

# 大豆酯酶同工酶的初步研究<sup>\*</sup>

虞京葳 夏文胜 黄伟英 汤志纯 禹帮超 梅星元

(华中师范学院生物系)

## 提 要

利用聚丙烯酰胺凝胶电泳对大豆酯酶同工酶分析的结果表明:大豆幼苗酯酶同工酶谱比较稳定,酶带明确,具有较为明显的种的专一性,可作为大豆分类和进化等研究工作的指标。对栽培大豆 *G. max* 和野生大豆 *G. soja* 的酯酶同工酶的分析结果与形态分类学的研究相互印证,较为一致。

## 前 言

在植物同工酶中,酯酶同工酶研究得较多,大量工作已经证实,它反映特定植物的遗传本质,故常被遗传学、育种学、系统学和分类学工作者作为系统发育信息的一个来源和分类学的证据。(1)(2)(9)(10)(12)

本试验对大豆属 (*Glycine*) 栽培大豆 (*G. max*) 6个样和野生大豆 (*G. soja*) 7个样,共13个样的酯酶同工酶,进行了聚丙烯酰胺凝胶电泳分析,目的在于探索大豆同工酶在大豆分类和进化等研究工作中的应用价值。

## 材 料 和 方 法

(1) 试验材料如表1。

(2) 酶液制备:将豆种用蒸馏水冲洗数次,室温下(20~25℃)清水浸种使之萌发(野生大豆需用刀片划破种皮)取萌发三天的幼苗,去子叶,每克鲜重加4毫升去离子水,冰水浴中研磨成匀浆,冰箱内3600转/分离心40分钟,取上清液待用。

(3) 电泳及染色:聚丙烯酰胺凝胶电泳采用中性pH不连续系统<sup>[4]</sup>,分离胶浓度为7.08%,pH 7.5,胶柱长8厘米;浓缩胶浓度为3.08%,pH 5.5,胶柱长1厘米,在核黄素—TEMED作用下光催化分步聚合。不用样品胶,按100微升/管直接将酶提取液

<sup>\*</sup> 本文写作过程中得到中国农业科学院油料作物研究所王国勋副研究员热情地指导和大力帮助,特致以衷心的感谢。

表 1 供实验的大豆样

种 名	样 名		采 集 地	叶 形	花 色	百粒重(g)
野生大豆 G. soja	1	UE—122	河南, 济源	披 针	白	4.23
	2	UE—427	河南, 汤阴	披 针	白	1.35
	3	UE—183	湖北, 枣阳	披 针	紫	1.54
	4	UE—189	湖北, 光化	披 针	紫	2.01
	5	UE—114	河南, 汤阳	披 针	紫	1.54
	6	UE—218	湖北, 郧县	披 针	紫	1.78
	7	UE—93	河南, 济源	橢 圆	紫	1.04
栽培大豆 G. max	8	81 E—333	湖北, 罗田	橢 圆	紫	6 左右
	9	81 E—337	湖北, 崇阳	橢 圆	紫	6 左右
	10	猴 子 毛	湖 北	橢圆或圆	紫	>14
	11	中豆四号	湖 北	橢圆或圆	紫	>14
	12	77—14	湖 北	橢圆或圆	紫	>14
	13	鄂豆二号	湖 北	橢圆或圆	紫	>14

注：所有供实验的大豆样均为中国农业科学院油料研究所提供，种的划分依据参考文献[3][11][8]，将半栽培种 8.9 划归栽培种。

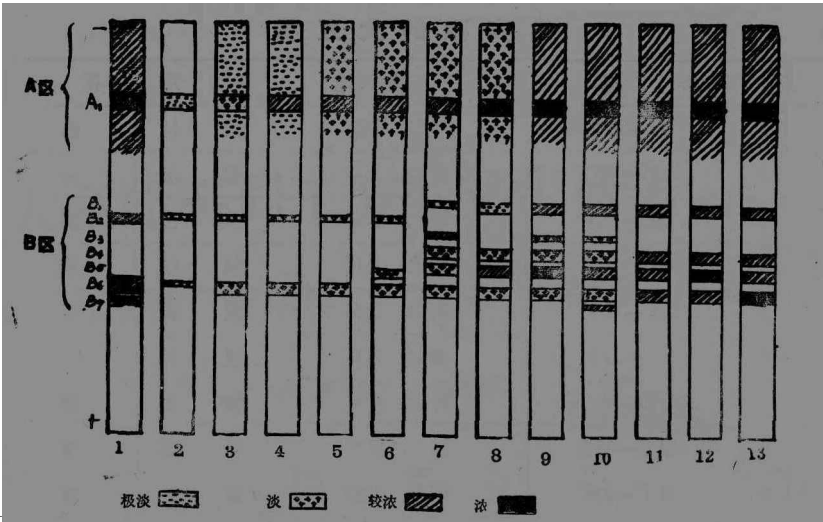
加在浓缩胶上端，每管加入 0.01% 溴酚兰指示剂 1 滴。电极缓冲液采用 tris—巴比妥系统，pH7.0，上端为负极下端为正极，电压 150~250V，电流 26~50 mA/12 管（DYY—Ⅲ 型电泳仪），15~20℃ 下电泳约 2 小时，待溴酚兰移至胶柱的阳极端停止电泳，小心拔出胶柱、置坚牢兰 RR 盐-醋酸- $\alpha$ -萘酯染液中 37℃ 保温 15~30 分钟，显出棕色酶带后，置甲醇—乙醇洗脱液中过夜，洗脱后可置 7% 醋酸中保存。[5]

## 实 验 结 果

大豆萌发三天幼苗（去子叶）酯酶同工酶谱共显示出 A、B 两个区域和 8 条酶带，（见图）

其中 A 区包含一条位置固定的酶带  $A_1$  和一个没有分出酶带的染色弥散区，而各大豆样酶带位置上的主要差异出现在 B 区（表 2）。

上述结果经 12 次重复，除去两次操作误差重显 9 次，说明酶谱比较稳定。此外酶带明确，基本一致，具有较为明显的种的专一性。从图 2 可见， $A_1$  和  $B_6$  两条酶带为 13 个大豆样所共有； $B_2$  在野生大豆（1~6）中出现，可能为野生大豆所特有； $B_1$   $B_4$   $B_5$  为栽培大豆（样 8~13）所共有，基本上表现出栽培大豆的特征；其他酶带以及各酶带的深浅差别则可能表现了同种不同样间的差异。所以我们认为，大豆幼苗酯酶同工酶谱可以作为大豆分类学的指标。



大豆幼苗同工酶谱

表 2 各大豆样显示的酶带

大豆样	弥散区	A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>6</sub>	B <sub>7</sub>
1 UE-122	+++	++++	—	+++	—	—	—	+++	+++
2 UE-427	—	+	—	+	—	—	—	+	—
3 UE-183	+	++	—	+	—	—	—	++	—
4 UE-189	+	+++	—	++	—	—	—	++	—
5 UE-114	++	+++	—	++	—	—	—	++	—
6 UE-218	++	+++	—	++	—	—	++	++	—
7 UE-93	++	+++	++	—	+++	++	++	++	—
8 81E-333	++	++++	+	—	—	++	+++	++	—
9 81E-337	+++	++++	+++	—	++	++	++++	++	—
10 猴子毛	+++	++++	+++	—	++	++	+++	++	+++
11 中豆四号	+++	++++	+++	—	—	+++	+++	+++	—
12 77-14	+++	++++	+++	—	—	+++	+++	+++	—
13 鄂豆二号	+++	++++	+++	—	—	+++	+++	++++	—

注: 缺乏: — 极淡: + 淡: ++ 较浓: +++ 浓: ++++

讨 论

一、关于大豆的分类\*, 国内外学者意见分歧一直很大, 至今尚没有一个统一的分类

\* 通常所说的大豆, 实际是指大豆属, 黄豆亚属 soja. [6]

标准。对我国的大豆分类目前主要有两种意见：一是认为可分为栽培大豆 (*G. max*)，半栽培或半野生大豆 (*G. gracilis*) 和野生大豆 (*G. soja*) 三个种。[6][7] 二是认为我国的大豆分为栽培大豆 (*G. max*) 和野生大豆 (*G. soja*) 两个种较为合适。持第二种意见的学者认为：大豆的野生种进化到栽培种是通过细小变异的定向积累而进行的。在半栽培大豆和栽培大豆之间，过渡类型极多，不但缺少种间特点的区别，而且两者之间的界限很难区划，同时均已为人类所栽培利用，故不宜分为两个种。[7][13][8]

我们得到的结果基本上与第二种分类意见相映证，从结果中可见：①栽培大豆和野生大豆既有共同的酶带，又有各自独特的酶带，说明两者确是亲缘关系很近的两个种。②我们选用的栽培大豆样 8、9 (表 1) 性状较为原始，曾被认为是典型的半栽培种，但其酯酶同工酶谱与典型的栽培种相当一致，仅深浅略有差异，并没有出现半栽培种的特有酶带 (图)。③野生大豆 UE-93 (样<sub>7</sub>) 的酶谱与栽培种十分相似，而失去野生大豆特有的 B<sub>2</sub> 带，从其性状看，它的叶形为椭圆，与栽培种相似而与其它野生种不同；另外 UE-122 (样<sub>1</sub>) 百粒重为 4.23 克，远大于其它野生种，其酶谱浓度亦远远超过其他野生种，并在阳极端增加了一条较浓的 B<sub>7</sub> 带，但带型却基本保持了野生种的特点，而不同于栽培种。这说明，它们可能是处于不同进化阶段的两个中间类型，似乎也可作为栽培大豆由野生大豆进化而来的佐证。④国内有的学者建议将开白花的野生大豆定为 *G. soja* 的一变种。我们得到两个白花野生大豆样的酯酶同工酶谱差异较大 (图，样 1, 2)。酶谱显色一个极浓 (样<sub>1</sub>)，一个极淡 (样<sub>2</sub>)。所以，该变种的特点似乎还需进一步研究。

二、野生大豆和栽培大豆种内各品种间的进化关系很少有人仔细研究。我们把 13 个大豆样按野生→栽培种的低级类型 (半栽培)→栽培种的顺序排列时，发现酶谱有规律的由浅到深。B 区酶带由少到多。这说明，酯酶同工酶谱有可能作为研究大豆进化关系的一个有用指标。

三、酶谱 A 区染色后出现一个没有分出酶带的染色弥散区，其产生原因不详，需进一步探索。

综上所述，大豆幼苗酯酶同工酶谱重复性较好，比较稳定，酶带明确，有较为明显的种的专一性，可以作为大豆分类学的指标。对大豆酯酶同工酶更深入的研究可能会为大豆的进化、分类以及大豆品种资源的利用，提供较多的证据。

## 参 考 文 献

- [1] 胡志昂：植物分类学报，19：291~295 (1981)
- [2] 李继耕等：遗传学报，7 (3)：223 (1980)
- [3] 中国科学院北京植物研究所：中国高等植物图鑑 (第二册)，科学出版社，492~493 (1972)
- [4] 薛克强等：聚丙烯酰胺凝胶电泳，科学出版社，P 31~34，(1975)
- [5] 詹重慈等：华中师范学院学报 (自然科学版)，3：3，(1979)
- [6] 吉林农业科学院：大豆育种和良种繁育，农业出版社，(1976)
- [7] 吉林农业科学院：中国大豆育种与栽培 (讨论稿)，204~205，(1980)
- [8] 王金陵：中国农业科学，1：11~13，(1962)
- [9] Buttery B. R. and R. I. Buzzel: Crop Sci 8: 722~725 (1968)
- [10] Gorman R. B. and y. T. Kiany: Crop Sci 17: 963~965 (1977)
- [11] T. Hymowitz and Christine A. Newell: 中国油料，3：66~67 (孙大容译) (1981)

- [12] 史富斯 P. M.: 植物化学分类学 (中译本) 科学出版社, 142~167, (1980)。  
[13] 福井重郎: 油料作物科技, 1—2: 82~84, (王国勋译) (1978)

**A PRELIMINARY STUDY ON ISOENZYMES OF LIPASE OF  
SOYBEANS (*G. max* and *G. soja*)**

Yu Jingwai Xia Wensheng Huang Weiyang

Tang zhichun Yu Bangchao Mei Xingyuan

(*Department of Biology, Chinese Central Teacher's Training College*)

**Abstract**

The results we obtained, by analysing the isoenzymes of lipase of soybeans with the application of polyacrylamid disc gel electrophoresis, prove that electrophoretograms of the isoenzymes of lipase of the soybean seedlings, are with better stability and definite bands and with obvious specificity of species as well. This can be used as the indexes for researches on classification and evolution of soybeans.