

半夏种内不同居群酯酶和超氧化物歧化酶同工酶酶谱特征分析

郭巧生¹, 沈文彪², 刘 丽¹, 史红专¹

(1. 南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095; 2. 南京农业大学理学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 对栽培在同一生境下的 16 个半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.] 居群同一生长期叶片中酯酶(EST)和超氧化物歧化酶(SOD)同工酶酶谱进行了比较分析, 结果表明: EST 和 SOD 同工酶酶谱在各居群间, 甚至在同一居群内除少数共有的特征谱带外存在着较为明显的频率差异。EST 同工酶在半夏各居群中最多可显示 12 条谱带, 其中在慢区的第 5(弱带)和快区的第 10(强带)2 条谱带为各居群所共有的特征谱带; SOD 同工酶在半夏各居群中最多显示 9 条谱带, 其中在慢区的第 2(弱带)、快区的第 5(强带)和第 9(强带)3 条谱带为各居群所共有的特征谱带。

关键词: 半夏; 居群; EST 同工酶; SOD 同工酶; 酶谱分析

中图分类号: S567.23⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2001)02-0042-05

Analysis on characteristic zymogram phenotypes of easterase and superoxide dismutase from the laminas in populations of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. GUO Qiao-sheng¹, SHEN Wen-biao², LIU Li¹, SHI Hong-zhuan¹ (1. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(2): 42-46

Abstract: Sixteen populations of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. originated mainly from middle and lower reaches of Yangtze River valley were collected and cultivated in Weigang Experimental Farm of Nanjing Agricultural University with same cultural method, which zymogram phenotypes of easterase (EST) and superoxide dismutase(SOD) from the laminas sampled in same growth period were compared by using PAGE. The results showed that the populations, even individuals in same population could be distinguished from each other by their zymogram phenotypes of EST and SOD with apparent frequency diversity, except some characteristic bands. Twelve bands of EST were found at most among the different populations, including two characteristic bands appeared in all populations, i. e. the fifth weak band in slow region and the tenth stronger band in fast region. Nine bands of SOD were found at most among the different populations, including three characteristic bands appeared in all populations, i. e. the second weak band in slow region and the fifth and ninth stronger band in fast region.

Key words: *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.; population; easterase; superoxide dismutase; zymogram phenotype analysis

半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.] 为天南星科多年生草本植物, 其地下块茎是常用中药半夏的主要来源。由于受环境条件的影响和人们对其需求量的增加, 半夏野生资源已近枯竭, 开展人工栽培已成为当务之急。但在如何选择优良种质供大田生产利用方面尚未见报道。半夏是一个广布种, 种内的遗传多样性十分丰富^[1-3], 具体表现为种内居群间出现不同程度的分化现象^[3-5], 这就必将影响到药材质量的稳定。为此, 作者将引自以长江中下游为主的 16 个半夏居群的块茎栽培在同一环境下, 就它

们的形态特征、生长节律、化学成分、同工酶特性等方面开展了探索性的比较研究工作。本文报道半夏同一生长期的叶片酯酶和超氧化物歧化酶同工酶酶谱特征的比较分析, 旨在从分子水平探讨半夏种内分化情况, 从而为进一步选育优良种质提供依据。

收稿日期: 2001-02-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070922)的部分研究内容
作者简介: 郭巧生(1963-), 男, 江苏吴江人, 理学博士, 副教授, 所长, 主要从事药用植物遗传多样性及引种驯化方面的研究。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1994~1995年,以长江中下游地区为主要搜集地,引种了16个野生或栽培的半夏居群的块茎。1995年10月,以每一居群为一个小区栽培于南京农

业大学卫岗实验农场,小区面积为1.5 m²。翌年4月下旬在每个小区南边和西边各种植一行玉米,株距为30 cm,以备夏季遮阴。居群(小区)编号及材料来源见表1。

每个居群各取10株展叶初期的叶片置低温冰箱中备用。

表1 16个半夏居群编号及来源

Table 1 Serial numbers and origin of 16 populations of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.

| 居群编号 Populations | 原产地 ¹⁾ Origin ¹⁾ | 材料来源 Material source | 叶型 Leaf shape |
|---------------------|---|-------------------------|------------------|
| 1 | 江苏省昆山市 Kunshan city, Jiangsu | 栽培 cultivated | |
| 2 | 江苏省姜堰市 Jiangyan city, Jiangsu | 野生 wild | |
| 3 | 四川省武胜县 Wusheng county, Sichuan | 野生 wild | |
| 4 | 湖南省临湘市 Linxiang city, Hunan | 野生 wild | |
| 5 | 甘肃省西河县 II Xihe county II, Gansu | 栽培 cultivated | 宽叶 broad leaf |
| 6 | 福建省南平市 Nanping city, Fujian | 野生 wild | |
| 7 | 江苏省沛县 Peixian county, Jiangsu ¹⁾ | 栽培 cultivated | |
| 8 | 江苏省句容市 Jurong city, Jiangsu | 野生 wild | |
| 9 | 江苏省东台市 Dongtai city, Jiangsu | 野生 wild | |
| 10 | 山东省枣庄市 Zaozhuang city, Shandong | 野生 wild | |
| 11 | 江苏省宜兴市 Yixing city, Jiangsu | 野生 wild | |
| 12 | 甘肃省西河县 I Xihe county I, Gansu | 栽培 cultivated | 狭叶 narrow leaf |
| 13 | 江苏省射阳县 Sheyang county, Jiangsu | 野生 wild | |
| 14 | 江苏省邳州市 I Pizhou city I, Jiangsu | 栽培 cultivated | 狭叶 narrow leaf |
| 15 | 江苏省邳州市 II Pizhou city II, Jiangsu | 栽培 cultivated | 宽叶 broad leaf |
| 16 | 浙江省磐安县 Pan'an county, Zhejiang | 栽培 cultivated | |

¹⁾ 原引山东菏泽 originated from Heze city, Shandong

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 取单株叶片0.3 g,加1 mL酶提取缓冲液(50 mmol/L PBS pH 7.8,1 mmol/L DTT,1% PVP,10%蔗糖),冰浴充分研磨,冷冻离心(15 000 g × 15 min),取上清酶液冰浴待用。

1.2.2 电泳 采用不连续的碱性聚丙烯酰胺凝胶双垂直板装置电泳,其中 T=7.5%,C=3%,每孔点样 80 μL。每次电泳时使分别来自16个居群的16株半夏叶片酶液在同一凝胶板上电泳,重复3次。

1.2.3 染色 EST活性染色以α-醋酸萘酯作底物,坚牢蓝RR盐作为显色剂。染色后以7%醋酸脱色、固定和保存。SOD采用邻联二茴香胺染色法^[6]。染色后以pH 7.8的50 mmol/L PBS保存。

1.2.4 酶谱摄影扫描 采用岛津CS-930双波扫描仪,程序扫描^[7],最高吸收波长550 nm,最低吸收波长为600 nm。光栅狭缝:4mm×0.05mm;16倍速;记录最小峰面积为3 000。

1.2.5 酶谱频率计算 每个酶系统每个居群做10株,并以同一半夏居群内不同个体的叶片酶液在酶系统中不同迁移率上显示的酶带数计算其显示频率。

2 结 果

2.1 半夏不同居群 EST 同工酶谱频率特征

半夏不同居群 EST 同工酶谱频率特征分析结果见表2。

根据扫描图谱泳动速率,各半夏居群的 EST 同工酶谱可明显分为2个部分,即慢区(S)和快区(F),在本实验条件下最多显示12条谱带,其中慢区包括第1、2、3、4、5、6和7谱带,除第5谱带外,余多为弱带;快区包括第8、9、10、11和12谱带,均为强带。

由表2可知,慢区的第5(弱带)和快区的第10

(强带)2条谱带为半夏居群共有的特征谱带,其他谱带则在各半夏居群中显示出较为明显的频率差异,其中第9和第11谱带在各半夏居群中的出现频率较高。而第1、3和6谱带在各半夏居群中出现频率则较低。江苏射阳和邳州I 2个半夏居群几乎在全部谱带中均有个体出现。特别是射阳不但酶带数最多,且其他居群很少出现的第1、3、6和12谱带均有

较高的出现频率,可见此居群的谱带是极为丰富的。而江苏宜兴和甘肃西河县I 2个半夏居群个体的酶谱在全部谱带中出现的频率较低。

2.2 半夏不同居群 SOD 同工酶谱频率特征分析

半夏不同居群 SOD 同工酶谱频率特征分析结果见表3。

表2 16个种源的半夏居群 EST 同工酶谱带及频率

Table 2 The EST isozyme bands and frequency from leaves of 16 populations of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.

| 种源 Provenances | EST 同工酶谱带及频率 EST isozyme bands and frequency | | | | | | | | | | | | 均值 Mean |
|----------------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| 江苏省昆山市 Kunshan City, Jiangsu | 0.0 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 1.0 | 0.5 | 0.5 | 1.0 | 0.6 | 0.0 | 0.40 |
| 江苏省姜堰市 Jiangyan city, Tiangsu | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 1.0 | 0.1 | 0.6 | 0.6 | 0.4 | 1.0 | 0.2 | 0.1 | 0.38 |
| 四川省武胜县 Wushen county, Sichuan | 0.0 | 0.2 | 0.0 | 0.5 | 1.0 | 0.1 | 0.7 | 0.6 | 0.4 | 1.0 | 0.0 | 0.2 | 0.39 |
| 湖南省临湘市 Linxiang city, Hunan | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.4 | 1.0 | 0.0 | 0.2 | 0.2 | 0.7 | 1.0 | 0.2 | 0.2 | 0.33 |
| 甘肃西河县II Xihe County II, Gansu | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.5 | 1.0 | 0.4 | 0.0 | 0.29 |
| 福建省南平市 Nanping city, Fujian | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.2 | 1.0 | 0.0 | 0.6 | 0.0 | 0.3 | 1.0 | 0.2 | 0.0 | 0.28 |
| 江苏省沛县 Peixian county, Jiangsu | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.4 | 0.2 | 0.4 | 1.0 | 0.8 | 0.0 | 0.33 |
| 江苏省句容市 Jurong city, Jiangsu | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.2 | 0.2 | 0.7 | 1.0 | 0.6 | 0.4 | 0.36 |
| 江苏省东台市 Dongtai city, Jiangsu | 0.0 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.4 | 0.0 | 0.3 | 1.0 | 0.4 | 0.1 | 0.28 |
| 山东省枣庄市 Zaozhuang city, Shangdong | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.2 | 0.0 | 0.8 | 1.0 | 0.3 | 0.0 | 0.29 |
| 江苏省宜兴市 Yixing city, Jiangsu | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.30 |
| 甘肃省西河县I Xihe county I, Gansu | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.6 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.31 |
| 江苏省射阳县 Sheyang county, Jiangsu | 0.3 | 0.1 | 0.4 | 0.3 | 1.0 | 0.1 | 0.7 | 0.0 | 0.3 | 1.0 | 0.6 | 0.5 | 0.44 |
| 江苏省邳州市I Pizhou city I, Jiangsu | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.7 | 0.2 | 0.2 | 1.0 | 0.7 | 0.1 | 0.38 |
| 江苏省邳州市II Pizhou city II, Jiangsu | 0.0 | 0.2 | 0.0 | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.9 | 0.0 | 0.5 | 1.0 | 0.4 | 0.0 | 0.34 |
| 浙江省磐安县 Pan'an county, Zhejiang | 0.0 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.4 | 0.2 | 0.7 | 1.0 | 0.5 | 0.1 | 0.34 |

表3 16个种源的半夏居群 SOD 同工酶谱带及频率

Table 3 The SOD isozyme bands and frequency from leaves of 16 populations of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.

| 种源 Provenances | SOD 同工酶谱带及频率 SOD isozyme bands and frequency | | | | | | | | | 均值 Mean |
|----------------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| 江苏省昆山市 Kunshan City, Jiangsu | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.4 | 1.0 | 1.0 | 0.4 | 1.0 | 1.0 | 0.66 |
| 江苏省姜堰市 Jiangyan city, Tiangsu | 0.4 | 1.0 | 0.1 | 0.3 | 1.0 | 1.0 | 0.9 | 0.8 | 1.0 | 0.72 |
| 四川省武胜县 Wushen county, Sichuan | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.6 | 1.0 | 1.0 | 0.6 | 0.3 | 1.0 | 0.62 |
| 湖南省临湘市 Linxiang city, Hunan | 0.0 | 1.0 | 0.1 | 0.4 | 1.0 | 1.0 | 0.7 | 0.3 | 1.0 | 0.61 |
| 甘肃西河县II Xihe County II, Gansu | 0.1 | 1.0 | 0.0 | 0.3 | 1.0 | 1.0 | 0.8 | 0.9 | 1.0 | 0.68 |
| 福建省南平市 Nanping city, Fujian | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.1 | 1.0 | 0.8 | 0.8 | 0.6 | 1.0 | 0.59 |
| 江苏省沛县 Peixian county, Jiangsu | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.2 | 1.0 | 0.8 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 0.60 |
| 江苏省句容市 Jurong city, Jiangsu | 0.0 | 1.0 | 0.2 | 0.3 | 1.0 | 0.5 | 0.7 | 0.5 | 1.0 | 0.58 |
| 江苏省东台市 Dongtai city, Jiangsu | 0.0 | 1.0 | 0.1 | 0.2 | 1.0 | 0.4 | 0.8 | 0.5 | 1.0 | 0.56 |
| 山东省枣庄市 Zaozhuang city, Shangdong | 0.0 | 1.0 | 0.2 | 0.5 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 0.8 | 1.0 | 0.72 |
| 江苏省宜兴市 Yixing city, Jiangsu | 0.4 | 1.0 | 0.2 | 0.2 | 1.0 | 0.9 | 0.8 | 1.0 | 1.0 | 0.72 |
| 甘肃省西河县I Xihe county I, Gansu | 0.0 | 1.0 | 0.1 | 0.2 | 1.0 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 1.0 | 0.67 |
| 江苏省射阳县 Sheyang county, Jiangsu | 0.0 | 1.0 | 0.1 | 0.1 | 1.0 | 0.9 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 0.68 |
| 江苏省邳州市I Pizhou city I, Jiangsu | 0.0 | 1.0 | 0.2 | 0.4 | 1.0 | 0.9 | 0.8 | 0.9 | 1.0 | 0.69 |
| 江苏省邳州市II Pizhou city II, Jiangsu | 0.0 | 1.0 | 0.1 | 0.2 | 1.0 | 0.7 | 0.7 | 0.4 | 1.0 | 0.57 |
| 浙江省磐安县 Pan'an county, Zhejiang | 0.0 | 1.0 | 0.1 | 0.2 | 1.0 | 0.7 | 0.8 | 0.7 | 1.0 | 0.61 |

根据扫描图谱和泳动速率,各半夏居群的 SOD 同工酶谱可明显地分为 2 个部分,即慢区(S)和快区(F),在本实验条件下最多显示 9 条谱带,其中慢区包括第 1、2、3 和 4 谱带,多为弱带;快区包括第 5、6、7、8 和 9 谱带,均为强带。

由表 3 可知,在慢区的第 2、快区的第 5 和第 9 谱带为各半夏居群所共有的特征谱带,其他谱带则在各半夏居群中显示出较为明显的频率差异,其中第 6、7 和 8 谱带在各半夏居群中的出现频率较高,出现频率均为 0.4~1.0。而第 3 谱带在各半夏居群

中出现频率则较低,出现频率仅有 0.0~0.2。湖南临湘和江苏宜兴 2 个半夏居群个体的酶谱在全部谱带中均有较高的出现频率。

2.3 半夏居群内 EST 和 SOD 同工酶谱变化

半夏居群内 EST 和 SOD 同工酶谱特征分析结果见表 4 和表 5。

从表 4 和表 5 可以看出,在同一个半夏居群内,不同个体叶片的 EST 和 SOD 同工酶谱,除少数特征谱带外,多数谱带的出现频率有较大差异。

表 4 姜堰种源的半夏居群内 EST 同工酶谱

Table 4 The difference of EST isozyme bands from the population of *Pinellia ternata* (originate from Jiangyan city)

| 株号 Individual | EST 同工酶谱带 EST isozyme bands | | | | | | | | | | | | 酶带数 No. of band | |
|------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------------|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | | |
| 1 | | | | | + | | | + | | | | | + | 3 |
| 2 | | | | + | + | | | + | + | + | | | + | 6 |
| 3 | | | | + | + | | | + | + | | | | + | 5 |
| 4 | | | | | + | | | | + | | | | + | 3 |
| 5 | | | | + | + | | | + | + | | | | + | 5 |
| 6 | | | | | + | | | | + | + | | | + | 5 |
| 7 | | | | | + | | | + | | | | | + | 3 |
| 8 | | | | + | + | | | + | | + | | | + | 5 |
| 9 | | | | + | + | | + | | + | | | | | 6 |
| 10 | | | | + | + | | | | | + | | | + | 5 |
| 频率 Frequency | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 1.0 | 0.1 | 0.6 | 0.6 | 0.4 | 1.0 | 0.2 | 0.1 | - | |

表 5 姜堰种源的半夏居群内 SOD 同工酶谱

Table 5 The difference of SOD isozyme bands from population of *Pinellia ternata* (originate from Jiangyan city)

| 株号 Individual | SOD 同工酶谱带 SOD isozyme bands | | | | | | | | | | 酶带数 No. of band |
|------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|--------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | |
| 1 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 9 |
| 2 | | + | | | + | + | + | | + | + | 5 |
| 3 | | + | | | + | + | + | | + | + | 7 |
| 4 | + | + | | + | + | + | + | + | + | + | 8 |
| 5 | + | + | | | + | + | + | + | + | + | 7 |
| 6 | + | + | | | + | + | + | + | + | + | 7 |
| 7 | | + | | | + | + | + | + | + | + | 6 |
| 8 | | + | | | + | + | | + | + | + | 5 |
| 9 | | + | | + | + | + | + | + | + | + | 7 |
| 10 | | + | | | + | + | + | + | + | + | 6 |
| 频率 Frequency | 0.4 | 1.0 | 0.1 | 0.3 | 1.0 | 1.0 | 0.9 | 0.8 | 1.0 | - | |

3 讨论

借助同工酶分析技术对半夏进行遗传多样性分析的工作日见增多,张袖丽等通过对半夏属 4 种植

物 6 个分类群植株的叶和块茎 4 种同工酶的电泳分析,探讨了各分类群的进化关系和分类地位^[8];Choi 等利用电泳技术研究了半夏愈伤组织中可溶性蛋白质和 EST 同工酶谱型,结果表明由于外植体(花茎、叶脉间和次微管区组织)的不同,电泳谱型存在着十

分明显的差异,同时发现谷草转氨酶(GOT)和过氧化物酶(PER或POD)2种同工酶的谱型随培养时间的变化而变化^[9]。但运用同工酶分析技术研究有关半夏种内遗传多样性的工作至今未见报道。

细胞学研究结果已证明半夏是一个复合多倍体^[1-3],各居群间的差异从本实验的2种同工酶谱分析结果也得到了证实。共有的特征性谱带可认为是相互之间具有共同起源的基因表现,而不同的谱带说明各自在特定的生长环境或不同的进化过程中已发生了趋异分化。

EST和SOD 2种同工酶谱分析结果中所反映出的江苏射阳和宜兴2个居群的酶谱特征与植物学形态及其模糊聚类分析结果是相吻合的^[4];产地相同但叶型不同的西河县I、II和邳州市I、II 4个居群酶谱特征的分析结果表明,西河2居群较难区分,但邳州2居群SOD酶谱特征则有较大差异,此结果与模糊聚类的分析结果也是一致的^[4]。此外,EST的第12谱带的出现频率高低似乎与植株叶柄双珠芽有关。

通过酶电泳资料对近缘种或种内品种间进行比较时,以往大多采用计算相互之间的遗传一致度(genetic identity, GI)^[8,10]或相同值(similarity index, SI)^[11,12]来分析,甚至直接将酶谱进行比较分析^[13-16]。但从本实验结果看,这些方法是难以操作的,至少对于半夏来说是如此。因为在进行同工酶分析时不可能将某一品种或某一居群的每个个体都取来分析,只能选择其中的一部分个体,但事实上即使在同一居群内不同的个体间也存在着差异。如同为来自姜堰的半夏居群内10株个体叶片的EST和SOD同工酶谱,除少数特征谱带外,多数谱带的出现频率明显不同。如仅取其中一个或几个个体进行居群间的一致度或相同值比较分析,显然是缺乏代表性的。

本文采用计算酶谱频率的方法,即从群体水平比较居群之间的异同,从统计意义上讲,其结果要比在个体水平上的比较可靠得多。

参考文献:

- [1] Shoyama Y, Nishioka I, Hanto K. Micropropagation of *Pinellia ternata* [A]. In: Bajaj Y P S (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 19, High-Tech and Micropropagation III [C]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1992. 465-480.
- [2] 程尧楚,刘本坤. 几种药用植物的染色体观察[J]. 湖南农学院学报, 1991, 17(2): 161-167.
- [3] 李明旺,顾德兴,刘友良. 半夏属的染色体数目、倍性与珠芽发生的关系[J]. 植物分类学报, 1997, 35(3): 208-214.
- [4] 郭巧生,贺善安. 半夏种内居群形态变异的模糊聚类分析[J]. 植物资源与环境, 1997, 6(3): 29-34.
- [5] 宋金斌,张国泰,郭巧生,等. 不同半夏种质田间比较试验[J]. 中草药, 1997, 28(3): 175.
- [6] 杨国斌,梅尚筠. 超氧化物歧化酶活性正、负染色方法的比较[J]. 生物化学与生物物理进展, 1991, 18(6): 468-470.
- [7] 庄炳昌,徐豹,廖林. 接种大豆花叶病毒后大豆叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶和蛋白组份的变化[J]. 植物病理学报, 1993, 23(3): 261-265.
- [8] 张袖丽,谢中稳,陶汉之. 半夏属植物同工酶的电泳分析[J]. 安徽农业大学学报, 1997, 24(3): 291-295.
- [9] Choi J S. Electrophoresis techniques for identification of callus induced from *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit, 1. analysis of protein and enzymes of callus induced from *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. [J]. Korean Journal of Crop Science, 1988, 33(2): 122-125.
- [10] 王中仁. 植物等位酶分析技术 第1版[M]. 北京: 科学出版社, 1996. 159.
- [11] 成锁占,杨文衡. 根据同工酶谱对核桃属十个种分类学的研究[J]. 园艺学报, 1987, 14(2): 90-96.
- [12] 郭春沅,计新. 模糊聚类分析在植物同工酶研究中的应用[J]. 植物学通报, 1994, 11(增刊): 78-82.
- [13] 潘瑞乐,徐锦堂. 天麻种内变异不同类型的过氧化物酶同工酶及可溶性蛋白的电泳研究[J]. 中草药, 1996, 27(10): 617-620.
- [14] 潘瑞乐,徐锦堂. 天麻种内变异不同类型的酯酶同工酶研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2): 84-86.
- [15] 汪祖华,陆振翔,陆秀华. 桃品种演化及分类研究——同工酶分析[J]. 园艺学报, 1990, 17(4): 241-247.
- [16] 李丽. 部分国产半夏植物的微形态特征和同工酶分析及其分类学意义[J]. 云南植物研究, 1999, 21(4): 442-448.

(责任编辑:宗世贤)