



贵州地方大豆种质资源 7S 和 11S 球蛋白及其亚基组分含量分析

娄利娇^{1,2}, 陈佳琴^{1,2}, 杨春杰¹, 谭春燕¹, 徐 熙¹, 龚锡震^{1,2}, 何 兵^{1,2}, 朱星陶^{1,2*}

(1. 贵州省农业科学院 油料研究所, 贵州 贵阳 550009; 2. 贵州金瑞农业科技有限公司, 贵州 贵阳 550009)

摘 要:为明确贵州地方大豆种质资源的贮藏蛋白组分及其亚基组分含量情况,本研究利用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 对 107 份大豆种质资源的 7S 和 11S 球蛋白及其亚基组分、11S/7S 比值进行分析。结果表明:贵州省不同地方大豆种质资源间蛋白组分及其亚基组分含量存在明显差异;7S 和 11S 球蛋白的平均值分别为 17.35% 和 44.27%, 变异系数分别为 28.13% 和 15.14%, 11S/7S 比值范围为 1.47~6.48, 平均值为 2.74, 变异系数为 29.48%; 7S 与 11S 球蛋白含量之间呈极显著负相关, 7S 和 11S 球蛋白与蛋白质、油脂含量之间无显著相关性;筛选出了 11S/7S 比值大于 3 的材料 27 份, 11S/7S 比值大于 3 且亚基组成完整的材料 4 份;蛋白亚基组分优异的材料 6 份, 其中 α 亚基缺失材料 3 份, α' 、 α 亚基缺失材料 1 份, α' 、 α 、 A_3 和 A_4 亚基缺失材料 1 份, A_3 亚基缺失材料 1 份, 这些优异资源材料可为加工专用或特殊用途大豆品种的选育和改良提供遗传基础和参考。

关键词: 贵州; 大豆; 贮藏蛋白; 亚基组成

Analysis of 7S and 11S Globulin and Its Subunit Components in Local Soybean Germplasm Resources in Guizhou Province

LOU Lijiao^{1,2}, CHEN Jiaqin^{1,2}, YANG Chunjie¹, TAN Chunyan¹, XU Xi¹, GONG Xizhen^{1,2}, HE Bing^{1,2}, ZHU Xingtao^{1,2*}

(1. Guizhou Oil Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550009, China; 2. Guizhou Jinrui Agricultural Technology Co., Ltd., Guiyang 550009, China)

Abstract: To identify the storage protein components and their subunit contents in local soybean germplasm resources of Guizhou province, the study employed polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) to analyze the 7S and 11S globulin and their subunit components, as well as the 11S/7S ratio, across 107 soybean varieties. The results indicated significant differences in protein components and their subunit contents among various local soybean germplasm resources in Guizhou province; the average values and coefficients of variation for 7S and 11S globulin were 17.35%, 28.13%, and 44.27%, 15.14%, respectively, with the 11S/7S ratio ranging from 1.47 to 6.48, averaging 2.74 with a coefficient of variation of 29.48%; a highly significant negative correlation was observed between 7S and 11S globulin, while no significant correlations were found between 7S and 11S globulin and protein or oil; 27 materials with a 11S/7S ratio exceeding 3 were identified, along with 4 materials with a ratio exceeding 3 and complete subunit composition; 6 materials with superior protein subunit components were identified, including 3 with α subunit deficiency, 1 with α' and α subunit deficiency, 1 with α' , α , A_3 , and A_4 subunit deficiency, and 1 with A_3 subunit deficiency, providing a genetic foundation and reference for the breeding and improvement of specialized or special-purpose soybean varieties.

Keywords: Guizhou province; soybeans; storage protein; subunit composition

大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 是我国重要的油料作物之一, 其籽粒中贮藏的优质植物蛋白含量约为 40%。大豆种子贮藏蛋白在种子形成过程中逐渐合成和积累, 是种子萌发所需氨基酸和氮的主要来源, 同时也是一种重要的优质食用植物蛋白, 其主要成分是大豆球蛋白和伴大豆球蛋白, 这两类球蛋白的沉降系数分别为 11S (300~370 kDa) 和 7S (140~180 kDa), 又称为 11S 球蛋白和 7S 球蛋白, 约占种子总蛋白的 70%^[1-3]。11S 球蛋白在 SDS-PAGE 时可以分为酸性亚基 (37~45 kDa) 和碱性亚

基 (18~20 kDa), 目前酸性亚基主要有 6 种肽链 A1a、A1b、A2、A3、A4 和 A5, 碱性亚基有 5 种肽链 B1a、B1b、B2、B3 和 B4, 酸性亚基和碱性亚基形成独特的酸性-碱性对, 再通过疏水相互作用和二硫键堆积成六聚体非糖蛋白^[1,4,6]。7S 球蛋白在 SDS-PAGE 时可分为 3 个亚基 α' (71 kDa)、 α (67 kDa) 和 β (50 kDa), 3 个亚基通过氢键和疏水相互作用连接成三聚体糖蛋白^[1,5,6]。研究发现, 大豆种子贮藏蛋白 7S 和 11S 组分含量及其亚基组成与大豆蛋白的溶解性^[7,8]、乳化性^[9,10]、凝胶性^[11-13] 等加工特性密

收稿日期: 2024-11-04

基金项目: 国家自然科学基金 (31860339); 贵州省重大科技成果转化项目 (黔科合成果 [2022] 重点 007); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-004-CES28); 贵州省科研机构创新能力建设项目 (黔科合服企 [2023] 006); 贵州省山地农业关键核心技术攻关项目 (CZNYGJHX-2023015)。

第一作者: 娄利娇, 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事大豆遗传育种与大豆制品加工研究。E-mail: lijiaolou@126.com。

通讯作者: 朱星陶, 男, 研究员, 主要从事大豆育种与栽培研究。E-mail: zhuxingtao@vip.sina.com。

切相关。7S 球蛋白具有高乳化性,高 7S 球蛋白品种适宜于制作豆浆、豆乳等产品^[14];11S 球蛋白具有高凝胶性,高 11S 球蛋白品种适宜于制作豆腐、豆干等产品^[15]。7S 和 11S 球蛋白含量对大豆蛋白的功能性质起决定性作用,在品种选育过程中可通过调整 11S/7S 的比例,改善大豆蛋白的营养品质和加工特性。因此,挖掘开发优异大豆蛋白种质资源具有十分重要的意义。

目前大豆 7S 和 11S 球蛋白的开发和利用、大豆蛋白亚基组成分析鉴定及亚基缺失优异种质鉴定等也是国内外研究学者的研究热点之一。高慧慧等^[16]利用 SDS-PAGE 分析了我国大豆种质资源库 2 713 份大豆种质的蛋白亚基组成,筛选出 7S 球蛋白亚基完全缺失型、 α' 亚基缺失型、 α 亚基缺失型、 β 亚基缺失型等大豆蛋白亚基组成特异种质资源 15 份。彭任文^[17]测定了 725 份大豆种质贮藏蛋白 7S 和 11S 球蛋白含量,筛选出了高 7S 球蛋白、低 7S 球蛋白、高 11S 球蛋白、低 11S 球蛋白和 11S/7S 比值 5.17 的品种各 1 份。刘珊珊等^[18]对中国和越南 850 份大豆种质资源的贮藏蛋白亚基组成进行了鉴定,检测到 7S 球蛋白 β 亚基少型种质,11S 球蛋白 A_3 、 A_4 亚基缺少或减少的类型种质。刘香英等^[19]检测了 163 份东北大豆品种贮藏蛋白 7S 和 11S 球蛋白平均含量分别为 28.95% 和 56.30%,11S/7S 比值平均值为 1.97,筛选出 α 亚基和 A_3 亚基缺失或稀少的特异大豆品种 9 份。James 等^[20]研究发现 11S 球蛋白的 A_4 亚基缺失与种植大小、豆腐的硬度和保水性呈正相关。Poysa 等^[21]研究发现含有 11S 球蛋白 A1A2 亚基的大豆制作豆腐的质构特性更好,7S 球蛋白 α' 亚基的缺失可增加豆腐的凝胶强度。

贵州被誉为“生态之州”,地理特征独特、生态环境多样,蕴藏有丰富的大豆种质资源。目前,关于贵州大豆种质资源蛋白质组分及其亚基组成的研究鲜见报道。因此,本研究以贵州省不同地理生态环境的地方大豆栽培品种为研究材料,从大豆贮藏蛋白组分及其亚基组成方面分析贵州地方栽培大豆品种的蛋白组成,对大豆种质资源的利用、遗传育种、品种改良和加工运用具有重要意义。本研究利用 SDS-PAGE 电泳技术,对贵州 107 个地方栽培大豆种质资源的蛋白组分及其亚基组成进行表型鉴定,分析贵州部分大豆种质资源的 7S 和 11S 球蛋白及其亚基组分含量、11S/7S 比值,筛选优异材料,解析各亚基的相关性,探究地理来源对大豆 11S/7S 比值的影响,为大豆蛋白亚基遗传效应解析、优异大豆蛋白品种选育提供优异种质材料。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

供试材料:贵州省油料研究所大豆课题组近年来在贵阳市、遵义市、安顺市、铜仁市、毕节市、六盘水市、黔东南州、黔南州等地区收集的贵州地方大豆种质资源 107 份,由贵州省油料研究所于 2022 和 2023 年在贵阳试验地繁种保存。

仪器设备:近红外光谱分析仪 NIRS DS2500, FOSS(瑞典);低温高速离心机, Microfuge 22R Centrifuge, Beckman Coulter(美国);涡旋仪, MX-S, Scilogex(美国);恒温培养箱, BPH-9042, 上海一恒科学仪器有限公司;平板电泳仪, POWERPAC 200, Bio-Rad;凝胶成像系统, Fluor Chem FC2, ALPHA Innotech;分析软件, Flourchem HD2。

1.2 方法

1.2.1 田间种植 2021 和 2022 年春季在贵州省农业科学院贵阳综合试验站(贵阳市花溪区, 26°30'19"N, 106°39'21"E, 海拔 1 100 m) 试验田播种, 单行播种, 行长 3 m, 行距 40 cm, 株距 10 cm。播种时不混合、不断条、不漏播, 保证播种均匀。播种后及时调查出苗情况, 并根据留苗密度进行间苗, 拔除病苗、弱苗、杂苗, 保证株距一致, 并定期做好浇水、中耕、除草、病虫害防治等田间管理工作。

1.2.2 品质分析 NIRS DS2500 近红外光谱分析仪测定了 107 份地理来源明确的大豆籽粒的蛋白质、油脂、油酸和氨基酸含量, 3 次重复, 取平均值用于数据分析。

1.2.3 大豆蛋白提取 大豆样品磨成豆粉, 加乙醚脱脂过夜, 得脱脂豆粉。取 50 mg 脱脂豆粉加入 200 μ L RIPA 裂解液(主要成分: 50 mmol \cdot L⁻¹ Tris-HCl, pH7.4, 150 mmol \cdot L⁻¹ NaCl, 1% NP-40, 0.1% SDS, Thermo Fisher Science), 4 $^{\circ}$ C 超声裂解 40 min; 在 4 $^{\circ}$ C 下 10 000 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min, 将上清液转移至 1.5 mL EP 管中备用。

1.2.4 SDS-PAGE 电泳 取 30 μ g 蛋白上清液, 与加载缓冲液(5 \times) 混合, 沸水中加热 5 min; 将样品和 marker 加入 12% 分离凝胶的孔中, 然后盖上顶盖并连接电极; 将电压设定为 80 V, 运行 15 min; 然后将电压设定在 120 V, 运行 1 h; 卸下胶板, 剥离胶后用考马斯亮蓝 R-250 进行染色, 采用甲醇-冰醋酸溶液脱色后, 置于凝胶成像系统拍照记录。

1.3 数据分析

利用 Flourchem HD2 软件分析 7S、11S 球蛋白的百分含量及其亚基含量, 进一步计算出 11S/7S 比值, 利用 Excel 记录数据, 用 SPSS 24.0 进行数据统

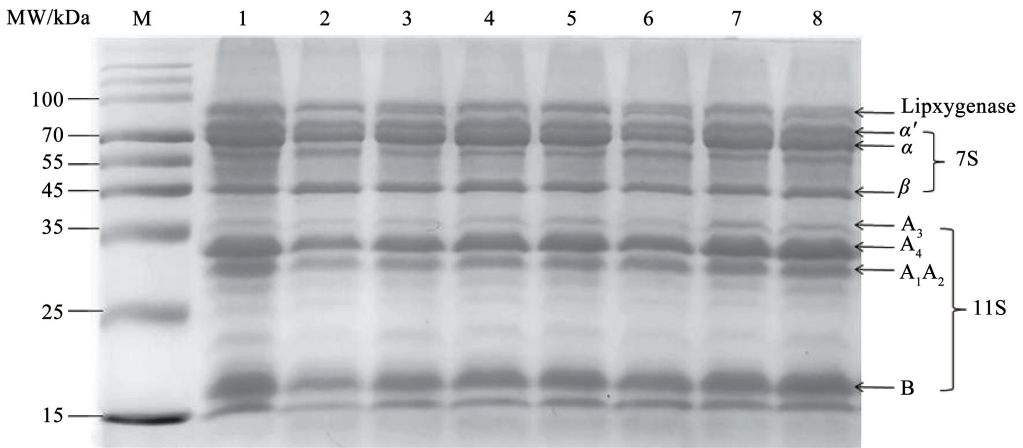
计,显著性、相关性分析,运用 Origin 9.0 进行图表制作。

2 结果与分析

2.1 大豆贮藏蛋白亚基电泳图谱

利用 SDS-PAGE 电泳技术分析鉴定了 107 份供

试大豆种质资源的贮藏蛋白亚基组成,部分样品的电泳图谱见图 1,结果显示,大豆籽粒贮藏蛋白各亚基条带清晰可见,亚基组成基本一致,主要由 7S 和 11S 球蛋白组成,7S 球蛋白包含 α' 、 α 和 β 亚基 3 个条带,11S 球蛋白包含 A_3 、 A_4 、 A_1A_2 和 B 亚基 4 个条带,但品种间相同亚基含量有差异。



注:M. 标样;1. 余庆六月黄;2. 黔西黑嘴豆;3. 黔西青皮豆;4. 大方猫儿灰;5. 镇宁白水豆;6. 凯里八月黄;7. 凯里青皮豆;8. 龙场黄豆。

Note: M. Marker;1. Yuqingliuyuehuang; 2. Qianxiheizuidou; 3. Qianxiqingpidou; 4. Dafangmaoerhui; 5. Zhenningbaishuidou; 6. Kailibayuehuang; 7. Kailiqingpidou; 8. Longchanghuangdou.

图 1 部分大豆种质 SDS-PAGE 电泳图谱

Fig. 1 SDS-PAGE electrophoresis patterns of some soybean germplasm

2.2 7S、11S 球蛋白及其亚基含量和 11S/7S 比值总体水平

2.2.1 7S 球蛋白及其亚基含量 从表 1 和图 2 可知,107 份贵州地方大豆种质资源 7S 球蛋白的平均含量为 17.35%,变幅为 5.27%~27.39%,变异系数为 28.13%,说明不同地方种质资源间 7S 球蛋白含量变化较大,遗传多样性丰富。7S 球蛋白亚基组

分中 β 亚基平均含量最高,为 9.56%;其次是 α' 亚基,平均含量为 4.68%; α 亚基的平均含量最低,为 3.13%。不同品种间 7S 球蛋白 3 个亚基组分含量的遗传变异均较大,其中 α 亚基的变异最大,变异系数达 116.06%; α' 和 β 亚基的变异也较高,变异系数分别为 71.74%和 40.76%。说明不同地方种质资源间 7S 球蛋白 3 个亚基组分的遗传多样性较丰富。

表 1 大豆球蛋白亚基相对含量及 11S/7S 比值

Table 1 The content of soybean globulin subunits and 11S/7S ratio

项目 Item	最小值 Max. /%	最大值 Min. /%	极差 Range/%	平均值 Mean/%	方差 Var.	标准差 Std.	变异系数 Variable efficient/%
α' 亚基 Subunit of α'	0.00	11.32	11.32	4.68	11.25	3.35	71.74
α 亚基 Subunit of α	0.00	12.99	12.99	3.13	13.20	3.63	116.06
β 亚基 Subunit of β	1.58	21.46	19.88	9.56	15.18	3.90	40.76
A_3 亚基 Subunit of A_3	0.00	5.27	5.27	1.29	2.69	1.64	127.28
A_4 亚基 Subunit of A_4	0.00	22.73	22.73	12.34	51.49	7.18	58.13
A_1A_2 亚基 Subunit of A_1A_2	2.86	18.67	15.81	9.89	11.92	3.45	34.91
B 亚基 Subunit of B	14.48	31.08	16.60	20.64	7.86	2.80	13.58
7S 球蛋白 Globulin of 7S	5.27	27.93	22.66	17.35	23.81	4.88	28.13
11S 球蛋白 Globulin of 11S	28.97	59.00	30.03	44.27	44.91	6.70	15.14
11S/7S 比值 Ratio of 11S/7S	1.47	6.48	5.01	2.74	0.65	0.81	29.48

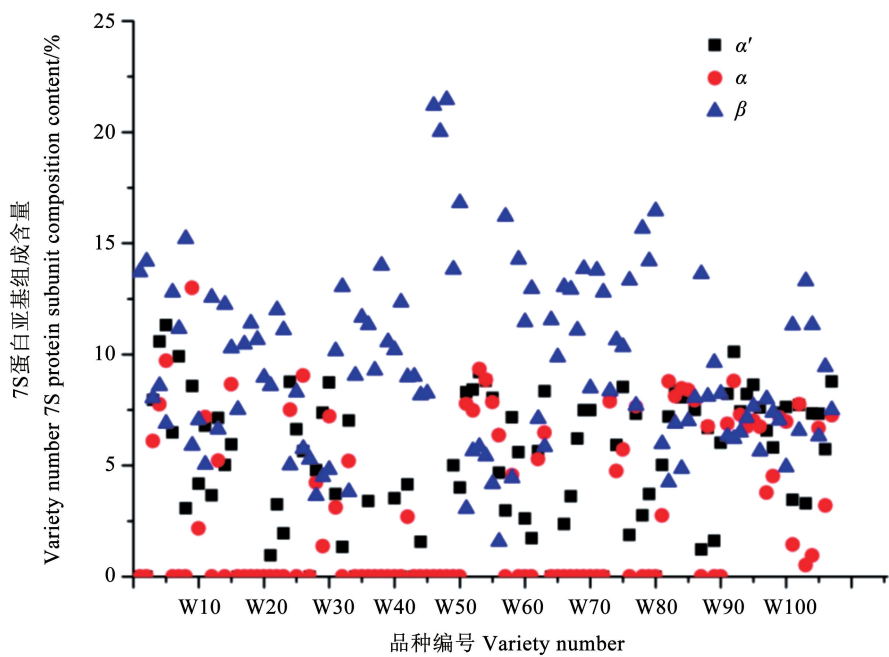


图2 107 份贵州地方大豆种质资源的 7S 蛋白亚基含量分布图

Fig. 2 7S protein subunit content of 107 local soybean germplasm resources in Guizhou

2.2.2 11S 球蛋白及其亚基含量 从表 1 和图 3 可知,107 份贵州地方大豆种质资源 11S 球蛋白的平均含量为 44.27%, 变幅为 28.97% ~ 59.00%, 变异系数为 15.14%, 低于 7S 球蛋白的变异, 表明 7S 球蛋白比 11S 球蛋白含量的遗传多样性更丰富。11S 球蛋白的亚基组分中以 B 亚基平均含量最高, 为 20.64%; 其次是 A₄ 亚基, 平均含量为 12.34%;

第三是 A₁A₂ 亚基, 平均含量为 9.89%; A₃ 亚基平均含量最低, 为 1.29%。不同地方种质资源间 11S 球蛋白 4 个亚基组分含量的遗传变异差异较大, 其中 A₃ 亚基的遗传变异最大, 变异系数高达 127.28%, 遗传多样性最丰富; 其次是 A₄、A₁A₂ 亚基, 变异系数分别为 58.13% 和 34.91%; B 亚基的遗传变异最小, 为 13.58%。

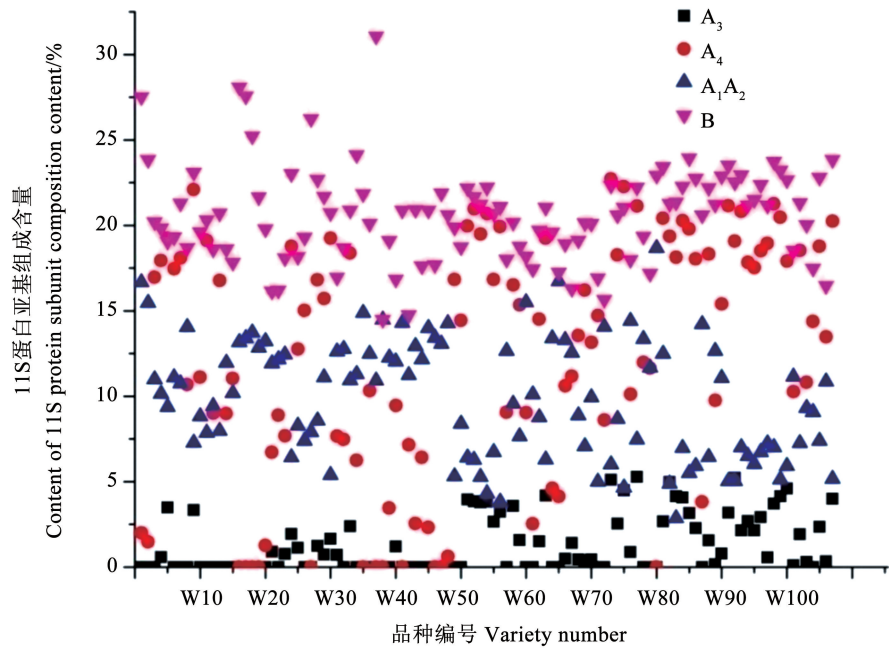


图3 107 份贵州地方大豆种质资源的 11S 蛋白亚基含量分布图

Fig. 3 11S protein subunit content of 107 local soybean germplasm resources in Guizhou

2.2.3 11S/7S 比值 107 份贵州地方大豆种质资源的 11S/7S 比值的平均值为 2.74, 变幅为 1.47 ~

6.48(表 1 和图 4), 其中 11S/7S ≥ 4.0 的种质 7 份, 3.0 ≤ 11S/7S < 4.0 的种质 20 份, 2 ≤ 11S/7S < 3 的

种质 73 份, 11S/7S < 2 的种质 7 份; 变异系数为 29.48% (表 1 和图 5), 说明贵州地方大豆种质资源的 11S/7S 比值具有丰富的遗传变异, 这为贵州省优异品种的选育与开发利用提供了丰富的种质材料。

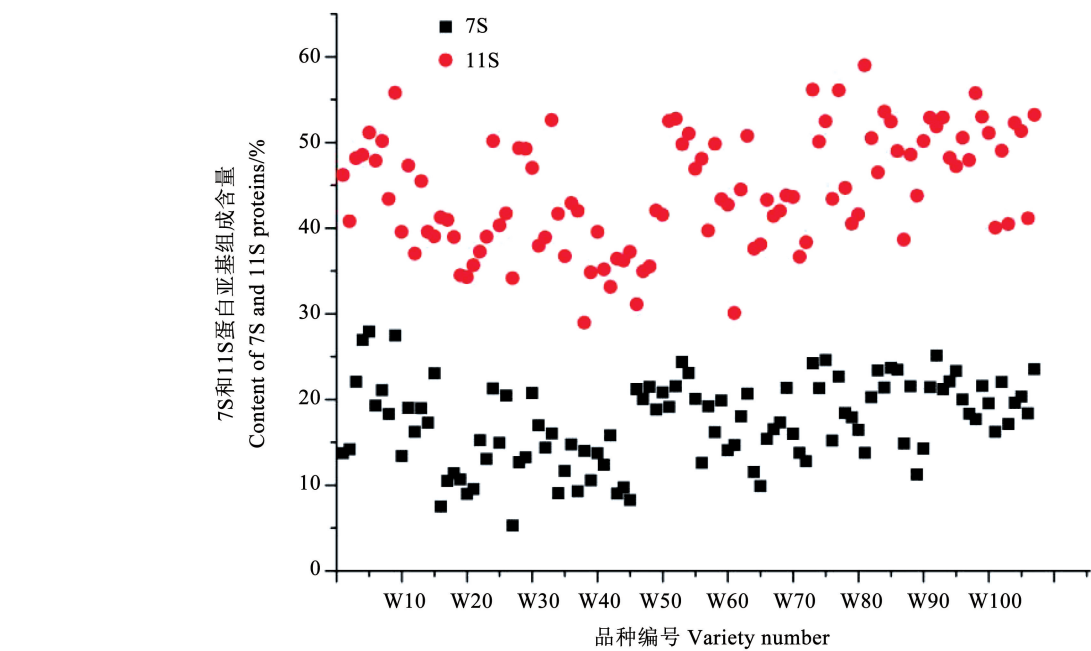


图 4 107 份贵州地方大豆种质资源的 7S 和 11S 蛋白含量分布图
Fig. 4 7S and 11S protein content of 107 local soybean germplasm resources in Guizhou

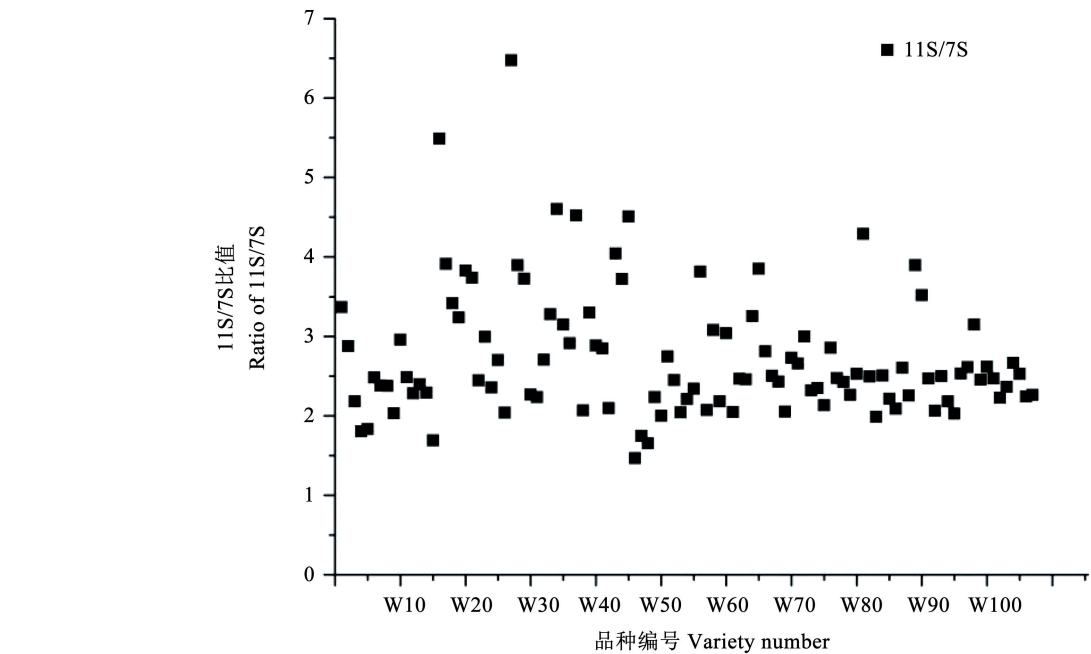


图 5 107 份贵州地方大豆种质资源的 11S/7S 比值分布图
Fig. 5 11S/7S ratio pattern of 107 local soybean germplasm resources in Guizhou

2.3 7S、11S 球蛋白亚基含量及 11S/7S 比值与蛋白质、油脂之间的相关性分析

对 7S、11S 球蛋白亚基相对含量及比值与蛋白质含量、油分含量进行的相关性分析结果如表 2 所示。球蛋白及其亚基组分之间的相关性分析结果显示: 7S 球蛋白含量与其 3 个亚基组分 α' 、 α 、 β 亚基之间呈显著或极显著正相关; α' 亚基与 α 亚基呈

极显著正相关, α' 、 α 亚基与 β 亚基均呈极显著负相关; 11S 球蛋白与其 4 个亚基组分 A_3 、 A_4 、B 亚基之间呈极显著正相关, 与 A_1A_2 亚基呈极显著正相关; A_3 亚基与 A_4 、B 亚基之间呈极显著正相关, A_1A_2 亚基与 A_3 、 A_4 、B 亚基之间呈极显著负相关。说明 7S、11S 球蛋白亚基组分含量变化直接影响 7S、11S 球蛋白含量的变化。

表 2 7S、11S 球蛋白亚基含量与蛋白质、油脂的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of 7S and 11S globulin subunits with proteins and lipids

项目	α'亚基	α亚基	β亚基	A ₃ 亚基	A ₄ 亚基	A ₁ A ₂ 亚基	B亚基	7S 球蛋白	11S 球蛋白	11S/7S 比值	蛋白质	氨基酸	油脂
Item	Subunit of α'	Subunit of α	Subunit of β	Subunit of A ₃	Subunit of A ₄	Subunit of A ₁ A ₂	Subunit of B	Globulin of 7S	Globulin of 11S	Ratio of 11S/7S	Protein	Amino acid	Oil
α亚基	0.805 **												
Subunit of α													
β亚基	-0.615 **	-0.750 **											
Subunit of β													
A ₃ 亚基	0.742 **	0.738 **	-0.649 **										
Subunit of A ₃													
A ₄ 亚基	0.882 **	0.796 **	-0.626 **	0.805 **									
Subunit of A ₄													
A ₁ A ₂ 亚基	-0.785 **	-0.743 **	0.627 **	-0.710 **	-0.821 **								
Subunit of A ₁ A ₂													
B亚基	-0.241 *	-0.354 **	-0.458 **	0.370 **	0.309 **	-0.311 **							
Subunit of B													
7S 球蛋白	0.808 **	0.731 **	0.231 *	-0.573 **	-0.723 **	-0.637 **	-0.157						
Globulin of 7S													
11S 球蛋白	-0.802 **	-0.713 **	-0.603 **	0.774 **	0.894 **	0.640 **	0.538 **	-0.627 **					
Globulin of 11S													
11S/7S 比值	-0.497 **	-0.427 **	-0.132	0.195 *	0.327 **	0.376 **	0.208 *	-0.823 **	0.135 **				
Ratio of 11S/7S													
蛋白质	-0.019	-0.137	0.329	-0.005	0.012	0.108	-0.067	0.113	0.014	-0.149			
Protein													
氨基酸	0.001	-0.127	0.287	0.065	0.054	0.053	-0.076	0.094	0.049	-0.124	0.937 **		
Amino acid													
油脂	0.123	0.092	-0.093	0.087	0.045	-0.028	-0.103	0.057	0.030	-0.029	-0.390 **	-0.366 **	
Oil													
油酸	0.105	0.258	-0.242 *	0.106	0.108	-0.191 *	0.054	0.088	0.059	-0.009	-0.270 **	-0.373 **	-0.062
Oleic acid													

注: ** , $P < 0.01$; * , $P < 0.05$ 。

7S、11S 球蛋白及其比值与蛋白质、氨基酸、油脂、油酸之间的相关性分析结果显示,7S 球蛋白和 11S 球蛋白与蛋白质、氨基酸、油脂、油酸之间无显著相关性;蛋白质与氨基酸之间呈极显著正相关,蛋白质和氨基酸与油脂和油酸均呈极显著负相关;7S 球蛋白与 11S 球蛋白和 11S/7S 比值呈极显著负相关,11S 球蛋白与 11S/7S 比值呈极显著正相关。说明 7S、11S 球蛋白的增加或减少不会影响种质的蛋白质和油脂含量,7S 球蛋白减少可能会导致 11S 球蛋白补偿性增加。

2.4 7S、11S 球蛋白含量以及 11S/7S 比值的比较

贵州地貌属于中国西南部高原山地,境内地势

西高东低,自中部向北、东、南三面倾斜,一般分为黔中、黔西、黔西北、黔北、黔东北、黔东、黔东南、黔南和黔西南 9 个地区,平均海拔在 1 100 m 左右。表 3 为贵州省不同地区大豆地方栽培品种大豆贮藏蛋白 7S、11S 球蛋白含量以及 11S/7S 比值的均值、变异系数和方差的分析结果:7S 球蛋白含量以黔中地区最高,黔东北地区最低,其变异系数以黔北地区最大;11S 球蛋白含量以黔东南地区最高,最低的是黔东北地区,其变异系数以黔南地区最大;11S/7S 比值以黔北地区最高,黔中地区最低,其变异系数以黔北地区最大。各地区大豆的 11S/7S 比值虽各不相同,但整体差异较小。

表 3 贵州不同地区 7S、11S 球蛋白含量分析

Table 3 Analysis of 7S and 11S globulin content in different regions of Guizhou

球蛋白 Globulin	地区 Region	数量 Number	最小值 Max. /%	最大值 Min. /%	平均值 Mean /%	极差 Range /%	标准差 Std.	方差 Var.	变异系数 Variable efficient /%
7S 球蛋白 Globulin of 7S	黔中	13	13.39	27.93	20.61	14.54	4.61	21.25	22.36
	黔东	9	9.89	21.59	17.48	11.70	4.05	16.42	23.19
	黔南	16	8.96	24.59	18.37	15.63	4.80	23.00	26.11
	黔西	13	10.47	24.37	18.00	13.90	5.14	26.40	28.54
	黔北	31	5.27	23.68	15.98	18.41	5.01	25.07	31.33
	黔东北	13	9.00	23.47	15.17	14.47	4.53	20.48	29.83
	黔西北	9	9.29	25.11	17.51	15.82	4.94	24.39	28.21
	黔西南	3	16.46	18.41	17.60	1.95	1.01	1.03	5.76
11S 球蛋白 Globulin of 11S	黔中	13	37.03	55.80	47.41	18.77	5.58	31.09	11.76
	黔东	9	37.61	55.73	47.69	18.12	6.38	40.69	13.37
	黔南	16	34.28	56.17	43.84	21.89	7.83	61.37	17.87
	黔西	13	34.51	52.77	45.51	18.26	5.94	35.23	13.04
	黔北	31	31.12	59.00	43.61	27.88	6.69	44.75	15.34
	黔东北	13	30.09	49.00	40.34	18.91	6.35	40.28	15.73
	黔西北	9	28.97	52.93	43.86	23.96	7.05	49.75	16.08
	黔西南	3	40.50	44.68	42.26	4.18	2.17	4.70	5.13
11S/7S 比值 Ratio of 11S/7S	黔中	13	1.80	3.08	2.36	1.28	0.37	0.14	15.79
	黔东	9	2.45	3.85	2.82	1.40	0.49	0.24	17.39
	黔南	16	1.65	3.83	2.51	2.18	0.61	0.37	24.23
	黔西	13	2.03	3.91	2.69	1.88	0.68	0.46	25.19
	黔北	31	1.47	6.48	3.03	5.01	1.13	1.27	37.14
	黔东北	13	2.05	4.04	2.81	1.99	0.68	0.47	24.35
	黔西北	9	2.06	4.52	2.65	2.46	0.78	0.61	29.36
	黔西南	3	2.26	2.53	2.41	0.27	0.14	0.02	5.67

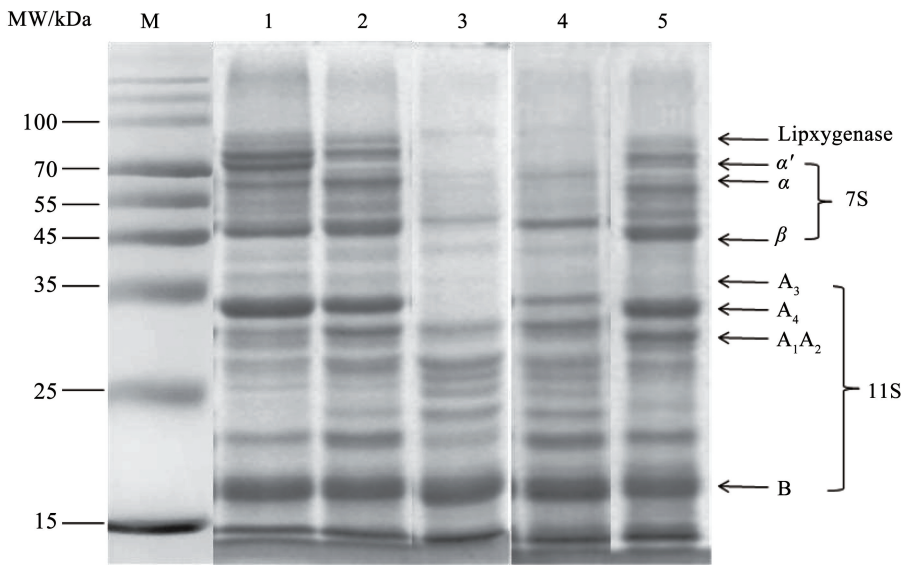
注:本次收集大豆没有黔东南地区的大豆种质。

Note: The soybean germplasm collected this time do not include the soybean in the southeastern region of Guizhou.

2.5 不同亚基缺失或缺少类型种质资源的筛选

目前报道的国内大豆的 11S/7S 比值平均在 2.0 左右。本研究 107 份贵州地方栽培大豆种质的 11S/7S 平均值为 2.74,从中筛选出 11S/7S 比值大于 3 的资源材料 27 份。其中 11S/7S 比值大于 3 且亚基组

成完整的资源材料 4 份;蛋白亚基组分优异的材料 6 份,其中 α 亚基缺失材料 3 份, α' 、 α 亚基缺失材料 1 份, α' 、 α 、 A_3 、 A_4 亚基缺失材料 1 份, A_3 亚基缺失材料 1 份(图 6 和表 4)。这些优异种质的发现可为加工专用或特殊用途大豆品种的遗传改良提供基础材料。



注:M. 标样;1. 亚基完整型(六枝小粒黄);2. α 亚基缺失型(涌溪绿皮豆);3. α' 、 α 、 A_3 、 A_4 缺失型(习水黑豆);4. α' 、 α 亚基缺失型(金沙黑嘴豆);5. A_3 亚基缺失型(惠水绿皮豆)。

Note:M. Marker; 1. Subbase intact type (Liuzhixiaoli Huang); 2. α subunit deficiency type (Yongxilüpidou); 3. α' 、 α 、 A_3 and A_4 missing types (Xishuiheidou); 4. α' 、 α subunit deficiency type (Jinshaheizuidou); 5. A_3 subunit deletion type (Huishuilüpidou).

图 6 亚基缺失的大豆种子贮藏蛋白电泳图谱

Fig. 6 Electrophoretic map of soybean seed storage protein with subunit deletion

表 4 鉴定出的部分优异种质

Table 4 The list of screened elite soybean germplasm

序号 No.	试验编号 Test number	名称 Name	来源 Origin region	表型 Phenotypes	11S/7S 比值 11S/7S ratio
1	W1	尧上黄豆	铜仁市思南县	11S/7S 比值高	3.37
2	W16	遵义八月黄	遵义市播州区	11S/7S 比值高	5.49
3	W17	六枝黄豆	六盘水市六枝特区	11S/7S 比值高	3.91
4	W18	六枝小粒黄	六盘水市六枝特区	11S/7S 比值高	3.42
5	W19	六枝八月黄	六盘水市六枝特区	11S/7S 比值高	3.24
6	W20	青溪绿皮豆	黔东南州镇远县	11S/7S 比值高	3.83
7	W21	涌溪绿皮豆	黔东南州镇远县	11S/7S 比值高; α 亚基缺失材料	3.74
8	W27	习水黑豆	遵义市习水县	11S/7S 比值高; α' 、 α 、 A_3 、 A_4 缺失材料	6.48
9	W28	习水黑皮豆	遵义市习水县	11S/7S 比值高	3.90
10	W29	习水黄豆	遵义市习水县	11S/7S 比值高	3.72
11	W33	金沙黑豆	毕节市金沙县	11S/7S 比值高	3.28
12	W34	金沙黑嘴豆	毕节市金沙县	11S/7S 比值高; α' 、 α 亚基缺失材料	4.60
13	W35	金沙小粒黄	毕节市金沙县	11S/7S 比值高	3.15
14	W37	纳雍黑豆	毕节市纳雍县	11S/7S 比值高	4.52
15	W39	石阡绿皮豆	铜仁市石阡县	11S/7S 比值高	3.30

表 4(续)

序号	试验编号	名称	来源	表型	11S/7S 比值
No.	Test number	Name	Origin region	Phenotypes	11S/7S ratio
16	W43	石阡黑皮豆	铜仁市石阡县	11S/7S 比值高	4.04
17	W44	余庆十月黄	遵义市余庆县	11S/7S 比值高	3.72
18	W45	余庆绿皮豆	遵义市余庆县	11S/7S 比值高	4.51
19	W58	花溪小粒豆	贵阳市花溪区	11S/7S 比值高	3.08
20	W60	纳雍褐嘴豆	毕节市纳雍县	11S/7S 比值高	3.04
21	W64	麻江黄豆	黔东南州麻江县	11S/7S 比值高	3.26
22	W65	麻江绿皮豆	黔东南州麻江县	11S/7S 比值高	3.85
23	W72	凤岗黄豆	遵义市凤冈县	11S/7S 比值高	3.00
24	W81	遵义白水豆	遵义市播州区	11S/7S 比值高	4.29
25	W89	思南黄豆	铜仁市思南县	11S/7S 比值高; α 亚基缺失材料	3.89
26	W90	余庆黄豆	遵义市余庆县	11S/7S 比值高; α 亚基缺失材料	3.52
27	W98	凯里大黄豆	黔东南州凯里市	11S/7S 比值高	3.15
28	W104	惠水绿皮豆	黔南州惠水县	A ₃ 亚基缺失	

3 讨论

大豆籽粒贮藏蛋白 7S、11S 球蛋白组分及其亚基组成与含量以及 11S/7S 比值与大豆的营养价值、加工特性等密切相关,明确种质资源和育种材料贮藏蛋白的组成及其亚基组分含量,并获得具有不同 7S 和 11S 球蛋白组分、特殊 11S/7S 比值、蛋白组分亚基缺失的种质材料,可为大豆专用加工品种、特用大豆品种的遗传育种改良提供重要的基础材料。

贵州生态环境多样,大豆种质资源丰富,但目前暂无关于贵州大豆资源营养品质和加工特性优异资源挖掘方面的研究报道。本研究利用 SDS-PAGE 法分析了近年来收集的贵州 107 份地方栽培大豆品种的 7S、11S 球蛋白组分及其亚基组成与含量以及 11S/7S 比值,并对不同地区来源的品种进行了分析和比较,发现贵州地方栽培大豆籽粒贮藏蛋白球蛋白及其亚基组成基本一致,有部分品种的亚基条带缺失,结果与前人研究结果一致^[18-21];不同品种的球蛋白组分及亚基组分以及 11S/7S 比值具有一定的遗传变异,11S/7S 比值的平均值为 2.74,变异系数达 29.48%,变异类型较为丰富,与高慧慧、张明俊、刘顺湖等的研究结果比较一致^[16,22,23];7S 球蛋白的变异系数较 11S 球蛋白高 13 百分点;亚基组分中变异系数最大的是 B 亚基,为 20.64%;11S/7S 比值高于 3.0 的品种数占 26.17%;获得蛋白亚基组分优异的材料 6 份,其中 α 亚基缺失材料 3 份, α' 、 α 亚基缺失材料 1 份, α' 、 α 、A₃、A₄亚基缺失材料 1 份、A₃亚基缺失材料 1 份。从地方栽培品种中筛选获得的优异材料可应用于高 11S/7S 比值、

致敏蛋白亚基缺失等大豆营养品种或加工特性改良育种材料的创制。

对 107 份大豆品种的蛋白质、油脂含量与蛋白组分和 11S/7S 比值进行相关性分析发现,蛋白质与油脂含量之间呈极显著负相关,7S 球蛋白与 11S 球蛋白之间呈极显著负相关,但 7S、11S 球蛋白和 11S/7S 比值与蛋白质和油脂之间无显著相关性。结果与高慧慧、胡勇等的研究结果一致^[16,24],说明在品种选育改良过程中可以通过提高或降低 7S、11S 球蛋白的含量从而改变大豆的营养价值,并且选育高蛋白、高油等高品质大豆与优异蛋白组分大豆品种,二者之间不矛盾,即可以在选育高 11S/7S 比值大豆、亚基缺失大豆等大豆品种时,不影响蛋白质、油脂含量等其他品质性状。

卢卫国、徐豹等研究认为^[25,26],11S/7S 比值受栽培区域生态因子影响较大,短日照、高温、多雨的区域,11S/7S 比值较小;长日照、昼夜温差较小的区域,比较有利于提高 11S/7S 比值。贵州东毗湖南、南邻广西、西连云南、北接四川和重庆,地理环境独特,生态环境多样,素有“一山分四季,十里不同天”之说。据贵州省气候中心统计,贵州昼夜温差较大的是黔东南、黔南地区;日照时数西多东少,较多的是黔西南、黔中地区;气温较高的是黔西南、黔南地区;降雨量南部多于北部、东部多于西部。贵州 107 份地方栽培大豆的 11S/7S 比值以黔北地区最高,为 3.03,其次是黔东和黔东北地区,黔中地区最低;变异系数以黔北地区最大,为 37.14%,其次是黔西北和黔西地区。贵州黔北地区日照时数与昼夜温差适中,但 11S/7S 比值与变异系数最高,与卢卫国

等^[25]的研究结果不完全相同,这可能与贵州独特的地理条件和生态环境有关。

球蛋白组成亚基及其含量的差异直接影响了 7S 球蛋白与 11S 球蛋白的营养品质和功能特性。7S 球蛋白具有较高的乳化性,11S 球蛋白具有高凝胶性,11S/7S 比值的大小直接影响豆腐的硬度和弹性等品质指标。大豆食品易致敏,7S 球蛋白的 α' 、 α 和 β 亚基被认为是主要的致敏原,该类亚基的缺失可以降低大豆的致敏性。孙贺等^[10]研究发现,7S 球蛋白 α' 、 α 亚基的缺失影响大豆分离蛋白的乳化特性, α' 亚基缺失型大豆材料制备大豆分离蛋白乳液的乳化活性和稳定性最好。James 等^[20,27]研究发现 11S 球蛋白 A₄亚基的缺失与豆腐制品的硬度呈正相关。Liu 等^[28]研究了 6 种不同 7S、11S 球蛋白亚基组成的大豆分离蛋白乳液对高胆固醇血症模型大鼠的降胆固醇作用,结果显示 7S($\alpha' + \alpha$)缺失型大豆分离蛋白具有较好的降胆固醇作用。目前,我国培育了许多高产优质大豆品种,也培育审定了五星一号、绥无腥豆 1 号等无腥味大豆品种^[29,30],还有降胆固醇特殊健康用途大豆新品种东农豆 358^[31]。本研究筛选获得的 27 份高 11S/7S 比值种质和 6 份特异蛋白组分种质,可以为加工专用或特殊用途大豆品种的选育和改良提供优异的遗传资源。

4 结论

贵州省地方大豆种质资源的 7S 球蛋白和 11S 球蛋白及其亚基含量与 11S/7S 比值的遗传多样性较丰富,检测筛选到高 11S/7S 比值, α 亚基缺失, α' 、 α 亚基缺失, α' 、 α 、A₃、A₄亚基缺失,A₃亚基缺失等类型的材料,对加工专用或特殊用途大豆品种的选育改良和大豆蛋白营养品质与功能特性研究具有重要的理论和应用价值,也为国内大豆品质调控相关基因挖掘研究提供了重要基础材料。

参考文献

[1] SUI X, ZHANG T, JIANG L. Soy protein: Molecular structure revisited and recent advances in processing technologies [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2021, 12: 119-147.

[2] JOHN H, CHANDRA P, GIRI S K, et al. Effect of processing methods on 11S/7S protein and nitrogen solubility index of soy protein isolate [J]. Journal of the Institution of Engineers (India): Series A, 2021, 102(4): 989-994.

[3] 陈庆山, 张泽鑫, 刘函西, 等. 大豆 7S 与 11S 球蛋白 QTL 元分析及候选基因挖掘[J]. 东北农业大学学报, 2022, 53(6): 1-9, 19.

CHEN Q S, ZHANG Z X, LIU H X, et al. Meta-analysis and candidate gene mining of soybean 7S and 11S globulin QTL[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2022, 53(6): 1-9, 19.

[4] TANG C H. Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(12): 2636-2679.

[5] ZHU Y, FU S, WU C, et al. The investigation of protein flexibility of various soybean cultivars in relation to physicochemical and conformational properties [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 103: 105709.

[6] 王丽侠, 郭顺堂, 付翠真, 等. 大豆种子贮藏蛋白 11S 与 7S 组份的研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(4): 53-57.

WANG L X, GUO S T, FU C Z, et al. The analysis of 11S/7S in soybean storage protein[J]. Chinese Cereals and Oils Association, 2004, 19(4): 53-57.

[7] PAVLICEVIC M Z, TOMIC M D, DJONLAGIC J A, et al. Evaluation of variation in protein composition on solubility, emulsifying and gelling properties of soybean genotypes synthesizing β' subunit [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2018, 95(2): 123-134.

[8] 吴海波, 张麒, 邱硕, 等. 均质/加热条件下组分缺失型原料豆乳理化特性研究[J]. 农业机械学报, 2021, 52(8): 374-385.

WU H B, ZHANG Q, QIU S, et al. Physicochemical properties of soymilk prepared from component deficient soybean under homogenization or heating conditions [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(8): 374-385.

[9] 刘军, 马春芳, 闫龙, 等. 大豆原料对分离蛋白加工及功能特性的影响[J]. 大豆科技, 2019(6): 4-10.

LIU J, MA C F, YAN L, et al. Effects of soybean raw materials on processing and functional characteristics in soybean protein isolate[J]. Soybean Science & Technology, 2019(6): 4-10.

[10] 孙贺, 于寒松, 范宏亮, 等. α 和 α' 亚基缺失对大豆分离蛋白乳化特性的影响 [J]. 农业工程学报, 2020, 36(10): 261-268.

SUN H, YU H S, FAN H L, et al. Effects of the subunit-deficiency of α and α' on emulsifying properties of soy protein isolate [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(10): 261-268.

[11] ZHOU Y, LI X, HUA Y, et al. The absence of lipoxigenase and 7S globulin of soybeans and heating temperatures on the properties of soymilks and soy yogurts [J]. Food Science and Technology, 2019, 115: 108431.

[12] ZHENG L, WANG Z, KONG Y, et al. Different commercial soy protein isolates and the characteristics of Chiba tofu [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 110: 106115.

[13] 冯芳, 刘文豪, 陈志刚. 大豆 7S、11S 蛋白的结构与热凝胶特性的分析[J]. 食品科学, 2020, 41(2): 58-64.

FENG F, LIU W H, CHEN Z G. Structure and heat-induced gelation properties of soybean 7S and 11S proteins [J]. Food Science, 2020, 41(2): 58-64.

[14] 刘春雷, 魏冬旭, 贾烨, 等. 大豆 7S 球蛋白热力学特性、溶解

- 性和溶液性质与表面疏水性相关性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(3): 39-43, 49.
- LIU C L, WEI D X, JIA Y, et al. Relevance between thermodynamic characteristics, solubility, solution properties and surface hydrophobicity of soybean β -conglycinin (7S) [J]. China Oils and Fats, 2018, 43(3): 39-43, 49.
- [15] 李丹, 魏冬旭, 贾焱, 等. 大豆 11S 球蛋白热力学特性和溶液性质与表面疏水性关系研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 46-50, 57.
- LI D, WEI D X, JIA Y, et al. Study on relationship between the thermodynamic characters/solution properties and surface hydrophobicity of soybean β -Conglycinin (11S) [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(10): 46-50, 57.
- [16] 高慧慧, 董斌, 王星月, 等. 大豆 11S/7S 蛋白亚基优异种质资源鉴定与分析[J]. 植物遗传资源学报, 2023, 24(6): 1591-1601.
- GAO H H, DONG B, WANG X Y, et al. Screening and analysis of excellent germplasm resources with elite 11S/7S protein subunits[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2023, 24(6): 1591-1601.
- [17] 彭任文. 大豆 11S 和 7S 蛋白组分含量变异与表型性状及加工品质关系的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2023.
- PENG R W. Study on the relationship between the variation of soybean 11S and 7S protein components and phenotypic traits and processing quality [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2023.
- [18] 刘珊珊, 刁桂珠, 王志坤, 等. 中国和越南大豆种质资源贮藏蛋白亚基组成的鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(4): 511-513.
- LIU S S, DIAO G Z, WANG Z K, et al. Characterization and evaluation for subunit composition of storage protein in soybean germplasm[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2008, 30(4): 511-513.
- [19] 刘香英, 康立宁, 田志刚, 等. 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[J]. 大豆科学, 2009, 28(6): 985-989.
- LIU X Y, KANG L N, TIAN Z G, et al. Analysis of 7S and 11S globulin and subunit content of soybean in northeast China[J]. Soybean Science, 2009, 28(6): 985-989.
- [20] JAMES A T, YANG A. Interactions of protein content and globulin subunit composition of soybean proteins in relation to tofu gel properties[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 284-289.
- [21] POYSA V, WOODROW L, YU K. Effect of soyprotein subunit composition on tofu quality [J]. Food Research International, 2006, 39(3): 309-317.
- [22] 张明俊, 李忠峰, 于莉莉, 等. 大豆子粒蛋白亚基变异种质的鉴定与筛选[J]. 作物杂志, 2018(3): 44-50.
- ZHANG M J, LI Z F, YU L L, et al. Identification and screening of protein subunit variation germplasm from both mutants and natural population in soybean[J]. Crops, 2018(3): 44-50.
- [23] 刘顺湖, 周瑞宝, 盖钧镒. 中国野生和栽培大豆 11S 及 7S 蛋白质相对含量的比较分析[J]. 大豆科学, 2009, 28(5): 759-767.
- LIU S H, ZHOU R B, GAI J Y. Comparative analysis of 11S and 7S protein relative content between wild and cultivated soybeans in China[J]. Soybean Science, 2009, 28(5): 759-767.
- [24] 胡勇, 宣文良, 王希春. 大豆蛋白与油分和百粒重的相关性分析[J]. 现代农业科技, 2017(18): 3-4.
- HU Y, XUAN W L, WANG X C. Correlation analysis among protein content and oil content and 100-seed weight of soybean [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2017(18): 3-4.
- [25] 徐豹, 邹淑华, 庄炳昌. 野生大豆(*G. Soja*)种子贮藏蛋白组份 11S/7S 的研究[J]. 作物学报, 1990, 16(3): 235.
- XU B, ZOU S H, ZHUANG B C. Study on the component 11S/7S of seed storage protein of wild soybean (*G. Soja*) [J]. Acta Agronomica Sinica, 1990, 16(3): 235.
- [26] 卢为国, 王树峰, 王卫东, 等. 大豆籽粒贮藏蛋白 11S/7S 比值与生态因子相关关系的研究[J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 1059-1064.
- LU W G, WANG S F, LI W D, et al. Effects of eco-physiological factors on storage protein 11S/7S ratio in soybean seeds [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(5): 1059-1064.
- [27] JAMES A T, YANG A. Influence of globulin subunit composition of soybean proteins on silken tofu quality. 2. Absence of 11S A₄ improves the effect of protein content on tofu hardness[J]. Crop and Pasture Science, 2014, 65(3): 268.
- [28] LIU S, LUO T, SONG Y, et al. Hypcholesterolemic effects of soy protein isolates from soybeans differing in 7S and 11S globulin subunits vary in rats fed a high cholesterol diet[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 99: 105347.
- [29] 刘燕, 张平, 朱秀清, 等. 大豆脂肪氧化酶缺失型材料的获得和应用[J]. 大豆通报, 2003(6): 19.
- LIU Y, ZHANG P, ZHU X Q, et al. Obtain and use of soybean material shorted of oxidilipase [J]. Soybean Science & Technology, 2003(6): 19.
- [30] 王文秀, 张孟臣. 无腥大豆种质创高产和品种选育[J]. 大豆科学, 2002, 21(2): 154.
- WANG W X, ZHANG M C. High yield and variety selection of odorless soybean germplasm[J]. Soybean Science, 2002, 21(2): 154.
- [31] 刘珊珊, 宋波, 徐鹏飞, 等. 低致敏、高蛋白大豆新品种“东农豆 356”的创制与应用[J]. 中国科技成果, 2022, 23(10): 7.
- LIU S S, SONG B, XU P F, et al. The creation and application of a new low allergenic and high protein soybean variety "Dongnongdou 356" [J]. Chinese Journal of Science and Technology, 2022, 23(10): 7.