

黑龙江省主要大豆品种 同工酶酶谱分析

卢翠华 何志鸿 宋英淑 薛庆喜
(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

摘 要

利用淀粉凝胶电泳,对黑龙江省主要大豆品种进行硫辛酰胺氧化—还原酶、乌头酸酶、肽链内切酶同工酶分析,结果表明,大豆种子的这三种酶谱带清晰,品种间有一定差异。

关键词 大豆同工酶;酶谱;淀粉凝胶电泳

前 言

大豆中存在着不同的酶,每一种酶都是大豆生长发育所必需的。各栽培大豆品种之间,性状表现各不相同,可能存在着酶系统的差异。

近年来,同工酶的研究在动物、植物、微生物及医学领域里广泛地进行。然而,在高等植物中,对过氧化物酶和酯酶的研究较多,对于硫辛酰胺氧化—还原酶、乌头酸酶、肽链内切酶的研究较少,目前,国内尚未见在大豆上对这几种同工酶利用淀粉凝胶电泳进行研究的报导。

同工酶分析技术主要是用凝胶电泳法进行。通过电泳分离出来的各条谱带,经过染色形成酶谱。酶谱中不同迁移率的内同工酶谱带被看作是由不同基因产生的酶蛋白分子。因而,通常认为,同工酶是基因和性状的联接物。因此,我们对大豆不同品种的内同工酶进行了分析;试图通过电泳技术来鉴别各性状表现不同的栽培大豆品种间酶谱的差异,为大豆遗传育种提供理论依据以及遗传差异的有效鉴别方法。

材 料 和 方 法

以黑龙江省松哈地区主要大豆栽培品种为试材,如黑农 19、黑农 21、黑农 22、黑农 24、黑农 25、黑农 26、黑农 27、黑农 28、黑农 29、黑农 30、黑农 31、黑农 32、黑农 33、黑农 34、哈 79—9440、满仓金、东农 1 号、东农 2 号、东农 4 号。从浸种 24 小时的种子子叶上取

样。采用平板淀粉凝胶电泳法。凝胶用水解过的马铃薯淀粉,以 Tris-柠檬酸为缓冲液来制备。电泳结束后,每个凝胶板切成三片,进行三种酶的染色:硫辛酰胺氧化-还原酶用甲基噻唑盐加二氯靛酚、脱氢辅酶 I、氯化镁染色,缓冲液为 Tris-HCl;鸟头酸酶用甲基噻唑四唑盐、辅酶 II、异柠檬酸脱氢酶、氯化镁染色,缓冲液为 Tris-HCl;肽链内切酶用黑钾盐、BANA、氯化酶染色,缓冲液为 Tris-马来酸。

结果与讨论

1、硫辛酰胺氧化-还原酶(DIA)的凝胶电泳谱带有两种类型。A型有9条谱带,以5-2-2的形式分为3组;B型仅见到1-1型分布的2条谱带。测试的19个品种中有15个为A型谱带,只有黑农21、黑农28、东农1号和东农2号等4个品种为B型谱带(见图1)

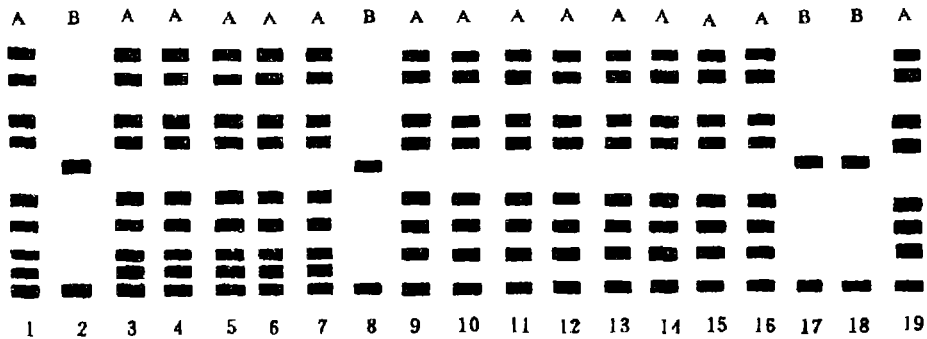


图1 硫辛酰胺氧化-还原酶酶谱

Fig. 1 DIA electrophoretic patterns

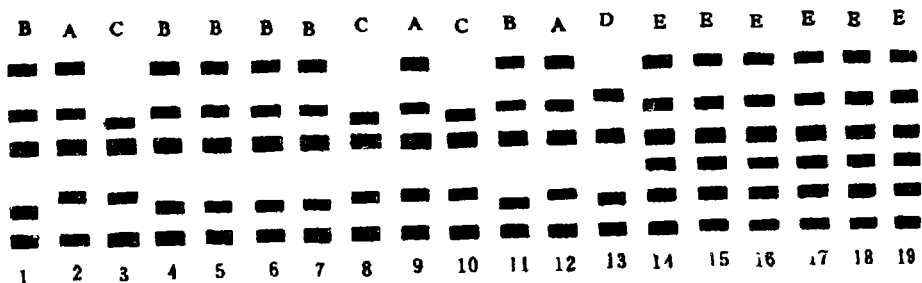


图2 鸟头酸酶酶带

Fig. 2 ACO electrophoretic patterns

2、鸟头酸酶(ACO)的谱带比较复杂,有 5 种类型。A 型和 B 型都有 5 条谱带,但 B 型的第二条谱带与 A 型的第二条谱带移动的距离有差别;C 型和 D 型均较 A 型和 B 型少一条谱带,它们之间也有差别;E 型为 6 条谱带。19 个品种以 B 型和 E 型基因型占的比例大,各为 6 个品种,D 型谱带的基因型最少,仅黑农 33 一个品种为 D 型谱带(见图 2)。

3、肽链内切酶(ENP)的酶谱带少,只有一条谱带,按移动距离可分为 A、B 两种类型,其中 B 型基因型为多数,占供试大豆品种的 63.16%(见图 3)。

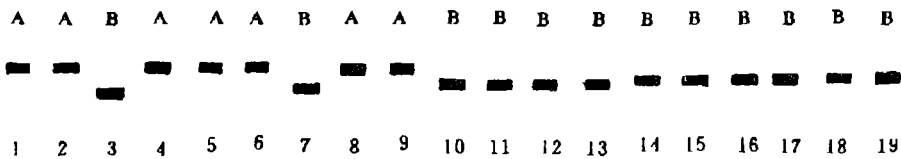


图 3 肽链内切酶酶谱

Fig. 3 ENP electrophoretic patterns

通过表 1 可以看出,不同品种的大豆同工酶综合酶谱具有显著的差异,19 个品种 3 种同工酶综合酶谱几乎各不相同,仅有三组组内各品种综合酶谱完全相同,但一般每一组内仅有二、三个品种。即用这三种酶的综合酶谱分析黑龙江省主要大豆品种的分辨率可达 73.3%。之所以出现综合酶谱完全重合的现象,是由于这些品种大都来源于满仓金或其

表 1 黑龙江省主要大豆品种 DIA、ACO 和 ENP 同工酶酶谱

Table 1 Isozyme electrophoretic patterns of DIA, ACO and ENP for major varieties of Heilongjiang Province

材 料 Variety	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
同 工 酶 Isozyme																			
硫辛酰胺氧化—还原酶 DIA	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
鸟头酸酶 ACO	B	A	C	B	B	B	B	C	A	C	B	A	D	E	E	E	E	E	E
肽链内切酶 ENP	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

后代,遗传基础比较一致,每一种酶的谱带集中于某一种类型,更充分地说明了这一点。如欲提高分辨率,一是增加同工酶种类,另一办法是筛选类似 ACO 这种酶谱种类多、分辨率强的同工酶。

已有报导指出,控制同工酶谱带类型的等位基因存在着显隐性关系,所以,不仅可以用工酶来研究大豆品种遗传背景的差异,而且可以通过这种显隐性关系来确定育种程序中通过人工杂交而得的杂交种子的真伪,有关这方面的研究我们将另文报导。

在淀粉凝胶上显示各种同工酶酶谱,具有快速、简便、取样少、费用低的特点 而且,通过恰当的取样技术,可以不损害受检对象的生活力便能测知基因型差异以及杂种的真伪 这在大豆育种工作中是一项很有用的分子生物学技术。

参 考 文 献

- [1] 庄炳昌等, 1987, “萌发过程中不同进化类型大豆种子贮藏蛋白的电泳分析, 《大豆科学》6(3), 209—211
- [2] J. D. Griffin et al. 1987. Inheritance and Linkage Studies with Five Isozyme Loci in Soybean. *Crop Sci.* 27, 885—892.
- [3] J. Y. H. Doong and Y. T. Kiang. 1987. Cultivar Identification by Isozyme Analysis Soybean Genetic News Letter. Vol 14, 198—226.
- [4] S. D. Tanksley et al. 1983. *Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part A.* Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam.

ISOZYME TYPE ANALYSIS OF SOYBEAN PLANTED
IN HEILONGJIANG PROVINCE

Lu Cuihua He Zhihong Song Yingshu Xue Qingxi

(Soybean Research Institute of Heilongjiang Academy of Agr. Sci.)

Abstracts

DIA, ACO and ENP Isozyme types of some soybean varieties, which were the major ones planted in Heilongjiang Province, were analysed by using Starch Gel Electrophoresis. The results showed that the band patterns of three isozymes were very clear. And the band patterns were significantly different among different varieties. There were two patterns of electrophoretic bands for DIA. One of them was pattern A with 9 bands. Another was pattern B with 5 bands. There were 15 varieties belong to pattern A among 19 varieties tested. There were 5 patterns of electrophoretic bands for ACO. But there was only Heilong 33 belongs to pattern D among tested varieties. There was only one band for ENP, but it could be divided into two patterns based on its removing frequency, pattern A was faster than pattern E.

Most of the major varieties used in soybean production can be separated from each other by isozyme electrophoresis of DIA, ACO and ENP.

Key words Soybean isozyme; Band pattern; Starch gel electrophoresis;