

大豆的生化遗传学

胡志昂 王洪新

(中国科学院植物研究所)

自从 Beadle 和 Tatum (1941) 开创诱导粗糙链孢霉 (*Neurospora crassa*) 营养缺陷型以来, 研究基因通过酶实现对代谢的控制称为生化遗传学, 高等动植物很难获得营养缺陷型等突变, 因此其生化遗传研究直至 Markert (1955) 用凝胶电泳发现酶的多分子形式——同工酶之后才有可能。

大豆的生化遗传研究始于 Larson (1967)^[38]。为了鉴定品种, 他用 Davis (1964)^[17]发明不久的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳分析了不同品种的种子蛋白。发现有一个蛋白的淌度随品种而异: 在 7% 胶里, R_f 值 (蛋白质带迁移距离除以作为标记的溴酚兰前沿的移动距离) 分别为 0.40 和 0.46。因为每个品种只有其中一条带, 而且有品种的专一性, 估计是基因控制的。Larson 和 Caldwell (1968)^[39]用不同电泳型的大豆品种间杂交进行经典的孟德尔遗传分析, 证明这个淌度变异的蛋白质是由两个互为显性 (杂种 F_1 里都表达) 的等位基因控制的。后来, Orf 和 Hymowitz (1976a)^[41]定名该位点为 S_p1 。在 10% 的聚丙烯酰胺凝胶里, 两个带的 R_f 分别为 0.36 和 0.42, 由 S_p1^a 和 S_p1^b 编码。另一方面, Gorman 和 Kiang (1977, 1978)^[20, 21]在研究大豆种子淀粉酶同工酶遗传时, 发现泳动最快的一组酶的快、慢带由一对互为显性的基因编码, 称该位点为 AM—3。后来, Hildebrand 和 Hymowitz (1980)^[27]对 S_p1 和 AM—3 的产物 (蛋白质) 进行了详细的酶学研究, 证明都是 β -淀粉酶。因此, S_p1 就是 AM—3, 是大豆种子 β -淀粉酶的结构基因。 S_p1^a 和 S_p1^b 分别编码了该酶两个等位酶 (等位基因控制的同工酶)。Hildebrand 和 Hymowitz (1980b)^[28]对不含 β -淀粉酶的品种进行了遗传分析, 证明有一个隐性的 S_p1 零等位基因 (没有基因产物)。Gorman 和 Kiang (1977, 1978)^[20, 21]发现的 AM—1、AM—2 位点都是编码 α -淀粉酶的。

大豆胰蛋白酶抑制剂 (SBTI) 是大豆种子里一种含量很高的蛋白, 影响动物对大豆的消化。Singh 等 (1969)^[50]首先报道了 SBTI 的遗传变化。在 7% 的胶里, R_f 分别有 0.95 和 0.92 的。带电泳慢 SBTI 的大豆品种很少, Clark 等 (1970)^[15]从 294 个品种中只找到 20 个。Yen 等 (1971)^[54]用不同品种大豆饲喂大白鼠, 实验表明含慢电泳 SBTI 的大豆品种蛋白质利用效率高。Clark 和 Hymowitz (1972)^[16]证明慢 SBTI 对胰蛋白酶的抑制活性低。Hymowitz 和 Hadley (1972)^[32]改良了提取剂, 并用 10% 胶以利比较, 证明这两种 SBTI 是由两个互为显性的等位基因编码, Ti^a 和

本文于 1985 年 2 月 4 日收到。

Ti^b 分别控制在 10% 胶里 R_f 为 0.79 和 0.75 的两个带。Hymowitz (1973) 从 1,595 个品种中发现有两个品种的 SBTI 的 R_f 值为 0.83, 经 Orf 和 Hymowitz (1976b)^[42] 的遗传分析, 这是 Ti 位点另一个显性等位 Ti^c 的产物。在找到极为罕见的含 SBTI 的大豆品种之后, Orf 和 Hymowitz (1979)^[44] 证明 Ti 位点有一个隐性等位 ti。

既然等位酶是等位基因的产物, 因此用电泳分析检测到的等位酶就是相应等位基因的标记, 可以满意地研究群体的基因频率变化这个进化过程 (Gottlieb, 1981)^[25]。Hymowitz 和 Kaizuma (1979, 1981)^[33, 34] 先后测定了日本和亚洲 15 个国家及地区栽培大豆 S_pl、Ti 各等位基因的频率, 讨论了大豆从我国向世界传播的途径。

我们从 1981 年开始了大豆的生化遗传研究。为了更好地更迅速地对比不同栽培大豆品种及不同地区的野大豆 (*Glycine soja*), 胡志昂和王洪新 (1983)^[1] 改用垂直板电泳, 并改进了检测 Ti、S_pl 的方法。用改进的方法测定了我国 82 个代表品种的 S_pl、Ti 和 E_p 各等位的频率 (胡志昂和王洪新, 1984)^[2]。Ti 全为 Ti^a; S_pl 位点里, S_pl^a 的频率为 12.8%。E_p 是大豆种皮过氧化物酶基因 (Buttery 和 Buzzell, 1968^[12]; Buzzell 和 Buttery, 1969^[14]) 高活性等位 E_p 对低活性 ep 是显性。我国大豆 E_p 频率是东北和华南高, 分别为 75% 和 51.6%, 而北纬 33°—43° 的广大中部地区只有 6%。最近我们又以北京地区为模型, 测定了 13 个天然野大豆 (*Glycine soja*) 群体的 S_pl 和 Ti (胡志昂和王洪新, 1985^[3])。发现多数群体 S_pl 是杂合的。就是在一个群体里, 不同个体带有不同的等位基因, 例如平谷县沟河岸有一个野大豆群体, 长约 50 米, 宽数米。随机取 100 个植株, 39 株带 S_pl^a, 61 株带 S_pl^b, 该群体 S_pl^a 频率则为 39%。基因频率随群体而异, 有的 S_pl^a 频率为 0, 有的为 100%。有的两地相距 10 公里, Ti^a 频率从 100% 变为 2%。这种基因频率分布格式是自交植物的特点。在分析的全部 1,300 个植株里没有看到杂合体 (带两个等位基因), 证实了野大豆在天然条件下是严格自交的。没有看到基因频率和生态环境有显著的相关性。根据野大豆这种群体遗传结构, 我们提出了基因资源取样保存的方案, 除了收集形态上特殊的类型之外, 每个野大豆分布点不论其形态是否一致, 应随机取 100 个有效荚 (代表 100 个植株), 混合脱粒保存。定期繁殖时应随机取 100 粒种子播种, 成熟时再随机取 100 有效荚保存。这样才能比较完整地保存该地点野大豆的遗传库, 尤其是那些处于濒危的群体。我们的调查表明北京市的野大豆分布区正在缩小。目前国内有些地方, 因不了解野大豆在群体内和群体间存在形态以外的遗传变异, 因此采样时只取一株或邻近几株的全部种子, 繁殖时又只种一、二粒种子, 以为能代表其遗传组成。其实已经而且将继续丢失大量的天然遗传变异。吉林省农科院大豆所和我们协作, 分析了 339 份来自我国 24 个省、自治区的野生大豆的 Ti 和 S_pl, 对比栽培大豆的基因频率, 也证明我国长江以北黄河流域是栽培大豆的起源地 (徐豹等, 1985)^[8]。可见, 生化遗传研究不仅有助于阐明作物的起源和演化, 而且是为制订科学的作物近缘野生种基因资源取样保存策略所必须的基础工作。

大豆种子的植物凝血素 (lectin) 也是影响大豆蛋白质利用品质的一个重要因素。Pull 等 (1978)^[47] 筛选到几个缺乏凝血素的品种。Orf 等 (1978)^[43] 的遗传分析证明不含凝血素是一个隐性突变。Pueppke 和 Hymowitz (1982)^[46] 在 2,784 个栽培大豆品

种中筛选到 18 个品种不含 lectin,而在 559 份野大豆里竟有近半数(274 份)是没有 lectin 的。中心分布于澳洲的 *Glycine* 亚属全不含 lectin。

种子中的脂肪氧合酶是使豆制品产生豆腥气的原因 (Wolf, 1975^[53]; Rackis, 1981^[44])。该酶有三个同工酶,主要活性集中于酶 1 (L_pH1)。Hildebrand 和 Hymowitz (1981, 1982)^[29, 30] 找到两个品种不含 L_pH1 , 遗传分析证明多数品种有显性 $Lx1$ 等位,不含 L_pH1 的为其隐性等位 $lx1$ 。Kitamura 等 (1983)^[37] 对缺乏脂肪氧合酶另一个同工酶 L_pH3 的大豆也进行了遗传分析。

进行过遗传分析的大豆同工酶还有脲酶 (Buttery 和 Buzzell, 1971)^[13], 乙醇脱氢酶、四唑兰氧化酶、酸性磷酸酯酶 (Gorman 和 Kiang, 1977, 1978)^[20, 21]。编码酸性磷酸酯酶的基因位点和 Ti 连锁,同在大豆第 9 连锁群 (Hildebrand 等, 1980)^[26]。

最近 Gorman (1982a, 1982b, 1983)^[22, 23, 24] 还进行了大豆黄递酶、6-磷酸葡萄糖脱氢酶、谷草转氨酶、异柠檬酸脱氢酶、亮氨酸氨基肽酶、6-磷酸甘露糖异构酶、磷酸葡萄糖酸脱氢酶、磷酸葡萄糖异构酶和磷酸葡萄糖变位酶,各同工酶的遗传分析。Kiang 和 Gorman (1983)^[35] 就大豆同工酶的研究和育种中的应用作了综述。此外,酯酶 (Payne 和 Koszykowski, 1978^[45]; 虞京威等, 1983^[11]), 豆血红蛋白 (Holl 等, 1983)^[31] 的变异也有报道。

近来,大豆种子储存蛋白基因的结构和调节研究,越益得到重视。林忠平和尹光初 (1983)^[6] 评述了储存蛋白的生物化学。雷勃钧等 (1984)^[5] 林忠平等 (1984)^[7] 用蔗糖密度梯度离心和凝胶电泳比较分析了栽培大豆、野大豆和“半野生大豆”种子储存蛋白 2S、7S 和 11S 的含量;胡志昂等 (1984)^[4] 用 SDS 线性梯度凝胶电泳分析了种子蛋白各个亚基的含量变化。这些工作为大豆加工选择适当品种以及大豆蛋白品质育种提供基本资料。国外也报道了不同大豆品种球蛋白及其亚基的变异 (Kitamura 等, 1980^[36]; Mori 等, 1981^[40]; Staswick 和 Nielsen, 1983^[51]; Utsumi, 1981^[52])。在生物化学研究的基础上,应用整套分子生物学技术研究并报道了大豆球蛋白基因 (Fischer 和 Goldberg, 1982)^[18]、副大豆球蛋白基因 (Schuler 等, 1982)^[49] 以及大豆凝血素基因的结构和表达 (Goldberg 等, 1983)^[19]。我国植物生理研究所薛中天等 (1984a, 1984b)^[9, 10] 分离和用体外转译鉴定了大豆储存蛋白的信使 RNA,又从大豆基因文库中分离并克隆了副大豆球蛋白和球蛋白的编码顺序;从而对大豆种子蛋白基因的结构和表达进行了全面研究。

总之,近年来国际上大豆的生化遗传学进展很快,同时国内的研究工作从分子水平到群体水平都已全面开展和有了长足的进步。我国是栽培大豆的故乡,又是野生亲缘野大豆 (*Glycine soja*) 的分布中心,今后我国一定能对大豆研究作出更多的贡献。

参 考 文 献

- (1) 胡志昂和王洪新 (1983) 植物学报 25: 532—6.
- (2) 胡志昂和王洪新 (1984) 植物学报 26: 328—332.

- [3] 胡志昂和王洪新 (1985) 植物学报 27 (出版中) 摘要见植物蛋白质利用会议资料 (1984).
- [4] 胡志昂等 (1984) 植物蛋白质利用会议资料.
- [5] 雷勃钧等 (1984) 大豆科学 3: 36—39.
- [6] 林忠平和尹光初 (1983) 大豆科学 2: 232—238.
- [7] 林忠平等 (1984) 植物蛋白质利用会议资料.
- [8] 徐 豹等 (1985) 大豆科学 4: 7—13.
- [9] 薛中天等 (1984a) 科学通报 179—183.
- [10] 薛中天等 (1984b) 植物蛋白质利用会议资料.
- [11] 虞京威等 (1983) 大豆科学 2: 104—108.
- [12] Buttery & Buzzel (1968) Crop Sci. 8: 722—725.
- [13] Buttery & Buzzel (1971) Can. J. Bot. 49: 1101—1105
- [14] Buzzell & Buttery (1969) Crop Sci. 9: 387—388
- [15] Clark et al. (1970) Crop Sci. 10: 486—487
- [16] Clark & Hymowitz (1972) Biochem. Genet. 6: 169—182
- [17] Davis (1964) Annals N. Y. Acad. Sci. 121: 404—427
- [18] Fischer & Goldberg (1982) Cell 29: 651—660
- [19] Goldberg et al. (1983) Cell 33: 465—475
- [20] Gorman & Kiang (1977) Crop Sci. 17: 963—965
- [21] Gorman & Kiang (1978) J. Hered. 69: 255
- [22] Gorman et al. (1982a) Soybean Genet. Newsl. 9: 140—143
- [23] Gorman et al. (1982b) Soybean Genet. Newsl. 9: 143—156
- [24] Gorman et al. (1983) Soybean Genet. Newsl. 13:
- [25] Gottlieb (1981) Progr. in Phytochem. 7: 1—46
- [26] Hildebrand et al. (1980) Crop Sci. 20: 83—85
- [27] Hildebrand & Hymowitz (1980a) Crop Sci. 20: 165—168
- [28] Hildebrand & Hymowitz (1980b) Crop Sci. 20: 727—730
- [29] Hildebrand & Hymowitz (1981) J. Amer. Oil Chemists Soc. 58: 583—586
- [30] Hildebrand & Hymowitz (1982) Crop Sci. 22: 851—853
- [31] Holl et al (1983) Plant Sci. Lett. 32: 321—326
- [32] Hymowitz & Hadley (1972) Crop Sci. 12: 197—198
- [33] Hymowitz & Kaizuma (1979) Econ. Bot. 33: 311—319
- [34] Hymowitz & Kaizuma (1981) Econ. Bot. 35: 10—23
- [35] Kiang & Gorman (1983) Isozymes in Plant Genetics and Breeding B: 295—328, eds: Tanksley & Orton, Elsevier Science Publishers.
- [36] Kitamura et al. (1980) Phytochem. 19: 1841—1843
- [37] Kitamura et al. (1983) Crop Sci 23: 924—926
- [38] Larsen (1967) Crop Sci. 7: 311—313
- [39] Larsen & Caldwell (1968) Crop Sci. 8: 474—476
- [40] Mori et al. (1981) J. Agric. Food Chem. 29: 20—23
- [41] Orf & Hymowitz (1976a) Soybean Genet. Newsl. 3: 27—28
- [42] Orf & Hymowitz (1976b) Crop Sci. 17: 811—813
- [43] Orf et al. (1978) Crop Sci. 18: 899—900
- [44] Orf & Hymowitz (1979) Crop Sci. 19: 107—109
- [45] Payne & Koszykowski (1978) Crop Sci. 18: 557—559
- [46] Pueppke & Hymowitz (1982) Crop Sci. 22: 558—560
- [47] Pull et al. (1978) Science 200: 1277—1279
- [48] Rackis et al. (1981) J. Amer. Oil Chem. Soc. 56: 262—271
- [49] Schuler et al. (1982) Nucleic Acid Res. 10: 8225—8244
- [50] Singh et al. (1969) Crop Sci. 9: 489—491
- [51] Staswick & Nielsen (1983) Arch. Biochem. Biophys. 223: 1—8
- [52] Utsumi et al. (1981) Phytochemistry 20: 585—589.
- [53] Wolf (1975) J. Agric Food Chem. 23: 136—141
- [54] Yen et al. (1971) J. Anim. Sci. 33: 1012—1017