

冬小麦不同发育时期 过氧化物酶同工酶研究

孟学平¹, 杨恒山¹, 侯立白², 周立波¹

(1. 内蒙古民族大学, 内蒙古 通辽 028043; 2. 沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 利用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳技术对 18 个冬小麦品种 4 个发育期的 POD 同工酶进行了研究, 发现在不同发育时期冬小麦根和叶 POD 同工酶酶谱均有不同程度的变化。返青期根 POD 同工酶谱变化较明显, 在 A 区增加 1 条 RA₁ 酶带, 在 C 区增加 1 条 RC₁ 酶带, 而其他发育期无这 2 条酶带或只有痕迹带; 拔节期叶 POD 同工酶谱 C 区酶带比其他发育期多 1 条 LC₁ 酶带; 同时发现根 RC₄ 酶带、叶 LC₅ 酶带在 4 个发育期均较为稳定, 表现为一级带; A 区的 RA₂ 酶带也较为稳定, 在不同发育期均表现为二级带; 冬小麦 18 个品种间 POD 同工酶谱无明显差异。

关键词: 冬小麦; 过氧化物酶; 同工酶; 发育变化

中图分类号: S512.1⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000- 7091(2001) 03- 0056- 06

气候变暖以及强抗寒性品种的引入、选育和栽培管理技术的完善, 使冬小麦北移种植有了突破性的进展。辽宁冬小麦的栽培已由辽南发展到了辽中、辽北, 黑龙江牡丹江地区, 冬小麦连续多年大面积丰收, 吉林长春、内蒙古通辽、赤峰试种冬小麦也获得了初步成功^[1~ 5], 但我国寒地冬小麦生理、生化等基础研究工作十分薄弱, 亟待加强。冬小麦在发育过程中, 器官和组织的生理特征和一系列代谢过程要发生深刻变化, 它们的同工酶类型也随之发生变化, 因此, 在不同发育时期, 同工酶谱也要发生变化。有关小麦 POD 同工酶的研究已有许多报道^[6~ 9], 但冬小麦不同发育时期 POD 同工酶的研究未见报道。本试验以沈阳农业大学提供的 18 个品种冬小麦为试验材料, 对其 4 个发育时期的 POD 同工酶进行了研究, 旨在揭示冬小麦不同发育期 POD 同工酶的变化规律, 为冬小麦北移西延工作提供生化依据, 积累生化资料。

1 材料和方法

1.1 试验材料

18 个冬小麦品种为: 9801, 9802, 9803, 9804, 9805, 9806, 9807, 9808, 9809, 9810, 9811, 9812, 9813, 9814, 9815, 9816, 9817, 9818。于 1999 年 9 月 16 日在哲里木畜牧学院农学系实验农场沟播, 无覆盖越冬。

1.2 样品处理及电泳方法

1.2.1 样品处理 分别取冬前分蘖期、返青期、拔节期、孕穗期 4 个发育期(依次记作 I

期、II期、III期、IV期) 的叶片和根各 0.5 g, 加样品处理液 2 mL, 4 ℃以下研磨, 4 000 r/min离心 15 min, 取上清液备用。

1.2.2 电泳及染色 取上清液 0.2 mL, 加 400 mg/g 蔗糖 0.1 mL, 0.3 mg/g 溴酚蓝 0.1 mL, 混合后每槽点样 15 μL。用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳法进行 POD 同工酶分离。分离胶浓度 75 mg/g, 浓缩胶浓度 33 mg/g, 胶板厚 1 mm。浓缩胶电流强度 12 mA, 分离胶电流强度 20 mA, 稳流电泳 2.5 h。抗坏血酸—联苯胺法染色, 凝胶制干板保存。

2 结果与分析

2.1 结果

冬小麦 4 个发育时期根和叶过氧化物酶同工酶谱见图 1 至图 6, POD 同工酶谱各区酶带分布情况见表 1。

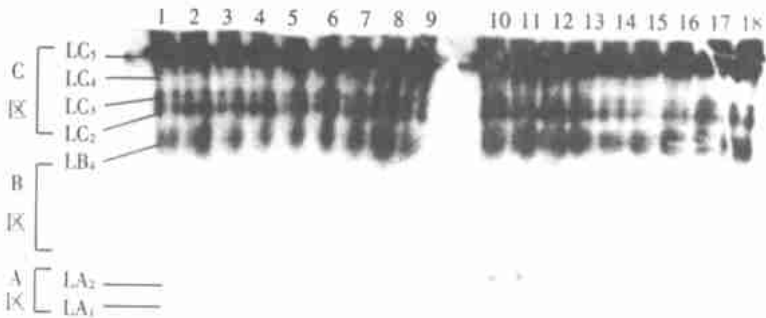


图 1 18个冬小麦品种I 期叶 POD 同工酶谱

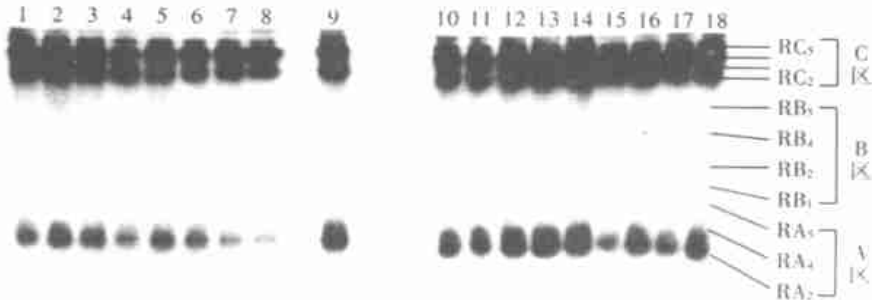


图 2 18个冬小麦品种I 期根 POD 同工酶谱

2.1.1 冬小麦不同发育期叶 POD 同工酶谱比较 将 18 个冬小麦品种 4 个发育期 POD 同工酶谱按迁移率大小和酶带分布情况从正级到负极依次分为 A、B、C 3 个区, 从电泳图谱中发现 A 区有 2~3 条酶带, 其中II期为 3 条酶带, 其余 3 个发育期为 2 条酶带, 此区酶的活性在I 期最弱, IV期最强。4 个发育期 B 区近 C 区的一端有 1 条稳定的扩散带, 此酶带在

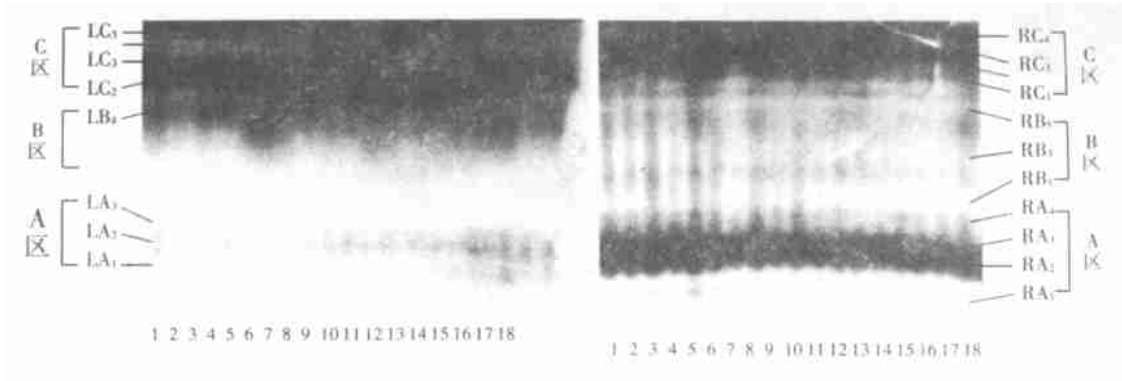


图 3 18个冬小麦品种Ⅱ期叶POD同工酶谱

图 4 18个冬小麦品种Ⅱ期根POD同工酶谱

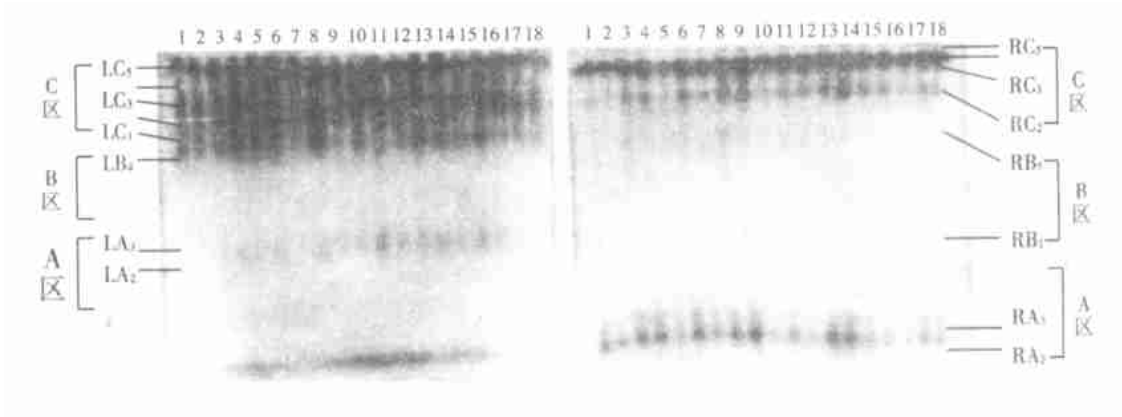


图 5 18个冬小麦品种Ⅲ期叶(左图)、根(右图)POD同工酶谱

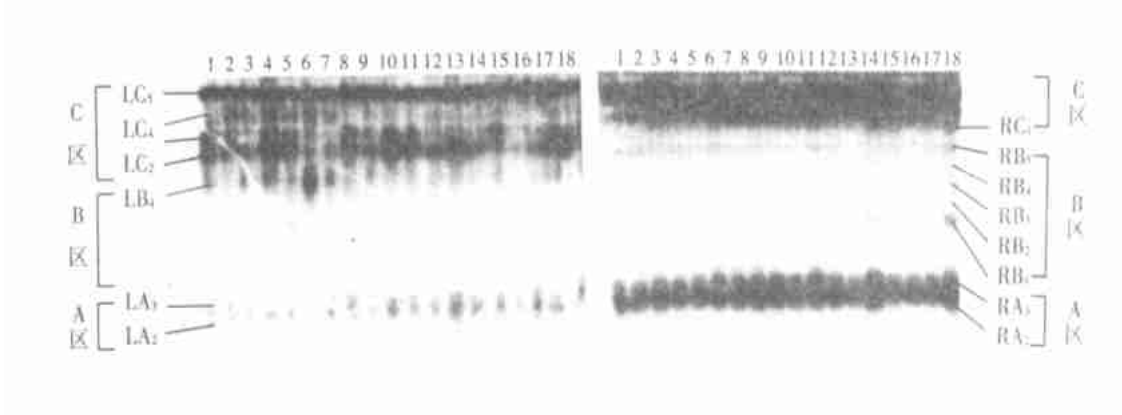


图 6 18个冬小麦品种Ⅳ期叶(左图)、根(右图)POD同工酶谱

I期着色较深，在Ⅳ期着色浅。5，6号品种Ⅳ期在B区各多出2条痕迹带，7，12号品种各多出3条痕迹带。冬小麦4个发育期POD同工酶谱C区的酶带3~5条，其中LC₂、LC₃、LC₅酶带较稳定，在各个发育期不变，Ⅲ期C区酶带最多，为5条带，I期C区酶带最少，为3条带。

2.1.2 冬小麦根不同发育期 POD 同工酶谱比较 试验结果表明, 冬小麦根在不同发育期 POD 同工酶谱中酶带数较同期叶中酶带数多, 为 8~12 条不等。用和叶同样的分区法, 将根 POD 同工酶谱也分为 A、B、C 3 个区。A 区 2~4 条酶带, 表现为二级、三级、痕迹带, 其中 RA₂、RA₃ 酶带在 4 个发育期都出现, 比较稳定; 在 II 期 A 区出现了 RA₁ 酶带, 而 I 期、III 期、IV 期无此酶带; B 区酶带以着色浅为其特点, 表现为三级带、扩散带和痕迹带。此区酶带变化大, IV 期此区出现 5 条酶带; C 区酶谱特点是有 1 条稳定的一级宽带, 在 4 个发育期, 此酶带的活性变化不大, 均为一级宽带, 在不同发育期 C 区酶带数变化较大, I、III、IV 期为 4 条带, II 期为 5 条带, 且在 I、II 期无 RC₁ 带, II 期 RC₁ 带为二级宽带, 到 IV 期此带变为痕迹带。

2.2 分析

2.2.1 在冬小麦不同发育期叶 POD 同工酶谱中 A 区的 LA₂、B 区的 LB₄、C 区的 LC₃、LC₅ 4 条酶带和根的 RA₂、RB₁、RC₄ 3 条酶带的迁移率和活性比较稳定, 在不同的发育阶段表现类同, 可作为冬小麦的特征带。

2.2.2 在各个发育期, 冬小麦根各区酶带数的增加幅度不同, 在 II 期以 C 区的酶带数增加为主, 比 I 期 C 区增加 1 条酶带, 新增的酶带为二级带。在 IV 期以 B 区酶带数增加为主, 比 I 期 B 区增加 1 条酶带, 且此期 B 区酶带的特点是中央的 3 条酶带为界限清晰的痕迹带。

2.2.3 冬小麦根 I 期、II 期 C 区的酶谱类型相同, RC₂、RC₃、RC₄、RC₅ 在两个发育期分别为二级宽带、二级窄带、一级宽带、二级窄带, 而在 II、IV 期 C 区酶带的共同特点是都有 RC₁ 带, 只是 II 期此带为二级宽带, IV 期为痕迹带。RC₁ 带在 II 期出现, III、IV 期减弱或消失, 可能是冬小麦为适应越冬的生理需求作出的一种反应。

2.2.4 冬小麦叶 C 区的酶谱类型在不同的发育期变化较大, I 期 LC₂ 为二级窄带, LC₄ 为

表 1 冬小麦 POD 同工酶谱各区酶带分布情况

酶区	酶带	发 育 时 期			
		I	II	III	IV
C	LC ₅	7	7	7	7
	LC ₄	1	1	4	3
	LC ₃	4	4	4	4
	LC ₂	4	5	3	5
	LC ₁	0	0	3	0
	RC ₅	4	0	3	0
	RC ₄	7	7	7	7
	RC ₃	4	4	4	4
	RC ₂	5	5	5	5
	RC ₁	0	2	0	1
B	LB ₄	2	2	2	2
	LB ₃	0	0	0	1△
	LB ₂	0	0	0	1
	LB ₁	0	0	0	1
	RB ₅	1	3	3	3
	RB ₄	2	2	1	1
	RB ₃	0	0	0	1
	RB ₂	3	0	0	1
	RB ₁	3	3	1	2
A	LA ₄	0	0	0	0
	LA ₃	1	3	2	0
	LA ₂	3	3	3	2
	LA ₁	0	3	0	0
	RA ₅	3	0	0	0
	RA ₄	2	2	0	1
	RA ₃	2	4	2	2
	RA ₂	5	4	5	5
	RA ₁	0	3	0	0

注: 0. 无酶带; 1. 痕迹带; 2. 扩散带; 3. 三级带; 4. 二级窄带; 5. 二级宽带; 6. 一级窄带; 7. 一级宽带
△: 5、6 号品种有 LB₁、LB₃ 酶带, 7、12 号品种有 LB₁、LB₂、LB₃ 酶带, 其余品种无这些酶带

痕迹带。到Ⅱ期 LC_2 为二级宽带, 到Ⅲ期出现了 LC_1 (三级) 带, LC_2 变为三级带, 在Ⅰ、Ⅱ期 LC_4 为痕迹带, 到Ⅲ期大部分试验品种此带变为二级窄带, 随着发育酶活性呈增强的趋势。

2.2.5 冬小麦在不同发育期根和叶 POD 同工酶谱的共同特点是 C 区酶的活性高, 一级带分布在此区域, B 区酶活性偏低, 最强的是二级带, 多为扩散带和痕迹带。

2.2.6 冬小麦 POD 同工酶与返青率之间有一定关系, 孟学平等^[10]曾报道 LB_4 酶带与冬小麦返青率有关, 在此酶带的品种返青率显著高于无此酶带的品种, 本试验对 18 个冬小麦品种 POD 同工酶研究发现各品种均有此带, 他们的返青率也比较高, 平均达 78.6%, 最高达 97%。说明此带与返青率有关。

3 讨论

通过对 18 个冬小麦品种 4 个发育期 POD 同工酶研究表明, 在不同的发育期根和叶中 POD 同工酶谱有一定差异, 无论是酶带数目还是同工酶的活性都有一定变化, 这与一些文献^[10]报道一致。根 POD 同工酶谱 B 区酶活性变化较明显, 其中Ⅲ期 B 区酶活性最弱, Ⅳ期酶带数最多, 为 5 条带, 这可能是由于控制此区酶的基因表达易受内环境影响而造成; Ⅲ期叶 POD 同工酶的变化比较特殊, 在 C 区较其他几个发育期多出一条 LC_1 带, 这是冬小麦拔节期体内特殊的代谢变化在同工酶谱上的反映。

冬小麦不同发育时期根和叶 POD 同工酶尽管不同, 但根的 RA_2 、 RA_3 和叶的 LC_5 酶带类型和活性在 4 个发育时期基本不变, 说明这 3 种酶无论在哪个发育时期都以一定速度合成, 是冬小麦体内的固有酶, 此外 LC_5 和 RC_4 酶带是根和叶共有的酶带, 酶带类型相同, 各个发育时期均为一级宽带, 推测此带来源于同一基因。

将 18 个冬小麦品种 POD 同工酶谱进行比较未发现品种间有太大差异, 这些品种的亲缘关系可能很近。个别品种如 5, 6, 7, 12 号品种Ⅳ期叶 B 区多出 2~3 条痕迹带, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 18 号品种叶 C 区 LC_4 酶带为三级带, 其他品种 LC_4 为痕迹带。在Ⅲ期叶 LC_4 酶带在各品种间有差异, 其中 1, 2, 3 号品种无 LC_4 酶带, 4, 6, 16 号品种 LC_4 酶带迁移率相同, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18 号品种 LC_4 酶带迁移率相同, 7, 15 号品种 LC_4 酶带迁移率相同, 这些差异是否与农艺性状有关, 有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 侯立白, 陈贺芹, 陈 贵, 等. 辽宁省冬小麦种植可行性与实践[J]. 国外农学—麦类作物, 1995, (3): 42-44.
- [2] 孙连发. 黑龙江省冬小麦育种中几个策略问题的探讨[J]. 黑龙江农业科学, 1997, (4): 38.
- [3] 王 萍, 王 昱, 季 静, 等. 长春种植冬小麦越冬率和产量构成因素[J]. 东北农业大学学报, 1999, 30(1): 44-48.
- [4] 杨恒山, 侯立白, 冯永祥, 等. 内蒙古西辽河平原冬小麦种植可行性分析[J]. 农牧产品开发, 2000, (4): 28-30.
- [5] 李俊友, 杨 军. 赤峰市冬小麦北移地区冬季低温强度及稳定性分析[J]. 中国农业气象, 1998, (6): 8.

- 9.

- [6] 孟学平, 等. 14 个品种冬小麦过氧化物酶(POD)同工酶研究[J]. 哲里木畜牧学院学报, 1999, (3): 15-18.
- [7] 王立新, 苏青. 过氧化物酶同工酶电泳技术在冬小麦抗白粉病鉴定中的应用[J]. 华北农学报, 1996, 11(1): 30-35.
- [8] 赵亚华, 陈素生, 陈巍. 宁春四号小麦及其亲本的过氧化物酶同工酶分析[J]. 宁夏农学院学报, 1992, 13(1): 62-66.
- [9] 王立新, 古旭, 胡道芬. 小麦胚和盾片中过氧化物酶同工酶与品种抗感白粉病的关系[J]. 华北农学报, 1993, 8(1): 65-69.
- [10] 胡能书. 同工酶技术及其应用[M]. 湖南科学技术出版社, 1985. 175-177.

Study on Peroxidase Isoenzymes of Winter Wheat in Different Development Stages

MENG Xue-ping, YANG Heng-shan, HOU Li-bai, ZHOU Li-bo,

(1. Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao Inner Mongolia 028043, China;

2. Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: POD isoenzymes of 18 varieties of winter wheat were studied by using PAGE. The result showed that the zymogram of POD isoenzymes of roots and leaves of winter wheat varied in different degree. Between returning green stage and jointing stage the zymograms of POD isoenzyme of roots varied instinctively. There increased a band RA₁ in region A and a band RC₁ in region C respectively. The two bands didn't appear in other development stages. In region C the zymogram of POD isoenzymes of leaves of jointing stage increased one band LC₁, which didn't appear in other development stages. It was found that the band RC₄ of roots and band LC₅ of leaves were stable in four development stages, and they appeared as first grade bands. The band RA₂ of roots, in region A, was stable too, and appeared as second grade band. Zymogram of POD isoenzymes had no significant difference among 18 varieties of winter wheats.

Key words: Winter wheat; Peroxidase; Isoenzyme; Developmental change