

番茄耐贮突变体 Lok 过氧化物酶同工酶分析

张剑国¹, 王永珍¹, 刘润堂²

(1. 山西省农业科学院蔬菜研究所, 山西 太原 030031; 2 山西省农业科学院作物遗传研究所, 山西 太原 030031)

摘要: 对耐贮番茄 Lok、自交系 97-114、大黄柿子、桔黄佳辰、樱桃黄、小黄梨和醋栗番茄分 8 个生育阶段取样, 进行过氧化物酶同工酶酶谱分析, 探讨耐贮番茄的亲缘关系和来源。结果表明, 耐贮番茄 Lok 是普通栽培品系 97-114 的突变体, 而与野生亚种的亲缘关系较远。另外, 耐贮番茄 Lok 随生育期进展谱带增减发生了变异, 从而也映证了 Lok 发生了基因突变。

关键词: 番茄; 耐贮突变体; 过氧化物酶同工酶

中图分类号: S641. 201 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2003) 02- 0026- 03

An Analysis of Peroxidase Isozyme in the Long-keeping Tomato Mutant Lok

ZHANG Jian-guo¹, WANG Yong-zhen¹, LIU Run-tang²

(1. Vegetable Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China;

2. Crop Genetic Research Insititute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: In order to approach the sibship of the long-keeping tomato lok, a self-bred line 97-114, two varieties of ssp. cultum Brezh, two varieties of ssp. subspontaneum Brezh, and a var. eupimpinellifolium variety of ssp. Plimpinellifolium Brezh were studied, samplings were taken at different developmental stages. It was proved that the long-keeping tomato lok was a mutant of cultivated subspecies and the relationship with wild subspecies was far away. Moreover, at one of 8 developmental stages, the zymogram patteras of lok was different from that of the line 97-114. This could show the result of gene mutation.

Key words: Tomato; Long-keeping mutant; Peroxidase Isozyme

过氧化物酶同工酶在番茄中广泛分布, 其谱型分析已成为番茄亲缘关系、进化途径等项研究的重要手段^[1~5]。耐贮番茄 Lok 是本课题组于 1997 年在自交系 97-114 中发现的一个特异株系, 其成熟果为淡黄色(自交系 97-114 成熟果为鲜红色), 果实不软化, 常温下可存放 3 个月以上。本试验通过对耐贮番茄 Lok、自交系 97-114 及一些黄果型栽培番茄和野生番茄亚种进行过氧化物酶同工酶分析, 探明其酶谱变异, 探讨其亲缘关系, 为耐贮番茄的进一步研究利用提供借鉴。

1 材料和方法

供试材料为耐贮番茄 Lok, 自交系 97-114, 普通

栽培番茄(var. vulgare) 黄果型品种大黄柿子和桔黄佳辰, 半栽培型亚种(ssp. subspontaneum Brezh) 的樱桃形番茄(var. cerasiforme) 黄果型品种樱桃黄和梨形番茄(var. pyriforme) 黄果型品种小黄梨, 野生型亚种(ssp. plimpinellifolium Brezh) 的黄果型醋栗番茄(var. eupimpinellifolium)。按不同生育期分 8 次取样, 分别为子叶展开期(A)、两片真叶期(B)、现蕾期(C)、第一花序第一花开(D)、第一花序第一花坐果(E)、第一花序第一果转色(F)、第一花序第一果红熟(G)和第一花序果全熟(H)。取材部位为茎基。

样品制备方法: 每克鲜材料加 2 mL pH 值 7.2 的磷酸缓冲液, 冰浴匀浆, 2~ 4 ℃下 12 000 r/min

收稿日期: 2002- 11- 15

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(19991109)

作者简介: 张剑国(1963-), 男, 山西孝义人, 硕士, 副研究员, 主要从事番茄遗传育种研究工作。

离心 15 min, 取上清液作供试酶液。电泳分离和染色: 聚丙烯酰胺凝胶 DY-1 型电泳仪, 分离胶浓度 7.5%~15%, 规格为 130 mm×0.625 mm。浓缩胶浓度为 3.1%。电极缓冲液为 Tris-Glg 系统, pH 值 8.3。电压为 282~300 V, 电流强度为 30~35 mA, 点样量为 40 mL, 4℃冰箱电泳 4 h。用联苯胺方法染色。

同工酶酶谱的相似值 S(%) =
$$\frac{\text{相同的酶带总数}}{\text{相比较的两个材料的酶带总数}} \times 100$$

2 结果与分析

表 1 番茄过氧化物酶同工酶谱带相对迁移率(Rf)

	谱带	耐贮番茄 Lok	自交系 97-114	大黄柿子	桔黄佳辰	樱桃黄	小黄梨	醋栗番茄
+ A 区	I - 1'							0.643
	I - 1	0.582	0.582	0.582	0.582	0.582	0.582	0.576
	I - 2	0.567	0.567	0.567	0.567	0.567	0.567	0.561
	I - 3	0.546	0.546	0.546	0.546	0.546	0.546	0.540
	I - 4	0.533	0.533	0.533	0.533	0.533	0.533	0.529
	I - 5	0.498	0.498	0.498	0.498	0.498	0.498	0.515
	II - 1'	0.479	0.479	0.479	0.479	0.479	0.479	0.488
	II - 2	0.466	0.466	0.466	0.466	0.466	0.466	0.466
	II - 3	0.451	0.451	0.451	0.451	0.451	0.451	0.451
	II - 4	0.436	0.436	0.436	0.436	0.436	0.436	0.436
	II - 5	0.419	0.419	0.419	0.419	0.419	0.419	0.419
	II - 6	0.406	0.406	0.406	0.406	0.406	0.406	0.406
	III- 1	0.379	0.379	0.379	0.379	0.379	0.379	0.379
B 区	III- 2	0.354	0.354	0.354	0.354	0.354	0.354	0.354
	III- 3	0.338	0.338	0.338	0.338	0.338	0.338	0.338
	1	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327	0.327
	2	0.305	0.305	0.305	0.305	0.305	0.305	0.296
	3	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.286	0.278
	4	0.241	0.241	0.238	0.235	0.247	0.242	
	5"							0.221
	5'							0.206
	5	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195
	1	0.178	0.178	0.178	0.178	0.178	0.178	0.178
	2	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150
	3	0.132	0.132	0.132	0.132	0.138	0.135	
	4	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065
C 区	1	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026
	2	0.041	0.041	0.041	0.041	0.041	0.041	0.041
	3	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066
	4	0.099	0.099	0.099	0.099	0.099	0.099	0.099
D 区	总带数	27	27	27	27	27	27	28

表 2 番茄过氧化物酶同工酶谱型相似值

材料名称	耐贮番茄 Lok	自交系 97-114	大黄 柿子	桔黄 佳辰	樱桃黄	小黄梨
自交系 97-114	100					
大黄柿子	96.29	96.29				
桔黄佳辰	96.29	96.29	96.29			
樱桃黄	92.59	92.59	92.59	92.59		
小黄梨	92.59	92.59	92.59	92.59	96.29	
醋栗番茄	61.81	61.81	61.81	61.81	61.81	61.81

2.1 基本谱型

跟踪生育期 8 次取样进行电泳, 所得各个时期过氧化物酶同工酶酶谱叠加, 得到基本谱型。供试 7 份材料中, 醋栗番茄可观察到 28 条谱带, 正极 24 条, 负极 4 条, 其他 6 份材料均为 27 条谱带, 正极 23 条, 负极 4 条; 各谱带在 7.5%~15% 连续浓度梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳中的相对迁移率 Rf 如表 1 所示。耐贮番茄 Lok 与自交系 97-114 基本谱型完全相同, 与大黄柿子、桔黄佳辰、樱桃黄和小黄梨的谱型基本一致, 而与醋栗番茄的差异较大(表 2)。

2.2 不同生育期的谱型变化

从不同生育期的电泳谱看(表 3), 耐贮番茄 Lok 和自交系 97-114 具有明显的差异, 除 A-I-4, A-I-5, A-II-6, B-2 和 D-3 这 6 条谱带在各生育期都显现外, 其他谱带的表现顺序明显不同。自交系 97-114 是第一花序第一花开(D)之前谱带数显现多, 由此说明自交系 97-114 的过氧化物酶同工酶谱型是“F 型”(即前期谱带显现较多, 后期显现较少的谱型),

而耐贮番茄 Lok 是在 D 期之后谱带数显现增多, 呈 (S 型)。

“S 型”(即前期谱带显现较少, 后期显现较多的谱

表 3 耐贮番茄 Lok 过氧化物酶同工酶不同时期的显现

谱带		自交系 97-114								耐贮番茄 Lok							
		A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H
+ A 区	I - 1	+	+							+	+						
	I - 2	+	+	+										+	+	+	+
	I - 3				+	+	+	+							+	+	+
	I - 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	I - 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	II - 1	+	+														
	II - 2			+	+								+	+	+	+	+
	II - 3	+	+	+						+	+	+	+				
	II - 4				+	+								+	+		
	II - 5		+	+	+									+	+	+	+
	II - 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	III - 1		+	+									+	+			
	III - 2	+	+												+	+	+
	III - 3			+	+						+	+					
B 区	1			+	+	+	+							+	+	+	
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+									+	+	+	
	4		+	+									+	+			
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C 区	1	+	+										+	+	+		
	2	+	+											+	+	+	
	3		+	+	+	+	+					+	+	+	+	+	
	4		+	+									+	+			
D 区	1	+	+												+	+	+
	2	+	+	+									+	+	+		
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+													+	+

3 讨论

过氧化物酶同工酶谱型差异与亲缘关系。利用番茄过氧化物酶同工酶谱型分析可以探讨其亲缘关系^[1~5], 过氧化物酶谱形相似值与其亲缘关系具有一定的平行性。本试验中, 耐贮番茄 Lok 与自交系 97-114 的酶谱相似值为 100%, 与其他栽培品种大黃柿子、桔黃佳辰只有一条谱带不一致, 相似值均为 96. 29%, 与半栽培型亚种櫻桃黃、小黃梨的相似值为 92. 59%, 而与野生型亚种醋栗番的相似值只有 61. 81%, 由此可以证明耐贮番茄 Lok 是普通番茄栽培品系 97-114 的突变体, 与野生亚种的亲缘关系较远。

耐贮番茄 lok 过氧化物酶同工酶谱带表达的变化。同工酶表型差异能够反映基因型差异^[1], 耐贮番茄 Lok 与自交系 97-114 随生育期进展谱带增减具有较大差异, 说明耐贮番茄 Lok 的基因表达顺序出现了较大的变化, 同时也映证了耐贮番茄 Lok 发

生基因突变这一遗传变异。

参考文献:

[1] 张相岐, 王海廷. 番茄属四个种的过氧化物酶同工酶分析[J]. 植物研究, 1987, 7(4): 133- 149.

[2] Rick C M. Four peroxidase loci in red fruited tomato species, genetics, and geographic distribution [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1974, 71: 835- 839.

[3] Rick C M. Allozyme variation on the cultivated tomato and closely related species [J]. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 1975, 102: 376- 384.

[4] Rick C M. Peroxidase complex with concomitant anodal and cathodal variation in red fruited tomato species [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1976, 73: 900- 904.

[5] Rick C M. Evolution of mating systems of in *Lycopersicon hirsutum* as deduced from genetic variation on electrophoretic and morphological characters [J]. Plant Systematics and Evolution, 1979, 132: 279- 298.