

黄瓜亲本与其杂交种 F_1 代的同工酶比较分析

刘松虎, 朱庆松

(信阳农业高等专科学校 园艺系, 河南 信阳 464000)

摘 要: 选用 2 个强优势华北型黄瓜杂交种 F_1 (9514、9518) 及其亲本, 对子叶期和苗期过氧化物酶和酯酶的同工酶进行了电泳分析。结果表明: 利用黄瓜子叶期和幼苗期过氧化物酶和酯酶的同工酶电泳酶谱对黄瓜的杂种优势进行早期预测, 不是很有效的途径; 通过电泳酶谱分析表明, 黄瓜的遗传差异较小, 遗传基础相对狭窄, 遗传变异率低。在杂交育种中, 应尽可能选配遗传差异大的亲本, 以扩大黄瓜杂交种的遗传基础, 增强杂种后代对环境的适应性、抗逆性。

关键词: 黄瓜; 同工酶; 杂交种

中图分类号: S 642. 203. 6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2013)08-0100-03

黄瓜(*Cucumis sativus* L.) 属葫芦科(Cucurbitaceae) 甜瓜属(*Cucumis*) 植物, 在露地栽培和保护地栽培中均居首位, 在我国“菜篮子工程”中占有重要地位。目前推广的黄瓜品种基本上都是利用杂种优势培育出的杂交种 F_1 代, 需通过多年田间试验, 用较多的优良自交系, 配制大量的杂交组合相互杂交, 测定其配合力, 从中选育出可供生产用的强优势组合。选育过程需要花费的人力、物力和育种时间较多。

同工酶是基因直接转录和翻译的产物, 是同一生物体内具有相似或相同底物特异性的一种酶的多种分子结构形式, 在很大程度上反映了遗传物质的差异。利用同工酶进行杂种优势早期预测, 在玉米^[1-3]、百合^[4]、西瓜^[5]、甜瓜^[6]等作物上已有相关报道, 但在黄瓜等蔬菜作物的研究报道较少。该试验选用 2 个强优势杂交种(通

过选育的优良自交系杂交, 配合力分析后, 在生产上大面积推广的杂交种 F_1 代) 及其亲本, 对子叶期和幼苗期的过氧化物酶和酯酶同工酶进行比较分析。旨在利用同工酶技术, 从分子生物学角度, 探索作物产生杂种优势的机理和对杂种优势进行早期预测的有效措施, 从而提高育种工作效率, 缩短育种年限, 为加快选育作物杂交种 F_1 代新品种提供实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料是生产上大面积推广的 2 个强优势华北型黄瓜杂交种 F_1 代(9518、9514) 及其杂交亲本。材料编号如下: 9518 母本=A, 9518 父本=B, 9518 F_1 = A×B, 9514 母本=D, 9514 父本=E, 9514 F_1 = D×E。

1.2 试验方法

试验采用随机区组设计, 在装配式钢管大棚中进行, 外覆盖有防虫网。小区面积 6 m×3 m, 3 次重复, 畦间(大)行距 60 cm, 畦内(小)行距 50 cm, 株距 25~30 cm。一般管理同大田。

第一作者简介: 刘松虎(1977-), 男, 河南信阳人, 硕士, 讲师, 现主要从事园艺植物遗传育种的教学与科研工作。E-mail: shliu2012@126.com

收稿日期: 2012-12-19

Study on Callus Induction from Leaf Explants of *Aquilaria sinensis*

LIN Chao, MA Xin-ye, LIU Feng, ZHAN Ruo-ting

(Key Laboratory of Chinese Medicinal Resource from Lingnan, The Research Centre of Chinese Herbal Resource Science and Engineering, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: Taking the leaves of *Aquilaria sinensis* as experimental materials, the leaflet age, explants size, explants inoculation, lighting, concentration and combination of hormone on callus induction were studied. The results showed that the leaflet age 12 d blades cut into 0.5 cm² segments, face up vaccination on MS medium add with 1.0 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L ZT, dark culture, callus induction rate could reach 100%.

Key words: *Aquilaria sinensis*; callus; induction

1.2.1 取样及酶液制备 取父母本及其杂交种 F_1 代叶片,清洗干净,沥干水分,称取 1 g,加入 5 mL Tris-HCl 提取缓冲液,置于冰上研磨,转入 7 mL 离心管中,13 000 r/min 离心 15 min,取上清液(酶的提取液)。然后将酶提取液分装在 1.5 mL 离心管中,加入 1 滴溴酚蓝,混合均匀后分装, -80°C 储存备用。

1.2.2 凝胶的制作、电泳 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法,分析过氧化物酶、酯酶。浓缩胶浓度为 3%,分离胶浓度设置 10%,提取酶液的点样量为 25 μL , Tris-甘氨酸(pH 8.3)为电极缓冲液,将电泳槽置于 4°C 环境中稳流电泳,浓缩胶电流设置为 5 mA,分离胶为 10 mA,电泳 3 h 左右。

1.2.3 凝胶染色、扫描 将凝胶浸入染色溶液,染色原理及配制方法参照文献[7-9]。在室温下染色 2~5 min,酶带清晰时即利用凝胶成像系统成相,获得酶谱图像,并进行电泳迁移率(R_f)的计算。

2 结果与分析

2.1 黄瓜子叶期和幼苗期过氧化物酶同工酶电泳分析

图 1 电泳图谱表明, $A \times B$ 和 $D \times E$ 2 个杂交组合,不论是在子叶期,还是幼苗期,杂交种 F_1 代的过氧化物

酶电泳酶谱均没有显著的差异,而且也没有“互补酶”带(2 个亲本都没有新的同工酶带)出现。只是在 $A \times B$ 杂交组合的杂交种 F_1 代的同工酶电泳酶谱染色较深,母本 A 的酶谱染色次之,父本 B 的酶谱染色更浅。这也许是杂交种 F_1 代植株的过氧化物酶基因比较活跃,表达翻译的基因产物较为丰富,造成同工酶电泳染色比较深,而父本过氧化物酶基因的活性相对较弱,所表达翻译的基因产物较少,这与在杂交种与亲本的过氧化物酶活性的测定分析结果是一致的,即杂种 F_1 代的过氧化物酶活性显著高于亲本。在杂交组合 $D \times E$ 中,在子叶期,过氧化物酶同工酶的电泳分析表明,同样是杂交种 F_1 代的酶谱染色较深,亲本 E 的酶谱染色次之,亲本 D 的酶谱染色最浅,只是没有 $A \times B$ 组合中的酶谱染色差异明显;而在幼苗期的电泳染色结果分析表明,杂交亲本的酶谱染色与其杂交种 F_1 代的染色结果基本一致。这 2 个组合的电泳结果分析表明,只能用酶谱颜色的深浅,判断相关基因的表达量强弱,进而判断是否具备杂种优势不是很有效的途径。这与在玉米等^[14,10]作物上可以利用过氧化物酶同工酶电泳酶谱差异作为早期预测杂交种 F_1 代的杂种优势不一致。

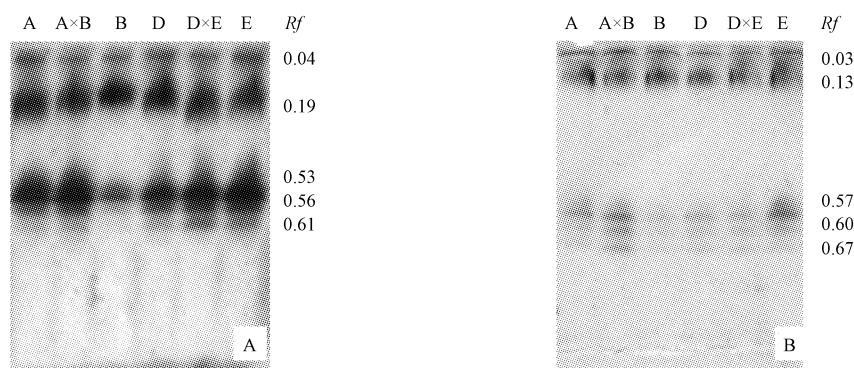


图 1 黄瓜子叶期(A)和幼苗期(B)过氧化物酶同工酶的电泳染色

Fig. 1 Results of the electrophoresis patterns of the peroxidase of cucumber in the cotyledon(A) and seedling stage(B)

2.2 黄瓜子叶期和幼苗期酯酶同工酶电泳分析

由图 2 可以看出,在杂交组合 $A \times B$, $D \times E$ 中,不论

是在子叶期还是在苗期,杂交种 F_1 代酯酶的电泳结果均没有表现出显著的差异,即没有出现“互补酶”和“杂种

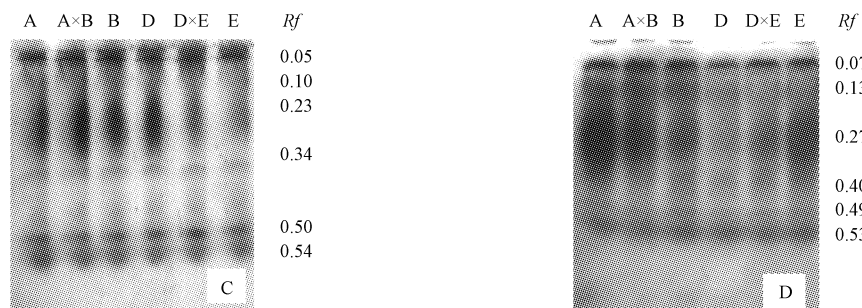


图 2 黄瓜子叶期(C)和幼苗期(D)的酯酶同工酶电泳染色

Fig. 2 Results of the electrophoresis patterns of the esterase of cucumber in the cotyledon(C) and seedling stage(D)

酶”带。表明利用黄瓜子叶期和苗期的酯酶同工酶电泳酶谱差异预测黄瓜杂交种 F_1 代的杂种优势不是有效的办法。

3 结论与讨论

从黄瓜酯酶和过氧化物酶的同工酶电泳染色分析表明,黄瓜过氧化物酶的电泳酶谱比酯酶的电泳酶谱规则、清晰,但利用黄瓜子叶期和幼苗期的过氧化物酶和酯酶的同工酶电泳进行黄瓜杂种优势的早期预测,不是很有效的途径。因为电泳结果没有出现明显的“互补酶”或“杂种酶”带,只能部分的从同工酶电泳染色后的酶谱染色的深浅来判断,不是很可靠。此外,应用同工酶对黄瓜杂种优势进行早期预测,还容易受取样的作物生长发育时期、取样叶片的位置、试验方法等影响试验的可靠性,从另一方面也反应了生物体酶系统本身的高度复杂性。

电泳结果分析表明,生产上应用的黄瓜品种遗传差异较小,遗传基础相对狭窄,遗传变异率低。这与陈劲枫等^[11]、Staub 等^[12]、Knerr 等^[13] 研究结果是一致的。在杂交育种过程中,要想扩大黄瓜的遗传变异,应尽可能选配遗传差异大的亲本,以扩大黄瓜杂交种的遗传基础,增强杂种后代对环境的适应性、抗逆性。

该试验只是选用了在生产上被广泛应用的 2 个强优势杂交种 F_1 代及其亲本进行研究,是否因为样本数目较少而影响试验结果的代表性,有待进一步的试验研究。

参考文献

- [1] 李继耕,杨太兴,曾孟潜. 同工酶与玉米杂种优势研究I. 营养生长期杂种与其亲本的比较[J]. 遗传,1979(3):3-7.
- [2] 杨太兴,曾孟潜,李继耕. 同工酶与玉米杂种优势研究IV. 关于过氧化物酶的杂种酶的分析[J]. 遗传,1981(6):31-33.
- [3] 韩锦锋. 同工酶与玉米杂种优势相关性[J]. 河南农学院学报,1981(2):36-40.
- [4] 谷丽佳,王文和,王树栋,等. 同工酶分析法鉴定百合杂种 F_1 代[J]. 中国农学通报,2012,28(1):148-152.
- [5] 陈清华,彭庆务,黄涛,等. 西瓜过氧化物酶、酯酶同工酶酶谱及其利用研究[J]. 广东农业科学,1998(2):22-24.
- [6] 王亚夏. 甜瓜的杂种优势与同工酶分析[J]. 兰州大学学报(自然科学版),1982,18(4):119-124.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [8] 陈建勋,王晓峰. 蛋白质技术手册[M]. 北京:科学出版社,2002:146-257.
- [9] 郭晓君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [10] 吴红美,徐跃进,万正杰. 甘蓝型油菜(Eru CMS)与甘蓝种间杂种的同工酶和蛋白质分析[J]. 植物科学学报,2011,29(1):87-92.
- [11] 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.
- [12] Staub J E, Fredrich L, Marty T L. Electrophoretic variation in cross compatible wild species of Cucumis[J]. Can J Bot,1987,65:792-798.
- [13] Knerr L D, Staub J E, Holder D J, et al. Genetic diversity in *Cucumis sativus* L. assessed by variation at 18 allozyme loci[J]. Theor Appl Genet, 1989,78:119-128.

Comparing Study on the Isozyme of Hybrid F_1 and Parents of *Cucumis sativus* L.

LIU Song-hu, ZHU Qing-song

(Department of Horticulture, Xinyang Agriculture College, Xinyang, Henan 464000)

Abstract: Two crosses F_1 in North China (9514, 9518) with strongly heterosis and their parents were studied on the isozyme electrophoresis pattern of peroxidase and esterase in the experiment. The results showed that it was not effective measurement to predict the cucumber heterosis with the isozyme electrophoresis pattern esterase and peroxidase in the cotyledon and seedling stage. It was relatively narrow that the genetic basis of the cucumber after the analysis of the electrophoresis pattern. In the breeding process, it should be possible to select genetic differences in parents of hybrid cucumber, to expand the genetic basis of hybrid progeny, enhance the adaptability to the environment.

Key words: *Cucumis sativus* L.; isozyme; hybrid