

中国大豆品种资源种子 Ti 电泳分析*

刘兴媛

(中国农业科学院油料作物研究所)

提 要

对 4,410 份中国大豆品种资源种子的胰蛋白酶抑制剂进行了电泳分析,栽培大豆 100% 材料是 Ti^a 型,野生大豆 89.3% 材料是 Ti^a 型,有 6.6% 材料是 Ti^b 型,还有 49 份材料为 Ti^a 和 Ti^b 双带混合型; Ti^a 型分布广泛, Ti^b 型多分布在 $106^\circ\sim 108^\circ E$ 的我国东部省分, Ti 类型具有遗传变异;野生大豆单粒间的 Ti 类型存在差异。

关键词 种质资源;大豆胰蛋白酶抑制剂(SBTI);电泳带型

大豆饼粕因含约占种子蛋白 6% 的一组蛋白质胰蛋白酶抑制剂,严重的影响了它用作饲料的营养价值,其中最具活性、研究最多的是以 Kunitz 命名的胰蛋白酶抑制剂 SBTI- A_2 。动物试验证明、喂了生大豆粉后,能明显抑制蛋白酶的水解,使蛋白质消化作用受阻,引起胰脏肥大、促使胰腺机能亢进而造成必需氨基酸的内源性损失,破坏蛋氨酸与胱氨酸的平衡,使大豆本来缺乏的含硫氨基酸更加短缺,动物生长发育停滞,因此引起科学家的重视。60 年代以来进行了多方面的研究。1969~1978 年美国科学家 Hymowitz 等人分析发现了这种蛋白质(SBTI- A_2)具有不同的电泳带类型,即有 Rf 值为 0.79、0.75、0.83 显带型及一种不显带型。分别被定为 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c 及 ti 型,其中以 Ti^b 型活性最低。 ti 型为不含 SBTI- A_2 的类型,在应用价值上最有意义。70 年代后美国对 4,000 余份大豆种质资源作了 Ti 分析,从中发现了两份引入品系为不含 SBTI 的 ti 型。

80 年代以来我国也开始了这项研究,王衍桐等(1986)、徐豹等(1985)分别进行了部分栽培大豆及野生大豆的 Ti 分析,均未找到不含 SBTI 的 ti 类型。本文就我国 4,410 份品

* 本文请王国勋研究员审阅,特此致谢。

参加部分分析工作的有甘冬生、王薇雨同志一并致谢。

本文于 1990 年 12 月 14 日收到。

This paper was received On Dec 14, 1990.

种资源的 Ti 鉴定结果进行分析总结、供大豆种质资源研究参考。

材料及方法

栽培大豆 3,202 份、包括山西 1,927 份、湖北 1,223 份、上海 41 份、西藏 11 份。
野生大豆 1,208 份,包括山西 422 份、陕西 400 份、甘肃 90 份、宁夏 24 份、山东 70 份、河北 43 份、湖北 70 份、贵州 57 份、广东 15 份、西藏 10 份、北京 4 份、云南 2 份、河南 1 份。
胰蛋白酶抑制剂分析采用 7%聚丙烯酰胺凝胶法,进行垂直平板电泳,用 Sigma 公司出产 Ti 标样作 Rf 值标准定位。
样品的制备、栽培大豆每种取一粒、野生大豆每种取四粒加水浸泡过夜,去皮后加 1.5mlTris-HCl 缓冲液(pH8.2)研磨成匀浆,倒入小离心管充分静置(也可离心),取上清液点样进行电泳。

结果与讨论

一、栽培大豆与野生大豆的 SBTII 类型
表 1 表明,栽培大豆的电泳带型单一,全部供测品种均为 Ti^a 型,与王衍桐等人分析结果基本相符,只有西藏品种稍有不同,我们分析结果中未发现 Ti^b 类型。

表 1 栽培、野生大豆 SBTII-A₂ 电泳分析结果
Table 1 SBTII electrophoresis analysis of cultivated and wild soybean

类 型 Type	品 种 数 No. of the varieties	电 泳 带 类 型 Type of electrophoresis bands				频 率 % Frequency	
		Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	Ti ^a + Ti ^b	Ti ^a	Ti ^b
栽 培 大 豆 Cultivated soybean	3,202	3,202	—	—	—	100	—
野 生 大 豆 Wild soybean	1,208	1,079	80	—	49	89.3	6.6

1,208 份野生大豆的鉴定结果,则大部分表现具有 Ti^a 型,少部分具有 Ti^b 型。其中 Ti^a 型出现的频率为 89.3%,Ti^b 型出现的频率为 6.6%,与徐豹等人分析 339 份结果相比,Ti^a 型出现频率高 8.5%,Ti^b 型出现的频率低 12.3%,这可能与品种来源不同有关。另外在野生豆中有 4.1%的品种表现出 Ti^a 与 Ti^b 两条带同时存在的混合型。无论栽培大豆或野生大豆均未发现 Ti^c 型和不含 SBTII 的 ti 型。

二、野生大豆 Ti 电泳带型的分布
对野生大豆资源按不同地区来源分别观察它们的 Ti 类型差异及分布。
从上表可看出,不同来源的野生大豆具有不同的 Ti 电泳带型。甘肃、宁夏、西藏、广东四省区的野生大豆除广东有一份出现 Ti^a + Ti^b 混合型外,其余 100%具有 Ti^a 类型;河北、山西、山东、陕西、湖北、贵州六省品种 Ti^a 电泳带型出现的频率为 70.2~98.6%,有 1.4~

9.2%的品种具有 Ti^b 类型。其中以陕西、贵州、山东品种 Ti^b 类型出现频率较高。另外,在

表 2 不同省区野生大豆 Ti 类型比较

Table 2 Comparison of electrophoresis band types in wild soybeans of different provinces

省 别 Provinces	经 纬 度 Longitude and Latitude		样 本 数 No. of the accession	电 泳 带 类 型 Type of electrophoresis band			出 现 频 率 % Frequency		
				Ti^a	Ti^b	$Ti^a + Ti^b$	Ti^a	Ti^b	$Ti^a + Ti^b$
河 北	118°E	41°N	43	34	3	6	79.7	7.0	13.9
宁 夏	106°	38.5°	24	24	—	—	100	—	—
山 西	113°	38°	422	372	28	22	88.2	6.6	5.2
山 东	117°	36.5°	70	59	6	5	84.3	8.6	7.1
甘 肃	103°	36°	90	90	—	—	100	—	—
陕 西	108°	34°	400	360	37	3	90.0	9.2	0.8
湖 北	114°	31°	70	69	1	—	98.6	1.4	—
西 藏	91°	30°	10	10	—	—	100	—	—
贵 州	106°	26°	57	40	5	12	70.2	8.8	21.0
广 东	113°	23.5°	15	14	—	1	93.3	—	6.7

贵州、河北、山西、山东、陕西、广东六省品种中,出现 1~21%的材料具有 $Ti^a + Ti^b$ 混合型,以贵州省最高。以上说明 Ti^a 型分布广泛,而 Ti^b 型较多的分布在 106~118°E 的中国东部地区。

Ti 类型的分布是否与地理位置有关。我们对以上材料进行了 Ti 类型与经纬度之间相关性分析,其中经度与 Ti 类型之间测得相关系数 $r = -0.414(Ti^a)$, $-0.324(Ti^b)$,经显著性测定 t 值不显著;纬度与 Ti 类型之间的相关系数 $r = 0.04(Ti^a)$, $0.07(Ti^b)$,很明显更不存在相关性。

三、 Ti 电泳带型的单粒分析

为了探讨 $Ti^a + Ti^b$ 类型同时存在的原因,观察单粒种子与多粒种子对电泳带型的影响,我们进行了单粒分析比较试验,在同一品种样品中,随机取 10 粒种子分别制样进行电泳分析,得到以下结果。

三个野生豆品种一致表现单粒间 Ti 类型存在差异、如“4790 品种 10 粒种子中,有 7 粒表现为 Ti^a 型,有 2 粒表现为 $Ti^a + Ti^b$ 型,有 1 粒表现为 Ti^b 型,“3101 品种与“4368 品种均有一粒不同于其他粒的 Ti 类型。

三份半野生大豆的单粒间其 Ti 类型是相同的,没有出现野生大豆那种 Ti 类型的分离现象,与栽培大豆表现一致。

据美国 Singh 氏对电泳带进行遗传分析时发现,用具有两种 Ti 电泳带型的品种进行杂交,其 F_2 代种子除具有亲本的 Ti 类型外,还同时出现了双带(即 Ti^a 与 Ti^b 同时出现)。说明 ab 双带型是遗传变异而来。在我们鉴定的野生大豆资源中所表现出的双带型,说明这些资源种群中有杂合体存在,因此可通过 Ti 类型分析进行品种种性鉴定。

由于野生大豆单粒间 Ti 类型有差异,取样以多少粒才有代表性;以上单粒分析试验

看出,当用四粒种子时,品种#3101 和 #4368 的结果一致 ;而品种# 4790 则不具代表性。

表 3 野生半野生大豆材料单粒种子的 Ti 类型

Table 3 Ti type of single seed in same accession

序 号 No.	野 生 豆 Wild soybean			半 野 生 豆 Semi cultivated soybean		
	# 3101(山西)	# 4368(湖北)	# 4790(贵州)	# 07-21	07-22	07-24
1	Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
2	Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
3	Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
4	Ti ^b	Ti ^b	Ti ^a +Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
5	Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a +Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
6	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
7	Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a
8	Ti ^b		Ti ^b		Ti ^a	Ti ^a
9	Ti ^b		Ti ^a		Ti ^a	Ti ^a
10	Ti ^b		Ti ^a		Ti ^a	Ti ^a
混 合	Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a +Ti ^b	Ti ^a	Ti ^a	Ti ^a

所以取样粒数偏少容易产生误差。我们认为,凡进化程度较低的野生大豆品种,作 Ti 电泳带型鉴定时,取样应不少于 10 粒,而进化程度较高的半野生大豆,栽培大豆,则可少于 10 粒甚至可用单粒分析。

参 考 文 献

[1] S. K. 阿罗拉主编:(1987 年)豆类的化学和生物化学,科学出版社

[2] 常汝镇:1983,大豆胰蛋白酶抑制剂电泳类型与遗传及其在大豆传播和资源研究中的意义,国外农业科技 (12)

[3] 徐豹:1989,中国野生大豆研究十年,吉林农业科学,(1)

[4] 王衍桐等:1986,从种子蛋白电泳分析看我国大豆品种 Ti 和 SPI 位点基因的分布,作物学报,(1)

[5] 胡志昂等:1985,大豆的生化遗传学,大豆科学,(3)

[6] Hymowitz and Hadley: Inheritance of a soybean trypsin inhibitor variant in seed protein of soybean. Crop Sci. 12. 1972

[7] Hymowitz: Electrophoretic analysis of SBII—Ai in the USDA soybean germplasm Collection. Crop Sci. 13. 1973

ANALYSIS ON SEED TRYPSIN INHIBITOR OF SOYBEAN GERMPLASM RESOURCES IN CHINA

Liu Xingyan

(Oil Crops Research Institute, CAAS)

Abstract

About 4410 accessions of Chinese soybeans as germplasm resources have been analysed by electrophoresis for soybean trypsin inhibitor (Ti). The main results shown that 100% of cultivated soybeans had Ti^a allele. 89.3% of wild soybean had Ti^a allele, 6.6% of them had Ti^b allele, and the mixed allele ($Ti^a + Ti^b$) were present in other 49 accessions of wild soybean. It was defined that Ti genotype of soybeans has heritable variability. There was difference of Ti genotype between two seeds of the same wild soybean accession.

Generally, soybean accessions with Ti^a are distributed widely in growing areas and those with Ti^b are discovered in eastern provinces of China. The relationship between Ti genotype and both longitude and latitude is uncertain.

Key words SBTI— A_2 ; Germplasm resources; Type of electrophoresis bands