

不同玉米品种酯酶同工酶研究

王世华, 高双成, 郭加明, 常会庆, 李友军

(河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003)

摘要: 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对 10 个玉米品种进行酯酶同工酶分析。结果表明, 各品种在酶谱上有丰富的表达, 并呈现很强的特异性, 且在多个位点上出现稳定一致的基本酶带, 供试材料共出现 76 条酶带, 其数量在品种间差异显著, 其中最多出现 10 条, 最少 5 条。其中一部分品种酶带位点相似, 但酶带的染色深浅不同形成了各个品种特有的谱带。在亲缘关系方面通过计算各品种的酶谱联合系数发现, 赣新花糯一号与台湾超甜 38 号的亲缘关系最远, 豫禾 988 和渝彩甜糯一号的亲缘关系较近, 其中洛阳 800、沈单 16 和鲁单 981 之间的亲缘关系最近。

关键词: 玉米; 酯酶同工酶; 迁移率

中图分类号: S513 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)03-0032-04

Study of Esterase Isozymes in Different Maize Species

WANG Shi-hua, GAO Shuang-cheng, GUO Jia-ming,

CHANG Hui-qing, LI You-jun

(Agricultural College, Henan University of Science & Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: Esterase isozymes of different maize varieties were analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis. The results showed rich expression and strong specificity in enzyme spectrums of all the varieties, and there were stable and consistent bands of basic enzymes in many alleles. There were 76 enzyme bands in total for experiment materials. The numbers were significantly different between varieties, 10 for the largest and 5 for the least. Some varieties possessed similar enzyme sites, but there were specific enzyme bands in various types due to different degree of staining. In the relationships, Ganxinhuanuo No. 1 and Taiwanchaotian No. 38 were the farthest, Yuhe 988 and Yucaitiannuo No. 1 were closer, and Luoyang 800, Shendan 16 and Ludan 981 were the nearest based on calculation of zymography combined coefficient.

Key words: Maize; Esterase isozymes; Mobility

同工酶广泛存在于生物界中, 它表现出明显的种属、组织和发育阶段的特异性, 既是生理指标, 又是可靠的遗传标志^[1]。同工酶的差异反映基因的表达差异。同工酶作为一种便捷的分子标记, 在植物的种群、发育及遗传研究中尤其对其亲缘关系的研究有重要意义^[2-3]。本研究通过聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳技术对玉米幼苗进行酯酶同工酶分析, 并采用计算联合系数的方法鉴定 10 个玉米品种的亲缘关系, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 供试材料

以我国选育并审定登记的 10 个玉米品种为供试材料, 其品种材料分别为 Y1: 赣新花糯一号; Y2: 豫禾 988; Y3: 渝彩甜糯 1 号; Y4: 台湾超甜 38 号; Y5: 滑玉 12; Y6: 美糯二号; Y7: 张玉 9 号; Y8: 洛阳 800; Y9: 沈单 16; Y10: 鲁单 981。

1.2 试验方法

1.2.1 酶液制备 取 10 个玉米品种的种子各 20

收稿日期: 2010-09-21

基金项目: 河南科技大学人才科学研究基金(09001321)

作者简介: 王世华(1973-), 女, 山西阳泉人, 讲师, 主要从事植物营养生理研究。E-mail: sshhw111@163.com

粒, 分别播种于砂床, 培养至长出 2 片幼叶, 每品种分别称取幼叶各 0.1 g, 加 0.3 mL 提取液(0.2 mol/L 的 PBS, pH 7.0), 置冰浴中研磨至匀浆, 4℃、10000 r/min 离心 15 min, 取上清液置 -4℃ 冰箱中贮存备用。

1.2.2 制胶并电泳 制胶时所用的分离胶体积分数为 10%(pH 8.9), 浓缩体积分数为 4%(pH 6.8)。电极缓冲液为 Tris-Gly 系统(pH 8.3), 指示剂为溴酚蓝, 点样量为 30 μL, 开始稳压 100~150 V, 当溴酚蓝进入分离胶和浓缩胶交界处时, 电压加大到 200~250 V, 低温电泳需 4 h 左右。

1.2.3 染色 电泳完毕取下凝胶置于染色液中染色 15~20 min, 待酶带清晰可见, 用蒸馏水漂洗后观察结果并照相记录。

1.3 相对迁移率计算

按相对迁移率(Rf)绘制模式图并标定酶带位置。Rf=酶带移动的距离/前沿指示剂(溴酚蓝)移动的距离×100%。

1.4 统计

用坐标纸测出指示剂的迁移距离(X₁)和凝胶中酶带的迁移距离(X₂), 求出 Rf=X₂/X₁, 绘出模式图, 算出联合系数(S)。根据任何 2 个品种同工酶酶谱相似值的估算, 可得出任何 2 个玉米品种之间

的联合系数(S)^[9]。S=(2 个品种之间共有的酶带/2 个品种所具有的酶带数之和)÷共有的酶带数, 联合系数在 0~1, 联合系数愈小, 说明 2 个品种间亲缘关系愈远。

2 结果与分析

2.1 不同玉米品种间酯酶同工酶分析

经电泳分析, 供试的 10 个玉米品种的酯酶同工酶酶谱可以归为若干酶谱类型, 将所有的酶谱排在一起, 总共分离出 76 条酶带, 按其电泳迁移率集中程度由负极向正极可分为 A、B、C 3 个区, 各品种间酯酶同工酶的酶带数为 5~10 条, 迁移率在 0.086~0.524 变化(图 1)。其中, A 区为近阴极端的慢速迁移区, Rf=0.086~0.125, B 区为中速迁移区, Rf=0.260~0.442, C 区为近阳极端的快速迁移区, Rf=0.524。从不同品种间酶带来看, Y6、Y8、Y9 和 Y10 4 个品种各自的酶带数、酶带迁移率均大致相同, 所不同的只是表现在酶带的活性方面。Y2 和 Y3 酶带数、酶带迁移率也大致相同, 不同的是酶带的活性。B 区的差异性最大, 酶带数、酶带迁移率、活性强度的变化最丰富。从图 1 还可以看出, 酶带数最多的是 Y4, 有 10 条酶带, 酶带数最少的是 Y1, 只有 5 条酶带。

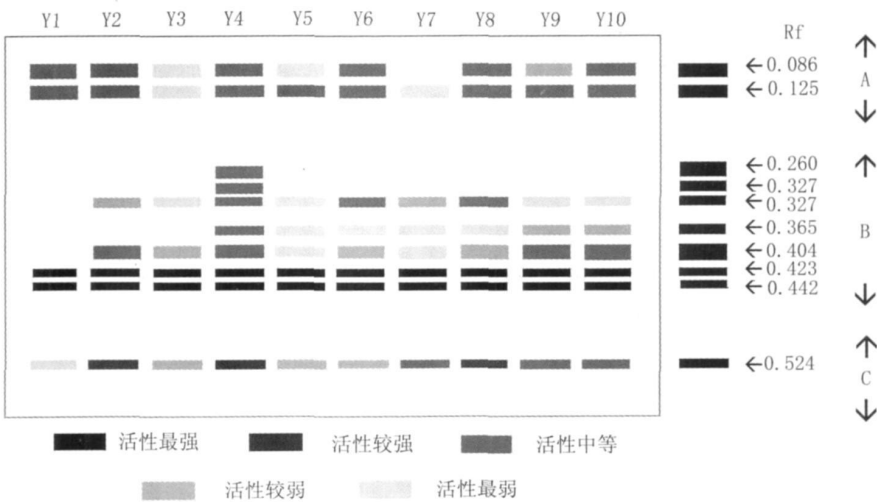


图 1 10 个玉米品种酯酶同工酶模式图

从表 1 可知, 10 个玉米品种在酯酶同工酶酶谱上, 有 4 条稳定一致的酶带, 它像亲缘关系的纽带, 揭示了玉米品种的共同起源。10 个玉米品种间酯酶同工酶酶谱表现出一定的差异性, 主要表现在酶带数、酶带迁移率、酶带的活性强度上。A、B、C 3 个区内都有各自的公共带, 其中 A 区的公共带 Rf=0.125, B 区有 2 条公共带, 迁移率分别为 0.423、

0.442, C 区的公共带迁移率为 0.524。从总体趋势来看, B 区酶活性最强, A 区其次, C 区最弱。

2.2 10 个玉米品种的亲缘关系分析

玉米品种间亲缘关系的分析主要是通过任何 2 个玉米品种间联合系数的比较得出, 联合系数的大小直接反映出亲缘关系的远近。经计算, 10 个玉米品种间酯酶同工酶的联合系数如表 2 所示。

表 1 10 个玉米品种酯酶同工酶相对迁移率

酶带号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10
1	0.086	0.086	0.086	0.086	0.086	0.086		0.086	0.086	0.086
2	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125
3				0.260						
4				0.308						
5		0.327	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327
6				0.365	0.365	0.365	0.365	0.365	0.365	0.365
7		0.404	0.404	0.404	0.404	0.404	0.404	0.404	0.404	0.404
8	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423
9	0.442	0.442	0.442	0.442	0.442	0.442	0.442	0.442	0.442	0.442
10	0.524	0.524	0.524	0.524	0.524	0.524	0.524	0.524	0.524	0.524

表 2 玉米品种间酯酶同工酶联合系数

品种	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10
Y1	0.714	0.714	0.500	0.714	0.625	0.714	0.625	0.625	0.625
Y2		1.000	0.700	0.750	0.875	0.750	0.875	0.875	0.875
Y3			0.700	0.750	0.875	0.750	0.875	0.875	0.875
Y4				0.700	0.800	0.750	0.800	0.800	0.800
Y5					0.875	0.750	0.875	0.875	0.875
Y6						0.875	1.000	1.000	1.000
Y7							0.875	0.875	0.875
Y8								1.000	1.000
Y9									1.000

从表 2 可以看出：(1) Y1 和 Y4 的联合系数最小($S=0.500$)；(2) Y2 和 Y3 之间的联合系数为 1.000, 它们的酶带数均为 7 条, 酶带位置也相同, 只在酶活性有差异；(3) Y6 和 Y8、Y9、Y10 之间, Y8 和 Y9、Y10 之间, Y9 和 Y10 之间的联合系数均为 1.000, 具有的酶带数相同, 都是 8 条, 位置相同, 宽容也相同, 只是颜色深浅稍有差异, 即酶的活性强度稍有不同, 亲缘关系十分相近, 有关这方面还需进一步的研究；(4) 其余几个品种之间亲缘关系的远近可以通过表 2 中联合系数的大小反映出来, 联合系数愈小, 品种间的亲缘关系愈远。

3 结论与讨论

利用酯酶同工酶研究玉米品种的亲缘关系, 不仅可以澄清同种异名的情况, 而且对于玉米的栽培和育种都具有十分重要的现实意义^[7-10]。有些品种之间具有相同或不同的酶带数, 或者相对迁移率之间差异很小, 以及酶带活性的差别很难区分, 可以认为它们既有共同的遗传基础, 而且随着时空的变化又有变异的表现。通过联合系数的比较可以看出,

赣新花糯一号与台湾超甜 38 号的亲缘关系最低, 豫禾 988 与渝彩甜糯一号的亲缘关系较近, 洛阳 800、沈单 16 和鲁单 981 之间具有最近的亲缘关系, 联合系数 $S=1.000$, 且他们的酶带基本一致。

同工酶能较为直接地反映植物间某些基因的异同, 虽然这些基因不能完全代表某个植物物种的遗传背景, 但它能从大分子水平上为研究物种差异提供重要的遗传信息, 是对传统植物学和细胞遗传学研究方法的重要补充。酶谱分析除了反应遗传背景外, 还受生理、人为等因素的干扰, 所以只有将酶谱分析方法与其他方法包括形态学、细胞学等方法结合起来才能更准确地揭示不同品种间的亲缘关系^[11-14]。

参考文献:

[1] 周光宇. 有关同工酶分析的几个问题[J]. 植物生理学通讯, 1983(1): 1-4.
[2] 邹春静, 盛晓峰, 韩文卿, 等. 同工酶分析技术及其在植物研究中的应用[J]. 生态学杂志, 2003, 22(6): 63-69.

(下转第 104 页)

3 小结

本试验从病株率、病薯率、病情指数 3 个方面对供试的 8 种药剂防治甘薯茎线虫病的效果进行评价,以 5%神农丹颗粒剂、10%福气多颗粒剂、22%吡虫。辛硫磷乳油、35%辛硫磷微胶囊悬浮剂和 40%毒死蜱乳油处理的防效最好,均显著或极显著优于其他处理,表明 10%福气多颗粒剂、22%吡虫。辛硫磷乳油、35%辛硫磷微胶囊悬浮剂和 40%毒死蜱乳油可作为 5%神农丹颗粒剂的替代药剂施用。

综合供试药剂对甘薯茎线虫病的防治效果、药剂毒性、施用成本等因素,建议生产上施用 22%吡虫。辛硫磷乳油 9 L/hm² 和 35%辛硫磷微胶囊悬浮剂 15 L/hm² 防治甘薯茎线虫病。

参考文献:

(上接第 34 页)

[3] 魏俊,陈梅香,刘志增,等.玉米 DH 系的表现及其同工酶电泳分析[J].作物杂志,2010(1):81-83.

[4] 丁毅,宋远淳.大麦酯酶同工酶谱的聚类分析与遗传研究[J].武汉大学学报:自然科学版,1995,41(6):729-734.

[5] 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[J].作物品种资源,1995(2):1-5.

[6] 胡书能,万贤国.同工酶技术及应用[M].长沙:湖南科学技术出版社,1985:40-109.

[7] 孙建伟.二氧化硫对玉米细胞过氧化氢酶活性的影响[J].作物学报,2007,33(12):1968-1971.

[8] 文江蓉.玉米种子纯度电泳检测技术的现状和应用[J].种子世界,2008(11):32-33.

[1] 章淑玲.甘薯线虫病害及线虫种类鉴定[D].福州:福建农林科技大学,2005.

[2] 王传仕,吴君,王玉江.甘薯茎线虫病的发生与综合防治[J].现代农业科技,2008(5):96.

[3] 周忠,马代夫.甘薯茎线虫病的研究现状和展望[J].杂粮作物,2003,23(5):288-290.

[4] 金凤柱,海棠,武保悦,等.几种不同农艺措施对土壤甘薯茎线虫种群动态的影响[J].中国生态农业学报,2008,16(4):921-924.

[5] 朱秀珍,田希武,王随保,等.甘薯茎线虫病发病规律及综合防治[J].山西农业科学,2004,32(3):54-57.

[6] 谢逸萍,马代夫,李洪民,等.甘薯茎线虫抗性鉴定方法及评价[J].杂粮作物,1997(2):15-16.

[7] 曹秀敏,张明,李延龙,等.甘薯茎线虫病综合防治措施[J].现代农业科技,2010(10):160-161.

[9] 李继耕,杨太兴,孟潜.同工酶与玉米杂交优势的研究[J].遗传学报,1979,1(3):8-11.

[10] 丁玲,陈发棣,滕年军,等.菊花品种间过氧化物酶、酯酶同工酶的遗传多样性分析[J].中国农业科学,2008,41(4):1142-1150.

[11] 张淑改.松科四种植物的酯酶同工酶分析[J].山西农业大学学报,1998,18(2):108-109.

[12] 黄中文,赵俊杰,常胜合.N⁺离子束注入对玉米幼苗生长及 POD 同工酶的影响[J].河南农业科学,2004(12):11-13.

[13] 赵晓平,荣威恒,王福喜,等.不同枣树品种的同工酶分析[J].河南农业科学,2008(6):85-88.

[14] 张玉梅,蒋家平,陈金节,等.水稻种子酯酶同工酶电泳法操作技巧[J].现代农业科技,2007(9):146-147.

(上接第 98 页)

标本属性:东陵绣球 (*Hydrangea bretschneideri* Dippel),采自北京东陵山 (HMJAU 30022)。
中国已有分布:台湾。

参考文献:

[1] Kirk P M, Cannon P F, David J C, et al. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi[M]. 9th Edition. Wallingford: CAB International, 2001: 1-655.

[2] 刘锡进,郭英兰.中国真菌志假尾孢菌属[M].北京:科学出版社,1998.

[3] 赵彦杰.中国北方设施蔬菜病害调查及其新病害的发

现与研究[D].北京:中国农业科学院,2009.

[4] 纪瑛,肖崇刚.红花酢浆草叶斑病原菌生物学特性研究[J].植物保护,2006,32(5):65-68.

[5] 蔡平,毛建萍,陆小燕,等.金叶女贞假尾孢病害的生物学特性和杀菌剂筛选[J].江苏林业科技,2005,32(2):5-7.

[6] 袁希雷.酢浆草假尾孢菌致病毒素的研究[D].重庆:西南大学,2008.

[7] 刘石.酢浆草假尾孢毒素提取、纯化以及鉴定[D].重庆:西南大学,2010.

[8] 李新.紫茎泽兰叶斑病诊断及其病原菌的主要生物学和病理学特性[D].重庆:西南大学,2008.