

种子发育过程中野生大豆(*G. soja*)^{*}

种子蛋白组分代谢研究初报^{*}

庄炳昌 路琴华 徐 豹

(吉林省农业科学院大豆研究所)

摘 要

利用SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳,对开花后12到28天野生大豆种子贮藏蛋白进行了分析,结果表明: 1. 在发育过程中,野生大豆种子贮藏蛋白的性质发生了变化,初期以小分子量蛋白为主,随着种子的发育,大分子的贮藏蛋白逐渐增加。2. 各种组分的合成起始时间不同,7S组分的 α' 、 α 亚基在开花后14天开始合成,18天达到合成盛期;7S组分的 β 亚基和11S组分的酸性、碱性亚基在开花后20天左右合成,28天达到合成盛期。3. α' 、 α 亚基在发育过程中的代谢速率不同。

栽培大豆(*G. max*)种子蛋白质含量为40%左右,是人类植物蛋白的主要来源之一。前人的研究表明,大豆(包括野生大豆)种子贮藏蛋白主要由11S的大豆球蛋白和7S的付大豆球蛋白组成,大豆球蛋白又由酸性和碱性两类亚基构成,付大豆球蛋白由 α' 、 α 和 β 三种亚基组成。为了深入研究大豆种子贮藏蛋白,有些学者进行了代谢研究。Kondo等(1954)研究结果表明大豆种子蛋白的积累时间和速率不同。Hill等(1974b)认为不同蛋白组分的积累时间不同,2.2S蛋白的积累早于7S和11S的,7S和11S组分的积累时间相似。Gayler等(1981)则认为付大豆球蛋白的 α' 、 α 亚基大约在开花后15—17天开始积累, β 亚基要晚5—7天。Meinkle等(1981)的结果指出 α 、 α' 亚基在种子长约8mm时开始积累,而 β 亚基则在 α 、 α' 亚基开始合成后1—2周内开始合成。但是,有关野生大豆种子蛋白组分在发育过程中的代谢研究资料尚少。

我国野生大豆资源丰富,其种子蛋白含量一般为45—50%,明显高于栽培大豆,有的高达55%^[1],为宝贵的蛋白种质资源,近年来已开始应用于大豆的品质改良。本研究的目的旨在探索野生大豆种子贮藏蛋白的代谢规律,为野生大豆的研究和利用提供参考。

材料与方 法

供试材料为吉林野生大豆(45°N),采用瓷花盆单株种植,花盆直径16cm。播种前划破种皮,以利于萌发,当植株开始蔓化时,用竹杆和铁丝搭架用以支撑植株。调查每朵花的开放时间,并单花进行标记。于开花后12到28天,每隔一天取样进行种子蛋白组分分析。

大豆子叶蛋白的提取采用Hill等人(1974a)的方法,取发育中的野生大豆种子,剥掉种皮和胚,加适量的磷酸缓冲液(65mM磷酸,0.4MNaCl,0.01M β -巯基乙醇,pH7.6)研磨,研磨后匀浆离心(15000rpm)7分钟,吸取中间清液,再离心3分钟,吸取中间清液。蛋白质含量的测定采用Folin—酚试剂显色法。

^{*}国家自然科学基金资助课题

SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳采用Sun等(1975)的方法,分离胶浓度12%,浓缩胶浓度5%。50伏稳压电泳20小时左右。0.5%考马氏亮兰R250染色。

凝胶版扫描采用日本岛津CS-930双波长薄层色谱扫描仪,各种组分的相对含量由仪器微处理机自动打印输出。

结果与讨论

(一) 野生大豆种子贮藏蛋白在发育过程中其性质有所变化

由于开花后12天的种子,电泳后没有谱带出现,因此只对开花后14到28天的种子的电泳图谱进行了扫描分析(见图1)。结果看到,开花后14—16天,种子蛋白谱带电泳后大部分集中在胶版的前沿,即在种子发育的初期,以小分子量的蛋白质为主,随着种子的发育,大分子的贮藏蛋白逐渐增加。

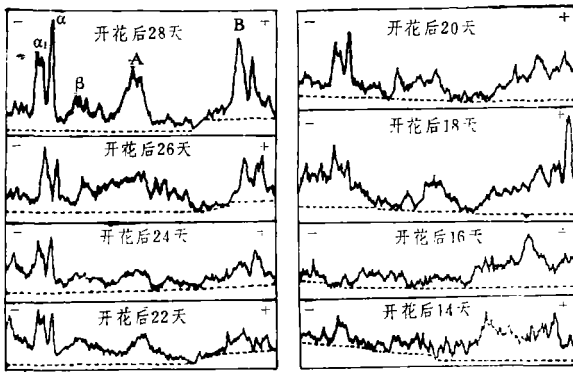


图1 野生大豆种子贮藏蛋白组分在发育过程中电泳扫描图

由于7S付大豆球蛋白的 β 亚基和11S大豆球蛋白的酸性、碱性亚基的界限不够明显,只对 α' 、 α 亚基在不同发育时期的相对含量进行了分析。总的趋势是,随着种子的发育, α' 、 α 亚基的相对含量增加,两种亚基的相对含量与开花到取样天数呈显著的正相关,相

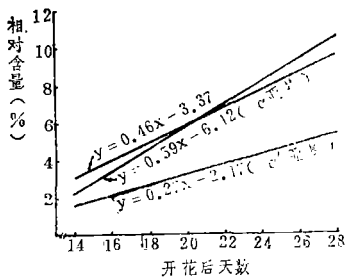


图2 种子发育过程中 α 、 α' 亚基及 α' 上面一条谱带的相对含量与开花到取样天数的直线回归图

关系数分别为0.63和0.83。回归分析表明,种子发育天数每增加一天, α' 、 α 亚基的相对含量分别增加0.27和0.59,看到两种亚基的积累速率不同(见图2)。

α' 亚基上面的一条谱带,有人认为其分子量与脲酶分子量相近,认为是脲酶(Beacly等1981;胡志昂等,1986),而Kitamura等(1981)归之为脂肪加氧酶。这种蛋白的积累比较早,与 α' 、 α 亚基相近,而且随着种子的发育变得愈加明显,其相对含量随着种子的发育而逐渐增加。相对含量与开花到取样天数的相关系数为0.87。

(二) 各种组分合成的起始时间不同

开花后14—16天, α' 、 α 亚基开始合成,但含量很低,开花后18天谱带变的明显,以后进入积累盛期。开花后20天 β 亚基开始合成,开花后28天进入盛期。11S组分的酸性、碱性亚基在开花后18天合成开始,28天谱带明显,进入积累盛期。

(三) 野生大豆种子贮藏蛋白各种组分在种子发育过程中的代谢速率不同

上述结果看到,野生大豆种子在发育过程中不仅形态上发生了巨大的变化,生理生化上也发生剧烈的变化,这与栽培大豆的研究结果⁽⁶⁾是一致的。同时也看到,野生大豆与栽培大豆种子贮藏蛋白的积累时间也相近, Hill⁽⁶⁾和Gayler⁽⁴⁾的研究认为栽培大豆种子蛋白的积累大约在开花后15—17天;而本研究结果表明,野生大豆大约在开花后14天,这均反映了野生大豆与栽培大豆种子蛋白在代谢上的一致性。

参 考 文 献

- (1) 胡志昂等 《大豆科学》, 1986, 5 (3): 205—210.
- (2) Beachy R.N. et al., 1931, J. Mol. Appl. Genet., 1: 19.
- (3) Davis C.S. et al., 1935, Theor. Appl. Genet., 71: 351.
- (4) Gayler K.R. et al., 1981, Plant. Physiol., 57: 958—961.
- (5) Hill J.E. et al., 1974, Plant. Physiol., 53: 742—746.
- (6) Hill J.E. et al., 1974b, Plant. Physiol., 53: 747—751.
- (7) Kitamura K. et al., 1984, Theor. Appl. Genet., 68: 233.
- (8) Kondo K. et al., 1954, Bull. Research Inst. Food Sci., Kyoto Univ., 15: 37—48.
- (9) Meinkle D. et al., 1931, Planta, 153: 130—139.
- (10) Millerd A. et al., 1971, Plant. Physiol., 48: 419—425.
- (11) Niasmith W.E.F., 1955, Biochim. Biophys. Acta, 16: 203—210.
- (12) Sun S.M. et al., 1975, Plant. Physiol., 56: 780—785.
- (13) Wolf W.J., 1970, Agr. Food Chem., 18: 969—976.

PRELIMINARY REPORT OF PROTEIN ANABOLISM IN WILD SOYBEAN SEEDS DURING DEVELOPMENT STAGE OF SEEDS

Zhuang Bingchang et al

(Soybean Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences)

ABSTRACT

Quantitative and qualitative protein changes in developing wild soybean seeds (*G. soja*) were studied from 12 to 28 days after flowering by SDS gel electrophoresis. The samples used in this experiment was collected from Jilin Province (45°N) and grown in pots. The flowering date was noted for each flower and calculated the days from flowering to sampling date. SDS gel electrophoresis was performed according to the method of Sun⁽¹²⁾ and Hill⁽⁵⁾. It was showed that the α and α' subunits of 7s fraction appeared at about 14 days after flowering and the β subunit appeared later than α' and α ones. The acidic and basic subunits of 11s fraction appeared at about 20 days after flowering. The increased rates of α' and α subunits was different.