第18卷第3期 西北农业大学学报 Vol.18 No.3
1990年9月 Acta Univ.Agric.Boreali-occidentalis Sept. 1990

小麦过氧化物酶同工酶的表达特性与遗传

程炜中

（干旱半干旱研究中心）

摘 要 应用凝胶电泳技术研究了普通小麦生育早期过氧化物酶同工酶（IPO）的表达特性与遗传规律。结果表明：IPO分子有稳定表达型与可变表达型之分，前者无时空特异性，后者有时空特异性；在个体生长发育过程中，不同的IPO分子具有不同的表达频率；稳定表达型IPO的表达均呈共显性遗传；而各可变表达型IPO的表达，则在一定的遗传背景和一定的时空位点上均呈不同遗传模式的转换。

关键词 小麦，同工酶，过氧化物酶同工酶，电泳，特异性表达，遗传模式，转换

过氧化物酶同工酶（IPO）是其基因表达的直接产物，目前已被广泛应用于植物分子遗传、基因定位、分子进化、种质分类、细胞分化、个体生长发育、杂交育种和病理生理生化等方面的研究[1,2]。其中有人通过对水稻、高粱和小麦幼根及幼芽中IPO表达特性的研究，发现不同组织器官中IPO变化很大[3]，但在植物的同一生长发育时期的同一组织器官中却比较稳定[4]。本文报道普通小麦生长发育早期IPO分子在不同基因型品种的不同生长发育时期和不同组织器官中的表达特性，并进而通过品种间杂交研究了它们的表达遗传规律。

1 材料和方法

1.1 材料

选用3个经过多代套袋自交、遗传性状差异明显、纯合稳定的普通小麦（*Triticum aestivum* L.）品种“丰产3号”、“波里美比”和“矮孟牛”及其正反交后代。

1.2 取样和IPO提取液制备

在三叶期、五叶期（1）、五叶期（2）分别从大田和温室取正常幼苗，并切取根（新根老根混合）、茎（包括茎叶鞘在内的所有非展开叶的茎部组织）、叶（所有绿色叶片混合）。IPO提取液制备采用文献[5]报道的方法。

1.3 电泳和电泳凝胶的制备

参照已报道方法[5]，稍加改进：浓缩胶3%（Acr 30% 2mL，Bis 1% 2mL，1M Tris-HCl缓冲液（pH6.8）2.5mL，dH_2O 13mL，AP 10% 0.1mL，TEMED 30μL），分离胶浓度7.5%（Acr 30% 10mL，Bis 1% 7.8mL，1M Tris-HCl缓冲液（pH8.9）15mL，TEMED 30μL），Tris-Gly电极缓冲液（pH3.3），电流40mA，电压从低到高80v～120v，电泳时间10h。

1.4 IPO检测

文稿收到日期：1989-11-27。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

电泳结束后取下凝胶板，放在IPO显色液（A液：0.3g联苯胺，加15mL无水乙醇进行热溶解；B液：30mL 1.5M NaAc，加30mL 1.5HAc，混匀，加 210 mL dH_2O。临用前，把A液倒入B液，再加0.5mL 3% H_2O_2，摇匀）。在5～10°C条件下显色 30min，20～25°C条件下显色30min。显色完毕后，用自来水冲洗，拍照，测定IPO 各酶带R_m值，从正极到负极归类编号，根据G.Second 方法[6]，将每一种IPO分子作为一种分子遗传性状进行结果分析。

2 试验结果

2.1 发育早期IPO酶谱特征分析

如图1和表1所示，共测出可分辨 IPO酶带18种，其中 $IPO_{1\,6}$最稳定，且无品种、生

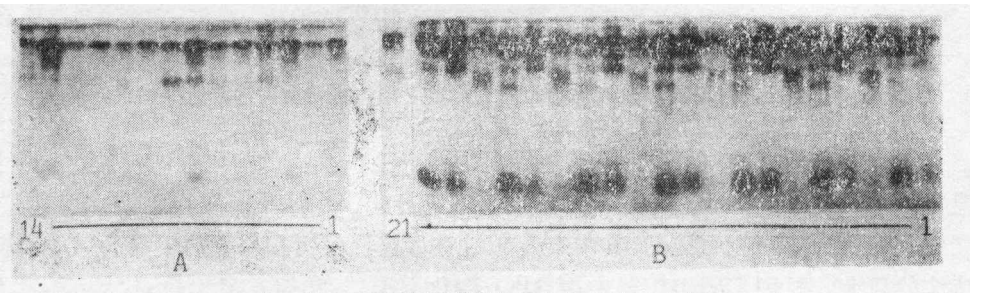

图1 小麦发育早期IPO分子表达的电泳分析

A．1～14三叶期茎叶IPO电泳；B．1～21五叶期(1)根茎叶IPO电泳。

图版编号说明：

材料名称	茎	叶	材料名称	根	茎	叶
A． ff	1	2	B． ff	1	2	3
(ff×pp) F_1	3	4	(ff×pp) F_1	4	5	6
(pp×ff) F_1	5	6	(pp×ff) F_1	7	8	9
pp	7	8	pp	10	11	12
(ff×aa) F_1	9	10	(ff×aa) F_1	13	14	15
(aa×ff) F_1	11	12	(aa×ff) F_1	16	17	18
aa	13	14	aa	19	20	21

表1 小麦生育早期IPO-Rm值及其表达频率比较（各品种及其F_1样本总值）

酶序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Rm值	0.557 9	0.523 8 ～0.526 3	0.500 0	0.478 3	0.452 6	0.421 1 ～0.436 4	0.390 9	0.252 6	0.227 2
样品总数	54	54	170	54	54	54	170	54	54
表达样品数	10	20	2	3	5	9	1	5	3
表达频率(%)	18.52	37.04	1.18	5.56	9.26	16.67	0.59	9.26	5.56
表达频率顺序	9	5	14	12	11	10	15	11	12

酶序号	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Rm值	0.173 9 ～0.181 0	0.161 9 ～0.168 4	0.154 5 ～0.157 9	0.147 4	0.133 3 ～0.136 8	0.095 2 ～0.115 8	0.043 5 ～0.057 1	0.028 6	0.000 0 ～0.0125
样品总数	54	54	54	170	54	54	54	54	54
表达样品数	17	14	1	1	26	28	54	16	24
表达频率 (%)	31.48	25.93	1.85	0.59	48.15	51.85	100.00	29.63	44.44
表达频率顺序	6	8	13	15	3	2	1	7	4

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

育期和器官的差异，为稳定表达型同工酶；而其余17种IPO的表达则随品种、生育期和器官的不同而异，为可变表达型同工酶。在248次取样分析中，这些IPO分子的表达频率大小依次为：$IPO_{16}>IPO_{15}>IPO_{14}>IPO_{18}>IPO_{2}>IPO_{10}>IPO_{17}>IPO_{11}>IPO_{1}>IPO_{6}>IPO_{5}=IPO_{8}>IPO_{4}=IPO_{9}>IPO_{12}>IPO_{3}>IPO_{7}>IPO_{13}$，说明各IPO分子的表达频率有一定差异。

2.2 可变表达型IPO的表达特异性分析

可变表达型IPO分子的表达具有品种基因型、生长发育时期和组织器官的特异性（如表2～4所示），总的变化趋势为：（1）IPO_1，IPO_6仅表达为三叶期茎叶特有，IPO_2，IPO_{10}仅表达分别为五叶期叶根茎特有，这在3个品种中大都是一致的；（2）在同一品种同一发育时期，三叶期叶中的IPO分子种类比茎中的多，其中表达频率较高

表2　IPO分子的特异表达与品种、生育期和组织器官的关系

品种	生育期	组织器官	IPO酶带序号																	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
丰产3号	三叶期	茎	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+
		叶	+	−	−	−	+	+	−	+	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+
	五叶期	根	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
		茎	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	+	−
		叶	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+	−
波里美比	三叶期	茎	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−
		叶	+	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+
	五叶期	根	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
		茎	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	−	−
		叶	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−
矮孟牛	三叶期	茎	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+
		叶	+	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	+	−	+
	五叶期	根	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
		茎	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	−	+
		叶	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	+	+	−	−

表3　三叶期IPO分子表达特性的遗传分析

组织器官	亲本及杂交组合*	IPO酶带序号																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
茎	ff	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+
	(ff×pp) F_1	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+
	(pp×ff) F_1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+
	pp	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
	(ff×aa) F_1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	−	+	−	+
	(aa×ff) F_1	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+
	aa	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+
叶	ff	+	−	−	−	+	+	−	+	−	−	+	−	−	+	−	+	−	+
	(ff×pp) F_1	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
	(pp×ff) F_1	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+
	pp	+	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+
	(ff×aa) F_1	+	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−
	(aa×ff) F_1	+	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
	aa	+	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	+	+	−	+

* ff：丰产3号；pp：波里美比；aa：矮孟牛。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表4 五叶期(1)IPO分子表达特性的遗传分析*

组织器官	亲本及组合	IPO酶带序号																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
根	ff	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
	(ff×pp) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
	(pp×ff) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
	pp	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
	(ff×aa) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	−
	(aa×ff) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	−
	aa	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
茎	ff	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	+	−
	(ff×pp) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	+	−
	(pp×ff) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	−	−
	pp	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	−	−
	(ff×aa) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	−	−
	(aa×ff) F_1	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−		+	+	−	−
	aa	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	−	+
叶	ff	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+	−
	(ff×pp) F_1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+	−
	(pp×ff) F_1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−
	pp	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−
	(ff×aa) F_1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−
	(aa×ff) F_1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−
	aa	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−

* 五叶期（1）是指从大田取五叶期幼苗，并在温室栽培3 d时的生育期。

的IPO大都是小分子类（如IPO_1和IPO_6）；五叶期叶中的IPO分子种类比茎和根中的少，但表达频率与酶分子大小关系不大，既有小分子（如IPO_2），又有大分子（如IPO_{14}和IPO_{18}），而茎和根中的IPO分子种类差异不大，仅有个别大小居中的IPO分子表达差异（如IPO_{10}）；（3）同一组织器官的发育从三叶期到五叶期，茎中IPO分子种类显著增加（从2～4种增加到5～6种），而叶中IPO分子种类却显著减少（从6～7种减少到2～4种）。以上三点说明可变表达型IPO的表达大都具有生长发育时期和组织器官的特异性，且具有一定的规律性；（4）从IPO分子表达的累加特征来看，“丰产3号”表现为（1+2+5+6+8+10+11+14+15+16+17+18），“矮孟牛”表现为（1+2+6+10+11+14+15+16+17+18），“波里美比”表现为（1+2+5+6+10+11+14+15+16+17+18），其中“丰产3号”与“波里美比”之间只有一种IPO_8分子的表达差异，“矮孟牛”与“波里美比”之间也只有一种IPO_5分子的表达差异，“矮孟牛”与“丰产3号”之间也仅有二种IPO_5和IPO_8分子的表达差异；（5）从不同发育时期和不同器官中IPO分子表达的综合结果来看，三叶期叶中IPO分子种类在品种间差异最大（有5种，IPO_5，IPO_8，IPO_{11}，IPO_{14}和IPO_{15}），三叶期茎中的差异次之（有3种，IPO_8，IPO_{11}和IPO_{14}），五叶期（1）茎中的再次之（有2种，IPO_{15}和IPO_{17}），五叶期（1）根和五叶期（2）茎中的最小（仅有1种，IPO_{18}），这说明不同小麦品种的IPO分子组成大都相似，但各品种的IPO分子表达调节方式相差较大。在小麦发育早期，应用三叶期叶IPO分子的表达酶谱作为区别品种的一个指标较好。当然应用不同发育时期和不同器官中IPO分子的动态表达酶谱更好。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.3 IPO分子表达的遗传模式分析

从四个正反交组合的分析结果（表2～4）获得各IPO分子表达的遗传模式（表5），表明稳定表达型同工酶IPO_{16}均呈共显性遗传（D_c），而各可变表达型同工酶IPO的遗传却随IPO分子种类、品种基因型、生长发育时期和组织器官的不同而异。在同一遗传背景中，即使是同一种可变表达型IPO分子，在不同生长发育时期和不同组织器官中也表现出不同的遗传模式，主要有显性（D）、隐性（R）、共显性（D_c）、胞质性（C）、核质互作性（NC）、杂种特异性（Hs）、杂种失活性（Hi）或共抑性（I_c），有时在F_2分离群体中还有不同的重组性IPO分子的出现（IPO_3，IPO_7，IPO_{13}）。不过这些重组性IPO分子的出现在显色后期不久就降解掉。由于F_2群体样本大小的限制，仅对IPO_{18}分子的基因数目进行了分析，结果发现，在五叶期（2）茎中IPO_{18}分子在F_1代呈核显性遗传，在F_2代分离群体中IPO^+_{18}：IPO^-_{18} = 128：42，接近于3：1的孟德尔式分离比例，x^2测验结果是x^2 = 0.009，$p>0.90$，表明IPO_{18}分子的表达受一对等位核显性基因的控制。

表5　IPO分子表达的遗传模式及其转换关系

IPO酶带序号	三叶期		五叶期（1）			五叶期（2）
	茎	叶	根	茎	叶	茎
1	Ic	Dc	Ic	Ic	Ic	Ic
2	Ic	Ic	Dc	Dc	Ic	Ic
3	?	?	?	?	?	Rb
4	Ic	Ic	Ic	Ic	Ic	Dc
5	Ic	R（Dc，Hi）	Ic	Ic	Ic	Ic
6	H	Dc（Hi）	Ic	Ic	Ic	Ic
7	?	?	?	?	?	Rb
8	C（R）	R	Ic	Ic	Ic	Ic
9	Ic	Ic	Ic	Ic	Ic	Dc
10	Ic	Ic	Ic	Dc	C（Dc）	Dc
11	D（Dc，Hi）	R（Hi）	Ic	Ic	Dc	Ic
12	Hs	Ic	Ic	Ic	Ic	Ic
13	?	?	?	?	?	Rb
14	D	R	Dc	Dc	Ic	Ic
15	Ic	C（NC）	Dc	Dc	R	Ic
16	Dc	Dc	Dc	Dc	Dc	Dc
17	Ic	Ic	Dc（Hi）	R（NC）	NC	Ic
18	Dc	Dc（NC）	R	R	Ic	D

注：D——显性；DC——共显性；R——隐性；C——胞质性；NC——核质互作性；Ic——共抑性；Hs——杂种性异性；Hi——杂种失活性；Rb——重组性；（　）——“或者…”；？——不清楚。

3 讨　论

1）对IPO表达特性的研究已有较多报道，都认为这种同工酶具有一定的时（生长发育时期）、空（组织器官的不同空间结构）表达特异性[1,3,4]，本研究进一步证实了这一基本结论，但进而发现IPO分子有稳定表达型与可变表达型之分，前者的表达无时空特异性，后者的表达有时空特异性。

2）在本试验的3个小麦品种中，IPO分子的表达累加特征差异不大，但各可变表达型IPO分子的表达的时空特异性及其表达频率却差异较大，这与别人对蕃茄[7]的研

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

究结论是一致的，说明同一物种内各品种大都具有相似的结构基因组成，各品种间的遗传差异主要是由基因调控系统的差异造成的[7,8]，亦说明在个体生长发育过程中，不同的IPO分子具有不同的表达频率，意味着控制各IPO分子表达的各基因具有不同的表达频率。因此，在种子工作中利用IPO分子表达的这种特性进行品种的动态检测是完全可能的。

3）对IPO分子表达进行遗传分析，均认为IPO分子是一种单体结构，不同的IPO分子的表达受不同的单基因控制[9,10]。本试验对IPO_{18}的研究与此结论相同，但应用杂交分析法对IPO分子在个体生长发育过程中进行时空特异性表达的遗传模式进行研究尚未见报道。本试验对这一问题也进行了初探，首次发现各可变表达型IPO分子以及同一种可变表达型IPO分子在不同生长发育时期和不同组织器官中的表达均具有不同的遗传模式，表明这些同工酶分子特异表达的遗传模式可以在一定的遗传背景和一定的时空位点上发生一定方式的转换（表6），意味着一对等位杂合基因在同一生长发育时期的根中表现共显性，在茎中却表现隐性，在叶中又表现核质互作遗传，如IPO_{17}在五叶期（1）的表达就是如此；或者在同一组织器官的三叶期表现为共显性，在五叶期（1）却表现为隐性，在五叶期（2）又表现为显性，如IPO_{18}在茎中的表达就是如此。这样，由于本试验对遗传与发育的结合研究并在分析方法学上的改进，便从上述试验结果中不难看出：基因及其所决定的遗传性状的表达，实际上是一个随个体生长发育进程的改变而改变的动态遗传过程；而由孟德尔所奠定的遗传理论，实际上作为一种静态遗传理论只是动态遗传理论中的一例，从而为“动态遗传理论”这一遗传新学说的确立提供了证据。

本研究是在汪沛洪教授的悉心指导下完成的，试验工作中曾得到我校生理生化研究室和分子生物学研究室的大力支持，特此表示感谢。

参 考 文 献

1 周光宇.同工酶？还是同功酶？生物化学与生物物理进展，1979（3）：80～81

2 童一中，沈革志.小麦单体系列的过氧化物酶同工酶的分析.植物生理学通讯，1983（4）：34～36

3 黄寿松，翁坚.几种植物中的过氧化物酶同工酶分析.遗传，1980，2（3）：7～10

4 程家胜.苹果的过氧化物酶同工酶研究——几种植物激素对过氧化物酶同工酶的研究.植物生理学通讯，1982（6）：28～30

5 吴少伯.植物组织中蛋白质及同功酶的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳.植物生理学通讯，1979（1）：30～33

6 Gerard Second.Origin of the genic diveristy of cultivated rice（Oryza spp.）Study of the polymorphism scored at 40 isozyme Loci.*Jap J Genet*，1982，57：25～27

7 黄永芬，汪清胤，王海延.从番茄过氧化物酶同工酶表型变异探讨杂种优势机理.遗传学报，1985，12（3）：193～194

8 周光宇.有关同工酶分析的几个问题.植物生理学通讯，1983（1）：1～4

9 李继耕，杨太兴，曾孟潜.同工酶与杂种优势研究 I.营养生长期杂种与其亲本的比较研究.遗传学报，1979，6（1）：40

10 罗美中，戴景瑞，韩雅珊.玉米过氧化物酶同工酶Px4位点与酯酶Est 3位点的遗传基础研究.遗传，1986，8（5）：19～21

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The Expression Property and Genetics of Peroxidase Isozymes in Common Wheat (*Triticum aestivum* L.)

Cheng Weizhong

(*The Research Center in the Arid and Semiarid Areas of the Northwestern Agricultural University*)

Abstract The expression property and genetic patterns of peroxidase isozymes (IPO) in the early growth and development stage of common wheat (*Triticum aestivum* L.) were studied by using PAGE-technique. The results showed that there were two types of IPO moleculars, i. e. the variable and stable expression types; the former was not of specificity in space and time, but the later was; and there were also different expression frequencies for different IPO moleculars in the growth and development process of the individual; and the expression of the stable expression type of IPO molecular behaved genetically as a codomonance, but the expressions of the variable expression type of IPO molecular behaved genetically as the definite conversions of different genetic patterns on the definite genetic background and the definite locus in space and time.

Key words common wheat (*Triticum aestivum* L.), isozyme, preoxidase isozyme, electrophoresis, expression property, genetic pattern, conversion

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net