

中国野生和栽培大豆 11S 及 7S 蛋白质相对含量的比较分析

刘顺湖^{1,3},周瑞宝²,盖钧铭¹

(1. 南京农业大学 大豆研究所,国家大豆改良中心,作物遗传与种质创新国家重点实验室,江苏 南京 210095;2. 河南工业大学 大豆精深加工研究所,河南 郑州 450052;3. 济宁学院,山东 曲阜 273155)

摘要:大豆种质蛋白质 11S 和 7S 及其亚基组相对含量的遗传变异是专用型品种选育的基础。以全国各生态区的野生豆 138 份和地方品种 409 份,国内育成品种 148 份、国外育成品种 83 份,合计 778 份大豆种质为材料,采用 SDS-PAGE 电泳技术测定蛋白质 11S 和 7S 组分及其亚基组相对含量,研究其遗传变异。在南京同一条件下的结果表明:全国野生豆、地方品种和育成品种 11S 相对含量平均分别为 54.7%、64.8% 和 71.7%,变幅 28.8%~82.6%、38.8%~79.4% 和 48.2%~88.9%;7S 相对含量平均分别为 44.7%、34.9% 和 27.9%,变幅 20.6%~71.2%、20.6%~61.1% 和 15.7%~47.8%;11S/7S 比值平均分别为 1.4、2.0 和 2.7,变幅 0.4~3.9、0.6~3.9 和 0.9~4.0。野生豆驯化为栽培豆并经选育后 11S 相对含量和 11S/7S 比值上升,7S 相对含量下降,变幅均减小;亚基组 11S-2 和 11S-3 相对含量增加;7S 的 6 个亚基组,尤其 7S-1 和 7S-6,相对含量下降。11S、7S、11S/7S 以及各亚基组在各群体各生态区内均有较大变异,但与来源地纬度、蛋白质和油脂含量均无显著相关。从中优选到 11S/7S 比值大于 3.7、11S 相对含量为 78.9%~88.9% 的 8 份种质,发现有 11S 的 4 个亚基组相对含量分别大于 37%、7S 的 6 个亚基组相对含量分别大于 24%、以及 11S-1 和 7S 的 6 个亚基组缺失的种质,这些特异种质可供蛋白质组发育种利用。

关键词:野生大豆 (*G. soja* Sieb. et Zucc.);栽培大豆 (*G. max* (L.) Merr.);11S 蛋白质;7S 蛋白质;11S/7S 比值;蛋白质亚基组;遗传变异;生态区

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2009)05-0759-09

Comparative Analysis of 11S and 7S Protein Relative Content between Wild and Cultivated Soybeans in China

LIU Shun-hu¹, ZHOU Rui-bao², GAI Jun-yi¹

(1. Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University, National Center for Soybean Improvement, National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, Jiangsu; 2. Soybean Processing Research Institute, Henan University of Technology, Zhengzhou 450012, Henan; 3. Jining College, Qufu 273155, Shandong, China)

Abstract: In breeding for cultivars with specific protein quality, it should be the basic step to hold the genetic variability of relative content of 11S, 7S protein and their subunit groups in soybean germplasm. In the present study, total 778 accessions, including 138 wild entries (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.), 409 cultivated landraces (*Glycine max* (L.) Merr.) and 148 released domestic cultivars sampled from various eco-regions as a representative in China, along with 83 released foreign cultivars, were tested for their 11S, 7S protein and their subunit group relative contents by using SDS-PAGE analysis. The obtained data were analyzed with the software of SAS 9.0 and SPSS 13.0. The results obtained under environment conditions in Nanjing are as follows: The mean relative content of 11S in wild accessions, landraces and released cultivars was 54.7%, 64.8% and 71.7% with a range of 28.8%-82.6%, 38.8%-79.4% and 48.8%-88.9%, respectively. That of 7S was 44.7%, 34.9% and 27.9% with a range of 20.6%-71.2%, 20.6%-61.1% and 15.7%-47.8%, respectively. That of 11S/7S ratio was 1.4, 2.0 and 2.7 with a range of 0.4-3.9, 0.6-3.9 and 0.9-4.0, respectively. Due to domestication and artificial breeding, the 11S relative content and 11S/7S ratio increased and the 7S relative content decreased gradually with their

收稿日期:2009-05-06

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(2004CB7206, 2006CB101708, 2009CB118404);国家自然科学基金资助项目(30671266);国家高新技术研究发展计划资助项目(2006AA100104);教育部高等学校创新引智计划资助项目(B08025);农业部公益性行业专项(200803060)。

作者简介:刘顺湖(1960-),男,副教授,博士研究生,从事大豆遗传与育种研究与教学。

通讯作者:盖钧铭,教授,中国工程院院士。E-mail: sri@njau.edu.cn;周瑞宝,教授。E-mail: rhzhou0615@163.com。南京农业大学和河南工业大学均为第一完成单位。

ranges all decreased, while the relative contents of subunit group 11S-2 and 11S-3 increased and those of the six 7S subunit groups, especially 7S-1 and 7S-6 decreased. There existed abundant variation in 11S and 7S relative content, 11S/7S ratio and their subunit groups in the three germplasm types in each eco-region, but no significant correlation with geographic latitude of accession's source site, as well as with protein and fat content was found. Eight elite accessions were screened out from the 778 accessions to be with 11S/7S ratio more than 3.7 and 11S relative content 78.9%-88.9%. In addition, there found also the accessions with 11S subunit group relative content more than 24% and the accessions with 11S-1 deficient or one or two 7S subunit groups deficient. These materials should be the superior sources for breeding programs in protein quality improvement.

Key words: Wild soybean (*G. soja* Sieb. et Zucc.); Cultivated soybean (*G. max* (L.) Merr.); 11S protein; 7S protein; 11S/7S ratio; Protein subunit group; Genetic variability; Eco-region

自 20 世纪 50 年代以来,大豆蛋白质组分因其独特的功能特性和在食品加工中的重要作用而倍受食品科学家的重视,并成为大豆育种研究的重要品质性状。Wolf 等^[1]根据超速离心的研究结果将大豆提取蛋白划分成 2S、7S、11S 和 15S 4 个组分并测得其含量分别占种子蛋白质的 21%、37%、31% 和 11%。其中,11S 和 7S 的含量较高,二者之和达 60% 以上,其功能特性在食品加工中用途广泛,是大豆蛋白质的重要组分和主要研究对象。

11S 和 7S 在凝胶特性上有差异^[2]。以豆腐为例,11S 含量与豆腐凝胶硬度极显著正相关($r = 0.820$),7S 含量与豆腐凝胶硬度极显著负相关($r = -0.823$)^[3]。11S/7S 比值与豆腐硬度显著正相关($r = 0.861$)^[4],蛋白质凝胶透明性随 11S/7S 比值增加而降低^[5]。进一步研究发现 11S 和 7S 的亚基与凝胶特性有关,11S 的酸性亚基 A₁、A₂ 和 A₄ 亚基与豆腐凝胶硬度显著正相关,碱性亚基含量与豆腐凝胶硬度相关不显著^[4,6]。

11S 和 7S 分析方法,食品研究和加工中常用“碱溶”(basic dissolve)“酸沉”(acid-precipitation)方法分离提纯 11S 和 7S^[7-8],很难分离提取获得 100% 的 11S 或 7S,可见 Wolf 关于 4 种组分的划分是相对的,没有严格区分界限。有些时候在对蛋白质加工和遗传育种的研究中不需要把 7S 和 11S 组分分离提取出来,而只需要掌握大豆种子中或提取蛋白中的组分和亚基含量即可。因此,电泳分析技术(SDS-PAGE)成为蛋白质组分及其亚基分析的主要方法。但在 SDS-PAGE 分析中缺乏统一的判别 11S 和 7S 及其亚基分子量标准^[9-11]前人对 7S 和 11S 的亚基数目及其分子量的研究结果差异很大,综合起来在 7S 中发现了 5 个亚基(即 α' 、 α 、 β 、 γ 和 B₀-Conglycinin),在 11S 中发现了 6 个酸性亚基(即 A_{1a}、A_{1b}、A₂、A₃、A₄ 和 A₅) 和 5 个碱性亚基(即 B_{1a}、

B_{1b}、B₂、B₃ 和 B₄),这些亚基分子量因研究者不同而异,被引用时也因人而异。还有一些研究者^[12-15]引用时只用亚基的名称不用其分子量。

前人在研究大豆蛋白质亚基划分时所测试的材料主要是小样本的栽培品种,因而亚基或电泳条带数有限且易于识别。但世界上存在大量的大豆栽培品种和地方品种(其中,中国大豆资源超过 23 000 份),特别是中国作为栽培大豆的起源地,存在十分丰富的遗传多样性,为了全面掌握和了解大豆遗传资源(*Glycine max* (L.) Merr.)的电泳条带的变异、分子量和次数分布,Liu 等^[16]通过对 640 份大豆栽培种质提取蛋白的 SDS-PAGE 分析,发现蛋白质分子量存在大量变异,远不止已定的几个亚基,定义并提出了一套亚基组的划分方法。该法在 MW44KDa 处将 SDS-PAGE 谱带划分为 2 个区域,即 11S 为 14.4 ~ 44KDa,7S 为 44 ~ 91KDa。11S 包括 4 个亚基组,分子量标准分别为 14.4 ~ 22KDa(11S-1),22 ~ 26KDa(11S-2),26 ~ 35KDa(11S-3),35 ~ 44KDa(11S-4),4 个亚基组相对含量之和为 11S 相对含量;7S 包括 6 个亚基组,44 ~ 49KDa(7S-1),49 ~ 55KDa(7S-2),55 ~ 67KDa(7S-3),67 ~ 73KDa(7S-4),73 ~ 82KDa(7S-5),82-91KDa(7S-6),6 个亚基组相对含量之和为 7S 相对含量。11S 与 7S 相对含量之比即为 11S/7S 比值(11S/7S ratio)。亚基组划分方法中的分子量范围涵盖了前人研究的大多数亚基,经验证该标准简便、稳定和实用。

尽管食品科学中对大豆 11S 和 7S 及其亚基的功能特性和加工研究报道甚多,但对大豆种质资源中 11S 和 7S 及其亚基的遗传变异研究报道十分罕见。目前非常缺少对包括野生豆、地方品种和育成品种在内的全国大豆种质资源 11S 和 7S 及其亚基的整体研究,缺少对野生种质到地方品种到育成品种 11S 和 7S 及其亚基含量演变特点的研究。依据

盖钧镒等的生态区划结果^[17],以原产于我国各个生态区有代表性的野生种质、地方品种和育成品种为材料,在南京同一试验条件下,按照 Liu^[16]等蛋白质组分划分方法研究人工进化对 11S 和 7S 及其亚基组相对含量的影响及其在不同生态区的遗传变异,以揭示野生种质到地方品种到育成品种 11S 和 7S 及其亚基组相对含量演变特点,并优选特异资源供选育蛋白质专用品种利用。

1 材料与方法

1.1 材料与田间试验

从南京农业大学国家大豆改良中心种质资源库保存的 15 000 余份大豆种质资源中,按照种质类型(野生、地方品种和育成品种)和盖钧镒等^[17]划分

的生态区进行分层抽样抽取各类材料 778 份,构成大豆种质资源总体的一个样本。其中中国野生材料(*Glycine soja* Sieb. et Zucc.)138 份(来自于全国 5 个生态区,见表 1)、地方品种 409 份(来自于全国 6 个生态区)、20 世纪 80 和 90 年代育成品种 148 份(来自于全国 5 个生态区),外国引进的育成品种 83 份。于 2003~2004 年在南京农业大学江浦大豆试验站进行,其中,2003 年(6 月 8 日播种)为预备试验,目的在于繁殖试验用种,2004 年为正式试验(6 月 11 日播种)。2003 年 6 月 8 日播种,2004 年 6 月 11 日播种。完全随机区组设计,3 次重复,3 行区,行长 4 m,行距 0.5 m,条播,田间管理与一般大田相似。重复间田间表现相对一致,取其中一次重复的种子做蛋白质组分的分析。

表 1 大豆资源 11S 蛋白质相对含量的次数分布与统计分析
Table 1 Frequency distribution and statistical analysis of 11S protein relative content in soybean germplasm/%

类型	生态区	组中点值 Class mid-value														Σf	变幅	\bar{x}	CV%
		27.5	32.5	37.5	42.5	47.5	52.5	57.5	62.5	67.5	72.5	77.5	82.5	87.5					
野生	I			1	3	11	4	8	8	2	1	1			37	37.3-75.2	54.2	16.85	
WD	II			1	3	4	3	6	14	7	3		1		42	37.3-82.6	59.5	15.67	
	III			3	1	1	2	5						12	37.1-59.9	50.5	17.60		
	IV	1	1	1	2	3	3	13	6	1				31	28.8-65.2	54.1	16.88		
	V			1	1	4	2	1	4	1	2			16	36.0-72.8	55.3	20.30		
	Σf	1	1	7	10	23	14	33	32	11	6	1	1	138	28.8-82.6	54.7	17.46		
地方	I			1	1	2	9	9	8	10	12	4		56	38.8-79.4	63.0	14.89		
	II					3	6	11	20	27	20	10		97	45.3-78.7	66.0	11.51		
	III					1	1	10	9	15	23	9		68	42.2-77.0	67.5	10.94		
	IV				2	1	5	15	19	23	24	9		98	43.7-78.1	65.7	11.59		
	V					1	7	10	9	2	3			32	46.4-78.3	63.1	13.21		
	VI				1	5	5	12	10	12	5	8		58	40.0-78.9	63.3	14.54		
育成	Σf			1	4	13	33	67	75	89	87	40		409	38.8-79.4	64.8	12.78		
	I				1			2	9	13	9		1	35	48.2-88.9	71.6	9.32		
	II						2	2	11	16	32	19		82	52.1-79.2	70.4	8.38		
	III								3	9	6	1		19	66.7-80.9	73.5	4.92		
	V								5	4	2			11	66.1-78.0	71.5	4.96		
国外	Σf					1	2	4	29	42	49	20		1	148	48.2-88.9	71.7	6.90	
	Foreign			1			3	4	9	20	30	16			83	39.9-79.7	69.3	10.12	

WD:野生豆;LD:地方品种;RC:育成品种;ER:生态区;I:北方一熟春豆生态区;II:黄淮海二熟春夏豆生态区;III:长江中下游二熟春夏生态区;IV:南多熟春夏秋豆生态区;V:西南高原二熟春夏豆生态区;VI:华南热带多熟四季大豆生态区。VI 区无野生种。下同。

WD:Wild Soybean;LD:Landrace;RC:ReleasedCultivar;ER:Eco-region;I:Northern single cropping,spring planting eco-region;II:Huanghuaihai double cropping,spring and summer planting eco-region;III:Middle and lower Changjiang valley double cropping,spring and summer planting eco-region;IV:Central south multiple cropping,spring,summer and autumn planting eco-region;V:Southwest plateau double cropping ,spring and summer planting eco-region;VI:South China tropical multiple cropping ,all season planting eco-region;No wild soybean existed in eco-region VI. The same is true for later tables.

1.2 11S 和 7S 组分相关性状相对含量的测定

2003 年 12 月至 2006 年 4 月,在河南工业大学大豆精深加工研究所按照文献 Liu^[16]的标准和方法制备大豆提取蛋白,通过 SDS- PAGE 分析测定每份种质的 11S、7S 及其亚基组相对含量。11S 包括 4 个亚基组,4 个亚基组相对含量之和为 11S 相对含

量;7S 包括 6 个亚基组,6 个亚基组相对含量之和为 7S 相对含量,各个亚基组分子量标准见引言部分。11S 与 7S 相对含量之比即为 11S/7S 比值。

1.3 数据分析

利用 Excel 2003 软件进行 11S 和 7S 组分相关性状的描述性统计分析;参考《试验统计方

法》^[18-19],采用 SAS 9.0 GLM 程序进行方差分析, CORR 程序进行相关分析。

2 结果与分析

按照参考文献[17],将 409 份地方品种与 148 育成品种归入 6 个大豆品种生态区,138 份野生大豆归入 5 个生态区(第 6 区无一年生野生豆)。

2.1 中国大豆资源蛋白质 11S、7S 及其亚基组相对含量的比较分析

2.1.1 11S 相对含量的比较 表 1 表明全国野生豆 11S 相对含量平均 54.7%,变幅 28.8%~82.6%。全国地方品种 11S 相对含量平均 64.8%,比野生豆增加 10%,变异范围缩小为 38.8%~79.4%,其中下限值却提高约 10%。育成品种 11S 相对含量平均 71.7%,比地方品种有较大提高,变幅为 48.2%~88.9%,变异范围略有缩小,但上下限分别提高约 10%,这是我国数十年来科学育种的结果。参试国外品种平均含量比我国地方品种高但比育成品种低,变异范围与地方品种相似。变异系数野生豆的最高、育成品种最低,而国外品种的变异度比我国育成品种高(表 1)。

2.1.2 7S 相对含量的比较 表 2 表明全国野生豆 7S 相对含量平均 44.7%,变异范围 20.6%~71.2%。全国地方品种 7S 相对含量平均 34.9%,比野生豆降低 9.8%,变异范围缩小为 20.6%~

61.1%,其中上限值下降约 10%。育成品种 7S 相对含量平均 27.9%,比地方品种低,变异范围进一步缩小为 15.7%~47.8%,其中上限值下降约 12%。与野生种质相比较,栽培种质 7S 相对含量平均降低程度与 11S 提高程度相当,但 7S 和 11S 相对含量的变异范围都缩小,11S 主要由下限值提高而缩小,7S 主要由上限值下降而缩小。参试国外品种情况与我国地方品种相似,7S 相对平均含量为 30.5%,变异范围为 21.9%~50.1%。表 2 中的变异系数结果说明,野生豆低于地方品种,而育成品种变异度比野生种低,国外品种变异度比我国育成品种高。

2.1.3 11S/7S 比值的比较 表 3 表明全国野生豆 11S/7S 比值平均 1.4,变异幅度 0.4~3.9。全国地方品种 11S/7S 比值平均 2.0,比野生种质比值高,变异范围为 0.6~3.9,变幅变化很小。育成品种 11S/7S 比值平均在地方品种基础上有了较显著提高,平均 2.7,但变幅为 0.9~4.0 变化不大。从野生豆到地方品种到育成品种 11S/7S 比值平均不断提高,主要是 11S 平均相对含量提高而 7S 平均相对含量下降造成的。参试国外品种情况与我国育成品种相似,平均 2.4。表 3 中的遗传变异系数,野生豆变异度最高、栽培化后地方品种显著下降,但略高于育成品种和国外品种。

表 2 大豆资源 7S 蛋白质相对含量的次数分布与统计分析

Table 2 Frequency distribution and statistical analysis of 7S protein relative content in soybean germplasm/%																	
类型	生态区	组中点值 Class mid-value												Σf	变幅	\bar{x}	CV%
Type	ER	17.5	22.5	27.5	32.5	37.5	42.5	47.5	52.5	57.5	62.5	67.5	72.5		Range		
野生 WD	I		1	2	1	6	9	4	10	3	1			37	24.8-62.5	45.4	20.69
	II		3	5	5	12	6	4	3	3	1			42	20.6-62.8	39.4	25.66
	III					1	5	2	2	1	1	1		12	40.1-66.0	48.9	18.56
	IV		1		1	5	12	3	3	2	1	1	1	31	22.7-71.2	45.3	22.58
	V			2	1	4	1	2	4	1	1			16	26.8-64.1	44.4	25.03
	Σf		5	9	8	28	33	15	22	10	5	2	1	138	20.6-71.2	44.7	22.50
地方 LD	I		6	12	9	10	9	6	2	1	1			56	20.6-61.1	36.0	26.81
	II		10	21	27	19	11	6	3					97	21.3-54.0	33.8	22.45
	III		12	22	13	9	10	1	1					68	23.0-57.8	32.3	23.05
	IV		9	25	24	17	15	5	1	2				98	21.9-56.2	34.1	22.44
	V		3	2	9	9	3	5	1					32	22.0-53.6	36.4	22.09
	VI		10	4	13	8	12	5	5	1				58	21.0-60.0	36.6	25.18
育成 RC	Σf		50	86	95	72	60	28	13	4	1			409	20.6-61.1	34.9	23.67
	I		11	13	10	1								35	20.9-51.8	28.6	20.68
	II	1	21	31	14	11	2	2						82	15.7-47.8	29.1	20.82
	III	1	7	8	3									19	19.9-33.3	26.2	13.93
	IV			2	5	4								11	21.9-32.8	28.0	11.23
	V					1								1			
国外 Foreign	Σf	2	39	54	32	17	2	2						148	15.7-61.1	28.0	16.67
			17	29	20	10	4	2	1					83	22.0-60.1	30.5	21.93

表 3 大豆资源 11S/7S 比值的次数分布与统计分析
Table 3 Frequency distribution and statistical analysis of 11S/7S ratio in soybean germplasm

类型 Type	生态区 ER	组中点值 Class mid-value								Σf	变幅 Range	\bar{x}	CV%
		0. 75	1. 25	1. 75	2. 25	2. 75	3. 25	3. 75	4. 25				
野生 WD	I	14	13	6	2	1	1			37	0.6-3.0	1.3	42.33
	II	7	10	16	4	2	2	1		42	0.6-3.9	1.7	41.97
	III	5	7							12	0.6-1.5	1.1	32.45
	IV	1	7	16	6		1			31	0.4-2.8	1.3	36.30
	V	6	3	4	2	1				16	0.6-2.7	1.4	46.65
	Σf	33	40	42	14	4	4	1		138	0.4-3.9	1.4	39.94
地方 LD	I	4	16	11	10	10	3	2		56	0.6-3.9	1.9	39.70
	II	3	17	25	25	17	5	5		97	0.8-3.7	2.1	33.10
	III	1	10	14	17	17	9			68	0.7-3.4	2.2	30.11
	IV	3	20	26	21	18	9	1		98	0.8-3.6	2.1	31.96
	V	1	9	11	6	2	2	1		32	0.9-3.6	1.9	35.89
	VI	6	17	15	7	3	7	3		58	0.7-3.8	1.9	41.31
育成 RC	Σf	18	89	102	86	67	35	12		409	0.6-3.9	2.0	35.35
	I	1		6	7	10	9	2		35	0.9-3.8	2.6	23.58
	II		4	16	16	26	13	7		82	1.1-4.0	2.5	25.61
	III				5	6	5	2	1	19	2.0-4.0	2.9	19.05
	IV				5	4	1	1		11	2.1-3.6	2.6	16.99
	V			1						1			
国外	Σf	1	4	23	33	46	28	12	1	148	0.9-4.0	2.7	21.30
	Foreign	1	6	14	25	22	12	3		83	0.7-3.6	2.4	26.29

野生豆驯化为栽培豆并经选育后 11S 相对含量平均数和 11S/7S 比值有逐渐提高趋势,变异度有逐步减小的趋势;7S 相对含量平均数和变异度有逐渐减少趋势,说明以往人工进化着重在 11S 相对含量的改进。

2.1.4 11S 和 7S 蛋白质亚基组相对含量的比较

由表 4 可见,11S 的 4 个亚基组相对含量变异有差异,野生豆与地方品种和育成品种以及引进品种之间的 11S-1 和 11S-4 亚基组相对含量平均值和变异系数差异不明显;从野生豆到地方品种到育成品种 11S-2 亚基组相对含量平均值分别为 12.57%、18.19% 和 19.23%,栽培种质比野生豆高 6% 以上,变异范围扩大;11S-3 亚基组相对含量平均值分别为 13.00%、23.18% 和 21.76%,栽培种质比野生豆高 10% 以上,变异范围扩大。野生豆驯化为栽培豆后 11S 相对含量的提高可能主要是 11S-2 和 11S-3 亚基组相对含量明显提高的结果。野生豆的 11S-1 至 11S-3 都有缺失现象,11S-4 亚基组没有缺失,但地方品种只有 11S-1 亚基组有缺失现象且数量较多,育成品种的 11S-1 至 11S-4 没有缺失现象。

表 4 说明 7S 的 6 个亚基组相对含量变异也有差异,野生豆的 6 个 7S 亚基组相对含量平均值都高于栽培种质,而地方品种、育成品种和引进品种之间差异不明显。野生豆栽培化后 7S 亚基组的相对含量普遍降低,变异范围有所下降,其中,栽培种质的

7S-1 和 7S-6 亚基组相对含量平均值比野生豆的明显降低,可能是从野生豆到地方品种到育成品种 7S 相对含量逐渐降低的主要原因。7S 的 6 个亚基组缺失现象非常普遍,以地方品种较多。

2.2 各生态区域种质资源的蛋白质 11S、7S 及其亚基组相对含量比较分析

2.2.1 11S 相对含量的比较 表 1 显示,各生态区之间野生豆 11S 平均相对含量以 II 区平均值最高 59.5%,III 区最低 50.5%,极差 9.0%。地方品种各生态区之间平均含量极差 4.5%,以长江中下游二熟生态区(III)地方品种最高 67.5%。育成品种 11S 相对含量 4 个生态区之间(VI 区只有 1 个品种、V 区没有参试品种,以下性状相同)平均含量极差 3.1%,平均含量以长江中下游二熟(III)生态区的最高 73.5%。各个生态区平均值均以野生种质最低、地方品种次之、育成品种最高,而各生态区的变异范围以野生种质的最大、地方品种次之、育成品种最小。

2.2.2 7S 相对含量的比较 表 2 表明,生态区之间野生种 7S 平均相对含量极差 9.5%,以 II 区平均值最低为 39.4%。地方品种的极差 4.2%,以 III 区平均值最低为 32.3%。育成品种的极差 2.9%,以 III 区平均值最低为 26.2%。各个生态区平均值均以野生种质最高、地方品种次之、育成品种最低,各个生态区的变异范围以野生种质的最大、地方品种

次之、育成品种最小。

表4 大豆资源 11S 和 7S 蛋白质的亚基组相对含量次数分布与统计分析

Table 4 Frequency distribution and statistical analysis of 11S and 7S subunit group relative contents in soybean germplasm /%																
亚基组 SG	类型 Type	组中点值 Class mid-value										Σf	变幅 Range	\bar{x}	CV%	
		0	2.5	7.5	12.5	17.5	22.5	27.5	32.5	37.5	42.5					
11S-1	野生 WD	2	12	25	35	27	19	7	10	1		138	1.1-35.1	14.9	52.7	
	地方 LD	37	13	98	134	70	36	12	8	1		409	2.1-37.1	13.2	46.1	
	育成 RC	2	13	33	32	29	22	15	2			148	1.3-34.6	14.2	54.2	
	国外 FR		10	18	28	16	8	3				83	1.1-26.6	12.5	49.9	
11S-2	野生 WD	3	15	41	38	35	5	1				138	1.9-25.9	11.6	46.6	
	地方 LD		26	147	114	49	47	20	6			409	0.6-34.8	12.6	51.1	
	育成 RC		4	21	23	37	34	23	6			148	0.6-38.2	18.2	43.8	
	国外 FR		3	8	10	22	22	11	6	1		83	0.3-39.5	19.2	39.7	
11S-3	野生 WD	6	3	33	42	29	15	7	2	1		138	3.3-35.5	13.0	48.5	
	地方 LD		2	21	44	56	124	79	63	17	3	409	4.2-41.7	23.2	31.2	
	育成 RC			11	15	31	44	36	10	1		148	6.5-35.1	21.8	28.9	
	国外 FR			7	13	20	20	14	9			83	6.5-34.4	20.3	34.9	
11S-4	野生 WD		2	20	32	49	22	9	2	2		138	4.5-35.9	17.3	36.9	
	地方 LD		6	30	143	127	52	39	11	1		409	0.5-36.2	16.7	38.1	
	育成 RC			6	43	67	21	8	3			148	5.9-32.5	17.6	28.2	
	国外 FR		1	9	27	16	23	4	1	2		83	4.1-37.4	17.2	37.9	
		0	1.5	4.5	7.5	10.5	13.5	16.5	19.5	22.5	25.5	28.5				
7S-1	野生 WD	75	0	4	6	14	19	9	8	1	1	1	138	5.2-28.9	12.9	29.3
	地方 LD	94	97	89	67	32	21	5	4				409	1.1-18.5	3.6	137.9
	育成 RC	30	79	15	13	7	4						148	0.9-13.6	3.1	142.3
	国外 FR	10	49	4	15	5							83	1.5-11.7	2.8	135.5
7S-2	野生 WD	40		18	39	20	15	2	2	1	1		138	3.1-24.9	9.9	42.6
	地方 LD	81	103	41	67	63	40	12	1	1			409	0.6-19.8	6.7	80.2
	育成 RC	21	35	34	38	17	1	2					148	0.6-16.2	5.1	70
	国外 FR	9	29	10	20	11	1	2			1		83	1.1-24.3	5.1	99.7
7S-3	野生 WD	23	3	16	25	29	26	9	3	2	2		138	2.7-24.4	11.6	39.9
	地方 LD	58	29	54	99	78	63	23	2	2		1	409	0.6-27.8	9.0	49.7
	育成 RC	16	13	28	49	29	11	2					148	0.5-15.9	7.28	52.5
	国外 FR	17	7	11	25	17	4	1	1				83	1.5-19.4	7.7	51.9
7S-4	野生 WD	49		3	13	37	20	6	6	1	3		138	4.0-26.5	12.3	32.7
	地方 LD	194		4	71	75	50	13	2				409	4.5-18.9	10.8	27.9
	育成 RC	69		1	49	23	3	3					148	3.5-16.1	8.8	28.4
	国外 FR	44		1	20	11	4	1	2				83	4.0-20.3	9.3	34.2
7S-5	野生 WD	36		2	13	36	33	11	5		2		138	4.9-31.9	13.3	29.1
	地方 LD	103		19	90	82	78	33	4				409	0.8-20.8	10.9	31.3
	育成 RC	53		7	43	27	16	2					148	0.7-17.3	9.1	34.2
	国外 FR	24	1	10	21	15	6	6					83	1.0-17.9	9.3	37.9
7S-6	野生 WD	85		2	7	14	24	2	2	1	1		138	4.4-25.6	12.1	40.6
	地方 LD	150	118	12	42	38	36	11	1	1			409	0.5-22.6	5.7	106.6
	育成 RC	56	39	7	26	14	4	2					148	0.6-15.7	4.9	102.9
	国外 FR	22	20	9	9	14	4	5					83	0.9-16.9	6.9	73.5

SG = subunit group; FR = Foreign.

2.2.3 11S/7S 比值的比较 表3显示,野生豆11S/7S 比值平均值在生态区之间差异很小(最高与最低相差0.6),以Ⅱ和Ⅴ区比值较高,最高比值出在Ⅱ区(3.9)。地方品种11S/7S 比值最高区(Ⅲ)比最低区(Ⅴ)仅差0.4,平均值以长江中下游二熟(Ⅲ)生态区地方品种较高,最高比值出在Ⅰ区(3.9),与野生豆相比区域内变异加大。育成品种11S/7S 比值平均值最高区(Ⅲ)比最低区(Ⅱ)仅高0.3,区域间差异在地方品种基础上进一步减少,最

高比值出现在Ⅲ区(4.0),育成品种的生态区内变异大于野生种但小于地方品种。

以上3个性状各个群体在各生态区内均有较大变异,区平均间差异较小,各区都有优良变异。Ⅲ区育成品种11S 相对含量、Ⅳ区野生豆7S 相对含量、Ⅲ区育成品种11S/7S 比值出现最高材料。

2.3 11S 和 7S 蛋白质及其亚基组相对含量与来源地纬度及其他性状的相关

对11S 和7S 及其亚基组相对含量与来源地纬

度以及和蛋白质和油脂含量的相关分析结果,11S、7S 及其亚基组相对含量和 11S/7S 比值在野生豆、地方品种和育成品种 3 个群体中均与来源地纬度无显著相关,说明各地区人工进化的力度相当。3 个群体中 11S、7S 和 11S/7S 比值与蛋白质和油脂含量无显著相关。11S 与 11S/7S 比值极显著正相关,7S 与 11S/7S 比值极显著负相关。11S 各个亚基组与 11S/7S 比值、11S 各个亚基组与 11S 微弱正相关,亚基组之间微弱负相关。7S 各个亚基组与 11S/7S 比值微弱负相关、7S 各个亚基组与 7S 微弱正相关,亚基组之间微弱负相关。相关分析结果说明 11S、7S、11S/7S 比值及其亚基组在全国各个生态区都可能存在优异种质,分别可以与高蛋白质或高油脂品种同时选育。

2.4 11S/7S 比值和亚基组相对含量资源的优选

由于无法将 11S 和 7S 组分完全分离,食品工业中仍然以 11S 和 7S 组分混合物为原料,但其中 11S

和 7S 的相对含量决定了原料的功能特性。11S/7S 比值可以反映 11S 和 7S 相对含量,高比值的种质可以直接作为食品加工原料降低分离提纯的成本。在 778 份种质中优选到 8 份 11S/7S 比值大于 3.7 的材料,优选率大约 1.03%。由表 5 可以看出,优选种质的 11S 相对含量为 78.9%~88.9%,已经接近于食品工业上采用“碱溶”、“酸沉”、“冷沉”等常用方法分离提取的 11S 含量,经过改良有可能成为 11S 组分的专用品种。8 份优异种质均来自于中国,5 份为育成品种,1 份为野生种质,2 份为地方品种,分布于 4 个生态区的 6 个省区,以Ⅱ区最多。

每个亚基组都有独特的功能特性,在表 5 中列出了相应的优选种质,可以看出 11S 的亚基组优异种质以地方品种和引进品种为主,相对含量大于 37%,而 7S 亚基组的优异种质以野生种为主,相对含量大于 24%(表 5),其他还有一批 11S 亚基组、7S 亚基组缺失的种质,因数量较多,此处不再一一列出。

表 5 入选特异种质
Table 5 Elite accessions screened out for 11S/7S ratio and subunit groups

名称	Name	生态区 Region	产地 Source province		11S/7S Ratio	11S	7S
11S/7S 比值 For 11S/7S ratio							
JN9816-02	JN9816-02	Ⅱ	山东	Shandong	3.71	78.95	21.26
扶隆豆	Fulongdou	Ⅵ	广西	Guangxi	3.75	78.94	21.04
九农 21	Jiunong 21	Ⅰ	吉林	Jilin	3.77	78.86	20.89
赖大豆	Laidadou	Ⅰ	甘肃	Gansu	3.86	79.44	20.56
南农 87C-38	Nannong87C-38	Ⅲ	江苏	Jiangsu	3.88	79.39	20.48
冀豆 12	Jidou12hao	Ⅱ	河北	Hebei	3.99	62.50	15.65
苏协 1 号	Suxie1hao	Ⅲ	江苏	Jiangsu	4.02	80.08	19.92
ZYD4187	ZYD4187	Ⅱ	江苏	Jiangsu	3.90	82.58	21.17
亚基组 For subunit group							
黑秣食豆	Heimoshidou	Ⅰ	内蒙古	Inner Mongolia	11S-1	37.10	
Odell	Odell		引进	Abroad	11S-2	39.45	
靳春酱色豆	Jinchunjiangsedou	Ⅲ	湖北	Hubei	11S-3	41.66	
Benning	Benning		引进	Abroad	11S-4	37.42	
ZYD5178	ZYD5178	Ⅴ	广东	Guangdong	7S-1	28.88	
ZYD4228	ZYD4228	Ⅲ	安徽	Anhui	7S-2	24.99	
香水豆	Xiangshuidou	Ⅰ	辽宁	Liaoning	7S-3	27.81	
ZYD4179	ZYD4179	Ⅱ	江苏	Jiangsu	7S-4	26.45	
ZYD3248	ZYD3248	Ⅱ	山东	Shandong	7S-5	31.92	
ZYD3229	ZYD3229	Ⅱ	山东	Shandong	7S-6	25.59	

3 讨论

3.1 关于大豆种质资源 11S 和 7S 蛋白质及其亚基组相对含量的变异

研究发现全国和各个生态区野生豆 11S、7S 及其亚基组相对含量和 11S/7S 比值都存在很大的自

然变异,有较多的各种亚基组缺失材料,11S 的亚基组平均缺失率为 3.4%,7S 的亚基组平均缺失率为 37.2%。各种亚基组缺失材料和不同含量的材料,可以用作遗传分析和杂交亲本,为改良栽培品种提供优良的基因。

大豆驯化后全国和各生态区栽培种质 11S、7S

及其亚基组相对含量和 11S/7S 比值的变异发生了变化。11S 相对含量平均值大幅度提高,同时,变异范围较大幅度下降;7S 相对含量平均值和变异幅度都明显下降。11S 的亚基组相对含量平均值以 11S-2 和 11S-3 的提高幅度较大,而 11S-1 的平均值略有下降,而变异幅度都有不同程度改变,11S-1 的缺失率为 6.1%,11S 的其它亚基组没有发现缺失现象,11S 的亚基组平均缺失率为 1.5%。7S 的亚基组相对含量平均值和变异幅度都不同程度降低了,平均缺失率为 27.4%。由此可见,对大豆长期的驯化和多方向的选择积累使 11S 及其亚基组相对含量越来越高,7S 及其亚基组相对含量越来越低,亚基组平均缺失率下降。

正是由于存在天然的亚基组缺失大豆种质,使早期研究者因研究的品种不同而得到了不同数量的亚基,特别是 11S-1 亚基组的缺失(分子量为 14.4~22 KDa),使 Sathe^[11]等报道的碱性亚基数目差异很大,Thanh 等^[20]在研究结果的报道中也没有 11S-1 亚基组内的碱性亚基。7S-1 亚基组的缺失,使许多研究者没有发现在该亚基组内的 γ 亚基,认为 7S 组分只有 2 个或 3 个亚基。因此,蛋白质组分及其亚基的研究结果与供试材料选择关系很大。

3.2 关于优选种质的利用

11S/7S 比值优选种质中 11S 相对含量约 80%,接近食品工业常用方法分离提取的 11S 组分的纯度,可以按照生态区有选择地直接作为 11S 专用品种使用,如在 I 区可以选择九农 29 号,在 II 区选择 JN9816-02,在 III 区选择南农 87C-38 和苏协 1 号。优选的地方品种和野生种质可以作为改良品种的亲本。专用品种对于食品工业而言可以大大降低成本,由于不需要采用酸碱处理,可以最大程度地减少对环境的污染。

亚基组优选种质的利用,由于亚基组的分离纯化十分困难,目前还不可能直接把某个亚基组提纯作为食品工业中的加工原料。前人在进行亚基遗传和功能特性研究时通常借助于诱变或野生种质的亚基缺失材料^[21]。从表 4 可以看出,除了野生种质外,在栽培种质中也有大量天然存在的亚基组缺失材料;作为某个亚基组的优选种质常伴随着另一个或多个亚基组的缺失,它们可以直接作为亚基组遗传和功能特性的研究材料,也可进行定向选择进一步提高其相对含量,为选育亚基组专用品种创造条件。

4 结论

在南京同一条件下,全国野生豆、地方品种和育成品种 11S 相对含量平均分别为 54.7%、64.8% 和 71.7%,变幅 28.8%~82.6%、38.8%~79.4% 和 48.2%~88.9%;7S 相对含量平均分别为 44.7%、34.9% 和 27.9%,变幅 20.6%~71.2%、20.6%~61.1% 和 15.7%~47.8%;11S/7S 比值平均分别为 1.4、2.0 和 2.7,变幅 0.4~3.9、0.6~3.9 和 0.9~4.0。野生豆驯化为栽培豆并经选育后 11S 相对含量和 11S/7S 比值上升,7S 相对含量下降,变幅均减小;亚基组 11S-2 和 11S-3 相对含量增加;7S 的 6 个亚基组,尤其 7S-1 和 7S-6,相对含量下降。11S、7S、11S/7S 在各群体各生态区内均有较大变异,与来源地纬度、蛋白质和油脂含量均无显著相关。从中优选到 11S/7S 比值大于 3.7、11S 相对含量为 78.9%~88.9% 的 8 份种质,发现有 11S 的 4 个亚基组相对含量分别大于 37%、7S 的 6 个亚基组相对含量分别大于 24%、以及 11S-1 和 7S 的 6 个亚基组缺失的种质,这些特异种质可供蛋白质组分育种利用。

参考文献

[1] Wolf W J, Briggs D R. Ultracentrifugal investigation of the effect of neutral salts on the extraction of soybean proteins[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1956, 63: 40-49.

[2] Shimada K, Matsushita S. Gel formation of soybean 7S and 11S proteins[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1980, 44(3): 637-641.

[3] Mujoo R, Trinh D T, Ng P K W. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to Tofu yield and texture[J]. Food Chemistry, 2003, 82: 265-273.

[4] 程翠林,王振宇,石彦国. 大豆蛋白亚基组成与 7S/11S 对豆腐品质及产率的影响[J]. 中国油脂, 2006, 31(4): 16-19. (Cheng C L, Wang Z Y, Shi Y G. Affection of subunit composition and 7S/11S in soybean on Tofu quality and output ratio[J]. China Oils Fats, 2006, 31(4): 16-19.)

[5] 胡超,黄丽华,李文哲. 大豆球蛋白 11S/7S 比值对大豆蛋白功能性的影响[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(1): 40-42. (Hu C, Huang L H, Li W Z. Affection of globin 11S/7S ratio in soybean on function property of protein[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2004, 19(1): 40-42.)

[6] Poyas V, Woodrow L, Yu K. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality[J]. Food Research International, 2006, 39: 309-317.

[7] Wolf W J, Briggs D R. Purification and characterization of the 11S component of soybean proteins[J]. Archives of Biochemistry and

- Biophysics, 1959, 85: 186-199.
- [8] Roberts R C, Briggs D R. Isolation and characterization of the 7S component of soybean globulins [J]. Cereal Chemistry, 1965, 42: 71-85.
- [9] Tsumura K, Saito T. Selective proteolysis of the glycinin and β -conglycinin fractions in a soy protein isolate by pepsin and papain with controlled pH and temperature [J]. Journal of Food Science, 2004, 69(5): 363-367.
- [10] Fontes E P B, Moreira M A, Davies C S. Urea-elicited changes in relative electrophoretic mobility of certain glycinin and β -conglycinin subunits [J]. Plant Physiology, 1984, 76: 840-842.
- [11] Sathe S K, Lilley G G, Mason A C. High-resolution sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of soybean (*Glycine max* L.) seed proteins [J]. Cereal Chemistry, 1987, 64: 380-384.
- [12] Scilingo A A, Anon M C. Characterization of soybean protein isolates. The effect of calcium presence [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2004, 81(1): 63-69.
- [13] Mahmoud A A, Natarajan S S. Effect of six decades of selective breeding on soybean protein composition and quality: A biochemical and molecular analysis [J]. Journal Agricultural Food Chemistry, 2006, 54(11): 3916-3922.
- [14] Tsubokura Y, Hajika M. Molecular characterization of a β -conglycinin deficient soybean [J]. Euphytica, 2006, 150: 249-255.
- [15] Samoto M, Maebuchi M. Abundant proteins associated with lecithin in soy protein isolate [J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 317-322.
- [16] Liu S H, Zhou R B, Tian S J, et al. A Study on subunit groups of soybean protein extracts under SDS-PAGE [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2007, 84: 793-801.
- [17] 盖钧镒, 汪越胜. 中国大豆品种生态区域划分的研究 [J]. 中国农业科学, 2001, 34(2): 139-145. (Gai J Y, Wang Y S. A study on the varietal eco-regions of soybeans in China [J]. Agricultural Sciences in China, 2001, 34(2): 139-145.)
- [18] 盖钧镒. 试验统计方法 [M]. 北京: 农业出版社, 2000: 99-143. (Gai J Y. Methods of experimental statistics [M]. Beijing: Agricultural Press, 2000, 99-143.)
- [19] 盖钧镒. 植物种质群体遗传结构改变的测度 [J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(1): 1-8. (Gai J Y. Indicators related to genetic structure changes of plant germplasm population [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(1): 1-8.)
- [20] Thanh V H, Okubo K, Shibasaki K. The heterogeneity of the 7S soybean protein by sepharose gel chromatography and disc gel electrophoresis [J]. Agricultural Biology Chemistry, 1975, 39: 1501-1503.
- [21] Manjaya J G, Suseelan K N. Radiation induced variability of seed storage proteins in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] [J]. Food Chemistry, 2007, 100(4): 1324-1327.

欢迎订阅 2010 年《分子植物育种》

《分子植物育种》是一份为转基因育种、分子标记辅助育种及常规育种服务的科学杂志。于 2003 年创刊, 创刊伊始即被美国化学文摘 (CA), 中国科学引文数据库、中国科技期刊全文数据库、中国引文数据库、中国科技期刊数据库、中文科技期刊数据库, 中国核心期刊 (遴选) 数据库, 中国生物学文摘和中国生物学数据库等多家中外文献数据库收录。《分子植物育种》已建立了全英文的期刊网站, 定期发布学术动态、出版信息及期刊近期目录等, 实现作者编者读者同步分享。

《分子植物育种》包括专题评述、研究论文、研究报告、专题介绍、学位论文简报、新基因新种质新品种、新思路新技术新方法和信息索引等栏目。主要围绕水稻、小麦、玉米、油菜、大豆、棉麻、薯类、果树、蔬菜、花卉、茶叶、林草等方面。

欢迎订阅《分子植物育种》, 单月 28 日出版, 国内定价: ¥40.00/期, ¥240.00/年; 国际定价: \$20.00/期, \$120.00/年。国内统一刊号: CN46-1068/S, 国际标准刊号: ISSN 1672-416X, 邮发代号: 84-23。订户可到当地邮局订阅, 或直接汇款至编辑部, 免收邮费。

地址: 海南省海口市海秀大道 128 号双岛公寓 13B 室

邮编: 570206

联系电话: 0898-68966415

传真: 0898-68958180

E-mail: mpb@hibio.org, mpb@molplantbreed.org

网址: www.molplantbreed.org