

大豆杂种后代过氧化物酶同工酶谱类型 及其与亲本关系的分析

张桂兰* 苗以农 李亚芹 许守民 韩 梅

(东北师范大学生物系)

恽 勤

(中国科学院长春应用化学研究所)

摘 要

采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳方法分析有亲缘关系的37个品种(包括15个品种的亲本来源)萌发6天的大豆子叶POD同工酶谱。结果表明,不同品种POD同工酶谱共显示5~10条酶带,分A、B、C三区。以B区酶带色度深浅及数目变化为分类标准,可分为四种酶型:PB₁型、PB₂型、PB₃型和PB₄型。根据此酶型分析了每一个组合的品种与其两亲本。其中6个品种呈现偏父本酶型,6个品种呈现新酶型,2个品种的酶型与父母相同,1个品种呈现偏母本酶型。同时测定了13个组合的36个品种的POD比活力,结果指出:后代品种POD比活力都低于或介于父母本之间,后代比双亲POD比活力有逐渐降低的趋势。

关键词 大豆;过氧化物酶;子叶;比活力

前 言

过氧化物酶(POD)普遍存在于植物组织中,是遗传信息表达的良好指标^[1]。POD同工酶及其活性的变化与植物的生长、发育和分化有关,可作为探讨植物起源、演化、分类及亲缘关系的生理生化指标^[2,3]。自Schwartz^[8]和Beckman^[9]发现玉米中存在“杂种酶”和“互补

* 现在吉林省中医药研究院工作

本文于1992年5月18日收到。This paper was received on May 18, 1992.

酶”，并阐明杂种优势产生和同工酶的关系以后，国内外学者开始用植物体内同工酶分析杂种优势。现已在水稻、白菜等的杂交组合中观察到杂种酶带^{[4][10]}，在玉米、蕃茄中发现了杂种酶带与杂种优势的关系^[5,6]。本文探讨大豆 POD 同工酶及活性分析，旨在探讨杂交大豆 POD 与杂种优势的关系。

材 料 和 方 法

一、材料：供试的 37 个大豆品种(或品系)分别由吉林省农科院、吉林市农科所、黑龙江农垦科学院及东北师范大学提供。供试材料按亲缘关系划分(见表 1)。

表 1 大豆品种(或品系)及其亲缘
Table 1 Soybean cultivars and their parents

编号 No.	品 种 Cultivar	母 本 Female parent	父 本 Male parent
1	九农 3 号	集体 4 号	丰地黄
2	九农 6 号	早丰 1 号	集体 4 号
3	九农 7 号	集体 5 号	黑铁荚
4	九农 9 号	黄宝株 2-2	荆山朴
5	公交 5601-1	大金黄	集体 1 号
6	早丰 1 号	丰地黄	辉南青皮
7	合丰 25 号	合丰 23 号	克交 4430-20
8	黑农 34 号	黑农 16 号	十胜长叶
9	垦农 1 号	克交 4430-20	黑农 26 号
10	辽豆 3 号	铁丰 18 号	阿姆紫
11	吉林 3 号	金元 1 号	铁荚四粒黄
12	吉林 13 号	吉林 3 号	琿春豆
13	吉林 11 号	小金黄	吉林 3 号
14	吉林 21 号	7622-4	7335-4
15	杜丰 5 号	小金黄	满仓金

二、方法：把大豆种子用自来水洗净，于恒温箱中暗培养 6 天，取去皮的大豆子叶 0.5 克，用 4ml pH8.0 的 0.1M Tris—HCl 溶液冷冻研磨，17,000rpm 冷冻离心 20 分钟，上清液用于 POD 电泳及活性测定。另取自来水浸泡 4~5 小时的大豆种子 0.6 克，提取方法同上，用于 POD 活性测定。

电泳：采用聚丙烯酰胺光聚合垂直板电泳。pH8.3 的 Tris—甘氨酸做电极缓冲液。分离胶浓度为 8.5%，浓缩胶浓度为 3.75%，醋酸联苯胺方法染色。

活性测定：用参考文献[7]的方法，稍加改动，在没加酶液前将反应混合液 30℃保温 3 分钟。

结果 和 分 析

一、POD 同工酶谱分析

分析了 37 个大豆品种萌发 6 天的子叶 POD 同工酶。根据酶带数目,共出现 6 种类型,如图 1 所示

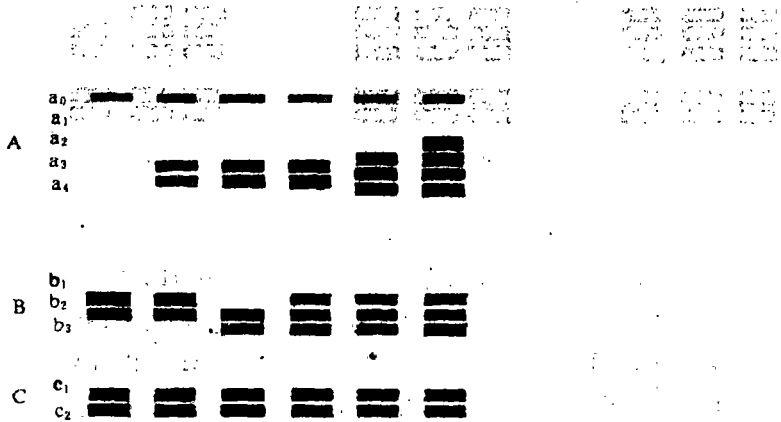
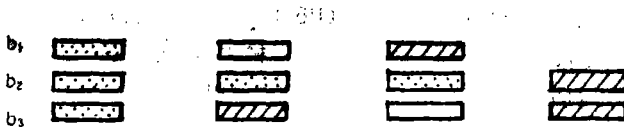


图 1 大豆子叶 POD 同工酶模式图

Fig 1 The sketch map of POD in soybean cotyledons

根据酶带不同的迁移率,分 A、B、C 三区。不同品种 A 区有 1~5 条酶带,品种间无一定规律性;C 区△为 2 条酶带,C₁比 C₂酶带色度深,品种间几乎无差别;B 区多数有 3 条酶带,少数为 2 条酶带。B 区 3 条酶带按染色深浅排列方式的不同,共分三种类型;我们把同一品种 b₁、b₂、b₃ 3 条酶带染色比较一致的称 PB₁ 型;b₁、b₂、b₃ 染色依次加深的称 PB₂ 型;PB₃ 型与 PB₂ 型相反,3 条酶带染色依次变浅。把 B 区只有 2 条酶带、且染色深浅相似的类型称 PB₄ 型,如图 2 所示



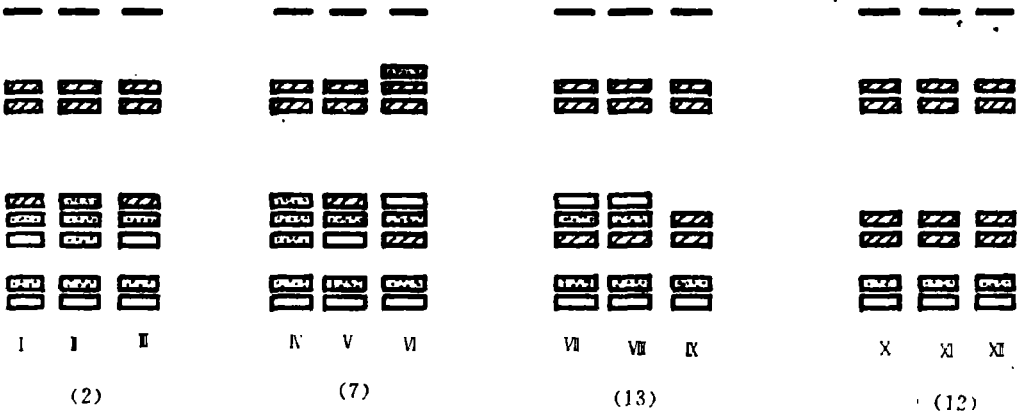
注:1、染色由深至浅为 PB₂ 型

2、由左向右依次为 PB₁ 型、PB₂ 型、PB₃ 型、PB₄ 型

图 2 POD 同工酶 B 区酶型模式图

Fig. 2 The sketch map of POD in B region.

根据 B 区酶型分析 15 个品种与其父母本品种间的关系,见图 3 所示。



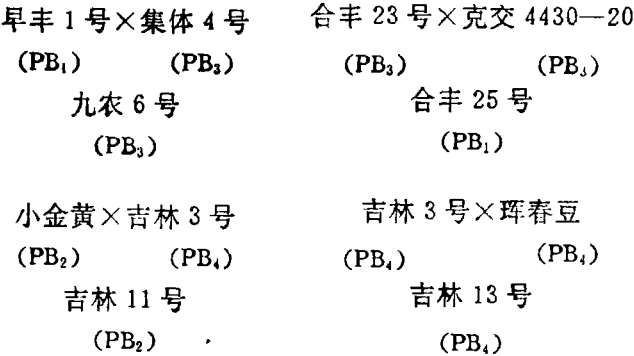
- | | | | |
|----------|---------------|------------|-----------|
| (a)父本型 | (b)新酶型 | (c)母本型 | (d)同父母型 |
| (I)九农6号 | (II)早丰1号 | (III)集体4号 | (IV)合丰25号 |
| (V)合丰23号 | (VI)克交4430—20 | (VII)吉林11号 | (VIII)小金黄 |
| (K)吉林3号 | (X)吉林13号 | (XI)吉林3号 | (XII)珲春豆 |

- a. Parental—male type. b. New chart type of enzyme.
- c. Parental—Female type. d. Chart type as parents.

图3 不同类型POD同工酶模式图

Fig. 3 The sketch map of POD in different chart type

从图3看出,九农6号是PB₃型,与父本品种集体4号相同,与母本品种早丰1号的PB₁型完全不同;出现偏父本现象。合丰25号与父本品种克交4430—20和母本品种合丰23号均不同,出现亲本没有的新酶型。吉林11号与母本品种小金黄都是PB₂型,不同于父本品种吉林3号的PB₄型,出现偏母本现象。吉林13号则与双亲的酶型均相同,出现同父母型。即:



逐一分析15个品种的亲本关系,得到如表2所示的结果。

表 2 品种与亲本 POD 酶谱的关系
Table 2 Parent—offspring relationship of POD

父本型 Parental male type	母本型 Parental female type	新酶型 New chart type of enzyme	同父母型 Chart type as parents
吉林 3 号		合丰 25 号	
吉林 21 号		黑农 34 号	杜丰 5 号
九农 6 号	吉林 11 号	九农 3 号	
九农 9 号		垦农 1 号	吉林 13 号
公交5601—1		早丰 1 号	
辽豆 3 号		九农 7 号	

从以上结果看出：杂交育成品种多数表现为父本型和新酶型，少数表现为母本型和同父母型。李继耕^[5]在研究 POD 同工酶与玉米杂种优势的关系时指出：双亲杂交，杂种同工酶表现为互补型、杂种型及单一亲本型，则一般为高优势杂交组合；而无差别型酶谱，则一般为低优势组合。我们选择的都是推广和即将推广的品种(或品系)，都具有一定的优势。从我们的结果看出，自交作物大豆的优势可能表现为杂交后代 POD 同工酶为父本型和新酶型，其生理生化意义何在，尚需进一步探讨。

二、POD 比活力分析

1、萌发大豆子叶 POD 比活力的动态变化

大豆子叶 POX 比活力随着种子的萌发活性逐渐增大。如图 4 所示

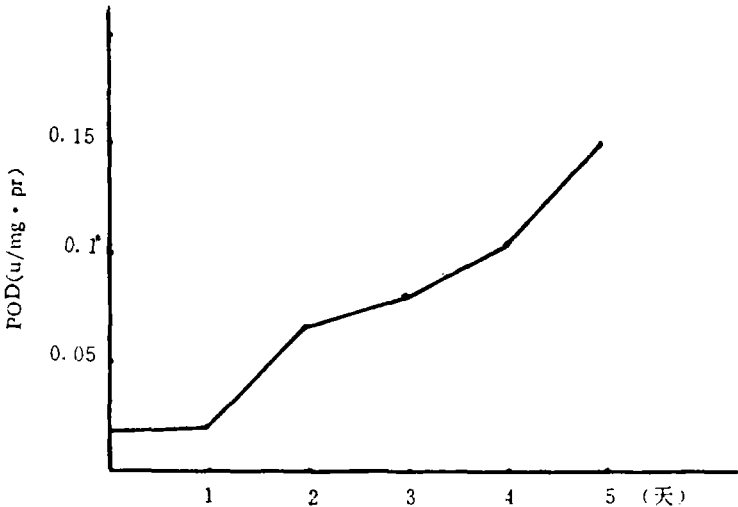


图 4 萌发大豆子叶 POD 比活力动态变化
Fig. 4 POD activity in cotyledon of soybean seedling

第 5 天之后品种间 POD 比活力差异较明显。

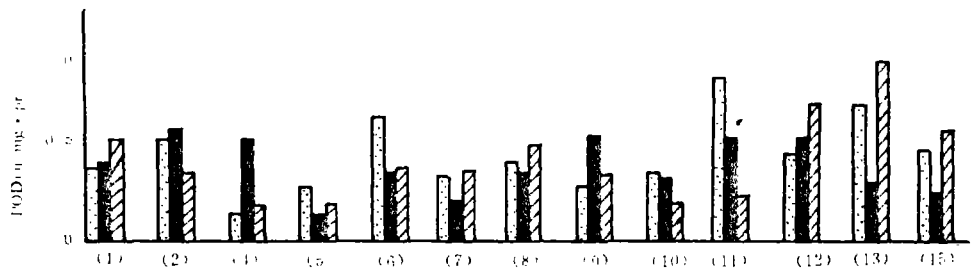
2、吸胀后大豆种子 POD 比活力

供试 36 个品种(品系)浸泡 4—5 小时的大豆种子 POD 比活力,见表 3 所示

表 3 大豆种子 POD 比活力

Table 3 POD activity of soybean seed after water absorption

品 种	POD(U/mg. pr	品 种	POD(U/mg. pr
九农 3 号	0.452	垦农 1 号	0.604
丰地黄	0.930	黑衣 26 号	0.626
集体 4 号	0.510	辽豆 3 号	5.392
九农 6 号	0.835	阿姆素	3.651
早丰 1 号	0.015	铁丰 18 号	6.029
九农 7 号	0.023	吉林 3 号	0.058
集体 5 号	0	铁荚四粒黄	0.068
九农 9 号	0	金元 1 号	0.069
荆山朴	0.395	小金黄	0.018
黄宝珠 2—2	0.015	吉林 13 号	0.029
公交 56021—1	0.248	珲春豆	0
大金黄	0.013	吉林 21 号	0.239
辉南青皮	0.037	7335—4	0.026
合丰 25 号	0.153	7622—4	0.078
克交 4430—20	0.011	吉林 3 号	0
合丰 23 号	0.422	吉林 11 号	0
黑衣 34 号	0.033	黑衣 16 号	0
十胜长叶	0.063	集体 1 号	0.012



注:1 ()内编号与材料中介绍的编号一致
The numbers in brackets are the same as that in table 1
2 杂交后代品种 母本品种 父本品种
offspring female male

图 5 不同品种大豆子叶 POD 比活力比较

Fig 5 Parent—offspring comparison of POD activity

从表 3 看出,品种间 POD 比活力差异很大,高的如铁丰 18 号是 6.029U/mg. pr;低的为 0,如集体 5 号和九农 9 号。此时 POD 比活力并不能体现杂交后代品种与双亲的关系。

3、萌发 6 天的大豆子叶 POD 比活力

36 个品种(品系)萌发 6 天的大豆子叶 POD 比活力见图 5,从图 5 我们看到除九农 6 号、九农 9 号、垦农 1 号 3 个品种外,其余 10 个品种(品系)POD 比活力都低于或介于父母本之间,杂交育成品种 POD 比活力有逐渐降低的趋势。我们在另一篇待发的论文中发现,大豆子叶超氧化物歧化酶后代品种比活力也都低于或介于父母本之间,这可能与育成品种体内氧化水平低,还原水平高,有利于物质的合成和能量的积累及植物的生长发育有关。从而进一步说明后代品种较双亲有一定的优势。

参 考 文 献

- [1] 李云荫、王桂霞等,1984,大豆科学 3(2)
- [2] 李继耕等,1980,遗传学报,3
- [3] 刘正蒙、张建华等,1982,中国植物生理学会第三次全国会议论文摘要汇编
- [4] 李玉湘,1980,园艺学报,7(4)
- [5] 李继耕,1980,作物学报,Vol. 6 No. 4
- [6] 黄永芬、汪清胤等,1983,园艺学报,Vol. 10 . 14
- [7] 《植物生理学实验指导》华东师范大学生物系植物生理教研室主编,高等教育出版社
- [8] Schwartz. D,1962. Genetics 47:1609~1615
- [9] Beckman. I. et al,1964 Genetics 50:899~904
- [10] Ching Pai. I. Eudo and Hiko—Ichi oka 1977. Canadian. J. Genet and Cytol 15:845~853

ANALYSIS OF TYPES AND RELATIONS OF PEROXIDASE IN SOYBEAN VARIETIES AND THEIR CROSSING PARENTS

Zhang Guilan Miao Yinong Li Yapin Xu Shoumin Han Mei

(Dept. of Biology, Northeast Normal University)

Yun Qin

(Changchun Applied Chemistry Institute, Chinese Academy)

Abstract

POD activities and POD bands in soybean seedling cotyledons were examined to study soybean parent — offspring POD relationships. Seeds with water absorption for 4—5 hours were studied POD activities. The results indicated that 5—10 bands of POD in different soybean cultivars were demonstrated. Four enzyme types (PB₁、PB₂、PB₃ and PB₄) in B region were divided by the chromatism and numbers of bands. The enzyme types of six parent groups are as male—parent type, one parent groups as female parent, six parent groups appear new enzyme type, and en-

zyme types of two parent groups like to parents. POD activities in 35 cultivars of 13 parent groups of soybean (*G. max*) are lower than that of parents or middle of parents.

Key words Soybean(*G. max*); POD; Cotyledon; Enzyme activity

外源总 DNA 直接导入大豆的 分子验证研究简报

黑龙江省农科院生物技术研究中心和中国科学院遗传所合作,利用 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)技术对通过花粉管通道技术实现外源总 DNA 导入所获转化后代,进行了分子验证。第一次从 DNA 分子水平上找到了证据。

通过花粉管通道来进行外源总 DNA 的转移,多年来已在棉花、水稻、小麦、大豆等作物上取得了明显效果,获得了一批品种或品系及变异类型丰富的材料,从而使我国农业首先进入了分子育种阶段。由于它的实用性强而被愈来愈多的人所利用和研究。但由于导入的是总 DNA 片段而无法进行分子标记,也就是无法用传统的分子杂交技术来进行分子验证。因此,对转化后代一直未能提出直接的分子证据,而使该技术的利用和发展或多或少受到了限制。

随着分子生物学的飞速发展,检测 DNA 分子水平的多态性技术愈来愈多,继 RFLP、PCR 之后,RAPD 又进入了分子生物学实验室。他们利用该技术对导入总 DNA 所获转化后代进行分析,用 134 个引物对供体(龙 79-4204-10),受体(黑农 26 号),后代(92-495)三个样品同时扩增。结果发现:有 119 个引物扩增产物经电泳均具有相同的带型,表明同属一个属(大豆)的三个样品的亲缘性,因基因组中存在同源序列而使大多数引物的结合位点相同,使扩增产物也相同;有 15 个引物其扩增产物具有多态性,电泳观察,后代与供体具有某条相同带存在,而受体中无此带存在。表明野生大豆与栽培大豆种的差异,其基因组中存在非同源序列,使引物结合位点非同源序列上而使扩增产物具多态性。其中有 3 个引物重复性好,在同时扩增三个种品中,后代与供体的扩增产物各出现 2-4 条不等的相同带,而此带受体中却不存在。说明后代中这条带是由于供体 DNA 片段整合到受体基因组中,并得到表达的结果。

雷勃钧

(黑龙江省农科院生物技术研究中心)