

空间诱变对蒙农杂种冰草同工酶谱带的影响效应研究

董 扬¹,李旭业²,梁 虹¹,曲忠诚¹,许 健¹,赵 索¹,李馨园¹

(1. 黑龙江省农业科学院 齐齐哈尔分院,黑龙江 齐齐哈尔 161006;2. 黑龙江省畜牧研究所,黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘要:为了进一步研究空间诱变对蒙农杂种冰草生物学效应的影响,以空间诱变冰草 F₁ 植株为材料,对诱变后冰草的过氧化物同工酶和酯酶同工酶谱带的变化情况进行研究。结果表明:10 株空间诱变蒙农杂种冰草株系和对照冰草之间表现出一定的遗传性,每一株空间诱变蒙农杂种冰草都有自己的变异酶带;对照冰草有 6 条过氧化物同工酶酶带,诱变冰草的酶带数从 3 条到 8 条不等,大部分酶带强度趋于减弱;对照冰草有 8 条酯酶同工酶酶带,诱变冰草的酶带数从 3 条到 10 条不等,大部分酶带强度趋于减弱。

关键词:蒙农杂种冰草;空间诱变;同工酶

中图分类号:S543⁺.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)03-0113-03

空间诱变是指利用太空的强辐射,微重力和高真空等环境因素诱发植物种子基因发生突变。同工酶是基因表达的产物,其酶谱带的多少很大程度由结构基因决定,因而根据同工酶的表现型,可以直接地判断基因的存在与表达规律^[1-2]。同工酶的变化在一定程度上说明植物基因型的变化,即遗传特性所发生的变化,是从分子水平上进行植物遗传多态性研究的重要手段^[3-5]。该试验以航天搭载后的蒙农杂种冰草为试验材料,利用同工酶探讨空间诱变对蒙农杂种冰草的生理影响。通过对过氧化物同工酶(POD)和酯酶同工酶(EST)的分析,筛选出了空间诱变株系的突变体。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料取自黑龙江省畜牧研究所科研基地的空间诱变冰草 F₁ 植株。10 个空间诱变蒙农杂种冰草株系的叶片,编号分别为 1~10 和对照冰草叶片。

1.2 方法

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法进行电泳实验。称取冰草幼叶 0.5 g,加样品提取液 3 mL,于冰水

浴中快速研成匀浆,在高速离心机上以 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液作为加样原液,加样原液与 1/5 体积的溴酚蓝指示剂混和作点样用。电泳后,拍照,计算相对迁移率。

2 结果与分析

2.1 过氧化物同工酶(POD)的酶谱分析

供试的 10 株筛选出的空间诱变蒙农杂种冰草株系和对照冰草的 POD 电泳图谱和酶谱模式图见图 1。经过空间诱变后蒙农杂种冰草与对照冰草的过氧化物酶同工酶谱带位点、带级变化较大,谱带分布不同,且有强弱变化。

从酶谱模式图可以看出,供试的材料共出现 64 条酶带,但每个株系的酶带数有所不同,最多有 8 条,最少有 3 条,其余的为 5 条、6 条和 7 条。共出现酶带类型为 12 种(A1~A12)。根据酶谱特征,从负极到正极按迁移率(R_f = 酶带迁移距离/溴酚蓝迁移距离)见表 1,大致可划分为 3 个区:A 区(0.38),B 区(0.43~0.55),C 区(0.56~0.61)。其中酶带数量较少的是 A 区,共有 9 条酶带;酶带数量较多、活性较强、分布较集中的是 B 区,共出现 44 条酶带;C 区共有 11 条酶带,而且酶带活性都较弱。

2.2 酯酶同工酶(EST)的酶谱分析

供试 10 株筛选出的空间诱变蒙农杂种冰草株系和对照冰草的 EST 电泳图谱和酶谱模式图见图 2。

收稿日期:2013-11-11

第一作者简介:董扬(1982-),女,黑龙江省齐齐哈尔市人,硕士,研究实习员,从事作物育种与科研管理方面的研究。E-mail:dongyang0717@126.com。

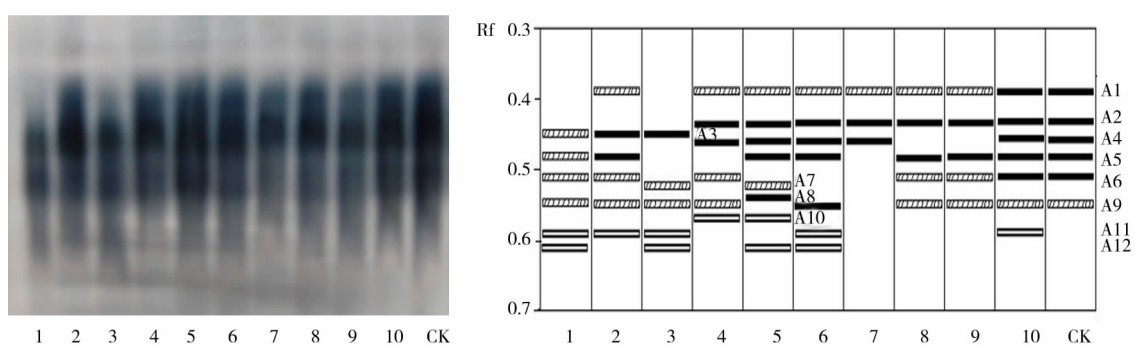


图1 蒙农杂种冰草株系的 POD 同工酶电泳图和模式图

酶带由弱至强依次为: 薄线 斜线 粗线 黑线

Fig.1 POD isozymic zymogram patterning of Mengnong hybrid agropyron lines

Enzyme bands from weak to strong were 薄线 斜线 粗线 黑线

表1 POD 同工酶谱带迁移率

Table 1 The mobility of POD

材料 Materials	酶带数及迁移率 Rf Band number and mobility			总带数 Total band number
	A 区(0.38)	B 区(0.43~0.55)	C 区(0.56~0.61)	
1	0	4(0.44,0.48,0.52,0.55)	2(0.58,0.61)	6
2	1(0.38)	4(0.44,0.48,0.52,0.55)	1(0.58)	6
3	0	3(0.44,0.53,0.55)	2(0.58,0.61)	5
4	1(0.38)	4(0.43,0.45,0.52,0.55)	1(0.56)	6
5	1(0.38)	5(0.43,0.45,0.48,0.53,0.54)	2(0.56,0.61)	8
6	1(0.38)	4(0.43,0.45,0.48,0.55)	2(0.58,0.61)	7
7	1(0.38)	2(0.43,0.45)	0	3
8	1(0.38)	4(0.43,0.48,0.52,0.55)	0	5
9	1(0.38)	4(0.43,0.48,0.52,0.55)	0	5
10	1(0.38)	5(0.43,0.45,0.48,0.52,0.55)	1(0.58)	7
CK	1(0.38)	5(0.43,0.45,0.48,0.52,0.55)	0	6

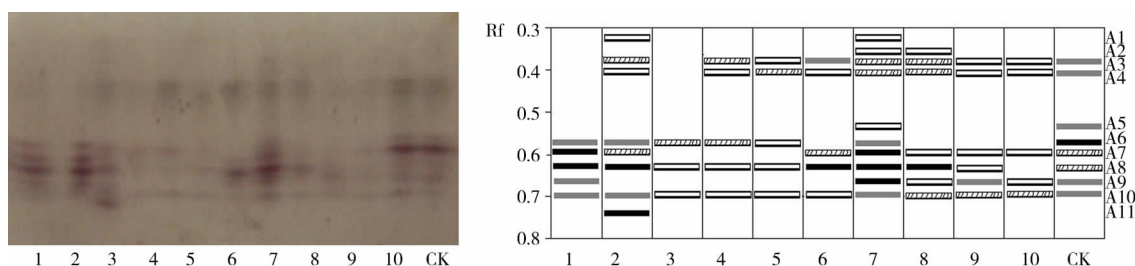


图2 蒙农杂种冰草株系的 EST 同工酶电泳图谱和模式图

酶带由弱至强依次为: 薄线 斜线 粗线 黑线

Fig.2 EST isozymic zymogram patterning of Mengnong hybrid agropyron lines

Enzyme bands from weak to strong were 薄线 斜线 粗线 黑线

经过空间诱变后蒙农杂种冰草与对照冰草的酯酶同工酶谱带位点、带级变化较大,谱带分布不同,强弱也有变化。

从 EST 同工酶酶谱模式图可以看出,EST 同工酶共出现了 67 条酶带,最多有 10 条,最少有 3 条,其余的为 5 条、6 条、7 条和 8 条。共出现酶

带类型为 11 种(A1~A11)。根据酶谱特征,大致可划分为 2 个区间:A 区和 B 区。A 区(0.33~0.41),共有 22 条,且活性较弱。酶带较集中在 B 区(0.54~0.74),并且强弱分明,共有 45 条。各株系的酶带迁移率(Rf=酶带迁移距离/溴酚蓝迁移距离)见表 2。

表 2 EST 同工酶谱带迁移率
Table 2 The mobility of EST

材料 Materials	酶带数及迁移率 Rf Band number and mobility		总带数 Total band number
	A 区(0.33~0.41)	B 区(0.54~0.74)	
1	0	5(0.57,0.59,0.63,0.66,0.70)	5
2	3(0.33,0.38,0.41)	5(0.57,0.59,0.63,0.70,0.74)	8
3	0	3(0.57,0.63,0.70)	3
4	2(0.38,0.41)	3(0.57,0.63,0.70)	5
5	2(0.38,0.41)	3(0.57,0.63,0.70)	5
6	2(0.38,0.41)	3(0.59,0.63,0.70)	5
7	4(0.33,0.36,0.38,0.41)	6(0.54,0.57,0.59,0.63,0.66,0.70)	10
8	3(0.36,0.38,0.41)	4(0.59,0.63,0.66,0.70)	7
9	2(0.38,0.41)	4(0.59,0.63,0.66,0.70)	6
10	2(0.38,0.41)	3(0.59,0.66,0.70)	5
CK	2(0.38,0.41)	6(0.54,0.57,0.59,0.63,0.66,0.70)	8

3 结论

许多研究者认为,在诱变育种中可以将同工酶作为检测诱变生物学效应和鉴定突变体的生化指标,是植物系统分类研究的重要工具,是一种筛选突变体较为方便、有效的手段,利用等位酶可进行种间突变体的筛选和分析^[6-7]。诱变株系和对照冰草之间的差异越小,所表现出的同工酶也就越相似,酶谱的相似程度也就越高,相反则低^[8-9]。该试验中,10 株空间诱变蒙农杂种冰草株系和对照冰草之间表现出一定的遗传性,并且每一株空间诱变蒙农杂种冰草都有自己的变异酶带。从试验可知蒙农杂种冰草的种子经太空飞船搭载空间诱变后,产生了突变,这些种子经地面种植、筛选后可以形成新的冰草种质资源,为高产优质冰草的选育提供了材料。另外,酶谱分析表现除代表遗传差异外,还受人为等因素的干扰^[10],所以只有将酶谱分析方法与其它方法包括细胞学等方法结合起来才能更准确地确定优良的株系突变体。

参考文献:

[1] 吴尼尔,李造哲,赵慧,等.披碱草与野大麦及其杂种 F₁、BC₁F₁同工酶分析[J].中国草地学报,2007,29(3):28-33.
[2] 韩天文,张健全.5 个苏丹草品种酯酶同工酶比较研究[J].草业科学,2011,26(10):97-101.

[3] 李强栋,孟林,毛培春,等.马蔺种质材料过氧化物酶同工酶谱特征分析[J].草业科学,2011,28(7):1331-1338.
[4] SergiM B,Lenonor A. Drought-induced changes in the red-ox state of alpha-tocopherol, ascorbate and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of labiatae species differing in carnosic acid content [J]. Plant Physiology, 2003, 131: 1816-1825.
[5] 郭亚华,谢立波,王雪,等.辣椒空间诱变育种技术创新及新品种(品系)培育[J].核农学报,2004,18(4):265-268.
[6] 王文恩,包满珠,张俊伟.狗牙根品种及辐射诱变 M₁ 代变异植株的过氧化物酶同工酶分析[J].中国草地学报,2007,29(1):71-76.
[7] Marshall I Sundberg, Dana M Slaughter, Scott S Crupper. Application of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprinting to detect genetic variation in *Sericea Lespedeza* (*Lespedeza cuneata*) [J]. Transaction of the Kansas Academy of Science, 2002, 105(1-2):91-95.
[8] 陈乐,高翠萍,王璐,等.空间诱变对蒙农杂种冰草叶片过氧化物酶和酯酶同工酶的影响[J].内蒙古农业大学学报,2011,32(2):305-308.
[9] 尹淑霞,王月华,周荣荣.⁶⁰Coγ 射线辐射对黑麦草种子发芽及 POD 同工酶的影响[J].中国草地,2005,27(1):75-76,79.
[10] 张蕴薇,任卫波,刘敏,等.红豆草空间诱变突变体叶片同工酶及细胞超微结构分析[J].草地学报,2004,12(3):223-226.