

不同油豆角品种过氧化物酶活性及其同工酶酶谱分析

董 原

(齐齐哈尔大学 食品与生物工程学院 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘 要:应用过氧化物酶同工酶技术,通过相似系数比较和聚类分析,比较 7 个油豆角品种不同器官过氧化物酶(POD)的活性,并对其亲缘关系进行探讨。结果表明:不同品种 POD 活性不同,同一品种不同器官的 POD 活性也不同,根部的 POD 活性高于叶的,而叶片的高于茎的;不同器官 POD 酶谱不同,同一器官不同品种的酶带数也不尽相同;‘油豆子’、‘俏春大英油豆王’和‘齐研五号架油豆’亲缘关系比较近;‘俏春 3 号地油’与‘油豆子’的亲缘关系最远。

关键词:油豆角;过氧化物酶活性;同工酶酶谱;亲缘关系

中图分类号:S 643.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)06-0144-02

东北油豆角是我国东北地区(黑龙江、吉林为主)特有的一种优质菜豆品种,是东北地区普遍栽培的大英型菜豆^[1]。关于其种质资源的研究已有报道^[2],但品种间过氧化物酶活性及其同工酶酶谱的比较尚未见报道。现从酶活性和酶谱 2 个方面比较油豆角品种间的差异,以探讨油豆角种质资源研究的新方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

7 个油豆角品种(‘油豆子’、‘齐研五号架油豆’、‘超纯一棵树’、‘太空大将军’、‘俏春大英油豆王’、‘俏春 3 号地油’和‘矮生宽荚油豆王’),由齐齐哈尔大学实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 不同器官 POD 活性的测定 POD 酶液的提取:取 7 个品种的油豆角(4 片真叶)幼苗用清水清洗后,用 75%酒精消毒滤纸吸干水分,每个品种分别称取根、茎和叶各 0.6 g,放入经预冷的研钵中,加入少许 PVP 和经预冷的 0.02 mol/L KH_2PO_4 2 mL 研磨,将匀浆液全部转入 3 mL 离心管,6 000 r/min 离心 20 min,上清液 4℃保存于冰箱中备用。POD 过氧化物酶活性测定:取酶提取液 0.1 mL,用 0.02 mol/L KH_2PO_4 稀释至 10 mL,试验组取 1 mL 提取液和 3 mL 反应液,对照组为 3 mL 反应液和 1 mL 0.02 mol/L KH_2PO_4 ,用 722 分光光度计于波长 470 nm 下测定反应体系的吸光度。以每分钟 OD 值变化来表示 POD 活力,即以 $\Delta\text{OD}/(\text{g} \cdot \text{min})\text{FW}$ 表示其活性^[3]。

作者简介:董原(1967-),男,硕士,实验师,现从事植物学科研及教学等方面工作。E-mail: smdy8001@163.com。

收稿日期:2011-01-12

1.2.2 不同器官 POD 酶谱分析 POD 同工酶酶液的提取:取幼苗(4 片真叶)清水清洗后,用 75%酒精消毒滤纸吸干,每个品种分别称取根、茎和叶各 0.5 g(每个品种的根茎叶均来自同一植株),置于预先预冷的研钵中,加 1 mL 样品提取液(pH 8.0 Tris),充分研磨,转移至 1.5 mL 离心管中,6 000 r/min 离心 20 min,结束后取上清液转移至新的离心管,4℃保存于冰箱中^[3]。电泳:采用 DYY-6C 型电泳仪。分离胶浓度 10%,pH 8.9;浓缩胶浓度 5%,pH 6.7;电极缓冲液为 Tris-Gly, pH 8.3;进样量 30 μL ,跑浓缩胶时,电压控制在 70~80 V,跑分离胶时电压控制在 100~110 V,电泳 4 h,并以 0.2%的溴酚兰为前沿指示剂。剥胶、染色和固定:电泳结束后,撬开玻璃板(剥胶时要小心,不能将凝胶弄碎,可借助于注射器),将凝胶板做好标记后放在大培养皿内,加入染色液,染色 40 min 后,待酶带呈紫红色后取出漂洗,于 7%乙酸中保存。酶谱处理:运用 TotalLab TL100 软件得出在聚丙烯酰胺凝胶上出现的酶带的迁移率,以酶带位置相近的诸带为分隔区域,将酶带分区,出现的记为 1,不出来的记为 0。根据所统计的片段有无,用 NTSYS-PC 程序算出遗传相似系数,并做聚类分析^[4]。

2 结果与分析

2.1 不同器官 POD 活性的比较

由图 1 可看出,7 个品种不同器官的 POD 活性,‘俏春大英油豆王’的茎、叶、根的 POD 活性最低,其次是‘超纯一棵树’,最高的是‘油豆子’。结果表明,相同植株不同器官的 POD 活性不同,不同植株其酶活性也不相同,酶活性根要高于叶,而叶要高于茎为整体趋势。

2.2 不同器官 POD 酶谱分析

2.2.1 茎叶中 POD 同工酶的比较 由表 1 可看出,不同品种茎、叶含有的 POD 同工酶较少,一般 1~2 条酶谱

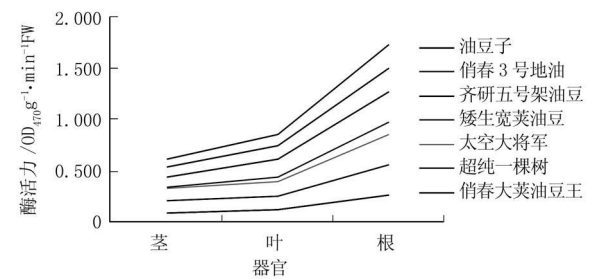


图1 不同油豆角品种不同器官的 POD 活性

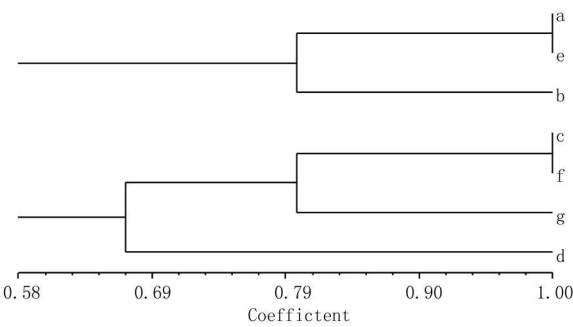


图2 不同油豆角品种的聚类分析

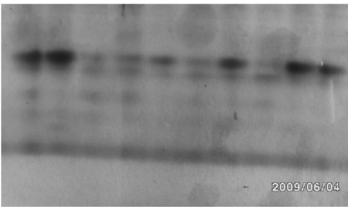


图3 茎部电泳酶谱

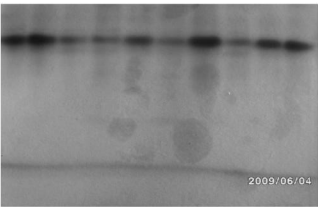


图4 叶部电泳酶谱

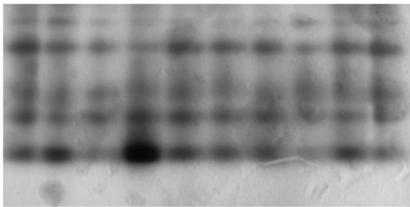


图5 根部电泳酶谱

表1 不同品种油豆角茎和叶中的酶带迁移率

油豆子	齐研五号架油豆	矮生宽荚油豆王	俏春3号地油	俏春大荚油豆王	超纯一棵树	太空大将军
茎	0.354	0.358	0.369	0.362	0.235	0.465
叶	0.198	0.198	0.195	0.195	0.216	0.244

表2 不同品种油豆角根部酶带迁移率

品种	酶带数及迁移率					酶带数
	A区 (0.065~0.105)	B区 (0.105~0.300)	C区 (0.300~0.400)	D区 (0.400~0.600)	E区 (0.600~0.700)	
a	1(0.098)		1(0.339)	1(0.463)	1(0.654)	4
b	2(0.065, 0.101)	1(0.132)		1(0.468)	1(0.656)	5
c	1(0.103)	1(0.132)	1(0.344)	1(0.463)	1(0.654)	5
d	1(0.103)		1(0.331)	1(0.468)	1(0.659)	4
e		1(0.109)		1(0.455)	1(0.654)	3
f	1(0.103)	1(0.140)	1(0.333)	1(0.463)	1(0.654)	5
g		2(0.111, 0.140)	1(0.346)		1(0.651)	4

注 a 油豆子; b 齐研五号架油豆; c 矮生宽荚油豆王; d 俏春3号地油; e 俏春大荚油豆王; f 超纯一棵树; g 太空大将军。以下图表同。

(图3~4),且每条谱带的迁移率数值相等或相近。

2.2.2 根中POD同工酶的比较 由表2、图5可看出,不同品种根部酶谱谱带数多于茎叶,且品种间也有差异。相似系数大说明品种间的亲缘关系较近。相反,相

表3 不同品种油豆角根部POD同工酶间的相似系数

品种	a	b	c	d	e	f	g
a	1.0						
b	0.6	1.0					
c	0.8	0.8	1.0				
d	0.4	0.6	0.8	1.0			
e	1.0	0.8	0.6	0.4	1.0		
f	0.8	0.8	1.0	0.8	0.6	1.0	
g	0.4	0.4	0.6	0.4	0.6	0.6	1.0

似系数小,品种间的亲缘关系较远。由表3和图2可看出,7个油豆角品种的遗传相似系数在0.58~1.00之间。遗传相似系数表和聚类分析图表明,‘油豆子’、‘俏春大荚油豆王’和‘齐研五号地油’亲缘关系比较近;‘矮生宽荚油豆王’、‘超纯一棵树’和‘太空大将军’亲缘关系较近;‘俏春3号地油王’与其它品种的亲缘关系最远。

参考文献

[1] 程敏生,李广惠,胡秀芳.东北油豆角大面积高产栽培技术[J].北方园艺,2004(2):25-28.
[2] 詹云.黑龙江油豆角种质资源的收集整理与利用[J].中国蔬菜,2006(增刊):22-24.
[3] 曹丽,曲柏宏.应用POD同工酶技术研究梨品种的分类地位[J].湖北农业科学,2006(1):7-9.
[4] 陈启林,陈毓茎,陈静.同工酶PAGE凝胶电泳在大白菜品种鉴定中的应用研究[J].亚热带植物科学,1998(2):23-26.

Study on Peroxidase Activity and Its Isozyme Patterns Among Species of Snap Beans

DONG Yuan

(College of Food and Bioengineering, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

Abstract: In this paper, the POD activity in different cultivars was different from the same species. the POD activity in roots was higher than that in leaves and in leaves higher than stems. POD isozyme patterns in different organs were different and that in same organ of different species were different. Analysis showed that “Youdouzi” was very near to “Qiaochundajaiyoudouwang” and “Qiyanyuhao” in genetic relationship. The relationship between “Youdouzi” and “Qiaochun3haodiyoudou” was the farthest.

Key words: snap beans; Peroxidase(POD) activities; isozyme patterns; genetic relationship