

# 甜瓜(*Cucumis melo* L.)种质资源的 同工酶电泳分析\*

张兴平 王 鸣

(西北农业大学园艺系)

## 摘 要

本试验用凝胶电泳法分析了44份甜瓜(*Cucumis melo* L.)材料功能叶的过氧化物酶(POD)、细胞色素氧化酶(Cyt)、儿茶酚酶(Cat)及酯酶(Est)同工酶和10个材料感病前后POD及Cat同工酶的变化。结果表明除Est外,不同材料的其他三种氧化酶均存在着明显的同工酶差异,其中POD同工酶的差异最大,Cyt次之,Cat相对较小。所分析的同工酶系均不能将薄皮甜瓜和厚皮甜瓜截然分开,这两类甜瓜在同工酶水平上亲缘关系很近。甜瓜植株感染病毒后其功能叶POD和Cat同工酶分子数量和种类明显增加。

**关键词:** 甜瓜; 种质; 同工酶; 凝胶电泳; 病毒病

甜瓜(*Cucumis melo* L.)在葫芦科中是一个高度多型性的大种群,分类体系繁多、众说纷纭,起源问题迄今尚有争论。关于甜瓜的同工酶分析,Dane<sup>[6]</sup>曾研究过1000余份材料的POD同工酶,指出美国品种具有一条快阳极带( $P_{x_1}$ )和3~4条慢阳极带( $P_{x_2}$ 位点)的特征谱型。Esquinas-Alcazar研究过125份甜瓜材料的POD等6种酶系的变异,除谷草酰转氨酶同工酶外均发现了不同材料间的同工酶差异<sup>[8]</sup>。对野生甜瓜和栽培甜瓜的同工酶对比分析表明,甜瓜的变异中心是印度而不是非洲<sup>[6]</sup>。国内迄今只有马德伟<sup>[1]</sup>、吴大康等<sup>[3]</sup>曾就POD同工酶作过初步研究。本试验进一步对数量较多、来源广泛的厚皮甜瓜及薄皮甜瓜进行了多种酶系的研究,为在分子水平上探索甜瓜种质的亲缘关系、分类系统提供依据。

## 1 材料与方 法

**材料:** 试材为从国内外收集的薄皮和厚皮类型的甜瓜(*Cucumis melo* L.)种质材料44份,如表1所示。

**取样:** 当植株达到8片真叶时,自上而下取第4或第5片功能叶为试材。用冰壶带回室内,仔细冲洗干净备用。

**制样:** 称取1g样品置冰箱预冷过的研钵中,加pH7.2的Tris—HCl样品提取液和40%

本文于1987年11月29日收到。

\*姜翌同志参加了分析工作。

蔗糖各 2 ml, 研磨后在 TJ82-3 型离心机以 4000 rpm 离心 15 分钟, 取上清液贮于 0~4℃ 冰箱中供分析用。

表 1 供试甜瓜材料

材料编号	名称	果实类型	种子来源	材料编号	名称	果实类型	种子来源
2	PI1829573	厚皮	美国	102	郁金	厚皮	新疆
9	Calistream	厚皮	美国	82	蜜玫	厚皮	新疆
4	Mainsream	厚皮	美国	85	含笑	厚皮	新疆
19	Super Market	厚皮	美国	86	红心脆	厚皮	新疆
23	Topmark	厚皮	美国	90	哈选 1 号	厚皮	新疆
27	Cinco	厚皮	美国	99	麻醉瓜	厚皮	甘肃
29	Honeylope	厚皮	美国	93	金塔可口奇	厚皮	甘肃
30	PMR-45	厚皮	美国	101	黄旦子	厚皮	新疆
34	Perita	厚皮	美国	108	铁旦子	厚皮	甘肃
38	Cantalope	厚皮	美国	150	黄河蜜瓜	厚皮	甘肃
40	抗粉绿	厚皮	甘肃	151	南瓜型甜瓜	厚皮	甘肃
44	墨 95	厚皮	新疆	13	114 伊利沙白	厚皮	新疆
46	西班牙甜瓜	厚皮	西班牙	10	花皮金棒子	厚皮	新疆
47	126 澳大利亚	厚皮	新疆	104	黄皮甜瓜	厚皮	北京
48	日本金瓜	厚皮	日本	84	金塔寺	薄皮	甘肃
59	板 田	厚皮	日本	103	益都银瓜	薄皮	山东
60	82 炮弹甜瓜	厚皮	日本	106	青皮梨瓜	薄皮	陕西
65	Tam-Dew	厚皮	美国	112	南宁香瓜	薄皮	广西
66	IROQ-VOSI	厚皮	美国	98	秦安白皮脆	薄皮	甘肃
71	Inp Qfol	厚皮	美国	105	白皮梨瓜	薄皮	陕西
72	美国网纹甜瓜	厚皮	甘肃	119	大荔甜瓜	薄皮	陕西
78	金奖	厚皮	日本	113	华南 108	薄皮	广东

**电泳及染色:** 采用不连续系统垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法。分离胶浓度为 7.2%, 浓缩胶浓度为 3.1%, 点样量 50 μl, 电泳在 4℃ 冰箱中进行。POD 同工酶染色采用 Kobayashi et al. [9] 的方法, Est 同工酶染色采用 Eduard [7] 的方法, Cyt 同工酶采用曾孟潜等 [5] 的方法, Cat 同工酶采用 Schwensen et al. [10] 的染色方法。酶带显现后照相、绘图并制干板保存 (Cyt 除外)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同谱系的同工酶谱

综合 44 份甜瓜材料成株期功能叶的 POD, Cyt, Cat 及 Est 四种酶的同工酶分析结果, 所得的同工酶谱如图 1。

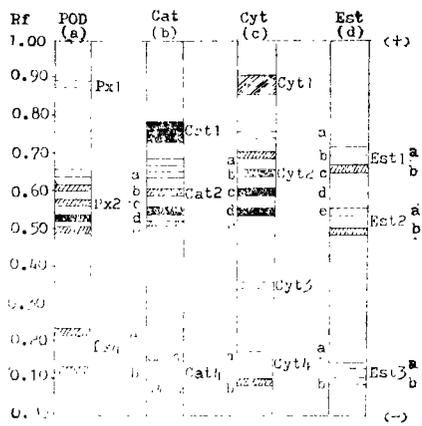


图 1 甜瓜功能叶同工酶酶谱

a. POD同工酶谱      b. Cat同工酶谱  
c. Cyt同工酶谱      d. Est同工酶谱

由图 1 可以看出，在同一种植物的相同器官中，不同酶系的同工酶谱存在着明显的差异。POD, Cat和Cyt三种氧化酶的同工酶酶带丰富，酶谱较为相似，但仍有一定的差异。而Est的同工酶酶带较少，其染色也较浅，酶分子数量很少。

2.2 不同品种间同工酶差异

2.2.1 POD同工酶的品种差异

不同甜瓜品种其POD同工酶在Px<sub>2</sub>区表现明显的差异，而其余各区均未发现品种的差异。在Px<sub>2</sub>区中Px<sub>2</sub>c和Px<sub>2</sub>d为甜瓜品种的基本酶带，Px<sub>2</sub>a, Px<sub>2</sub>b和Px<sub>2</sub>e为甜瓜品种的特征酶带。根据POD同工酶特征带的差异，将44份材料划分为五类，如表 2 所示。

由表2看出，供试甜瓜材料的POD同工酶所划

表 2 不同甜瓜品种的POD同工酶特征带

材 料 编 号	果实类型	POD同工酶特征带			酶谱类型
		Px <sub>2</sub> a	Px <sub>2</sub> b	Px <sub>2</sub> c	
4, 13, 19, 30, 34, 40, 48, 101 103, 106	厚皮 薄皮	-	+	-	A
26, 59, 60, 82, 90	厚皮	-	+	+	B
23, 29, 44, 65, 71, 73, 85, 86 93, 102, 104, 108 112	厚皮 薄皮	-	-	+	C
10, 66, 72 98, 105, 84, 113	厚皮 薄皮	+	+	-	D
2, 9, 38, 46, 47, 99, 150, 151 119	厚皮 薄皮	+	+	+	E

分的5个类型，虽各类之间酶谱有明显的差异，但每一类中均包括有薄皮和厚皮两个园艺类群的甜瓜，这表明薄皮和厚皮甜瓜在POD同工酶上并无截然的分化，二者具有一定的同源性。

2.2.2 Cat同工酶的品种间差异

Cat同工酶的品种间差异仅表现在Cat<sub>2</sub>区。从谱型看Cat<sub>2</sub>a, Cat<sub>2</sub>b, Cat<sub>2</sub>c和Cat<sub>2</sub>d酶带在品种间只有染色深浅的差异，而Cat<sub>2</sub>e则在有些材料中存在，有些材料中不存在，因此，Cat<sub>2</sub>e为甜瓜品种的特征酶带。根据特征带的不同可将44份甜瓜材料划分为二类：

第一类包括71, 104, 9, 99, 23, 78, 108, 38, 93, 101, 29, 90, 59, 46, 65, 47, 10, 44, 34, 82, 103, 2, 150及151共24份材料, 占所分析材料的54.5%。其中只有103为原产中国的薄皮甜瓜品种, 其余均为来源不同的厚皮甜瓜。这类甜瓜的特征酶带为  $Cat_{2e}$ 。

第二类包括106等其余的20份材料, 占所分析材料的45.5%。其中106, 113, 98, 105, 112, 119及84为薄皮甜瓜, 其余均为厚皮甜瓜, 这些材料缺少 $Cat_{2e}$ 。不同甜瓜材料的4条基本酶带染色深浅不尽相同, 除150及151外, 绝大多数材料的 $Cat_{2a}$ 及 $Cat_{2b}$ 酶带染色都很浅。

### 2.2.3 Cyt同工酶的品种间差异

Cyt同工酶的品种间差异在 $Cyt_2$ 区表现得很明显, 但在 $Cyt_3$ 和 $Cyt_4$ 区因分离效果不佳, 难以确认是否存在品种间差异。 $Cyt_2$ 区共显现5条酶带, 所有品种都具有 $Cyt_{2b}$ ,  $Cyt_{2c}$ 和 $Cyt_{2d}$ 酶带, 品种间的差异仅表现为染色深浅不同。而 $Cyt_{2a}$ 和 $Cyt_{2e}$ 不同材料表现不同, 为区分品种的特征带。根据特征带的不同可将44份材料划分成三类, 如表3所示。

表3 不同甜瓜品种Cyt同工酶的特征带

材 料 编 号	果实类型	Cyt同工酶特征带		酶谱类型
		$Cyt_{2a}$	$Cyt_{2e}$	
29, 71, 60, 86, 44, 104, 59, 65, 102 112	厚皮 薄皮	-	+	A
150, 9, 101, 34, 40, 38, 82, 23, 90 151, 10, 30, 46, 2, 47, 108, 93, 99, 78 98, 106, 103	厚皮 薄皮	+	+	B
26, 48, 66, 19, 72, 85, 13, 4 113, 119, 105, 84	厚皮 薄皮	+	-	C

由表3可见, 不同甜瓜材料的Cyt同工酶酶谱分化的趋势与POD相似, 即虽各材料间Cyt同工酶的变异很明显, 但若将薄皮甜瓜和厚皮甜瓜作为类群来考查时, 二者并无严格的Cyt遗传分化。

### 2.2.4 Est同工酶的品种间差异

44份材料的Est同工酶谱均未发现差异, 即不同品种、类型的甜瓜其Est酶系无遗传分化, 可见Est酶系在甜瓜的进化过程中是很稳定的。但不同材料在 $Est_1$ 区也可看到染色深浅的不同, 如99, 101, 44, 13, 65和93的 $Est_{1a}$ ,  $Est_{1b}$ 酶带染色明显深于其它材料, 说明尽管不同甜瓜材料的Est酶谱无差异, 但其体内酶分子的数量是不完全相同的, 也即不同材料Est分化基因的活动程度不尽相同。

综上所述, 甜瓜的四种同工酶系其品种间的变异程度是不同的。三种氧化酶的变异程度大于水解酶酯酶, 其中以POD的变异程度最大, Cyt次之, Cat的变异相对较小。此外, 薄皮和厚皮甜瓜之间并不存在明显的同工酶遗传分化, 即它们在同工酶分子水平上具有一定的同源性。这一结果对于在分子水平上澄清两种甜瓜的起源、进化以及合理利用具有重要的参考价值。这一研究结果修正了前人在薄皮和厚皮甜瓜起源上的传统看法, 对于进一步开展厚皮

甜瓜与薄皮甜瓜的一代杂种育种实践，扩大厚皮甜瓜的推广应用范围，也具有一定的指导意义。

### 2.3 受病毒侵染后甜瓜同工酶的变化

病毒病是甜瓜最重要的病害之一。为了解病毒侵染对甜瓜同工酶的影响，我们对比分析了甜瓜功能叶感染病毒前后POD和Cat同工酶的变化规律。

所分析的10个材料受病毒侵染后其功能叶POD和Cat同工酶均发生了明显变化(如图2)。这种变化包括两种情况，一是感病后同工酶酶带染色较健株明显加深，如46, 47感病毒后其POD和Cat同工酶带明显加深，即体内酶分子数量增加。二是与健株相比，病株增加了新的酶带，例如30, 71等5个材料感染病毒后体内增加了健株所没有的 $Px_2a$ 及 $Px_2b$ 两条酶带，108及34增加了 $Px_2b$ 酶带，23和104增加了 $Cat_2a$ ,  $Cat_2b$ 及 $Cat_2f$ 三条带，82增加了 $Cat_2a$ 和 $Cat_2f$ 酶，其中 $Cat_2f$ 在健株中未曾发现。

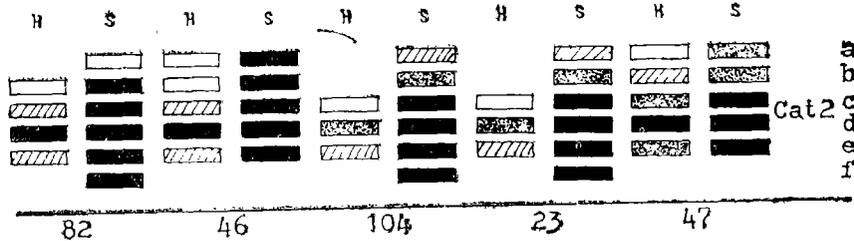


图2 受病毒侵染后甜瓜功能叶Cat同工酶的变化

此外还发现POD和Cat同工酶带数较少的材料感病后产生较多的新酶带。在健康状况下酶谱不同的材料罹病后酶谱趋于相同。可见POD和Cat同工酶数量的增加是甜瓜植株对病毒侵染在酶系统上的反应。

## 3 讨 论

薄皮甜瓜和厚皮甜瓜是两个不同的园艺学类群，其对生态条件的要求有较大的差异，适应性明显不同。但从POD, Cyt、Cat和Est四种酶的同工酶分析看，任何酶的同工酶均不能将这两类甜瓜严格区分开，可见至少在这四种酶的酶分子水平上这两类甜瓜的亲缘关系很近，只是在进化过程中分化出的不同生态型和园艺类群。如果采用更多的材料并在更广泛的酶系上开展大量深入的研究，尤其是将这两种甜瓜的原始类型也包括在研究对象之内，就可能进一步阐明它们在起源和进化上的关系。根据本研究结果难以支持薄皮甜瓜和厚皮甜瓜起源地不同的说法，而认为它们在起源上属于同一个祖先。

番茄叶片苹果酸脱氢酶同工酶在植株感染病毒后活性减低，酶带减少<sup>[2]</sup>，而POD同工酶则在植株感染TMV后活性显著增强<sup>[4]</sup>。本研究中甜瓜功能叶POD和Cat同工酶在植株感染病毒后不仅酶分子数量明显增加，而且还出现了新的同工酶带，尤其是Cat同工酶病株出现了在健株中未曾发现的 $Cat_2f$ 酶带。所以可将POD和Cat同工酶的增加作为植株感染病毒的同工酶指标。关于感染病毒后同工酶增加的原因，究竟是病毒侵染激活了植株的同工酶分子基因，还是病毒基因控制下合成了新的同工酶，尚需进一步探讨。

## 4 结 论

4.1 甜瓜不同酶系同工酶变异程度不同,所分析的四 种酶中,POD同工酶变异最大,Cyt同工酶次之,Cat同工酶变异相对较小,而Est同工酶在进化过程中很稳定,未发现品种间的遗传分化。

4.2 四种同工酶系均不能将薄皮甜瓜和厚皮甜瓜严格区分开,具有明显生态型差异的薄皮甜瓜和厚皮甜瓜在同工酶分子水平上很相似,亲缘关系很近。

4.3 甜瓜植株在感染病毒后其功能叶的POD和Cat同工酶分子数量和种类明显增加,在健康状况下酶谱有明显差异,感病毒后酶谱趋于一致。可见POD和Cat同工酶与甜瓜植株对病毒侵染的反应有密切关系。

## 参 考 文 献

- 1 马德伟等,甜瓜过氧化物酶同工酶研究初报,河北农业大学学报 1986; 9(2): 9-13
- 2 刘珠耀等,番茄苹果酸脱氢酶同工酶分析,植物生理学通讯 1983; 2: 223-229
- 3 吴大康等,甜瓜新品种—兰甜五号生物学特性及其同工酶分析、遗传1983; 5(1): 12-14
- 4 张相歧等,对TMV抗性不同品种和变种同工酶比较分析,北方园艺(科学版) 1987; 1: 3-5
- 5 曾孟潜等,玉米组织同工酶和蛋白质谱带的遗传研究 I.过氧化物酶和细胞色素氧化酶同工酶谱,遗传学报 1985; 12(2): 119-125
- 6 Dane F.Cucurbits, in: Tanskley S D, Orton T J Eds. Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part B, Elsevier Sci. Pub. Co, Amsterdam, 1983; 369-390
- 7 Eduard Vallejos C. Enzyme Activity Staining, Part A, 1983; 469-515
- 8 Esquinas-Alcazar J T, Alloenzyme Variation and Relationships in the Genus Cucumis, Ph. D. Dissertation, Uni. of California, Davis, California, 1977
- 9 Kobayashi R S et al. Identification of Anthurium and Raeanum Cultivars by Gel Electrophoresis J Ameri Soc Hort Sci 1987; 112(1): 164-167
- 10 Schwennesen J et al, Identification of Seedless Table Grape Cultivars and a Bud Sport with Berry Isozymes Hortscience 1982; 17(3): 366-368

## Electrophoretic Analysis of Isozymes in *Cucumis melo* L. Germplasm

Zhang Xingping Wang Ming

(Department of Horticulture, Northwestern Agricultural University)

### Abstract

44 varieties of *Cucumis melo* L. were analyzed for peroxidase (POD), cytochrome oxidase (Cyt), catechol oxidase (Cat) and esterase (Est) isozyme phenotypes, and of 10 varieties were assayed for comparison of POD and Cat phenotype difference between healthy plants and virus infected plants of their functional leaves by using polyacrylamide gel electrophoresis in the present study. Considerable variation was observed between varieties in three oxidases, the greatest diversity in POD and followed by Cyt and Cat, except the Est isozyme. However, two large horticultural groups of *Cucumis melo* L. oriental melon and cantaloupe, could not be distinguished by specific isozyme phenotypes or characteristic bands of the enzyme assayed. Oriental melon and cantaloupe have a close relation in the enzyme level. Increased bands and darker stained bands were found on the plants infected by virus both in POD and Cat systems.

**Key words:** *Cucumis melo*; Germplasm; Isozyme; Electrophoretic analysis; virus diseases