

· 天然药物进展 ·

菘蓝 (大青叶) 多倍体子代与亲本的种子凝胶电泳比较

第二军医大学药学院 乔传卓 赵春丽

十字花科植物菘蓝是常用中药大青叶、板蓝根的主要来源,全国各地均有大量栽培。我们⁽¹⁾用秋水仙碱处理萌发的种子,成功地获得了两个菘蓝四倍体优质品系。本文对新获得的两个菘蓝四倍体品系的种子及其亲本二倍体的种子,用盘状凝胶电泳法进行了可溶性蛋白、过氧化物同工酶的研究,现报告如下:

试验方法与结果

1. 材料与制备

将菘蓝多倍体A系、B系及亲本二倍体成熟种子,各取1g,加电极缓冲液2ml研磨匀浆,匀浆液转移至离心管中,高速离心机以7000转/分离心15分钟,上清液备用。试剂和凝胶按聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳常规制备⁽²⁾。分离胶浓度7.5%,间隔胶浓度2.5%。

2. 凝胶电泳

每支凝胶管加样品液100 μ l,表面小心加1滴含糖溴酚蓝指示剂,并以电极缓冲液覆盖。接通电源,调整电流每管1mA,当指示剂到达分离胶后(20分钟),电流加大至每管2mA。待溴酚蓝行至距末端1cm时,停止电泳,即刻取出凝胶柱进行固定染色。

3. 固定和染色

可溶性蛋白的固定、染色:12.5%三氯乙酸固定30分钟,然后浸入含2%的考马斯亮蓝R250的12.5%三氯乙酸中染色2小时,再用7%醋酸漂洗脱色至背景清晰。

过氧化物同工酶凝胶柱的固定、染色:用水漂洗过的凝胶放入20ml0.2M醋酸钠,2ml5mM硫酸锰,5ml0.12%过氧化氢和5ml联苯胺—愈创木酚溶液(50mg联

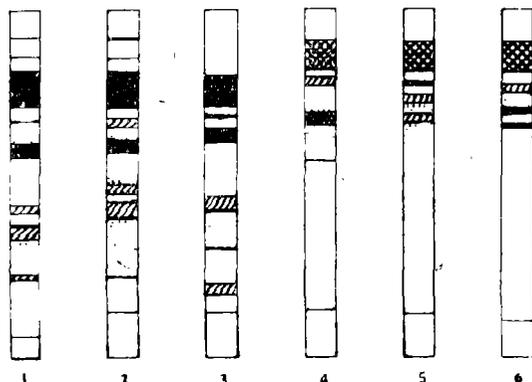
苯胺加上135mg愈创木酚溶于25ml10%醋酸中)混合液中,保温30分钟。取出漂洗后,保存在2%醋酸中,于暗处保存。

4. 结果

试验重复两次,结果(见附图)一致。电泳谱带根据染色深浅分为三级:色深者为一级带,色浅者为二级带,谱带扩散者为扩散带。

(1) 可溶性蛋白电泳谱:一级带亲本与两个子代基本相同,均为两条,带宽一致,两条带的比移值分别为0.76、0.74、0.74和0.56、0.54、0.57。二级带,子代A与亲本较相似,带数一样,比移值接近,只是在带宽、颜色深浅上略有不同;子代B比亲本少两条比移值为0.91、0.85的带,其它二级带的宽度、颜色、比移值等也与亲本差别较大。

(2) 过氧化物同工酶谱:亲本和两个子代的总带数相同,均为四条。三者都有一条色兰、同宽,比移值相近的带。其余三条带等级、宽度、比移值均不一样。



多倍体子代与亲本种子的电泳图

图1~3 可溶性蛋白电泳谱: 1. 二倍体亲本, 2. 同源四倍体A, 3. 同源四倍体B。

图4~6 过氧化物同工酶谱: 4. 二倍体亲本, 5. 同源四倍体A, 6. 同源四倍体B。

讨 论

以往有不少学者认为⁽³⁾, 多倍体育种和杂交育种、辐射育种等有所不同。一般它并没有什么“全新性状”发生或重组(指同源多倍体), 而只是原有性状的加强和提高等⁽³⁾。事实上, 在许多人工同源多倍体育种研究中发现, 多倍体子代与亲本之间或多倍体子代之间, 可产生形态学或次生代谢产物——化学成份上的变异。例如, 有关化学组分上的变异, 在福录考 *Phlox drummondii* 的栽培品系和它的一个天然变种 *P. drummondii* var. *mellisteri* 的人工同源四倍体中, 其同源四倍体中有的甚至会产生亲本所不含有的黄酮类成分⁽⁴⁾。形态学上的变异也十分显著。卡西亚菇诱发出的同源四倍体, 其子代叶子上的刺变化很大, 有三株几乎是不带刺的, 它们的叶缘上也变成了平整的等⁽⁵⁾。我们的研究也表明, 崧蓝四倍体子代与二倍体亲本在植株大小、叶形、花、叶表皮

组织的气孔, 花粉粒等形态学上均有不同。化学成份靛蓝、靛玉红的含量, 四倍体子代大大高于亲本。

目前有关人工同源多倍体变异的报道多为形态学变异和次生代谢产物的变异, 有关染色体加倍对植物初生代谢的影响, 尚缺乏系统的研究, 本实验通过可溶性蛋白、过氧化物同工酶的凝胶电泳, 发现多倍体子代与亲本之间、多倍体子代之间电泳色带均不相同。我们曾系统地比较崧蓝二倍体亲本与二个四倍体品系根中氨基酸中组成, 四倍体子代与亲本相比也有量的或质的差异。例如B品系中甘氨酸的含量是亲本的16倍; 亲本中含有谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺在B品系中缺如。这些研究结果较系统地阐明了秋水仙碱不仅能使染色体加倍, 而且也是一种能引起遗传物质产生变异的化学诱变剂。

参 考 文 献

1. 乔传卓等: 植物学报 1989; 31(9): 678
2. 张树政等: 化学通报 1973; (1): 30
3. 胡 楷: 西北大学学报 自然科学版1977; (2); 46
4. 乔传卓: 中草药通讯 1979; (12): 38
5. Bhatt B: *Environmental and Experimental Botany* 1977; 17: 121

心叶淫羊藿挥发油成分分析

第二军医大学药学院 朱洪平 廖时莹 陈海生

心叶淫羊藿 (*Epimedium brevicornum* Maxim.) 系小檗科淫羊藿属地上部分全草。本草纲目记载淫羊藿有“益精气, 坚筋骨、补腰膝、强心力”等功效。⁽¹⁾ 为常用补肾壮阳药。目前已从淫羊藿属植物中分离鉴定了28种黄酮类化合物, 四种木脂素和一种生物碱⁽²⁾。有关淫羊藿挥发油的化学成分, 至今尚未见文献报道。我们用气相色谱

—质谱法进行了心叶淫羊藿挥发油成分分析, 共鉴定了30个化学成分以供进一步研究参考。

实验与结果

一、材 料

心叶淫羊藿地上全草经水蒸汽蒸馏法得到挥发油。

二、方 法