

# 超氧化物歧化酶(SOD) 与苹果种间分类的关系探讨\*

林凤起 董英山 杨华明 刘慧涛

(吉林省农科院果树所)

## 摘 要

对苹果属(*Malus L.*)9个种,84份材料SOD酶谱研究发现,该群体含18条酶带,可划分为A、B、C三大区。其中A区6条,以 $a_3$ 为主;B区5条,以 $b_1$ 为主,其次是 $b_4$ 、 $b_5$ ;C区7条,以 $c_1$ 、 $c_2$ 、 $c_5$ 为主,根据对酶谱进行的定量分析而绘制的亲缘关系图,可将这9个种聚合为4个类组。

近年来,国内外研究认为,同工酶谱是植物分类的一个重要依据。其应用在果树分类与遗传方面的报道也较多,但多为过氧化物同工酶的研究。超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,即SOD),广泛存在于生活的细胞中,但过去只注意它对细胞的保护作用,研究结果也主要是集中在同抗性的关系上。SOD做为一种受基因支配的生理活性酶,在不同种(Species)的植物体中,必然要有不同的表达,支配着生理生化方式与形态表现的不同,但这方面的研究还未见报道。

本研究以苹果属植物为试材,对9个种SOD酶谱进行定量分析,由此进行了种间亲缘关系的探索,企图为其分类研究开辟一条新的途径。

## 材 料 和 方 法

(一)材料:选自国家果树种质寒地果树圃保存的苹果种质资源。

(二)方法:

1. 取0.2g成熟叶片,加1mL,0.05mol/L磷酸缓冲液(pH=7.8),研磨成浆。匀浆。用13000rpm离心20min。取上清液,即为SOD提取液。

2. 用罗广华等的方法,进行电泳分离显示SOD同工酶谱,用岛津CS-930扫描仪扫描,其最高吸收波长700nm,最低吸收波长550nm。

## 结 果 与 分 析

(一)苹果属9个种的SOD酶谱

对苹果属9个种84份材料的SOD酶谱检测(图1)表明,该群体共有18条酶带,可划分为A、B、C三区。其中A区6条( $R_f=0.08\sim0.25$ ),B区5条( $R_f=0.33\sim0.50$ ),C区7条( $R_f=0.58\sim0.83$ )。

84个材料SOD同工酶扫描如图2。各材料在各区泳动速度与出现频率不同(见表1)。

\* 本研究得到大豆所庄炳昌同志大力支持,深表谢意。

表1 苹果属9个种84份材料SOD酶带及其在群体中出现的频率

大区	A区						B区					C区						
	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>4</sub>	a <sub>5</sub>	a <sub>6</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>
酶带迁移率	0.08	0.12	0.15	0.18	0.22	0.25	0.33	0.37	0.40	0.47	0.50	0.58	0.62	0.65	0.68	0.72	0.78	0.83
出现次数	4	3	14	1	9	6	47	1	20	21	3	41	1	34	1	71	1	1
出现频率(%)	4.8	3.6	16.7	1.2	10.7	7.1	56.0	1.2	23.8	25.0	3.6	48.8	1.2	40.5	1.2	84.5	1.2	1.2

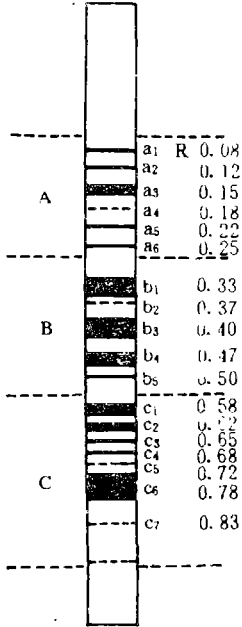


图1 SOD酶谱模式图

A区泳动慢,各酶带平均出现频率小,平均为7.3%。其中a<sub>3</sub>(R<sub>f</sub>=0.15)出现频率为16.7%,最大。因而A区以a<sub>3</sub>为主;B区泳动速度中等,各酶带平均出现频率为21.9%。其中b<sub>1</sub>(R<sub>f</sub>=0.33)最高,为56.0%,b<sub>4</sub>(R<sub>f</sub>=0.44)和b<sub>3</sub>(R<sub>f</sub>=0.40)次之,分别为25.0%和23.8%。所以B区以b<sub>1</sub>为主,其次为b<sub>4</sub>、b<sub>3</sub>;C区泳动最快,出现的频率最高,平均为25.5%。其中c<sub>1</sub>(R<sub>f</sub>=0.58)、c<sub>3</sub>(R<sub>f</sub>=0.65)、c<sub>5</sub>(R<sub>f</sub>=0.72),三条酶带出现的频率占C区总出现频率的97.3%,它们为C区的主酶带。

综上所述,该群体的SOD酶带,以c<sub>5</sub>、c<sub>3</sub>、c<sub>1</sub>、b<sub>4</sub>、b<sub>3</sub>、b<sub>1</sub>和a<sub>3</sub>为主,其中c<sub>5</sub>出现频率最大,可做为苹果属植物SOD的特征酶带。

(二)种间酶带分布

从表2可见,b<sub>3</sub>(R<sub>f</sub>=0.40)、c<sub>5</sub>(R<sub>f</sub>=0.72)为2条主酶带。9个种之中,除三叶海棠、山荆子外,都有b<sub>3</sub>;除三叶海棠、滇池海棠外,都有c<sub>5</sub>。以西洋苹果酶带数最多,为16条。其次为海棠果,10条。山荆子与三叶海棠最少,仅有1条。塞威苹果

6条,红肉苹果4条,变叶海棠与丽江山荆子各3条,滇池海棠2条。

表2 苹果9个种SOD酶带分布

植物种	酶带																	
	A区						B区					C区						
	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>4</sub>	a <sub>5</sub>	a <sub>6</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	c <sub>6</sub>	c <sub>7</sub>
山荆子(M. baccata)												✓					(✓)	
丽江山荆子(M. rockii)			✓						✓								✓	
变叶海棠(M. toringoides)									✓				✓				✓	
滇池海棠(M. yunnanensis)									✓			✓						
三叶海棠(M. sieversii)																		✓
红肉苹果(M. niedzwetzkyana)									✓			✓		✓		✓		
塞威苹果(M. sieversii)	✓							✓	✓			✓		✓		✓		
海棠果(M. prunifolia)	✓	✓	✓		✓			✓	✓	✓		✓		✓		✓		
西洋苹果(M. pumila)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

(三)种间相似系数与相对遗传距离

根据种间相似系数(表3),不相似系数,各种在二维坐标中的位置(表4,图3),相对遗传距离(表5)绘制的亲缘关系图(图4)看出,山荆子同滇池海棠亲缘关系最近(3.9),同变叶海棠次之(5.9),三者聚为一类组。红肉苹果、塞威苹果、海棠果距离较近(7.4,13.7,7.6),三者又聚为一类组。2个类组之间,通过红肉苹果与变叶海棠(8.7)相联系,使2个类组又聚为一个大类组。在它们的左右,单独分布着三叶海棠、丽江山荆子及西洋苹果。但西洋苹果与海棠果距离较近(19.3),又和红肉苹果、塞威苹果、海棠果三者形成的聚类组相联系。

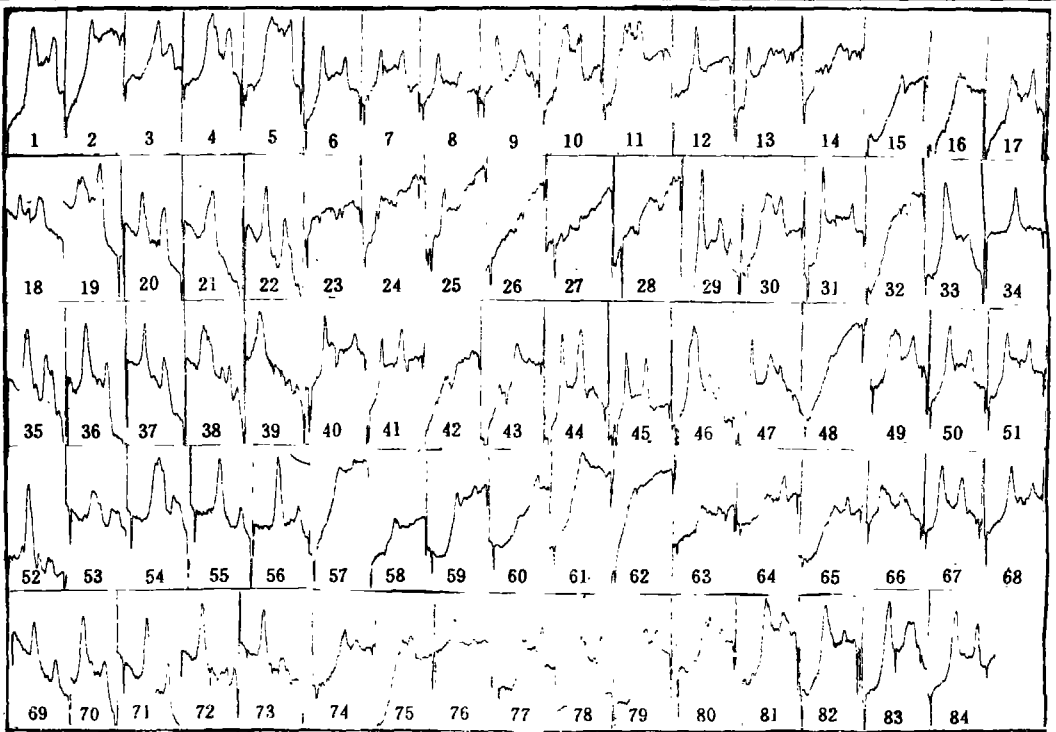


图 2 苹果属植物 SOD 酶谱扫描图

1. 青太平. 2. 玲珀果. 3. 苏 11. 4. 苏 16. 5. 苏 18. 6. 大秋. 7. 紫太平. 8. 米丘林奶果. 9. 五香果. 10. 金冠. 11. 红星. 12. 国光. 13. 元帅. 14. 花嫁. 15. 山荆子. 16. 4-82. 17. 阿伯尔特. 18. 苏 14. 19. 苏 12. 20. 莱茵时. 21. 奥斯拉. 22. 蒙派斯. 23. 523. 24. 115. 25. 图 4. 26. 图 5. 27. 图 7. 28. 35-3. 29. 548. 30. 翠秋. 31. 战寒香. 32. 苏 8. 33. 5 号. 34. 442. 35. 凤基. 36. 吉光. 37. 冬青. 38. 小白龙. 39. 小帅. 40. 四楞海棠. 41. 伊沙也夫. 42. 滇池海棠. 43. 小酸果. 44. 甜黄魁. 45. 丽江山荆子. 46. 冬红. 47. 90-15. 48. 紫花山荆子. 49. 北光. 50. 紫云. 51. 青皮黄. 52. 甜苹果. 53. K<sub>9</sub>. 54. K<sub>17</sub>. 55. 元红. 56. 6 号. 57. 金红. 58. GM-256. 59. 变叶海棠. 60. 塞威苹果. 61. 58-15-144. 62. 三叶海棠. 63. 六密海棠. 64. 拐把子. 65. 红海棠. 66. 57-13-68. 67. 沈农 2 号. 68. 列 6. 69. 秋光. 70. 57-307. 71. 西伯利亚曙光. 72. el-1. 73. el-3. 74. 苏 10. 75. 红心子. 76. 红玲果. 77. 香冠. 78. 58-15-200. 79. 红太平. 80. 黄太平. 81. 二其子粒蒙. 82. 白海棠. 83. 135. 84. 列 5.

表 3 种间相同酶带数及相似系数

相似系数 \ 相同酶带数	山荆子	丽江山荆子	变叶海棠	滇池海棠	三叶海棠	红肉苹果	塞威苹果	海棠果	西洋苹果
山荆子		1	0	0	1	1	1	2	2
丽江山荆子	25.0		2	1	0	2	2	3	3
变叶海棠	25.0	33.3		1	0	2	2	2	2
滇池海棠	0	20.0	20.0		0	2	2	2	2
三叶海棠	0	0	0	0		0	0	0	0
红肉苹果	20.0	28.6	28.6	33.3	0		4	4	4
塞威苹果	14.3	22.2	22.2	25.0	0	40.0		6	6
海棠果	9.1	23.0	15.4	16.7	0	28.6	37.5		10
西洋苹果	11.1	15.8	10.5	11.1	0	20.0	27.3	38.5	

表4 种间不相似系数及其在二维坐标中的位置(x<sub>i</sub>, y<sub>i</sub>)

	山荆子	丽江山荆子	变叶海棠	滇池海棠	三叶海棠	红肉苹果	塞威苹果	海棠果	西洋苹果	Σ	x <sub>i</sub>	e <sub>i</sub>	y <sub>i</sub>
山荆子		75.0	75.0	100.0	100.0	80.0	85.7	90.9	38.9	695.5	71.9	69.5	39.5
丽江山荆子	75.0		66.7	80.0	100.0	71.4	77.8	77.0	84.2	632.5	100.0	0	35.4
变叶海棠	75.0	66.7		80.0	100.0	71.4	77.8	84.6	69.5	645.0	77.8	62.8	40.0
滇池海棠	100.0	80.0	80.0		100.0	66.7	75.0	83.2	88.9	673.8	68.0	73.3	39.5
三叶海棠	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	800.0	0	0	50.0
红肉苹果	80.0	71.4	71.4	66.7	100.0		60.0	71.4	80.0	600.9	74.5	66.7	32.0
塞威苹果	85.7	77.8	77.8	75.0	100.0	60.0		62.5	72.7	611.5	69.7	71.7	26.4
海棠果	90.9	77.0	84.6	83.2	100.0	71.4	62.5		61.5	631.1	71.4	71.0	18.9
西洋苹果	38.9	84.2	69.5	88.9	100.0	80.0	72.7	61.5		565.5	66.5	74.7	0

表5 种间相对遗传距离

	山荆子	丽江山荆子	变叶海棠	滇池海棠	三叶海棠	红肉苹果	塞威苹果	海棠果	西洋苹果
山荆子		29.3	5.9	5.9	72.7	7.9	13.3	20.7	39.9
丽江山荆子			22.7	39.4	101.3	25.7	29.1	33.9	51.8
变叶海棠				9.5	78.4	8.7	15.8	22.4	41.6
滇池海棠					68.8	9.0	15.2	20.7	39.5
三叶海棠						78.6	73.6	77.0	83.2
红肉苹果							7.4	13.7	33.0
塞威苹果								7.6	26.6
海棠果									19.3
西洋苹果									

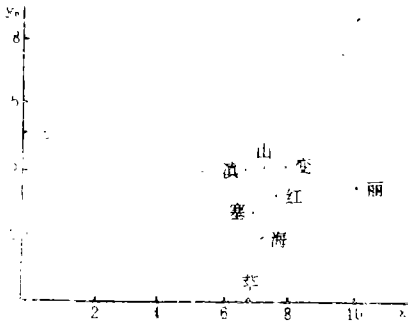


图3 9个种在二维坐标中的位置

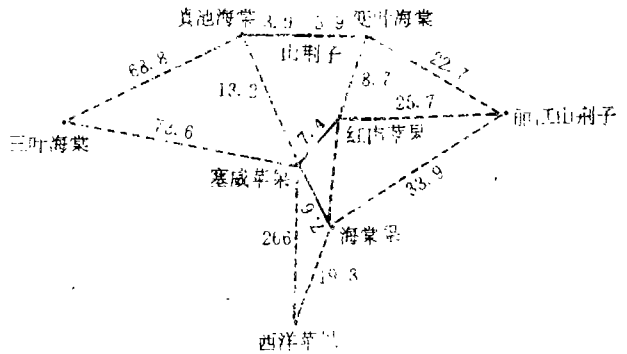


图4 9个种的相对遗传距离与亲缘关系图

### 讨 论

(一)本研究使用的84份材料分属于9个种,种间、品种间的酶谱都表现明显的差异。如山荆子只有一条酶带,在B区(b<sub>5</sub>, R<sub>f</sub>=0.50)显现。其种内不同类型紫花山荆子也只有一条酶带,它同原种不同的是在C区(c<sub>5</sub>, R<sub>f</sub>=0.72)显现;海棠果酶带数较多,有10条。其不同品种黄太平同红太平都有10条迁移率相同的酶带,不同的是c<sub>1</sub>(R<sub>f</sub>=0.58)黄太平很强,而红太平则弱;各种间的酶带数量和迁移率表现不一样。谱型可以区别。从对谱型的分析看,SOD酶谱似可做为苹果属植物分类的一个依据。

(二)从研究的 9 个种酶谱聚类分析看,滇池海棠、变叶海棠同山荆子的亲缘关系较近,海棠果又同西洋苹果有一定亲缘关系;而三叶海棠、丽江山荆子同其它 7 个种的距离较远,这同俞德浚先生按形态特征将苹果属各种分为 3 组 5 系,既有相同的地方,又有不同。变叶海棠与滇池海棠同属花楸苹果组,但与它们相距很近的山荆子却不属于这一组。这可能是因为山荆子这一古老的种,表现在形态上的保守性所致,塞威苹果同西洋苹果都属真正苹果组,同本研究结果一致;红肉苹果这里单列一个种,而俞先生则将其列为西洋苹果的一个变种,按本研究结果看,似乎不太合理;三叶海棠为单独一个系,本研究也证实,它同其它种亲缘关系较远;丽江山荆子虽同山荆子分为一个组,但它们在形态上表现出明显的差异,表现在 SOD 酶谱上差异也较大。

本研究涉及的仅 9 个种,研究结果虽有一定规律,但有些问题尚须进一步深入探索。

### 参 考 文 献

- [1]俞德浚,《中国果树分类学》,农业出版社,1979,P89。
- [2]罗广华、王爱国,植物 SOD 的凝胶电泳及活性的显示,《植物生理通讯》,1983,(6),P44~45。
- [3]徐豹、庄炳昌等,中国野生大豆和栽培大豆种胚超氧化物歧化酶的酶谱型及其地理分布,《植物学报》,1990,32(7),P538~543。
- [4]程家胜、刘捍中等,关于苹果属果树亲缘关系的初步探索—过氧化物酶同工酶分析,《园艺学报》,1986,13(1),P1~7。
- [5]阳含熙、卢泽愚,《植物生态学的数量分析方法》,科学出版社,1981,P64。
- [6]王义弘,介绍几种植被分析方法,《东北林学院学报》,1982,(1)P153。
- [7]程家胜、贾定贤,苹果品种(品系)酯酶,过氧化物酶同工酶比较研究初报,《中国果树》,1981,(1),P41。
- [8]程家胜、牛健哲等,苹果品种间杂交后代过氧化物酶同工酶分析,《园艺学报》,1984,11,(2),P73~78。
- [9]Griffin, J. D. and R. G. Palmer, Superoxide dismutase (SOD) isoenzymes in soybean. *Soybean Genet. Newsl.*, 1984, 17, P91~92。
- [10]Tanaka, K. and K. Sugahara, 1980, Role of superoxide dismutase in defence against SO<sub>2</sub> toxicity and increase in superoxide dismutase activity with SO<sub>2</sub> fumigation. *Plant and cell physiol.*, 21, 601~611。

## THE STUDY OF SIBSHIP ON APPLE SPECIES AND SUPEROXIDE DISMUTASE

Lin Fengqi Dong Yingshan et al.

(*Pomology Institute, Jilin Academy Agricultural of Sciencs*)

The superoxide dismutase of 84 varieties from 9 species on apple genus are studied. In this paper it is shown that the group contains 18 enzyme bands and all the enzymes can be divided into A. B. C. three types. The a contains 6 enzyme bands, among which the a<sub>3</sub> is the most important. Type B contains 5 bands, among which the b<sub>1</sub> is the most important, b<sub>4</sub>, b<sub>2</sub> are the second. Type C contains 7 bands and c<sub>1</sub>, c<sub>3</sub>, c<sub>5</sub> are the most important. The 9 species can be divided into 4 groups according to sibship chart that was worked out by quantitative analysis of SOD enzyme bands.