

# 丹玉 13 及亲本自交系酯酶同工酶与 过氧化物酶同工酶分析

孙立岩 杨玉龙 雷籽耘\*

(梨树县种子分公司, 梨树 136500)

玉米种子纯度鉴定, 现阶段国内没有健全的快速准确的检测手段。常规方法为根据各品种外部形态特征进行区别鉴定及进行组织化学染色, 或采用南繁、温室和实地种植进行鉴定。但由于玉米杂交种及其亲本的亲缘关系较近, 以上的检测手段很难在短期内精确地进行品种纯度鉴定。

在 1957 年 Hunter 和 Markeve 最早将淀粉凝胶电泳和组织化学结合起来鉴定和分离了酶类, 到 1959 年广泛地应用于遗传学、生理学、生物遗传、种、亚种等方面的研究和鉴定<sup>(1)</sup>。

目前, 在国际上利用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 进行同工酶酶谱的分析研究, 对农作物种子进行分析测定, 已经进展到品种纯度鉴定和确定栽培和育种材料的阶段<sup>(2~3)</sup>。在我国, 也不同程度地对水稻、小麦及玉米进行了同工酶电泳技术的研究。尤其是水稻和小麦的研究进展较早<sup>(4~5)</sup>。而玉米由于其遗传性、区域性较为复杂, 同工酶酶谱的研究报道不多, 研究进展较慢<sup>(6~7)</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及来源

本试验采用本地区种植面积较大的玉米杂交种丹玉 13 及亲本自交系 Mo17、E28 做为试验材料, 附以参照自交系黄早 4 号做为对照试验材料。丹玉 13 为本地区 1990 年度杂交种子, Mo17、E28、黄早 4 号均为省原种场提供的制种亲本。

### 1.2 材料处理

四种供试材料, 分以吸胀胚, 0.5cm 芽长, 1.0cm 芽长, 芽鞘等四个处理。

### 1.3 电泳结果分析方法

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分离胶浓度为 7.5%, 浓缩胶浓度为 2.5%。电泳结果分析方法为酯酶同工酶染色法与过氧化物酶同工酶染色法 2 种方法。

### 1.4 提取液处理

试验材料提取液为 pH6.7、pH8.0、pH8.9 三种处理方法。

### 1.5 电泳技术方法

参照袁晓华<sup>(8)</sup>(1983), 薛应龙<sup>(9)</sup>(1985)和北京师范大学生化研究室<sup>(10)</sup>(1983)的聚丙烯

收稿日期 1993-11-26

\* 雷籽耘, 吉林农业大学生化教研室主任、副教授, 组织、策化、参与本试验。

## 酰胺凝胶电泳方法。

### 1.5.1 贮存液和凝胶液配制

每100mL溶液中的成分含量:(1)1N盐酸48.00mL,三羟甲基氨基甲烷36.60g,四甲基乙二胺0.23mL。(2)丙烯酰胺28.00g,亚甲基丙烯酰胺0.735g。(3)过硫酸胺0.14g。(4)三羟甲基氨基甲烷5.98g,四甲基乙二胺0.46mL,1N盐酸48.00mL。(5)丙烯酰胺10.00g,亚甲基丙烯酰胺2.5g。(6)核黄素4.00g。(7)蔗糖40.00g。(8)电极缓冲液:三羟甲基氨基甲烷6.00g,甘氨酸28.80g,加无离子水1000mL。

### 1.5.2 工作溶液混合比例

分离胶:贮存液及无离子水的比例:

1:2:水:3=1mL:2mL:1mL:4mL

浓缩胶:贮存液与无离子水比例:

4:5:6:7=1mL:2mL:1mL:4mL

电极缓冲液:用时无离子水稀释10倍。

### 1.5.3 电泳工作程序

(1)按上述贮液比例制胶。(2)样品液制备:研磨——加提取液——离心——点样。(3)电泳:点指示剂——接通电源——增大电流——停止电泳。(4)染色:酯酶同工酶染色和过氧化物同工酶染色。(5)绘图、拍照、结果分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 材料处理间的比较

从图片1可以看出,以芽鞘试验处理结果最佳。优于吸胀胚,芽长0.5cm,1.0cm的试验处理,而且结果得到重复验证。



1,2,3,4Mo17吸胀胚;5,6 Mo17芽鞘。

7,8丹玉13吸胀胚;9,10,11,12丹玉13芽鞘。

图片1 芽鞘及其它材料处理试验对比

1~6 过氧化物同工酶染色法。

7~12 酯酶同工酶染色法。

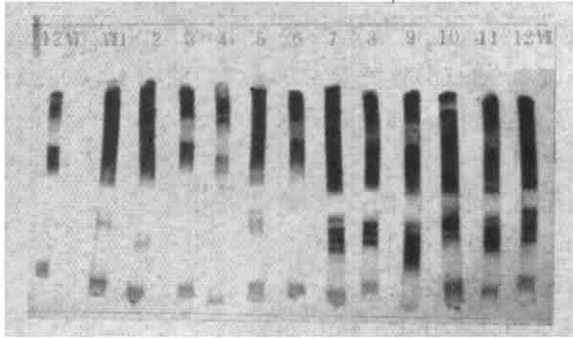
图片2 过氧化物同工酶与酯酶同工酶对比实验

### 2.2 酯酶同工酶与过氧化物同工酶的比较

分别对杂交种丹玉13、自交系Mo17、E28、黄早4号等进行酯酶同工酶谱带和过氧化物酶同工酶谱带的试验结果进行对比分析,结果过氧化物酶同工酶的效果均都优于酯酶同工酶的效果。

### 2.3 材料提取液处理间的比较

以提取液 pH8.0 的处理方法效果显著,无论从显带时间上还是染色质量上,都优于 pH6.7、pH8.9 的提取液的实验效果。见图片 3。



1~4 pH6.7;5~8 pH8.0;  
9~12 pH8.9

图片 3 pH6.7 pH8.0 pH8.9 三种提取液对照实验

### 2.4 过氧化物同工酶谱带的试验结果分析

从图片 4-1、4-2 及模拟图谱记录来看,玉米杂交种丹玉 13 的过氧化物酶同工酶的谱带为 16 条(per1—16);亲本自交系 Mo17 的谱带为 12 条(per1—12);E28 的谱带为 15 条(per1—15);参照自交系黄早 4 号为 14 条(per1—14)。



1~3 丹玉 13;4~6 E28;7~9 黄早 4 号;  
10~12 丹玉 13

1~3 Mo17;4~6 E28;7~9 丹玉 13;  
10~12 黄早 4 号

图片 4-1 过氧化物同工酶谱带试验结果分析

图片 4-2 过氧化物同工酶谱带实验结果分析

## 3 讨论

通过实验结果分析表明,玉米杂交种过氧化物同工酶谱带与亲本自交系过氧化物同工酶谱带具有可鉴定性,可作为实验室内快速、准确的检测手段。

通过计算各自的  $R_m$  值( $R_m$  为电泳迁移率,  $R_m = d_i/d_1$ ),可以合理地科学分析出其中的亲缘关系,并有可能查出其杂交种中的父、母本的亲缘互补谱带。

### 参 考 文 献

- 1 范平. 同工酶测定技术在我国种子检验品种鉴定中的应用与展望. 种子世界. 1986,10,12
- 2 B. Jcardy 等. 玉米自交系和杂交种中同工酶的差异. 栽培品种鉴定应用. Crop Science. 1982,22(5),1016—1020

- 3 Smieh S. J. C. 美国玉米杂交种质的多样性,同工酶与色谱证据. *Crop Science*. 1988,28(1),63—69
- 4 张鸿涛等. 杂交水稻(F<sub>1</sub>)种子纯度测定——酯酶同工酶法. *种子*. 1983,3:31—32
- 5 林雪琴等. 应用同工酶电泳法鉴定二棱大交品种的研究. *种子*. 1988,3:1
- 6 颜启传等. 杂交玉米吉单 101 及其亲本自交系种子真实性鉴定和纯度测定技术的研究. *种子*. 1986,5. 6:12—15
- 7 赵洪春等. 玉米蛋白质 PAGE 法与田间鉴定法测定杂交玉米纯度的相关性及其准确性研究. *种子*. 1992,5:19—20
- 8 袁晓华等. 植物生物化学试验. 高等教育出版社. 1983,233—246
- 9 薛应龙. 植物生物学实验手册. 上海科学技术出版社. 1985,480—484
- 10 北京师范大学试验. 人民教育出版社. 1983,实验 27

(上接第 13 页)

公顷,最高产点次平均 3311 公斤/公顷。综合评价该品种丰产性突出,稳产性好,百粒重较大。其缺点是茎秆偏软,但富有弹性,优良栽培条件下生育后期稍有倒伏发生,落叶后则又基本恢复直立。

表 4 1988~1992 年中早熟大豆品种试验结果

品 种	平均产量(kg/ha)					
	1988	1989	1990	1991	1992	平均
吉林 22	2471			2056	2009	2179
白农 4 号	2266	2197	1603	2194	1940	2040
稳 产 性						
	Sx	CV. %	最低值	最高值	bi	S <sup>2</sup> di
吉林 22	720.7	32.1	1447	2782	0.044	30978
白农 4 号	583.0	29.0	1431	2554	0.578	56200
	生育期(天)	病害(级)	倒伏(级)	百粒重(g)	虫食粒率(%)	褐斑粒率(%)
吉林 22	122	1.2	0.8	16.8	9.3	2.2
白农 4 号	120	1.6	1.0	18.9	15.1	6.5

2.4.2 合丰 25:1986 年从黑龙江省合江地区农科所引进推广。最大种植 1990 年达 5.1 万公顷。生育日数 115 天,百粒重 19.9 克。平均公顷产量水平五年 28 个点次平均 2330 公斤。年份间产量差异不大。最低产点次平均 1763 公斤/公顷,最高产点次平均 3055 公斤/公顷。综合评价该品种丰产性,稳产性均较好,秆强抗倒伏。其缺点是病毒病较重。

表 5 1988~1992 年早熟极早熟大豆品种试验结果

品 种	平均产量(kg/ha)					
	1988	1989	1990	1991	1992	平均
合丰 25	2601	2224	2298	2257	2271	2330
吉林 26	2715	2586	2624	2499	2672	2619
稳 产 性						
	Sx	CV. %	最低值	最高值	bi	S <sup>2</sup> di
合丰 25	493.9	21.2	1763	3055	0.809	237517
吉林 26	497.9	19.0	1948	3311	0.699	209954
	生育期(天)	病害(级)	倒伏(级)	百粒重(g)	虫食粒率(%)	褐斑粒率(%)
合丰 25	115	1.2	0.4	19.9	8.1	1.1
吉林 26	118	0.6	1.8	22.6	7.7	0.4