

大豆脂氧酶与 7S 球蛋白亚基双缺失株系的主要品质性状分析

谢雄泽¹, 藕冉¹, 王磊¹, 王浩², 姜妍^{1,2}, 李文滨¹, 王绍东^{1,2*}

(1. 东北农业大学农学院/大豆生物学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨, 150030;

2. 国家大豆工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨, 150028)

摘要:本研究以脂氧酶完全缺失品系 SI0162 为母本, 以 α' -、 α -、 β -亚基完全缺失品系 1003-44 为父本, 从后代中成功地获得了大豆脂氧酶及 7S 球蛋白亚基双缺失材料。对双缺失材料的蛋白质、脂肪含量及组分等进行了测定, 并与黑龙江省主栽品种黑河 38 进行比较, 以探究脂氧酶与 7S 球蛋白亚基双缺失材料的相关品质性状。研究结果表明: 双缺失材料蛋白质平均含量为 39.89%, 与黑河 38 基本持平; 脂肪平均含量为 18.73%, 比黑河 38 低 1.79%; 含硫氨基酸含量为 1.45%, 比黑河 38 高 25.0%; 脂肪酸中油酸含量比黑河 38 高 13.3%。观察表明双缺失的大豆种质能够正常生长发育, 同时在含硫氨基酸及油酸含量等有益人类健康的成分上的变化符合育种目标, 为培育食品加工专用大豆品种提供了基础材料。

关键词:脂氧酶; 7S 球蛋白亚基; 双缺失特性; 含硫氨基酸; 油酸

中图分类号:S565.103 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-9084(2016)06-0764-07

Analysis of major quality characteristics of lipoxygenase and 7S globulin subunits double null soybean strains

XIE Xiong-ze¹, OU Ran¹, WANG Lei¹, WANG Hao², JIANG Yan^{1,2}, LI Wen-bin¹, WANG Shao-dong^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Soybean Biology of Education Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. National Research Center of Soybean Engineering and Technology (NRCSET), Harbin 150028, China)

Abstract: In this study, double mutant lines were acquired from a cross between null mutant of lipoxygenase SI0162 as ovule parent and null mutant of 7S globulin subunits 1003-44 as pollen parent. Double null mutant lines were characterized to investigate any effects of double mutations on traits of seeds quality and plant growth in comparison with the control variety (Heihe 38, a main cultivated variety in Heilongjiang Province). Results showed that protein content of the tested material was 39.89%, approximately equivalent to that of Heihe 38, and the content of oil was 18.73%, about 1.79% lower than that in Heihe 38. Interestingly sulfur amino acid content was 1.45%, higher than that of the control variety. Among different fatty acids, oleic acid content was 13.3%, higher than the control variety. These results suggested that the double null mutations did not affect basic biological traits. Some seed compositions beneficial to human health, such as sulfur amino acid and oleic acid, were elevated, which could provide good genetic resource for breeding of new soybean varieties specialised for food processing.

Key words: Lipoxygenase; 7S globulin subunit; Double null properties; Sulfur amino acid; Oleic acid

大豆种子中所含的功能性营养因子, 如多种有益氨基酸、不饱和脂肪酸、脑磷脂、卵磷脂、维生素 E、异黄酮、皂苷等, 对人类健康有益, 适量食用能有

效降低中老年群体罹患心脑血管疾病、乳腺癌、前列腺癌等疾病。因此, 大豆被广泛应用于食品加工及医药保健等领域, 成为世界各国研究和开发利用的

焦点^[1]。但是,大豆籽粒中的脂氧酶在其储藏和加工过程中能够催化具有顺,顺-1,4戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸的加氧反应,产生相应的氢过氧化物,这些产物可进一步形成具有大豆腥臭味的己烯醛、己烯醇类等醛、醇类物质^[2]。作为大豆种子中抗营养因子之一,子叶中的脂氧酶会降低大豆油中多元不饱和脂肪酸的含量,是大豆加工过程中应该尽可能去除的成分。而工业去腥多采用加热、微波或酶包埋等处理方法,导致加工成本增加,影响产品营养成分构成及风味。

在脂氧酶缺失机理研究方面,Yenofsky等^[3]发现Lox-3缺失不积累相应的mRNA,lx2缺失不影响转录,只是失活的Lox-2在种子成熟阶段被分解,而Lox-1和Lox-3的缺失是转录水平受阻所致。在遗传育种研究方面,通过对分离世代遗传分析表明,Lox缺失性状分别受lx1、lx2和lx3三个隐性基因控制,lx1与lx2基因紧密连锁,与lx3相对独立遗传^[4]。根据上述遗传研究,日本已经育成了Toiku243、Kinusayaka、L-Star、Ichihime等7个Lox完全缺失的大豆新品种,可覆盖日本各大豆种植区。我国大豆脂氧酶缺失育种方面,目前为止,仅有河北农林科学院育成的“五星4号”夏大豆品种具备了脂氧酶完全缺失特性,并实现了小规模商业化种植,在我国大豆主产区的东北三省,至今仍基本处于种质资源创新阶段,尚无脂氧酶完全缺失品种育成。

另外,大豆中的7S球蛋白是主要的过敏原蛋白,它主要由 α' 、 α 和 β 3个亚基构成,其中, α -亚基为大豆三大过敏原蛋白之一^[5]。目前,去除或降低过敏原蛋白的方法,通常采用加热、膨化、酶处理法或热乙醇等加工处理^[6],这样不但增加加工成本,而且容易降低大豆蛋白的营养价值,即便如此,也仍无法生产零抗原大豆产品。研究表明,7S球蛋白含量与11S球蛋白含量呈显著的负相关关系^[7-9],7S球蛋白含硫氨基酸含量较低,11S球蛋白的含硫氨基酸含量较高,约为7S球蛋白含硫氨基酸含量的3~4倍^[10-12]。通过选育7S球蛋白亚基缺失品种,可以提高育成大豆品种的11S球蛋白含量,从而提高大豆蛋白制品的营养价值^[13]。

在7S球蛋白亚基缺失育种研究方面,仅有日本作物研究所高桥浩司团队在世界上率先育成了 α' 、 α -亚基缺失的大豆新品种Yumeminori,成为低过敏大豆食品加工的专用原料^[14]。Hajika等于1996年在日本熊本县天草群岛的82份野生大豆资源中检测出的7S三个亚基 α' 、 α 和 β 同时缺失的突变体QT2,并证明QT2突变体无明显的生理形态畸变,而

且3个亚基缺失性状可以稳定遗传,相关的育种应用正在进行中^[15]。

因此,去除或降低大豆中的过敏原蛋白,培育脂氧酶完全缺失大豆新品种,为大豆深加工企业提供低过敏且无豆腥味的大豆加工专用原料,已成为大豆育种及其食品加工领域重要的研究目标之一。基于此,本研究通过引进国外7S球蛋白亚基缺失、脂氧酶缺失的大豆种质资源,利用人工杂交等基因聚合育种手段和具有自主知识产权的ISDS-PAGE(improvement-sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)双缺失筛选方法^[12],通过连续自交加代及双缺失检测的跟踪选择,创制出遗传性状稳定、具有中国大豆遗传背景、脂氧酶与7S球蛋白亚基双缺失的大豆种质资源。并从F₀开始,在综合农艺性状基本稳定后,对其蛋白、脂肪、氨基酸、脂肪酸组分含量变化进行检测与分析,以期探明7S球蛋白亚基与脂氧酶双缺失性状对大豆种子有益成分含量的影响,为培育食品加工专用高附加值大豆新品种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本实验以脂氧酶完全缺失的SI0162为母本,以 α' -、 α -、 β -亚基完全缺失的“1003-44”为父本配制杂交组合,利用本团队自主研发的ISDS-PAGE双缺失筛选检测方法,通过杂交后代南繁北育连续追踪筛选,获得遗传性状稳定且脂氧酶及7S球蛋白亚基双缺失的F₀株系10份,分别为6003、6004、6005、6006、6007、6008、6009、6010、6012、6014。每份材料随机抽取100粒进行检测。

1.2 实验仪器及试剂

10份实验材料分别随机抽取100粒,使用研磨机(摇摆式高速万能粉碎机DFY-200)将材料研磨成粉;使用梅特勒-托利多水分测定仪(METTLER TOLEDO)测定样品的含水量;福斯凯氏定氮仪(Foss Kjeltex™ 8400)测定样品的粗蛋白及水溶性蛋白含量;福斯索氏提取仪(Foss Soxtec™ 2055)测定样品的脂肪含量;根据GB/T 5009.124-2003食品中氨基酸的测定方法在氨基酸自动分析仪(日立L8900B)上进行氨基酸含量的测定^[16];采用气相色谱(GC-6890B)技术分析脂肪酸组分含量^[17,18]。

1.3 7S球蛋白亚基与脂氧酶双缺失同步快速检测方法

1.3.1 样品前处理 微型打孔器磨取大豆种子远

离种胚侧子叶 10mg,以确保取样后的种子能够正常萌发。将样品溶于 0.5mL 提取液中(0.05mol/L Tris-HCL pH8.0,20% 甘油,2% β -巯基乙醇,2% 溴酚蓝)。振荡 1min 后超声波处理 8min,室温下静置 20~30min,再度搅拌,并于 5 000r/min 离心 5min,取上清液 10 μ L 用于 ISDS-PAGE 电泳解析。

1.3.2 ISDS-PAGE 电泳流程 (1)浓缩胶与分离胶的制备与上样:参照王绍东等方法(2011)^[19,20]。(2)电泳条件:电压 120V,电泳 2h 左右,待溴酚蓝指示剂通过浓缩胶后,将电压升至 180 V,电泳 4h 左右,溴酚蓝指示剂即将通过胶体底端的时候,停止电泳,取下胶体,放入考马斯亮蓝染色液,轻摇染色 1h,取出放入脱色液,轻摇脱色 4h 以上,在普通荧光玻璃灯箱上,确认 Lox 同工酶及 7S 球蛋白亚基的缺失状态。

1.4 数据分析

利用 Excel 和 SPSS22.0 软件进行数据分析。

2 结果与分析

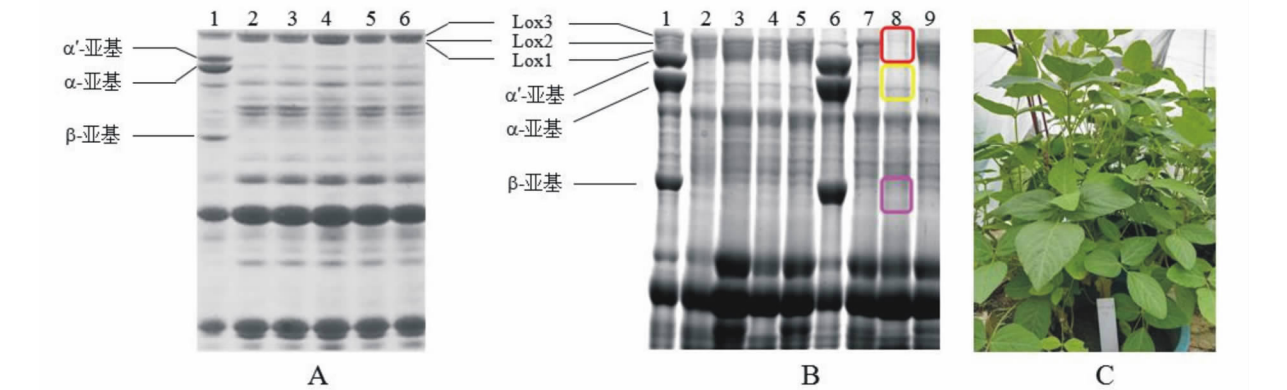
2.1 双缺失检测电泳图谱分析

如图 1A,传统 SDS-PAGE 技术电泳时,由于样品未经超声波处理,蛋白质易在胶体中沉积难以移动,导致 Lox-1,Lox-2 及 Lox-3 同工酶条带的分离和鉴别困难。经过改良后的聚丙烯酰胺凝胶电泳

技术:(1)样品前处理改良,通过在样品前处理过程中加入超声波处理后,蛋白质的溶解度增加,便于不同分子量蛋白质通过分离胶向正极方向移动,从而使分子量接近的不同种类蛋白条带得以区分(图 1B)。(2)降低分离胶的浓度,将分离胶的浓度从 7.5% 降到 6.75%,使凝胶的网格空隙加大,便于 Lox 同工酶在凝胶上移动,使得电泳结束之后,能够在胶板上清晰地区分出 3 种同工酶的具体缺失情况(图 1B)。通过上述两个方面的改良,实现了脂氧酶与 7S 球蛋白亚基双缺失的同步检测,获得了如图 1B 第 8 泳道所示的脂氧酶与 7S 球蛋白亚基双缺失 F₂ 个体,经过南繁北育连续追踪筛选,目前已经获得综合农艺性状优良且能稳定遗传的 F₆ 品系 10 份(如图 1C),为培育加工专用型高附加值大豆新品种提供了基础材料。

2.2 双缺失材料蛋白、脂肪、氨基酸、脂肪酸含量的变异分析

为了解所获得的实验材料的遗传是否稳定,各实验材料间是否存在较大的遗传差异,对材料的蛋白、脂肪、含硫氨基酸、脂肪酸的含量进行了变异分析(表 1)。结果表明,各供试材料的蛋白、脂肪、含硫氨基酸、脂肪酸的含量之间不存在较大变异,变异系数均在 10% 以内,间接证明了该批实验材料之间不存在特别明显的遗传差异。



注:A:改良前的电泳图片,B:改良后的电泳图片,C:利用改良后的电泳技术筛选的 F₆ 个体图片
Note:A:Photo of SDS-PAGE, B:Photo of ISDS-PAGE, C:Photo of F₆ generation by ISDS-PAGE

图 1 改良前后的 SDS-PAGE 图谱对比
Fig.1 Comparison of SDS-PAGE patterns before and after improvements

2.3 脂氧酶及 7S 球蛋白亚基双缺失特性对蛋白质、脂肪、脂脂总量的影响

实验对 10 份供试材料及黑河 38 的粗蛋白、水溶性蛋白、脂肪含量及 NSI 值进行了测定(表 2),并

通过 SPSS 软件对所得数据进行了显著性差异分析和相关性分析。结果表明,供试材料的蛋白质与脂肪含量之间几乎不存在相关性($r=0.047$),这与大

表 1 供试材料蛋白、脂肪、氨基酸、脂肪酸含量的变异分析

Table 1 Variance analysis of protein, fat, amino acids, fatty acids contents of tested material/%

项目 Item	平均值 Average	最小值 Min	最大值 Max	极差 Range of variation	变异系数 CV Coefficient of variation
蛋白 Protein	40.11	39.06	41.99	2.93	2.19
脂肪 Fat	18.68	17.90	19.62	1.72	3.24
含硫氨基酸 Methionine and cysteine	1.45	1.35	1.53	0.18	3.69
软脂酸 Palmitic acid	11.13	10.50	12.00	1.50	5.14
硬脂酸 Stearic acid	4.64	4.06	5.45	1.39	9.39
油酸 Oleic acid	20.21	17.80	23.25	5.45	8.08
亚油酸 Linoleic acid	55.02	51.69	58.04	6.35	3.31
亚麻酸 Linolenic acid	8.94	8.19	10.17	1.98	6.54

表 2 双缺失特性对蛋白质、脂肪、蛋脂总量的影响

Table 2 Effects of double deletion on protein, fat, protein and fat total contents

材料 Material	种质特性 Germplasm characteristics	蛋白质 Protein /%	水溶性蛋白/% Water – soluble protein	NSI 值/% Nitrogen solubility index	脂肪 Fat /%	蛋白质和脂肪总量 Totals of protein and fat/%
黑河 38	正常型 Normal type	39.70cde	29.18 d	73.50 c	20.52 a	60.22 b
6003	双缺失型 Double – null type	39.59 f	31.58 b	79.76 b	17.94 e	57.53 e
6004	双缺失型 Double – null type	39.06 e	32.51 a	83.24 a	18.18 de	57.24 d
6005	双缺失型 Double – null type	39.54 de	29.24 d	73.97 c	19.62 b	59.15 c
6006	双缺失型 Double – null type	39.83cde	26.95 e	67.67 d	19.44 b	59.27 c
6007	双缺失型 Double – null type	40.73 cd	24.36 g	60.82 f	18.95 c	59.68 c
6008	双缺失型 Double – null type	39.29 de	26.61 e	67.72 d	19.29 de	57.58 d
6009	双缺失型 Double – null type	39.17 e	25.03 f	63.92 e	18.53 cd	57.70 d
6010	双缺失型 Double – null type	41.99 a	30.62 c	72.92 c	18.28 de	60.27 b
6012	双缺失型 Double – null type	40.37 bc	29.39 d	72.80 c	18.85 c	59.22 c
6014	双缺失型 Double – null type	40.95 b	23.79 g	58.10 g	19.53 a	60.48 a

注:同一栏中标以不同小写字母的值差异达 0.05 显著水平。每组数据重复三次。下同

Note: Values followed by a different lowercase letter within a column are significantly different at 0.05 probability level. Each test was repeated three times. Same as below

表 3 双缺失特性对含硫氨基酸含量及氨基酸总量的影响

Table 3 Effect of double deletion on sulfur – containing amino acid and total amino acid contents/%

氨基酸 Amino acid	黑河 38	6003	6004	6005	6006	6007	6008	6009	6010	6012	6014
半胱氨酸 Cys	0.78 d	1.00 b	0.93 c	0.98 b	0.93 c	1.02 a	0.97 b	1.04 a	1.00 b	1.01 a	0.97 b
甲硫氨酸 Met	0.38 d	0.44 b	0.42 c	0.48 a	0.42 c	0.46 ab	0.48 a	0.50 a	0.47 a	0.48 a	0.45 ab
含硫氨基酸总量 Met + Cys	1.16 e	1.45 b	1.35 d	1.47 b	1.36 d	1.49 b	1.45 b	1.53 a	1.48 b	1.48 b	1.42 c
天冬氨酸 Asp	4.16 g	4.39 e	4.40 e	4.51 c	4.23 f	4.69 b	4.47 d	4.86 a	4.66 b	4.71 b	4.53 c
苏氨酸 Thr	1.74 e	2.09 c	1.98 d	2.12 b	1.95 d	2.14 b	2.07 c	2.20 a	2.20 a	2.18 a	2.05 c
丝氨酸 Ser	2.49 f	2.81 b	2.62 d	2.71 c	2.55 e	2.85 a	2.66 d	2.88 a	2.82 b	2.83 b	2.73 c
谷氨酸 Glu	6.16 d	6.35 c	6.32 c	6.35 c	6.08 e	6.61 b	6.33 c	6.99 a	6.59 b	6.63 b	6.34 c
甘氨酸 Gly	2.78 f	3.30 c	3.14 e	3.34 b	3.10 e	3.37 b	3.26 d	3.50 a	3.52 a	3.48 a	3.31 c
丙氨酸 Ala	2.50 e	2.82 c	2.69 d	2.88 b	2.67 d	2.89 b	2.81 c	2.99 a	2.97 a	2.96 a	2.72 d
缬氨酸 Val	1.98 e	2.54 b	2.37 d	2.49 c	2.37 d	2.59 a	2.46 c	2.63 a	2.54 b	2.56 b	2.45 c
异亮氨酸 Ile	1.65 d	1.74 bc	1.63 d	1.74 bc	1.59 e	1.78 b	1.71 c	1.82 a	1.82 a	1.81 a	1.70 c
亮氨酸 Leu	2.94 d	3.17 b	2.93 d	3.02 c	2.83 e	3.25 a	3.01 c	3.26 a	3.13 b	3.18 b	3.05 c
酪氨酸 Tyr	0.60 d	1.11 a	0.53 e	0.99 b	0.91 c	1.13 a	0.93 c	1.00 b	1.05 b	0.57 d	0.60 d
苯丙氨酸 Phe	1.83 a	1.73 b	1.54 d	1.62 c	1.56 d	1.71 b	1.62 c	1.72 b	1.68 bc	1.73 b	1.54 d
赖氨酸 Lys	2.38 c	2.49 ab	2.25 e	2.34 cd	2.22e	2.53 a	2.31 d	2.46 b	2.46 b	2.45 b	2.37 c
组氨酸 His	0.87 bc	0.98 a	0.83 c	0.86 bc	0.83 c	0.99 a	0.83 c	0.92 b	0.89 b	0.88 b	0.90 b
精氨酸 Arg	2.08 cd	2.13 c	2.06 d	2.05 d	2.02 d	2.17 b	2.07	2.31 a	2.11 c	2.20 b	2.10 c
氨基酸总量 Total amino acid	35.32 e	39.08 bc	36.62 d	38.48 c	36.26 d	40.18 b	37.99 c	41.09 a	39.90 b	39.65 b	37.82 c

多数学者的研究(大豆脂肪含量与蛋白质含量呈显著负相关)结果不符。分析可能是由于实验材料之间不存在明显的遗传差异,导致测定的数据之间不具有显著负相关的一般性规律。实验材料的平均蛋白质含量与黑河 38 之间不存在显著性差异,而水溶性蛋白的含量呈现较大差异,其中 6003 和 6004 的 NSI 值显著高于黑河 38,这为豆腐专用型大豆品种的育成提供了材料基础;另外,实验材料的平均脂肪含量为 18.73%,比黑河 38 低 1.79%,呈现出显著性差异。

2.4 脂氧酶及 7S 球蛋白亚基双缺失特性对含硫氨基酸及氨基酸总含量的影响

由表 3 可以看出,各供试材料之间的含硫氨基酸的含量差异性较小,但是其含量都显著高于黑河 38,达 25% 以上。说明 7S 球蛋白亚基的缺失可能

会引起 11S 球蛋白含量获得补偿性增加^[21],种子含硫氨基酸含量的增加,有助于改善大豆营养品质。供试材料的含硫氨基酸平均含量较黑河 38 高 25%,平均氨基酸总量较黑河 38 高 9.6%,都达到了极显著水平。

2.5 脂氧酶及 7S 球蛋白亚基双缺失特性对脂肪酸含量的影响

从表 4 可以看出具有脂氧酶及 7S 球蛋白亚基双缺失特性材料中软脂酸与亚油酸的平均百分含量均低于黑河 38,通过统计分析达到了极显著差异;硬脂酸与亚麻酸的平均百分含量与黑河 38 基本持平,无显著性差异;但是,双缺失特性材料中的油酸平均百分含量高出黑河 38 30%,达到了极显著水平。说明双缺失特性有利于大豆种子油酸含量的蓄积,其蓄积机理尚有待进一步研究。

表 4 双缺失材料脂肪酸百分含量
Table 4 Double deletion on fatty acid contents/%

材料 Material	软脂酸 Palmitic	硬脂酸 Stearic	油酸 Oleic	亚油酸 Linoleic	亚麻酸 Linolenic
黑河 38	12.80 a	4.50 f	15.30 k	58.20 a	9.20 c
6003	11.91 d	5.45 b	21.74 b	51.69 k	9.20 c
6004	11.57 e	4.84 e	21.18 d	54.16 h	8.24 i
6005	10.78 i	4.50 g	18.10 i	58.04 b	8.57 h
6006	12.00 b	4.38 i	17.80 j	57.00 c	8.82 g
6007	10.78 i	4.06 j	21.69 c	54.61 g	8.87 f
6008	10.50 f	4.80 a	20.50 g	54.90 i	8.50 a
6009	10.93 g	5.25 c	19.07 h	54.96 e	9.79 b
6010	10.88 h	4.51 g	20.78 e	54.70 f	9.13 d
6012	10.50 j	5.02 d	19.89 f	55.65 d	8.94 e
6014	11.94 c	4.45 h	23.25 a	52.17 j	8.19 j

2.6 脂肪酸组分间的相关性分析

从表 5 可以看出脂氧酶及 7S 球蛋白亚基双缺失材料中油酸含量与软脂酸和硬脂酸之间存在正相关的关系;与亚油酸和亚麻酸含量呈极显著负相关

关系;另外亚油酸与软脂酸和硬脂酸之间都呈极显著负相关关系;硬脂酸与亚麻酸之间存在显著正相关关系,此结论与刘丽君等^[22]得出的结论相似。

表 5 双缺失材料脂肪酸组分间的相关性分析
Table 5 Correlation analysis of fatty acid components in different tested double null materials

脂肪酸组分 Fatty acid composition	软脂酸 Palmitic	硬脂酸 Stearic	油酸 Oleic	亚油酸 Linoleic	亚麻酸 Linolenic
软脂酸 Palmitic	1.000	0.224	0.253	-0.522 * *	-0.137
硬脂酸 Stearic	0.224	1.000	0.005	-0.487 * *	0.392 *
油酸 Oleic	0.253	0.005	1.000	-0.794 * *	-0.437 * *
亚油酸 Linoleic	-0.522 * *	-0.487 * *	-0.794 * *	1.000	-0.049
亚麻酸 Linolenic	-0.137	0.392 *	-0.437 * *	-0.049	1.000

注: * 表示显著性相关(P=0.05), * * 表示极显著相关(P=0.01)
Note: * and * * indicate significance at 5% and 1% level respectively

3 讨论与结论

近年来,随着我国人民生活水平的提高,广大消费者对食品需求已由过去的温饱型,向现如今的小

康型转变,大豆育种者有必要转变育种目标,从过去只重视高产育种转向在高产基础上的种质创新及高附加值育种;从过去只为大豆生产者培育新品种,转向既重视豆农的高产需求,也重视加工企业为原料

加工品质性状的高附加值要求,来开展育种研究,重视种质资源的挖掘与创新,才有可能解决目前国产大豆所处的窘境。而脂氧酶及7S球蛋白亚基双缺失大豆种质资源的创制,为加工专用型高附加值大豆新品种的育成提供了基础材料。

研究通过对具有双缺失特性的新大豆种质资源的粗蛋白、水溶性蛋白、脂肪、氨基酸、脂肪酸含量的测定,并利用软件对所获得的数据进行了综合性分析,发现脂氧酶及7S球蛋白亚基的缺失与大豆的诸多生物学性状存在相关性。脂氧酶(2S球蛋白)和7S球蛋白作为大豆蛋白的主要组成部分,其完全缺失并未导致大豆种子总蛋白含量的降低,说明11S球蛋白的含量有补偿性的增加^[21];而11S球蛋白含量的增加会导致大豆中含硫氨基酸含量的增加^[10~12]。

实验数据显示,供试材料的平均脂肪含量低于对照品种,对所获得的实验数据进行相关性分析发现,脂肪含量的降低与双缺失特性之间不存在显著相关性。有研究表明,大豆脂肪含量与双亲之间呈常态分布^[23],且与主基因及多基因遗传有关^[24,25],推测可能是由于供试材料的亲本脂肪含量较对照品种低,导致所选材料的脂肪含量也相对较低,而其脂肪含量与脂氧酶及7S球蛋白亚基之间是否存在相关性尚有待进一步研究。同时,脂肪酸各组分中软脂酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸的含量均低于黑河38,油酸的平均含量却比黑河38高13.3%,达到了极显著的水平,而脂肪酸总量低于黑河38,为黑河38的85.7%,说明脂肪含量的降低导致脂肪酸各组分的含量也会随之下降。

综上所述,脂氧酶及7S球蛋白亚基双缺失大豆不仅具备完全无豆腥味特性,而且在不影响植株正常生长发育及其种子蛋白质含量的情况下,还有较高的大豆种子含硫氨基酸及油酸含量,改善了大豆种子蛋白质及脂肪组分营养组成,为培育食品加工专用大豆新品种,提高大豆的种植及加工效益,维护大豆产业链上中下游各方利益,对重振民族大豆产业具有重要意义。

致谢:

在大豆种子脂肪酸及氨基酸含量分析过程中,得到了国家乳品工程技术研究中心魏雪东副研究员及李博群助理研究员等的精心指导和帮助,在此表示诚挚的谢意!

参考文献:

[1] 江和源,吕飞杰,邵建祥.我国大豆的加工利用[J].粮

食与饲料工业,2000,5:40-42.

- [2] Teraishi M, Takahashi M, Hajika M, et al. Suppression of soybean β -conglycinin genes by a dominant gene *Scg-1*[J]. Ther Appl Genet, 2001,103:1 266-1 272.
- [3] Yenofsky R L, Fine M, Liu C. Isolation and characterization of a soybean (*Glycine max*) lipoxygenase-3 gene[J]. Molecular Genetics and Genomics,1988,211(2): 215-222.
- [4] Wang W H, Takano T, Shibata D, et al. Molecular basis of a null mutation in soybean lipoxygenase 2: substitution of glutamine for an iron-ligand histidine[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,1994,91(13): 5 828-5 832.
- [5] Ogawa T, Bando N, Tsuji, et al. Identification of the soybean allergenic protein, Gly m Bd 30K, with the soybean seed 34kDa oil-body-associated protein[J]. Biosci Biotech Biochem,1995,57:1 030-1 033.
- [6] Yamanishi R, Tsuji H, Bando N, et al. Reduction of the allergenicity of soybean by treatment with proteinase[J]. Nutri Sci Vitam,1996,42(6):581-587.
- [7] 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.
- [8] 麻浩,王显生,刘春,等.706份中国大豆种质贮藏蛋白7S和11S组分及其亚基相对含量的研究[J].大豆科学,2006,25(1):11-17.
- [9] 关荣霞,常汝镇,邱丽娟,等.栽培大豆蛋白亚基11S/7S组成及过敏蛋白缺失分析[J].作物学报,2004,11(30):1 076-1 079.
- [10] Staswicz P E, Herdson M, Nielsen N C. Identification of the acidic and basic subunit complexes of Glycinin[J]. J Biol Chem,1981,256:8 752-8 755.
- [11] Thanh V H, Shisaki K. β -conglycinin from soybean proteins: isolation and immunological and physiochemical properties of the monomeric forms[J]. Biochim Biophys Acta,1977,490:370-384.
- [12] Millersd A. Biochemistry of legume seed proteins[J]. Annu Rev Plant Physiol,1975,26:53-72.
- [13] Zhou R B, Zhou B. Characterization of structure and function of 7S and 11S globulin[J]. CCOA,1998,13(6):39-42.
- [14] 高橋浩司,島田信二,島田尚典,ほか.低アレルギー高11Sグロブリンダイズ「ゆめみのり」の育成[J].東北農研研報,2004,23-39.
- [15] Hajika M, Takahashi M, Sakai S, et al. A new genotype of 7S globulin detected in wide soybean[J]. Breed Sci, 1996,46(20):385-386.
- [16] 李楠.利用近红外光谱技术快速检测大豆氨基酸含量及分析其相关性研究[D].北京:北京交通大学,

2012.

[17]

Wang X Y, Zhang C Y, Jia X Y. Analysis of fatty acids com position and content in soybean varieties in Hebei Province[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2007,30(2):15 – 18.

[18]

柴玉华,谭克竹. 基于近红外分析技术检测大豆脂肪酸含量的研究[J]. 农业工程学报,2007,23(1):238 – 241.

[19]

王绍东,李远明,姜妍,等. 聚丙烯酰胺凝胶电泳快速检测大豆过敏原蛋白 Gly m Bd 30 K 缺失方法[J]. 大豆科学,2011,30(4):638 – 642.

[20]

王绍东,姜妍,王浩,等. 新聚丙烯酰胺凝胶电泳快速检测大豆脂氧酶缺失方法[J]. 大豆科学,2011,30(3):484 – 487.

[21]

Kitamura K, Ishimoto M, Kaizuma N. Genetic relationships among genes for the subunit of soybean 11S globulin (in Japanese)[J]. Jpn J Breed,1993,43(Suppl 2):159.

[22]

刘丽君,赵乃新,高明杰等. 大豆的生理性状与脂肪酸形成的关系[J]. 大豆科学,1992,12(4):232 – 236.

[23]

Weber C R. Inheritance and interrelation of some agroeconomic and chemical characters in an interspecific cross in soybeans *G. max* × *G. ussuriensis*[J]. Towa Agricultural Experment Research Bluletein,1950,374:767 – 816.

[24]

姜振峰. 大豆油分和蛋白质含量遗传效应及与环境互作效应 QTL 分析[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2010.

[25]

郑永战,盖钧镒,周瑞宝. 大豆脂肪及脂肪酸组分含量的遗传分析[J]. 大豆科学,2007,26(6):801 – 806.

(责任编辑:王丽芳)