

中国栽培大豆代表品种和野生大豆 部分群体脲酶等位酶的分析*

王洪新 胡志昂

(中国科学院植物研究所 北京)

姚振纯

(黑龙江省农业科学院作物育种研究所 哈尔滨)

摘 要

用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法分析了我国栽培大豆 82 个代表品种和野生大豆部分群体的脲酶等位酶。本实验室条件下脲酶快带 $R_f = 0.54 - 0.59$, 慢带 $R_f = 0.36 - 0.43$, 与文献报道一致。所分析 82 个品种快慢脲酶变异体约各半, 各等位的分布与该品种的产地无显著相关性。在已分析的野生大豆群体中, 也发现脲酶存在快带和慢带两种变异。所以大豆脲酶基因的突变可能发生在野生大豆的天然群体里。

关键词 栽培大豆; 野生大豆; 脲酶等位酶

大豆种子的脲酶有两种同工酶, 在聚丙烯酰胺凝胶电泳上表现为快带和慢带, 并曾被认为是单一亚基的不同聚合体形式 (Buttery and Buzzell, 1971)^[3], 慢的变异体是一个六聚体, 其分子量被确定为 520,000 (Buttery and Buzzell, 1971)^[3] 或 480,000 道尔顿 (Polacco and Havir, 1979)^[10], 快迁移的脲酶被认为是一个分子量约 205,000 的三聚体, 而且快带对慢带是显性的 (Buttery and Buzzell, 1971)^[3]。Kloth 和 Hymowitz (1985)^[6] 则提出证据认为大豆脲酶同工酶是互显性遗传, 并将慢等位定名为 Eul-a, 快等位定名为 Eul-b。Mervosh 和 Hymowitz (1987a)^[8] 分析美国 397 个大豆品种收集物的脲酶等位酶, 并研究了各等位频率与品种引进或释放年代及熟期类型的关系。Polacco 等 (1982)^[1] 和 Kloth 等 (1978)^[7] 共报道了四例缺脲酶表型的大豆品种。Mervosh 和 Hymowitz (1987b)^[9] 还报告了对 629 份野生大豆 (*G. soja*) 收集物的脲酶分析, 结果 5 份收集物缺乏种子脲酶, 有趣的是这缺乏脲酶的 5 份野生大豆收集物连同上述 4 份栽培大豆均来源于日本。

* 本文于 1993 年 3 月 10 日收到。

This paper was received on March 10, 1993.

在我国的大豆生化遗传研究中尚未见有关种子脲酶等位酶的研究报道。本文报告对82个我国栽培大豆代表品种及若干野生大豆群体种子脲酶等位酶的分析结果。

材 料 和 方 法

材料来源:实验所用82个大豆品种是1979年全国大豆区划、生态座谈会确定的,用其进行生态型研究和大豆气候区划试验的来自中国南北地区的代表品种(胡志昂和王洪新,1984)^[1],由已故卜慕华教授赠予。

样品提取、电泳、显色基本上按Buttery和Buzzell(1971)^[3]的方法,在某些方面有所改动,程序如下:大豆种子浸泡4—8小时吸胀,半粒种子用1 ml水研磨提取(野生大豆每粒加0.5 ml水),17,000g离心5分钟的上清液用于电泳分离。

电泳采用Davis系统(1964)^[4],但用垂直板式电泳。丙烯酰胺浓度在分离胶为5%,隔层胶为3.5%。

显色:胶板浸入0.2M pH5.0 NaAC缓冲液(内加0.05%甲酚红)中,直至胶变黄。取出,浸泡于底物溶液(1.6%脲素,0.1%Na₂EDTA,0.05%甲酚红)直到紫带出现,即为脲酶。

结 果 与 讨 论

1. 种子先吸胀,然后加水研磨提取,或干种子研磨成细粉后再加水振荡提取的上清液用于脲酶分析,结果一样。而吸胀种子研磨操作比较方便、简易。

2. 本实验室条件下,所得脲酶电泳谱快带的Rf为0.54—0.59,慢带Rf为0.36—0.43,与文献报道一致(Buttery and Buzzell,1971)^[3]。

3. 82个栽培大豆品种种子脲酶分析结果列表1:

其中含慢等位的有37个品种,含快等位的43个品种,快、慢变异体类型与该品种的产地没有相关性。但某些地区的品种有相同的等位类型,如黑龙江省哈尔滨地区的黑农26号、黑农16、东农4号和东农72—806,吉林的吉林4号、吉林13号、九农9号、早丰1号和辽宁铁岭地区的铁丰8号、铁丰18号、铁丰19号和铁丰20号等都是Eul—b类型。而江苏徐州地区的三个品种:徐豆1号、徐豆2号、徐豆5号都是Eul—a型,这是否与它们的亲缘关系较近有关?

所分析的三明73—11供试种子中有Eul—a和Eul—b两种类型,可能是种子混杂或其它原因所致。

另外,贵州安顺的白水豆在分析的6粒种子中有4粒没有脲酶显色,2粒为Eul—b。是种子脲酶活性过低,还是缺脲酶的突变,有待进一步研究。

4. 分析了黑龙江省和北京地区部分群体野生大豆的脲酶等位酶,发现存在快、慢两种类型其中黑龙江省绥化野生大豆12粒种子全部是快带b等位。北安一个群体10粒种子采集物,全为a等位即慢带类型,而另一个群体10粒种子采集物其中2个a等位,8个b

表 1 中国栽培大豆 82 个代表品种的脲酶等位酶类型

Table 1 The pattern of urease allozymes among representatives of cultivated soybean in China

品 种 名 称 The name of variety	Eul	产 地 Place of origin	品 种 名 称 The name of variety	Eul	产 地 Place of origin
黑河 3 号 Heihe 3	a	黑龙江 黑河 Heihe, Heilongjiang	冀豆 1 号 Jidou 1	b	河北 承德 Chengde, Hebei
黑河 54 Heihe 54	b	黑龙江 黑河 Heihe, Heilongjiang	霸红 1 号 Bahong 1	a	河北 承德 Chengde, Hebei
北呼豆 Beihudou	a	黑龙江 北安 Beian, Heilongjiang	群英豆 Qunyingdou	b	河北 承德 Chengde, Hebei
丰收 10 号 Fengshou 10	a	黑龙江 克山 Keshan, Heilongjiang	昌平青豆 Changpingqingdou	b	北京 Beijing
丰收 12 号 Fengshou 12	b	黑龙江 克山 Keshan, Heilongjiang	诱变 30 Youbian 30	b	北京 Beijing
内豆 1 号 Neidou 1	b	内蒙古 扎兰屯 Zalantun, Neimenggu	耐阴黑豆 Naiyinheidou	a	北京 Beijing
内豆 2 号 Neidou 2	b	内蒙古 扎兰屯 Zalantun, Neimenggu	晋豆 1 号 Jindou 1	a	山西 太谷 Taigu, Shanxi
红丰 2 号 Hongfeng 2	a	黑龙江 集贤 Jixian, Heilongjiang	晋豆 2 号 Jindou 2	a	山西 太谷 Taigu, Shanxi
黑农 26 号 Heinong 26	b	黑龙江 哈尔滨 Harbin, Heilongjiang	晋豆 3 号 Jindou 3	a	山西 太谷 Taigu, Shanxi
黑农 16 号 Heinong 16	b	黑龙江 哈尔滨 Harbin, Heilongjiang	晋大 814 Jinda 814	b	山西 太谷 Taigu, Shanxi
东农 4 号 Dongnong 4	b	黑龙江 哈尔滨 Harbin, Heilongjiang	海 94 Hai 94	b	山西 太原 Taiyuan, Shanxi
东农 72-806 Dongnong 72-806	b	黑龙江 哈尔滨 Harbin, Heilongjiang	陕豆 701 Shandou 701	b	陕西 武功 Wugong, Shanxi
吉林 4 号 Jilin 4	b	吉林 怀德 Huaide, Jilin	绿豆豆 Lupidou	b	陕西 武功 Wugong, Shanxi
吉林 13 号 Jilin 13	b	吉林 怀德 Huaide, Jilin	丰收黄 Fengshouhuang	a	山东 济南 Jinan Shandong
九农 9 号 Jiunong 9	b	吉林 九站 Jiuzhan, Jilin	齐黄 10 Qihuang 10	a	山东 济南 Jinan Shandong
早丰 1 号 Zaofeng 1	b	吉林 怀德 Huaide, Jilin	文丰 5 号 Wenfeng 5	a	山东 济南 Jinan Shandong
铁丰 8 号 Tiefeng 8	b	辽宁 铁岭 Tieling, Liaoning	跃进 4 号 Yuejin 4	b	山东 济南 Jinan Shandong
铁丰 18 号 Tiefeng 18	b	辽宁 铁岭 Tieling, Liaoning	尉青豆 Weiqingdou	a	河南 郑州 Zhengzhou, Henan
铁丰 19 号 Tiefeng 19	b	辽宁 铁岭 Tieling, Liaoning	陈留牛毛黄 Chenliuniumaohuang	a	河南 开封 Kaifeng, Henan
铁丰 20 号 Tiefeng 20	b	辽宁 铁岭 Tieling, Liaoning	郑州 135 Zhengzhou 135	a	河南 郑州 Zhengzhou, Henan
丹豆 1 号 Dandou 1	a	辽宁 丹东 Dandong, Liaoning	紫大豆 Zidadou	b	河南 郑州 Zhengzhou, Henan
丹豆 2 号 Dandou 2	b	辽宁 丹东 Dandong, Liaoning	徐豆 1 号 Xudou 1	a	江苏 徐州 Xuzhou, Jiangsu

(续表 1)

品 种 名 称 The name of variety	Eul	产 地 Place of origin	品 种 名 称 The name of variety	Eul	产 地 Place of origin
丹豆 4 号 Dandou 4	a	辽宁 丹东 Dandong, Liaoning	徐豆 2 号 Xudou 2	a	江苏 徐州 Xuzhou, Jiangsu
锦 33 号 Jin 33	b	辽宁 锦州 Jinzhou, Liaoning	徐豆 5 号 Xudou 5	a	江苏 徐州 Xuzhou, Jiangsu
锦 6606—24 Jin 6606—24	b	辽宁 锦州 Jinzhou, Liaoning	泰兴黑豆 Taixingheidou	b	江苏 泰兴 Taixing, Jiangsu
锦 8—14 Jin 8—14	b	辽宁 锦州 Jinzhou, Liaoning	穗稻黄 Suidaohuang	a	江苏 南京 Nanjing, Jiangsu
锦 6422 Jin 6422	b	辽宁 锦州 Jinzhou, Liaoning	南农 493—1 Nannong 493—1	a	江苏 南京 Nanjing, Jiangsu
58—161	b	江苏 南京 Nanjing, Jiangsu	大青豆 Daqingdou	a	福建 三明 Sanming, Fujian
兰溪大青豆 Lanxidapingdou	a	浙江 兰溪 Lanxi, Zhejiang	三明 73—11 Sanming 73—11	a, b	福建 三明 Sanming, Fujian
上虞坎山白 Shangyukanshanbai	b	浙江 上虞 Shangyu, Zhejiang	晋江大青仁 Jinjiangdaqingren	a	福建 晋江 Jinjiang, Fujian
矮脚早 Aijiaozao	a	湖北 武昌 Wuchang, Hubei	75—158	b	贵州 安顺 Anshun, Guizhou
猴子毛 Houzimao	b	湖北 武昌 Wuchang, Hubei	六月黄 Liuyuehuang	a	贵州 六枝 Liuzhi, Guizhou
鄂豆 2 号 Edou 2	b	湖北 武昌 Wuchang, Hubei	白水豆 Baishuidou	b	贵州 安顺 Anshun, Guizhou
秋豆 1 号 Qiudou 1	a	湖南 衡阳 Hengyang, Hunan	宜山六月黄 Yishanliuyuehuang	a	广西 宜山 Yishan, Guangxi
八月青 Bayueqing	a	湖南 衡阳 Hengyang, Hunan	平果黄豆 Pingguohuangdou	a	广西 平果 Pingguo, Guangxi
云易早 Yunyizao	a	湖南 长沙 Changsha, Hunan	白花豆 Baihuadou	b	广西 柳江 Liujiang, Guangxi
矮脚青 Aijiaoqing	b	江西 新余 Xinyu, Jiangxi	菊黄 Juhuang	a	广东 广州 Guangzhou, Guangdong
上饶大青丝 Shangraodagingsi	b	江西 上饶 Shangrao, Jiangxi	五华四月黄 Wuhuasiyuehuang	b	广东 广州 Guangzhou, Guangdong
瑞金小黄豆 Ruijinxiaohuangdou	a	江西 瑞金 Ruijin, Jiangxi	白贡六月黄 Zigongliuyuehuang	a	四川 自贡 Zigong, Sichuan
丰城牛皮豆 Fengchengniupidou	a	江西 丰城 Fengcheng, Jiangxi	自贡青皮豆 Zigongqingpidou	b	四川 自贡 Zigong, Sichuan
连城白花豆 Lianchengbaihuadou	b	福建 连城 Liancheng, Fujian	自贡冬豆 Zigongdongdou	a	四川 自贡 Zigong, Sichuan

等位。黑龙江省德都地区 10 粒种子收集物全是 b 等位。但多数是慢带 a 等位,如北京芦沟桥地区来自 10 个植株的 10 粒种子全是慢带,北京延庆松山林场的 40 粒种子(来源于 40 个植株)除 4 粒未显色外也均为慢带。北京地区动物园野生大豆群体中 10 粒种子有 8 粒是慢带,另两粒有快慢两条带。Mervosh 和 Hymowitz(1987 b)^[9]根据所分析的野生大豆收集物全是慢带的事实,认为快带突变也许是在大豆驯化过程中产生的。我们的实验结果表明野生大豆天然群体中存在快带,可能突变发生在野生大豆群体中。

参 考 文 献

- [1] 胡志昂、王洪新, 1984, 中国栽培大豆 82 个代表品种 Sp1, Ti 和 Ep 各等位基因频率, 植物学报 26(3): 328—332
- [2] 胡志昂、王洪新, 1985, 北京地区野大豆天然群体遗传结构 植物学报, 27(6): 599—604
- [3] Buttery & Buzzell, 1971, Properties and inheritance of urease isoenzymes in soybean seeds. Can. J. of Bot. 49: 1101—1105
- [4] Davis, B. J. 1964, Disc electrophoresis. I. Method and application to human serum proteins. Annals N. Y. Acad. Sci. 121: 404—426
- [5] Hu Zhiang & Wang Hongxin, 1989, Biology and evolution of soybean and its wild relative *Glycine soja*. 4th Intern. Symp. Plant Biosyst. p. 35, Kyoto, July, 1989
- [6] Kloth, R. H. & T. Hymowitz, 1985, Re-evaluation of the inheritance of urease in soybean seed. Crop Sci. 25: 352—354
- [7] Kloth, R. H. et al., 1987, The inheritance of a urease—null trait in soybeans. Theor. Appl. Genet. 73: 410—418
- [8] Mervosh, T. L. & T. Hymowitz, 1987a, Screening of the USDA soybean cultivar collection for slow and fast urease isozymes. Soybean Genet. Newsl. 14: 263—265
- [9] Mervosh, T. L. & T. Hymowitz, 1987b, Screening of the USDA *Glycine soja* collection for urease variants. Soybean Genet. Newsl. 14: 265—267
- [10] Polacco, J. C. & E. A. Havir, 1979, Comparisons of soybean urease isolated from seed and tissue culture. J. Biol. Chem. 254: 1707—1715
- [11] Polacco, J. C. et al., 1982, A soybean seed urease—null produces urease in cell culture. Plant Physiol. 69: 1233—1240

**ANALYSIS OF UREASE ALLOZYMES OF CHINESE SOYBEAN CULTIVARS
(*GLYCINE MAX*) AND SOME NATIVE GROUPS OF WILD SOYBEAN (*G. SOJA*)**

Wang Hongxin Hu Zhiang

(*Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing*)

Yao Zhenchun

(*Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin*)

Abstract

The urease isozyme variation of 82 representative cultivars of cultivated soybeans and some native groups of wild soybean in China were analysed by using of polyacrylamide gel electrophoresis. The R_f values are 0.36—0.39 for slow variant and 0.54—0.59 for fast variant which agree with the values reported in literature. Allelic variation of Eul has been found among native groups and within groups of wild soybean. Therefore, the mutation of soybean urease may occur in natural populations of wild soybean.

Key words Cultivated soybean; Wild soybean; Urease isozyme