

高纬度地区大豆蛋白含量及氨基酸组分表型鉴定与聚类分析

邱红梅, 杨春明, 高淑芹, 侯云龙, 马晓萍, 孙星邈, 郑宇宏, 王跃强, 王曙明

(吉林省农业科学院大豆研究所/大豆国家工程研究中心, 长春 130033)

摘要:对国内外高纬度地区的 240 份大豆种质资源的蛋白及 16 个氨基酸组分进行测定, 通过遗传多样性、因子和聚类分析, 进行了表型鉴定及基因型分类。结果表明, 供试大豆种质蛋白及氨基酸组分变异较丰富, 遗传多样性程度较高。根据因子分析, 将筛选到的 3 个公因子进行聚类分析, 可将供试种质资源分为 7 类。蛋白含量从高到低的顺序为类群 VII > 类群 VI > 类群 V > 类群 II > 类群 I > 类群 III > 类群 IV。12 个氨基酸组分的变化趋势与蛋白一致。类群 VII 和类群 VI 为高蛋白遗传群体, 可作为高蛋白基因聚合育种的亲本材料。通过前期分析, 筛选到 24 份高蛋白资源, 包括有公野 04L-141、龙品 03-311、Proto、和龙油太、猫眼豆、茶色豆、紫花 2 号、东农 48 等, 可为高蛋白种质创新提供材料基础。

关键词:大豆; 蛋白; 氨基酸组分; 遗传多样性; 聚类分析

Phenotype Identification and Cluster Analysis of Soybean in Upper Latitudes Regions Based on Protein Content and Amino Acid Composition

QIU Hong-mei, YANG Chun-ming, GAO Shu-qin, HOU Yun-long, MA Xiao-ping,

SUN Xing-miao, ZHENG Yu-hong, WANG Yue-qiang, WANG Shu-ming

(Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences/ National Engineering

Research Center for Soybean, Changchun 130033)

Abstract: To identify the phenotypes and to classify the genotypes through genetic diversity, factors and cluster analysis, the content of protein and 16 amino acids was measured in 240 soybean core collections in upper latitude regions. The results showed that there were higher genetic variation and diversity for the content of protein and 16 amino acids in 240 soybean core collections. Three common factors were screened for clustering analysis according to the factor analysis. Seven genetic groups were divided through clustering analysis for 240 soybean core collections. The sequence for protein content from high to low acted as group 7 > group 6 > group 5 > groups 2 > groups 1 > groups 3 > group 4. Change trend of 12 amino acids composition was in accordance with protein content. Group 7 and 6 for high protein genetic groups would be used as parent materials for gene polymerization breeding. 24 high methionine germplasm resources were identified by analysis, including Gongye 04L-141, Longpin 03-311, Proto, Helongyoutai, Maoyandou, Chasedou, Zihua 2, Dongnong 48. These germplasm resources were the material basis for innovation of high methionine germplasm.

Key words: soybean; protein content; amino acid composition; genetic diversity; cluster analysis

大豆 (*Glycine max* (L.) Merr.) 起源于我国, 是古老的作物之一, 至少有 3000 多年的栽培历史^[1]。

大豆蛋白具有很高的营养价值, 是重要的植物蛋白来源。其子粒中的蛋白含量一般为 40%, 约是谷

收稿日期: 2014-01-15 修回日期: 2014-03-16 网络出版日期: 2014-10-13

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20141013.2035.027.html>

基金项目: “863” 计划课题 (2012AA101106); 国家自然科学基金 (31401404); 现代农业产业技术体系专项 (CARS-04-PS11); 吉林省自然科学基金 (20140101142JC)

第一作者从事大豆种质资源保存及创新研究。E-mail: qhm2001-2005@163.com

通信作者: 王曙明, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: shumingw@263.net

类蛋白的 3 倍、肉类蛋白的 2 倍^[2]。野生大豆的蛋白含量通常高于栽培大豆, Y. S. Dong 等^[3]测定了 6172 份野生大豆的蛋白含量, 均值为 45.20%。大豆蛋白的氨基酸组成较均衡, 含有人体所需的 8 种必要氨基酸, 但蛋氨酸含量较少, 未达到联合国粮农组织的营养标准^[4]。国内外在大豆蛋白、氨基酸组分的生理生态及遗传等方面均有研究, 取得了较深入进展。研究表明, 大豆种质资源蛋白含量存在广泛的遗传变异。王文真等^[5]对 21050 份栽培大豆的蛋白含量进行测定, 含量均值为 44.31%, 变幅为 29.30% ~ 52.9%, 变异系数为 6.06%。李为喜等^[6]对中国三大生态区 454 份大豆种质的蛋白含量进行了分析, 结果表明北方、黄淮海、南方种质的蛋白含量呈现自北向南递增的趋势。东北 2342 份大豆品种资源蛋白含量均值为 42.07%, 黄淮 4923 份夏大豆种质蛋白含量均值为 43.58%, 二者均值比较表明东北种质蛋白含量总体较黄淮低^[7-8]。

不同生态区种质蛋白含量虽有所差异, 但氨基酸组成基本相同, 含量居前几位的一般是谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、精氨酸、赖氨酸, 含量最少的是含硫氨基酸^[9]。不同进化类型的大豆均以谷氨酸含量最高, 天冬氨酸次之, 蛋氨酸含量最低^[10-11]。徐豹等^[12]指出栽培大豆的天冬氨酸和苯丙氨酸略高于野生大豆, 组氨酸和精氨酸略低于野生大豆。陈绍江等^[13]探讨了氨基酸组成的遗传原因, 20 个栽培大豆品种的氨基酸含量与其相应密码子数目呈极显著正相关, 对应于蛋氨酸的密码子最少, 因而一般其在蛋白质中含量也最低。张明等^[14]对中国 24 个省、市、自治区的 1004 份大豆含硫氨基酸组分进行了分析, 结果表明种质间含硫氨基酸组分变异较大, 蛋氨酸的变幅为 0.93 ~ 1.65 g/16gN, 变异系数为 9.30%。野生大豆蛋氨酸含量虽然也较低, 但变异系数更大, 徐豹等^[15]从野生大豆中筛选出 5 份高含硫氨基酸种质。通过上述研究初步了解了种质资源的蛋白及氨基酸含量分布, 但关于种质类型划分及品质育种亲本选配的研究较少。宁海龙等^[16]对 62 份黑龙江大豆种质的蛋白质组分进行分析, 通过聚类分析划分出种质的主要品质类型。然而, 该研究只涉及到少部分种质, 代表性不强。本研究对 240 份高纬度地区大豆种质的蛋白及氨基酸组分进行了系统分析, 旨在发掘优异基因型, 为基因聚合育种和优质种质创制奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料 240 份大豆资源, 由国家农作物种质资源平台中国农业科学院作物科学研究所大豆基因资源与利用课题组提供(表 1)。包括国外高纬度地区 118 份; 国内黑龙江 65 份、吉林 35 份、辽宁 9 份、内蒙古 7 份、新疆 4 份、甘肃 1 份、宁夏 1 份, 国内种质包含有 31 份东北大豆微核心种质。

1.2 田间试验及品质性状测定

试验于 2012—2013 年在吉林省农业科学院公主岭试验基地进行。试验地肥力中等, 土地平整。采取随机区组种植, 4 行区, 行长 4 m, 行距 0.6 m, 株距 0.1 m, 3 次重复, 常规管理。根据生育天数, 试验材料可分为 3 个熟期组, 生育期变幅在 100 ~ 130 d, 在公主岭均可正常成熟。

采用凯氏定氮法^[17]混合样单次测定子粒蛋白的含量。利用 Agilent 1100 高效液相色谱仪参照氨基酸测定方法(GB/T 18246—2000)^[18], 测定蛋氨酸、天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、脯氨酸的含量。

1.3 统计 分 析

统计分析的性状包括蛋白、蛋氨酸、天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、脯氨酸含量 17 个品质性状, 性状编号为 X1 ~ X17。

用 Excel 2010 软件分析处理各个性状的多样性指数。参照胡建斌等^[19]方法, 数量性状根据平均值(X)和标准差(δ)分为 10 级, 1 级 $< X - 2\delta$, 10 级 $\geq X + 2\delta$, 中间每级相差 0.5 δ 。各性状遗传多样性用 Shannon's 信息指数(H')进行评价, $H' = -\sum P_i \ln P_i$, P_i 表示第 i 种变异出现频率, 用所有相应的各个性状 H 的平均值表示一组或所有种质的遗传多样性程度。

利用 DPS v7.05 软件分析蛋白与 16 种氨基酸含量均值、标准差、变异系数; 并进行因子分析和数据标准化转换的欧氏距离法^[20]聚类分析。

2 结果与分析

2.1 品质性状的表现及多样性分析

240 份高纬度地区大豆种质的蛋白及 16 个氨基酸含量存在较丰富的遗传变异(表 2)。其中, 变

表 1 供试大豆种质及来源

Table 1 The 240 soybean collections and their origins

| 来源 Origin | 数量 No. | 种质名称(编号) Germplasm name(Code) |
|--------------|-----------|--|
| 国外 | 118 | Magnolid(208)、94-12-9(223)、94-15(226)、9748-9750(187)、Beeson(188)、Boigedulotet geronne(76)、Century(209)、CN 210(115)、Dawson(79)、Hack(215)、Hark(218)、Harosoy(210)、Hitatsa(46)、Hodgson(138)、Hodgson-1(139)、Hodgson 78(113)、Hoyt(160)、IL1(211)、Kato(114)、L59-731(86)、L61-1069(181)、L61-4094(144)、L61-5047(145)、L62-17(189)、L62-364(116)、L62-558(212)、L62-801(221)、L62-904(190)、L63-1097(151)、L63-1212(182)、L63-1397(117)、L63-1612(161)、L64-1061(162)、L64-1067(163)、L64-2139(213)、L64-2489(219)、L65-1058(155)、L65-1274(88)、L65-237(203)、L65-34(191)、L65-540(192)、L65-60(204)、L65-756(148)、L66-704(87)、L66-707(183)、L66-731(158)、L67-1250(147)、L67-166(152)、L67-1687(168)、L67-225(156)、L67-226(184)、L67-234(185)、L67-3090(153)、L67-3388(186)、L67-38(169)、L67-971(216)、L68-560(159)、L68-758(146)、L69-4265(220)、L69-4266(89)、L69-4318(154)、L69-4428(173)、L69-6095(193)、L70-4112(174)、L70-4136(194)、L71-46(222)、L72-1138(175)、L72-1140(157)、L72-1198(176)、L72-1241(118)、L72D-4045(177)、L73-105(149)、L73-1543(150)、L73-79(205)、L81-4075(206)、L83-4387(228)、L84-337(195)、L85-144(196)、L90-4711(197)、LS201(141)、Maple Amber(78)、Maple Arrow(48)、Maple Presto(84)、Maple Ridge(82)、N02(74)、N09(109)、N13(29)、N20(30)、N21(31)、N22(32)、N23(33)、N29(34)、N31(35)、N32(36)、N35(37)、N36(38)、N38(39)、N49(40)、N54(41)、N57(42)、N59(43)、N62(44)、N66(45)、Nattawa(47)、Nattosan(83)、Nova(178)、Proto(137)、SS201(164)、SS202(142)、T295H(165)、Vinton(140)、Vinton 81(166)、Weber(81)、Wilkin(85)、杜纳吉卡(136)、赫尔松 2 号(122)、多马卡·托利萨(77)、艾卡 166(112) |
| 黑龙江 | 65 | 北丰 11(12)、北丰 14(18)、北丰 9 号(17)、东大 2 号(28)、东农 01-1234(107)、东农 47(64)、东农 42(75)、东农 46(101)、东农 44(11)、东农 48(133)、嘟噜豆(217)、方正秣食豆(51)、丰收 6 号(58)、合丰 52(105)、合交 02-1667(72)、合丰 24(1)、合丰 25(2)、合丰 29(130)、合丰 30(20)、合丰 35(97)、合丰 37(27)、合丰 39(14)、黑河 11(68)、黑河 13(19)、黑河 14(26)、黑河 17(7)、黑河 18(16)、黑河 19(13)、黑河 1 号(69)、黑河 25(24)、黑河 27(8)、黑河 29(22)、黑河 31(23)、黑河 35(21)、黑河 4 号(6)、黑河小黄豆(4)、黑河 44(73)、黑龙江 41(167)、黑农 2 号(126)、黑农 9 号(127)、黑农 35(98)、黑农 37(102)、黑农 44(65)、黑农 48(80)、红丰 11(103)、抗线 2 号(129)、克北 1 号(90)、龙品 03-311(134)、龙泉大豆(3)、牡丰 1 号(60)、嫩丰 11(59)、嫩丰 15(131)、青豆(120)、庆安黑豆(50)、绥农 27(104)、绥 02-339(106)、绥农 10 号(15)、绥农 14(9)、绥农 15(66)、绥农 1 号(5)、绥农 8 号(67)、压破车(125)、元宝金(49)、紫花 2 号(124)、紫花 4 号(91) |
| 吉林 | 35 | 薄地高(198)、铁荚子(94)、茶色豆(123)、丰地黄(53)、凤交 66-22(229)、公野 03-5570(128)、公野 03-7239(179)、公野 04L-141(99)、公野 04-L15(100)、公野 5056(135)、怀德白花大粒(171)、黄脐(230)、吉林 20(111)、吉育 35(172)、吉育 39(62)、吉林茶里花(57)、吉育 57(96)、吉育 66(199)、吉育 67(63)、吉育 71(143)、吉育 93(227)、吉育 94(110)、九农 21(25)、牛毛黄-1(234)、牛毛黄(240)、青仁黑豆(236)、四粒黄(119)、天鹅蛋(237)、铁荚四粒黄(200)、通农 13(201)、小黄豆-1(225)、小黄豆(238)、小金黄(93)、小粒秣食豆(132)、和龙油太(95) |
| 辽宁 | 9 | 黄宝珠(180)、金元 1 号(231)、锦州 4-1(207)、荆山璞(92)、辽鲜 1 号(10)、六十天还仓(56)、盘石豆(235)、铁 5621(224)、铁丰 29(239) |
| 内蒙古 | 7 | 赤 382(70)、大粒黑豆(54)、大粒黑豆-1(55)、猫眼豆(121)、蒙豆 12(61)、蒙豆 14(52)、蒙豆 9 号(71) |
| 新疆 | 4 | 昌吉黄豆(170)、石大豆 1 号(108)、新大豆 1 号(202)、焉耆黄豆(214) |
| 甘肃 | 1 | 绿滚豆(232) |
| 宁夏 | 1 | 倪丁花眉豆(233) |

异系数大于 10% 的性状有精氨酸、脯氨酸、蛋氨酸组分。变异系数最大的是精氨酸,为 16.52%,平均值为 3.68%,变幅为 2.19%~4.90%。其次为脯氨酸,14.25%,平均值为 2.74%,变幅为 1.25%~4.26%。精氨酸与脯氨酸组分的变异系数较大,表

明北方大豆种质的精氨酸与脯氨酸组分的离散程度较高,特异含量种质较多。变异系数最小的是蛋白含量,仅为 4.70%,平均值为 42.61%,变幅为 34.12%~51.27%,蛋白含量的极差较大为 17.15%,但变异系数最小,表明核心种质的蛋白含量

表 2 240 份大豆种质蛋白含量及氨基酸组分的统计分析及多样性指数

Table 2 Statistical analysis and diversity index of the content of protein and amino acids for 240 soybean collections

| 性状 Trait | 均值(%) Mean | 最大值(%) Max. | 最小值(%) Min. | 极差(%) Range | 标准差 s | 变异系数 (%)CV | 多样性指数 H' | |
|-------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------|---------------|------------|------|
| | | | | | | | 国内种质 | 国外种质 |
| 蛋白 | 42.61 | 51.27 | 34.12 | 17.15 | 2.00 | 4.70 | 2.04 | 1.91 |
| 蛋氨酸 | 0.58 | 0.77 | 0.45 | 0.32 | 0.06 | 10.05 | 2.09 | 1.96 |
| 天冬氨酸 | 4.94 | 5.86 | 1.74 | 4.12 | 0.33 | 6.65 | 2.07 | 1.92 |
| 苏氨酸 | 1.62 | 1.88 | 1.19 | 0.69 | 0.09 | 5.45 | 2.01 | 1.85 |
| 丝氨酸 | 2.13 | 2.59 | 1.73 | 0.86 | 0.13 | 6.15 | 2.06 | 1.91 |
| 谷氨酸 | 8.43 | 9.86 | 6.98 | 2.88 | 0.47 | 5.55 | 2.02 | 1.94 |
| 甘氨酸 | 1.80 | 2.22 | 1.52 | 0.70 | 0.10 | 5.47 | 2.03 | 1.89 |
| 丙氨酸 | 1.75 | 2.16 | 1.47 | 0.69 | 0.11 | 6.08 | 2.06 | 2.01 |
| 缬氨酸 | 2.22 | 2.83 | 1.77 | 1.06 | 0.15 | 6.56 | 2.09 | 1.98 |
| 异亮氨酸 | 1.93 | 2.29 | 1.61 | 0.68 | 0.11 | 5.88 | 2.12 | 2.08 |
| 亮氨酸 | 3.21 | 3.70 | 2.69 | 1.01 | 0.16 | 4.92 | 2.16 | 2.06 |
| 酪氨酸 | 1.58 | 1.96 | 1.36 | 0.60 | 0.09 | 5.93 | 2.06 | 1.95 |
| 苯丙氨酸 | 2.10 | 2.71 | 1.72 | 0.99 | 0.13 | 6.30 | 2.04 | 1.84 |
| 组氨酸 | 1.54 | 2.04 | 1.27 | 0.77 | 0.14 | 9.30 | 2.21 | 2.05 |
| 赖氨酸 | 2.98 | 3.59 | 2.41 | 1.18 | 0.19 | 6.35 | 2.18 | 2.04 |
| 精氨酸 | 3.68 | 4.90 | 2.19 | 2.71 | 0.61 | 16.52 | 2.23 | 2.13 |
| 脯氨酸 | 2.74 | 4.26 | 1.25 | 3.01 | 0.39 | 14.25 | 2.17 | 2.08 |

较多分布在均值 42.61% 左右,离散程度较低。但国内外种质蛋白的遗传多样性指数均较高,表明此群体中调控蛋白的基因型较丰富,只是基因频率相对较低。国内种质各性状的遗传多样指数均高于国外种质,国内外种质总的遗传多样指数分别为 2.10 和 1.98,表明国内种质蛋白及氨基酸组分遗传变异更丰富。

2.2 品质性状的因子分析

对供试大豆种质的 17 个品质性状的平均值进行了因子分析,按最小特征值大于 1 得到 3 个公因子,累积贡献率达 84.35%,经方差极大正交旋转后的因子特征值及累积贡献率见表 3。第 1 公因子的贡献率高达 53.96%,反映了原始变量的大部分信息。第 1 公因子中天冬氨酸(X3)、谷氨酸(X6)、甘氨酸(X7)、丙氨酸(X8)、亮氨酸(X11)的特征向量较大,可称为氨基酸因子。第 2 公因子中蛋氨酸(X2)、丝氨酸(X5)、异亮氨酸(X10)、组氨酸(X14)、赖氨酸(X15)、精氨酸(X16)的特征向量较大,可称为必需氨基酸因子。第 3 公因子中蛋白(X1)的特征向量最大,可称为蛋白因子。第 1 公因子值越大,种质的天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸含量越高。第 2 公因子值越大,种质的蛋氨酸、异亮氨酸、赖氨酸等必需氨基酸含量越高。第 3 公因子值越大,表明种

表 3 240 份大豆种质蛋白含量及氨基酸组分的因子分析

Table 3 Result of factor analysis in the content of protein and amino acids for 240 soybean collections

| 性状代号 Trait code | 因子 1 Factor 1 | 因子 2 Factor 2 | 因子 3 Factor 3 |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| X1 | 0.12 | -0.18 | 0.67 |
| X2 | 0.04 | 0.40 | -0.24 |
| X3 | 0.31 | 0.08 | -0.15 |
| X4 | 0.28 | 0.17 | -0.23 |
| X5 | 0.23 | 0.33 | -0.02 |
| X6 | 0.31 | -0.02 | 0.11 |
| X7 | 0.31 | 0.01 | -0.06 |
| X8 | 0.30 | 0.04 | -0.24 |
| X9 | 0.29 | 0.13 | 0.26 |
| X10 | 0.22 | -0.33 | -0.05 |
| X11 | 0.31 | -0.11 | -0.10 |
| X12 | 0.27 | -0.07 | -0.11 |
| X13 | 0.21 | -0.05 | 0.22 |
| X14 | 0.09 | 0.44 | 0.14 |
| X15 | 0.19 | -0.37 | -0.21 |
| X16 | 0.22 | -0.34 | 0.02 |
| X17 | 0.19 | 0.26 | 0.38 |
| 特征值 | 9.17 | 3.85 | 1.32 |
| 贡献率(%) | 53.96 | 22.64 | 7.74 |
| 累积贡献率(%) | 53.96 | 76.60 | 84.35 |

质的蛋白含量越高。若第 2 和第 3 公因子值均大的种质,则为高蛋白且优异氨基酸组成的材料。通过上述因子分析,有效地减少了变量数目,发掘到具有代表性的因子,为后续聚类分析奠定了基础。

2.3 聚类分析

利用挖掘到的 3 个公因子,采用欧氏距离最小距离法进行聚类分析(图 1)。在遗传距离 3.31 处,将 240 份大豆种质分为 7 个主要类群。类群 I 包含 60 份种质,其中 33 份国外、27 份国内种质,国内种质包括黑龙江 18 份、吉林 4 份、辽宁 3 份、内蒙古 1 份、新疆 1 份。类群 II 包含 66 份种质,其中 37 份国外、29 份国内种质,国内种质包括黑龙江 17 份、吉林 6 份、辽宁 2 份、内蒙古 2 份、宁夏 1 份、甘肃 1 份。类群 III 包含 22 份种质,其中 9 份国外、13 份国内种质,国内种质包括黑龙江 8 份、吉林 4 份、内蒙古 1 份。类群 IV 包含 10 份种质,其中 3 份国外、7 份国内种质,国

内种质包括黑龙江 3 份、吉林 4 份。类群 V 包含 43 份种质,其中 16 份国外、27 份国内种质,国内种质包括黑龙江 11 份、吉林 12 份、辽宁 2 份、内蒙古 1 份、新疆 1 份。类群 VI 包含 17 份种质,其中 8 份国外、9 份国内种质,国内种质包括黑龙江 5 份、辽宁 2 份、吉林 1 份、新疆 1 份。类群 VII 包含 15 份种质,其中 7 份国外、8 份国内种质,国内种质包括吉林 3 份、黑龙江 2 份、内蒙古 2 份、新疆 1 份。

7 个主要类群共含有 233 份种质,还有 7 份种质离散出群,包括黑农 44、CN210、L65-1274、N21、Nattosan、Hitatsa、吉林菜里花。其中 L65-1274 的蛋白含量最少,仅 34.12%,蛋氨酸含量为 0.57%。其对应的近等基因系材料蛋白含量均值为 42.65%,表明此类材料蛋白含量遗传差异较大,可作蛋白含量控制基因研究的材料。黑农 44 与 CN210 的蛋白含量分别为 37.19% 和 37.92%,蛋氨酸含量均值为 0.56%。N21

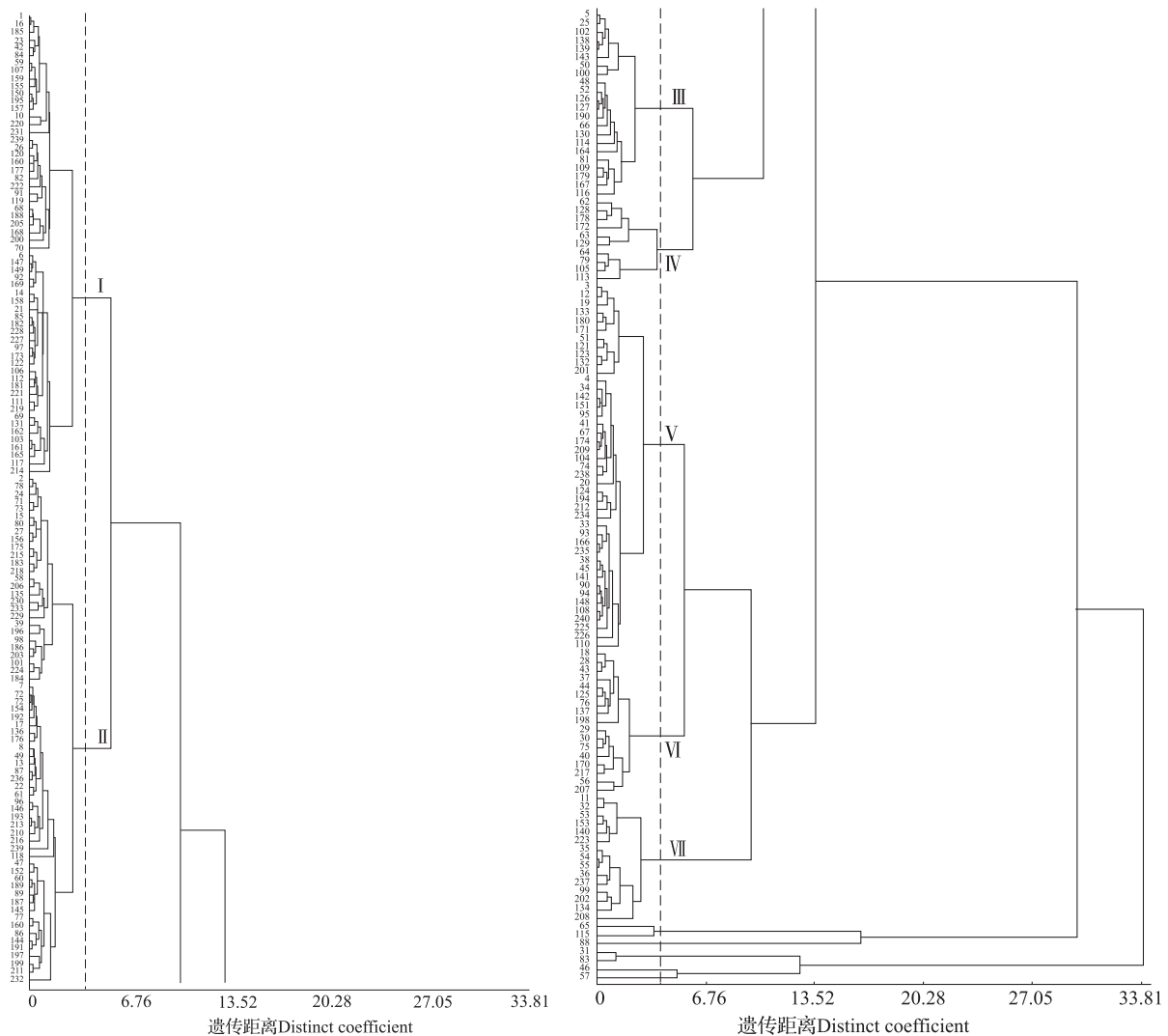


图 1 供试大豆种质的聚类树

Fig. 1 The cluster dendrogram of 240 soybean collections

与 Nattosan 的蛋白含量分别为 48.30%、48.03%，而蛋氨酸含量较低，分别为 0.54% 和 0.60%。Hitatsa 与吉林菜里花的蛋白含量分别为 51.27%、50.32%，蛋氨酸含量均值为 0.61%。结果表明，7 份种质含有蛋白及氨基酸组分特异的基因型，育种者可根据各自目标有针对性地选取特异种质。

2.4 供试大豆种质蛋白及蛋氨酸含量的分型

通过聚类结果可知，关于蛋白品质可分为 7 个主要基因型类群。蛋白含量从高到低的顺序为类群 VII > 类群 VI > 类群 V > 类群 II > 类群 I > 类群 III > 类群 IV (表 4)。类群间的蛋白含量存在极显著差异，表明分型结果较合理，具有基因型代表性。类群 VII 与类群 VI 为高蛋白基因型，由于存在 1 个蛋白百分点的差异，应存在部分基因型差异；2 个类群合计 32 份种质，占总群体的 13.33%；其中公野 04L-141、龙品 03-311、Proto 为高蛋白种质。类群 V 的蛋白含量高于群体均值，为亚高蛋白基因型，其中和龙油太、猫眼豆、茶色豆、紫花 2 号、东农 48、小粒秣食豆为高蛋白种质。其他 IV 个类群的蛋白含量接近或低于群体

均值，但均含有高蛋白种质，类群 II 中有 6 份、类群 I 中有 4 份、类群 III 中有 3 份、类群 IV 中有 2 份。共筛选到 24 份高蛋白种质，国外 8 份、国内 16 份，国内种质包括吉林 9 份、黑龙江 6 份、内蒙古 1 份。

7 个类群的氨基酸组成比例基本相同，谷氨酸含量 (X6) 最高，天冬氨酸含量 (X3) 次之，精氨酸含量 (X16) 位居第三，其后依次为亮氨酸 (X11)、赖氨酸 (X15)、脯氨酸 (X17)、缬氨酸 (X9)、丝氨酸 (X5)、苯丙氨酸 (X13)、异亮氨酸 (X10)、甘氨酸 (X7)、丙氨酸 (X8)、苏氨酸 (X4)、酪氨酸 (X12)、组氨酸 (X14)、蛋氨酸 (X2)。除蛋氨酸外，其他必需氨基酸含量均较高。虽然氨基酸组成比例相同，但在类群间 12 个氨基酸组分存在显著性差异，包括天冬氨酸 (X3)、苏氨酸 (X4)、丝氨酸 (X5)、谷氨酸 (X6)、甘氨酸 (X7)、丙氨酸 (X8)、缬氨酸 (X9)、异亮氨酸 (X10)、亮氨酸 (X11)、酪氨酸 (X12)、苯丙氨酸 (X13)、赖氨酸 (X15)，12 个氨基酸组分的变化趋势与蛋白一致，均为类群 VII > 类群 VI > 类群 V > 类群 II > 类群 I > 类群 III > 类群 IV (图 2)。

表 4 供试大豆种质蛋白的分型结果

Table 4 Results of classification of phenotype and genotype for protein content in 240 soybean collections

| 类群 Group | 蛋白含量 (%) Protein content | 标准差 s | 样本数 No. | 高蛋白种质 High content of methionine germplasm |
|-------------|-----------------------------|----------|------------|---|
| VII | 46.01 a A | 0.31 | 15 | 公野 04L-141(99)、龙品 03-311(134) |
| VI | 44.83 b B | 0.23 | 17 | Proto(137) |
| V | 43.76 c C | 0.28 | 43 | 和龙油太(95)、猫眼豆(121)、茶色豆(123)、紫花 2 号(124)、东农 48(133)、小粒秣食豆(132) |
| II | 42.63 d D | 0.34 | 66 | 吉育 57(96)、黑农 35(98)、L72-1241(118)、杜纳吉卡(136)、Harosoy(210)、公野 5056(135) |
| I | 41.50 e E | 0.32 | 60 | 嫩丰 15(131)、吉林 20(111)、艾卡 166(112)、赫尔松 2 号(122) |
| III | 40.37 f F | 0.25 | 22 | 黑农 2 号(126)、Hodgson(138)、L62-364(116) |
| IV | 39.16 g G | 0.40 | 10 | 公野 03-5570(128)、吉育 35(172) |

3 讨论

大豆蛋白含量是重要的品质性状之一，优异氨基酸组成是优质蛋白的前提。对种质资源的蛋白含量及氨基酸组成进行鉴定评价，对大豆品质育种具有重要意义。美国大豆区划实验室对 3000 份栽培大豆的蛋白含量进行分析，变幅为 36.00% ~ 49.50%，极差为 13.50% [21]。徐豹等 [22] 分析了我国 1635 份栽培大豆的蛋白含量，平均值为 42.15%，变幅为 34.70% ~ 50.73%，极差为 16.03%。孟祥勋 [23] 对东北三省 2343 份栽培大豆种质资源蛋白进行分析，平均值为 41.80%，变幅为 23.15% ~ 49.50%，

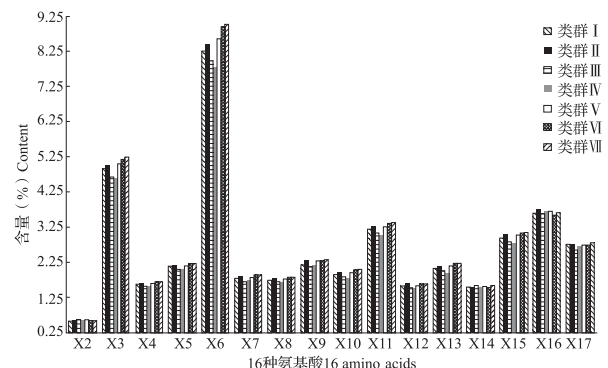


图 2 供试大豆种质氨基酸组成分析

Fig. 2 Composition analysis of amino acids in 240 soybean collections

极差为 26.36%。本研究的蛋白均值为 42.61%, 变幅为 34.12% ~ 51.27%, 极差为 17.15%, 变幅与极差均大于美国大豆区划实验室^[21]与徐豹等^[22]的结果, 但小于孟祥勋^[23]的结果。其中孟祥勋^[23]分析的蛋白均值为 41.80%, 仅比本研究结果低 0.71%, 表明其研究的群体样本中蛋白含量极端低的材料少, 蛋白含量为 23.15% 的材料属特例。Y. S. Dong 等^[24]对 19099 份中国大豆种质的蛋白遗传多样性进行了分析, 鉴定到蛋白含量的变幅为 30.10% ~ 53.00%, 遗传多样性指数为 3.47。崔艳华等^[8]分析 4556 份黄淮夏大豆的遗传多样性指数为 1.90。本研究国内外种质的遗传多样性指数分别为 2.04 和 1.91。Y. S. Dong 等^[24]研究的样本群体来自全国 24 个省市, 包含多个生态区, 故遗传多样性指数最高。本研究蛋白含量遗传多样性略高于黄淮夏大豆, 表明本研究样本材料的蛋白品质遗传变异较丰富, 从中选择高蛋白育种亲本是可行的。

合理氨基酸组成一直以来都是研究者关注的课题之一。福井重郎^[25]对大豆属植物种子氨基酸组成进行了分析, 指出种间氨基酸差别不大。平春枝^[26]分析了 1110 份大豆含硫氨基酸组分的差异, 结果表明含硫氨基酸具有较大变异。宁海龙等^[16]对 62 份东北大豆种质品质性状的分析表明, 在各种氨基酸中, 脯氨酸的变异系数最大, 甘氨酸最小, 蛋氨酸较大。本研究计算的精氨酸变异系数最大, 脯氨酸次之, 蛋氨酸居第 3 位; 苏氨酸的变异系数最小, 与之接近的为甘氨酸变异系数。本研究结果与宁海龙等^[16]存在差异, 与样本群体差异有关。胡润芳等^[27]对大豆蛋白与氨基酸组分进行分析表明, 蛋氨酸的变异系数较高为 13.15%。李楠等^[28]研究表明大豆子粒中谷氨酸含量最高, 含硫氨基酸变异系数较高。综上可知大豆氨基酸组成基本相同, 均是谷氨酸含量最高, 含硫氨基酸遗传变异较丰富, 为优异氨基酸组成高蛋白育种奠定了材料基础。本研究筛选到的高蛋白、高蛋氨酸种质(公野 04L-141、龙品 03-311), 经系谱分析均具有野生大豆血缘, 在蛋白品质改良方面野生大豆优异基因型得到了很好的利用^[29]。同时表明, 我国北方大豆核心种质蛋白含量相关基因变异丰富。本研究鉴定的类群 VII 和类群 VI 为高蛋白遗传类群, 且基因型不同, 可进行高蛋白基因聚合育种。

参考文献

[1] Apuya N R, Frazier B L, Keim P, et al. Restriction fragment length

- polymorphisms as genetic markers in soybean, *Glycine max* (L.) merrill. [J]. *Theor Appl Genet*, 1988, 75: 889-901
- [2] Clarke E J, Wiseman J. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans I. Protein and amino acid content [J]. *J Agric Sci*, 2000, 134: 111-124
- [3] Dong Y S, Zhuang B C, Zhao L M, et al. The genetic diversity of annual wild soybeans grown in China [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 98-103
- [4] George A A, Lumen B O. A novel methionine-rich protein in soybean seed; Identification, amino acid composition, and terminal sequence [J]. *J Agric Food Chem*, 1991, 39: 224-227
- [5] 王文真, 刘兴媛, 曹永生, 等. 中国大豆种质资源的蛋白质含量研究 [J]. *作物品种资源*, 1998(1): 35-36
- [6] 李为喜, 朱志华, 刘三才, 等. 中国大豆 (*Glycine max*) 品种及种质资源主要品质状况分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2004, 5(2): 185-192
- [7] 吕景良, 邵荣春, 吴百灵, 等. 东北地区大豆品种资源氨基酸组成的分析研究 [J]. *大豆科学*, 1988, 12(3): 245-246
- [8] 崔艳华, 邱丽娟, 常汝镇, 等. 黄淮夏大豆 (*G. max*) 初选核心种质代表性检测 [J]. *作物学报*, 2004, 30(3): 284-288
- [9] 姚振纯. 大豆蛋白质的氨基酸组分与改良 [J]. *黑龙江农业科学*, 1999(1): 38-39
- [10] 李福山, 常汝镇, 舒世珍. 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): 65-72
- [11] 杨光宇, 尹爱平. 野生大豆 (*G. soja*) 氨基酸组成的初步研究 [J]. *大豆科学*, 1968, 5(2): 175-180
- [12] 徐豹, 邹淑华, 庄炳昌. 野生大豆 (*G. soja*) 种子贮藏蛋白组分 11S/7S 的研究 [J]. *作物学报*, 1990, 16(3): 235-241
- [13] 陈绍江, 张国栋. 大豆储藏蛋白氨基酸组成与遗传密码的相关性研究 [J]. *东北农业大学学报*, 1994, 25(2): 105-109
- [14] 张明, 衣翠文, 胡传璞, 等. 栽培大豆含硫氨基酸及蛋白质含量的初步分析 [J]. *吉林农业科学*, 1992(4): 34-38
- [15] 徐豹, 张明, 路琴华, 等. 野生大豆的高含硫氨基酸种质 [J]. *大豆科学*, 1993, 12(3): 265-266
- [16] 宁海龙, 李文霞, 王继安, 等. 黑龙江省大豆蛋白油分及蛋白组分类型 [J]. *作物学报*, 2003, 29(4): 551-556
- [17] 姬玉梅. 三种小麦蛋白质测定方法比较 [J]. *农业科技通讯*, 2011(10): 47-49
- [18] 许美解, 刘小飞, 钟金凤, 等. 湘黄鸡在不同饲养条件下肉质性状及经济效益的研究 [J]. 2008, 27(2): 122-125
- [19] 胡建斌, 马双武, 简在海, 等. 中国甜瓜种质资源形态性状遗传多样性分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(4): 612-619
- [20] 赵威军, 张福耀, 常玉卉, 等. 甜高粱品系的抗倒伏性评价及相关分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(1): 58-64
- [21] Kokuchi A, Sakai S, Okabe A. Genetic variations on soybean protein composition and tofu processing properties [J]. *Tohoku Agric Res*, 1989, 42: 111-112
- [22] 徐豹, 郑慧玉, 吕景良, 等. 中国大豆的蛋白资源 [J]. *大豆科学*, 1984, 3(4): 327-331
- [23] 孟祥勋. 大豆种子储藏蛋白研究 [J]. *东北农业大学学报*, 1997, 28(2): 201-207
- [24] Dong Y S, Zhao L M, Liu B, et al. The genetic diversity of cultivated soybean grown in China [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 931-936
- [25] 福井重郎. 日本南朝鲜中国苏联野生大豆早晚熟性变异 [J]. 岩手大学农学部报告, 1978, 14(2): 81-94
- [26] 平春枝. 大豆的栽培条件与化学成分组成 [J]. *日本农业及园艺*, 1978, 53(3): 40-44
- [27] 胡润芳, 林织秀, 张玉梅, 等. 大豆子粒氨基酸组分的相关分析 [J]. *福建农业学报*, 2013, 28(8): 758-762
- [28] 李楠, 许韵华, 宋雯雯, 等. 利用近红外光谱技术快速检测大豆氨基酸含量 [J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 27(8): 1037-1044
- [29] 齐宁, 魏淑红, 林红, 等. 高蛋白抗病大豆新种质龙品 03-311 的选育与利用 [J]. *植物遗传资源学报*, 2006, 7(2): 249-251