

中国大豆种子蛋白中 SBTI 等位基因频率及分布*

刘兴媛 林国庆 李中平 胡传璞 赵述文 高吉寅

(中国农科院油料作物所) (南京农业大学中心实验室) (吉林省农科院大豆所) (中国农科院品质研究所)

摘 要

本文对我国大豆种质资源 1.9 万份进行了 SBTI 等位基因电泳分析,找出 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c 三种基因型的频率及分布规律,结果全部具有 Ti^a 型,北方省品种中较多出现 Ti^b ,南方品种中发现 Ti^c 型, $Ti^a \cdot Ti^b \cdot Ti^c$ 三者频率比例为 100:1.3:0.2,未发现不含胰蛋白酶抑制剂的 ti 型材料,栽培豆 Ti 类型单一,野生豆 Ti 类型变异较大。

关键词 大豆种质资源 胰蛋白酶抑制剂 电泳分析

20 世纪 40 年代人们发现了植物中含有酶抑制剂,并从大豆中提纯分离出大豆胰蛋白酶抑制剂 SBTI 以来,进行了大量的研究,动物试验结果,喂了生大豆粉没能明显抑制蛋白酶水解,使蛋白质消化作用受阻。在营养生理学方面表现为能引起胰腺肥大,促使胰腺机能亢进,破坏蛋氨酸与胱氨酸的平衡,造成必需氨基酸的内源性损失,抑制动物生长^[1]。研究发现大豆中至少有 4 种胰蛋白酶抑制剂,其中最主要的是 KSBTI—A₂^[6]。Singh 氏等观察到 SBTI—A₂ 具有电泳变异类型。Hymowitz 等人论证了大豆种子蛋白的提取物经电泳出现 R_i 值分别为 0.79, 0.75, 0.83 三个互为显性的等位基因 Ti^a 、 Ti^b 、 Ti^c ,其活性以 Ti^b 最低^[2,8],同时还存在一种隐性不含胰蛋白酶抑制剂的基因 ti 。在应用价值上最有意义。70 年代美国农业部收集了大豆种质资源 4000 份进行了 Ti 分析^[7]。1978 年在资源中发现了两份不含 SBTI 的材料。80 年代以后,我国也开始了这项研究^[3,4],获得了部分研究结果。本研究目的在于第一,对中国丰富的大豆种质资源进行 Ti 鉴定以寻找不含 SBTI 的 ti 基因型材料;第二,明确我国大豆种质资源所含 Ti 基因类型;第三,了解不同 Ti 基因型的频率及分布规律,为大豆遗传育种及起源传播等项研究提供科学依据。

材料与方 法

材料:鉴定用品种分别由 24 个省市自治区大豆品种资源单位新近繁种提供的,其中栽培大豆 14 067 份,野生大豆 5049 份。

鉴定方法:按 Hymowitz(1972)等人的方法配制样品提取液,栽培豆取半粒种子,野生豆取 2~4 粒种子制样,参照胡志昂(1983)改进的方法^[5],用 7~10%聚丙烯酰胺凝胶平板垂直电泳。美国 Sigma 公司产 Ti 样作标准定位。

* 向提供种子的 24 个省省农科院致谢。参加分析的还有张科科、甘冬生同志。

结果分析

一、我国大豆品种的 SBTI 类型

表1 全国大豆种质资源 Ti 类型及频率

类别	鉴定品种数	各 Ti 基因型品种数			出现频率(%)			双带类型品种数
		Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	
栽培豆	14067	14025	38		99.7	0.3		4
野生豆	5049	4748	17	35	94.0	4.3	0.7	49
总计	19116	18773	255	35	98.2	1.3	0.2	53

表中数据表明,中国大豆种子蛋白中均含有胰蛋白酶抑制剂 SBTI。电泳分析结果在 1.9 万余份品种中,其 Ti 基因型以 R_i0.79 的 Ti^a 为主,总出现频率达 98.2%,R_i 值 0.75 的 Ti^b 基因型总频率为 1.3%,仅有 35

份品种是 R_i 值 0.83 的 Ti^c 基因型,另外有 53 份材料出现双带型(Ti^a+Ti^b;Ti^a+Ti^c)。Ti 类型间出现频率比例为 100:1.3:0.2。栽培豆与野生豆之间表现了明显的差异,在栽培豆中,Ti^a 型占绝对优势,只有 0.3% 的品种是 Ti^b 型,类型单一变异很小。而野生豆中虽然仍以 Ti^a 类型为主,但 Ti^b、Ti^c 出现频率明显高于栽培豆品种,看出野生豆由于进化程度低,品种特性变异大且不稳定的特点。

在供测 19 116 份品种中,均未发现不含胰蛋白酶抑制剂的 ti 基因型。

二、各省大豆品种中 Ti 基因类型及频率

1. 栽培豆品种

24 个省市自治区栽培豆品种中,有 17 个省品种全部为 Ti^a 型,它们是北京、河北、内蒙、宁夏、新疆、山西、陕西、湖北、湖南、江西、上海、浙江、四川、贵州、西藏、广东和广西,表现 Ti 类型单一。另外在江苏、安徽、山东、河南、云南和福建六省品种中 Ti^a 型占 99.4%~99.8%,Ti^b 型占 0.2%~0.5%。Ti^c 型亦占绝对优势,类型变异不大。仅有甘肃省品种中出现较多的 Ti^b 类型,其频率高达 10%。在江苏、安徽两省品种中发现了 4 份 Ti^a 与 Ti^b、Ti^a 与 Ti^c 同时存在的双带型。

2. 野生豆品种

表 3 列出 22 个省野生豆品种,Ti 类型变异较大,其中北京、宁夏、甘肃、江苏、四川、西藏、云南和广东八省品种 Ti 基因型为 100%,其余 14 个省品种出现 Ti^b 型,其频率从 1.6%~11.3%,以

表2 各省栽培豆品种 Ti 类型及频率

省别	鉴定品种数	各 Ti 类型品种数			出现频率(%)			备注
		Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	
北京	350	650			100			中国农科院供种
内蒙	190	190			100			
河北	749	749			100			
宁夏	99	99			100			
甘肃	250	225	25		90.0	10.0		
新疆	20	20			100			
山西	1927	1927			100			
山东	769	765	4		99.5	0.5		
河南	526	525	1		99.8	0.2		
陕西	950	950			100			
江苏	1298	1292	4		99.5	0.3	二份双带型	
安徽	676	672	2		99.4	0.3	二份双带型	
上海	41	41			100			
湖北	1223	1223			100			
四川	870	870			100			
浙江	610	610			100			
福建	240	239	1		99.6	0.4		
江西	329	329			100			
湖南	337	337			100			
贵州	1318	1318			100			
云南	300	299	1		99.7	0.3		
广西	453	453			100			
广东	231	231			100			
西藏	11	11			100			

表3 各省野生豆品种 Ti 类型及频率

省别	鉴定		各 Ti 类型品种数				出现频率(%)			
	品种数		Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	双带	Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	双带
黑龙江	739	727	12				98.4	1.6		
吉林	878	778	99	1			88.6	11.3	0.1	
辽宁	1100	1099	1				99.9	0.1		
北京	5	5					100			
河北	43	34	3			6	79.1	7.0		13.9
宁夏	24	24					100			
山西	422	372	28			22	88.2	6.6		5.2
山东	70	59	6			5	84.3	8.6		7.1
甘肃	90	90					100			
河南	298	289	6	3			97.0	2.0	1.0	
陕西	400	360	37			3	90.0	9.2		0.8
江苏	110	108		2			98.2	1.8		
安徽	117	110	7				94.0	6.0		
四川	35	35					100			
湖北	70	69	1				98.6	1.4		
浙江	142	138	3	1			97.2	2.1	0.7	
西藏	8	8					100			
湖南	54	52	2				96.3	3.7		
贵州	57	40	5			12	70.2	8.8		21.0
福建	370	335	7	28			90.5	1.9	7.6	
云南	2	2					100			
广东	15	14				1	93.3			6.7

吉林省最高,其次是陕西、贵州、山东、河北和山西六省频率均在6%以上。另外在福建、江苏、河南、浙江和吉林五省品种中存在 Ti^c 基因型,以福建品种频率最高。在野生豆中有六省品种出现 Ti^a 与 Ti^b 同时存在的双带型。

总起来看,我国大豆品种子粒蛋白的 SBTI 类型以 Ti^a 型分布频率最高,占各省品种总数的90%以上。有七个省栽培豆及十四个省野生豆品种中有 Ti^b 基因型存在,其中尤以甘肃(栽培豆)、吉林、陕西、贵州、山东和山西(野生豆)出现频率较高。在福建、河南、江苏、浙江和吉林五省野生豆中出现 Ti^c 类型。从各省频率分布亦可看出栽培豆与野生豆的 Ti 类型差异,栽培豆主要是 Ti^a 型,频率均在99%以上,而野生豆的 Ti^a 频率从70%~100%,还有1.6%~11.3%的品种为 Ti^b 型,0.1%~7.6%的品种有 Ti^c 型。

三、我国大豆品种子粒蛋白的 Ti 基因型地理分布

一定的自然环境条件如光、温、水等及人类耕作栽培习惯,形成一定的作物生态地理区域,在同一区域内作物具有相近的生育与品质特性,已经证明大豆的主要品质脂肪、蛋白质含量就具有明显的地理分布规律。为了观察 Ti 基因型的地理分布特性,我们对新鉴定的19 116份品种材料按“中国大豆育种与栽培”划分的五大栽培区域进行归类分析,得到各 Ti 基因型出现频率的差异。

表4 不同栽培区内大豆品种类型及频率

分 区	类 别	鉴 定 品种数	Ti 类型品种数			出现频率(%)		
			Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c	Ti ^a	Ti ^b	Ti ^c
1. 北方春大豆区	栽培	1708	1708			100		
	野生	2789	2667	115	1	95.9	4.1	0.04
2. 黄淮海流域夏大豆区	栽培	4422	4392	30		99.3	0.7	
	野生	1280	1180	80	3	92.2	6.2	0.2
3. 长江流域春夏大豆区	栽培	5050	5043	5		99.9	0.1	
	野生	274	254	6		92.7	2.2	
4. 东南春夏秋大豆区	栽培	1516	1515	1		99.9	0.1	
	野生	566	525	12	29	92.8	2.1	5.1
5. 华南四季大豆区	栽培	684	684			100		
	野生	15	14			93.3		

从上表 Ti 类型出现频率看, Ti^a 型在栽培豆中,五大区之间差异极小,频率均在99%以上,在野生豆中, Ti^a 在第2,3,4区出现频率也很相近,仅第1区频率较低,说明 Ti^a 型没有

规律性分布。

Ti^b型在栽培豆中,黄淮海流域夏大豆区出现频率较高(0.7%),在野生豆中,第1,2两区出现频率较高;第3,4两区频率相近;第5区没有发现,看出Ti^b型多分布在我国长江以北各省品种中,其中以黄淮海流域分布较多。

Ti^c型在栽培豆中没有发现,在野生豆中第1,2,4三个区中出现,主要分布在东南春夏秋大豆区,尤以福建省最多。

以下分析Ti类型与海拔高度的关系,选取南方七省野生豆品种,分析数据列下表:

表5 Ti^a类型与海拔高度的关系

项 目	江苏	浙江	安徽	福建	湖南	四川	贵州
Ti ^a 频率(%)	98.2	97.2	94.0	90.5	96.3	100	70.2
平均海拔高度(m)	9.2	75.9	98.6	329.0	328.0	618.0	747.0

以Ti^a基因型为例,其出现频率

与海拔高度之间作相关性测定, $r=0.6085$,经t检验未达到显著水平,说明Ti^a型频率高低与海拔高度没有明显的负相关关系,其他两种类型更看不出有相关性存在。

四、Ti电泳类型的单粒分析

野生豆品种的Ti类型较复杂,由于种子较小,电泳分析时只能取多粒种子混合样,为了解单粒样与混合样间Ti类型是否一致,同时探讨双带型存在的现象,我们作了单粒分析比较,在同一品种中随机取样10粒,得到以下结果。

表6 同一品种(野生豆)单粒种子Ti类型

品种编号 (ZYD)	混 合 样	单 粒 序 号									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3101(山西)	b	b	b	b	b	a	b	b	b	b	b
4368(湖北)	a	a	a	a	b	a	a	a			
4790(贵州)	ab	a	a	a	ab	ab	a	a	b	a	a

表6结果看出,野生豆品种在单粒间Ti

类型存在差异,如山西³¹⁰¹品种,10粒中有1粒为Ti^a,9粒Ti^b;湖北⁴³⁶⁸品种,6粒为Ti^a,1粒为Ti^b;贵州⁴⁷⁹⁰品种10粒中有7粒Ti^a,1粒Ti^b,还有两粒为Ti^a+Ti^b双带型。其变异较明显,而同样在栽培豆和半

野生豆中,单粒样与混合样的Ti类型完全一致,没有Ti类型分离现象,说明野生豆由于进化程度低,Ti类型分离现象明显,可以认为大豆的进化程度影响到Ti类型的稳定性,说明Ti类型与遗传有密切关系。据美国Singh氏对电泳带进行遗传分析时发现,用具有两种电泳带的品种进行杂交,其F₁代种子除具有亲本的Ti类型外,还同时出现双带型,说明双带型是遗传变异而来,因此可以用Ti类型鉴定大豆品种的种纯度。

结 论

一、七、五期间入国家种质库的全国大豆品种资源19116份的种子蛋白SBTI电泳分析结果没有发现不含胰蛋白酶抑制剂的ti类型材料,与赵述文等分析的东北品种2277份一起,共2.1万余份品种均无此类型存在,说明此隐性等位基因型的大豆品种极为少见。发现了Ti^a、Ti^b、Ti^c三种显性基因型,以Ti^a出现频率最高,三种类型出现频率比例为100:1.3:0.2。

二、栽培豆与野生豆在很多性状上都存在差别,表现Ti类型上,栽培豆主要是Ti^a型,而Ti^b、Ti^c两类型主要出现在野生豆品种中。

三、基因型的分布特点是Ti^a分布广泛,Ti^b主要分布在北方省区,尤以 (下转第63页)

参 考 文 献

- [1]许振英编译,《气温与畜舍营养》,北京地区畜牧与饲料情报网出版,1983年10月,1~79页。
 [2]黄昌澍编著,《家畜气候学》,江苏科技出版社,1990年。
 [3]东北农学院主编,《家畜环境卫生学》,农业出版社,1981年,4月。
 [4]E·A亨利(美)著,《环境科学测试设备和测量》,机械工业出版社,1986年。
 [5]北京农业工程大学主编,《农业生物环境工程》,农建专业教材,农业生物环境工程教研室出版,1991年10月。
 [6]顾培实编译,《家畜环境测试技术》,东北农学院卫生教研室出版,1985年5月。
 [7]张岫云主编,《农业建筑设计讲义》,同济大学,北京农业工程大学水利与建筑工程系出版,1981年11月。

EFFECT OF TEMPERATURE AND HUMIDITY ON BODY WEIGHT AND WOOL YIELD IN GROWING EWES

Wang Zhenhai Jin Jie Li Chaofeng

(Branch of Anim Sci. Jilin Acad. of Agri. sci.)

Yu Xuefeng Ma Xinyi Wu Changsuo

(Chaganhua Breeding Farm, Qianguo, Jilin)

ABSTRACT

The effect of the temperature improvement of animal houses covered with crop residues and plastic on body weight gain and wool yield of ewes was investigated during the coldest season (December and January). The internal temperatures were increased by 45.74 percent and 71.16 percent with the two coverings respectively. Body weight and wool yield increased 18.52, 10.59 percent respectively. The difference was significant ($P < 0.01$).

Key words: Temperature, Humidity Body weight, Wool yield

(上接第9页)

黄淮海夏大豆区频率最高, Ti^o除吉林省发现1份外,其余均在南方省出现,特别是福建品种频率最高。

四、单粒分析证明,二种类型同时存在的双带型是遗传变异结果,与种子样品纯度有关,特别是野生豆资源存在杂合体,故可用 Ti 分析鉴定种子的纯度。

参 考 文 献

- [1]S. k. 阿罗拉主编,《豆类的化学和生物化学》,科学出版社,1987年。
 [2]常汝镇,大豆胰蛋白酶抑制剂电泳类型与遗传及其在大豆传播和资源研究中的意义,《国外农业科技》,1983,12。
 [3]王衍桐等,从种子蛋白电泳分析看我国大豆品种 Ti 和 SPI 位点等位基因的分布,《作物学报》,1986,1。
 [4]赵述文等,东北三省栽培大豆种子中 Ti 和 SPI 位点基因频率及分布,《大豆科学》,1991,1。
 [5]胡志昂等,检测大豆种子蛋白 SPI, Ti 两基因位点各等位酶方法的改进,《植物学报》,1983,6。
 [6]Singh et al, Genetic differences in soybean trypsin inhibitors separated by disc-electrophoresis. 1969, Crop Sci. 9. No2 489~491.
 [7]Hymowitz electrophoretic analysis of SBTI-A₂ in the USDA soybean germplasm collection. 1973, Crop Sci. 13 No4. 420~421.
 [8]Orf. J. H. et al, Genetics of the Kunitz trypsin inhibitor, An antinutritional factor in soybean. 1979 T. A. O. C. S. No. 8 722~726.