0	55.5
IV				100	87.5	75.0	66.6	50.0
V					100	85.7	75.0	50.0
VI						100	62.5	37.5
VII							100	71.4
VIII								100

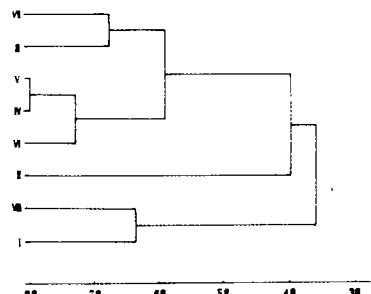


图 2 8 种酯酶同工酶酶谱相似度
指数聚类图

Fig. 2 The tree of cluster derived from the similarity index of 8 patterns of esterase isozyme zymogram

3 讨论

3.1 大麦酯酶同工酶酶谱类型与地区分布和温度条件的关系

以上,我们对湖北大麦品种酯酶同工酶酶谱类型与地区分布的结果分析中,可以看到酶谱类型相同的品种大都集中在某些地区;但当从地理位置看时,它们的分布又是不连续的。相同酶谱类型的少数组品种扩散分布在不同的地区,主要酶谱类型 I、II、III 和 VIII 都存在这种情况,地区跨度很大。比如类型 II 分布在鄂东南至鄂西南一线。具酶谱类型 III 的品种主要分布在鄂西北的竹溪、兴山,鄂西南的恩施、宜都、五峰和鄂东的孝感等地。具酶谱类型 VIII 的品种数最多,则分布更加广阔。那么到底每一酶谱类型中的各个品种所在的地区之间有没有什么关系呢?从地形地貌上看,湖北省地势西高东低,西、北、东三面环山,山区地形复杂,垂直差异明显^[10]。由于海拔高度、纬度和当地农民长期栽培农家品种的习惯不同,可能会是造成酯酶同工酶酶谱类型不同的一个重要因素。但是当我们查阅大麦生育期内各地的气候条件,发现除地形地貌条件外,从冬季各地的平均气温图中可以找到一些更合理的解释,即与各地地形地貌相联系的生态条件中的重要因子——气温密切相关。以湖北省 1 月份气温分布图为例(图 3)^[10],南北温差较大。鄂西南河谷盆地和鄂东南为省内两个温暖中心。冬季寒潮南侵时,鄂西南河谷盆地、三峡谷地、鄂西北江汉谷地、鄂东南都由于大山脉阻挡,其气温比同纬度地区相对高一些。从图 3 的等温线的分布可以看到,鄂东南和鄂西南的气温比较一致,这是酶谱类型 II 品种分布的主要区域。而酶谱类型 I 和酶谱类型 VIII 聚为一类,其地理分布和气候条件也是最为接近的。具酶谱类型 III 的品种地区分布跨度很大,但它们的气温条件是相近的。可见,相同酶谱类型的品种来源地无论是相对集中还是分散,这些地区的气候条件是相似的。

但是,酶谱类型在同一地区的交错重叠分布现象也是存在的。例如恩施地区,既有酶谱类型 I 的品种,也有酶谱类型 II 的品种;黄梅地区分别有酶谱类型 I、II、III 3 种类型的品种。说明交错分布是很正常的现象,可能由于同一地区各局部的小气候也存在不同程度的差异,也说明湖北大麦品种有较好的地区适应性。同时启发我们既要重视大的生态条

件,也要注意局部的小气候。

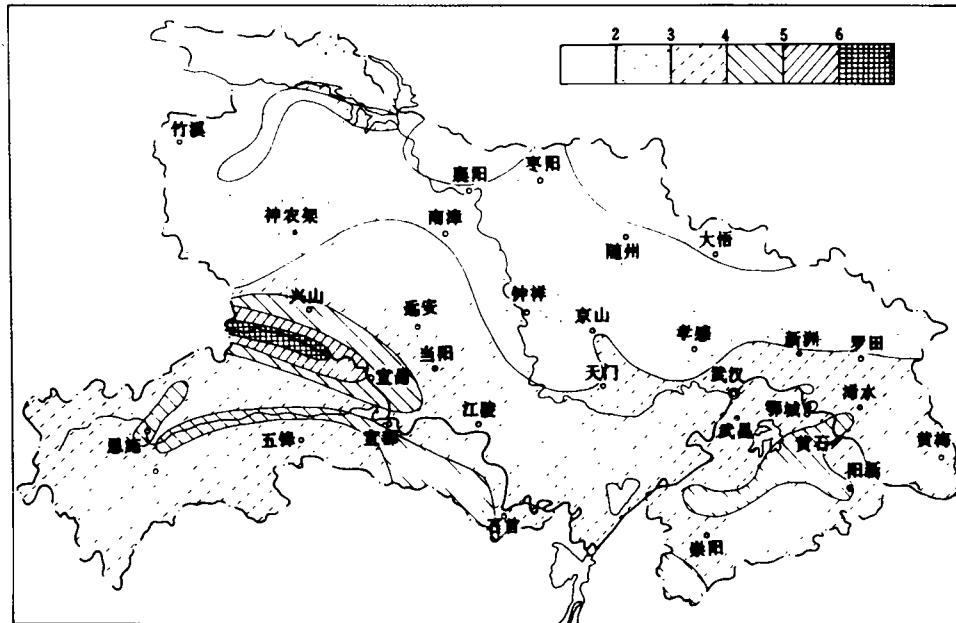


图3 湖北省1月份气温(℃)分布图^[10]

Fig. 3 Distribution of air temperature (°C) in January in Hubei

3.2 酶谱在大麦引种育种等生产实践中的应用

在对湖北大麦品种的酶谱类型分析中,我们可以看到具酶谱类型I、II、III和VII的品种是湖北省广为栽培的农家品种,占94%。因此,在大麦的引种和育种生产中,我们应该利用等纬等温原则,同时也应考虑其酶谱类型。在同一酶谱类型中的不同品种,可能更适合于在该酶谱所分布的不同地区栽培。而在不同酶谱类型的品种间进行杂交配组,更有利于产生杂种优势。我们曾对中国野生大麦与栽培大麦的杂交配组研究已证明过这一点。特别是对具酶谱类型IV、V、VI和VII等少数几个地区的特有品种,它们是否存在一些独特品质或抗性特征,而可被我们加以利用,是值得我们进一步研究的问题。

致谢 武汉大学生命科学学院植物系植物分类教研室陈宝莲工程师为本文绘图。

参 考 文 献

- 中国作物学会大麦专业委员会主编.中国大麦文集,第2集.北京:中国农业科技出版社,1989.215~223
- Kahler A L, Allard R W. Worldwide patterns of genetic variation among four esteras loci in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet*, 1981, **59**: 101~111
- 陈家宽,杨继主编.植物进化生物学.武汉:武汉大学出版社,1994.153~208
- Dai X K, Zhang Q F. Genetic diversity of six isozyme loci in cultivated barley of Tibet. *Theor Appl Genet*, 1989, **78**: 281~286
- 丁毅,宋远淳.大麦酯酶同工酶酶谱的聚类分析与遗传研究.武汉大学学报(自然科学版),1995,**41**(6):729~734
- 孙立军,高吉寅,关建平.中国大麦酯酶同工酶的多样性及其地理分布研究.作物品种资源,1995,**2**:1~5

- 7 浙江省农业科学院,青海省农林科学院主编.中国大麦品种资源目录,上册(国内品种).西宁:青海人民出版社,1986. 189~197
- 8 丁毅,游俊,徐乃瑜等.普通小麦(*Triticum aestivum L.*)不同品种酯酶同工酶酶谱分析的初步研究.武汉植物学研究,1983,1(1):21~26
- 9 钟扬,陈家宽,黄德世编著.数量分类的方法与程序.武汉:武汉大学出版社,1990. 53~65
- 10 唐文雅.湖北自然地理.武汉:湖北人民出版社,1980. 24~47

STUDY ON RELATION BETWEEN THE ESTERASE ISOZYME ZYMOGRAM AND DISTRICT DISTRIBUTION OF CULTIVARS IN HUBEI BARLEY

Ding Yi¹ Feng Weiguo¹ Ding Xiaoming¹ Yuan Wenjing¹ Li Shuilian²

(1 College of Life Sciences, Wuhan University Wuhan 430072)

(2 Food Crop Research Institute, Hubei Academy of Agricultural Science Wuhan 430064)

Abstract Esterase isozyme zymogram of 105 cultivars in barley (*Hordeum vulgare L.*), which originated in the Hubei area, were studied with polyacrylamide gel electrophoresis. The results showed that there were eight esterase isozyme zymogram patterns, and they can be clustered four types according to the similarity index of the eight patterns, in which of them the zymogram pattern I, II, III and VII nearly possessed 94% in the total cultivars, and those composed the main patterns of esterase isozyme zymogram in Hubei barley. By analysis of the origin of the cultivars, the contribution of cultivars that were identical or relatively close in the zymogram were comparatively concentrated in the some district of the Hubei Province, the condition was resemble in the air temperature of this different district. The relation among esterase isozyme zymogram and district distribution of cultivars and air temperature condition, and application of esterase isozyme in barley breeding were discussed.

Key words Cultivars in barley, Esterase isozyme, District distribution