

大豆不同器官几种同工酶的分析

张莉萍* 苗以农

(东北师范大学生物系)

摘 要

本文利用薄层垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,分析了五个大豆品种的子叶、种皮、下胚轴、胚根、叶片及根瘤中的酯酶、酸性磷酸酯酶、过氧化物酶和谷氨酸草酰乙酸转移酶四种同工酶。结果表明,大豆不同品种、不同器官的几种同工酶酶谱均有差异,下胚轴和胚根中的同工酶酶谱相似,种皮和子叶中的酯酶及酸性磷酸酯酶品种间差异较大,叶片和根瘤中的过氧化物酶表现明显差异,品种间谷氨酸草酰乙酸转移酶差异不大。

酶在结构上的差异主要来自基因,而酶蛋白又可控制代谢类型,最后表现为性状及其功能的差异。同工酶酶谱分析可以作为从分子水平识别基因存在和表达的一种生化指标。

有关大豆同工酶及其在品种鉴定中的应用研究国内外已有报道^[1-8],本文在前人工作的基础上,测定和分析了大豆不同器官的同工酶酶谱:分解酶类——酯酶和酸性磷酸酯酶、氧化酶类——过氧化物酶、转移酶类——谷氨酸草酰乙酸转移酶,并比较了品种间同工酶的差异,旨在为同工酶分析用于大豆生理生化研究提供基础资料。

材 料 和 方 法

供试大豆品种或品系 5 个:猴子毛,油82—10,油83—19,油82—24,跃进 5 号。分别取萌发种子(1, 3, 5 天)的种皮、子叶、下胚轴、胚根及始花期的功能叶片和根瘤,每100mg加1.5mL、pH8.0、0.1MTris—HCl样品提取液,冰浴中研磨,3500转/分离心15分钟制得上清液。

薄层垂直平板聚丙烯酰胺凝胶采用文献^[9]方法制备,稳压电泳后,染色方法酯酶按吴少伯法^[9]。酸性磷酸酯酶用袁晓华法^[10],过氧化物酶采用的是改良醋酸联苯胺法^[11],谷氨酸草酰乙酸转移酶参照Sicilianc的方法^[12]。

胶板制成干板后用S—721扫描仪扫描记录,根据酶带的数目、宽窄、染色深浅、Rf值等酶带特征对结果进行分析。

结 果 和 分 析

一、分解酶类——酯酶(ES)和酸性磷酸酯酶(AP)

(一)不同器官分解酶同工酶酶谱

大豆不同器官的ES、AP酶谱是不同的(见图1)。

* 现在丹东市科技情报所工作。

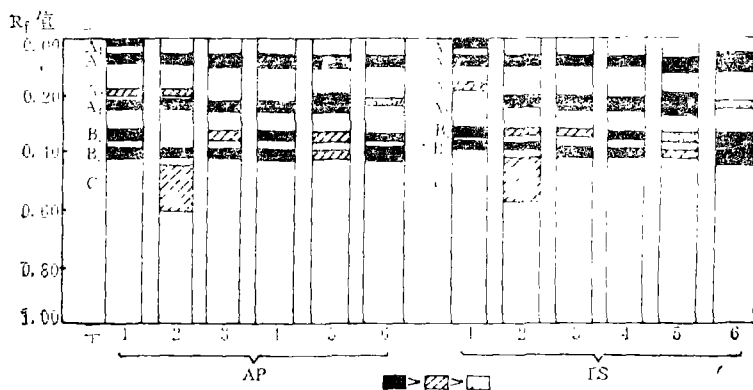


图1 不同器官ES、AP同工酶酶谱

1. 子叶 2. 种皮 3. 下胚轴 4. 胚根 5. 叶片 6. 根瘤

子叶中的ES含A₁、A₂、A₃、B₁、B₂5条酶带，AP含A₁、A₂、A₃、A₄、B₁、B₂6条酶带。

种皮中的分解酶同工酶的酶带数目较多，染色也较深，ES含有A₂、A₄、B₁、B₂、C₁5条酶带，AP含有A₂、A₃、A₄、B₂、C₁5条酶带。

下胚轴和胚根中的分解酶同工酶酶谱比较相似，ES和AP皆含有A₂、A₄、B₁、B₂4条酶带，且下胚轴和胚根两器官分解酶中的A₂、A₄、B₂酶带在宽窄、染色深浅及Rf值上均相似，只是胚根中的B₁酶带较下胚轴中的B₁酶带染色较浅。

叶片和根瘤中的ES、AP均含有A₂、A₄、B₁、B₂4条酶带，酶带较宽，染色较深。

(二) 不同品种分解酶同工酶的比较

不同品种子叶的ES同工酶其A₁酶带完全相同，A₂和A₃酶带不同品种间分别在酶带宽窄和染色深浅上略有差别，品种间差别主要体现在B₁和B₂酶带上。在B₁酶带上不同品种其染色深浅和宽窄不同，在B₂酶带上品种间有无此带表现明显(见图2)。

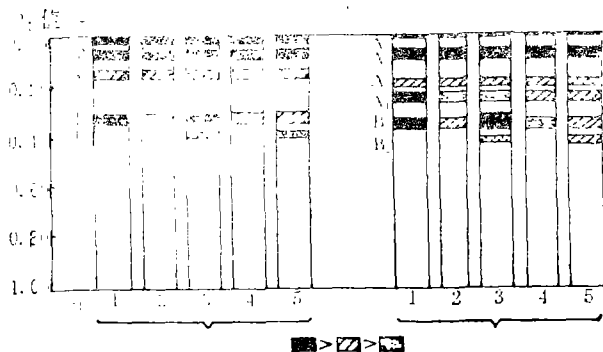


图2 大豆不同品种子叶中的ES、AP酶谱

1. 猴子毛 2. 油82-10 3. 油83-19
4. 油82-24 5. 跃进5号。

子叶的AP其A₁、A₂、A₃酶带品种间无差异，A₄、B₁、B₂酶带的宽窄，染色深浅的不同及酶带的有无体现了品种间的差异(见图3)。

综合分析表明，大豆不同品种子叶的分解酶同工酶差别较大，且其差别主要体现在高Rf值的酶带上。这和Payne^[4]、Gorman^[5, 6]测定ES、AP品种间差异得出的结论是一致的。

大豆叶片、根瘤、下胚

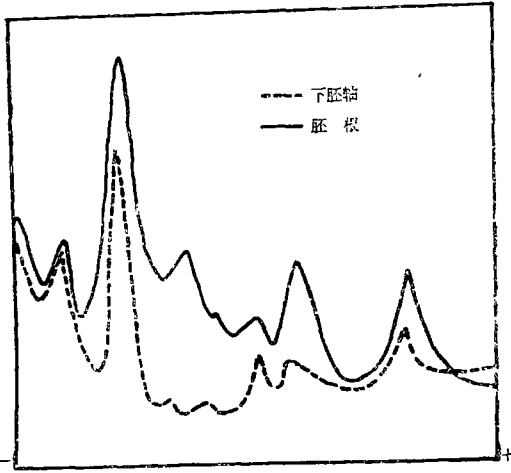


图3 下胚轴、胚根POD扫描图
(OD, 580nm)

深(参见图4), 在扫描图上表现为胚根中的POD峰值高于下胚轴中POD相应的峰值。另外, 品种间下胚轴和胚根中的POD同工酶酶谱的差别是相似的, 品种油82—19下胚轴

轴中的分解酶同工酶, 在供试五个大豆品种间差别不大。除子叶外, 大豆种皮中的ES、AP品种间也呈现较为明显的差异, 亦可用于品种间比较鉴定。

二、氧化酶类——过氧化物酶(POD)

下胚轴和胚根中的POD同工酶酶谱很相似。由图3可见: 下胚轴和胚根的POD酶峰数目相同, 峰位一致, 即它们的酶带数目相同, 且每一酶带的Rf值也相同, 所不同的是胚根中的POD较下胚轴中的POD染色深, 而在扫描图上表现为胚根中的POD峰值高于下胚轴中POD相应的峰值。另外, 品种间下胚轴和胚根中的POD同工酶酶谱的差别是相似的, 品种油82—19下胚轴和胚根中的POD酶带数目均较多、染色均较深, 而品种油82—10下胚轴和胚根中的POD酶带数目均较少、染色也均较浅。

子叶中的POD同工酶酶带数目少且不易检出。叶片和根瘤中的POD同工酶酶带数目多、染色深, 品种间差别较明显, 可用于大豆品种分析。

总之, 大豆不同品种、不同器官中的POD同工酶酶谱不同。

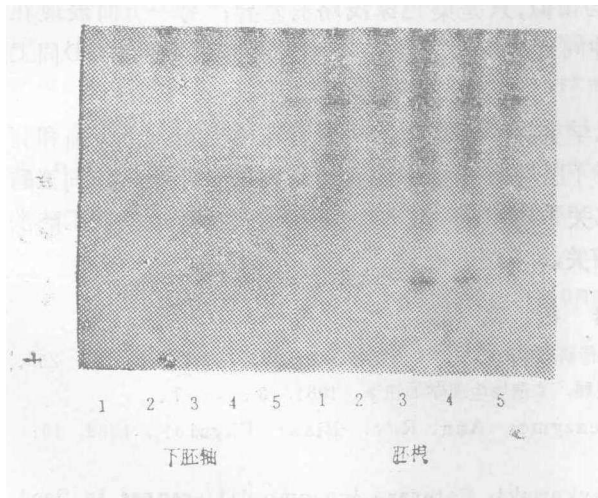


图4 萌发第五天下胚轴、胚根中的POD酶谱
1. 猴子毛 2. 油82—10 3. 油83—19
4. 油82—24 5. 跃进5号。

不同。子叶的GOT共显示I、II、III 3条酶带, 酶带I、II染色较深, 酶带III染色较浅。种皮中只含有1条较窄、染色较浅的酶带II。叶片和根瘤中含酶带II、III, 染色较深。下胚轴和胚根的GOT同工酶酶谱相似, 均含有II、III 2条酶带, 且在酶带宽窄、染色深浅、Rf值上均相似(见图5)。

不同品种间, 种皮、下胚轴、胚根、叶片和根瘤中的GOT同工酶酶谱均差别不大。品种间子叶的GOT同工酶略有差异, 其差异主要体现在酶带I的宽度上, 品种油82—24酶带I较宽, 品种油83—19酶带I较窄(见图6)。

三、转移酶类——谷氨酸草酰乙酸转移酶(GOT)

不同器官的GOT同工酶酶谱不

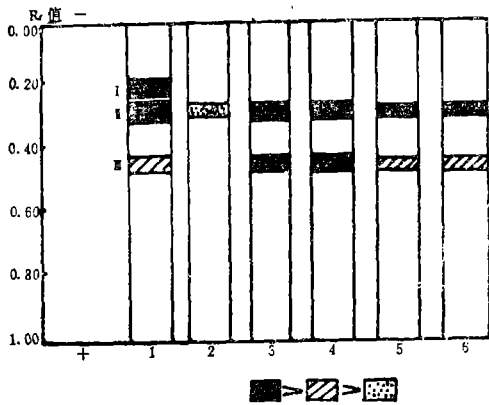


图5 不同器官GOT同工酶酶谱

1.子叶 2.种皮 3.叶片 4.根瘤,
5.下胚轴 6.胚根。

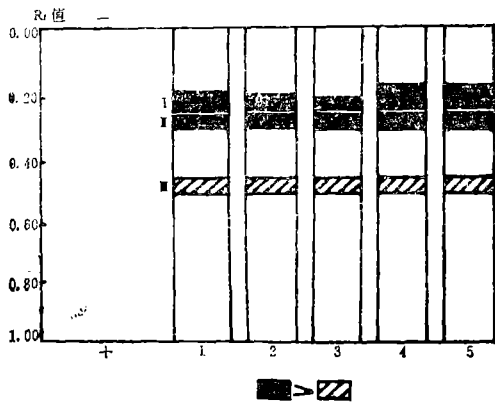


图6 大豆不同品种子叶的GOT酶谱

1.猴子毛 2.油82-10 3.油83-19
4.油82-24 5.跃进5号。

讨 论

下胚轴和胚根中的同工酶酶谱很相似。一方面表现在两器官中ES、AP、POD、GOT四种同工酶的酶带数目、宽窄、Rf值均相似,只是染色深浅略有差异;另一方面表现在,下胚轴和胚根中的ES、AP、GOT品种间皆基本无差异,下胚轴和胚根中的POD同工酶酶谱品种间差异的程度一致。

同工酶酶谱的不同是器官差异的化学变异^[13, 14]。从器官发生上看,下胚轴和胚根接邻,它们的同工酶酶谱极为相似,而下胚轴与其接邻较远的器官如子叶等,其同工酶酶谱差别较大。同工酶与组织,器官分化关系密切^[1, 2, 3]。下胚轴和胚根中的同工酶酶谱的相似可说明同工酶与器官发生分化有关。

参 考 文 献

- (1) 李继耕: 植物同工酶及其在作物遗传研究中的应用, 《作物学报》, 1980, 6(4): 245-252.
- (2) 梅慧生: 植物同工酶研究的某些进展, 《植物生理学通讯》, 1981, 3: 1-7.
- (3) Shannon, L.M.: Plant Isoenzymes Ann. Rev. Plant Physiol., 1963, 19: 187-210.
- (4) Payne, R.C. and T.J. Koszykowski: Esterase isozyme differences in Seed extracts among Soybean Cultivars. Crop Sci. 1978, 18: 557-559.
- (5) Gorman, M. B. and Y. T. Kiang: Variety-Specific electrophoresis Variants of four Soybean enzymes. Crop Sci. 1977, 17: 963-965.
- (6) Gorman, M.B., Y.T. Kiang, Y.C. Chiang and R. G. Palmer: Preliminary electrophoretic Observations from Several Soybean enzymes. Soybean Genet. Newsl. 1982, 9: 143-156.
- (7) Kiang, Y.T. and M.B. Gorman: Soybean isozymes in Plant genetics and breeding. Part B. 1983, 295-328.
- (8) Brim, C. A. and S.A. Usanis and C.F. Tester. Organ Specificity and genotypic differences in isoperoxidases of Soybeans. Crop Sci. 1969, 9: 843-845.
- (9) 吴少伯: 植物组织中的蛋白质及同工酶-聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳, 《植物生理学通讯》, 1979, 1: 30-33.

- (10) 袁晓华、杨中汉:《植物生理生化实验》,高等教育出版社,1983,36—46。
(11) 黄松寿、翁坚:几种植物中的过氧化物酶同工酶分析,《遗传》,1980,2(3):7—10。
(12) M.J. Siciliano和 C.R. Shaw:凝胶上酶的分离和显现,《植物生理通讯》,1980,4:59—70。
(13) 王三根:种子萌发中的同工酶,《种子》,1987,2:5—7。
(14) 童哲等:小麦幼根和幼苗中几种同工酶的初步研究,《植物学报》,1980,22(2):146—150。

ANAYSIS OF SEVERAL ISOZYMES IN DIFFERENT ORGANS OF SOY BEAN

Zhang Liping Miao Yinong

(*Biology Department of Northeast Normal University*)

ABSTRACT

The isozymes of Esterase (ES), Acid phosphatase (AP), Peroxidase (POD), Glutamate exaloacetic transminase (GOT) in the cotyledons, seed coats, hypocoties, radicles, leaves and nodules of 5 soybeans (*Glycine max. (L.) Merr.*) were studied by polyacrylamids vertical slab gel electrophoresis. The isozymes zymograms among different organs, different varieties were not same. The patterns of isozymse in hypocoties and in the radicles were similar. The differences of ES, AP zymograms etween the cotyledons and seed. coats, and even among varietise were large bso were the differences of the POD zymograms between the leaves and nodules. There were little changes among varieties for GOT.