

大豆果实发育过程中荚皮和种子超氧化物歧化酶同工酶的变化

鲍晓明 许守民 刘立威*

(东北师范大学生物系)

提 要

大豆荚皮中具有至少9条SOD同工酶带:Mn-SOD_{a₁}、_{a₂}; Cu-Zn-SOD_{b₁}、_{b₂}、_{b₃}; Cu-Zn-SOD_{c₁}、_{c₂}、_{c₃}及与溴酚兰前沿混在一起的一条酶带。在果实发育过程中荚皮各酶带没有发育先后顺序的差异,只是酶带强弱的程度稍有变化。种子也至少有9条酶带,但_{c₃}与溴酚兰前沿混在一起。发育过程中各同工酶出现的顺序有差异,最先出现的是_{a₁}带,最后出现的是_{c₃}带。果实发育各期荚皮SOD的各条同工酶带均比种子中相应的酶带活性强。实验表明:电泳方法的改进将会分离出更多的SOD同工酶带。

关键词 发育;大豆;种子;荚皮;超氧化物歧化酶

超氧化物歧化酶(SOD)与控制脂质过氧化,清除超氧自由基对膜系统的伤害有密切关系,近年来引起人们的广泛重视与研究。已有结果表明SOD与作物的抗逆性有关^[5~6],不同进化类型大豆上的研究也表明存在着差异,并且随种子萌发时间而变化^[2]。与萌发过程大致相反的种子发育标志着新一代植物雏形的建成,这其中进行着种子自身的各种代谢活动,又有荚皮和种子之间代谢上的相互联系,外界环境也会影响这些代谢活动的进行。因此,了解果实发育中SOD同工酶的变化,对于认识各同工酶的发育进程和荚皮及种子间的差异,丰富大豆SOD同工酶的知识有着重要意义。

材 料 和 方 法

供试材料为栽培大豆(*G. max*)哈罗索于田间种植,从开花后16天起每隔4~7天取

* 沈阳军区干部子弟中学化学组。

本文于1990年12月24日收到。 This paper was received on Dec. 24, 1990.

样,样品立即放入-20℃冰柜保存备用。

SOD 酶液的提取:分别取各发育时期的大豆荚皮和种子,加入其鲜重 10 倍的提取液(Tris-HCl 缓冲液(pH8.0))冰浴下研磨,匀浆于 15,000rpm 4℃下离心 20 分钟,上清液既为 SOD 粗酶提取液。

SOD 同工酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳按 Beauchamp 等(1971)的方法进行。分离胶浓度为 8.0%,浓缩胶浓度为 3.75%。电泳条件为 15mA(两板)4℃下 10~12 小时,酶的活性染色按罗广华(1984)的方法进行。酶液的蛋白含量按 Bradford 法^[4]测定。各期材料的电泳上样量按相同蛋白含量操作。

结果与讨论

一、荚皮和种子 SOD 的基本谱型

大豆荚皮的 SOD 同工酶至少有 9 条酶带,其中 Mn-SOD 有两条: a_1 和 a_2 ;Cu-Zn-SOD 有 6 条: b_1 、 b_2 和 b_3 及 Cu-Zn-SOD c_1 、 c_2 和 c_3 ,另外还有一条与 溴酚兰前沿混在一起的酶带。这种谱型前人未曾报道过(见图 2)。

种子 SOD 也至少有 9 条酶带: a_1 、 a_2 、 b_1 、 b_2 、 b_3 、 c_1 、 c_2 、 c_3 及紧接着 b_3 前面的一条弱酶带(见图 1)。荚皮的 a_1 和 a_2 在发育后期的荚皮中区分不明显,但种子 a_1 和 a_2 区分明显,而且 c_3 酶带的迁移率与荚皮的 c_3 酶带不同(见图 1)。

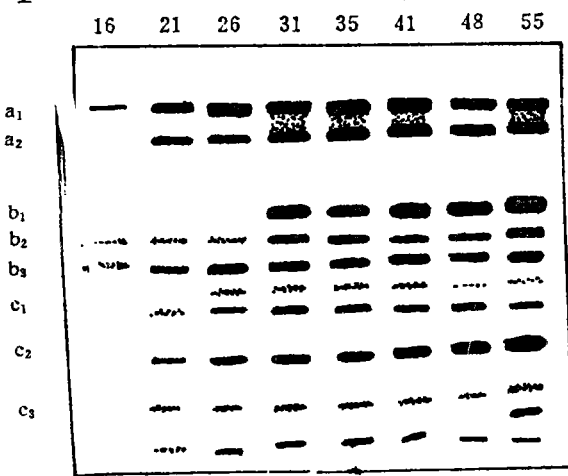


图 1 不同发育时期种子 SOD 同工酶谱带的变化

Fig. 1 The changes of SOD isozymic bands in the seeds at different development stages

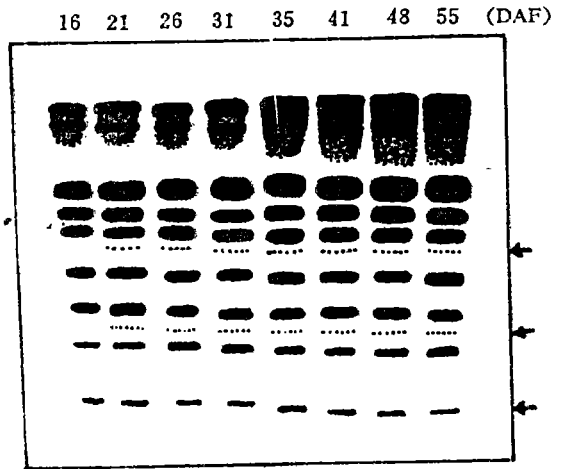


图 2 不同发育时期荚皮 SOD 同工酶谱带的变化

Fig. 2 The changes of SOD isozymic bands the pod at different development stages

二、果实发育中荚皮和种子 SOD 同工酶的变化

从开花后 16 天开始,荚皮的 SOD 各同工酶均已发育完全—呈典型的模式酶带类型,只是各同工酶谱带稍有逐渐增强的趋势。其中 a_1 、 a_2 两条酶带在开花后 16~31 天的荚皮中稍可鉴别,以后就成为一条弥散带(图 2)。

种子 SOD 各同工酶在发育进程上有差异。其中 a_1 出现最早,开花后 21 天出现了 c_2 、 b_3 、 a_2 和 b_2 ;26 天时出现了 c_1 及 b_3 前边的一条弱带;31 天 b_1 带突然以较强的活性出现;36 天时 c_3 带出现;以后各带的强弱不再发生变化(图 1)。

从上述结果还可看出,从酶带的强弱对比上看,荚皮的酶带均比种子的酶带强,这可能与荚皮直接与外界环境接触,所受到的逆境刺激机会和强度均比种子多而强,因而被引发的 SOD 活性相应增强有关。种子中各同工酶均有一个逐渐在种子中积累的过程,各同工酶积累的起点和速度也有差异,这间接反映了控制各同工酶的基因表达顺序和活性的差异。

另外,由于实验条件不同,大豆的 SOD 同工酶谱带也不是一成不变的,还可能分离出更多的酶带。如荚皮的 b_3c_1 之间, c_1 和 c_3 之间及 c_2 和 c_3 之间就隐约可见各有一条较弱的酶带。是否是真正的新酶带,有待于调整实验系统进一步验证。

参 考 文 献

- [1] 罗广华、王爱国,1983,植物生理学通讯,6:44~45
- [2] 庄炳昌等,1988,大豆科学,7(3):241~244
- [3] Beauchamp, C. and J. Fridovich, 1971, Anal. Biochem., 44, 276~287
- [4] Bradford, M. M.; 1976, And. Biol. Chem., 72, 248~254
- [5] Dhindsa, R. S. and W. Matowe, 1981, J. Exp. Bot., 32, 79~91
- [6] Kalir, A. and A. Poljakff-Mayber, 1981, Ann. Bot., 47, 75~85
- [7] Lee, E. H. and J. H. Bennett, 1982, Plant Physiol., 69, 1444~1449
- [8] Rabinowich, H. D., Sklan. D., 1980, Planta, 148:162~167
- [9] Tanaka, K and K. Sugahara, 1980, Plant and Cell Physiol., 21, 601~611

THE CHANGES OF SOD ISOZYMES IN THE PODS AND SEEDS OF SOYBEAN DURING FRUIT DEVELOPMENT

Bao Xiaoming Xu Shoumin Liu Liwei

(Biology Department of Northeast Normal University)

Abstract

At least SOD 9 (Superoxide Dismutase) isozymic bands were found in soybean pod: Mn—SOD a_1 , a_2 , a_3 ; Cu—Zn—SOD b_1 , b_2 , b_3 Cu—Zn—SOD c_1 , c_2 , c_3 ; and a band mixed with the forward position of bromophend blue. During fruit development, no difference were found on developmental sequence among different isozymes in pods and only a little changes in the band strength was detected. The SOD in seeds also had at least 9 isozymic bands, but the c_3 band mix-

ied with the front line of bromophenol blue. The isozymes in seeds showed an obvious differences in developmental sequence; the first appeared band in PAGE was a_1 and the last one was c_3 . Each isozymic band activity in the pod at each developmental stage was stronger than that in the seed at the corresponding stage during fruit development, respectively. This experiment suggested that the improvement in isozyme separating technique would result in more SOD isozymic bands appeared in PAGE.

Key words Soybean; Pod; Seed; Development; SOD

提高大豆杂交结实率的新技术

在大豆杂交育种工作中,国内外采用较普遍的方法是人工去雄授粉。由于大豆花很小,一般花长只有6~7mm。因此,进行人工去雄授粉是一项很繁难而又十分细致的工作。每年在大豆开花季节,育种机关虽投入大量人力物力进行杂交工作,得到的杂交种子数却很少。据苏联农学博士阿柯洛夫(1980,1981),科洛特(1980),涅恰耶夫(1982)等的研究表明,杂交授粉后的花用邻近活叶片包扎的杂交结实率一般在25~30%。我们多年来也是杂交授粉后用邻近活叶片包扎,但杂交结实率仅10~20%。

为了探讨提高大豆杂交结实率的方法,苏联农学院图瓦分院农业科学副博士巴拉耶夫於1988~1989年,在图瓦分院进行了研究。他们把杂交授粉时间选择在每天上午6~8时,8~10时二个时间段进行。去雄授粉等程序则按常规进行,只是对杂交授粉后的花采用3种不同的处理方法:①对杂交授粉后的花直接用大豆邻近活叶片包扎,使叶片起到保温保湿作用。②把杂交授粉后的花用规格5×10cm的羊皮纸(硫酸纸)包扎;并在纸中放入一个湿棉球,以便保温保湿;③把羊皮纸做成小袋,套在杂交授粉后的花上,在套袋之前排出袋内空气,袋的下面用细金属丝固定在植株上(表1)。

表1 不同方法处理大豆杂交花的结实率(%)

处 理 方 法	杂 交 时 间		平 均
	6~8时	8~10时	
用叶子包扎	14.1	8.5	11.3
羊皮纸袋	18.9	12.0	15.4
羊皮纸加湿棉球	46.8	42.5	44.6

从表1看出,对杂交授粉后的花使用不同处理方法,杂交结实率相差很大,同一方法杂交时间不同,杂交结实率也有差异。以早上6~8时进行杂交授粉,然后用羊皮纸加湿棉球包扎,杂交结实率最高为46.8%。此法简便易行,值得大豆育种工作者应用。

王以芝

(黑龙江省农科院大豆所)