

金顶侧耳酯酶同工酶多样性的研究

崔 丹,姚方杰,张友民

(吉林农业大学 园艺学院,食药食用菌教育部工程研究中心,吉林 长春 130118)

摘 要:采用聚丙烯酰胺凝胶电泳对 20 个金顶侧耳菌株酯酶同工酶进行了研究。结果表明:金顶侧耳酯酶同工酶酶谱具有丰富的多样性。共检测出 14 条酶带,其中迁移率相同酶带 3 条。迁移率不同酶带有 11 条,多态性为 78.6%;聚类分析的树状图中,相似系数 0.80 时,可将供试菌株分成七大类。

关键词:金顶侧耳;酯酶同工酶;多样性;聚类分析

中图分类号:S 646.1<sup>+</sup>4 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2012)10-0179-03

金顶侧耳(*Pleurotus citrinopileatus* Sing.)又称“榆黄蘑”,色艳味美,属于侧耳属的名贵食用菌。有研究人员对金顶侧耳遗传育种及栽培生理等进行了大量研究<sup>[1-6]</sup>,收集了我国主栽品种 20 个菌株并采用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行了酯酶同工酶的多样性分析,旨在为进一步开展遗传育种试验栽培生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株共 20 个,均为吉林农业大学菌物研究中心保藏菌株,依次编号 1~20。

表 1 供试菌株

菌株编号	菌株名称	菌株来源
1	RY01	中国农科院资源与区划研究所
2	RY02	中国农科院资源与区划研究所
3	RYH <sub>1</sub>	区划研究所试验品种
4	RYH <sub>2</sub>	区划研究所试验品种
5	RYH <sub>3</sub>	区划研究所试验品种
6	PI0 <sup>3</sup>	吉林农业大学
7	草谷 2 号	吉林省敦化市明星特产科技有限公司
8	黄高	吉林省敦化市明星特产科技有限公司
9	张榆	吉林省莲花山
10	侧耳 6 号	日本
11	榆黄菇(A)	日本
12	榆黄蘑(山东)	山东
13	榆黄蘑(四川)	四川
14	AF-2	吉林农业大学
15	DF-3	吉林农业大学
16	BF-6	吉林农业大学
17	CD-7	吉林农业大学
18	0579	日本
19	榆黄蘑(汪清)	吉林省汪清县
20	榆黄蘑(临江)	吉林省临江市

第一作者简介:崔丹(1986-),女,在读硕士,研究方向植物生态。  
责任作者:张友民(1963-),男,博士,教授,研究方向为植物生态与解剖学。E-mail:zhangymf@yahoo.com.cn。  
基金项目:国家公益性行业科研专项资助项目(200903008-07-06);吉林省科技支撑计划资助项目(20090268)。  
收稿日期:2012-03-06

1.2 试验方法

1.2.1 菌丝体培养及酯酶同工酶测定 参照文献[7]提供的方法进行,菌丝体培养时间为 15 d。

1.2.2 数据处理 菌株间的相似系数、遗传距离按参考文献[7]报道的方法计算,利用 NTSYS-pc 软件进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 金顶侧耳菌株酯酶同工酶酶谱多样性

由图 1 可知,20 个菌株共检测出 14 条酶带,具有丰富的多样性,绝大多数菌株间谱带类型表现出差异。其中有不同迁移率的酶带有 11 条,多态性为 78.6%,迁移率为 0.13~0.68(表 2)。各个菌株酶带数目不同,第 1、18 号菌株酶带仅有 4 条,第 4 号菌株酶带最多有 11 条。其中迁移率为 0.13、0.55、0.66 的 3 条酶带为所有菌株所共有,可作为金顶侧耳的基础酶谱带,同时表明 20 个菌株之间也具同缘性。其中如第 1、15、18 号等菌株虽然酶带数目相同,但酶带颜色的深浅仍有差异,说明供试菌株酯酶同工酶活性和含酶量存在差异。

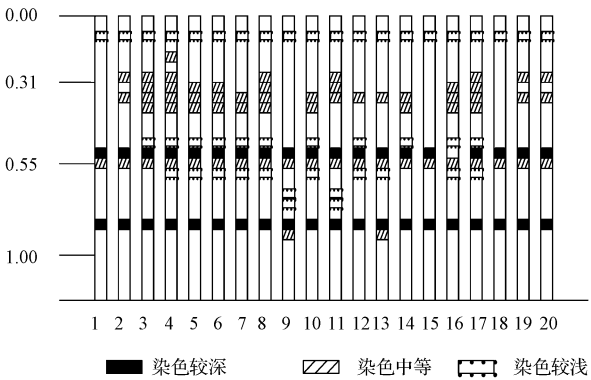


图 1 20 个金顶侧耳菌株酯酶同工酶图谱

表 2 供试菌株酶带对应迁移率和分布频率

酶带	迁移率	出现频率/%	酶带	迁移率	出现频率/%
E1	0.13	100	E8	0.54	95
E2	0.24	5	E9	0.55	100
E3	0.31	40	E10	0.59	50
E4	0.33	45	E11	0.61	10
E5	0.35	80	E12	0.64	10
E6	0.39	50	E13	0.66	100
E7	0.51	55	E14	0.68	10

## 2.2 金顶侧耳菌株亲缘关系

由表 3 可知,供试菌株之间的相似系数(S)为 0.25~1.00,由图 2 可知,20 个菌株在相似系数为 0.80 时被分成七大类,具有丰富的多样性,其中第Ⅰ类群包括 1、15、18 号菌株,第Ⅱ类群包括 2、19、20 号菌株,第Ⅲ类群包括 11 号菌株,第Ⅳ类群包括 9 号菌株,第Ⅴ类群包括 3、4、5、6、8、10、16、17 号菌株,第Ⅵ类群包括 7、12、14 号菌株,第Ⅶ类包

括 13 号菌株。其中第 9、13 号菌株与其它菌株相似系数仅为 0.60,遗传距离最远,但是如第 1、5、18 号菌株的相似系数 S 达到 1.00,表明亲缘关系很近。

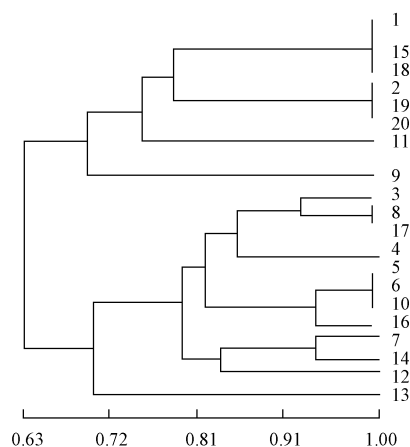


图 2 20 个金顶侧耳菌株聚类分析树状图

表 3 20 个金顶侧耳菌株间的相似系数(S)

菌株编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	—	0.67	0.44	0.36	0.44	0.44	0.50	0.40	0.57	0.44	0.50	0.57	0.50	0.50	1.00	0.33	0.40	1.00	0.67	0.67
2		—	0.67	0.55	0.50	0.50	0.56	0.60	0.57	0.50	0.75	0.63	0.56	0.63	0.67	0.40	0.60	0.67	1.00	1.00
3			—	0.82	0.80	0.80	0.70	0.90	0.33	0.80	0.55	0.60	0.55	0.78	0.45	0.70	0.90	0.45	0.67	0.67
4				—	0.82	0.82	0.73	0.91	0.29	0.82	0.46	0.64	0.58	0.64	0.36	0.73	0.91	0.36	0.55	0.55
5					—	1.00	0.89	0.90	0.33	1.00	0.42	0.78	0.70	0.78	0.45	0.89	0.90	0.45	0.50	0.50
6						—	0.89	0.90	0.33	1.00	0.42	0.78	0.70	0.78	0.45	0.89	0.90	0.45	0.50	0.50
7							—	0.80	0.36	0.89	0.45	0.88	0.60	0.88	0.50	0.78	0.80	0.50	0.56	0.56
8								—	0.31	0.90	0.50	0.70	0.64	0.70	0.40	0.80	1.00	0.40	0.60	0.60
9									—	0.33	0.67	0.40	0.50	0.40	0.57	0.25	0.31	0.57	0.44	0.44
10										—	0.42	0.78	0.70	0.78	0.44	0.89	0.90	0.44	0.50	0.50
11											—	0.50	0.45	0.50	0.50	0.33	0.50	0.50	0.75	0.75
12												—	0.67	0.75	0.57	0.67	0.70	0.57	0.63	0.63
13													—	0.50	0.50	0.60	0.64	0.50	0.56	0.56
14														—	0.57	0.67	0.70	0.57	0.63	0.63
15															—	0.33	0.40	1.00	0.67	0.67
16																—	0.80	0.33	0.40	0.40
17																	—	0.40	0.60	0.60
18																		—	0.67	0.67
19																			—	1.00
20																				—

## 3 讨论

该试验对 20 个金顶侧耳菌株的酯酶同工酶进行研究,酶带多态性比较高,为 78.6%,并在相似系数 0.80 水平将供试菌株分为七大类,而张玉铎等<sup>[8]</sup>将 8 个菌株分为 2 类,这种差异可能与其供试菌株少且亲缘关系较近造成的。

可以说同工酶酶谱作为基因编码的表现形式,它的变化能很好的代表 DNA 分子水平的变化,生物间的亲缘关系在结构相似性上得到反应。因此同工酶技术在其它大型真菌鉴定时采用也较多。但是该文中同工酶酶谱分析相似度极高甚至达到 1.00 的菌株间却有很多出现体细胞不亲和现象(另文发表),说明同工酶酶谱用于金顶侧耳的多样性分析还存在局限性。

## 参考文献

- [1] 彦培璐.金顶侧耳不亲和因子多样性及优良品种选育研究[D].长春:吉林农业大学,2010:11-40.
- [2] 姚方杰,李玉.金顶侧耳交配型系统特性的研究[J].吉林农业大学学报,2002,24(2):61-63.
- [3] 姚方杰,李玉.金顶侧耳不同交配型营养缺陷突变菌株的制备[J].吉林农业大学学报,2003,25(3):270-274.
- [4] 姚方杰,张友民,李玉.利用营养缺陷诱变对金顶侧耳进行基因连锁分析研究[J].菌物学报,2005,24(1):36-41.
- [5] 高芮.金顶侧耳的营养利用及蔬菜植物浸提液对其增产效应的研究[D].长春:吉林农业大学,2009:9-38.
- [6] 薛爽.不同光质对侧耳属四种食用菌生长发育影响的研究[D].长春:吉林农业大学,2009:9-65.
- [7] 陈影.黑木耳栽培种质资源多样性的研究及核心种质群的建立[D].长春:吉林农业大学,2010.
- [8] 张玉铎,李明,刘晓倩.8 个榆黄蘑菌株同工酶分析[J].华北农学报,2009,24(6):210-214.

# 广豆根幼苗对干旱胁迫的生理响应

李林轩, 唐美琼, 梁莹, 韦坤华, 缪剑华

(广西药用植物园 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西 南宁 530023)

**摘要:**以广豆根幼苗为试材,采用不同质量浓度 PEG-6000 模拟土壤干旱胁迫处理广豆根 (*Sophora tonkinensis* Gagnep.) 幼苗 60 d 后,测定叶中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性及丙二醛(MDA)含量,探讨山豆根对干旱胁迫的适应机理,观测广豆根在干旱胁迫下的生理响应。结果表明:经不同质量浓度 PEG-6000 胁迫后,广豆根 MDA 的含量显著提高,几种保护酶活性在不同浓度干旱胁迫后都有不同程度的变化,但都显著或极显著高于正常水分处理;在 15% 处理下 CAT 活性显著高于其它处理;随着 PEG 浓度的增加,SOD 活性表现出一直升高的趋势。

**关键词:**广豆根;干旱胁迫;生理响应

**中图分类号:**S 567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)10-0181-03

植物赖以生存的环境并不总是适宜的,干旱、盐碱和低温等逆境条件都会限制植物的生长,其中干旱胁迫的影响越来越突出。植物在干旱胁迫下体内产生大量自由基而引发膜脂过氧化作用,破坏细胞膜系统,影响植物的正常生长甚至导致植物死亡<sup>[1]</sup>。在长期的进化过程中,植物为保护自己免受或少受伤害形成相应的清除活性氧自由基保护酶系统,在逆境条件下调动自身的防御系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶

(CAT)、过氧化物酶(POD)等活性的变化,以及通过它们之间相互协调有效的清除植物体内多余的  $O_2^-$ 、 $H_2O_2$  等自由基,引起一系列生理生化方面的反应<sup>[2]</sup>。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一,通常利用它作为膜脂过氧化的指标,表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱<sup>[3]</sup>。

广豆根为豆科植物越南槐(*Sophora tonkinensis* Gagnep.)的干燥根及根茎<sup>[4]</sup>,富含苦参碱与氧化苦参碱等活性成分,是抗肿瘤和消炎镇痛方面不可多得的良药<sup>[5]</sup>。广豆根野生资源生长环境恶劣,零星生长于石山岩缝之中,具有很强的抗旱能力。然而,在广豆根所表现出强抗旱能力的生理机制方面研究仍是空白。长期以来,由于盲目的采挖造成广豆根野生资源已接近枯竭,在不改变药材质量的前提下必须开展广豆根人工栽培。该研究采用不同质量浓度的 PEG-6000 对盆栽广豆

**第一作者简介:**李林轩(1986-),男,本科,研究实习员,现从事药用植物生理生化学等研究工作。E-mail:starry1125@sina.com。

**责任作者:**缪剑华(1961-),男,博士,研究员,现从事药用植物中药学等研究工作。E-mail:mjh1962@vip.163.com。

**基金项目:**国家发改委中药材扶持资金资助项目(发改运行[2007]2706号);广西科学基金资助项目(桂科自 0991025Z)。

**收稿日期:**2012-02-24

## Study on Esterase Isozyme Analysis Diversity of *Pleurotus Citrinopileatus*

CUI Dan, YAO Fang-jie, ZHANG You-min

(College of Horticulture, Engineer Research Center of Edible and Medical Mushroom of Education Ministry, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** The esterase isozymes of 20 strains of *Pleurotus citrinopileatus* were studied with the polyacrylamide gel electrophoresis techniques. The results showed that their esterase isozymes map was rich diversity. Fourteen enzyme belts of esterase isozymes of twenty strains were detected. Three of them had the same migration rate and eleven of them were different. The polymorphism was 78.6%. At the similarity level 0.8, the test strains were classified into seven groups in the dendrogram of esterase isoenzymes of *P. citrinopileatus*.

**Key words:** *Pleurotus citrinopileatus*; esterase isozyme; diversity; cluster analysis