

不同类型大豆酯酶同工酶研究

乔燕祥 高平平 李 莹

(山西省农业科学院品种资源研究所,太原 030031)

摘 要 1991年对152份栽培大豆、12份野生大豆、12份半野生大豆进行了胚芽期酯酶同工酶分析。研究表明:不同类型大豆酶谱类型丰富,176份品种表现为17个类型。按其迁移率可分为 $E_1 \sim E_8$ 8个大区。 E_4 、 E_6 和 E_7 区酶带条数稳定,酶带着色深,构成了大豆胚芽期酯酶同工酶的特征性酶带。按照地理分布,黄河流域的大豆类型酶谱最为丰富,共15种类型,其中山西、河南大豆表现出较特殊类型。东北三省的酶谱类型位居第二,为9个类型,其它生态区为4~6种类型。野生大豆和半野生大豆的酶谱类型亦较丰富。和栽培大豆比较,酶带迁移率,分区情况完全一致,但酶带条数一般多于栽培大豆且出现一些较为特殊的酶带。广西、广东大豆酶谱类型表现与野生大豆相似。

关键词 酯酶 同工酶 大豆

利用酯酶同工酶分析方法研究作物的亲缘、起源与分类已有许多报道。中川原正弘(1978),朱英国等^[2]对水稻的酯酶同工酶谱带类型、地理分布及其品种起源、进化、分类的关系做过有效的研究。庾正平等(1986)用酯酶同工酶分析方法对1000余份高粱进行了酶谱分类、进化、起源等方面的研究,但利用该方法对大豆品种进行较系统的研究尚少见报道。我国大豆品种资源丰富,用同工酶分析方法了解我国不同类型大豆的酯酶同工酶类型,探讨其起源、进化及地理分布是本研究的目的。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料176份,其中栽培大豆152份(来源于25个省市),12份野生大豆,12份半野生大豆。这三种类型在生态类型、结荚习性、种皮类型、百粒重、进化程度等方面均有较大差异。

1.2 方法

试验采用聚丙烯凝胶电泳法。所选试材均用发芽3天、整齐一致的大豆胚芽0.5g,Tris-柠檬酸(pH值8.9)缓冲液和0.5ml 10%甘油提取,提取液在4000r/min高速离心机中离心5min,取上清液备用。

所需分离胶为10%,浓缩胶为4%,每个点样槽加样50 μ l,在0~4℃冰箱中电泳,稳定电压

为260V,待电泳至下层电泳液1cm处停止,用醋酸- α -萘酯和快兰染色制成干板,目测每个样品的谱带。

2 结果与分析

2.1 不同类型大豆酯酶同工酶谱带模式

根据酶带迁移率的不同,可将大豆胚芽期酶带分为 $E_1 \sim E_8$ 八个区,其中 E_1 区近正极,迁移率为0.09,大多数品种在该区没有清晰酶带出现。 E_2 区的迁移率为0.27~0.36,依据各品种的不同表现为1~3条酶带。 E_3 区的迁移率为0.42~0.47,酶带条数1~2条。 E_4 区的迁移率为0.48,绝大多数品种表现为一条深酶带,仅一个品种表现为浅酶带。由于该区酶带表现稳定,着色深,故把该区定为主酶带区,在 E_4 与 E_5 区之间,有一个迁移率为0.51~0.55的区域,表现为1~3条三、四级酶带,为 E_5 区。 E_6 区的迁移率为0.58,多表现1条强酶带伴随1~2条弱酶带,少数品种出现2条较强酶带。 E_7 区的迁移率为0.64,多数品种表现为1条深酶带,少数品种该区不显带,部分品种表现为浅酶带。迁移率在0.66以下为 E_8 区,因品种而异,表现出1~5条弱酶带,少数品种表现出强酶带。 E_8 区显带的频率占65.5%。在 $E_1 \sim E_8$ 区中 E_4 、 E_5 、 E_7 区酶带着色深,酶带条数稳定,构成了大豆品种酯酶同工酶的特征性酶带。

2.2 大豆品种胚芽酯酶同工酶酶谱的类型

176份供试大豆品种按其酶谱类型可分为7大类型,其中第一类型为7个亚类;第二类型为4个亚类;第三类型为2个亚类,共计17个类型(见图1)。

具有 $E_1 \sim E_8$ 全部酶带区的为第一类型,其中 E_4 区变浅者为I-1; E_8 区表现为1条、2条、3条、4条酶带为I-2、I-3、I-4、I-5类型。 E_8 区有一、二级强带者为I-6类型。

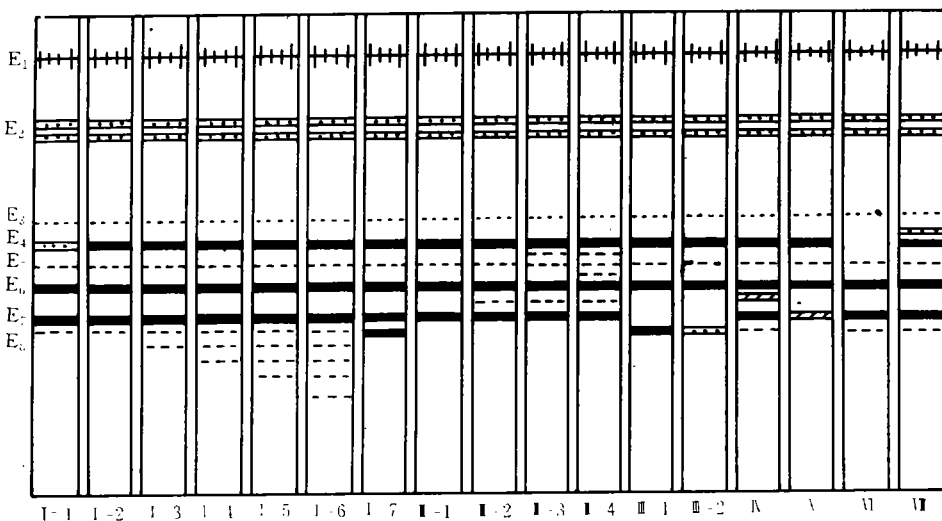


图1 中国大豆品种资源胚芽酯酶同工酶类型模式图

具有 E_1 - E_7 区, 缺 E_8 区为第二类型。依据 E_5 和 E_6 区酶带数目的不同可分为 I-1、I-2、I-3、I-4 四个亚类, 其中 E_5 区 1 条带, E_6 区 1 条带为 I-1; E_5 区 1 条带, E_6 区 2 条带为 I-2; E_5 区 2 条带, E_6 区 2 条带为 I-3; E_5 区 3 条带, E_6 区 2 条带为 I-4。

第三类型以缺少 E_7 区, 有 E_8 区为主要标志。其中 E_8 区显深带者为 III-1, 显浅带为 III-2。

第四类型表现为 E_6 区有 2 条较深酶带。大多数供试品种该区只出现 1 条深带。

第五类型以 E_7 区显示浅带, 缺 E_8 区为显著标志。第六类型为缺主酶带区, 第七类型表现为主酶区有 2 条酶带。

从表 1 可以看出, 在 7 个大类型中, 第一类型所占比例最大, 为 65.5%; 其次为第三类型为 13.2%; 第五类型为 9.2%; 第六类型仅河南 1 个品种; 第七类型 3 个品种, 在 E_4 区呈现出独特的 2 条带。亦为河南品种。

表 1 大豆胚芽酯酶同工酶不同类型所占比例

类 型	I	II	III	IV	V	VI	VII
份 数	114	12	23	7	16	1	3
所占比例(%)	65.5	6.9	13.2	4.0	9.2	0.006	0.017

2.3 大豆品种酯酶同工酶的地理分布

将供试大豆品种划分为东北(黑、吉、辽); 黄河流域(陕、甘、宁、内蒙古、晋、冀、鲁、豫); 长江流域(湘、鄂、苏、皖、浙、赣、沪); 西南(云、贵、川)及华南(粤、桂、闽)等五个生态区域。不同的生态区域, 大豆胚芽酯酶同工酶表现不一。黄河流域酶带类型最为丰富, 共 15 个类型, 占各区域之首, 其中以第一大类居多, 占 61.2%, 且具有其它生态区所没有的第 VI、VII 类; 山西、河南品种表现特殊, 酶带类型最为丰富。东北地区的谱带类型位居第二, 为 9 个类型, 但酶带数目较少且第一类型居多, 占 55.6%; 第二类型次之, 占 18.5%。长江流域的酶谱类型为 6 个, 集中在第一和第三类型, 其中第一大类占 63.3%, 第三大类占 36.7%。云、贵、川的酶谱类型亦为 6 个, 亦集中在第一大类与第三大类, 但前者的比重较大为 84.6%, 后者为 15.4%。华南生态区的酶谱类型最少为 4 个, 集中在第一大类, 但酶带条数较多(见表 2)。

从以上结果可以看出: 第一类型是我国不同类型大豆所共有的一种基本类型, 不同生态区差异主要表现在 I 至 VII 这几个类型。

2.4 三种不同类型大豆胚芽酯酶同工酶谱带比较

就酶谱表现来看, 野生大豆、半野生大豆与栽培大豆在迁移率、分区情况上完全一致, 其主酶带及次酶带的表现同于栽培大豆。

就其酶谱类型来看(见表 3), 12 份野生大豆表现出 6 种酶谱类型, 12 份半野生大豆为 9 种类型。

在 12 份野生大豆中, 各个品种的酶带条数为 10~14 条, 最少的为 8 条。半野生大豆的酶带数目比野生大豆略少, 表现为 8~12 条, 与大多数栽培大豆持平。

野生大豆和半野生大豆中有 40% 品种 E_5 区表现为 3 条弱带(图 2), 栽培大豆中只有两个山西品种介休全全豆和 9025 E_5 区表现出 3 条弱带。另外 60% 的野生、半野生大豆品种 E_5 区出现 1~2 条弱酶带, 50% 的山西栽培大豆中有相同情况, 其中 8860 在该区表现出 1 条一级酶带。黄河流域的其他省份如宁夏的花眉豆在该区出现 2 条弱带。宁夏的徐庄黄豆、内蒙的 2 个黄豆品种和

表2 不同生态区域大豆品种酯酶同工酶谱类型

类 型	东 北	黄河流域	长江流域	西 南	华 南
I-1	1	2			
I-2	9	17		1	
I-3	5	11	5	1	1
I-4		9	6	1	2
I-5		13	3	3	4
I-6		8	5	5	2
II-1	1				
II-2	2	2			
II-3	2	4			
II-4		1			
III-1		6	10	2	
III-2	1	3	1		
IV	2	5			
V	4	12			
VI		1			
VII		3			

1个红黄豆的品种,在该区均出现1条弱带。黑龙江的大黄豆,“克霜”,吉林的茶秣食豆在该区也表现出1条弱带。广东、广西2/3的品种在该区也有1条弱带出现,且谱带比较清晰。湖南9个供试品种有4个品种出现相似情况(图3)。我们认为, E_5 区及 E_3 区出现的酶带有可能是具有野生、半野生品种特性的一些酶带。黄河流域,东北三省,长江流域的部分省份的一些栽培品种其酶谱表现与野生、半野生相似。可以推断,它们在亲缘上更为接近。

4 结 论

大豆品种胚芽期的酯酶同工酶按其迁移率可分为 $E_1 \sim E_8$ 8个区域。在 E_1 区($R_f = 0.48$)绝大多数品种表现为一级酶带,且比较稳定,为主酶带区, E_6 和 E_7 区的酶带着色较深,酶带条数相对稳定,三者构成大豆品种胚芽期酯酶同工酶的特征性酶带。

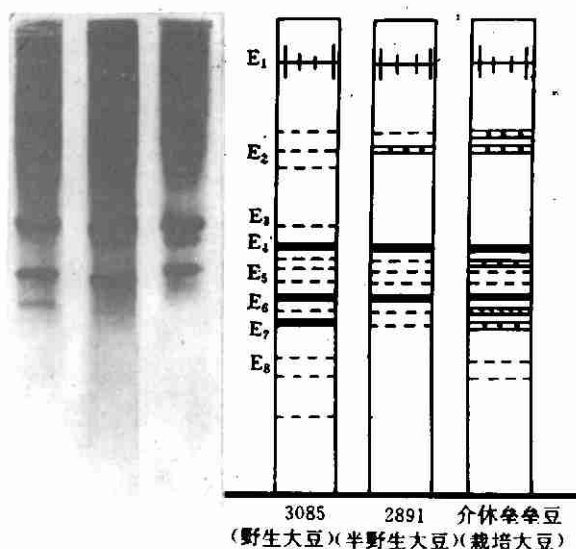


图2 野生大豆、半野生大豆和栽培大豆胚芽酯酶同工酶谱

表3 三种不同大豆类型胚芽酯酶同工酶表现类型

品种	I-1	I-2	I-3	I-4	I-5	I-6	II-1	II-2	II-3	II-4	III-1	III-2	IV	V	VI	VII
栽培种	3	23	19	14	21	19	1	4	3		17	5	6	13	1	3
半野生种			3	1	1	1			2	1	1		1	1		
野生种		4	1	3	1				1					2		

大豆品种胚芽期酯酶同工酶的酶带类型远比其它作物丰富。供试174份品种可分为7个大类13个亚类,共计17种类型。

供试品种中,有114份属于第I类型,占总数的65.5%;第三类型23份,占总数的13.2%;第五类型16个品种,占总数的9.2%,这三种类型为大豆胚芽酯酶同工酶的主体类型。山西、河南品种出现了一些较特殊的类型。

就其地理分布而言,黄河流域酶谱类型最为丰富,共15种类型,表现出许多生态区域不具有的特殊类型。东北三省的酶带类型位居第二,为9个类型。长江流域和云、贵、川都表现为6种类型。Ⅱ集中在第一、第三大类。在所有生态区中,华南地区的酶谱类型最少,为4种类型,都集中在第一大类,但酶带条数较多。

栽培大豆,野生大豆和半野生大豆酶带的迁移率、分区情况完全一致,主酶带表现也相同。但野生大豆,半野生大豆的酶谱类型,酶带条数较栽培大豆多。12份半野生大豆出现了9种类型。广东、广西两省的栽培大豆品种酶带条数较多,酶谱表现与野生、半野生大豆品种接近。山西、河南的一些栽培大豆其酶谱表现型与野生、半野生大豆相似。值得指出的是,近半数的野生、半野生大豆 E_5 区表现3条弱带,栽培大豆只有2个山西品种有上述表现。此外,60%的野生、半野生大豆 E_5 区出现1~2条弱带,山西、内蒙、北京的少数品种亦出现同样情况,东北地区的品种也有上述情况,以辽宁最多。广东、广西2/3的品种在该区出现1条较清晰的弱带。湖南近半数的品种在该区亦出现1条弱带,我们认为这两个区域出现的酶带可能是野生、半野生大豆的特征性酶带。

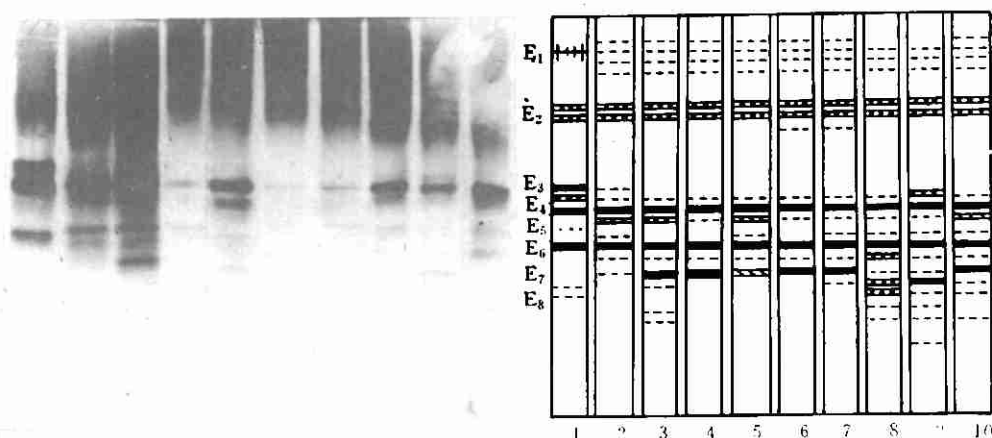


图3 不同生态区大豆品种酯酶同工酶酶谱

1. 8860(山西); 2. 花眉豆(宁夏); 3. 徐庄黄豆(宁夏); 4. 黄豆(内蒙); 5. 沙河青豆(北京);

6. 克霜(黑龙江); 7. 条麻食豆(吉林); 8. 澄海大粒豆(广东); 9. 扶绥本地黑豆(广西); 10. 泥豆二号(湖南)

参 考 文 献

- 1 李莹. 山西大豆品种生态分析. 山西农业科学, 1981(2): 16~19
- 2 朱英国, 梅启明, 余全洪. 不同类型杂交水稻酯酶同工酶比较研究. 湖北农业科学, 1983(11): 1~6
- 3 徐豹, 赵述文, 邹淑华. 野生大豆 (*G. soja*) 种子蛋白质的电泳分析. T_1 和 SP_1 各等位基因频率、地理分布与大豆起源地问题. 大豆科学, 1985, 4(1): 7~13
- 4 胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985
- 5 Dage R Cetal. Crop Science, 1978, 18: 557—559
- 6 Rawal SK, Mehta AR. Change in enzyme activity and isoperoxidases in haploid tobacco callus during organogenesis. Plant Sci Lett, 1982, 24: 67—77

Esterase Isozymes in Soybean Seeds of Different Category

Qiao Yanxiang Gao Pingping Li Ying

(Crop Germplasm Resource Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031)

Abstract Electrophoretic analyses on the esterase isozymes of seeds of 150 cultivated soybeans, 12 wild soybeans and 12 semi-wild soybeans were conducted in 1991. The results are as follows. First of all, three kinds of soybean have abundant enzymic band types. Among 176 collections there are 17 band types. According to the moving rate of enzymic bands, the band types of each variety can be divided into 8 zones designated as E_1 to E_8 and among them the band of E_4 , E_6 and E_7 zones are stable and their staining are more dark, which form characteristic bands of esterase isozymes in seeds of soybean resources. Secondly according to the geographical distribution the soybean of Yellow River basin are most diversified, of which there are 15 types of enzymic bands and the collections from Shanxi and Henan showed some particular types which the other ecological areas did not appear. The types from northeastern provinces came second, and they had 9 band types. The others only had 4 to 6 band types. Finally, compared with cultivated soybeans, the band types of wild and semi-wild soybeans are relatively abundant. The number of bands is generally more than that of cultivated soybeans, but their moving rate and states of dividing area are completely same. Band types of Guangdong and Guangxi collections are similar to those of wild and semi-wild soybeans.

Key words: Esterase ; Isozymes ; Soybean