

$^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照对东方百合不定芽 POD 同工酶的影响

黄海涛, 王 丹, 周丽娟, 李卫锋, 闻方平

(西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621000)

摘 要: 运用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照东方百合离体不定芽, 对不定芽不同生长时期组织过氧化物(POD)同工酶酶谱进行分析, 结果表明: 辐照后 POD 同工酶酶带数和酶带颜色与对照比较都存在一定差异, 两个时期 6.0、8.0 Gy 处理的 POD 同工酶均出现了一条低分子量酶带, 对同工酶进行聚类分析发现高剂量处理(≥ 4.0 Gy)与对照的相似性较小, 差异较大。

关键词: $^{60}\text{Co}\gamma$; 辐照; 东方百合; POD; 同工酶

中图分类号: S 682.2⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0162-03

同工酶是 DNA 编码的遗传信息表达的产物, 是分析与选择突变体的重要指标之一, 也可作为植物辐照效应变化的一种生化分析手段, 具有可靠性和可重复性^[1-3]。过氧化物酶(POD)是植物体内常见的氧化酶, 植物体内许多生理代谢过程常与它的活性及其同工酶的种类有关, 已有研究表明辐照会引起过氧化物同工酶的变化, POD 作为常用的指示酶, 已广泛应用于植物生长发育各阶段的分析中^[4-6]。

植物组织培养与辐射诱变相结合, 是近年来很有前途的育种新技术。辐射与离体培养结合育种方式有其独特的优点, 受到许多育种工作者的青睐^[7]。研究采用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照处理东方百合鳞茎组织培养形成的不定芽, 对辐照后百合不同时期不定芽组织内 POD 同工酶做了详细的对比分析, 为进一步了解 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对离体培养材料的作用机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

选用东方百合索邦(Sorbonne)鳞茎进行组织培养形成的不定芽为辐照材料, 鳞茎由云南隆格兰园艺有限公司提供, 鳞茎周径为 16~18 cm。

1.2 方法

1.2.1 诱导不定芽培养 将百合鳞茎鳞片作为外植体诱导不定芽。用三角瓶培养, 以 MS+6-BA 1.0+NAA 0.1 为基本培养基, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 0.75%, pH 值为 5.8。培养温度(25±2)℃, 光照时间 12 h/d, 光照强度:

2 000~3 000 lx。

1.2.2 辐照处理 用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照百合不定芽, 剂量分 0.0、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 Gy 7 个组, 2007 年 3 月 27 日由四川省原子核应用研究所对百合不定芽进行辐照处理, 辐照剂量率为 0.5 gy/min。辐照时各处理的三角瓶平放在相同大小的纸箱里, $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线均匀照射。

1.2.3 POD 同工酶酶谱研究 根据辐照材料不同的生长阶段进行取材, 第一个时期是辐照后立即取材, 第二个时期是将辐照后的材料转接到新培养基上, 培养 46 d 后取材。取 1.0 g 待测植物鲜样置于冰浴上的研钵内, 加入 1 mL H₂O 研成匀浆, 转入离心管, 再用 2 mL 前述溶液将附着在研钵壁上的研磨样品洗下并全部转入离心管, 3 500 rpm 离心 15 min, 上清液即为酶粗液, 4℃低温保存。电泳采用不连续垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 浓缩胶浓度为 3.0%, 分离胶浓度为 7.5%, 电极缓冲溶液为 Tris-Gly(pH 8.3), 点样量为 10 μL, 以 0.1% 溴酚蓝为前沿指示剂, 样品电泳电压为 200V, 稳压电泳 2.5 h。POD 同工酶染色采用醋酸联苯胺染色法, 染色后用 BIO-RAD gel doc 凝胶成像系统拍照。测定 POD 酶带迁移率(R_f), R_f =酶带迁移距离/前沿指示剂距离。

2 结果与分析

2.1 不同剂量辐照下百合不定芽 POD 同工酶酶谱分析

辐照后立即取材, 对不同剂量下百合不定芽 POD 同工酶进行分析, 分析结果见图 1, 从图 1 可以看出, 辐照处理的不定芽 POD 同工酶酶谱与对照相比发生了明显改变, 0.5、1.0、2.0、4.0 Gy 处理与对照相比较多了一条 R_f 为 0.342 的带。6.0、8.0 Gy 比对照多了 R_f 为 0.140、0.571 的新的同工酶带。辐照后同工酶颜色变深, 6.0、8.0 Gy 处理 R_f 为 0.140、0.204、0.260、0.452 的带颜色都特别深, 同时比较宽。表明辐照后 POD 同工酶活性增强, 6.0 Gy 处理活性增强特别显著。

第一作者简介: 黄海涛(1983-), 男, 湖南新宁人, 硕士, 研究方向为园艺植物遗传育种。E-mail: cet_ch@163.com。

通讯作者: 王丹。E-mail: wangdan@swust.edu.cn。

基金项目: 中国工程物理研究院军民两用开发技术资助项目(200305)。

收稿日期: 2008-01-30

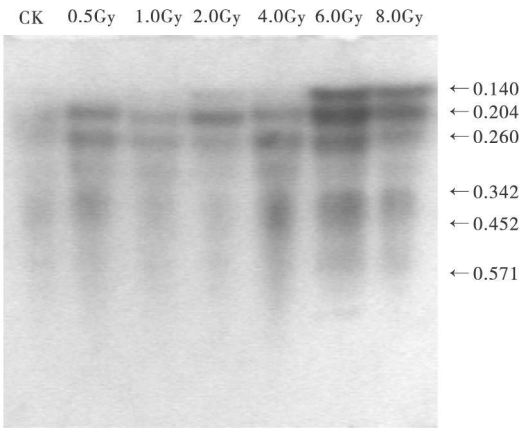


图 1 百合离体不定芽不同剂量⁶⁰Co γ 射线辐照 POD 同工酶谱

2.2 转接 46 d 后不同辐照剂量百合不定芽 POD 同工酶谱及聚类分析图

转接 46 d 后不同剂量辐照下百合不定芽 POD 同工酶谱见图 2, 对图 2 电泳谱带用 SPSS(Statistics Package for Social Science)进行聚类分析, 对于 POD 同工酶上各泳道每一相同的位置, 清晰且重复性号的条带记为“1”, 无酶带的记为“0”, 将图变成二态性状矩阵, 聚类方法采用 Q 型聚类中的 Within-groups linkage(类内平均链锁法)组内连结, 形成聚类树状图 3。

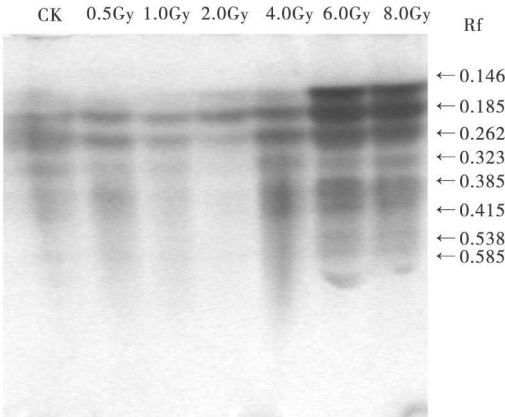


图 2 ⁶⁰Co γ 辐照后培养 46 d 百合离体不定芽 POD 同工酶谱带

由图 2 可以看出, 辐照后培养 46 d 射线对东方百合的损伤仍然存在, 辐照对东方百合离体不定芽 POD 同工酶有较大的影响, 对照有 5 条较为明显的带, *Rf* 值为 0.185、0.262、0.323、0.385、0.585。随着辐照剂量的增大, 酶带谱数有先减少后增加的趋势。1.0 Gy 处理有 4 条带, 2.0 Gy 处理同工酶酶带数仅为 3 条, 4.0 Gy 处理同工酶酶带数为 6 条, 当辐照剂量达到 6.0 Gy 处理时, 酶带数增加到 8 条, *Rf* 值为 0.146、0.415、0.538 处出现了新的同工酶特异性条带。从酶带着色情况来看,

有先减淡后增浓的趋势。1.0、2.0 Gy 处理酶带着色较对照浅, 4.0、6.0、8.0 Gy 处理酶带着色比对照深。

由图 3 可以看出, 东方百合被分为两类, 4.0、6.0、8.0 Gy 为一类, 另一类包括对照在内的剂量小于等于 2.0 Gy 的所有处理, 说明辐照对东方百合产生了显著的影响, 在试验辐照的剂量范围内, 低剂量(≤ 2.0 Gy)与对照的相似性较高, 高剂量(≥ 4.0 Gy)与对照的相似性较小, 差异较大。

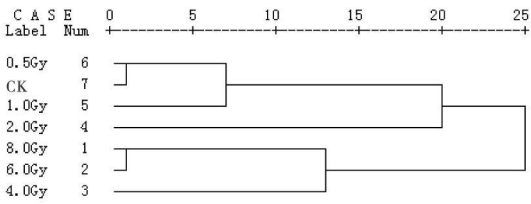


图 3 基于同工酶的不同剂量辐照的东方百合聚类图

3 小结与讨论

研究通过 POD 同工酶电泳分析发现随着辐射剂量的提高, 不定芽生长的两个阶段 POD 酶谱颜色与对照比较差异明显, 高剂量(≥ 4.0 Gy)的辐照酶带颜色比较深, 说明⁶⁰Co γ 射线辐照对东方百合不定芽有一定损伤, 为抵制辐射的损伤, 同工酶某些条带表达增强。

试验发现辐照后不定芽生长的两个阶段 6.0、8.0 Gy 的 POD 同工酶与对照比较都出现了一条新的低分子量的酶带, 培养 46 d 后随着辐射剂量的增大, 酶谱条带数有先减少后增加的趋势, 这是因不同剂量射线对 DNA、蛋白质等生物大分子的损伤不同影响效应, 影响基因的启动和表达, 酶蛋白的合成发生改变, 各种酶的同工酶带有新出现和消失的现象。试验对同工酶进行聚类分析, 低剂量(≤ 2.0 Gy)与对照的差异较小, 高剂量(≥ 4.0 Gy)与对照的差异较大, 因此, 高剂量的辐照将有可能产生新的变异。

参考文献

[1] 戚微娜 吕金印, 赵军, 等. ⁶⁰Co γ 辐照对冬小麦幼苗保护酶同工酶表达的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(7): 123-127.
[2] 李晓林 郭诚, 梁国鲁, 等. ⁶⁰Co 辐射对小苍兰生长发育及酯酶同工酶的影响[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(6): 840-843.
[3] 祁建军 陈向东, 兰进. 神舟号飞船搭载灵芝的酯酶同工酶研究及生长速度测定[J]. 核农学报, 2002, 16(5): 289-292.
[4] 林宝刚 张明龙, 王桂荣. 辐照诱导的新雄性不育系过氧化物酶和酯酶同工酶分析[J]. 核农学报, 2005, 19(4): 304-306.
[5] 王文恩 包满珠, 张俊卫. 狗牙根品种及辐射诱变 M1 代变异植株的过氧化物同工酶分析[J]. 中国草地学报, 2007, 29(1): 71-75.
[6] 尹淑霞 王月华, 周荣荣. ⁶⁰Co γ 射线辐射对黑麦草种子发芽及 POD 同工酶的影响[J]. 中国草地, 2005, 27(1): 75-77.
[7] 郑秀芳. 离体诱变技术在花卉育种中的应用[J]. 西南园艺, 2000, 28(2): 37-38.

不同栽培基质对红掌组培出瓶苗生长的影响

高 雷¹, 赵 卫国², 莫东发³, 张正伟³, 崔文山¹

(1. 沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110164; 2. 内蒙古农业大学 农学院 内蒙古 呼和浩特 010019; 3. 北京市农业技术推广站, 北京 102211)

摘 要: 利用不同的栽培基质配比, 探讨其对红掌组培出瓶苗在缓苗期和定植期生长的影响。结果显示: 以草炭+珍珠岩+蛭石(2:1:1)处理的红掌组培苗缓苗期成活率最高, 成苗快, 幼苗健康; 以草炭+珍珠岩+蛭石(2:2:1)处理的红掌组培苗定植期成活率高, 叶片生长量、叶数增加量大, 植株健壮, 而其原料便宜, 取材容易, 可以作为红掌组培苗适宜的育苗基质。

关键词: 红掌; 组织培养苗; 基质

中图分类号: S 682.1⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0164-03

红掌(*Anthurium adndraeanum*)别名花烛、火鹤花、安祖花, 为天南星科安祖花属的多年生草本植物^[1]。原生长于南美洲热带雨林, 其色泽鲜艳造型奇特, 应用范围广, 经济价值高, 已成为目前全球发展快、需求量大的热带切花和盆栽花卉, 是销售额仅次于热带花卉兰花的第二大热带花卉^[2,3], 所以研究和开发这一花卉对满足国内花卉市场需求具有重要意义。

随着市场需求的扩大, 我国红掌的栽培面积逐年扩大。为迅速获得大量优质种苗, 利用组织培养技术开展红掌种苗生产是一条有效的途径。但目前我国红掌科研生产与国际水平相差甚远^[4], 由于红掌组培苗的移栽

与养护技术不过关^[5], 使规模化、商品化的种苗供应量极少, 优质种苗的来源主要依靠进口, 大大增加了生产成本。

将瓶苗由培养室移植到露地的这一时期称练苗假植的过渡时期^[6], 而栽培基质的选择和比例配比的合适与否是练苗的关键, 决定了组培苗的成活率、长势、并影响产花的质量。试验探讨不同栽培基质对红掌组培出瓶苗生长的影响, 选择出适宜北方地区的红掌育苗基质。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为红掌(*Anthurium adndraeanum*)盆花品种“Sophia”的组培出瓶苗, 佛焰苞呈红绿色, 花序黄白色, 叶大; 栽培基质选用常用的无土栽培基质, 做6种不同比例为育苗基质, 并以细河沙和纯蛭石作为对照基质, 共设8个处理, 即: ①细河沙(CK₁); ②蛭石(CK₂); ③蛭石+细河沙(3:1); ④草炭+珍珠岩(1:1); ⑤草炭+

第一作者简介: 高雷(1980-), 女, 在读硕士, 现从事园林植物生理生态与栽培研究。E-mail: gaolei800826@163.com。

通讯作者: 崔文山。

收稿日期: 2008-02-20

Effects of ⁶⁰Co-γ Ray Radiation on POD Isozymes of Adventitious Bud of Oriental Lily

HUANG Hai-tao, WANG Dan, ZHOU Li-juan, LI Wei-feng, WEN Fang-ping

(Life Science and Engineering College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621000, China)

Abstract: The adventitious buds of oriental lily were treated with ⁶⁰Co-γ ray. Then the zymograms of POD isozymes of adventitious buds at different growth stages were analyzed. The results showed that the number and the depth of enzymatic bands of POD in the treatments and the control were different. There was a low molecular weight band both in the enzymatic bands of POD of adventitious buds which were treated at doses of 6.0 Gy and 8.0 Gy. Using cluster analysis on the isozymes, found there was a obviously difference between the treatments with high dosage (≥4.0 Gy) and the control.

Key words: ⁶⁰Co-γ ray; Radiation; Oriental lily; POD; Isozymes