

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。

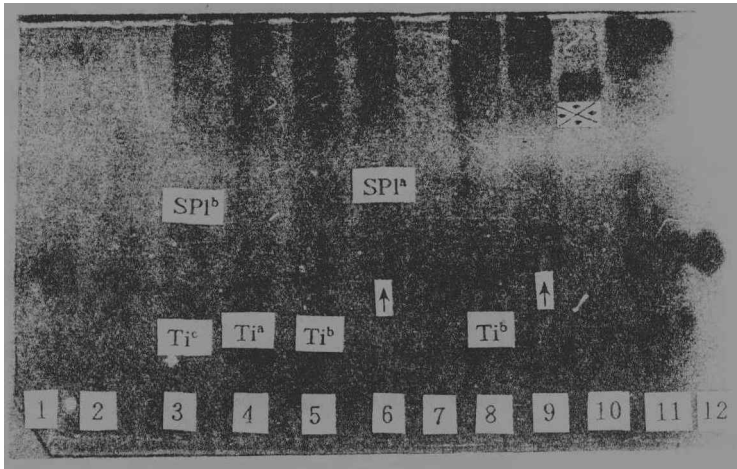


图1 甘肃栽培大豆(*G. max*) SBTi,Spl 聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱(1991. 10. 20)

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^a、Ti^b、Ti^c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^a、Ti^b、Ti^c 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 SBT_i 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 SBT_i 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 R_f=0.79, smaller than that of Ti^b (R_f=0.82). Trypsin adding—test supported that this new band was belonged to SBT_i.

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