

## 苦参和苦豆子的过氧化物酶同工酶谱分析和比较

张新中, 纪瑛\*

甘肃农业职业技术学院, 兰州 730020

**摘要:** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术分析和比较了5个不同产地的苦参和1种苦豆子的过氧化物酶同工酶活性。结果表明: 不同产地苦参品种和苦豆子的过氧化物酶同工酶谱迁移率在0.14~0.28之间, 共6条酶谱带。聚类分析表明, 苦参和苦豆子的亲缘关系较远, 而不同产地的苦参种质也存在一定的差异, 可分为3类: 甘肃成县栽培的苦参与甘肃岷县栽培的苦参为一类, 河南卢氏野生苦参单独为一类, 河北承德野生苦参和甘肃成县野生苦参为一类。

**关键词:** 苦参; 苦豆子; 过氧化物酶同工酶; 聚类分析

## Analyses and Comparison on Peroxidase Isoenzymes of *Sophora flavescens* Ait. and *Sophora alopecuroides* L.

ZHANG Xin-Zhong, JI Ying\*

Gansu Agriculture Technical and Vocational College, Lanzhou 730020, China

**Abstract:** Experiments were conducted to analyze the peroxidase isoenzymes of *Sophora flavescens* and *Sophora alopecuroides*. The peroxidase isoenzymes of five sources of *S. flavescens* and *S. alopecuroides* were determined by polyacrylamide gel electrophoresis technique. The results indicated that the electrophoretic mobilities of the isoenzyme spectra were among 0.14–0.28. There were six peroxidase-active bands observed. According to cluster analysis on the isoenzyme spectra, *S. flavescens* showed a distant relationship to *S. alopecuroides*, and the germplasms of the five sources of *S. flavescens* were classified into three groups.

**Key words:** *Sophora flavescens*; *Sophora alopecuroides*; peroxidase isoenzyme; cluster analysis

苦参别名野槐、地槐、山槐子、槐麻、地骨和好汉枝等, 为豆科槐属亚灌木, 野生苦参分布于全国各地。其根可入药和杀虫, 茎叶可作农药, 茎皮纤维可作工业原料。近年来, 苦参在药材市场中需要量很大, 野生苦参供不应求, 很多地方已用人工栽培以满足需求。以前, 苦参的种质资源一般根据植物形态学划分, 而从遗传学角度分析(如同工酶分析和 RAPD 分析)的较少。一般来说, 同工酶谱分析仍然是鉴定植物品种资源的手段之一(杨文等 1998; 徐秀芳等 2001; 涂炳坤等 2002; 徐根娣等 2002; 区炳庆等 2003)。据此, 本文对不同产地苦参品种的过氧化物酶同工酶谱进行了分析, 以期为苦参的育种和分类提供参考。

### 材料与amp;方法

材料为该校苦参课题组引进的5个不同产地的栽培和野生苦参(*Sophora flavescens* Ait.)以及同属的另外1个种——苦豆子(*Sophora alopecuroides* L.), 编号为: 1 (甘肃成县栽培苦参)、2 (河北承德野生苦参)、3 (河南卢氏野生苦参)、4 (甘肃榆

中野生苦豆子)、5 (甘肃岷县栽培苦参)和6 (甘肃成县野生苦参)。

取各材料的种子, 用浓硫酸拌种处理 40 min, 然后用水冲洗干净, 分别播种于花盆中, 每盆播 20 粒, 于室温(20 ℃)下萌发, 幼苗复叶长出 5 个小时时, 分别取生长良好的茎, 准确称取 1 g, 置于预冷的冰浴研钵内, 加入少量的 0.12 mol·L<sup>-1</sup>、pH 为 6.7 的 Tris-HCl 缓冲液, 研成匀浆后定容至 5 mL, 然后全部转入离心管中以 7 040×g 离心 20 min, 取 0.5 mL 上清液, 加入等体积的样品处理液(5 mL 甘油, 0.5 mL 0.1% 溴酚蓝, 5 mL 0.49 mol·L<sup>-1</sup>、pH 为 6.7 的 Tris-HCl 缓冲液), 混匀后贮存于冰箱中备用。

采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳分离同工酶, 浓缩胶的浓度 T 为 3.1%, 交联度 C 为 20.0%, pH 为 6.7; 分离胶浓度 T 为 7.2%, 交联度 C 为 2.6%, pH 为 8.9。过氧化物酶同工酶测定的上样量为每

收稿 2009-03-18 修订 2009-06-16

资助 甘肃省科技攻关项目(2GS064-A43-019-08)。

\* 通讯作者(E-mail: lzjiying2005@163.com; Tel: 0931-4908708)。

孔 20  $\mu\text{L}$ , 酶蛋白浓度分别为: 1号 0.228  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、2号 0.272  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、3号 0.263  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、4号 0.255  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、5号 0.241  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、6号 0.232  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。在冰箱冷藏室内(1~4  $^{\circ}\text{C}$ )电泳, 当溴酚蓝标志到达凝胶前沿时停止电泳。

过氧化物酶同工酶采用联苯胺方法染色。待过氧化物酶同工酶显现出清晰的酶谱后, 以蒸馏水冲洗, 测定酶带迁移距离和指示剂迁移距离, 并计算  $R_f$  值。

## 结果与讨论

### 1 苦参的过氧化物酶同工酶谱特征分析

由图 1 可见, 5 种不同产地苦参及苦豆子中共分离出 6 条过氧化物酶同工酶带, 酶带依次命名为 A、B、C、D、E、F。酶谱可划分为两大区, 即 I 区( $R_f=0.14\sim 0.18$ )和 II 区( $R_f=0.25\sim 0.28$ ), I 区出现 3 条酶带, II 区也出现了 3 条酶带, 其中酶带 B ( $R_f=0.17$ )为各供试样品所共有, 但在 2 号样品中该酶带颜色较浅, 酶活性较其他样品稍弱。酶带 E ( $R_f=0.26$ )除 4 号苦豆子中未出现外, 其余均出现, 因此该酶带可作为鉴别苦参与苦豆子的特征酶带; 将 1、2、3、5、6 号样品的酶带 E 比较, 该酶带在 1 号和 6 号样品中酶活性较弱, 尤其在 6 号样品中该酶带颜色较浅。酶带 F ( $R_f=0.28$ )只在 2 号和 6 号样品中出现, 因此该酶带可作为鉴别河北承德

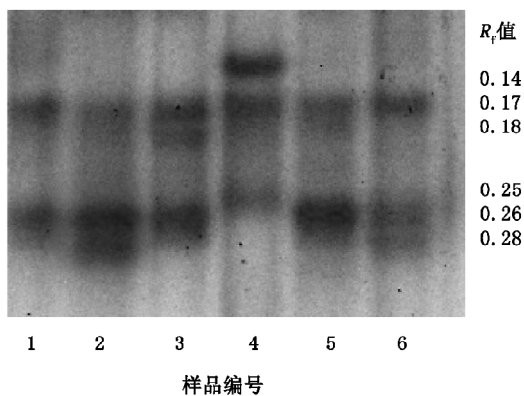


图 1 不同来源苦参和苦豆子中过氧化物酶同工酶谱

Fig.1 The electropherogram of peroxidase isoenzyme spectrums of different sources of *S. flavescens* and *S. alopecuroides*

1: 甘肃成县栽培苦参; 2: 河北承德野生苦参; 3: 河南卢氏野生苦参; 4: 甘肃榆中野生苦豆子; 5: 甘肃岷县栽培苦参; 6: 甘肃成县野生苦参。

野生苦参、甘肃成县野生苦参与其他苦参的特征酶带, 但该酶带在 6 号样品中酶活性较弱, 酶带颜色较浅, 而在 2 号样品中酶活性较强, 酶带颜色较深。酶带 C ( $R_f=0.18$ )为 3 号样品所特有, 因此该酶带可作为鉴别河南卢氏野生苦参的特征酶带。酶带 A ( $R_f=0.14$ )和酶带 D ( $R_f=0.25$ )为 4 号样品所特有, 因此这两条酶带可作为鉴别苦豆子的特征酶带。

### 2 苦参的过氧化物酶同工酶谱的聚类分析

在用酶谱间相似系数的大小表示分类群亲缘关系的远近中, 亲缘关系越近的种类, 相似系数越接近于 1, 彼此没有关系的种类之间的相似系数越接近于 0。酶谱中两两之间的相似系数(C)等于相互对比的两种酶谱中相同的酶带总数除以两种酶谱中酶带的总数(刘海学等 2001; 区炳庆等 2003)。苦参各样品及苦豆子过氧化物酶同工酶谱的相似系数见表 1。苦参过氧化物酶同工酶谱的相似系数聚类分析用类平均距离聚类法(区炳庆等 2003; 涂炳坤等 2002)进行, 聚类分析树状图见图 2。

表 1 不同来源苦参和苦豆子过氧化物酶同工酶谱的相似系数(C)

Table 1 The similarity coefficients of the electrophoretic mobility of peroxidase isoenzyme spectrums of different sources of *S. flavescens* and *S. alopecuroides*

样品	1	2	3	4	5	6
1						
2	0.80					
3	0.80	0.67				
4	0.40	0.33	0.33			
5	1.00	0.80	0.80	0.40		
6	0.80	1.00	0.67	0.33	0.80	

由聚类分析可知, 6 个不同样品可分为 4 类: 1 (甘肃成县栽培苦参)和 5 (甘肃岷县栽培苦参)分为一类; 2 (河北承德野生苦参)和 6 (甘肃成县野生苦参)分为一类; 3 (河南卢氏野生苦参)分为一类; 4 (甘肃榆中野生苦豆子)可单独分为一类。此外, 由图 2 和表 1 还可看出, 河南卢氏野生苦参与甘肃成县栽培苦参、甘肃岷县栽培苦参的亲缘关系较近; 河南卢氏野生苦参与河北承德野生苦参、甘肃成县野生苦参的亲缘关系也较近, 但不及 1、5; 苦豆子与 1、2、3、5、6 亲缘关系相对较远, 而

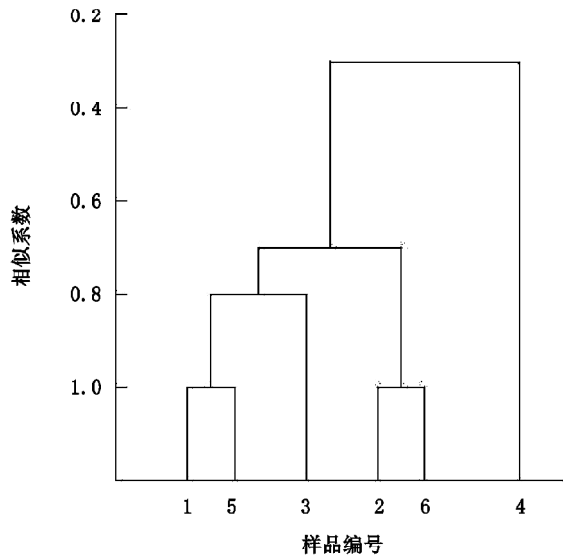


图2 不同来源苦参和苦豆子过氧化物酶同工酶聚类分析树状图

Fig.2 The cluster analysis dendrogram of the peroxidase isoenzyme of different sources of *S. flavescens* and *S. alopecuroides*

1: 甘肃成县栽培苦参; 2: 河北承德野生苦参; 3: 河南卢氏野生苦参; 4: 甘肃榆中野生苦豆子; 5: 甘肃岷县栽培苦参; 6: 甘肃成县野生苦参。

苦豆子与苦参在植物分类学上均属于豆科槐属的不同种, 所以这与实际情况相符。

总之, 用过氧化物酶同工酶谱变化以及酶谱特征区分和鉴定不同产地苦参种质间差异和亲缘关系的准确性较高, 直观、简便, 在实践中可能有一定的应用价值。

### 参考文献

- 刘海学, 范冰, 孙振雷, 刘鹏, 李景欣(2001). 不同种槭树过氧化物酶同工酶分析. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 16 (3): 265~268
- 区炳庆, 任吉君, 何丽烂(2003). 不同品种南瓜 POD 及 PPO 同工酶的比较研究. 武汉植物学研究, 21 (1): 77~80
- 涂炳坤, 王鹏程, 叶要妹, 袁雪平(2002). 香椿过氧化物酶同工酶分析. 湖北农业科学, (1): 63~65
- 徐根娣, 刘鹏, 钱丽(2002). 毛茛属两种植物的过氧化物酶同工酶和酯酶同工酶的研究. 浙江师范大学学报(自然科学版), 25 (1): 62~65
- 徐秀芳, 张海洋, 赵永勋, 李秀霞(2001). 5 个不同形态类型龙葵的同工酶研究. 武汉植物学研究, 19 (1): 77~82
- 杨文, 何如洲, 程剑平, 郭荣发, 邝雪梅(1998). 甘蔗过氧化物酶同工酶分析. 植物学通报, 15 (6): 65~69