

东北大豆品种贮藏蛋白 7S 和 11S 组分及其亚基相对含量分析

刘香英,康立宁,田志刚,张井勇,杨春明,王景会,姜媛媛,张 莉

(吉林省农业科学院 农产品加工研究中心,吉林 长春 130033)

摘 要:利用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了黑龙江、吉林、辽宁和内蒙古 4 省(区)近 10 a 来通过审定的 163 个大豆品种的 11S 和 7S 球蛋白亚基组成、相对百分含量和 11S/ 7S 比值,并对其进行了省份间比较分析和相关性分析。结果表明:品种间大豆蛋白各亚基的相对含量存在较大差异;163 份供试材料的 7S、11S 球蛋白平均相对含量分别为 28.95% 和 56.30%,变幅分别为 18.40% ~ 36.20% 和 47.90% ~ 71.50%,11S/7S 比值的变异幅度在 1.34 ~ 3.32 之间,平均值为 1.97;初步筛选出 α 和 A3 缺失或稀少的特异大豆品种 9 份;吉林、黑龙江、辽宁和内蒙古 4 个地区大豆群体蛋白亚基组成及 11S/7S 比值存在显著差异。7S 和 11S 组分含量间存在极显著的负相关($r = -0.2862, P < 0.01$)。东北大豆品种贮藏蛋白 7S 和 11S 组分及其亚基相对含量存在显著变异,为大豆品质育种和豆制品加工原料选择提供了丰富的物质基础。

关键词:大豆;贮藏蛋白组分;球蛋白;SDS-PAGE;亚基

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2009)06-0985-05

Analysis of 7S and 11S Globulin and Subunit Content of Soybean in Northeast China

LIU Xiang-ying, KANG Li-ning, TIAN Zhi-gang, ZHANG Jing-yong, YANG Chun-ming, WANG Jing-hui, JIANG Yuan-yuan, ZHANG Li

(Research Center for Processing of Agricultural Products of Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, Jilin, China)

Abstract: The contents of 7S and 11S globulins and their respective subunits, and the 11S/7S ratios were tightly associated with the nutrition and processing properties of soybean protein. The relative percentage content of 11S and 7S and the 11S/7S value of 163 soybean cultivars from Northeast China were investigated by SDS-PAGE method. Results showed the content of protein subunits varied greatly among varieties, the average content and variation range of 11S and 7S globulin were 56.30% and 28.95%, 47.90% - 71.50% and 18.40% - 36.20%, respectively; 11S/7S value ranged from 1.34 to 3.32, with an average of 1.97; nine accessions screened from 163 germplasm showed polymorphism of band type for the subunit relative contents. 11S/7S value was significantly different among the four cultivated regions; remarkably negative correlation existed between the relative contents of 7S and 11S globulins ($r = -0.2862, P < 0.01$). Results suggest the subunit composition and their relative content of the storage protein 7S and 11S from Northeast China had remarkable variation, which would provid rich material for the soybean quality breeding.

Key words: *Glycine max* (L.); Storage protein; Globulin; SDS-PAGE; Subunit

大豆种子贮藏蛋白是食用植物蛋白的重要来源,其营养价值与肉类蛋白相当,含有人体自身不能合成的 8 种必需氨基酸,并且具有抗肿瘤、预防心血管病、增强免疫能力等功能^[1-5]。与其它植物蛋白比较,大豆球蛋白中氨基酸组成比较齐全,尤其富含赖氨酸,但其营养品质受到含硫氨基酸的影响。大豆贮藏蛋白以球蛋白居多,占大豆总蛋白的 70% ~

80%^[6],主要包括 11S 球蛋白和 7S 伴球蛋白。

11S 球蛋白由酸性亚基 A (MW35 000) 和碱性亚基 B (MW20 000) 组成,其聚合体分子量为 350 000 道尔顿,由 6 个不同的亚单位(多肽)组成,每个亚单位分别由 1 个酸性亚基 A 和 1 个碱性亚基 B 通过二硫键连接而成;7S 伴球蛋白主要指 β 副球蛋白的 α' (MW72 000)、 α (MW68 000) 和 β

收稿日期:2009-05-22

基金项目:吉林省农科院引进人才启动基金资助项目(00105);吉林省科技发展计划资助项目(20070105)。

第一作者简介:刘香英(1981-),女,硕士,研究实习员,现主要从事大豆加工方面的研究工作。

通讯作者:康立宁,博士,副研究员。E-mail:lnkang@sina.com。

(MW52 000)3 种亚基^[7-9]。11S 组分和 7S 组分由于氨基酸组成不同,其含量比值(11S/7S)直接影响大豆产品的质量^[10-13],从而影响大豆蛋白的应用价值^[14]。11S 球蛋白的含硫氨基酸含量是 7S 球蛋白的 5~6 倍,蛋白品质好,豆制品的营养价值高,因此选育高 11S 球蛋白含量的大豆品种可提高大豆蛋白制品的营养价值^[15],另外,11S 中含有丰富的二硫键及-SH,所以它所形成的凝胶硬度强;而 7S 分子中二硫键及-SH 少,所以凝胶的硬度低,但因赖氨酸含量比 11S 高,因而乳化性好^[16]。由于 11S 和 7S 球蛋白对于大豆球蛋白的营养品质和加工品质影响作用较大,因此利用不同大豆品种来研究和了解我国东北地区大豆品种球蛋白的亚基组成与变异类型,对充分利用大豆资源,提高资源利用效率有非常重要的意义。

利用 SDS-PAGE 法分析了东北地区 163 份大豆品种的球蛋白 11S 和 7S,计算了每个大豆品种 11S 和 7S 球蛋白及其亚基的相对含量以及 11S/7S 比值,并对 11S/7S 比值等的分布特点进行了探讨,为传统豆制品(豆腐等)的工业化提供基本数据支持,为大豆品质育种和豆制品加工业原料选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以研究室 2008 年 3 月收集的黑龙江、吉林、辽宁及内蒙古 4 省(区)近 10 a 来通过审定的 163 个大豆品种为材料。其中吉林 68 个,辽宁 71 个,黑龙江 12 个,内蒙古 12 个。

1.2 蛋白样品液的制备

将待测的大豆种子磨成粉,加乙醚脱脂过夜,得到脱脂豆粉。然后取 0.25 g 豆粉,加 5 mL 蛋白提取液(50 mmol·L⁻¹ 的 Tris-HCl pH8.0,0.01 mol·L⁻¹ 的 β-巯基乙醇),室温下提取 1 h(其间每 10 min 涡旋混匀 1 次),室温 10 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清,用 1 mol·L⁻¹ HCl 调 pH 值至 4.5,沉淀总球蛋白,再 5000 r·min⁻¹ 离心 10 min,弃上清,沉淀经真空低温干燥后即为大豆蛋白,备用。

将球蛋白 1.5 mg 溶解于 500 μL 样品缓冲液中(1% SDS;0.01 mol·L⁻¹ β-巯基乙醇;0.5 mol·L⁻¹ Tris-HCl pH6.8;50% 甘油;1% 溴酚蓝),其浓度为 0.3%,震荡至全部溶解。盖紧盖子,置于 100℃ 水浴中加热 3 min,取出冷却至室温,样品溶液置于

4℃ 冰箱内备用。点样前涡旋混匀。

1.3 SDS-PAGE 电泳

采用 Bio-Rad 公司的垂直板 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳仪(Mini-PROTEAN Tetra),浓缩胶浓度 5%,电流 10 mA,分离胶浓度 13%,电流 12 mA;用考马斯亮蓝 R-250 染色;采用甲醇、冰醋酸溶液脱色(水:甲醇:乙酸=3:1:6)。

1.4 数据获得与处理方法

用 Bio-Rad 公司的凝胶成像系统对电泳后的凝胶拍照,利用 Bio-Rad 公司的 Quantity one 4.1 软件分析蛋白谱带,得到大豆贮藏蛋白的亚基类型和含量数据,再用 Excel 和 DPS 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 贮藏蛋白亚基电泳图谱

参照 Teraishi^[17]的结果以及相对分子量,将 7S 组分分为 α′、α 和 β 3 种亚基,11S 组分分为 A3、酸性亚基(Acidic Subunits,AS)和碱性亚基(Basic Subunits,BS)3 部分(图 1)。从图 1 中可以看出,大豆种子贮藏蛋白品种间亚基组成基本一致,但是品种间相同亚基含量差异很大。

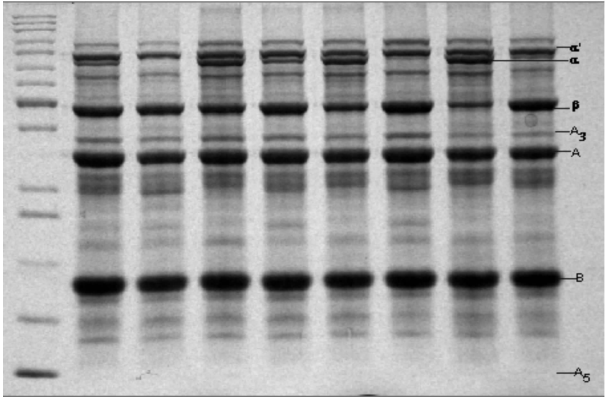


图 1 大豆贮藏蛋白亚基 SDS-PAGE 电泳图谱
Fig.1 SDS-PAGE pattern of storage protein subunits of soybean

2.2 11S 与 7S 组分及其亚基含量的总体水平

从 163 份大豆样本总体来看(表 1),东北地区(黑、吉、辽、内蒙 4 省(区))近 10 a 来通过审定的大豆品种 11S 组分的平均相对含量为 56.30%,变化幅度在 47.90%~71.50%之间,说明不同品种之间 11S 组分含量变化较大,具有丰富的遗传多样性。11S 组分的组成亚基以碱性亚基(BS)平均相对含量较高,为 28.41%,其次为酸性亚基(AS),平均相对含量为 22.64%,而 A3 亚基平均相对含量最低,

为 4.02%。但 A3 亚基的变异最大,变异系数达 29.13%,而 AS、BS 的变异相对较小,变异系数分别为 11.26% 和 8.44%。

7S 组分的平均相对含量为 28.95%,变化幅度在 18.40% ~36.20% 之间,变异系数 10.81%,高于 11S 组分的变异。7S 组分的组成亚基以 β 亚基平均相对含量较高,为 11.47%,其次为 α' 和 α 亚基,其平均相对含量分别为 9.70% 和 9.25%。不同品种间 7S 组分的 3 种组成亚基中 α' 和 β 相对含量的变异均较大,其变幅分别为 6.20% ~ 20.50% 和 5.70% ~ 22.60%,变异系数依次为 33.22% 和 25.48%。说明不同品种间 7S 组分及其组成亚基的遗传多样性更为丰富。

不同品种间 11S/7S 比值的变幅在 1.34 ~3.32 之间,平均 1.97,变异系数达 14.53%。说明东北地区近 10 a 育成的大豆品种 11S/7S 比值具有丰富的遗传变异,这为优异品种的开发利用提供了便利条件。

2.3 不同省份大豆品种 11S 和 7S 组分及其比值的比较

方差分析表明(表 2),吉林和内蒙古大豆品种的 7S 平均相对含量显著高于黑龙江和辽宁的品种;内蒙古大豆品种的 11S 平均相对含量显著高于吉林和辽宁的品种;黑龙江大豆品种的 11S/7S 比值显著高于吉林和内蒙古的品种。

表 1 大豆种子贮藏蛋白 11S 和 7S 组分及其亚基含量和 11S/7S 比值

Table 1 Contents of 11S and 7S and the ratio of 11S to 7S of soybean seed proteins

项目	平均值	标准差	变幅	变异系数
Item	Mean/%	Standard of deviation/%	Range of variation/%	Coefficient of variation
11S	56.30	4.08	47.90 ~71.50	7.26
A3	4.02	1.17	1.10 ~5.50	29.13
AS	22.64	2.55	16.30 ~28.40	11.26
BS	28.41	2.40	20.80 ~37.60	8.44
7S	28.95	3.13	18.40 ~36.20	10.81
α'	9.70	3.24	6.20 ~20.50	33.22
α	9.25	1.82	4.40 ~11.60	19.63
β	11.47	2.92	5.70 ~22.60	25.48
11S/7S	1.97	0.29	1.34 ~3.32	14.53

从不同省份大豆品种 11S 和 7S 组分平均相对含量的变化幅度来看,7S 含量的变化幅度以吉林省育成的品种最大,变幅为 18.40% ~ 36.20%,变异系数达 12.02%,其次为黑龙江和辽宁省。11S 含量的变化幅度以黑龙江省育成的大豆品种最大,变幅为 47.90% ~71.50%,变异系数达 8.44%,其次为内蒙古。11S/7S 比值的变化幅度以吉林省最大,变幅为 1.34 ~3.32,变异系数达 17.74%,其次为黑龙江和辽宁的品种。总体而言,各省(区)大豆品种 11S 和 7S 组分及其比值都存在较大变异,这为地域性种质资源的利用提供了依据。

表 2 吉林、黑龙江、辽宁、内蒙古 4 个大豆群体 7S、11S 球蛋白含量的变异分析

Table 2 7S and 11S globulin content among different geographical regions (Jilin ,Heilongjiang ,Liaoning ,Inner Mongolia)/%

球蛋白	地区	平均值	标准差	最大值	最小值	极差	变异系数
Globulin	Region	Average	Std.	Max.	Min.	Range	Variable efficient
7S	吉林 Jilin	30.08a	3.61	36.20	18.40	17.80	12.02
	黑龙江 Heilongjiang	27.62b	2.23	33.80	24.00	9.80	8.06
	辽宁 Liaoning	28.15b	2.37	31.70	24.40	7.30	8.41
	内蒙古 Inner Mongolia	30.14a	1.93	33.40	27.60	5.80	6.41
11S	吉林 Jilin	54.62b	3.30	61.50	48.00	13.50	6.04
	黑龙江 Heilongjiang	57.14ab	4.82	71.50	47.90	23.60	8.44
	辽宁 Liaoning	55.05b	2.94	60.50	48.70	11.80	5.35
	内蒙古 Inner Mongolia	57.77a	4.78	66.20	51.40	14.80	8.28
11S/7S	吉林 Jilin	1.85b	0.33	3.32	1.34	1.98	17.74
	黑龙江 Heilongjiang	2.08a	0.22	2.51	1.52	0.99	10.43
	辽宁 Liaoning	1.97ab	0.25	2.41	1.54	0.87	12.75
	内蒙古 Inner Mongolia	1.92b	0.17	2.16	1.54	0.62	8.94

标有不同字母的表示采用 Tukey 法进行多重比较时,在 5% 水平上存在显著差异。

Marked with different letters that used Tukey method of multiple comparisons and there are significant differences at the 5% level.

2.4 11S、7S 及其亚基以及 11S/7S 比值之间的相关性分析

表 3 表明:7S 组分与其 3 个组成亚基 α' 、 α 和 β 之间均存在极显著正相关,亚基之间的相关性分析显示, α 亚基与 α' 亚基之间呈显著正相关,而 α 亚基与 β 亚基呈极显著负相关。11S 组分与其 3 个组成亚基 A3、AS 和 BS 之间均存在显著或极显著正相关,亚基之间的相关性分析显示,A3 与 AS

亚基间呈极显著正相关,而 A3 与 BS、AS 与 BS 亚基间相关不显著。

7S 组分和 11S 组分呈极显著负相关。其中 7S 组分的 α' 和 β ,11S 组分的 AS 与 BS 贡献较大,因为 7S 组分与 11S 组分的 AS、BS 以及 11S 组分与 7S 组分的 α' 、 β 亚基均达显著或极显著负相关水平。11S/7S 比值与 11S 组分、AS 亚基、BS 亚基均呈极显著正相关,而与 7S 组分及其各组成亚基均呈极显著负相关。

表 3 11S、7S 及其亚基以及 11S/7S 比值之间的相关性分析
Table 3 Correlation among the relative contents of the 11S,7S fraction and their composing subunits

相关系数	α'	α	β	A3	AS	BS	7S	11S
α	0.1900 *							
β	0.0566	-0.2876 **						
A3	0.0825	0.1634	-0.2874 **					
AS	-0.0328	0.0572	-0.2438 **	0.2196 **				
BS	-0.3307 **	-0.0342	-0.2949 **	-0.0465	-0.1577			
7S	0.5639 **	0.4081 **	0.6681 **	-0.1060	-0.1779 *	-0.3931 **		
11S	-0.2306 **	-0.0131	-0.2281 **	0.1810 *	0.4008 **	0.5185 **	-0.2862 **	
11S/7S	-0.5197 **	-0.3008 **	-0.6261 **	0.1361	0.2893 **	0.5754 **	-0.8877 **	0.6604 **

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 亚基缺失大豆品种的发现

在 163 份大豆品种中初步筛选出 α 亚基缺失材料 3 份,分别为垦丰 10、垦丰 14、垦丰 17; α 亚基含量稀少材料 3 份,分别为垦丰 9、垦丰 12、垦丰 16; A3 亚基缺失或稀少材料 4 份,分别为垦丰 17、垦丰 18、垦丰 19、垦丰 20,其中垦丰 17 既缺失 α 亚基又缺失 A3 亚基。关于亚基缺失品种的严格鉴定,还需要进一步验证。这些特殊种质的鉴定不仅为大豆育种中亲本的选择提供了信息,而且为豆制品生产在原料选择上提供了参考。

3 结论与讨论

大豆籽粒贮藏蛋白 7S 和 11S 组分含量及 11S/7S 比值与大豆蛋白的营养价值和加工特性密切相关。获得具不同 7S 和 11S 组分含量、不同 11S/7S 比值的种质材料是对大豆蛋白的营养价值和功能特性进行遗传育种改良的重要材料基础。

利用 SDS-PAGE 法分析了收集的东北地区已通过审定的 163 个大豆品种的 11S 和 7S 球蛋白亚基组成、相对百分含量和 11S/7S 比值,并对吉林、黑龙江、辽宁和内蒙古 4 个地区的资源材料进行了分析和比较,结果表明,不同品种间组成大豆球蛋白各亚基的含量存在较大差异。

163 份供试材料的 11S 组分和 7S 组分的平均相对含量分别为 56.30% 和 28.95%,变化幅度分别

为 47.90% ~ 71.50% 和 18.40% ~ 36.20%,不同品种间 11S/7S 比值的变幅在 1.34 ~ 3.32 之间,平均为 1.97,变异系数达 14.53%,说明不同大豆品种之间 11S 组分、7S 组分含量及其比值变化较大,具有丰富的遗传多样性,这为优异品种的开发利用提供了便利条件。

大豆球蛋白含量的地域差异分析结果表明,吉林、黑龙江、辽宁和内蒙古 4 个地区大豆群体间的 7S 含量和 11S 含量差异显著,其中 7S 含量和 11S/7S 比值的变化幅度以吉林最大,黑龙江、辽宁次之,内蒙古最小。而 11S 含量的变化幅度则以黑龙江最大,内蒙古、吉林次之,辽宁最小。

相关性分析表明,7S 组分和 11S 组分与其相应的组成亚基间均存在显著或极显著正相关。亚基之间的相关性分析显示, α 亚基与 α' 亚基之间呈显著正相关,而 α 亚基与 β 亚基呈极显著负相关,A3 与 AS 亚基间呈极显著正相关,而 A3 与 BS、AS 与 BS 亚基间相关不显著。7S 组分和 11S 组分呈极显著负相关。11S/7S 比值与 11S 组分、AS 亚基、BS 亚基均呈极显著正相关,而与 7S 组分及其各组成亚基均呈极显著负相关。

另外,在 163 份大豆种质中还分别筛选出 α 亚基缺失、 α 亚基含量稀少和 A3 亚基缺失或稀少材料共 9 份,其中垦丰 17 既缺失 α 亚基又缺失 A3 亚基。这些特殊种质的鉴定不仅为大豆育种中亲本的

选择提供了信息,而且为豆制品生产的原料选择提供了参考。

参考文献

[1] 李富山,常汝镇,舒世珍,等.栽培、野生、半野生大豆蛋白质含量及氨基酸组成的初步分析[J].大豆科学,1986,5(1):65-71. (Li F S,Chang R Z,Shu S Z,et al. Cultivated, wild, semi-wild soybean protein content and amino acid composition of the preliminary analysis[J]. Soybean Science,1986,5(1):65-71.)

[2] 陈绍江,张国栋.大豆贮藏蛋白氨基酸组成与遗传密码的相关研究[J].东北农业大学学报,1994,25(2):105-109. (Chen S J,Zhang G D. Study on the relationship between amino acid composition and genetic code in soybean storage protein[J]. Journal of Northeast Agricultural University,1994,25(2):105-109.)

[3] 刘至胜,李里特,辰己英三.大豆蛋白质的营养品质和生理功能研究进展[J].大豆科学,2000,19(3):263-266. (Liu Z S,Li Lite,Eiso Tatsumi. Nutritional quality and physiological functions of soy protein;A Review[J]. Soybean Science,2000,19(3):263-266.)

[4] 张新会,杨晓泉.大豆蛋白摄入与冠心病关系的研究进展[J].粮食与油脂,2001(6):6-9. (Zhang X H,Yang X Q. The relationship between soy protein and CHD[J]. Food and Oil,2001(6):6-9.)

[5] 江和源,吕飞杰,郇建祥.大豆中生物活性成分及其功能[J].大豆科学,2000,19(2):162-163. (Jiang H Y,Lv F J,Tai J X. Bioactive components of soybean and their fuction[J]. Soybean Science,2000,19(2):162-163.)

[6] Meng X X. Summarization about breeding of soybean qualification [J]. Chinese Agricutrural Science Bulletin,1992,8(2):14-17.

[7] Mori T,Utsumi S,Inaba H,et al. Differences in subunit composition of glycinin among soybean cultivars[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1981,29:20-23.

[8] Nieson N C. The structure and complexity of the 11S polypeptide in

soybean[J]. Journal of American Oil Chemists Society,1985,49:2733-2740.

[9] Staswick P E,Hermodson M A,Nielson N C. Identification of cystines which link the acidic and basic components of glycinin subunits [J]. Journal of Biological Chemistry, 1984, 259: 13431-13435.

[10] Kriboruchco D, Kaba H, Sambucetti M E, et al. Maturation time and some seed composition characters affecting nutritive value in soybean varieties [J]. Cereal Chemistry,1979,56(4):217-219.

[11] Murphy P A,Chen H P,Hauck C C,et al. Soybean storage protein composition and tofu quality [J]. Food Technology,1997,51:86-88.

[12] Murphy P A,Resurreccion A P. Varietal and environmental differences in soybean glycinin and β -conglycinin content [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1984,32:911-915.

[13] Cai T, Chang K C. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with Tofu quality [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1999,47:720-727.

[14] Utsumi S, Kinsella J E. Structure- function relationships in food proteins:subunit interactions in heat-induced gelation of 7S,11S and soy isolate proteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1985,33(2):297-303.

[15] 姜振峰,陈庆山,杨庆凯,等.大豆种质资源贮藏蛋白亚基研究[J].东北农业大学学报,2006,37(5):596-603. (Jiang Z F, Chen Q S,Yang Q K,et al. Analysis of subunits of storage protein of soybean germplasms resources[J]. Journal of Northeast Agricultural University,2006,37(5):596-603.)

[16] Wagner J R,Gueguen J. Surface functional properties of native,acid-treated,and reduced soy glycinin emulsifying properties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1999,47(6):2181-2187.

[17] Teraishi M ,Takahashi M ,Hajika M,et al. Suppression of soybean β -conglycinin genes by a dominant gene,Seg-1 [J]. Theoretical and Applied Genetics,2001,103:1266-1272.

(上接第 984 页)

[14] 宋扬,吴存祥,侯文胜,等.对引进的美国大豆品种进行转基因成分的检测[J].大豆科学,2005,24(2):116-120. (Song Y,Wu C X,Hou W S,et al. Indentification of the transgenic elements in the introduced America soybean lines[J]. Soybean Science,2005,24(2):116-120.)

[15] 王家宝,王留明,沈法富,等.环境因素对转 Bt 基因棉 Bt 杀虫蛋白表达量的影响[J].山东农业科学,2000(6):4-6. (Wang J B,Wang L M,Shen F F,et al. Effect of environment elements on Bt-protein content in transgenic Bt cotton[J]. Shandong Agricultural Sciences,2000(6):4-6.)

[16] Traore S B,Carlson R E,Picher C D,et al. Bt and non-Bt maize growth and development as affect by temperature and drought stress [J]. Agronomy Journal,2000,92(5):1027-1035.

[17] 王冬妍,王振营,何康来,等. Bt 玉米杀虫蛋白的时空表达及对亚洲玉米螟的杀虫效果[J].中国农业科学,2004,37(8):1155-1159. (Wang D Y,Wang Z Y,He K L,et al. Temporal and

spatial expression of Cry1Ab toxin in transgenic Bt corn and its effects on Asian corn borer[J]. Scientia Agricultura Sinica,2004,37(8):1155-1159.)

[18] Padgett S R,N B Taylor,D L Nida,et al. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to conventional soybeans[J]. Journal of Nutrition,1995,126:702-716.

[19] Harrison L,M Bailey,M Naylor,et al. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from Agrobacterium sp. strain CP4,is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice[J]. Journal of Nutrition,1996,126:728-740.

[20] Padgett S R,D B Re,G F Barry,et al. New weed control opportunities;Development of soybeans with a roundup ready gene[M]//Herbicide-resistant Crops;Agricultural,Environmental,Economic,Regulatory,and Technical Aspects. S. O. Duke. CRC Press, New York. ,1996:53-84.