

中国大豆(*G. max*)种子蛋白 SBTi-A₂ 电泳谱带新类型的遗传研究*

I Ti^h 型×Ti^x 型(新类型)F₂ 种子的遗传规律

赵述文 孟祥勋 顾其敏 曹凯鸣 王海 王颢

(吉林省农科院大豆所) (复旦大学生化系) (甘肃省农科院经作所)

摘 要

本文是对作者在1991年用PAGE技术检测甘肃省大豆(*G. max*)时发现的 SBTi-A₂ 电泳谱带新类型的遗传研究结果之一。对 Ti^h×Ti^xF₁ 单株上收获的 212 粒 F₂ 种子的电泳检测结果进行了卡方测验,符合孟德尔 1:2:1 基因分离规律。

关键词 大豆(*G. max*);胰蛋白酶抑制剂,电泳谱带新类型;遗传规律

我们检测研究的这种胰蛋白酶抑制剂是 Kunitz^[4]于 1945 年在大豆种子蛋白中得到结晶,并以其名命名为 Kunitz。胰蛋白酶抑制剂(SBTi-A₂)。后经 Singh^[6], Orf, Hymowitz^[5], Hymowitz^[3]等人对来自世界各地的数千份大豆品种资源进行电泳检测,生化研究和遗传分析,确定 SBTi-A₂ 受三个显性等位基因控制,它们的电泳谱带 Rf 值和氨基酸序列各不相同。分别命名为 Ti^h、Ti^h、Ti^r。

作者在 1991 年对甘肃省栽培大豆品种资源进行 SBTi-A₂ 基因型的电泳检测中,发现一份品种的 Rf 值不同于 Ti^h、Ti^h、Ti^r^[1],此后丁安林等的研究工作中也证实了该品种确实为一种新类型^[2]。本文报道了我们对这份新类型品种进行深入研究的部分遗传分析结果。

* 国家自然科学基金和吉林省科委应用基础研究资助项目。

胡明祥研究员对本文提了宝贵意见,谨致谢意。

本文于 1994 年 7 月 14 日收到。

This paper was received on July 14, 1994.

材料和方法

材料:以 Rf 值与新类型(Ti^h)最接近的 Ti^b 型为母本, Ti^h 为父本, 做杂交试验。

在我们的实验条件下, 各等位基因型的 Rf 值: Ti^h=0.87、Ti^b=0.85、Ti^a=0.82、Ti^x=0.79。

方法:在温室盆栽, 1991年11月15日播种, Ti^b型(♀)种4盆、每盆3株; Ti^h型种6盆, 每盆3株。11月22日出苗, 出苗后用200w白炽灯加长光照到14小时, 同时将6盆父本平均分为3组, 第一组用12小时光照处理, 第二组用13小时光照处理。第三组为14小时光照, 促使父母本花期相遇。1992年3月18日收杂交荚2个, 共得F₁种子3粒, 3月26日播种于温室, 7月5日成熟, 其中一株得F₂种子215粒, 用212粒进行电泳检测, 留3粒繁殖F₃种子。

电泳检测方法同前文^[1]。

结果与讨论

对杂交后代一个单株上的212粒F₂种子进行电泳检测, 胶板上 SBTi-A₂ 显带部位出现 Rf 值不同的两种单带和一组双带。

(一)F₂ 种子蛋白电泳带与父母本 SBTi-A₂ 电泳带 Rf 值对比。

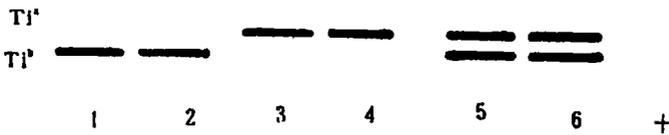


图1 Rf 值的测定

Fig. 1 Test of Rf

1: ♀ (Ti^b), 2: F₂ 种子快带 (F₂ fast-moving band), 3: ♂ (Ti^h), 4: F₂ 种子慢带 (F₂ slow-moving band), 5: 父母本样品混合点样 (sample of ♀ (Ti^b) plus ♂ (Ti^h)), 6: F₂ 种子双带样品 (F₂ bath bands)。

试验结果看出: F₂ 种子两种单带的 Rf 值分别与 Ti^b (♀) 和 Ti^h (♂) 一致, 双带也同样分别与 ♀ 和 ♂ Rf 位一致。

(二)F₂ 种子蛋白电泳样品加胰蛋白酶的反应

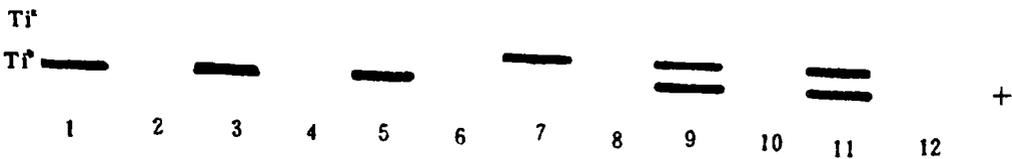


图2 加胰蛋白酶的反应

Fig. 2 Reaction of plus trypsin

1: Ti^b (♀), 2: Ti^b 加酶 (Ti^b plus trypsin) 3: F_2 快带 (F_2 fast-moving band), 4: F_2 快带加酶 (F_2 fast-moving band plus trypsin), 5: Ti^x (♂), 6: Ti^x 加酶 (Ti^x plus trypsin), 7: F_2 慢带 (F_2 slow-moving band), 8: F_2 慢带加酶 (F_2 slow-moving band plus trypsin), 9: ♂/♀混合点样 (samples of) Ti^b (♀) plus Ti^x (♂), 10: ♂/♀混合样加酶 (samples of ♂/♀ plus trypsin), 11: F_2 双带样品 (F_2 bath bands), 12: 双带样品加酶 (F_2 both bands plus trypsin).

F_2 种子蛋白中与父母本 Rf 一致的带, 加胰蛋白酶共同电泳, 这些带与父母本的带同时消失, 见图 2 中 2、4、6、8、10、12 的同一部位。

通过 Rf 值的一致性和加胰蛋白酶后带即消失的现象, 证明这三种带是父母本型等位基因控制下形成的 Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂的带

(三) $Ti^b \times Ti^x F_2$ 种子 SBTi-A₂ 三种带出现比例的分析

表 1 $Ti^b \times Ti^x F_2$ 种子 SBTi-A₂ 三种带分离比例的卡方测验

Table 1 χ^2 test of segregating proportion of Ti^b and the new type (Ti^x) in F_2 seeds

杂交组合 Cross	F ₂ 种子数 No. of F ₂ seeds		F ₂ 种子电泳谱带 Electrophoretic bands of F ₂ seeds				X ²	概率 Probability
			Rf0.82		Rf0.82/0.79			
			Rf0.82	Rf0.79	Ti^b	Ti^x		
$Ti^b \times Ti^x$	212	测定值 Observed	51	97	64	3.1227	0.25-0.10	
		理论值 Expected	53	106	53			

通过对 $Ti^b \times Ti^x$ 212 粒 F_2 种子电泳检测, SBTi-A₂ 分离出三种带, 这三种带的数值经卡方测验, 符合孟德尔 1:2:1 基因分离规律, 就此结果, 初步认为这个新类型品种是不同于 Ti^b 、 Ti^b 、 Ti^b 的一个新等位基因型。我们正通过与其它等位基因型的杂交试验, 进一步予以证明。

参考文献

- [1] 赵述文等, 1992, 大豆科学, 11(1)93-96
- [2] 丁安林等, 1994, 大豆科学, 13(1)72-76
- [3] Hymowitz T. and N. Kaizuma 1978, Soybean Genetics Newsletter 5: 19-24
- [4] Kunitz, 1945, Science, 101: 668-669
- [5] Orf, Hymowitz 1977, Crop Sci. 17: 811-813
- [6] Singh et al. 1969 Crop Sci. 9: 489-491

INHERITANCE OF NEW TYPE OF SBTi-A₂ IN SEED
PROTEIN OF SOYBEAN (*G. max*) IN CHINA *

1. Genetic rule of T^b X T^r(new type) F₂ seeds

Zhao Shuwen Meng Xiangxun

(*Soybean Institute, Jiling Acad. of Agri. Sci.*)

Gu Qimin Cao Kaiming

(*Department of Biochem., Fudan University*)

Wang Hai Wang Hao

(*Gansu Acad. of Agri. Sci.*)

Abstract

A soybean germplasm with a new type of SBTi-A₂ electrophoretic band was identified with PAGE in study of soybean (*G. max*) germplasms originated from Gansu province in China by the author in 1991. Part of the results of genetic studies performed on the new genotype was reported in this paper. 212 F₂ seeds harvested from T^b X T^r(new type) F₁ plant were analyzed with PAGE and the segregation pattern fits 1 : 2 : 1 ratio indicating that the character was controlled by a single major gene.

Key words Soybean(*G. max*); Trypsin inhibitor; New type; Genetic rule

* This project was supported by NNSF and Jilin provincial applying basic research projects of China.