

# 不同倍性薄皮甜瓜果实几种成分及同工酶比较研究

李 为, 于泽源, 李兴国, 邵 勤

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:**以二倍体薄皮甜瓜品种及其人工诱导的同源四倍体、三倍体为试材, 对不同倍性薄皮甜瓜果实营养品质及叶片 EST、POD、SOD 同工酶谱带进行研究。结果表明: 不同倍性薄皮甜瓜果实成熟时期可溶性糖、可溶性固形物、可溶性蛋白质、维生素 C、氨基酸含量存在差异, 可溶性糖、维生素 C、氨基酸含量有同样趋势, 为四倍体>三倍体>二倍体; 中心可溶性固形物、可溶性蛋白质含量有同样趋势, 为三倍体>四倍体>二倍体; 叶片中, 二倍体和三倍体 EST 谱带均比同源四倍体多 2 条; 而 POD 和 SOD 在谱带条数上没有差异, 只是多倍体谱带亮度较二倍体强, 表明其表达量较高, 说明它们的酶种类相似但剂量不同。

**关键词:**薄皮甜瓜; 同源多倍体; 同工酶; 果实营养成分

**中图分类号:**S 652 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)01-0095-04

薄皮甜瓜(*Cucumis melo*)属葫芦科甜瓜属植物, 又称香瓜, 在中国栽培历史悠久<sup>[1]</sup>。Soltis 等<sup>[2]</sup>认为当染色体组成倍增加之后, 多倍体植物可以提供一些它们二倍体祖先所不具有的特征特性, 诸如生物学产量提高、抗逆性增强、次生物质等增加。不少学者对蔬菜作物不同倍性之间的差异进行过研究, 陈圣栋<sup>[3]</sup>对诱导出的四倍体番茄与二倍体番茄进行品质比较, 结果表明四倍体可溶性糖、可溶性固形物、可溶性蛋白、维生素 C 含量均高于二倍体。颜志明等<sup>[4]</sup>对二倍体扬花萝卜及其同源四倍体萝卜品质进行比较研究, 结果表明同源四倍体还原糖、可溶性蛋白和维生素 C 含量极显著提高。张振超等<sup>[5]</sup>对二倍体、同源四倍体不结球白菜主要营养品质的研究表明同源四倍体可溶性糖、可溶性蛋白、维生素 C 等含量均高于二倍体。程志强等<sup>[6]</sup>、万闪学等<sup>[7]</sup>对同基因型不同倍性西瓜维生素 C 和糖含量的研究表明, 多倍体西瓜维生素 C 含量和糖含量均高于二倍体。但是对不同倍性薄皮甜瓜果实营养成分的分析还较少, 付金娥<sup>[8]</sup>对二倍体和同源四倍体薄皮甜瓜品质比较研究发现, 四倍体果实中心可溶性固形物、边缘可溶性固形物、维生素 C、可溶性糖、可溶蛋白质和可滴定酸等含量均高于二倍体。黄金艳等<sup>[9]</sup>对不同倍性甜瓜果实品质比较

研究发现, 多倍体甜瓜果实成熟时期可溶性糖、中心可溶性固形物、可溶性蛋白质、维生素 C 含量均高于二倍体。

有关多倍体与二倍体同工酶电泳谱带特征比较研究<sup>[10-14]</sup>表明, 多倍体植株同工酶同一位点基因剂量加倍, 该位点的酶量相应增加, 而二倍体的同工酶电泳谱带则没有类似特征。甜瓜方面同工酶研究已有一些报道。张兴平等<sup>[15]</sup>利用同工酶技术对甜瓜种质资源作了系统的研究。郭素枝等<sup>[16]</sup>对 3 个甜瓜品种不同生育期同工酶谱活性度进行 Fuzzy 评判, 结果表明, 3 个甜瓜品种的 POD、SOD、EST 同工酶活性度变化呈现明显的规律, 并确定了这 3 种酶的同工酶谱在不同生育期的活性度高低。陈劲枫等<sup>[17]</sup>对甜瓜属远缘杂种回交自交群体的过氧化物酶同工酶进行分析, 结果表明群体内各单株间过氧化物酶酶谱差异较大, 反映了群体内的遗传多态性。但对于不同倍性薄皮甜瓜同工酶的差异, 国内外尚未见报道。该试验通过对同基因型薄皮甜瓜的同源四倍体、三倍体、二倍体材料进行比较研究, 分析不同倍性薄皮甜瓜果实营养成分和叶片同工酶电泳谱带的差异, 旨在为多倍体薄皮甜瓜育种及栽培提供理论依据, 为多倍体遗传分析和生理生化特性研究提供实践参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料来自哈尔滨市农科院的二倍体薄皮甜瓜龙甜  $2\times(2n=2\times=24)$  及其人工诱导的同源四倍体龙甜  $4\times(2n=4\times=48)$  以及二倍体和四倍体杂交获得的三倍体龙甜  $3\times(2n=3\times=36, M4\times\times M2\times)$ 。

**第一作者简介:**李为(1984-), 男, 硕士, 研究方向为果树生理学。E-mail:liwei85541446@163.com.

**责任作者:**于泽源(1961-), 男, 硕士, 教授, 博士生导师, 研究方向为园艺植物生理与分子生物学。E-mail:zyy@neau.edu.cn.

**基金项目:**黑龙江省“十一五”科技攻关计划资助项目(GB06B112-4)。

**收稿日期:**2012-09-17

## 1.2 试验方法

2011年3月25日在东北农业大学园艺试验站播种育苗,5月1日定植,株行距为0.4 m×0.4 m。采用田间随机区组设计,3次重复,田间栽培管理一致。5月末开始人工授粉,挂牌标记授粉时间及授粉花朵数,盛花期选取旺盛生长植株顶端展开的第1片嫩叶进行同工酶酶谱分析,7月初根据不同倍性薄皮甜瓜成熟度不同分别采取同日授粉的甜瓜进行营养品质分析。

1.2.1 果实成分分析方法 可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法<sup>[18]</sup>,可溶性固形物含量测定采用手持测糖仪法<sup>[18]</sup>,可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法<sup>[18]</sup>,维生素 C 含量测定采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法<sup>[18]</sup>,氨基酸含量采用氨基酸分析仪测定<sup>[19]</sup>。

1.2.2 同工酶研究方法 电泳条件参照文献<sup>[20]</sup>并加以改进。制样:以不同倍性薄皮甜瓜全展幼叶片为试材,称取 0.2 g,加入提取液(0.1 M Tris-HCl, pH 7.5; 巯基乙醇 0.5%, 20% 蔗糖)1 mL,冰浴研磨匀浆后在 10 000 r/min 下离心 15 min,取上清液保存于-20℃冰箱中待用。电泳:采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳的分离胶浓度为 7.5%(pH 8.9),浓缩胶浓度为 4%(pH 值 6.7),电极缓冲液为 Tris-甘氨酸(pH 8.3)。用溴酚蓝作前沿指示剂。电泳在 4℃ 下进行,稳压,浓缩胶 130 V,0.5 h,分离胶 240 V,3 h 左右。染色:EST、POD 和 SOD 染色过程参见文献<sup>[20]</sup>。谱带迁移率( $R_f$  值)按胡能书等<sup>[20]</sup>介绍的公式进行计算: $R_f = \text{酶带迁移距离} / \text{溴酚蓝迁移距离}$ 。

## 1.3 数据分析

所有试验数据分析均采用 DPS v 3.01 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

## 2.1 不同倍性薄皮甜瓜营养成分分析

由表 1 可知,多倍体薄皮甜瓜果实中可溶性糖含量、可溶性固形物含量、可溶性蛋白质含量、维生素 C 含量、氨基酸含量皆显著高于二倍体,表明多倍体薄皮甜瓜果实中营养成分具有增加趋势。四倍体薄皮甜瓜果实维生素 C 和氨基酸含量显著高于三倍体而其它营养成分之间无明显差异。

表 1 不同倍性薄皮甜瓜果实中几种成分比较

Table 1 Comparison of nutritional traits in different ploidy melons

材料	可溶性糖 含量/%	可溶性固形 物含量/%	可溶性蛋白质 含量/mg·g <sup>-1</sup>	维生素 C 含量 /mg·g <sup>-1</sup>	氨基酸含量 /g·(100g) <sup>-1</sup>
2×	12.09±0.22b	12.35±0.76b	0.750±0.28b	0.131±0.0066c	6.20±0.19b
3×	18.59±0.59a	15.23±0.40a	0.983±0.38a	0.186±0.0026b	6.62±0.24b
4×	19.63±0.51a	14.40±0.62a	0.958±0.43a	0.227±0.0048a	7.92±0.14a

注:同列不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

## 2.2 不同倍性薄皮甜瓜同工酶酶谱分析

2.2.1 酯酶同工酶(EST)酶谱比较 由图 1 可知,二倍

体、三倍体和四倍体从阴极到阳极共呈现 9 条酶带(P1~P9)(2×二倍体,3×三倍体,4×四倍体;P1~P10 谱带编码; $R_f$  酶带迁移率),而且谱带变化较大。按染色着色程度可分为 4 个类型:色深、色较深、色浅、色较浅,其中 P1、P2、P3、P4、P7、P8、P9 在二倍体和三倍体中均出现,且酶带迁移率相同,只是在着色程度上有一些差异。而 P5 和 P6 在二倍体和三倍体中出现,但是在四倍体中未出现,三倍体的谱带显示了互补的性质,其谱带具备父本和母本的特征。因此 P5 和 P6 为四倍体和三倍体、二倍体之间差异谱带。

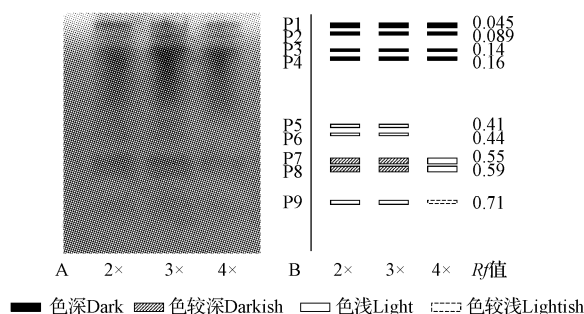


图 1 不同倍性薄皮甜瓜叶片 EST 同工酶酶谱(A)及模式图(B)

Fig. 1 Esterase zymograms from the leaf of different ploidy striffin melon

2.2.2 过氧化物酶同工酶(POD)酶谱比较 对不同倍性薄皮甜瓜材料进行过氧化物酶同工酶酶谱分析,从阴极到阳极各有 9 条酶带(P1~P9)(图 2),酶带位置一致,只是这 9 条带的染色程度存在差异。由图 2 可知,P1、P2 染色最深且宽,为强势带,P4、P6、P7 和 P8 这 4 条酶带在四倍体中颜色较深,而在二倍体和三倍体中颜色较浅。P9 这条酶带在三倍体中显色较二倍体和四倍体深。

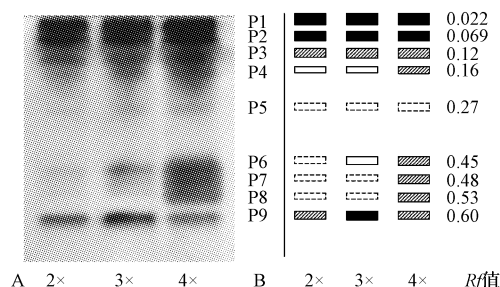


图 2 不同倍性薄皮甜瓜叶片 POD 同工酶酶谱(A)及模式图(B)

Fig. 2 Peroxidase zymograms from the leaf of different ploidy striffin melon

2.2.3 超氧化物歧化酶同工酶(SOD)酶谱比较 由图 3 可知,超氧化物歧化酶同工酶从阴极到阳极各有 5 (P1~P5)条酶带,酶带位置一致。P1 在 3 种倍性材料中表达量最少,所呈现的带为弱势带;而 P5 在 3 种倍性材料中表达量最多,为强势带;在三倍体和四倍体中的 P2、

P3、P4 酶带较二倍体亮,说明它们酶的种类相同,但剂量不同,表现出酶带的亮度不同。

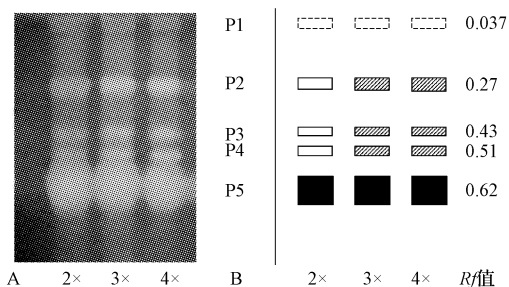


图3 不同倍性薄皮甜瓜叶片 SOD 同工酶酶谱(A)及模式图(B)

Fig. 3 Superoxide dismutase zymograms from the leaf of different ploidy striffin melon

### 3 结论与讨论

该研究结果表明,同源四倍体、三倍体薄皮甜瓜与二倍体薄皮甜瓜成熟果实中可溶性糖、可溶性固形物、可溶性蛋白质、维生素 C 含量、氨基酸含量存在差异,可溶性糖、维生素 C、氨基酸含量变化趋势为四倍体>三倍体>二倍体,可溶性固形物和可溶性蛋白质含量变化趋势为三倍体>四倍体>二倍体。总体来说,多倍体薄皮甜瓜成熟果实几种成分多于二倍体甜瓜,这与前人研究结果比较一致<sup>[3-9]</sup>。不同倍性薄皮甜瓜果实中可溶性糖、可溶性固形物、可溶性蛋白质、维生素 C、氨基酸含量的差异可能跟 Soltis 等<sup>[2]</sup>所阐述的多倍体植物的抗逆、生物学产量提高、次生物质等增加的理论有关。

甜瓜果实糖分含量的高低是衡量品质的最重要指标,对于消费者来说,甜度的高低是最易感受、最直接的标准。甜瓜果实中含有少量的可溶性蛋白质,但是这些蛋白质有着重要的生理功能。许多研究证明,可溶性蛋白质与甜瓜的整体口感和风味可能有着重要的关系。维生素 C 在生物体内是一种很好的还原剂,同时维生素 C 还参与许多物质代谢,如胶原纤维的合成、酪氨酸代谢等需要维生素 C 的参与,因此维生素 C 含量也是衡量作物品质的一个重要指标。因此提高可溶性糖、可溶性蛋白质、维生素 C 含量,是甜瓜高品质育种的主要目标。在甜瓜栽培和育种中,应充分利用多倍体优势来培育出高品质甜瓜品种。

由于植物不同的生长发育时期,不同组织器官及不同的生理状态,其同工酶数量和活性均有很大变化<sup>[21]</sup>,故在研究和分析同工酶时,必须在相同条件下,采用同一时期、同一组织器官才能获得准确的结果。该试验研究结果表明,同源四倍体酯酶同工酶比二倍体少了 2 条谱带,这与不结球白菜<sup>[5]</sup>上的研究结果相似<sup>[10-12]</sup>。二倍体、三倍体和四倍体 POD 和 SOD 在谱带数目和位置上没有差异,只是在表达强度上存在一定差别,这与前人的研究结果相

似。同工酶分析<sup>[12]</sup>表明,多数情况下,二倍体中的全部基因均能在多倍体中得到表达,表现同工酶的多态性,而在另一些情况下来自二倍体的特定同工酶基因在多倍体中丢失,而基因沉默。结合该试验,多倍体同工酶酶谱的变化可能是由基因组的变化引起的,其中 EST 酶谱条带的减少可能是二倍体的特定基因丢失引起的,而 POD 和 SOD 酶谱带活性的加强可能是染色体加倍后的植株基因组也相应加倍引起的。目前,有关基因剂量对植物性状表达的影响的机理还不清楚,有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] 马克奇,马德伟. 甜瓜栽培与育种[J]. 北京:农业出版社,1982.
- [2] Soltis P S, Soltis D E. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids[J]. PNAS, 2000, 97: 7051-7057.
- [3] 陈圣栋. 四倍体番茄的诱导及与二倍体番茄抗冷性、品质比较的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2007:31-33.
- [4] 颜志明,张蜀宁,汤伟华,等. 二倍体和四倍体杨花萝卜的品质特性及抗寒性比较研究[J]. 西北植物学报,2007,27(7):1405-1410.
- [5] 张振超,张蜀宁,戴忠良,等. 不同倍性不结球白菜营养品质及同工酶比较研究[J]. 西北植物学报,2008,28(8):131-134.
- [6] 程志强,刘文革,刘志敏,等. 不同倍性西瓜果实维生素 C 含量比较研究[J]. 果树学报,2008,25(5):760-763.
- [7] 万学闯,刘文革,阎志红,等. 不同倍性西瓜果实不同糖含量比较[J]. 长江蔬菜,2010(8):19-22.
- [8] 付金娥. 秋水仙素诱导甜瓜四倍体的研究[D]. 南宁:广西大学,2008:37-38.
- [9] 黄金艳,王红梅,覃斯华,等. 不同倍性甜瓜果实品质比较研究[J]. 中国农学通报,2011,27(13):238-241.
- [10] Li Y (李赞), Shu H R (束怀瑞), Shi Y P (石荫坪). Analysis on isoenzyme of apple's diploid and triploid[J]. Journal of Shandong Agriculture University (山东农业大学报), 1999, 30(1): 6-10. (in Chinese)
- [11] 刘惠吉,王华,高丽红. 不同生态型同源四倍体和二倍体白菜品种的同功酶比较[J]. 南京农业大学学报,1997,20(3):26-30.
- [12] 徐伟钰,张蜀宁,万双粉,等. 同源四倍体抗热萝卜同工酶研究[J]. 江苏农业科学,2006(5):72-74.
- [13] Weeden N F, Lamb R C. Identification of apple cultivars by isoenzyme phenotypes[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1985(4): 509-515.
- [14] Manganaris A G, Alston F H. Peroxidase isoenzyme genes in the identification of apple cultivars and *Malus* species[J]. J Horticultural Science, 1993, 689(5): 775-781.
- [15] 张兴平,王鸣. 甜瓜(*Cucumis melo* L.)种质资源的同工酶电泳分析[J]. 西北农业大学学报,1998,16(2):7-13.
- [16] 郭素枝,何承坤,李家慎. 3个甜瓜品种不同生育期同工酶谱活性度的 Fuzzy 评判[J]. 福建农学院学报(自然科学版),1993,22(3):296-300.
- [17] 陈劲枫,任刚,余纪柱,等. 甜瓜属远缘杂种回交自交群体的过氧化物酶同工酶分析[J]. 武汉植物学研究,2002,20(5):333-337.
- [18] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:167-169.
- [19] 申江,和晓楠,王素英,等. 冰温贮藏对甜瓜氨基酸等物质的影响实验研究[J]. 制冷学报,2010,31(3):46-49.
- [20] 胡能书,万贤国. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1985.
- [21] Scandallos J G. Isoenzymes in Development and differentiation[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1974, 25: 225-228.



# 镰刀菌 XX-A-02-II 发酵液诱发蚕豆根尖遗传损伤研究

庞振凌, 王 云

(南阳师范学院 生命科学与技术学院, 河南 南阳 473061)

**摘 要:**采用蚕豆根尖微核技术研究 0、5、25、50、100、200 倍不同稀释倍数镰刀菌发酵液的遗传毒性。结果表明:同阴性对照相比,所有试验处理对蚕豆根尖细胞微核发生率的影响显著增加,而且表现出一定的剂量效应。镰刀菌滤液原液对蚕豆根尖细胞微核发生率影响显著高于阳性对照的效应,从而说明镰刀菌滤液具有较强的遗传毒性。

**关键词:**镰刀菌发酵液;微核试验;遗传毒力

**中图分类号:**S 643.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)01-0098-04

微核是细胞在有丝分裂时因各种有害因素损伤,使细胞核成分残留在核外的微小染色质块。微核多见于间期细胞,大小差别很大,其大小一般为主核  $1/4 \sim 1/3$ ,由于它与染色体畸变有明显的相关性,可作为反映外源性因素对细胞染色体损伤强度的指标。试验证明,环境诱变因子的强弱与诱发的微核率成正比,因此可用微核率大小来表示诱变因子的强弱<sup>[1]</sup>。细胞微核试验技术具有简便、快速、灵敏高等优点,蚕豆根尖细胞微核技术更被国际诱变剂、致癌剂防护委员会(ICPEMC)推荐为检查致癌剂、诱变剂常用的遗传毒理方法之一,而国内

学者运用该技术已开展了水质污染、环境污染物、香烟烟雾水溶物和农业土壤污染等方面的研究<sup>[2]</sup>。

镰刀菌是一类世界性分布的真菌,镰刀菌毒素是由镰刀菌属中多种真菌所产生的次级代谢产物。根据联合国粮农组织和世界卫生组织联合召开的第三次食品添加剂和污染物会议资料,已经将镰刀菌毒素问题同黄曲霉毒素一样,是自然发生的最危险的食物污染物<sup>[3]</sup>。近年来,镰刀菌毒素对人类健康的影响越来越引起人们的注意,尤其是在许多人类肿瘤高发地区的粮食中曾多次检出过有关的镰刀菌,使人们越来越关注镰刀菌及其毒素的致癌危险性。镰刀菌毒素是镰刀菌产生的一类对其寄主植物具有一定生理活性和非专化性作用位点的代谢产物,属于非寄主选择性毒素,可以破坏植物细胞膜及超微结构,并诱导体外培养的动物细胞发生凋亡<sup>[4]</sup>。毒素的作用方式主要是对超微结构的影响,毒素

**第一作者简介:**庞振凌(1956-),女,河南内乡人,本科,教授,现主要从事遗传学的教学与科研工作。E-mail:PZL56@163.com.

**基金项目:**南阳市科技攻关计划资助项目(2007S1419);南阳师范学院资助项目(nyct200525)。

**收稿日期:**2012-07-23

## Comparison of Fruit Nutritional Traits and Isoenzymes in Different Ploidy Striffin Melon

LI Wei, YU Ze-yuan, LI Xing-guo, SHAO Qin

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** Taking different ploidy striffin melon materials, including diploid, triploid crossed with  $4 \times \times 2 \times$  and autotetraploid induced by colchicine were selected for text their nutritional traits and the variabilities of EST, POD and SOD isoenzymes in leaves. The results showed that the content of soluble sugar, content of soluble solids, content of soluble protein, content of VC and content of amino acid were divergent in different ploidy striffin melon as follow: soluble sugar, VC and amino acid contents made the same trend,  $4 \times > 3 \times > 2 \times$ ; soluble solids and soluble protein contents made the same trend,  $3 \times > 4 \times > 2 \times$ ; the EST isoenzyme bands of diploid and triploid were all two more than those of autotetraploid in leaves. The number of POD and SOD isoenzyme bands of different ploidy melon materials were same, but the expressed quantity of polyploid was higher. The results indicated the isoenzyme band pattern of different ploidy melon materials were same, but the activities in polyploid were stronger than that in the diploid.

**Key words:** striffin melon; autopolyploidy; isoenzymes; fruit nutritional traits