

文章编号:1673-1689(2009)02-0234-06

3种猪苓营养菌丝酯酶和过氧化物酶的同工酶分析

陈文强¹, 邓百万¹, 丁锐¹, 刘开辉¹, 吕旬丽²,
解修超¹, 丁小维¹, 彭浩¹

(1. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001; 2. 陕西科技大学附中, 陕西 咸阳 712081)

摘要: 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳(PAGE)对3种猪苓营养菌丝中的酯酶(EST)与过氧化物酶(POD)的同工酶进行了分析。结果表明,3种猪苓营养菌丝的酯酶同工酶和过氧化物酶同工酶活性相近。酯酶同工酶共显一种谱型,5条谱带, R_f 值集中在0.22~0.78间;过氧化物酶同工酶共显3种谱型,酶谱条带数在4~9条间,*P. umbellatus* LBZ, *P. umbellatus* LBJ, *P. umbellatus* LBT的过氧化物酶酶谱条带数依次为8条,4条,9条, R_f 值集中在0.08~0.69间。聚类分析显示,*P. umbellatus* LBJ较其他2种猪苓亲缘关系较远,*P. umbellatus* LBZ和*P. umbellatus* LBT亲缘关系较近。

关键词: 猪苓;酯酶;过氧化物酶;同工酶

中图分类号:R 28

文献标识码:A

Peroxidase Isozyme and Esterase Isoenzyme in Three Nutrient Mycelium of *Polyporus umbellatus*

CHEN Wen-qiang¹, DENG Bai-wan¹, DING Rui¹, LIU Kai-hui¹, LV Xun-li²,
XIE Xiu-chao¹, DING Xiao-wei¹, PENG Hao¹

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China; 2. Middle School, Shaanxi University of Science and Technology, Xianyang 712081, China)

Abstract: In this manuscript, Polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE) was adopted to study esterase isozyme and peroxidase isozyme in three different *Polyporus umbellatus* strains. The three strains are presented similar esterase isozyme and peroxidase isozyme activities, including no their own key bands. Among the three tested *Polyporus umbellatus* samples, five esterase isozyme bands appeared on the gel, forming one zymogram types. The peroxidase isozyme bands for the three strains were four~nine, eight ones for *Polyporus umbellatus* LBZ, four ones for *Polyporus umbellatus* LBJ and nine ones for *Polyporus umbellatus* LBT, with R_f values were between 0.08 and 0.69. Cluster analysis indicated *Polyporus umbellatus* LBJ had a distant genetic relationship with the other two strains, but *Polyporus umbellatus* LBJ had a closer genetic relationship with *Polyporus umbellatus* LBZ and *Polyporus umbellatus* LBT.

Key words: *Polyporus umbellatus*, peroxidase, esterase, isoenzyme

收稿日期:2008-02-03

基金项目:陕西省教育厅重点实验室重点科研项目(04JS32)。

作者简介:陈文强(1957-),男,陕西洋县人,教授,主要从事微生物学方面的研究。Email,wenqiangc@126.com

猪苓(*Polyporus umbellate* (Pers.) Fries)属真菌门,担子菌纲,多孔菌目,多孔菌科,猪苓(地花)属,别名猪粪菌,猪灵芝。主要分布在我国河北、陕西、山西、四川、湖北、云南等地^[1]。猪苓菌核可入药,具有利水、渗湿、抗肿瘤、保护肝脏、增强免疫功能、抗辐射、抗诱变、抗菌等作用^[2-3]。猪苓的菌丝体白色,菌丝直径1~5 μm,具有横隔、分枝及锁状联合等特征。在野外自然条件下,猪苓多以菌核状态存在。它是由大量菌丝构成的休眠体,呈长形块状或不规则球形且稍扁,表面凹凸不平,有皱纹或瘤状突起。猪苓的子实体又叫“猪苓花”、“千层蘑菇”,常见于树根旁地上或腐木桩旁,阔叶林及针叶林中,地上部分子实体叫猪苓花,可食,地下部分即中药猪苓^[4]。

随着猪苓药用范围的扩大及缺乏有效保护,野生资源已濒临枯竭^[4]。猪苓的栽培技术主要为半人工栽培^[5-8],并已取得一定进展。但在人工栽培的选种阶段,仍采用的是野生猪苓菌核。目前,国内用于生产栽培的猪苓种质资源较为混乱,名称各异,缺乏对其生物学特性的深入研究和开发利用。

猪苓是秦巴山区作为国家中药现代化产业建设基地的主要药源。本研究通过聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,对3种不同形态猪苓菌核(“猪屎苓”,“鸡屎苓”和“铁蛋屎苓”)中分离的营养菌丝的酯酶和过氧化物酶同工酶进行了电泳分析,进一步确定3种不同形态猪苓菌核间的亲缘关系,旨在为猪苓的规范化栽培提供种质资源依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌种 猪苓菌核(猪屎苓 *P. umbellatus* LBZ,鸡屎苓 *P. umbellatus* LBJ,铁蛋屎苓 *P. umbellatus* LBT)由陕西省资源生物重点实验室食用菌种保藏中心提供。

1.1.2 培养基 母种培养基^[9](马铃薯 200.0 g,葡萄糖 20.0 g, KH₂PO₄ 5.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 3.0 g, VB₁ 0.01 g,琼脂 18.0 g, H₂O 1 000 mL, pH 值为自然。);液体培养基(玉米粉 30 g,酵母膏 30 g, KH₂PO₄ 1.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 1.0 g, VB₁ 0.1 g, CaCO₃ 1.0 g, H₂O 1 000 mL, pH 值为自然。)

1.1.3 主要仪器与设备 ZHWY-210 2C型恒温振荡器:上海智诚分限公司生产;LS-B50L型立式圆形压力蒸气灭菌器:上海医用核子仪器厂生产;高压双稳电泳仪:DYY-III-4型北京六一仪器厂生产;垂直电泳槽:DYY-II-28型样品梳 24 齿北京

六一仪器厂生产;LGR16-W 高速微量冷冻离心机:北京医用离心机厂生产。

1.2 方 法

1.2.1 菌种活化 配制母种培养基,分装试管,121.3 °C 30 min 灭菌,放置斜面,接种于 28 °C 恒温箱培养,待菌丝满管后置 4 °C 冰箱保藏,备用。

1.2.2 菌丝球制备 制备液体培养基,分装 100 mL 三角瓶,装液量体积分数 60%,121.3 °C 30 min 灭菌,接入 0.5~1.0 cm² 活化的菌块,27 °C,180 r/min 振荡培养 7 d。

1.2.3 样品制备 将液体培养基中的菌丝球用两层纱布过滤,纯净水冲洗后分装于 EP 管中,每管 0.5 g,12 000 r/min 离心 15 min,弃掉上清液。再往 EP 管中加入 1 mL、pH 6.8 的 Tris-HCl 缓冲液和 0.5 g 石英砂,冰浴研磨成匀浆。后进行冷冻离心(3 000 r/min,30 min,4 °C),取上清液 4 °C 冰箱保藏,备用。

1.2.4 电泳及染色 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳^[10-11]。分离胶质量浓度 7.5 g/dL, pH 值 8.9;浓缩胶浓度 4.0 g/dL, pH 值 6.7,点样量 20 μL,电极缓冲液为 Tris-HCl 系统(pH 8.3)。稳流 20 mA,0.1% 溴酚蓝作指示剂,电泳 4~5 h 并计算 R_f 值^[12]。

过氧化物酶同工酶采用醋酸-联苯胺染色系统。染色液制备:1 g 联苯胺加 9 mL 冰醋酸,溶解后加 36 mL 水,用时再加 160 mL 水和 VC 0.8 mg,最后加几滴过氧化氢原液。

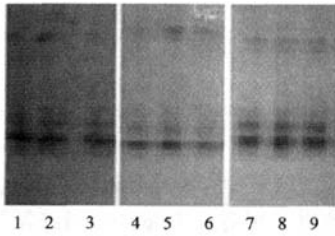
酯酶染色采用醋酸-α-萘酯和坚牢蓝染色系统。染色液制备:称取 40 mg α-萘酯和 40 mg β-萘酯溶于 1 mL C₃H₆O 中,再加入 100 mL 浓度 0.1 mol/L, pH 值 7.2 的磷酸缓冲液和 40 mg 牢固兰 RR 盐,待牢固兰完全溶解后即可染色^[13]。

电泳结束后取下凝胶板,放入 pH 值 4.7 的乙酸液中,10 min 后去掉乙酸液,用蒸馏水将凝胶冲洗干净,放入上述混合的染色液中,于 25 °C 条件下染色 30 min 左右,待显出清晰酶带后取出,用蒸馏水漂洗数次,用体积分数 7.0%~10.0% 的乙酸固定,照相,绘制模式图。

2 结果与分析

2.1 3种猪苓营养菌丝酯酶与过氧化物酶同工酶酶谱分析

3种猪苓营养菌丝的酯酶(EST)同工酶谱见图 1 及图 2;过氧化物酶(POD)同工酶谱见图 3 及图 4。



1~3 *P. umbellatus* LBZ, 4~6 *P. umbellatus* LBJ, 7~9 *P. umbellatus* LBT

图1 3种猪苓菌丝酯酶同工酶电泳图谱

Fig. 1 Electrophresis zymogram of Esterase isozymes in the three *P. umbellatus*

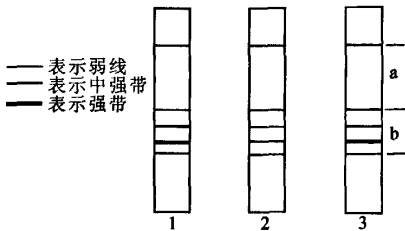


图2 3种猪苓菌丝酯酶同工酶电泳谱带模式图

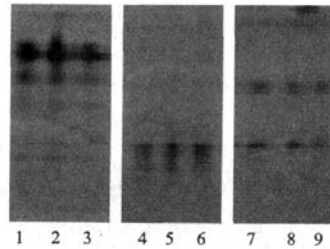
Fig. 2 Electrophresis pattern of Esterase isozymes in the three *P. umbellatus*

图1和图2表明,3种猪苓菌丝酯酶同工酶谱带较少,只显1种酶谱型。酶谱带均为5条。仅谱带的强弱存在差异。将酯酶同工酶谱由负极向正极分为a,b区,3种猪苓菌丝的极强活性酶带都集中在b区。这与ITS序列测定分析初步证明此3种不同菌丝形态的猪苓为同一个种的结果相一致。

图3和图4表明,3种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶谱带较多,共显3种酶谱型,10条酶带。其中*P. umbellatus* LBT最多有9条, R_f 0.19、0.24是它的2条特征谱带,*P. umbellatus* LBJ最少有4条。将过氧化物同工酶谱由负极向正极分为a,b,c三个区,发现*P. umbellatus* LBZ在b,c区存在极强的活性酶带,*P. umbellatus* LBT的极强活性酶带存在a,b区,而*P. umbellatus* LBJ的极强活性酶带在c区。*P. umbellatus* LBJ过氧化物同工酶的酶带比较集中,而其它猪苓菌丝的酶带相距较大,此结果可能因伴生菌激发子诱导猪苓细胞过氧化氢酶活性下降^[12]所致。

2.2 3种猪苓菌丝酯酶与过氧化物酶同工酶 R_f 值比较

2.2.1 3种猪苓菌丝酯酶同工酶 R_f 值比较 3种猪苓菌丝酯酶同工酶 R_f 值见表1。



1~3. *P. umbellatus* LBT, 4~5. *P. umbellatus* LBJ, 7~9. *P. umbellatus* LBZ

图3 3种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶电泳图谱

Fig. 3 Electrophresis zymogram of peroxidase isozymes in the three *P. umbellatus*

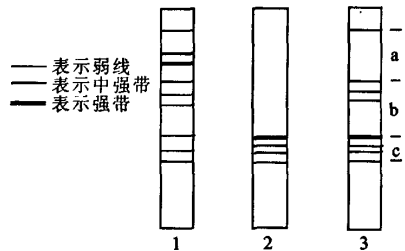


图4 3种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶电泳谱带模式图

Fig. 4 Electrophresis pattern of peroxidase isozymes in the three *P. umbellatus*

表1 3种猪苓菌丝酯酶同工酶 R_f 值

Tab. 1 R_f values of esterase isozyme in the three *P. umbellatus*

谱带	<i>P. umbellatus</i> LBZ	<i>P. umbellatus</i> LBJ	<i>P. umbellatus</i> LBT
1	0.22	0.22	0.22
2	0.56	0.56	0.56
3	0.63	0.63	0.63
4	0.71	0.71	0.71
5	0.78	0.78	0.78
总计	5	5	5

3种猪苓菌丝的酯酶同工酶谱相同,均无自己特征性酶谱,都存在5条谱带,迁移率分别为 R_f 0.22、0.56、0.63、0.71、0.78,但带的强弱上有一定差别。*P. umbellatus* LBJ谱带中 R_f 0.56、0.78,这2条带弱于*P. umbellatus* LBZ与*P. umbellatus* LBT。

2.2.2 3种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶 R_f 值比较 3种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶 R_f 值见表2。

表 2 3 种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶 R_f 值Tab. 2 R_f values of peroxidase isozyme in the three *P. umbellatus*

谱带	<i>P. umbellatus</i> LBZ	<i>P. umbellatus</i> LBJ	<i>P. umbellatus</i> LBT
1	0.08		0.08
2			0.19
3			0.24
4	0.32		0.32
5	0.38		0.38
6	0.42		0.42
7	0.57	0.57	0.57
8	0.63	0.63	
9	0.64	0.64	0.64
10	0.69	0.69	0.69
总计	8	4	9

表 2 表明,3 种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶谱不尽相同,共显 3 种谱型,10 条谱带,*P. umbellatus* LBZ,*P. umbellatus* LBJ 和 *P. umbellatus* LBT 的过氧化物酶同工酶谱带总数分别为 8、4、9。其中 R_f 0.57、0.64、0.69 为 *P. umbellatus* LBT,*P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBJ 的共有带,只是带的强弱有差异。*P. umbellatus* LBT 比 *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBJ 多出 2 条 R_f 为 0.19、0.24 的谱带。*P. umbellatus* LBJ 和 *P. umbellatus* LBZ 的第 6 条带是 *P. umbellatus* LBT 所没有的,其 R_f 0.63。

2.3 品种间酶谱聚类分析

2.3.1 3 种猪苓菌丝酯酶同工酶酶谱相似指数

由于过氧化物酶同工酶和酯酶同工酶是基因表达的产物,也是分子水平的表现型。而过氧化物酶同工酶和酯酶同工酶的表现型差异反映了基因型的差异。因此,酶是生物体实现正常代谢的必要条件,是生命活动最重要的因素。从基因型差异的程度就能显示出种间亲缘关系的远近。Vaughan (1968)^[14] 提出以酶谱相似指数预测种间亲缘关系,相似指数越大,说明物种间的酶谱差异越小,亲缘关系越密切^[15-16]。由 Vaughan 公式估算见表 3 和表 4。

表 3 和表 4 表明,*P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 的酯酶同工酶相似指数较高为 1。*P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBJ 的酯酶同工酶相似指数较低为 0.6。表 4 可知,*P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 过氧化物

酶的同工酶相似指数较高,为 0.67;*P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBJ 过氧化物酶的同工酶相似指数较低为 0.5。结果皆表明 *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 间亲缘关系较近,*P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBJ 间的亲缘关系相对较远。这与猪苓形态学上亲缘关系的鉴定相吻合,进一步证明了酯酶同工酶和过氧化物酶同工酶指标对猪苓的分类鉴定的可行性。

表 3 3 种猪苓菌丝酯酶同工酶酶谱相似指数

Tab. 3 The Similarity index of EST isozyme pattern of *Polyporus umbellatus* LBZ to the other two strains

猪苓菌株	相同酶带数	不同酶带数	相似指数
<i>P. umbellatus</i> LBJ	3	2	0.6
<i>P. umbellatus</i> LBT	52	0	1

注:以 *P. umbellatus* LBZ 为参照进行统计;相似指数 = 相同酶带数 / 相同酶带数 + 不同酶带数; Similarity Index (S. I) = No. of Similarity bands / No. of Similarity bands + No. of different bands.

表 4 3 种猪苓菌丝过氧化物酶同工酶酶谱相似指数

Tab. 4 The Similarity index of POD isozyme pattern of *Polyporus umbellatus* LBZ to the other two strains

猪苓菌株	相同酶带数	不同酶带数	相似指数
<i>P. umbellatus</i> LBJ	4	4	0.5
<i>P. umbellatus</i> LBT	6	3	0.67

注:以 *P. umbellatus* LBZ 为参照进行统计;相似指数 = 相同酶带数 / 相同酶带数 + 不同酶带数; Similarity Index (S. I) = No. of Similarity bands / No. of Similarity bands + No. of different bands.

2.3.2 聚类分析 酯酶与过氧化物酶均是生物膜的抗氧化保护有关的氧化还原酶^[17],鉴于 2 种酶具有相似的性质,利用过氧化物酶酶谱谱带的相似指数作为指标,对 3 种猪苓菌丝进行聚类分析,其分析如图 5。

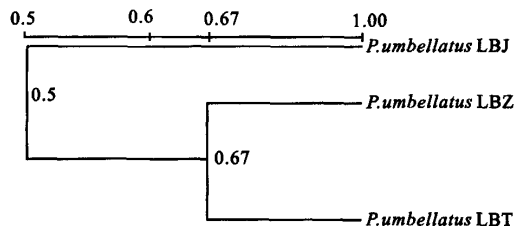


图 5 过氧化物酶同工酶 UPGAMA 聚类分析图

Fig. 5 Cluster analysis POD isozyme in the three *Polyporus umbellatus*

通过过氧化物酶同工酶 UPGAMA 聚类分析(图 5)显示,在阈值为 0.5 处,将 3 种猪苓分为两组,其中

P. umbellatus LBJ 单独成为一组, *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 合为一组, *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBJ 在阈值为 0.67 处又被分为 *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 两小组, 这表明 *P. umbellatus* LBJ 相对 *P. umbellatus* LBZ, *P. umbellatus* LBT 其亲缘关系相对较远, *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 的亲缘关系较近。

过氧化物同工酶 UPGAMA 聚类分析图还显示 *P. umbellatus* LBZ, *P. umbellatus* LBJ, *P. umbellatus* LBT 这 3 种不同菌株间的亲缘关系较近, 它们的相似系数超过 0.5, *P. umbellatus* LBJ 与其它 2 种菌株间的亲缘关系相对较远, 但在大的范围(图上所示结点处)还可与 *P. umbellatus* LBZ, *P. umbellatus* LBT 分为一类, 再次证明这 3 种不同菌株形态的猪苓属同种。

3 结 语

1) 酶谱分析表明, 秦巴山区 3 种猪苓菌丝体内的酶谱清晰稳定, 酶谱类型差异不大, 尤其是它们的酯酶酶谱完全相同, 只显一种谱型, 具有 5 条相同谱带, R_f 分别为 0.22、0.56、0.63、0.71、0.78, *P. umbellatus* LBJ R_f 0.56、0.78 两条酶带相对稍弱是其唯一差异。过氧化物酶同工酶显示 3 种谱型, 10 条谱带, 其中 R_f 0.57、0.62、0.64、0.69 是它们的基本谱带, *P. umbellatus* LBT 具有特征谱带。聚类分析及相似度结果表明, *P. umbellatus* LBJ 较其它 2 种亲缘关系较远, *P. umbellatus* LBZ 和 *P. umbellatus* LBT 的亲缘关系较近。它们的酯酶

同工酶酶谱相似度指数为 1, 过氧化物同工酶相似度指数为 0.67。

ITS 测定分析初步证明, 此 3 种不同形态猪苓菌核为同一个种, 它们的同工酶谱带应相同或相近。但由于环境因素, 3 种不同形态猪苓菌核分离的菌丝纯度及伴生菌等因素, 使 3 种猪苓菌丝的酯酶同工酶和过氧化物酶同工酶存在一定差异, 以 *P. umbellatus* LBJ 尤甚。

2) 同工酶(等位酶)作为一种重要的遗传标记被广泛应用于生物学研究的各个领域, 例如探讨物种的起源进化, 了解植物自然种群的遗传结构, 探查种群的交配体系, 鉴定种质资源的特征特性, 并为分类提供重要的依据^[18]技术的相似性比较, 是解决种内和种间变异及物种形成问题的有力工具, 还同时结合形态学、解剖学、细胞学和地理学等经典资料, 将会更清楚地认识物种的进化过程、机制和进化的复杂性, 有助于解决传统方法所无法解决的难题^[19]。

同工酶是由等位基因编码的, 具有相当的稳定性和特异性。因此, 利用同工酶进行遗传分析是可靠且可行的。大量研究者通过它们在其它植物上的研究, 发现 POD, EST 等几种同工酶在进化过程中是高度保守的^[20]。而且, 与其它同工酶相比其条带较丰富。

为了更系统地研究猪苓的种质关系等遗传信息, 还需进一步完善猪苓的同工酶谱资料, 增加所测同工酶的种类。实践证明, 多个同工酶比较的结果对于遗传分析是相互补充的。此外, 还需将同工酶技术与其它遗传分析技术相结合, 此方面的内容有待进一步研究。

参考文献(References):

- [1] 黄年来. 中国食用菌百科[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993, 158-181.
- [2] 陈文强, 邓百万. 秦巴山区野生与栽培猪苓菌核主要成分的测定[J]. 无锡轻工大学学报(食品与生物技术), 2003, 22(6): 96-98.
CHEN Wen-qiang, DENG Bai-wan. Determination of main components of sclerotia of wild and cultivated *Polyporus umbellatus* in Mt. qinling and Mt. bashan regions[J]. *Journal of Wuxi University Light Industry(Food Science and Biotechnology)*, 2003, 22(6): 96-98. (in Chinese)
- [3] 周选围, 徐明龙. 天然抗癌植物资源与开发利用[M]. 西安: 西北大学出版社, 1999, 100-174.
- [4] 牛西午. 北方食用菌栽培[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994, 274-276.
- [5] 应建浙 卯晓岚. 中国药用真菌图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1987, 200-201.
- [6] 林树钱. 中国药用菌生产与产品开发[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000, 329.
- [7] 邓百万, 陈文强. 猪苓液体培养及富锌研究[J]. 中国食用菌, 2003, 22(1): 33-34.
CHEN Wen-qiang, DENG Bai-wan. Study on Accumulation of ZINC(Zn) in *Polyporus umbellatus* in liquid Culture[J]. *Edible Fungi of China*, 2003, 22(1): 33-34. (in Chinese)

- [8] 孔燕. 扶正中药免疫调节作用[J]. 中西医结合学报, 1994, 41(6): 368—370.
KONG Yan. Immunoregulatory role of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 1994, 41(6): 368—370. (in Chinese)
- [9] 何培新. 名特新食用菌30种[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997, 160—161.
- [10] 陈文强, 邓百万, 丁锐等. 天麻3种变型过氧化物酶的同工酶研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(8): 1665—1666.
CHEN Wen-qiang, DENG Bai-wan, DING Rui, et al. Peroxidase isozyme in three gastrodia elata variants[J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2005, 25(8): 1665—1666. (in Chinese)
- [11] 陈文强, 邓百万, 丁锐等. 猴头不同菌株酯酶同工酶的研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(5): 916—917.
CHEN Wen-qiang, DENG Bai-wan, DING Rui, et al. Study of Esterase Isoenzyme From the Hericium erinaceus[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2006, 34(5): 916—917. (in Chinese)
- [12] 夏洪艳, 郭顺星. 蜜环菌激子诱导猪苓细胞产生活性氧及其相关酶的变化[J]. 微生物学通报, 2001, 28(3): 22—26.
XIA Hong-yan, GUO Shun-xing. Production of active oxygen species and changes of enzymes in grifola umbellata induced by armillaria melleae licior[J]. *Microbiology*, 2001, 28(3): 22—26. (in Chinese)
- [13] VAUGHAN J G, DENFORD K E. An acrylamide gel electrophoretic study of the seed proteins of Brassica, Sinapsis species with special reference to their taxonomic value[J]. *J Exp Bot*, 1968, 19: 724—734.
- [14] LI Rong-chun, CHEN Yan-ping. Study on estand isozymes of 5 species of Boletus[J]. *Edible Fungi of China*, 1999, 18(3): 15—17.
- [15] JIANG Juan. Study of esterase isoenzyme from the 8 strains of Lentinus edodes[J]. *Edible fungi of China*, 2003, 22(6): 46—47.
- [16] 曾仪植, 朱占午. 植物生理学[M]. 兰州: 兰州大学出版社, 1998, 395—396.
- [17] 葛颂. 酶. 电泳资料和系统与进化植物学研究综述[J]. 武汉植物学研究, 1994, 12, (1): 80—84.
GE Song-mei. Progress in electrophoresis and phylogenetics of of botany[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1994, 12, (1): 80—84. (in Chinese)
- [18] 熊金洙. 同工酶电泳数据的分析及其在遗传学上的应用[J]. 遗传, 1986, 8(1): 1—5.
XIONG Jin-mo. Analysis of data of isoenzyme electrophoresis and the application in genetics[J]. *Hereditas*, 1986, 8(1): 1—5. (in Chinese)
- [19] 朱新产, 张庭荣, 王宝维. 同工酶电泳资料评估与应用[J]. 自然杂志, 2004, 26(6): 318—323.
ZHU Xin-chan, ZHANG Ting-rong, WANG Bao-xiong. Assessment and Application of Isozyme Electrophoresis Data[J]. *Chinese Journal of Nature*, 2004, 26(6): 318—323. (in Chinese)
- [20] 赖呈纯, 赖钟雄, 车建美等. 荔枝转基因愈伤组织的酯酶同工酶分析[J]. 亚热带农业研究, 2005, 1(2): 21—23.
LAI Cheng-chun, LAI Zhong-xiong, CHE Jian-mei, et al. Analysis of EST Isozymes in Transgenic Resistant Embryogenic Calli (Litchi chinensis Sonn)[J]. *Subtropical Agriculture Research*, 2005, 1(2): 21—23. (in Chinese)

(责任编辑: 杨萌)