

大豆化学诱变突变体的胚芽过氧化物酶同工酶等电聚焦电泳分析

于秀普 杜连恩 魏玉昌 可福存

(中国科学院石家庄农业现代化研究所, 石家庄 050021)

沈银柱 黄占景 刘植义

(河北师范大学生物系, 石家庄 050016)

提 要

采用等电聚焦电泳方法, 对大豆化学诱变突变体的胚芽过氧化物酶同工酶进行测定分析。结果表明, 突变体与亲本之间以及突变体之间酶带数目、酶活性存在着很大差异, 说明突变体是基因突变产生的, 且基因突变位点不同。

关键词 化学诱变; 过氧化物酶同工酶; 等电聚焦; 大豆

我们利用化学诱变剂处理大豆种子诱发其突变, 通过选择、鉴定, 培育了一批优质、高产的突变系。对部分突变体用等电聚焦电泳分析其过氧化物酶同工酶, 比较它们之间的酶带差异, 为化学诱变育种提供依据。

材料与方法

本试验所用材料为大豆突变体 313-14(G_{1-1})、327-8(G_{2-1})、341-2(G_{3-1})、 D_{213}

* 本研究得到河北省科学技术委员会资助。

本文于 1994 年 1 月 13 日收到。

This paper was received on Jan. 13, 1994.

(D_{1-1})、 D_{216} (D_{2-1})。其中 313-14(G_{1-1})、327-8(G_{2-1})、341-2(3-1)是用 0.4%及 0.6% 甲基磺酸乙酯(EMS)处理冀豆 4 号湿种子获得的突变体; D_{213} (D_{1-1})、 D_{216} (D_{2-1})是用 0.2% 硫酸二乙酯(dES)处理 D_{50} 大豆品种湿种子获得的突变体。连同两个亲本计 7 个材料。

1. 样品制备:每个供试材料取 30 粒种子,分别播种于搪瓷盘内蛭石中,浇水后置于 25-27℃ 培养箱中避光培养。待对生真叶长出时,取其子叶以上(生长点及其对生真叶)部分制样,按每 100mg 样品加 0.3ml 提取液,三羟甲基氨基甲烷-柠檬酸缓冲液(Tris-citric acid buffer pH8.2, 0.01M citric acid 2.1g/l; 0.665M Tris 7.8g/l)冰浴研磨,18000 r.p.m 冰冻离心 20 分钟,取其上清液,在 0℃ 冰箱保存备用。

2. 等电聚焦电泳:采用 LKB 公司提供的 Flat Bed Apparatus FBE3000 进行。凝胶浓度 5%,交联度 3% 参照何忠效等人的方法制胶^[1],胶版厚 0.8mm,采用恒功率 30W,额定电压 500V 电泳 2.5hr。电泳开始后首先聚焦 10 分钟,然后加样各 20 μ l,30 分钟后去加样滤纸,继续电泳到结束。电泳过程中循环水冷却,保持在 10℃ 以下。

电泳结束后,取出胶版,参照沈银柱等人的方法^[2]染色,用 H_2O_2 原液代替 1% H_2O_2 ,在联苯胺溶液(1g 联苯胺,用 9ml 冰醋酸溶解)中加 36ml 蒸馏水,再加 1 滴 H_2O_2 原液,然后拍照。按 Laast. T 等人的方法^[3]测定等电点,进行分析。

结果与讨论

(一)313-14、327-8、341-2 三个突变体及其亲本冀豆 4 号大豆品种, D_{213} 、 D_{216} 两个突变体及其亲本 D_{50} 大豆品种,其胚芽过氧化物酶同工酶(见图 1),它们之间酶谱比较(见表 1)结果表明,供试材料均具有 PI8.85、8.65、8.45、6.85、5.85、4.55、6 条同工酶带,说明这些酶带可能是大豆所共有,反应了它们之间相同的遗传背景。

(二)诱变对过氧化物酶同工酶的影响

自表 1 可看出, G_{1-1} 比 G_{α} 增加了 PI8.10、7.45、6.70、6.50、4.50 五条酶带,减少了 PI3.48 一条酶带; G_{2-1} 比 G_{α} 增加了 PI8.10、7.45、6.70、6.50 四条酶带,减少了 PI3.55、3.50、3.48 三条酶带,而且 PI8.85、8.65、8.45 三条酶带比 G_{α} 着色浅; G_{3-1} 比 G_{α} 增加了 PI7.45、6.70、6.50 三条酶带,减少了 PI3.48 一条酶带,而且 PI8.65、8.45 二条酶带着色浅。 D_{50} 大豆品种的突变后代 D_{2-1} 比 D_{α} 缺少了 PI8.10、7.45、3.50、3.55 四条酶带 D_{1-1} 缺少了 PI8.10、7.45、6.70 三条酶带,而且着色浅。从酶带差异分析,可能是诱变后代某些基因发生了突变,后代之间基因突变位点不同,通过诱变原有基因的表达受到了抑制,一些基因的活性减弱造成的。

(三)同一亲本后代之间一些酶带变化相同(见表 1),如 G_{1-1} 、 G_{2-1} 、 G_{3-1} 比亲本 G_{α} 都增加了 PI7.45、6.70、6.50 三条酶带,减少了 PI3.48 一条酶带;而 D_{1-1} 、 D_{2-1} 都比 D_{α} 减少了 PI8.10、7.45 两条酶带,说明这些酶带的基因对诱变剂比较敏感,容易发生突变或容易被关闭。

(四)田间调查及考种结果与酶带变化相比较看出,冀豆 4 号后代 313-14(G_{1-1})、

327-8(G_{2-1})、341-2(G_{3-1})三个突变体,茎秆粗壮,百粒重比亲本提高 2g 左右,327-8(G_{2-1})籽粒蛋白质含量高达 45.04%比亲本提高 2.51%,313-14(G_{1-1})、314-2(G_{3-1})比亲本早熟两天。而 D_{1-1} 、 D_{2-1} 比亲本分枝多、早熟。说明化学诱变剂不仅诱发了过氧化物酶同工酶的变化,而且发生了有益性状的突变,可见化学诱变是育种的一种好途径。

表 1 突变体及其亲本过氧化物酶同工酶 IEF 电泳图谱比较

Table 1 The comparison of peroxidase isozyme and IEF electrophoretic spectrums between mutants and their parent

等电点 Isoelectric point	G_a	G_{1-1}	G_{2-1}	G_{3-1}	D_a	D_{1-1}	D_{2-1}
3.48	+	○	○	○	○	○	○
3.50	+	+	○	+	+	+	○
3.55	+	+	○	+	+	+	○
4.50	○	+	○	○	○	○	○
4.55	+	+	+	+	++	++	+
5.85	+	+	+	+	++	++	+
6.50	○	+	+	+	++	+	+
6.70	○	+	+	+	+	○	+
6.85	++	++	+	++	++	++	+
7.45	○	+	+	+	+	○	○
8.10	○	+	+	○	+	○	○
8.45	++	++	+	+	++	++	+
8.65	+++	+++	+	++	+++	++	++
8.85	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++

注:1. +、++、+++示着色由浅→深
2. ○示缺少
3. 仅表示有差异部分
 G_a 为冀豆 4 号, G_{1-1} 为 313-14, G_{2-1} 为 327-8
 G_{3-1} 为 341-2 突变体;
 D_a 为 D50 大豆, D_{1-1} 为 D213, D_{2-1} 为 D216 突变体

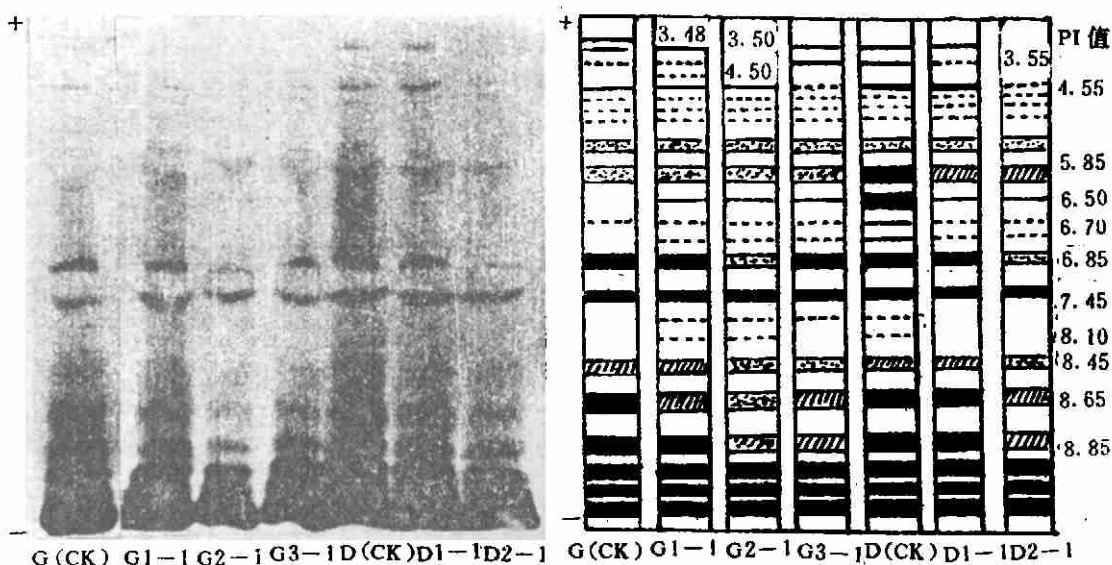


图1 大豆突变体及其亲本胚芽过氧化物同工酶谱

Fig. 1 The spectrums of peroxidase isozyme from embryo buds
of soybean mutant and its parent

参考文献

- [1] 何忠效等, 1985, 等电聚焦, 科学出版社, 70-76
- [2] 沈银柱等, 1981, 遗传(2), 27-30
- [3] Laas, T, Olsson, and L Soderberg, 1980 High Voltage Isoelectric focusing with Pharmalyte, field strength and temperature distribution, Zone sharpening isoelectric spectra, and pI determinations Analytical Biochemistry 101, 449-461

ISOELECTRIC FOCUSING ELECTROPHORETIC ANALYSIS
OF PEROXIDASE ISOZYME FROM EMBRYO OF MUTANTS
BY CHEMICAL MUTAGEN INDUCING IN SOYBEAN

Yu Xiupu Du Lianen Wei Yuchang

(*Shijiazhuang Institute of Agricultural Modernization Academia Sinica, Shijiazhuang 050021*)

Shen Yinzhu Huang Zhanjing Liu Zhiyi

(*Department of Biology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016*)

Abstract

IEF electrophoretic analysis of POD isozyme from embryo of chemical mutagenic mutants indicated that differences between the mutants and their parent or among the different mutants were evident both in isozyme band number and in isozyme activity. This result suggested that mutants are resulted from gene mutation and that mutant sites are different.

Key words Chemical mutation; Peroxidase isozyme; Isoelectric focusing; Soybean

欢迎订阅 1995 年《中国农学通报》

《中国农学通报》是经国家科委正式批准,由中国农学会编辑出版,公开发行的农业科技综合性学术期刊。主要刊登农业各学科新成果研究报告,研究进展;有参考价值的学术探讨及专题综述;具有导向性的农业宏观问题论述;有关种植业、养殖业的农业实用新技术、新方法;农业科技信息、经济信息及新品种等内容。适合各级农业科技人员、农业大中专院校师生、农技推广人员、农业管理干部等参阅。

《中国农学通报》为双月刊,逢双月 25 日出版,国内统一刊号 CN11-1984,16 开本、56 页,每期定价 2.00 元,全年 6 期 12 元,该刊由中国农学会编辑出版部自办征订、发行。订购款从邮局或银行转帐(请勿在信内夹现金)汇至:北京市农展馆南里 11 号 中国农学会编辑出版部(开户银行:北京农行朝阳支行,帐号:8013007104,户头:中国农学会) 邮政编码:100026。