

大豆 (*G. max*) 种子蛋白 SBTi 位点新类型的发现及甘肃省大豆 SBTi 位点各等位基因频率的研究*

赵述文

王海

(吉林省农业科学院大豆所)

(甘肃省农业科学院经作所)

摘 要

1991年,用PAGE技术检测了甘肃省243份大豆(*G. max*)品种种子蛋白中SBTi位点的等位基因型。检测结果:Ti^a型品种22份,占品种总数的90.9%,Ti^b21份,占8.6%,未发现Ti^c及ti型。发现一份材料的电泳图谱在与标样上Ti^a、Ti^b、Ti^c对应位置上没有谱带,而在Ti^b位置紧上方,有一条新谱带(Rf=0.79, Ti^b=0.82)。经加胰蛋白酶等措施多次验证,初步认为这很可能是在Ti位点上的一个新的等位基因控制下形成的蛋白谱带。

关键词 栽培大豆(*G. max*);胰蛋白酶抑制剂(SBTi);等位基因

Kunitz型胰蛋白酶抑制剂(SBTi),是由Kunitz^[4]于1945年在大豆种子蛋白中发现的,并以其命名。此后Singh(1969)^[5]、Hymowitz^[6]、Hadly、Kaizuma、Orf等人(1973~1981)用生物化学、遗传学方法检测了大量品种,确定这种蛋白是由Ti^a、Ti^b、Ti^c的三个互为显性的等位基因控制的。

由于大豆为严格的自交植物,SBTi位点各等位基因控制下产生的相应的蛋白质,具有稳定的遗传性,因此Hymowitz等人^[7](1981)根据对亚洲十五个国家和地区大豆品种SBTi各等位基因的频率,提出了大豆从中国向其它国家传播的假说;徐豹等人^[1](1985)根据中国不同纬度野生大豆(*G. soja*)SBTi各等位基因频率,探索了栽培大豆在中国的起源地问题;王衍桐等人^[2](1986)根据对我国各省1858份大豆品种SBTi各等位基因频率,

* 徐豹研究员对本文提了宝贵意见,谨致谢意。

本文于1991年12月15日收到。

This paper was received on Dec. 15, 1991.

探讨了我国大豆向周围邻国传播的途径。

甘肃省位于黄河上游,是古丝绸之路重要而漫长的一段,自然地理环境复杂多变,对该省大豆种质资源进行种子蛋白的分析研究,具有重要意义。

材料和方法

材料:供试的 243 份品种及品种主要形态、生物学性状资料,由甘肃省农科院经作所提供。

方法:用胡志昂^[3]改进的 10%聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳(PAGE),用 Sigma 公司从大豆中提取的胰蛋白酶抑制剂标样(内含 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c)以及已知的 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c 型品种共同进行电泳,对比定位确定基因型,用上海东风生化试剂厂产的胰蛋白酶进行复合物反应检测。

结 果

一、Ti 等位基因型及其频率

表 1 甘肃省大豆(*G. max*)种子蛋白 Ti 位点等位基因型及其频率

Table 1 Ti locus genotype and frequency of soybean cultivars from Gansu province

检测总数 Determined total	Ti^a		Ti^b		Ti^c	ti	新类型 New type	
	份数 Number	%	份数 Number	%	份数 Number	份数 Number	份数 Number	%
243	221	90.9	21	8.7	0	0	1	0.4

二、Ti 等位基因位点新电泳谱带的发现

1991 年 10 月初发现一份材料种子蛋白的 Ti 电泳图谱无 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c 谱带,而在标样 Ti^b 相对应位置的紧上方出现一条新的谱带。此后每次用两粒种子分别制样,经 10 次重复测定,结果完全一致。

谱带迁移率(Rf值)测定结果,在我们实验室条件下: $Ti^c = 0.87$, $Ti^a = 0.85$, $Ti^b = 0.82$,新谱带 = 0.79。新谱带与其它等位基因的 Rf 值有明显差异。

讨 论

一、Ti 位点的新谱带,根据我们分析,初步认为这是 Ti 位点的一个新等位基因控制下的产物,根据如下:

(1)与标样和已知的三个基因型品种对比,肯定不是 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c 型。

(2)新类型材料的电泳样品加胰蛋白酶混合点样,则谱带消失,而在胶板上方(负极方向)出现胰蛋白酶抑制剂—胰蛋白酶复合物谱带,这与用 Sigma 公司标样加胰蛋白酶混合点样的电泳结果一致。

(3)根据我们大量检测工作的经验,这一谱带出现位置并无其它蛋白带(见电泳照片)。

我们正准备对这条谱带的蛋白质做分子量、氨基酸组分及其序列的分析,进行进一步研究。

二、甘肃省栽培大豆地方品种 243 份 SBTi 分析中, Ti^b 频率高达 8.7%, 且出现国内外未见报道的新类型。作者曾对我国十八个省、自治区的 11081 份栽培大豆品种检测过 Ti 等位基因频率, Ti^b 的频率一般在 1% 以下, 只有贵州省品种 Ti^b 占 3.19%, 而甘肃省的高达 8.7%, 与甘肃省相临近的陕西、内蒙、新疆、四川等地大豆品种中均未发现 Ti^b 型, 只有宁夏回族自治区有一份 Ti^b 型, 占该区品种总数的 0.88%。甘肃似乎是一个独立的大豆种质资源地。看来探讨大豆起源地、传播途径等问题, 需要结合多种性状, 综合分析。

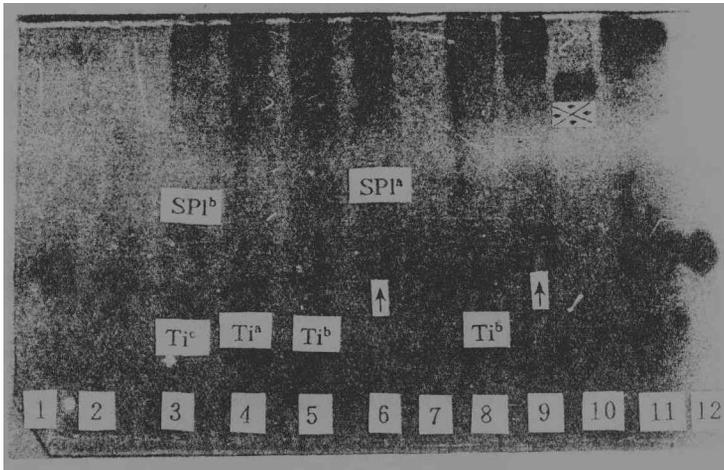


图1 甘肃栽培大豆 (*G. max*) SBTi, Spl 聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱(1991. 10. 20)

Fig. 1 SBTi and Spl of soybean (*G. max*) from Gansu Province

图: 1、2、7、12 为 Ti 标样, 3 为 Ti^c 型材料, 4 为 Ti^a 型材料, 5、8 为 Ti^b 型材料, 6、9(个)为新类型材料, 10 为新类型材料加胰蛋白酶, * 上方谱带为胰蛋白酶抑制剂—胰蛋白酶复合物, 11 为 Ti^c 、 Ti^b 、 Ti^f 及新类型混合点样。

Fig. : 1, 2, 7, 12—Standard, 3— Ti^c , 4— Ti^a , 5, 8— Ti^b , 6, 9(个)—new type, 10—new type+trypsin, 11— Ti^c , Ti^b , Ti^f type+new type.

参 考 文 献

- [1] 徐豹等,1985,大豆科学 4(1): 7-12
[2] 王衍桐等,1986,作物学报 12(1): 32~36
[3] 胡志昂等,1983,植物学报 25(6): 532~536
[4] Kunitz, 1945, Science 101: 668~669
[5] Singh et. al, 1969, Crop Sci 9: 489~491
[6] Orf. Hymowitz 1978, J. Am. Oil Chem. Soc 56: 722~726
[7] Hymowitz et. al. 1981, Econ. Bot. 35(1) 10~23

DISCOVERY OF A NEW ALLEL OF SBTi FROM
GANSU PROVINCE, CHINA

Zhao Shuwen

(Soybean Institute, Jilin Acad. of Agri. Sci.)

Wang Hai

(Gansu Acad. of Agri. Sci.)

Abstract

The frequency of alleles of SBTi of local soybean races from Gansu Province were detected. Ti^b frequency was 8.6%, much higher than that of other local races in China. From one sample, a new band was presented in the zymogram profile. Its $Rf=0.79$, smaller than that of Ti^b ($Rf=0.82$). Trypsin adding-test supported that this new band was belonged to SBTi.

Key words Land race of soybean (*G. max*); Trypsin inhibitor (SBTi); Allele