

## 泡沙参同工酶基因位点的遗传分析\*

葛 颂 洪德元

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室,北京 100093)

**摘要** 利用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,对来自天然群体(居群)的泡沙参(*Adenophora potaninii* Korsh.)及其人工杂交子代进行了8种同工酶的电泳检测和谱带遗传分析,以确定编码这些酶系统的基因位点和等位基因。选用4种不同的凝胶缓冲系统,对下列不同酶系统进行了酶谱的遗传分析:天冬氨酸转氨酶(AAT)、酯酶(EST)、甲酸脱氢酶(FDH)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、异柠檬酸脱氢酶(IDH)、乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸酶(ME)和超氧化物歧化酶(SOD)。结果表明,这8种酶系统至少由18个基因位点编码,其中12个位点为遗传稳定的等位酶位点,是可靠的遗传标记。酶谱的分离式样表明,EST为单聚体结构,AAT、FDH、IDH、SOD为二聚体结构,GDH为六聚体结构。最后对同工酶的器官和发育特异性以及同工酶基因位点的遗传分析进行了讨论。

**关键词** 泡沙参;同工酶;遗传分析

## GENETIC ANALYSIS OF ISOZYME LOCI IN *ADENOPHORA POTANINII* KORSH.

Ge Song and Hong De-yuan

(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing 100093)

**Abstract** Enzyme polymorphism in *Adenophora potaninii* Korsh. was investigated using vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis. Genetic analysis of the population samples and the progeny of intraspecific crosses allowed the verification of the isozyme loci from eight enzyme systems. The system studies included aspartate aminotransferase (AAT), esterase (EST), formate dehydrogenase (FDH), glutamate dehydrogenase (GDH), isocitrate dehydrogenase (IDH), lactate dehydrogenase (LDH), malic enzyme (ME) and superoxide dismutase (SOD). The results indicated that the eight enzyme systems are specified by at least 18 loci, 12 of which behaved as allozyme loci. Zymogram patterns showed that EST is monomeric and GDH is hexameric. AAT, FDH, IDH and SOD are apparently dimeric. The tissue and developmental variability are also discussed along with the genetic analysis of isozymes.

**Key words** *Adenophora potaninii*; Isozymes; Genetic Analysis

同工酶电泳技术或称酶电泳技术是本世纪50年代末才兴起的一门应用技术,是生物化学和分子生物学不断发展的产物。由于酶电泳首次鉴定出大量的基因位点(酶位点),并能有效地度量基因组的变异,从而为群体(population, 居群, 种群)遗传和生物进化研究

带来了突破性进展,也为植物系统进化研究提供了新的手段和途径<sup>[1,2]</sup>。尽管同工酶遗传标记优于以往任何形态学标记,但同工酶仍然是一种表型,既受遗传的控制,也受生理(转译后)因素的影响,还会受人为(实验)因素的干扰。尤其是那些用人工底物染色的酶类,如过氧化物酶、酯酶等,往往有明显的发育变化和组织分化<sup>[2~5]</sup>。因此,要使同工酶表型成为一种可靠的遗传标记,必须研究同工酶的器官和发育特异性,对于那些表达稳定的同工酶,还必须进行特定的遗传分析来确定酶谱的遗传基础,从而筛选出受单位点编码的等位酶。由于等位酶这种特殊的同工酶具有遗传基础简单、共显性表达等特点,是十分可靠和有效的遗传标记<sup>[1,2,6]</sup>。本研究以桔梗科泡沙参为材料,采用聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳技术,利用移栽和播种的群体样本并结合控制杂交分析,探讨了8种同工酶谱带的遗传规律,进而确定了一批等位酶位点及等位基因,为进一步利用这些酶位点进行群体遗传、进化和分类学研究提供基本资料。

## 1 材 料 和 方 法

### 1.1 实验材料

1990年10月至1992年11月从野外采挖泡沙参(*Adenophora potaninii* Korsh.)及其近缘种23个天然群体共400余株个体,全部移栽于试验园地内(北京香山)。在此期间,选择其中9个群体进行了杂交试验及子代测定,以探讨群体和种间的亲缘关系<sup>[7]</sup>。本研究在对全部移栽群体进行同工酶检测的同时,重点针对上述杂交组合的亲本及其子代进行酶电泳检测。这些杂交组合的个体来自泡沙参的4个群体:01(辽宁建昌)、07(内蒙古大青山)、13(甘肃天水)和18(四川茂县)。这些群体的详细地点、生境和杂交情况详见文献<sup>[7]</sup>。

### 1.2 酶的提取、凝胶电泳和染色

取单株茎上部幼嫩叶片0.3g,加1.0mL提取缓冲液在冰浴中匀浆提取。粗提液在0~4℃下离心10min(12000r/min),取上清液保存于0~4℃,3d内使用。提取缓冲液据Soltis等<sup>[8]</sup>配方稍加调整,即0.1mol/L Tris-HCl(pH 7.5)50mL,加0.001mol/L(0.02g)EDTA(四钠盐)、0.01mol/L(0.038g)氯化钾、0.01mol/L(0.1g)氯化镁和5%蔗糖,提取前再加0.1%(V/V)巯基乙醇和8%(W/V)聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。

采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板状电泳,凝胶板规格为160mm×160mm×1.0mm,每板20个宽5mm的样品槽,凝胶系统的制备基本参照文献<sup>[9]</sup>。为得到分辨清晰的同工酶谱带,通过对比实验筛选出4种凝胶系统分别用于不同酶系统的分离,即系统Ⅰ——11.5%分离胶,a:b=25;系统Ⅱ——10%分离胶,a:b=37.5;系统Ⅲ——10%分离胶,a:b=60;系统Ⅳ——7.5%分离胶,a:b=25。4种凝胶系统均用3%浓缩胶,a:b=37.5;分离胶缓冲液为Tris-HCl(pH 8.8),浓缩胶缓冲液为Tris-HCl(pH 6.8)。电极缓冲液为Tris-甘氨酸(pH 8.3)。采用稳流电泳,每块凝胶板先用10mA电流电泳2h,再用25mA电流继续电泳,待溴酚蓝前沿移至距分离胶起点7.5cm处,停止电泳,剥胶染色。显色后凝胶片在7%冰醋酸固定液中固定24h,然后用40%甲醇+1%甘油脱水剂脱水40~50min,再用玻璃纸封片干燥,永久保存。酶系统的染色均参照Wendel和Weeden<sup>[10]</sup>的配方,并根据聚丙烯酰胺凝胶系统和沙参属植物的特点稍作修改。

### 1.3 遗传分析

首先,对播种和移栽材料不同器官和不同生长季节进行检测,以掌握各酶系统的发育变化和器官特异性。然后,针对群体样本进行检测,了解不同谱带个体在天然群体中的分布规律,初步掌握编码各酶系统可能的基因位点和等位基因。最后,选择特定杂交组合,对亲本酶带类型及其在  $F_1$  代中的分离组合情况进行遗传分析,确定酶位点和等位基因。由于泡沙参为多年生宿根草本,一年生时只长基生叶,故杂交组合的酶电泳检测均在  $F_1$  代两年生时进行。

同工酶(等位酶)位点和等位基因的命名按常规<sup>[11]</sup>,以酶的缩写字母代表该酶系统,连字符后数字代表该酶不同的位点(当有多个位点时),愈靠近正极(迁移率愈大)的位点以愈小数字表示。每个位点的等位基因用小写英文字母代表,靠正极最近(迁移率最大)的等位基因以 a 代表,其次以 b 代表,照此类推。当有不表达(silent)等位基因时,以 n 代表。杂交子代等位基因分离与理论期望比率的适合度用经过矫正的  $\chi^2$  分析进行检验。

表 1 电泳检测的酶系统、编码位点和凝胶缓冲系统  
Table 1 Enzymes, number of loci assayed and buffer systems

酶系统 Enzyme system	缩写 Abbreviation	凝胶缓冲系统 Buffer system	位点数目 <sup>1)</sup> No. of loci
天冬氨酸转氨酶 Aspartate aminotransferase	EC 2. 6. 1. 1 AAT	IV	2(4)
酯酶 Esterase	EC 3. 1. 1. — EST	I	1(>4)
甲酸脱氢酶 Formate dehydrogenase	EC 1. 2. 1. 2 FDH	II	1
谷氨酸脱氢酶 Glutamate dehydrogenase	EC 1. 4. 1. 2 GDH	II	2
异柠檬酸脱氢酶 Isocitrate dehydrogenase	EC 1. 1. 1. 42 IDH	I	2
乳酸脱氢酶 Lactate dehydrogenase	EC 1. 1. 1. 27 LDH	I	1(1~2)
苹果酸酶 Malic enzyme	EC 1. 1. 1. 40 ME	II	2
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	EC 1. 15. 1. 1 SOD	I	1(>3)

1)括号外为本文分析的位点数,括号内为推断的编码位点数。

Number of analysed loci (outside parentheses) and total putative loci (in parentheses).

## 2 结果和分析

本研究共测定了泡沙参近 15 种酶系统,通过变动提取液和凝胶缓冲系统,其中 12 种酶系统的显色正常并有明显的谱带。然而,在这 12 种酶系统中,过氧化物酶(PER)和酸性磷酸酶(ACP)不仅具有较多的谱带,而且有明显的发育变化和器官特异性;甲萘醌还原酶(MNR)发育和器官特异性相对较小,但同样谱带较多且变化复杂;苹果酸脱氢酶(MDH)没有显示出发育的特异性,但在本研究所用凝胶缓冲系统中谱带分离不好,有明显的干扰。因此,上述 4 种酶系统或因发育及器官特异性较强,或因谱带分离不良和变化复杂,无法进行遗传分析。其余 8 个酶系统均显示出染色适中、带纹清晰的酶谱,而且表达稳定,可以通过群体样本及杂交子代的分析来确定其遗传基础,这 8 个酶系统的种类、编码位点及适用的凝胶缓冲系统见表 1。

### 2.1 天冬氨酸转氨酶(AAT)

AAT 又称谷氨酸草酰乙酸转氨酶(glutamate oxaloacetate transaminase, GOT),是植物中研究较多的一种酶<sup>[11]</sup>,存在于植物细胞的细胞液、叶绿体、线粒体和微体中,通常受 2~4 个位点控制,为二聚体结构<sup>[6,11]</sup>,但在某些类群中也有单聚体酶的报道<sup>[12]</sup>。在泡沙参

中,可以检测出 3 个活性区。第一个活性区较宽且酶带着色深,迁移率(Rf)在 0.56~0.72 之间,从谱带的分离组合看比较复杂,估计由 2 个位点编码,命名为 AAT-1 和 AAT-2。由于这两个位点间谱带发生重叠,无法进一步确定位点和等位基因(图版 1, 1、2)。第二个活性区紧靠第一个活性区,Rf 在 0.40~0.56 之间,Rf 最大的一条带有时会和第一个染色区相重叠,但并不妨碍其识别。群体样本的检测表明,纯合体表现为单带而杂合体为三带(图 1;图版 I, 1、2),故和以往报道的相同,是二聚体结构,将该位点命名为 AAT-3,

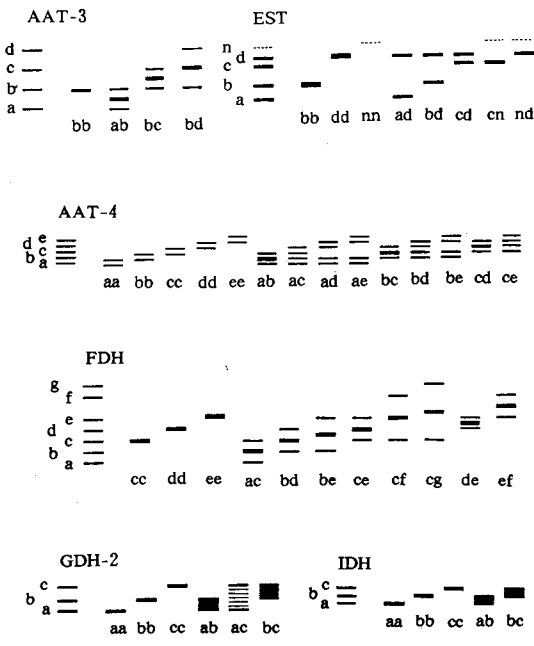


图 1 等位酶谱带的编码位点、等位基因及居群中的各种基因型

Fig. 1 Allozyme bands and the relevant loci and alleles as well as the genotypes from population samples

在泡沙参中存在 3 个等位基因(图 1)。杂交测定表明,酶带的分离和组合均符合孟德尔分离比例(表 2)。第三个活性区染色较弱,Rf 在 0.20~0.38 之间,谱带均以双带或多带出现,杂交测定表明这些双带符合孟德尔分离比例,每对双带受一个等位基因编码(表 2;图 1),但似乎是单聚体,与 *Citrus*、*Allium* 和 *Stellaria* 属中的报道相似<sup>[12~14]</sup>。类似的双带现象在其它酶系统或类群中也有报道<sup>[14]</sup>。该染色区命名为 AAT-4,泡沙参中有 4 个等位基因(图 1)。

### 2.2 酯酶(EST)

酯酶是植物中变化很大的酶系统,有很强的器官和发育特异性<sup>[4]</sup>,存在于细胞液中,由 2~10 个基因位点编码,有单聚体和二聚体结构<sup>[6]</sup>。在泡沙参中,酯酶的表现也较复杂,存在一定的器官特异性。本研究以叶片材料为主进行检测,

发现该酶有明显的发育变化,即个体从初春抽芽、发茎至开花结果,叶片内酶谱均有较大变化。不仅谱带数目多,且伴有染色深浅的变化,因此,尽管获得了分离清晰的谱带,仍很难确定不同的染色区(位点)(图版 1, 3),谱带式样很像 PER 谱带的变化。但是,与 PER 不同的是,植株开花前,在紧靠负极的染色区(Rf 在 0.10~0.25 之间)存在显色很深且表达稳定的谱带式样。群体样本的测定表明,在该染色区,个体表现为单带、双带和无带三种情况(图版 1, 4、6),显然是单聚体结构。进一步的杂交测定证实其单位点编码的特性(表 2)。供试材料在该位点上存在 5 个等位基因,其中包括 1 个不表达(silent)等位基因(n),其纯合体(nn)不显带(图 1;图版 I, 6)。酯酶中类似的不表达等位基因在其它许多类群中均有报道<sup>[5,12]</sup>。

### 2.3 甲酸脱氢酶(FDH)

植物中以甲酸脱氢酶作为遗传标记的报道不是很多,甚至连其存在的细胞部位还不十分清楚<sup>[6]</sup>,但有关其分离、纯化和生理特性的研究并不少,是结构清楚的二聚体酶<sup>[15]</sup>。在本研究中,该酶分离效果很好,带纹清楚,但着色稍弱。在供试材料中,该酶只有一个活



性区, Rf 在 0.20~0.44 之间, 或为单带(纯合体), 或为三带(杂合体), 为典型的二聚体结构(图 1; 图版 I, 1~3)。由于在所进行的杂交试验中包括了该酶许多不同带型的个体, 故为子代测定提供了很好的材料。在 6 个杂交组合的测定中, 酶谱分离和组合均符合孟德尔期望比例(表 2), 进一步证实了其单位点编码、二聚体结构的特性。在供试材料中共检测出 7 个等位基因, 是泡沙参所检测酶系统中等位基因最多的位点。但其中 4 个等位基因频率较低, 未发现其纯合体, 只存在于杂合体中(图 1; 图版 I, 1、2)。

#### 2.4 谷氨酸脱氢酶(GDH)

据报道, 谷氨酸脱氢酶存在于植物细胞的细胞液中, 为单位点编码的六聚体<sup>[6]</sup>, 但也有 2 个位点及四聚体的报道<sup>[16, 17]</sup>。本研究发现有 2 个相邻的染色区, Rf 在 0.05~0.15 之间, 似乎受 2 个位点控制, 其中第一个位点(GDH-1)分离效果不好, 故只选用 GDH-2 进行分析。该酶在供试材料中多表现为单带, 有少数表现为 7 带, 似乎是六聚体结构(图 1)。但该酶中间带纹较浅(图版 I, 5), 与一般的报道稍有不同。对仅有的一个杂交组合子代的测定表明, 酶谱分离式样符合期望比例(表 2)。

#### 2.5 异柠檬酸脱氢酶(IDH)

异柠檬酸脱氢酶作为植物中遗传标记的报道不少, 是存在于细胞液和叶绿体中的二聚体酶<sup>[6]</sup>。据报道, 编码该酶的位点从 1 个到 4 个不等, 并在许多类群发现有位点重复现象<sup>[18, 19]</sup>。在与沙参属近缘的风铃草属(*Campanula* L.)中, Frizzi 和 Tammaro<sup>[20]</sup>发现 2 个等位酶位点, 而 Inoue 和 Kawahara<sup>[19]</sup>发现 3 个等位酶位点, 并认为 IDH-3 是重复位点。在本研究中也发现了 2 个等位酶位点, Rf 分别为 0.16~0.22(IDH-1)和 0.10~0.15(IDH-2)。由于所用凝胶系统未能将酶谱完全分离开来, IDH-2 谱带受 IDH-1 谱带的干扰(图版 I, 7), 不作进一步分析。IDH-1 位点上可分辨出 3 个等位基因, 杂合体的 3 条谱带连成一片形成很粗的带纹(图 1; 图版 I, 7)。杂交测定表明, 谱带间分离符合孟德尔期望比例(表 2)。

#### 2.6 乳酸脱氢酶(LDH)

乳酸脱氢酶是动物中研究最早也最多、结构最清楚的酶系统, 但在植物中的报道却不是很多<sup>[21, 22]</sup>。通常认为该酶存在于细胞液中, 为四聚体<sup>[6]</sup>。但在本研究中, 该酶谱带 Rf 在 0.2~0.4 之间, 以单带、双带和三带形式出现(图版 I, 4), 似乎为单聚体。由于所进行的杂交试验中未包括不同谱带式样的个体, 或一些组合子代个体数太少, 无法准确检测谱带的分离组合情况, 该酶系统谱带的遗传基础还有待进一步的实验来确定。

#### 2.7 苹果酸酶(ME)

苹果酸酶在植物中的报道不一致。通常认为该酶是存在于细胞液中的四聚酶, 且由单位点编码<sup>[6]</sup>。但也有单聚体、位点数目可多达 4 个的报道<sup>[12]</sup>。本研究发现 3 条染色深且稳定不变的酶带, Rf 分别为 0.20、0.45 和 0.62。由于这 3 条谱带在全部供试材料中均表现一致, 故无法进行进一步的杂交验证。

#### 2.8 超氧化物歧化酶(SOD)

超氧化物歧化酶存在于植物细胞的细胞液、叶绿体和线粒体中, 由 1~2 个位点编码, 既有二聚体也有四聚体的报道<sup>[6, 16, 20]</sup>。在与沙参属近缘的风铃草属中, 发现该酶受 2 个以上的位点控制, 但只有 1 个位点(SOD-1)能分辨并解释清楚, 其上有 3 个等位基因<sup>[20]</sup>。在

本研究的供试材料中,大部分个体表现为 4 条清晰的谱带(图版 I, 7), Rf 在 0.58~0.88 之间。对群体样本的分析表明,这些谱带至少由 3 个以上基因位点的编码(SOD-1-3),且不同位点的谱带相互重叠或交错,故只有 SOD-2 上谱带式样能得到解释,杂交后代测定符合期望比例。根据本研究中出现的多带表型,推测很可能在泡沙参中出现了 SOD 位点重复。

表 2 不同等位酶谱带在杂交后代中的分离和  $\chi^2$  检验

Table 2 Observed allozyme segregation in  $F_1$  progeny of crosses and goodness-of-fit tests

位点 Locus	亲本 Parents		子代基因型及其个体数 Type and No. of progeny genotypes				期望比例 Expected ratio	$\chi^2$	P	
	组合 Combination	基因型 Genotype								
AAT-3	1809×1813	ab×bb	ab	bb	bc	cc	1:1	0	1.0	
	1308×1310	ab×bb	7	6			1:1	0	1.0	
	0107×0114	bc×bc		3	8	4	1:2:1	0.20	>0.9	
AAT-4			bc	cc						
	0105×0110	bc×cc	7	4			1:1	0.36	>0.5	
	1821×1815	bc×cc	9	5			1:1	0.64	>0.4	
EST			bd	dd	de					
	0706×0715	bd×dd	5	9			1:1	0.64	>0.4	
	1308×1310	dd×de		6	7		1:1	0	1.0	
FDH			be	cc	cd	ce	ee			
	1821×1815	be×ee	7				7	1:1	0	1.0
	0105×0117	ce×cc		7		4		1:1	0.36	>0.5
	1809×1813	cc×ee				15		1	0	1.0
	0706×0715	ce×ce		4		7	3	1:2:1	0.14	>0.9
	0708×0704	cc×dd			11			1	0	1.0
	1809×1813	ce×ee				7	8	1:1	0	1.0
GDH			bd	dd						
	1815×1821	bd×dd	9	5				1:1	0.64	>0.4
IDH-1			ab	bb						
	1308×1310	ab×bb	5	8				1:1	0.31	>0.5
SOD			bb	bc						
	0708×0704	bc×bb	4	7				1:1	0.36	>0.5

### 3 讨 论

#### 3.1 同工酶的特异性和稳定性

同工酶是指同一种酶具有多种不同的分子形式,这些多分子形式的产生受包括遗传、生理和发育甚至人为等多种因素的影响<sup>[2~4]</sup>。因此,要使同工酶成为一种稳定可靠的遗传标记,一方面要排除人为(实验)误差的影响,另一方面要了解各种酶系统的器官特异性和发育变化。目前,在植物中,通常检测的酶系统大约为 40 种左右<sup>[6,10]</sup>,尤以那些存在于糖酵解和戊糖磷酸途径中的酶类(如各种脱氢酶类)最为常见。由于这些酶系统不仅具有稳定的亚细胞部位和清楚的四级结构,而且多为单位点编码(等位酶),没有或只有很小的器官和发育特异性,因而是十分可靠的遗传标记<sup>[4]</sup>。而另一类多为人工底物染色的酶类

(如过氧化物酶、酯酶和酸性磷酸酶等),酶谱很多且具有明显的器官和发育特异性,甚至不同的实验条件,如底物和染色条件(pH、温度)的不同都会导致酶谱的变化<sup>[4~6]</sup>。对泡沙参 12 种酶系统的检测也体现出不同酶系统在特异性和稳定性上的差异。过氧化物酶、酸性磷酸酶和酯酶具有较强的器官和发育特异性,加上谱带很多、变化复杂,在缺乏不同器官和不同发育阶段的充分检测之前,无法确定谱带的遗传基础;其中酯酶在紧靠迁移起点(负极)处发现了一个稳定的染色区,可供进一步的遗传分析。其余的 8 种酶系统在检测组织和器官相对固定的情况下,可以得到十分稳定的酶谱表达,使进一步的遗传分析成为可能。

### 3.2 同工酶位点的遗传分析

在获得了表达稳定的酶电泳谱带后,并不意味着这些谱带就一定是等位基因的产物,还必须进行可靠的遗传分析<sup>[2,5]</sup>。由于植物中的大多数同工酶具有十分稳定的位点数目和结构<sup>[4,6]</sup>,故通常根据植物中特定同工酶位点及其分布的一般规律,结合该酶在近缘类群中的表现,再通过对群体样本的分析就可以比较可靠地确定所研究酶系统的编码位点和等位基因,这是快速而简便的一种方法,也在大量研究中被采用<sup>[5,16,19,20,22]</sup>。另外,还可通过分析一些植物类群特定的组织来确立位点及等位基因。例如,利用裸子植物雌配子体(胚乳)为单倍体的特点,通过分析某一个体一定数目的子代胚乳可以十分简便地确定酶位点和等位基因以及该个体在各位点上的基因型<sup>[5,23]</sup>。但是,确定同工酶(等位酶)遗传基础最根本可靠的方法是进行控制杂交,通过分析特定酶谱在亲本及其子代中的分离和组合来确定基因位点的存在及其等位基因的种类<sup>[2,5]</sup>。本研究同时结合上述几种方法来进行酶位点和等位基因的推断。如 FDH 和 AAT-3 在群体样本中或单带或三带(图 1;图版 I, I),是典型的二聚体结构,编码位点和等位基因及个体的基因型十分清楚,杂交子代测定进一步证实了根据群体样本的推断。尽管迄今未见有关 FDH 遗传分析的报道,但本研究除了对群体样本进行分析外,还采用了更为可靠的杂交子代测定,充分表明了该酶系统单基因位点编码二聚体结构的特点。

综上所述,要使同工酶成为一种可靠的遗传标记,对同工酶谱带进行遗传分析是至关重要的,而杂交子代测定则是其中最可靠的方法。对泡沙参 12 个酶系统谱带发育变化和遗传方式的分析表明, AAT、EST、FDH、GDH、IDH 和 SOD 这 6 个酶系统所编码的 7 个位点是表达稳定、符合简单孟德尔分离方式的等位酶位点。这些位点是进一步研究泡沙参群体遗传变异、类群界线和进化关系的可靠遗传标记。

### 参 考 文 献

- 1 Crawford D J. Enzyme electrophoresis and plant systematics. In: Soltis D E, Soltis P S eds., *Isozymes in Plant Biology*. Portland: Dioscorides Press. 1989. 146~164
- 2 葛颂. 酶电泳资料 and 系统与进化植物学研究综述. 武汉植物学研究. 1994. 12: 71~84
- 3 胡志昂. 杨属植物的同工过氧化物酶. 植物分类学报. 1981. 19: 291~297
- 4 Gottlieb L D. Conservation and duplication of isozymes in plant. *Science*. 1982. 216: 373~380
- 5 Gottlieb L D. Electrophoretic evidence and plant populations. *Prog Phytochem*. 1981. 7: 1~46
- 6 Weeden N F, Wendel J F. Genetics of plant isozymes. In: Soltis D E, Soltis P S eds., *Isozymes in Plant Biology*. Portland: Dioscorides Press. 1989. 46~72
- 7 Ge S, Hong D-Y. Biosystematic studies on *Adenophora potaninii* Korsh. complex (Campanulaceae) I. Crossing experiment. *Cathaya*. 1994. 6: 15~26
- 8 Soltis D E, Haufler C H, Darrow D C *et al.* Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers. gel

- and electrode buffers. and staining schedules. *Amer Fern J.* 1983. **73** (1): 9~27
- 9 何忠效, 张树政主编. 电泳. 北京: 科学出版社. 1990. 12~74
- 10 Wendel J F. Weeden N F. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: Soltis D E. Soltis P S eds. *Isozymes in Plant Biology*. Portland: Dioscorides Press. 1989. 5~45
- 11 Gottlieb L D. Genetic control of glutamate oxaloacetate transaminase isozymes in the diploid plant *Stephanomeria exigua* and its allotetraploid derivative. *Biochem Genet.* 1973. **9**: 97~107
- 12 Cai Q. Chinnappa C C. Studies on the *Stellaria longipes* polyploid complex (Caryophyllaceae): Characterization of the genetic basis of isozymes. *Can J Bot.* 1989. **67**: 2960~2966
- 13 Torres A M. Soost R K. Diedenhofen U. Leaf isozymes as genetic markers in *Citrus*. *Amer J Bot.* 1978. **65**: 869~881
- 14 Torres A M. Soost R K. Mau-Lastovicka T. *Citrus* isozymes genetics and distinguishing nucellar from zygotic seedlings. *J Heredity.* 1982. **73**: 335~339
- 15 Farinelli M P. Fry D W. Richardson K E. Isolation, purification, and partial characterization of format dehydrogenase from soybean seed. *Plant Physiol.* 1983. **73**: 858~859
- 16 Bayer R J. Patterns of isozyme variation in western north American *Antennaria* (Asteraceae: *Imuleae*). *Syst Bot.* 1988. **13**: 525~537
- 17 Walters T W. Decker-Walters D S. Determination and interpretation of comigrating allozymes among genera of the Benincaceae (Cucurbitaceae). *Syst Bot.* 1991. **16** (1): 30~40
- 18 Gottlieb L D. Warwick S I. Ford V S. Morphological and electrophoretic divergence between *Layia discoidea* and *L. glandulosa*. *Syst Bot.* 1985. **10**: 484~495
- 19 Inoue K. Kawahara T. Allozyme differentiation and genetic structure in island and mainland Japanese populations of *Campanula punctata* (Campanulaceae). *Amer J Bot.* 1990. **77**: 1440~1448
- 20 Frizzi G. Tammaro F. Electrophoretic study and genetic affinity in the *Campanula elatines* and *C. fragilis* (Campanulaceae) rock-plants group from Italy and W. Yugoslavia. *Plant Syst Evol.* 1991. **174**: 67~73
- 21 Brewer G J. Sing C F. An Introduction to Isozyme Techniques. New York: Academic Press. 1970.
- 22 Mcleod M J. Guttman S I. Eshbaugh W H *et al.* An electrophoretic study of evolution in *Capsicum* (Solanaceae). *Evolution.* 1983. **37**: 562~574
- 23 葛颂, 黄敏仁, 许农. 马尾松 GOT, LDH 和 MDH 同工酶的遗传方式和连锁关系. *遗传学报.* 1987. **14**: 428~435

### 图 版 说 明

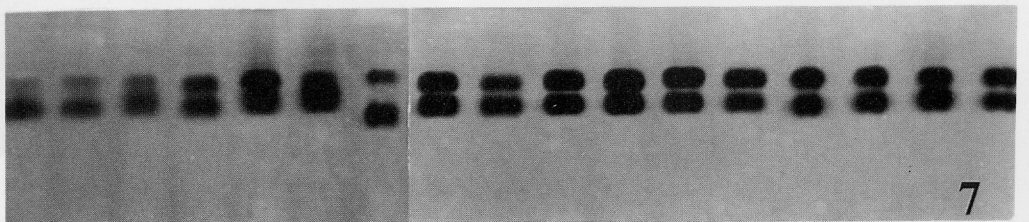
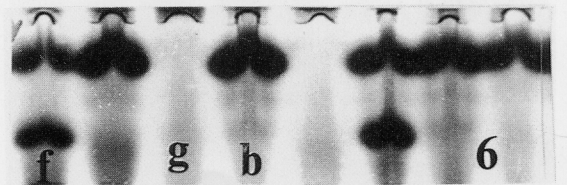
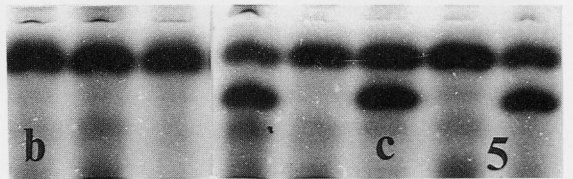
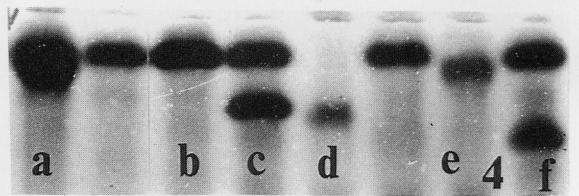
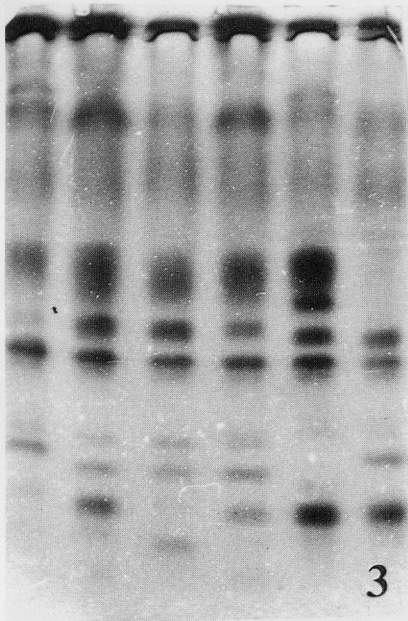
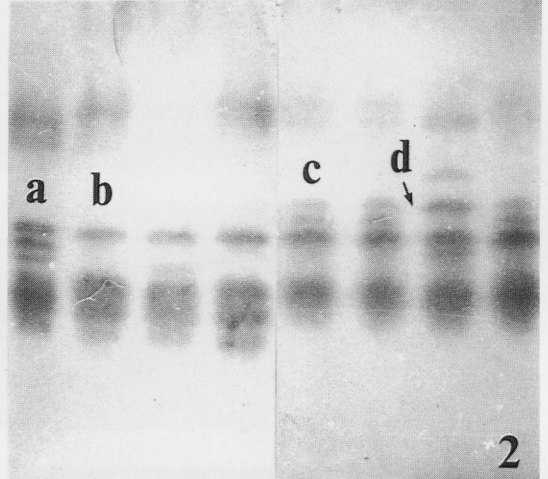
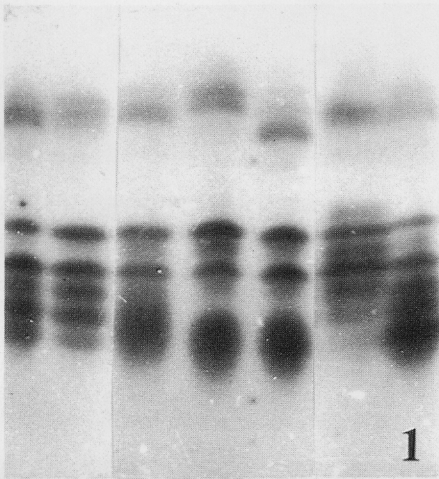
**图版 I** 1. AAT 同工酶谱式样。2. AAT-3 位点上各种基因型, 示 ab(a), bb(b), bc(c) 和 bd(d) 4 种基因型。3. EST 同工酶谱式样。4~6. EST 位点上各种基因型, 示 cd(a), dd(b), bd(c), bn(d), cn(e), ad(f) 和 nn(g) 7 种基因型。5. EST 位点上 dd×bd 杂交组合 8 个子代的分离 (dd : bd = 5 : 3)。6. EST 位点上的不表达等位基因 (n), 示该等位基因的纯合体 nn(g)。7. IDH 同工酶谱式样。

**图版 II** 1~3. FDH 同工酶谱式样, 示 ee(a), ef(b), ce(c), cc(d) 和 be(e) 五种基因型。3. FDH 位点上 ee×ef 杂交组合 8 个子代的分离 (ee : ef = 4 : 4)。4. LDH 同工酶谱式样。5. GDH 同工酶谱式样。6. ME 同工酶谱式样。8. SOD 同工酶谱式样。

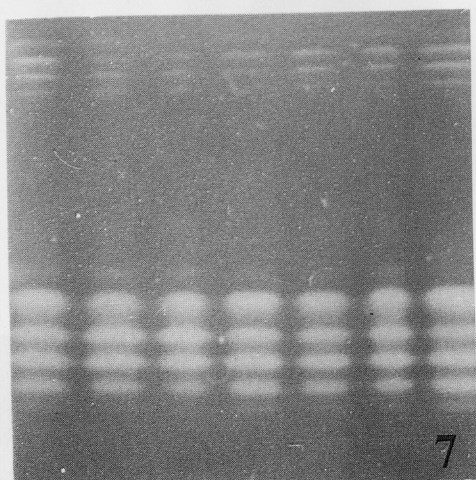
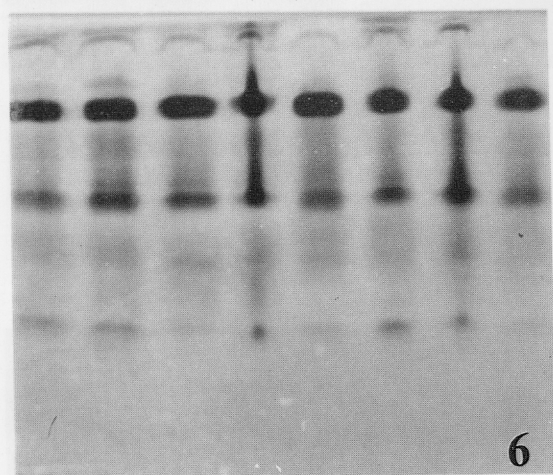
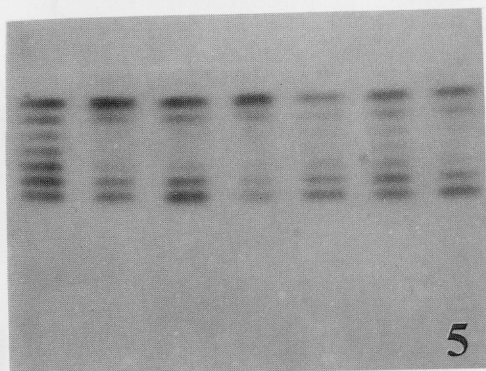
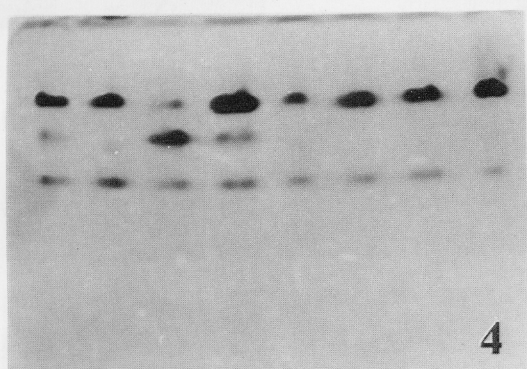
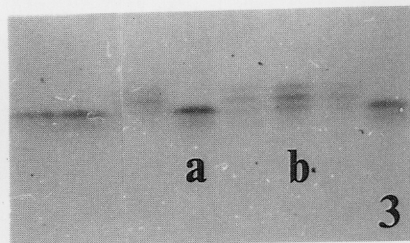
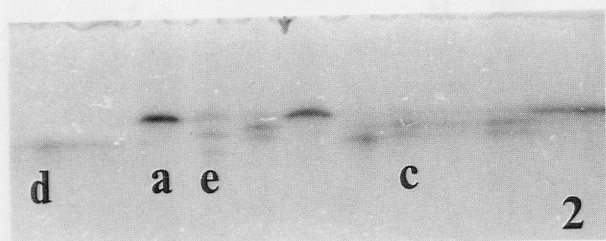
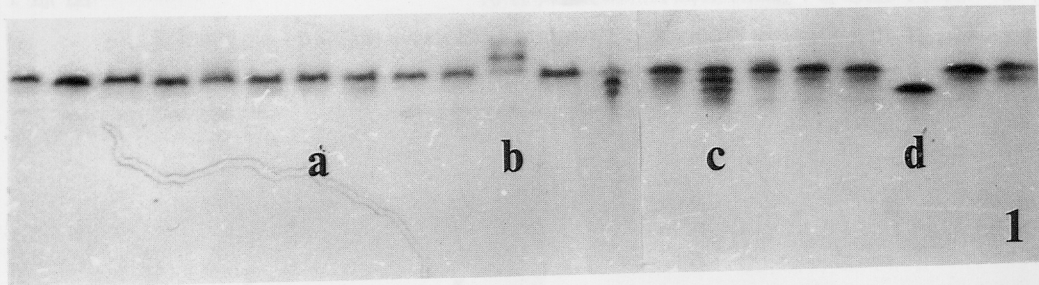
### Explanation of Plates

**Plate I** Fig. 1. AAT zymogram patterns. Fig. 2. The genotypes at the locus AAT-3, showing the four genotypes ab (a), bb (b), bc (c) and bd (d). Fig. 3. EST zymogram patterns. Figs. 4~6. The genotypes at locus EST, showing the seven genotypes cd (a), dd (b), bd (c), bn (d), cn (e), ad (f) and nn (g). Fig. 5. Segregation patterns of eight F<sub>1</sub> progeny from the cross dd×bd at EST (dd : bd = 5 : 3). Fig. 6. The silent allele (n) at EST, showing its homozygote nn (g). Fig. 7. IDH zymogram patterns.

**Plate II** Figs. 1~3. FDH zymogram patterns, showing the five genotypes ee (a), ef (b), ce (c), cc (d) and be (e). Fig. 3. Segregation patterns of eight F<sub>1</sub> progeny from the cross ee×ef at FDH. Fig. 4. LDH zymogram patterns. Fig. 5. GDH zymogram patterns. Fig. 6. ME zymogram patterns. Fig. 8. SOD zymogram patterns.



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text