

对 TMV 抗性不同番茄品种和 变种的同工酶比较分析

张相岐 王海廷 黄永芬 汪清胤

(辽宁师范大学生物系)

(哈尔滨师范大学生物系)

摘 要

本实验应用连续浓度梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳和分光光度法,在普通番茄 *Lycopersicon esculentum* 中,对烟草花叶病毒 (TMV) 五个抗性不同的栽培品种和三个半栽培型变种,在被 TMV 感染后叶片中过氧化物酶同工酶和谷氨酸脱氢酶同工酶的变化,进行酶谱分析和过氧化物酶总活性的测定。结果表明,过氧化物酶对 TMV 的感染反应十分强烈,抗性和非抗性材料都有显著的活性增加,增加的幅度与材料本身对 TMV 抗性程度有密切关系,即含有抗 TMV 基因的品种和半栽培型变种过氧化物酶活性增加的幅度,明显低于敏感型品种。由此推断,过氧化物酶有可能成为衡量番茄品种,对 TMV 抗性的一个定量化指标,在筛选抗病品种中加以应用。

目前,应用同工酶分析技术,探索抗病的遗传及生理生化基础的工作已日益引起人们的重视。有些研究报告肯定了同工酶与番茄抗病性的相关性。番茄病毒病是一类不可逆转的病害,对番茄生产危害极大。1983年刘珠耀等曾报告了番茄叶片苹果酸脱氢酶同工酶在病毒感染后,活性明显降低,酶带减少。其他就同工酶与番茄病毒病相关关系的研究工作还不多。本实验目的在于探讨同工酶与番茄对 TMV 抗性的相关性,进而揭示植物的抗病机理。

材 料 和 方 法

实验材料为普通番茄的栽培品种迈球、桔黄佳辰、苹果青、强力米寿和 MR-9, 半栽培型变种粉梨、小黄梨和粉长。在第一花序第一朵花盛花期,分别取感病株和正常株第一花序上叶,进行酶液的提取。

酶样品的制备程序是:取鲜叶立即用无离子水冲洗干净,用吸水纸吸干表面水份,以每克鲜叶加 2 毫升 PH7.2 的蔗糖磷酸提取缓冲液,冰浴下研磨成匀浆,4000 转/分离心 15 分

钟, 取上清液贮存于冰箱中备用。

采用双层双垂直板型连续浓度梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳进行同工酶谱分析。分离胶的规格为 $130 \times 180 \times 0.625 \text{ mm}^3$, 浓度范围为7.5—15%, 浓缩胶浓度为3.1%。

电极缓冲液为Tris—甘氨酸系统, PH8.3 (Tris4.6克, 甘氨酸30克, 定溶至1升, 贮存于2—4℃冰箱中, 用时用无离子水, 稀释10倍)。点样量过氧化物酶为20微升, 谷氨酸脱氢酶为40微升。所有供试样品均放在一块凝胶上电泳, 保持相同条件, 以利比较分析。电泳均重复三次以上。电泳在2—4℃冰箱中进行, 开始30分钟电压为200伏, 然后调至300伏, 电流强度约15毫安/板。在色素带泳, 动至凝胶下缘1厘米时结束电泳, 约需4小时。

过氧化物酶同工酶染色方法, 参照黄寿松等的方法。谷氨酸脱氢酶同工酶染色, 基本按Shaw等的方法, 只是PMS浓度由2毫克/100毫升增加至5毫克/100毫升。过氧化物酶活性测定参考刘存德等和王秀珍等的方法。

结果和讨论

从电泳图谱看, 供试的同一番茄品种或变种的正常株与 TMV 感染株, 在同一发育时期相同部位叶片中, 过氧化物酶同工酶成份是相同的, 即同工酶谱带数目和相对迁移率是相同的。但染色差异非常明显, 病叶中过氧化物酶同工酶谱带着色明显加深, 酶带较宽(图1)。

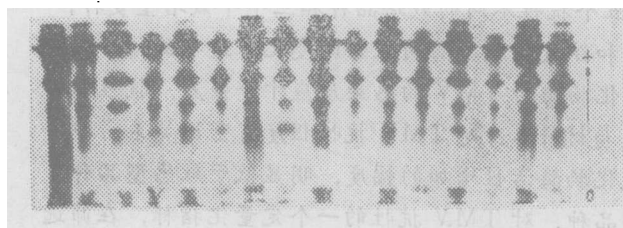


图1、正常与 TMV 感染的番茄叶片过氧化物酶同工酶谱比较

左起顺序为, 小黄梨+, -; 迈球+, -; 苹果青+, -; 粉梨+, -; 桔黄佳辰+, -; 强力米寿+, -; MR-9+, -; 粉长+, -。
(+: 正常叶; -: TMV 感染叶)。

谷氨酸脱氢酶同工酶谱, 在 TMV 感染后的叶片中无明显变化, 只显示一条带。由此看来, 叶片中的谷氨酸脱氢酶对 TMV 感染不敏感。

对过氧化物酶总活性的测定结果列于表, 表中数据表明, TMV 感染的病叶中的过氧化物酶活性, 明显高于正常叶。T 值测验结果是所有供试材料均达极显著水平。

正常与 TMV 感染的番茄叶片中的过氧化物酶总活性比较表

材料名称	正常叶 \bar{X}_1	感病叶 \bar{X}_2	Sd	t	P
迈球	0.014	0.158	0.007	20.571	<0.001
桔黄佳辰	0.048	0.289	0.006	40.167	<0.001
苹果青	0.051	0.208	0.008	19.625	<0.001
MR-9	0.053	0.160	0.007	15.286	<0.001
强力米寿	0.071	0.138	0.010	6.700	<0.005
小黄梨	0.068	0.193	0.008	15.625	<0.001
粉梨	0.083	0.215	0.006	22.000	<0.001
粉长	0.129	0.267	0.006	23.000	<0.001

由表结果可以认为, 抗性与非抗性品种叶片中过氧化物酶对 TMV 的感染的反应都是很

强烈的。但是,当我们求出同一品种或变种的感病叶与正常叶中,过氧化物酶活性之比时,就清楚地看到,各个材料在被 TMV 感染之后,叶片中过氧化物酶活性增加的幅度,是有明显差别的。强力米寿只增至原来的1.944倍,而迈球却增至 11.286 倍。并且发现有抗病基因的两个品种,强力米寿和 MR—9 以及三个半栽培型变种过氧化物酶活性增加的幅度均小于其余三个非抗品种。

另一方面,我们还观察到,在取材时,各个材料的感病程度是不同的,即抗性材料的感病程度较轻,非抗品种感病程度较重。这种感病程度的差别,恰恰与叶片中过氧化物酶活性的变化呈平行关系,即外部症状越来越严重的,其体内过氧化物酶活性增加的幅度越大。

由以上的分析结果可以看出,番茄叶片中的过氧化物酶同工酶,在 TMV 感染后活性增加的幅度与材料本身的基因对 TMV 的抗性程度,以及外部症状的轻重有密切关系,甚至能够量化地反映一个品种的抗 TMV 程度或已感病程度。所以,这种体内的“生化症状”有望作为衡量一个番茄品种抗 TMV 程度的一种指标,在番茄的遗传育种中,尤其是在抗 TMV 品种的筛选和鉴定上加以应用。

本实验结果证明,抗性品种在 TMV 感染后,叶片中的过氧化物酶活性增加较少,即在病毒侵染后,过氧化物酶表现出相对的稳定性。这种酶系统的相对稳定性,有可能是植物抗病性的原因之一。但是,目前尚没有人提出一种能被广泛接受的植物同工酶与抗病关系的而论。所以深入地研究各种酶在各种病害侵染时的表现,不仅在生产实践中具有实用价值,而且在目前对揭示植物抗病性的遗传机理也有重要的理论意义。

巨峰葡萄群主要品种简介

1 先锋:由巨峰与康能玫瑰杂交培育而成。比巨峰树势强,落果轻,抗旱耐寒。

2、伊豆锦:由巨峰与康能玫瑰杂交所得后代再与康能玫瑰杂交培育而成。果粒黑紫色。

3 红富士、红端宝、龙宝:由黄玫瑰同巨峰与康能玫瑰杂交的后代再杂交后,井川秀雄氏从上述杂交组中获得 5 株实生苗后代,其中 666 号和 667 号定名为“红富士”,而 666 号又取名为“龙宝”,665 号取名为“红端宝”。这一群体特性是树势强,抗病力和抗寒力强,座果率高于巨峰。母本黄玫瑰属欧美杂交种(玫瑰香与钻石杂交)。

4 红伊豆:可能是红富士芽变。

5 高尾:从巨峰实生苗中选出。

6 红后:由巨峰与巨峰杂交选育而成。叶片大。

7 信农贝蕾:属巨峰芽变。

8 红密:来历不明。

9 黑奥林和奥林匹亚:1953年由巨峰同巨峰杂交所得三个品系。从红色品系中选出的叫奥林匹亚,从黑色品系中选出的叫黑奥林。黑奥林于1977年引入我国兴城果树研究所。现已在十几个省市均有栽培。

(龙元禄)