

# 香椿种源过氧化物酶同工酶变异的初步研究

孙鸿有 袁文海 金爱武 任孝蓉

(浙江林学院, 临安 311300)

徐卫南

(临安县林业局昌化林业站)

**摘要** 在4月下旬至5月中旬,用9年生香椿种源试验林的幼叶进行分析,结果表明香椿过氧化物酶同工酶的酶谱约有30条酶带,可分成A, B, C, D 4个酶谱区。酶带 $C_{21}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $B_{31}$ ,  $B_{32}$ 在试验群体中出现频率最高,达0.9~1.0;  $B_{11}$ ,  $B_{22}$ ,  $B_{45}$ ,  $C_{36}$ 频率最低,不到0.1。不同种源之间的酶带频率变异与种源的地理位置相关性大都较小,唯 $C_{23}$ ,  $C_{12}$ ,  $D_1$ ,  $D_3$ 酶带频率变异与种源地理纬度的相关性达到或接近于显著水平。酶带频率变异与树高、胸径、材积生长相关性很小,只有 $B_{45}$ 酶带与生长相关达到或近于显著水平。

**关键词** 香椿; 种源; 过氧化物酶; 同工酶

**中图分类号** S644.403; S722.3

同工酶是指催化反应相同但结构不同的酶系列。由于酶是受基因控制的,同工酶的结构差异主要是来源于基因的差异。现在,人们利用同工酶来研究遗传变异、杂种鉴定、家系和无性系测定以及早期预测等各个方面。过氧化物酶是高等植物中广泛而大量存在的1种酶。本研究是用聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳技术,分析香椿种源过氧化物酶同工酶的基本酶谱,研究其地理变异及其与生长的相关性,为香椿种源遗传变异的研究和选择优良种源提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

试验林分是临安县昌化朱穴村八角坪香椿种源试验林。林龄9 a。共有18个种源,即:浙江杭州、仙居、丽水,福建建阳,湖南邵阳、会同,湖北宜昌、恩施、谷城,四川酉阳、北川,安徽东至、太和,河南西峡,陕西旬阳、安康,甘肃天水 and 山东海阳种源<sup>[1]</sup>。每种源

收稿日期: 1992-08-29

取样10~12株健壮植株进行分析。除样品类别试验外,试样均采用树冠阳面中部的复叶的小叶幼叶。取样时间为4月下旬至5月中旬。

## 1.2 方法

1.2.1 取试样2g,加0.9% NaCl和2.0%蔗糖溶液10ml,在冰浴条件下研磨匀浆,用LG<sub>10</sub>-24A医用高速离心机离心10min,转速8000r/min,然后取上清液置于冰箱中保存备用。

1.2.2 按胡能书的方法<sup>[2]</sup>,用聚丙烯酰胺凝胶板进行电泳。每孔加样品液40μl,起始稳压120V,待样品液进入凝胶后,电压升高到220V。电泳3h左右。以溴酚兰作前沿指示剂。

1.2.3 用醋酸联苯胺法进行酶谱染色,并用7.0%乙酸固定。

1.2.4 测定各条酶带迁移率,绘制酶谱图,拍照,并制成干板保存。

1.2.5 在方差分析基础上,分析酶带的地理变异规律及其与生长的相关性。

## 2 结果分析

### 2.1 分离胶浓度和试样材料的选择

为了使香椿过氧化物酶同工酶分析取得较满意的结果,首先对分离胶浓度和试样类别、取样时间进行了试验。

2.1.1 分离胶浓度的选择 试验分别选用5.0%,6.0%,7.5%3种分离胶浓度系统。结果表明,以6.0%浓度分离效果较好,分离出的酶带较多较清晰。因此,本试验确定以6.0%的凝胶系统进行过氧化物酶同工酶分析。

2.1.2 试样的选择 试验分别采用复叶小叶的幼叶、成型叶、幼叶柄、成型叶柄。结果表明,以幼叶效果最好,同工酶活性较强,酶带较多。在树冠向阳面的上、中、下3个部位分别采样比较,以中部采样最好,酶活性最强。因此,本试验确定采用树冠阳面中部的幼叶进行分析。

2.1.3 采样时间分析 自4月18日至5月15日,每隔10~15d采样1次,共采样3次。分析结果表明,同一植株3次取样分析的酶谱完全相同。表明在试验期间,采样时间的先后对酶谱没有影响。

### 2.2 香椿过氧化物酶同工酶基本酶谱

通过对184个植株取样分析,结果表明,香椿过氧化物酶同工酶基本酶谱约有30条酶带。酶带数之多,是迄今报道中少见的。根据酶带迁移率,从负极到正极可明显分成4个酶谱区,即:A,慢区;B,较慢区;C,较快区;D,快区(图1)。

A区共有两条酶带,即A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>。迁移率依次为0.376和0.410,活性较弱,属3级带。

B区有4个亚区11条酶带,其中B<sub>1</sub>亚区只有1条酶带B<sub>11</sub>,迁移率为0.483;B<sub>2</sub>亚区有两

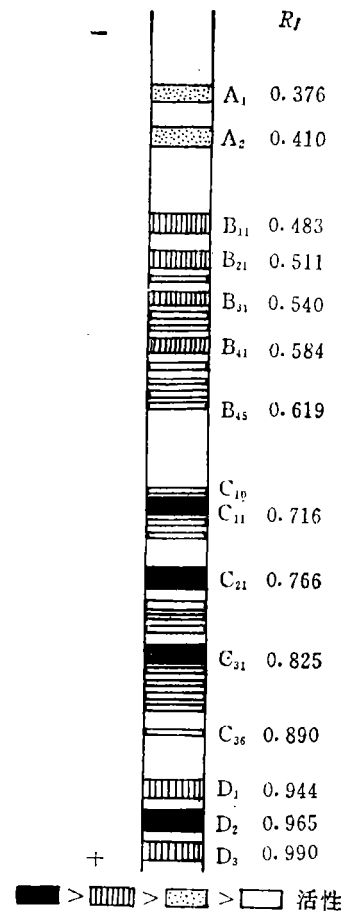


图1 基本酶谱

Fig. 1 Basic enzyme spectrum

条酶带, 即 $B_{21}$ ,  $B_{22}$ , 迁移率分别为0.511和0.520;  $B_3$ 亚区3条酶带, 即 $B_{31}$ ,  $B_{32}$ ,  $B_{33}$ , 迁移率依次为0.540, 0.551和0.562;  $B_4$ 亚区5条酶带, 即 $B_{41}$ ,  $B_{42}$ ,  $B_{43}$ ,  $B_{44}$ 和 $B_{45}$ , 迁移率依次为0.584, 0.593, 0.602, 0.610和0.619。

C区有3个亚区14条酶带, 其中 $C_1$ 亚区有4条酶带, 即 $C_{10}$ ,  $C_{11}$ ,  $C_{12}$ 和 $C_{13}$ , 迁移率依次为0.698, 0.709, 0.716和0.724;  $C_2$ 亚区4条酶带, 即 $C_{21}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{23}$ ,  $C_{24}$ , 迁移率依次为0.766, 0.780, 0.794和0.802;  $C_3$ 亚区6条酶带, 即 $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $C_{33}$ ,  $C_{34}$ ,  $C_{35}$ ,  $C_{36}$ , 迁移率依次为0.825, 0.837, 0.849, 0.861, 0.871和0.890。

在B, C两区内, 以 $B_{11}$ ,  $B_{21}$ ,  $B_{31}$ ,  $B_{41}$ 和 $C_{11}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{31}$ 酶带较宽, 活性较强, 为1级带或2级带, 其中又以 $C_{11}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{31}$ 活性最强。B, C区的其余酶带都较窄, 活性较弱, 一般为3级带或4级带, 并有依次递减趋势。

D区有3条酶带, 即 $D_1$ ,  $D_2$ 和 $D_3$ , 迁移率分别为0.944, 0.965和0.990, 酶带都较宽。 $D_2$ 活性最强, 为1级带,  $D_1$ ,  $D_3$ 次之, 为2级带。

### 2.3 香椿种源过氧化物酶同工酶的变异

试验表明, 香椿不同个体、不同种源的过氧化物酶同工酶酶谱存在广泛的变异。以种群而论,  $B_{21}$ ,  $B_{31}$ ,  $B_{41}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{23}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $C_{33}$ ,  $C_{34}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ 和 $D_3$ 等13条酶带在各个种源中都具有, 其余17条酶带为部分种源所具有。其中,  $C_{36}$ ,  $B_{11}$ ,  $B_{22}$ 仅在3~5种源中出现(图2)。

以个体而言, 无论是种源之间或是种源之内, 酶谱变异都很大(图3)。因而, 在不同种源之间同一酶带出现的频率不同, 在同一种源不同单株中不同酶带出现的频率也不同。

据测定, 在试验群体中, 酶带 $C_{21}$ 频率最高, 达1.0, 表明在各个种源所有单株中都有这条酶带。其次是 $B_{31}$ ,  $B_{41}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ , 频率在0.9以上, 它们在多数种源中出现的频率为1.0。 $C_{11}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{33}$ 频率也较高, 基本上在0.8左右。 $B_{11}$ ,  $B_{22}$ ,  $B_{45}$ ,  $C_{36}$ 频率最低, 小于0.1;  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_{33}$ ,  $B_{44}$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{13}$ ,  $C_{24}$ ,  $C_{35}$ 频率也很低, 不到0.2, 这些酶带在许多种源中频率为0。

分析表明, 酶带的频率越高, 变异系数越小, 意味着这些酶带越稳定。反之, 酶带频率越低, 变异系数越大, 越不稳定。所以, 在30条酶带中, 以 $C_{21}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $B_{31}$ ,  $B_{41}$ 最稳定;  $C_{11}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{33}$ 次之;  $B_{11}$ ,  $B_{22}$ ,  $B_{45}$ ,  $C_{36}$ 最不稳定(表1)。

香椿是异花授粉植物, 种源是不同的地理群体, 其过氧化物同工酶的变异是有其内在遗传基础的。由于异花授粉和群体之间的地理隔离, 必然造成个体之间、群体之间存在广泛的遗传变异。根据“1个基因1个酶”和“1个基因1条多肽链”的假说, 酶是由1个或几个基因控制的。种源之间的各个酶带频率的差异, 实质上反映的是控制这些酶带的基因在各种源群体之间基因频率的差异, 因而在一定程度上反映了各种源群体在遗传组成上的差异。而同一种源不同个体之间的酶谱变异, 反映了个体之间有关的基因、基因型的差异。

香椿种源之间的性状变异, 一般都与种源的地理位置密切相关<sup>[3]</sup>。试验分析了过氧化物酶同工酶变异与地理位置的相关关系。结果表明,  $B_{41}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{23}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ 酶带频率变异与种源的地理经纬度有中等程度相关, 复相关系数 $r_{01,2}$ 在0.486~0.670之间, 其中 $C_{23}$ ,  $C_{12}$ ,  $D_1$ ,  $D_3$ 的复相关系数达到显著水平( $P>0.05$ )或接近显著水平( $P>0.10$ );  $B_{41}$ ,  $C_{12}$ 与纬度呈正相关, 即随着纬度的增高,  $B_{41}$ ,  $C_{12}$ 的频率逐渐增多;  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ 与纬度呈负相

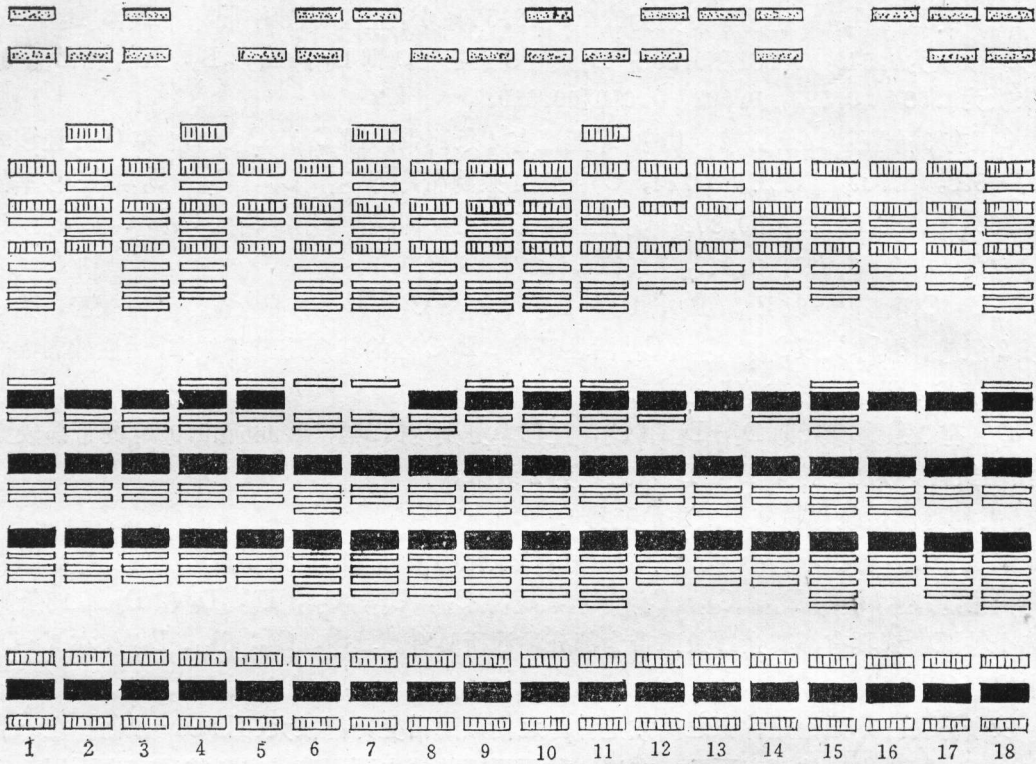


图2 各种源基本酶谱

1. 杭州; 2. 仙居; 3. 北川; 4. 酉阳; 5. 邵阳; 6. 宜昌; 7. 恩施; 8. 旬阳; 9. 西峡; 10. 东至; 11. 太和(1); 12. 太和(2); 13. 丽水; 14. 天水; 15. 谷城; 16. 会同; 17. 建阳; 18. 安康

Fig. 2 Basic enzyme spectrums of provenances

1. Hangzhou, 2. Xianju, 3. Beichuan, 4. Youyang, 5. Shaoyang, 6. Yichang, 7. Enshi, 8. Xunyang, 9. Xixia, 10. Dongzhi, 11. Taihe(1), 12. Taihe(2), 13. Lishui, 14. Tianshui, 15. Gucheng, 16. Huitong, 17. Jianyang, 18. Ankang

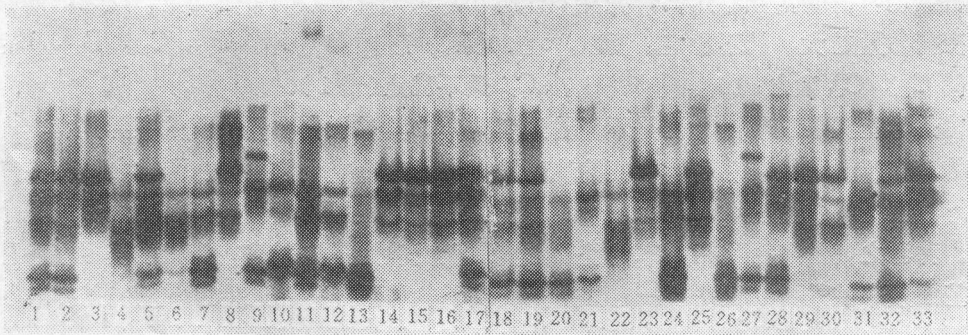


图3 部分种源的酶谱

1, 2, 31. 丽水; 3~6, 23. 天水; 7, 8. 海阳; 9~12, 27. 杭州; 13~16, 24. 建阳; 17~21. 谷城; 22. 会同; 25. 邵阳; 26. 太和(2); 28. 旬阳; 29. 太和(1); 30. 西峡; 32, 33. 安康

Fig. 3 Enzyme spectrums of some provenances

1, 2, 31. Lishui, 3~6, 23. Tianshui, 7, 8. Haiyang, 9~12, 27. Hangzhou, 13~16, 24. Jianyang, 17~21. Gucheng, 22. Huitong, 25. Shaoyang, 26. Taihe(2), 28. Xunyang, 29. Taihe(1), 30. Xixia, 32, 33. Ankang

表1 不同种源的酶带频率  
Table 1 Frequency of enzyme bands of different provenances

	杭州	仙居	北川	酉阳	邵阳	宜昌	恩施	旬阳	西峡	东至	太和(1)	太和(2)	丽水	天水	谷城	会同	建阳	安康	均值	变异系数
A <sub>1</sub>	0.13	0	0.31	0	0	0.10	0.17	0	0	0.08	0	0.20	0.44	0.11	0	0.40	0.09	0.11	1.23	
A <sub>2</sub>	0.38	0.50	0.08	0	0.17	0.40	0	0.27	0.11	0.33	0.11	0.20	0	0.11	0	0.50	0.27	0.19	0.89	
B <sub>11</sub>	0	0.10	0	0.46	0	0	0.50	0	0	0	0.22	0	0	0	0	0	0	0	0.07	2.17
B <sub>21</sub>	0.25	0.70	1.00	0.82	0.25	0.40	0.83	0.18	0.44	0.42	0.56	1.00	0.33	0.78	0.42	0.60	0.60	0.64	0.57	0.43
B <sub>22</sub>	0	0.10	0	0.09	0	0	0.67	0	0	0.08	0	0	0.11	0	0	0	0.09	0.06	2.40	
B <sub>31</sub>	1.00	0.90	1.00	0.73	0.83	1.00	1.00	1.00	1.00	0.92	1.00	1.00	1.00	1.00	0.83	1.00	0.90	1.00	0.95	0.08
B <sub>32</sub>	0.13	0.40	0.77	0.46	0.08	0.10	0.67	0.18	0.22	0.25	0.78	0	0	0.11	0.25	0.20	0.20	0.36	0.29	0.92
B <sub>33</sub>	0	0.40	0	0.09	0	0	0.50	0	0.11	0.08	0	0	0	0.11	0.17	1.00	0.10	0.18	0.15	1.62
B <sub>41</sub>	1.00	1.00	1.00	1.00	0.92	0.83	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	0.08
B <sub>42</sub>	0.75	0	0.77	0.82	0	0.70	0.50	0.73	0.78	0.58	0.89	0.60	0.89	0.44	0.50	0.60	0.30	0.82	0.59	0.44
B <sub>43</sub>	0.86	0	0.62	0.73	0	0.70	0.33	0.36	0.67	0.50	0.78	0.60	0.56	0.22	0.20	0.60	0.20	0.82	0.49	0.55
B <sub>44</sub>	0.25	0	0.39	0.09	0	0.40	0.33	0.18	0.11	0.33	0.45	0	0	0	0.17	0	0	0.36	0.17	0.96
B <sub>45</sub>	0.13	0	0.08	0	0	0.10	0.17	0	0.11	0.08	0.22	0	0	0	0	0	0	0.09	0.05	1.26
C <sub>10</sub>	0.13	0	0	0.36	0.08	0.10	0.50	0	0.22	0.08	0.11	0	0	0	0.17	0	0	0.36	0.12	1.26
C <sub>11</sub>	0.25	0.40	1.00	0.82	0.75	0	0	0.82	0.89	0.58	1.00	1.00	1.00	0.67	0.58	1.00	1.00	0.91	0.82	0.27
C <sub>12</sub>	0.13	0.10	0.46	0.82	0.17	0.30	0.50	0.27	0.44	0.42	0.44	0.80	0	0.44	0.17	0	0	0.46	0.33	0.73
C <sub>13</sub>	0	0.50	0.08	0.28	0	0.10	0.17	0.09	0	0.25	0.11	0	0	0	0.33	0	0	0.18	0.13	1.22
C <sub>21</sub>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0
C <sub>22</sub>	0.65	1.00	0.62	1.00	0.50	0.70	1.00	0.64	0.78	1.00	0.67	0.40	1.00	1.00	0.92	0.60	0.90	0.73	0.78	0.25
C <sub>23</sub>	0.25	0.80	0.03	0.18	0.42	0.40	0.50	0.64	0.56	0.92	0.45	0.40	0.78	0.40	0.50	1.00	0.90	0.27	0.53	0.08
C <sub>24</sub>	0	0	0	0	0	0.20	0	0.09	0.11	0.08	0	0	0.56	0	0.08	1.00	0	0	0.12	2.13
C <sub>31</sub>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.83	0.91	0.91	0.92	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	0.06
C <sub>32</sub>	0.86	0.90	1.00	0.90	0.92	1.00	0.67	0.91	1.00	0.75	1.00	0.80	1.00	0.78	0.92	0.80	1.00	1.00	0.90	0.11
C <sub>33</sub>	0.86	0.90	0.92	0.82	0.83	1.00	0.50	0.82	0.89	0.67	0.78	0.80	1.00	0.33	0.83	0.40	1.00	0.91	0.79	0.24
C <sub>34</sub>	0.43	0.60	0.69	0.73	0.67	0.80	0.33	0.64	0.56	0.67	0.67	0.80	0.89	0.33	0.67	0.20	0.60	0.82	0.62	0.24
C <sub>35</sub>	0	0	0	0	0	0.10	0.17	0.09	0.44	0.33	0.33	0	0	0	0.25	0	0.20	0.55	0.14	1.25
C <sub>36</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.11	0	0	0	0.08	0	0	0.27	0.03	2.60
D <sub>1</sub>	1.00	0.80	0.46	0.46	0.75	0.10	0.83	0.36	0.44	1.00	0.44	0.40	0.67	0.22	0.58	1.00	0.50	0.27	0.57	0.47
D <sub>2</sub>	1.00	0.80	0.54	0.46	0.75	0.10	0.83	0.36	0.44	1.00	0.44	0.40	0.67	0.44	0.58	1.00	0.50	0.36	0.59	0.42
D <sub>3</sub>	1.00	0.80	0.46	0.46	0.75	0.10	0.67	0.36	0.44	0.92	0.44	0.40	0.67	0.33	0.50	1.00	0.50	0.36	0.57	0.43

注: 太和(1)为黑油椿品种, 太和(2)为黄罗伞品种

关,  $C_{23}$  与纬度、经度都有相关关系。其他酶带变异与种源的地理经纬度没有相关或相关性很小(表 2)。

**表 2 酶带频率变异与地理经纬度的关系**

Table 2 Correlation between the frequency of enzyme bands and latitude-longitude

相 关 系 数	酶			带		
	$B_{41}$	$C_{12}$	$C_{23}$	$D_1$	$D_2$	$D_3$
复相关系数 $r_{01,2}$	0.486	0.541	0.670	0.557	0.493	0.559
与纬度偏相关 $r_{01,2}$	0.475	0.529	-0.452	-0.544	-0.491	-0.551
与经度偏相关 $r_{02,1}$	0.232	-0.036	0.534	0.044	-0.004	-0.003

注:  $R_{0.05(M-3, f-15)} = 0.574$ ,  $R_{0.10(M-3, f-15)} = 0.514$

#### 2.4 过氧化物酶同工酶变异与生长的相关性

为了研究香椿过氧化物酶同工酶变异与生长的关系, 试验分析了各条酶带频率变异与树高、胸径、材积生长的相关系数。结果表明, 除酶带  $B_{45}$  与生长的相关系数达到显著水平或接近显著水平外, 其他酶带与生长相关性都较小。这种情况是符合数量性状遗传规律的。根据遗传学原理, 数量性状遗传是受微效多基因控制的, 每个基因的作用是微效的。而香椿过氧化物酶同工酶的各个酶带是受 1 个或几个基因控制的, 每个基因对生长的影响是微小的, 因而每 1 条与生长有关的酶带, 其变异与生长的相关性很难达到显著水平(表 3)。

**表 3 部分酶带变异与生长的相关性**

Table 3 Correlation between the frequency of some enzyme bands and the growth of trees

性 状	酶				带	
	$A_1$	$B_{31}$	$B_{41}$	$B_{45}$	$C_{24}$	$C_{36}$
树 高	0.276	-0.408	-0.373	-0.508	0.406	-0.357
胸 径	0.361	-0.415	-0.371	-0.477	0.424	-0.343
材 积	0.412	-0.382	-0.416	-0.475	0.468	-0.353

注:  $R_{0.05(M-2, f-14)} = 0.497$ ,  $R_{0.10(M-2, f-14)} = 0.426$

### 3 结论

**3.1** 香椿过氧化物酶同工酶基本酶谱约有 30 条酶带, 可分成 A, B, C, D 4 个酶谱区。其中 A 区有两条酶带, B 区有 4 个亚区 11 条酶带, C 区有 3 个亚区 14 条酶带, D 区有 3 条酶带。

**3.2** 酶带  $C_{21}$  出现频率最高, 为 1.0;  $B_{31}$ ,  $B_{41}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$  频率次之, 在 0.9 以上;  $B_{11}$ ,  $B_{22}$ ,  $B_{45}$ ,  $C_{36}$  频率最低, 小于 0.1。

**3.3**  $B_{31}$ ,  $B_{41}$ ,  $C_{21}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{23}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $C_{33}$ ,  $C_{34}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$  和  $D_3$  等 13 酶带, 各种源都具有, 其余 17 条酶带仅在部份种源中出现。这些酶带在各个种源中出现频率是不相同的。

**3.4** 酶带  $B_{41}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{23}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$  在种源之间的频率变异与种源地理经纬度有中等程度相关, 达到或近于显著水平。其他酶带的频率变异与种源地理经纬度相关性很小或没有相关。

**3.5** 酶带频率变异与树高、胸径、材积生长的相关性都很小, 只有  $B_{45}$  酶带与生长的相关

性达到或接近于显著水平。

**鸣谢** 本校童再康老师协助计算机运算，特此致谢。

### 参 考 文 献

- 1 孙鸿有等. 种子, 1985, (5), 26~30
- 2 胡能书, 万贵国. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985
- 3 孙鸿有等. 浙江林学院学报, 1992, 9(3), 237~245

Sun Hongyou (Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, PRC), Yuan Wenhai, Jin Aiwu, Ren Xiaorong, Xu Weinan. **Primary Studies on Variations of Peroxidase-isoenzymes of Chinese Mahogany.** *J Zhejiang For Coll.* 1993, 10(2): 145~151

**Abstract:** Leaflets of Chinese mahogany were analysed, which sampled from 9 years old provenance forest from late April to middle May. The results showed that the enzyme spectra of peroxidase enzyme of Chinese mahogany consisted of about 30 enzyme bands Which could be divided into A,B,C and D regions. The occurrence frequencies of enzyme bands  $C_{21}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $B_{31}$  and  $B_{32}$  were the highest with up to 0.9~1.0 in the experimented population. The frequencies of enzyme bands  $B_{11}$ ,  $B_{22}$ ,  $B_{45}$  and  $C_{36}$  were the lowest with below 0.1. In general, the correlation between frequency variations of enzyme bands and provenance geographical positions was small. However, enzyme bands  $C_{23}$ ,  $C_{12}$ ,  $D_1$  and  $D_3$  and provenance latitude reached or approached significant level. The correlation between frequency variations of enzyme bands and tree height, DBH and volume was very small. Only  $B_{45}$  band came up to or closed significant level.

**Key words:** Chinese mahogany (*Toona sinensis* Roem.); provenance; peroxidase; isoenzymes