

黄瓜植株性别表现与3种氧化酶同工酶的关系

艾 辛 祝莉莉 舒理慧 陶晓明 何光存*

(武汉大学生命科学学院 武汉 430072)

提 要 采用同工酶电泳技术分析了二叶期纯雌株和雌雄株黄瓜(*Cucumis sativus L.*)子叶和真叶过氧化物酶、多酚氧化酶和超氧化物歧化酶同工酶,结果发现:纯雌株比雌雄株酶活性强、酶带数量多,这种差异酶带大多与雌性或雌雄性别紧密相关,经检验可以作为黄瓜雌性株早期鉴定的生化标记,尤其以真叶中多酚氧化酶同工酶Rf 0.287表现稳定,鉴定成功率高。等电聚焦电泳比垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳分辨效果好。

关键词 黄瓜, 性别, 叶过氧化物酶, 多酚氧化酶, 超氧化物歧化酶, 同工酶

中图分类号: Q945.6⁺1; S642.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-470X(2000)03-0184-05

CORRELATION OF SEX EXPRESSION AND THREE OXIDASE ISOZYME IN CUCUMBER PLANT (*CUCUMIS SATIVUS L.*)

Ai Xin Zhu Lili Shu Lihui Tao Xiaoming He Guangeun

(College of Life Sciences, Wuhan University Wuhan 430072)

Abstract The relation between sex expression and three oxidases, i. e. peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase, in cucumber (*Cucumis sativus L.*) was studied by means of isozyme electrophoresis. The bands of oxidases were more in the gynoecious plants than the monoecious plants and the activity much higher. This difference of isozyme made it easy to distinguish gynoecious cucumber plant from a mixing population in early growth stage. In our experiment, the polyphenol oxidase in the first true leaf showed the best results.

Key words Cucumber, Expression of sex, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Superoxide dismutase, Isozyme

应振士等^①研究黄瓜(*Cucumis sativus L.*)植株的性别表现与几种氧化酶的关系时发现,过氧化物酶和过氧化氢酶活性与黄瓜植株的雌性程度呈显著的正相关,与多酚氧化酶活性呈负相关。我们的试验也证实了过氧化物酶活性与黄瓜植株性别表现的这种相关

收稿日: 1999-06-08, 修回日: 1999-12-25。第一作者: 男, 1963年12月出生, 讲师, 从事遗传育种工作, 现在湖南农业大学植物科技学院工作。本文为第一作者在武汉大学访问期间所做试验的部分内容。

* 通讯联系人。

性^①。Penel等^⑥注意到性别分化与过氧化物酶同工酶有关系,这种关系在很多植物上都得到证实^{④-8},大多数研究结果表明雌性植株比雄性植株的同工酶酶带数目多,活性强。但过氧化物酶、多酚氧化酶和超氧化物歧化酶同工酶与黄瓜植株性别的相关性没有更深入的研究,而同工酶分析比酶活性测定具有更加简单、快速和准确的优点。本试验采用同工酶分析技术,研究黄瓜植株性别表现与这3种同工酶是否存在某种关系,并探讨这种关系能否作为早期鉴定黄瓜植株性别的生化指标。

1 材料与方法

本试验所用黄瓜雌性株系为作者在湖南农业大学通过6代单株选择选育而成,雌雄株为雌性系单株选择第3代分离群体中的雌雄株经多代选育而成。所选育的雌性系和雌雄株系遗传性状稳定,繁殖过程中未见性状分离。雌性系在黄瓜杂种优势利用中作母本可以免除人工去雄工作,已用于作者选育黄瓜杂种一代品种的课题中。雌性系和雌雄株系暂未鉴定命名,作者自编代号分别为C48-7-1和C48-7-1-5,两者除性别有差异外,其它性状基本相同。

雌性系和雌雄株系分别播种,当黄瓜植株第2片真叶完全展开时,准确称取子叶和第1片真叶各0.5 g,提取酶液进行同工酶分析。同工酶的分离采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳法和圆盘等电聚焦电泳法,具体方法参照文献^⑨。同工酶的显现参照文献^{⑩~12}进行。

将雌性系和雌雄株系种子各取25粒混合播种,共50株混合苗,每株都进行编号,在6叶期时鉴定植株的性别。当50株混播黄瓜植株第2片真叶完全展开时,分株准确称取子叶和第1片真叶各0.5 g,提取酶液进行同工酶分析,然后将具有特征酶带的植株与相应编号的植株的性别进行比较,计算雌性株鉴定准确率。准确率=同工酶鉴定出的雌株(雄株)与田间鉴定相同的植株数/同工酶鉴定出的雌株(雄株)总数。

2 结果与分析

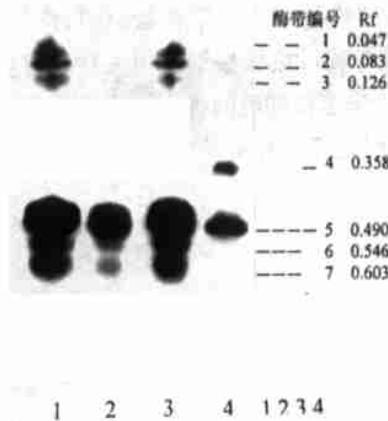
2.1 过氧化物酶同工酶与黄瓜植株性别的关系

通过对苗期子叶过氧化物酶同工酶的分析发现(图1),纯雌株和雌雄株的酶带相同,但在染色过程中发现纯雌株比雌雄株的酶带染色快、颜色稍深。真叶过氧化物酶同工酶在纯雌株和雌雄株间有差异,雌雄株有第4条酶带(Rf0.358),但无第6、7(Rf0.546、Rf0.603)两条酶带,而纯雌株这两条酶带有较弱的显现。从苗期过氧化物酶同工酶的结果看,黄瓜纯雌株比雌雄株过氧化物酶同工酶活性强、数量多,这与过氧化物酶活性测定的结果相符^{①,2}。

过氧化物酶等电聚焦的结果(见图2)与平板凝胶电泳结果相似,纯雌株子叶和真叶比雌雄株酶活性强、酶带数量多。纯雌株子叶比雌雄株多第13和第15两条酶带,第14条酶带活性强,雌雄株子叶酶带4和纯雌株子叶酶带5的位置稍有差别。雌性株真叶比雌雄株多了第15条酶带。

2.2 多酚氧化酶同工酶与黄瓜植株性别的关系

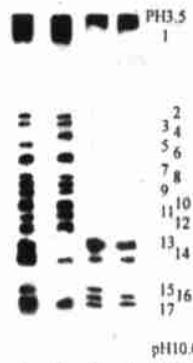
黄瓜雌株和雌雄株多酚氧化酶同工酶存在一定差异,以真叶差异较大。在酶谱图上



1. 子叶(雌); 2. 真叶(雌);
 3. 子叶(雌雄); 4. 真叶(雌雄)
 1, 3. Cotyledon; 2, 4. True leaf;
 1, 2. Gynoecious; 3, 4. Monoecious

图 1 黄瓜过氧化物酶同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

Fig. 1 Peroxidase isozyme pattern of cucumber plant in PAGE



1. 子叶(雌); 2. 子叶(雌雄);
 3. 真叶(雌); 4. 真叶(雌雄)
 1, 2. Cotyledon; 3, 4. True leaf;
 1, 3. Gynoecious; 2, 4. Monoecious

图 2 黄瓜过氧化物酶同工酶等电聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

Fig. 2 Peroxidase isozyme pattern of cucumber plant in isoelectrofocusing electrophoresis

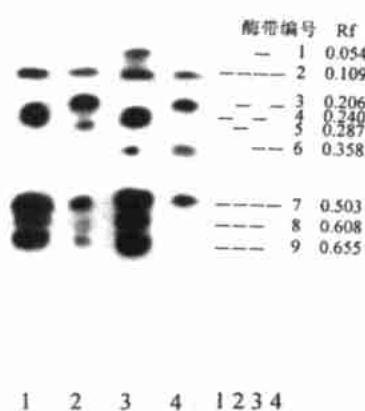
(图3)发现雌雄株子叶比雌株子叶多第1、6(Rf0.054、Rf0.358)两条酶带,其它酶带的活性也较雌株的强。两者真叶中的酶带雌株多于雌雄株,尤其雌株中的第5条(Rf0.287)酶带有较强的活性,能清晰地显现,雌雄株没有这条酶带,因此第5条(Rf0.287)可以作为雌株的特征酶带。雌性株真叶第8、9(Rf0.608、Rf0.655)两条酶带能够较浅的显现,而雌雄株却没有这两条带,但第6条酶带(Rf0.358)却只出现在雌雄植株上。雌雄株子叶同工酶的总活性强于雌性株,酶带数也多,但真叶却相反。

2.3 超氧化物歧化酶同工酶与黄瓜植株性别的关系

超氧化物歧化酶同工酶与多酚氧化酶同工酶在雌株和雌雄株上的表现相似,结果见图4,从图4中可以看出,纯雌株子叶比雌雄株子叶酶活性要弱,少第2条(Rf0.221)。真叶中,雌株比雌雄株多第3条(Rf0.319)酶带,酶活性雌性株强于雌雄株。

2.4 3种同工酶早期鉴定黄瓜植株性别的准确性

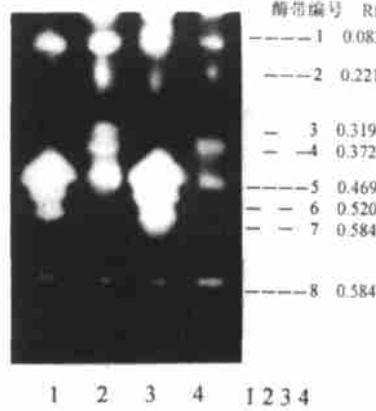
3种同工酶酶谱的差异是否能早期鉴定黄瓜植株的性别,取决于这种酶带差异是否在大量个体间表现出稳定性,它不仅关系到这项技术的实际应用价值,而且还关系到前面所分析结果的真实性。试验中,我们将编号的50株植株分别提取酶液,分别点样分析单株的3种同工酶,以3种同工酶的主要差异酶带作为鉴定的标准与植株性别鉴定结果进行比较计算准确率。从表1可以看出,子叶的鉴定效果比真叶差;多酚氧化酶同工酶准确率最高。这是由于纯雌株多酚氧化酶同工酶Rf0.287能稳定地显现,易于判断。鉴定过程中分别要求每种酶的特征酶带同时出现,否则不能认定为雌株或雌雄株。



1. 子叶(雌); 2. 真叶(雌);
 3. 子叶(雌雄); 4. 真叶(雌雄)
 1, 3. Cotyledon; 2, 4. True leaf;
 1, 2. Gynoecious; 3, 4. Monoecious

图3 黄瓜子叶和真叶多酚氧化酶同工酶图谱

Fig. 3 Polyphenol oxidase isozyme pattern of cucumber plant in PAGE



1. 子叶(雌); 2. 真叶(雌);
 3. 子叶(雌雄); 4. 真叶(雌雄)
 1, 3. Cotyledon; 2, 4. True leaf;
 1, 2. Gynoecious; 3, 4. Monoecious

图4 黄瓜子叶和真叶超氧化物歧化酶同工酶图谱

Fig. 4 Superoxide dismutase isozyme pattern of cucumber plant in PAGE

表1 3种同工酶鉴定植株性别的准确性

Table 1 Sex identification accuracy by three isozymes

同工酶的种类 Isozymes	材料 Material	植株性别 Sex of plant	特征酶带(Rf) Characteristic band	具有特征酶带的植株数 No. of plant with characteristic band	准确率% % of accuracy
过氧化物酶 Peroxidase	真叶 True leaf	纯雌株 Gynoecious	7(0.546) 8(0.603)	23	78.26
		雌雄株 Monoecious	4(0.358)	15	100.0
多酚氧化酶 Polyphenol oxidase	子叶 Cotyledon	雌雄株 Monoecious	1(0.054) 6(0.359)	24	100.0
		真叶 True leaf	纯雌株 Gynoecious	25	100.0
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	子叶 Cotyledon	雌雄株 Monoecious	2(0.221)	28	60.71
		真叶 True leaf	纯雌株 Gynoecious	27	74.07

3 讨论

过氧化物酶、多酚氧化酶被认为与植物的性别分化有关^①。尤其是过氧化物酶同工酶与黄瓜植株性别的关系与前人在银杏^②、猕猴桃^③等果树, 构树^④等林木, 菠菜^⑤、石刁柏^⑥等蔬菜上的研究结果一致, 雌性株有较强的酶活性和较多数目的同工酶。黄瓜真叶多酚氧化酶和超氧化物歧化酶同工酶与过氧化物同工酶的结论相同, 尤其是多酚氧化酶与雌性连锁的特征酶带很稳定, 可以作为黄瓜雌性株选择的生化标记, 本试验证明了这种标记的稳定性。同工酶是植物在长期进化过程中基因突变和自然适应的结果, 因而酶谱的差异能反映某些基因和性状表现的差异, 说明了由基因型差异形成的植株性别分化的差异。

可以通过同工酶分析来测定。过氧化物酶影响黄瓜植株性别是通过促进乙烯的合成来实现^①, 但多酚氧化酶和超氧化物歧化酶是怎样影响黄瓜植株的性别表现还有待进一步的研究。本试验中多酚氧化酶同工酶的活性在真叶上表现为纯雌株强于雌雄株, 这与应振士等^①的试验有差异, 其原因有待今后探讨。

本试验所用试材为二叶期黄瓜苗的子叶和第一片真叶, 3种同工酶都证明了用真叶作试材较为理想, 准确率较高。真叶酶活性较弱, 同工酶的相互干扰少, 酶带的分辩较为容易。

参 考 文 献

- 1 应振士, 李曙轩. 瓠瓜与黄瓜的性别表达和内源乙烯与氧化酶活性的关系. 园艺学报, 1990, **17**: 51~57
- 2 周群初, 艾辛, 刘志敏等. 硝酸银对黄瓜植株过氧化物酶活性的影响. 湖南农业大学学报, 1997, **23**(3): 225~228
- 3 Penel C L, Greppin H. Isozyme in development and differentiation. *Ann Rev Plant Physiol*, 1974(25): 225~258
- 4 杜希华, 范志强. 过氧化物酶同工酶与银杏性别及年龄的关系. 山东林业科技, 1997(4): 4~6
- 5 沈德绪. 果树育种学. 上海: 上海科学技术出版社, 1988. 34~47
- 6 赵云云. 雌雄构树过氧化物酶同工酶的比较研究. 首都师范大学学报(自科版), 1996, **17**(2): 84~87
- 7 曹宗巽, 梅慧生, 杨中汉等. 赤霉素和乙烯利对菠菜性别表现的控制及其同工酶的关系. 植物生理学报, 1980, **6**(2): 149~155
- 8 范双喜, 杜新民. 石刁柏性别表现与同工酶的关系: 激素对同工酶的效应. 北京农业学院学报, 1995, **10**(2): 44~48
- 9 赵永芳. 生物化学技术原理及应用. 武汉: 武汉大学出版社, 1994. 327~335
- 10 胡能书, 万国贤. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科技出版社, 1985. 73~75
- 11 李名君. 茶树多酚氧化酶同工酶. 中国茶叶, 1980(2): 15~20
- 12 Beach C O. Superoxide dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem*, 1971, **44**: 276~287