

# 不同纬度地区大豆短日照处理对 过氧化物酶同工酶的影响

李云荫 王桂霞 郭继红

(河北师范大学生物系)

大豆短日照处理后,可以提前开花。来源于不同纬度地区的大豆在石家庄种植,对短日照反应不同,低纬度地区种反应敏感,高纬度地区种反应迟钝。对外界日照的这些反应必然引起其内部生理过程的变化。植物过氧化物酶同工酶以其广泛的存在和特殊的生物学意义,引起日益深入的研究。不少作者指出:过氧化物酶同工酶是较好的遗传信息表达标志,并认为过氧化物酶活力和同工酶的变化可能与一些高等植物的发育变化关系密切。本文拟以来源于不同纬度地区的大豆为材料,观察其经短日照处理后过氧化物酶同工酶谱及其活性的变化。

## 材 料 和 方 法

来源于不同纬度地区的大豆共九个当地种。如表1:

表1 试验材料原产地及品种名称

编 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
地 点	江 苏 南 京		河 北 石 家 庄		山 西 山 阴 县	吉 林 公 主 岭		黑 龙 江 哈 尔 滨	
纬 度	32°N		38°N		39.5°N	43.5°N		45.5°N	
材料名称	南 农 4-1	苏 协 1 号	无 极 大 黄 豆	张 家 口 小 黄 豆	山 西 大 巩 豆	吉 林 九 农 9 号	吉 林 19 号	黑 龙 江 3 号	黑 龙 江 凤 山 豆

试验在河北师大生物园地进行。3月18日播种,4月1日出苗。从4月17日起进行短日照处理,至5月15日结束,共进行28天。即在植株达3片真叶时进行短日照处理。处理方法:用黑塑料布遮盖,下午5点盖上,次日早7点揭开,使材料接受10小时光照,14小时黑暗。以自然日照为对照。石家庄四月中旬后日照已超过13小时为长日照。

酶的提取:取植株顶部第一或第二片叶子1克,在冰箱中迅速冷冻30分钟,然后加入8ml样品提取液(pH6.7 Tris缓冲液,每毫升加0.4克蔗糖)。研磨过滤。以上操

作均在冰浴中进行。在 10,000 转/分离心 20 分钟后取上清液。

凝胶电泳及染色<sup>[1]</sup>: 采用聚丙烯酰胺圆盘凝胶电泳。分离胶浓度为 7%, pH8.9; 浓缩胶浓度为 2.5%, pH6.7。电泳缓冲液 Tris-甘氨酸系统, pH8.3。电泳在冰箱中进行 (4°C 左右)。电流 2—3mA/管, 每管加样品液 50 $\mu$ l, 以溴酚兰作为前沿指示剂。用联苯胺显色, 7% 乙醇中保存。

过氧化物酶活性测定<sup>[9]</sup>: 取 1ml 酶液 (原酶提取液稀释 10 倍), 加入 3ml 反应混合液 ([0.2M 磷酸缓冲液 (pH6.0) 50ml, 过氧化氢 0.028 ml, 愈伤木酶 0.01ml]), 立即在 721 型分光光度计上, 在波长 470nm 下, 测 2 分钟的光密度值。单位为  $\Delta O \cdot D / \text{mg}$  蛋白/小时。

蛋白质含量的测定: 按李琳、焦新之方法进行<sup>[2]</sup>。标准液用牛血清蛋白。

## 结 果

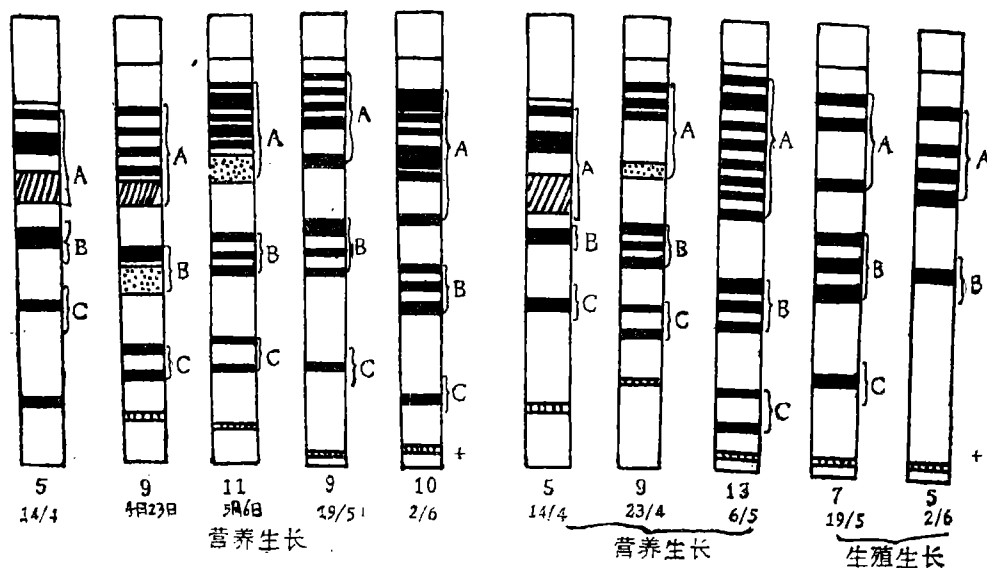
### 一、短日照处理和自然日照条件下过氧化物酶同工酶谱的变化

原产于不同纬度地区的大豆, 无论是经短日照处理还是在自然日照下, 其顶叶匀浆后的酶提取液, 经凝胶电泳后的过氧化物酶谱显示有规律的变化。二者由营养生长向生殖生长转化过程中, 酶谱数目由少到多, 到开花时达到高峰, 开花后又开始下降, 到子粒生长旺盛又开始增多。表现出少 $\rightarrow$ 多 $\rightarrow$ 少 $\rightarrow$ 多的规律。由于自然日照 (处在长日照下) 发育晚, 至试验结束时, 尚未出现第二次增多。

现以 2 号 (原产南京的苏协 1 号) 与 9 号 (原产哈尔滨的风山豆) 为例说明其酶谱变化 (图 1)。

2 号 (南京) 自然日照

2 号 (南京) 短日照



黑龙江凤山豆

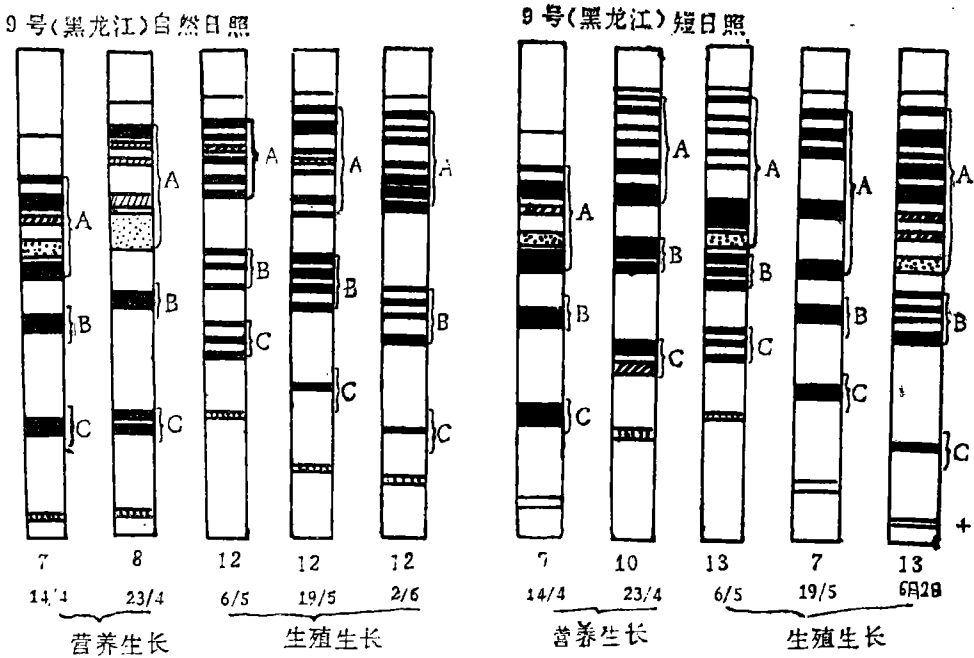


图1 不同发育时期大豆过氧化物同工酶酶谱

短日照处理的植株，处理前酶谱带较少（4月14日为处理前），苏协1号为5条，黑龙江凤山豆为7条。处理后（4月23日为处理后），苏协1号增至9条，黑龙江凤山豆增至10条。随着植株的生长，酶谱带数逐渐增多。到5月6日苏协1号快开花，凤出豆刚刚开花时，酶谱带达到最多，都为13条。5月19日花凋谢，酶谱带逐渐减少。

表2 不同处理的大豆过氧化物酶同工酶的酶带条数

处 理 日 期	酶 带 条 数	自 然 日 照									短 日 照								
		一	二	三	四	五	六	七	八	九	一	二	三	四	五	六	七	八	九
4月14日(处理前)			5	6	6	6				7		5	6	6	6				7
4月23日		7	9	9	7	8	10	8	8	8	9	9	9	7	13	10	9	9	10
5月6日		11	11	12	11	12	12	14	13	12	11	13	12	11	13	13	14	14	13
5月19日		10	9	10	10	11	13	11	12	12	7	7	7	5	8	8	9	6	7
6月2日		9	10	11	10	10	10	11	11	12	5	5	8	6	13	12	13	12	13

随着结荚的开始，酶谱带又增多了（如 6 月 2 日凤山豆）。

联苯胺染色结果，不同处理的过氧化物酶谱带都可将其分为三组：包括迁移率快的 C 组、迁移率慢的 A 组和迁移率中等的 B 组。由图 1 看到：苏协 1 号和黑龙江凤山豆的过氧化物酶谱带中变化最大的是迁移率快的 C 组。当植株由营养生长向生殖生长转化时，迁移率快的 C 组，由一条明显的带变为两条。其它处理（酶谱图从略）包括自然日照下的各组在开花时 C 组三条酶谱带的出现是必需的。

各个时期来源于不同纬度地区的九个品种大豆在自然日照和短日照各处理下的酶谱带数目变化综合如表 2。

从表 2 看到：不同纬度地区大豆同工酶谱带的数目不同。来源于低纬度地区的品种，同工酶谱带数目少。来源于高纬度地区的品种，同工酶谱带数目多。酶谱带的变化中，主要是 A 组和 B 组随着纬度增高逐渐变多。C 组变化不大。在发育早期，不同纬度地区大豆同工酶谱带数相差不大，到生育后期，它们的差异就比较明显了。

二、短日照处理和自然日照条件下过氧化物酶活性的变化

来源于不同纬度地区的大豆顶叶，经过提取离心后的上清液样品对愈伤木酚反应的过氧化物酶活性测定结果表明：大豆由营养生长转向生殖生长时，酶活性增加。无论是短日照还是自然日照，都是随着发育过程，酶活性增加。到结荚时，活性又下降。综合如表 3 及图 2。

表 3 大豆不同发育时期过氧化物酶活性（单位ΔOD/毫克蛋白/小时）

处 理 日 期 酶 活 性	自 然 日 照								
	一	二	三	四	五	六	七	八	九
4 月 23 日	3.75	3.76							
5 月 6 日	8.37	14.74	9.73	8.05	20.00	15.44	18.98	22.55	13.97
5 月 19 日	36.00	27.60	33.30	22.44	36.99	166.40	76.71	27.12	33.00
6 月 2 日	1.85	3.70	5.99	2.03	1.61	2.16	2.93	4.67	2.58

处 理 日 期 酶 活 性	短 日 照								
	一	二	三	四	五	六	七	八	九
4 月 23 日	0.876	4.67	4.80	16.67	1.46	2.93	2.46		11.51
5 月 6 日	4.12	1.74	20.59	2.91	1.894	8.12	4.97	4.99	3.88
5 月 19 日	134.46	29.66	54.50	29.26	11.76	48.00	31.00	36.60	26.27
6 月 2 日	1.227	3.13	6.30	2.22	2.12	4.54	22.50	2.18	5.25

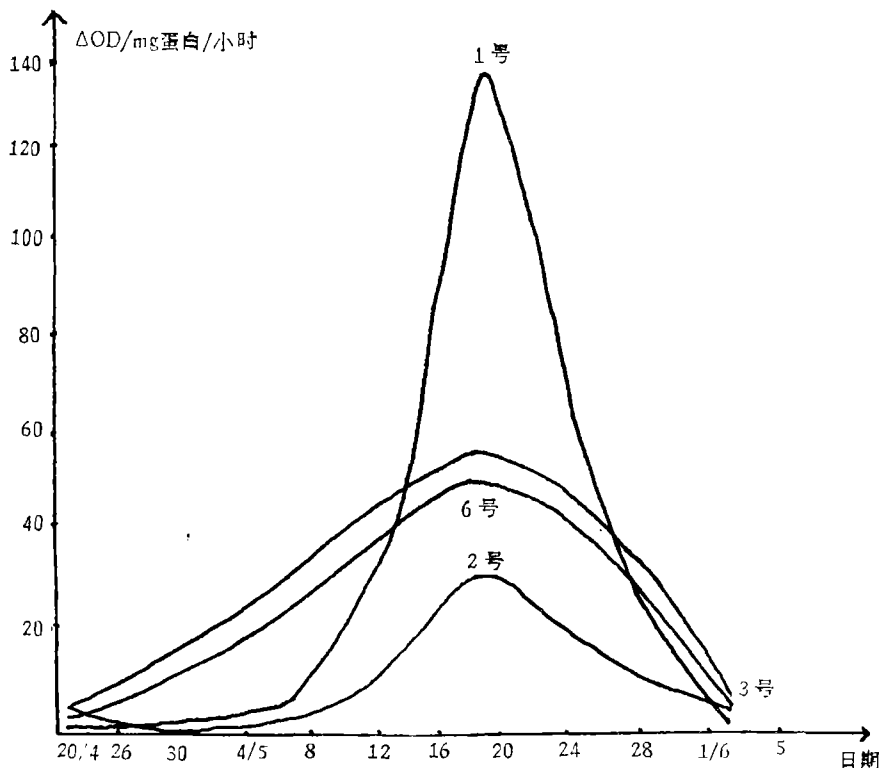


图2 短日照处理后不同发育期大豆过氧化物同工酶活性的变化

## 讨 论

一、短日照植物大豆经短日照处理后,发育期提前,表现在分子水平上即在过氧化物酶同工酶谱带的变化上较自然日照的进程快。来源于高纬度地区的品种,即使在长日照下开花也较早。来源于低纬度地区的品种开花晚。表现在过氧化物酶同工酶谱带的变化上前者进程快,后者进程慢。

丁宝莲等报道<sup>[3]</sup>:细胞发育不同阶段,过氧化物酶同工酶谱有变化,换言之,有的同工酶产生了,有的同工酶消失了。本试验的结果中也看到同工酶谱带发生有规律的变化,这说明随同外形变化也发生了内部分子水平的变化。

二、大豆由营养生长转化为生殖生长过程中,过氧化物酶同工酶谱带由少变多,到开花时(或接近开花时)达到最高峰,等到花落后酶带又减少的生物学意义。根据 Schannon 报导<sup>[11]</sup>认为同工酶的存在似乎是与植物体内的生物化学反应过程的多样性、可变性及其对环境变化的适应性有关。因此本试验看到的同工酶谱带的增多,意味着当时代谢强度增高,这与细胞生长、分化是相适应的。

三、刘鸿先等报导<sup>[4]</sup>:过氧化物酶同工酶区带的数目及其相对活性的改变似乎与植物的抗冷力有关。不论在常温或低温下,抗冷性强的品种均比抗冷性弱的品种一般多出1—6条区带。本试验也看到高纬度地区的大豆比低纬度地区的大豆酶谱区带多,这可能是植物对寒冷地区适应的结果。

四、过氧化物酶活性在大豆的个体发育中表现出低→高→低的变化规律。但并未看

到它与酶谱带的变化有密切的相关性。杨肇驯<sup>[5]</sup>等在“冬小麦春化期间过氧化物酶的变化”一文中提到: 没有看到酶活性和酶谱带的变化有什么相关性。与本试验结果相似。

同工酶是基因表达的直接产物, 因而利用同工酶的分析较能直接地判断基因的存在及其表现规律。但同工酶的变化与开花的外部表现的相关性, 何为原因, 何为结果尚需进一步研究。

### 参 考 文 献

1. 吴少伯: 1979, 植物组织中蛋白质及同工酶的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳。植物生理学通讯(1): 30—33。
2. 李琳、焦新之: 1980, 应用蛋白染色剂考马斯兰 G-250 测定蛋白质的方法。植物生理学通讯, 1980(6): 52—55。
3. 丁宝莲、沈曾佑、张志良、颜季原: 1982, 烟草叶肉细胞壁过氧化物酶同工酶的研究。植物生理学报, 8(2): 127—133。
4. 刘鸿先、曾韶西、李平、郭俊彦: 1981, 零上低温对不同抗冷力的亚热带植物过氧化物酶与酯酶同工酶的影响。植物生理学报, 7(4): 337—343。
5. 杨肇驯、王文宏、谭克辉: 1981, 冬小麦幼苗春化期间过氧化物酶的变化。植物生理学报, 7(4): 311—315。
6. 曹宗巽、梅慧生、杨中汉、朱广廉、钟海文: 1980, 赤霉素和乙烯利对菠菜性别表现的控制及其与同工酶的关系。植物生理学报, 6(2): 149—156。
7. 唐锡华、潘国桢: 1981, 高等植物胚胎的发育生物学研究。Ⅷ. 稻胚发育过程中过氧化物酶的活性出现位置及其同工酶谱的变化规律。植物生理学报, 9(4): 357—365。
8. 王熊、罗士韦: 1981, 烟草组织培养过程中过氧化物同工酶的变化。植物生理学报: 7(1): 73—82。
9. 华东师范大学生物系植物生理教研室主编: 1980, 植物生理学实验指导: 143—144。
10. Siegel, B. Z, Galston, A. W.: 1967, The isoperoxidases of *Pisum Sativum*. Plant Physiol. 42: 221—226。
11. Schannon, L. M: 1968, Plant isoenzymes. Ann. Rev. Plant Physiol. 19: 187—210。

## THE EFFECT OF SHORT DAY TREATMENT ON THE PEROXIDASE OF SOYBEAN FROM DIFFERENT LATITUDES

Li Yunyin Wang Guixing Gou Jihong

(Department of Biology, Hebei Normal University)

### Abstract

Number of peroxidase isozymes patterns for nine varieties of soybean derived from five different latitudes increase in the process from vegetative growth to reproductive growth, no matter whether they have been treated by short day or long day. Number of peroxidase reaches the top at flowering, then begins to decrease. However, it increase again, at pod filling. The process of transformation in short day treatment is faster than in long day treatment.

The peroxidase activity appears to be such a regular pattern as changing from low-high-low in ontogenetic process. There was no correlation between the peroxidase activity and isozyme pattern bands of soybean was found.

Peroxidase isozyme bands of soybeans from high latitudes are more than that from low latitudes. And this is probably due to the adaptation of soybeans to the chilliness of the cold locality.