بررسی کیفیت پروتئین‌های دانه در موتانت های سویا [*Glycine max* (L.) Merrill]

م. عارف راد[۱]، ن. ع. بابائیان جلودار[۲]، ق. ع. نعمت زاده[۲]، س. ک. کاظمی تبار[۳] و ن. ع. باقری[۴]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۶

چکیده

پروتئین لکتین یکی از عوامل مهم ضدتغذیه‌ای در پروتئین‌های دانه سویا محسوب می شود. پروتئین لیپوکسیژناز نیز به دلیل ایجاد طعم نامطلوب، مهمترین عامل در کیفیت پایئن پروتئین های سویا می باشد. در این تحقیق، تغییرات ژنتیکی حاصل از اشعه گاما روی پروتئین های ضدتغذیه ای رقم هیل، در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، در سال ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ مورد ارزیابی قرار گرفت. در نسل M_1 همه گیاهان برداشت و در نسل بعد بصورت بوته به ردیف کشت شدند. در نسل M_2 تنوع زیادی برای صفات مورفولوژیک مانند، ارتفاع گیاه، شکل برگ، رنگ گل، عقیمی و دیررسی یا زودرسی مشاهده گردید، که از بین آنها گیاهان موتانت با صفات مورفولوژیک مطلوب انتخاب شدند. بررسی پروتئین های هر یک از این گیاهان موتانت، با استفاده از تکنیک SDS-PAGE نشان داد که گیاه موتانتM-107 فاقد پروتئین ضدتغذیه‌ای لکتین و لاین موتانت M-729 فاقد پروتئین های ضدتغذیه ای لکتین و لیپواکسیژناز می‌باشد. این دو گیاه موتانت، با وجود عدم حضور یک یا چند زیرواحد پروتئینی، تغییرات معنی‌داری از لحاظ محتوی پروتئین و روغن از خود نشان ندادند. دو گیاه موتانت به‌دست آمده از این تحقیق می توانند لاین های ارزشمندی در جهت اصلاح و بهبود پروتئین‌های سویا باشند.

واژه های کلیدی: سویا، عوامل ضدتغذیه‌ای، اشعه گاما، SDS-PAGE

پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

دانه سویا با داشتن حجم بالای پروتئین و روغن می‌تواند منبع بسیار خوبی در تغذیه انسان، دام و یا طیور باشد. مهمترین پروتئین‌های ذخیره‌ای در سویا، پروتئین‌های گلایسینین (11s) و بتا-کانگلایسینین (7s) می‌باشند، که حدود ۷۰ درصد کل پروتئین‌های سویا را تشکیل می‌دهند (۸). پروتئین‌های گلایسینین با وزن مولکولی 360 kDa، دارای زیرواحدهایی همراه با پیوندهای دی‌سولفید می‌باشد. پروتئین‌های بتا-کان‌گلایسینین نیز دارای وزن مولکولی 180 kDa و فاقد پیوندهای دی‌سولفید می‌باشد. در پروتئین‌های دانه سویا عوامل ضدتغذیه‌ای وجود دارد که اگر در جیره غذایی قرار گیرند ارزش غذایی را کاهش میدهد (۲۲). این عوامل شامل پروتئین‌های بازدارنده آنزیم تریپسین (زیر واحدهای کونیتز با وزن مولکولی 20 kDa و لیپوکسیژناز با وزن مولکولی 95 kDa)، پروتئین بازدارنده آنزیم کیموتریپسین (زیر واحد بومن-بیرک با وزن مولکولی 8 kDa) و پروتئین لکتین (با وزن مولکولی 30 kDa) می‌باشد (۵، ۷، ۱۴ و ۲۴). پروتئین لیپوکسیژناز علاوه بر عامل بازدارندگی آنزیم تریپسین، باعث ایجاد طعم نامطبوع و گس مانند سویا نیز می‌شود (۱۰ و ۲۱). حذف ژنتیکی عوامل ضدتغذیه‌ای می‌تواند گامی مهم در جهت افزایش کیفیت غذایی پروتئین های سویا باشد. با توجه به این که عدم حضور پروتئین های ضدتغذیه ای بوسیله آلل های مغلوب کنترل می شوند (۱۳، ۲۳، ۲۷ و ۲۸) و با توجه به اینکه اکثر موتاسیون ها از نوع مغلوب می باشند، اصلاح به روش موتاسیون می تواند در برنامه اصلاحی پروتئین های سویا بسیار کارآمد باشد (۱۶). از آنجایی که در اثر موتاسیون اصولا یکی از آلل ها در هر مکان ژنی تحت تاثیر قرار می گیرد و چون وجود حالت هموزیگوسیتی ژن مغلوب برای تظاهر امری ضروری است، لذا اصلاح به روش موتاسیون در گیاه خودگشن سویا می‌تواند نتایج مطلوب‌تری به‌همراه داشته باشد (۱۷). به طوری که مانجایا و همکاران (۱۶)، موفق شدند با کاربرد دز ۲۴۰ گری اشعه گاما به‌عنوان یک عامل جهش‌زا به لاین موتانتی از سویا دست یابند که فعالیت پروتئین‌های بازدارنده آنزیم تریپسین در آن کاهش یافته بود. هاجیکا و همکاران (۱۰)، ناکامورا و همکاران (۱۹)، یانگ و بورتن (۲۹) و فان و همکاران (۲۳)، نیز توانسته بودند با کاربرد اشعه گاما به لاین های موتانتی در سویا دست یابند که برخی از پروتئین های ضدتغذیه ای در آنها حذف و یا کاهش یافته بود. آرشانا و همکاران (۳)، نیز با نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس در نسل M_2 سویا، بهترین اثر دز اشعه گاما را جهت دست یابی به صفات مطلوب کمی در دزهای بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ گری اشعه گاما گزارش نمودند.

با توجه به اهمیت پروتئین های سویا در تغذیه انسان، دام و خصوصا در صنعت مرغ داری و با توجه به اثرات نامطلوب پروتئین‌های

ضدتغذیه‌ای در سویا، در این مطالعه تاثیر جهش‌زای دز ۲۴۰ گری اشعه گاما، در ایجاد تغییرات ژنتیکی پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای در رقم هیل سویا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

بذر رقم هیل مورد مطالعه، در سال ۱۳۸۶ از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران تهیه و به وسیله اشعه گاما با منبع CO^{60}، با دز جذبی ۲۴۰ گری (کیلو راد)، در مرکز تحقیقات هسته‌ای، پزشکی و کشاورزی کرج، مورد تیمار قرار گرفت. سپس این بذور به همراه شاهد، در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در زمینی به مساحت ۱۵۰۰ مترمربع کشت شدند. بعد از رشد کامل گیاهان در نسل M_1 تمامی آنها بطور جداگانه برداشت شد (حدود ۱۰۰۰ بوته). در سال بعد (۱۳۸۷) از هر گیاه نسل M_1، ۱۰ بذر انتخاب و بصورت بوته به ردیف کشت شدند. در نسل M_2 تمامی گیاهان برای صفات مورفولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند (حدود ۱۰۰۰۰ بوته)، سپس بوته‌های مطلوب برای صفات مورفولوژیک انتخاب و پروتئین‌های آنها مورد ارزیابی قرار گرفت.

استخراج پروتئین: استخراج پروتئین از دانه براساس روش مورس و همکاران (۱۸)، صورت گرفت. در این روش ابتدا دانه هر گیاه در هاون به کمک ازت مایع کاملاً پودر گردید. سپس ۰/۰۱ گرم از پودر حاصل را به تیوب ۱/۵ میلی‌لیتر انتقال داده و به آن ۵۰۰ مایکرولیتر بافر استخراج پروتئین (50 mMTris-HCl pH 8.2-10 mM $CaCl_2$)، اضافه و به خوبی به کمک همزن مخلوط شد. سپس تیوب ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد با ۱۴۸۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. تعیین کمیت پروتئین‌ها نیز طبق روش برآدفورد ارزیابی شد (۶).

الکتروفورز پروتئین: الکتروفورز پروتئین طبق روش لاملی (۱۵) و با استفاده از تکنیک SDS-PAGE صورت گرفت. در این روش غلظت ژل پائین ۱۴٪ (0.1%SDS-0.9M Tris-HClpH8.8-14%Polyacrylamide) و غلظت ژل بالایی ۶٪ (0.1%SDS-0.15M Tris-HClPH6.8-6% Polyacrylamide) در نظر گرفته شد و برای هر نمونه ۱۰۰ میکروگرم از پروتئین‌های استخراج شده در هر چاهک بارگذاری شد. قبل از بارگذاری پروتئین‌ها، ابتدا هم حجم پروتئین استخراج شده، بافر نمونه (2cc-SDS %10 2cc-β-mercaptoethanol Glycerol 3ccDye 0.1cc-) اضافه گردید. جهت دناتوره شدن پروتئین ها نیز نمونه ها به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. تفکیک پروتئین ها نیز در بافر الکتروفورز (0.1% SDS-0.192M Glycine-0.05M Tris-HCl pH8.3) در ولتاژ ۱۲۰ ولت به مدت هفت ساعت انجام شد. رنگ آمیزی ژل نیز در محلول 0.15% Commassie Blue R-250-45% Methanol-9% Acetic acid به

مدت ۲ ساعت صورت گرفت. جهت تشخیص باندهای پروتئین، برای رنگ بری ژل از محلول 25% Methanol و 7.5% Acetic acid استفاده (۱۸).

تعیین محتوی پروتئین: تعیین محتوی پروتئین دانه نمونه‌ها نیز مطابق روش کجلدال (۲) صورت گرفت.

تعیین محتوی روغن: جهت تعیین محتوی روغن دانه سویا، از دستگاه سوکسله (۱) استفاده شد. در این روش چهار گرم پودر دانه انتخاب و از حلال کلروفرم که به راحتی روغن را در خود حل می کند استفاده گردید. تعیین میزان روغن دانه نیز طبق فرمول زیر محاسبه شد.

۱- ((وزن پودر دانه اولیه/ وزن پودر دانه ثانوی)× ۱۰۰) = درصد روغن

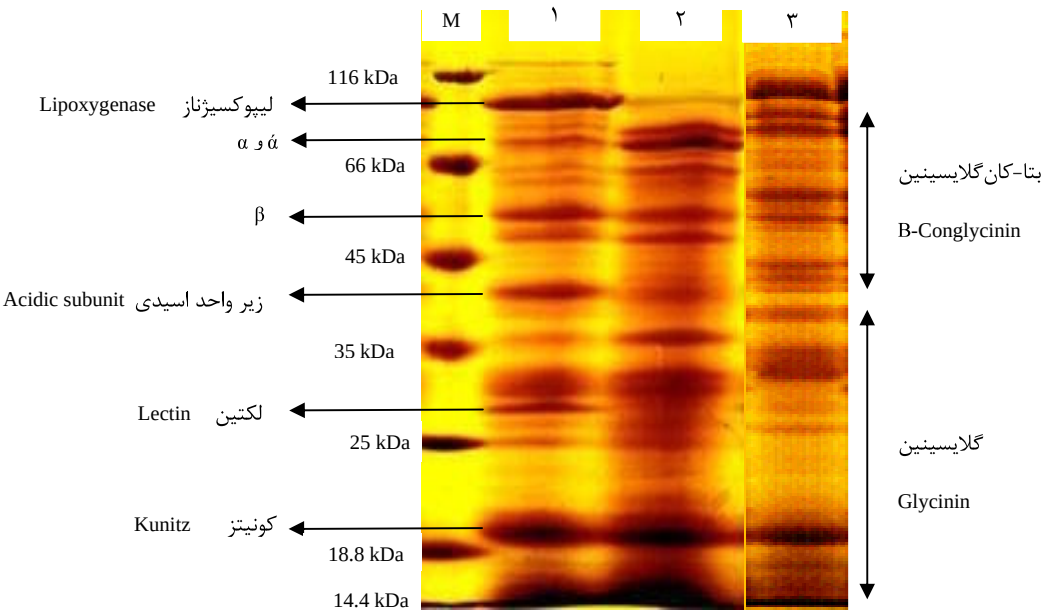
تجزیه و تحلیل آماری: میانگین و انحراف معیار داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت.

نتایج و بحث

بعد از رشد کامل گیاهان در نسل M_1 کلیه بوته ها به صورت انفرادی برداشت و در سال بعد به‌صورت بوته به ردیف کشت شدند. در نسل M_2 حدود ۱۰،۰۰۰ بوته مورد بررسی قرار گرفت. در این نسل تنوع زیادی برای صفات مورفولوژیک مانند، ارتفاع گیاه، شکل برگ، رنگ گل، عقیمی و دیررسی یا زودرسی مشاهده گردید، که از این میان حدود ۱۰۰۰ گیاه موتانت مطلوب برای صفات مورفولوژیک انتخاب و پروتئین‌های دانه در هر یک از آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی پروتئین‌های این گیاهان موتانت با تکنیک SDS-PAGE نشان داد که گیاه موتانت M-107 حالت مغلوب را برای پروتئین ضدتغذیه‌ای لکتین نشان می‌دهد. همچنین گیاه موتانت M-729 نیز حالت مغلوب را برای پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای لکتین، لیپوکسیژناز و یکی از زیرواحد اسیدی (A)، با وزن مولکولی 42 kDa را نشان داد (شکل ۱).

هاجیکا و همکاران (۱۰)، ناکامورا و همکاران (۱۹)، یانگ و بورتن (۲۹)، فان و همکاران (۲۳) و مانجایا و همکاران (۱۶)، نیز توانسته بودند با کاربرد اشعه گاما، به لاین‌های موتانت مشابه‌ای در سویا دست یابند که برخی از پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای در آن‌ها حذف و یا کاهش یافته بود. با توجه به این‌که انتخاب گیاهان موتانت در نسل M_2 برای صفات مورفولوژیک مطلوب صورت گرفته بود، دو گیاه موتانت M-107 و M-729 صفات زراعی نامطلوب معنی‌داری را نسبت به شاهد (رقم هیل) از خود نشان ندادند، به طوریکه در رقم هیل زمان گلدهی ۵۴ روز، ارتفاع نهایی ۵۵/۵۴ سانتی‌متر، تعداد دانه ۱۸۴ عدد و وزن هزاردانه ۱۲۳/۹۷ گرم بود. در گیاه موتانت M-107 زمان گلدهی ۵۵ روز، ارتفاع نهایی ۵۷/۱۳ سانتی‌متر، تعداد دانه ۱۶۹ عدد و وزن هزار دانه ۱۵۶/۲۴ گرم بدست آمد و در

گیاه موتانت M-729 زمان گلدهی ۵۵ روز، ارتفاع نهایی ۵۵/۹۳ سانتی‌متر، تعداد دانه ۱۵۶ عدد و وزن‌هزاردانه ۱۲۹/۷۴ گرم بدست آمد (جدول ۱).



شکل ۱- الگوی باندی پروتئین‌های دانه در رقم هیل و دو گیاه موتانت M-107 و M-729 حاصل از نسل M_2. M، مارکر مولکولی پروتئین،SMO431 شرکت فرمنتاز. لاین ۱، پروتئین‌های رقم هیل (شاهد). لاین ۲، گیاه موتانت M-729 (عدم حضور زیرواحدهای، لکتین (30 kDa)، لیپوکسیژناز (95 kDa) و زیرواحد (42 kDa) از پروتئین‌های بتا-کان‌گلایسینین و افزایش سطح زیرواحد 35 kDa از پروتئین‌های گلایسینین). لاین ۳، گیاه موتانت M-107 (عدم حضور زیرواحد لکتین (30 kDa) از پروتئین‌های گلایسینین).

جدول ۱- خصوصیات کمی و کیفی رقم هیل و دو گیاه موتانت حاصل از نسل M_2

ژنوتیپ	زمان گلدهی (روز)	ارتفاع نهایی (سانتیمتر) انحراف معیار± میانگین	تعداد دانه (عدد) انحراف معیار± میانگین	وزن‌هزاردانه (گرم) انحراف معیار± میانگین	پروتئین (٪) انحراف معیار± میانگین	روغن (٪) انحراف معیار± میانگین
هیل	۵۴	۵۵/۵۴±۲/۴۰	۱۸۴/۰۰±۲۴/۲۳	۱۲۳/۹۷±۳/۱۵	۳۹/۳۳±۱/۷۶	۲۱/۶۶±۱/۶۶
M-107	۵۵	۵۷/۱۳	۱۶۹/۰۰	۱۵۶/۲۴	۳۹/۱۱±۲/۰۰	۲۰/۷۰±۱/۸۰
M-729	۵۵	۵۷/۹۳	۱۵۶/۰۰	۱۲۹/۷۴	۳۸/۵۰±۱/۵۰	۲۰/۹۲±۱/۱۱
CV %					۳/۳۱	۴/۲۱

هاجیکا و همکاران (۱۰)، نارول و همکاران (۲۰) و مانجایا و همکاران (۱۶)، نیز که توانسته بودند با کاربرد اشعه گاما برخی پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای را در سویا حذف و یا غیر فعال کنند، هیچ‌گونه صفت مورفولوژیک نامطلوبی را در آنها مشاهده نکردند، آن‌ها همچنین گزارش نمودند که تغییرات پروتئین‌های دانه تاثیری بر رشد و عملکرد گیاه سویا ندارد. لگوم‌ها به دلیل دارا بودن لکتین در ریشه‌هایشان قادر به تثبیت بیولوژیکی ازت موجود در هوا می‌باشند. گاد و همکاران (۹)، نوع لکتین دانه و ریشه‌های سویا را ارزیابی نمودند و گزارش نمودند که پروتئین لکتین موجود در دانه و ریشه‌ها از نظر وزن مولکولی و توالی اسیدهای آمینه باهم متفاوت هستند. آن‌ها همچنین با بررسی چند واریته سویا فاقد پروتئین لکتین بذری، دریافتند که این گیاهان قادر به تثبیت بیولوژیکی ازت نیز می‌باشند و گزارش نمودند که احتمالا پروتئین لکتین بذری نقشی در تثبیت بیولوژیکی ازت در ریشه‌ها نداشته باشد.

بررسی میزان پروتئین‌های کل و درصد روغن این دو گیاه موتانت در مقایسه با رقم هیل (شاهد) در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان پروتئین در هر گیاه تحت تاثیر شرایط منطقه، مزرعه و حاصلخیزی خاک قرار دارد، در شرایط یکسان مزرعه‌ای میزان پروتئین‌های کل رقم هیل، ۳۹/۳۳ درصد، و میزان روغن ۲۲/۶۶ درصد بدست آمد. در حالی‌که برای گیاه موتانت M-107، که عدم حضور پروتئین لکتین را نشان می‌دهد، میزان پروتئین ۳۹/۱۱ درصد و میزان روغن ۲۰/۷۰ درصد بوده است و برای گیاه موتانت M-729 که عدم حضور پروتئین‌های لکتین، لیپوکسیژناز و زیرواحد اسیدی (A) را نشان می‌دهد، میزان پروتئین ۳۸/۵۰ درصد و برای روغن ۲۰/۹۲ درصد بدست آمد. این دو گیاه موتانت با وجود عدم حضور یک یا چند زیرواحد پروتئینی، تغییرات معنی‌داری را در حجم پروتئین‌های کل و درصد روغن از خود نشان ندادند (جدول ۱). مانجایا و همکاران (۱۶)، که توانسته بودند با کاربرد اشعه گاما برخی از پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای را در سویا حذف و یا کاهش دهند نیز گزارش نمودند که عدم حضور یک یا چند زیرواحد پروتئینی تغییر معنی‌داری را در میزان حجم پروتئین‌های کل ایجاد نخواهد کرد.

به جهت ماهیت پروتئینی عوامل ضدتغذیه‌ای، هر گونه حرارت می‌تواند تاحدودی از فعالیت آنها کم کند (۴). حرارتی که در کارخانه‌ها جهت استخراج روغن به دانه سویا اعمال می‌شود، می‌تواند فعالیت پروتئین‌های بازدارنده آنزیمی را تا حد نسبتا مطلوبی غیرفعال نماید اما از این بین، پروتئین لکتین کمتر تحت تاثیر حرارت قرار گرفته (۴) و فعالیت زیادی را نیز در کنجاله‌های روغن‌کشی شده از خود نشان می‌دهد (۲۵). لکتین باقی‌مانده در کنجاله‌های سویا می‌تواند با تخریب سلول‌های اپیتلیومی (پرزدار) روده کوچک، باعث عدم جذب مواد غذایی (۲۶)، خصوصا عدم جذب آهن شود

(۱۱)، همچنین لکتین باعث بزرگ شدن و نهایتا غیر فعال شدن پانکراس نیز خواهد شد (۱۲). دو گیاه موتانت به‌دست آمده از این تحقیق (M-107 و M-729) به دلیل عدم وجود پروتئین ضدتغذیه‌ای لکتین، می‌توانند در جهت اصلاح پروتئین‌های سویا مورد مطالعه قرار گیرند.

یکی از دلایل مصرف کم پروتئین‌های مفید سویا، طعم نامطبوع و مزه گس مانند آن، به دلیل وجود پروتئین لیپوکسیژناز می‌باشد (۱۰ و ۲۱). گیاه موتانت M-729 به دلیل عدم وجود پروتئین لیپوکسیژناز می تواند لاین موتانت امید بخشی در جهت اصلاح پروتئین‌های سویا با طعم مطلوب، خصوصا در صنعت تهیه شیر سویا باشد. اسیدهای آمینه مهم و ضروری متیونین و سیستئین که از اسیدهای آمینه گوگرد دار محسوب می شوند در پروتئین های گلایسینین سویا وجود دارد. مانجایا و همکاران (۱۶)، گزارش نمودند که کاهش زیرواحدهای پروتئین های بتا-کان گلایسینین در جهت افزایش پروتئین های گلایسینین که دارای اسیدهای آمینه گوگرد دار می باشند، می تواند در افزایش ارزش غذایی پروتئین‌های سویا مهم باشد. گیاه موتانت M-729 که عدم حضور پروتئینی با وزن مولکولی 42 KDa را از پروتئین‌های بتا-کان گلایسینین نشان می دهد اما افزایش سطح پروتئینی از بخش گلایسینین با وزن مولکولی 35 kDa را نشان می‌دهد، می تواند در این زمینه مورد مطالعه قرار گیرد. گیاه موتانت M-729 بدست آمده از این تحقیق به دلیل عدم حضور پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای لکتین، لیپوکسیژناز و افزایش سطح زیرواحدهای گلایسینین و همچنین با داشتن صفات کمی و کیفی مطلوب می‌تواند تا رسیدن به خلوص کامل در نسل‌های پیشرفته‌تر لاین موتانت ارزشمندی در جهت اصلاح و بهبود پروتئین‌های سویا باشد.

منابع

1. AACC. 1976. Approved metodes. St. Paul, MN, USA: American association of Cereal chemits.
2. AOAC. 1984. Official metods of analysis. Washington, DC: Association of official agricultural chemistry.
3. Archana, P., S.P. Taware and V.M. Raut. 2004. Induced variation in quantitative traits due to physical (γ rays), chemical (EMS) and combined mutagen treatments in soybean (Glycine max (L.) Merrill). Soybean Genetics Newsletter, 1-6.
4. Armour, J.C., R.L.C. Perera, W.C. Buchan and G. Grant. 1998. Protease inhibitors and lectins in soyabean and effects of aqueous heat treatment. Journal of Science Food and Agriculture, 78: 225-231.
5. Birk, Y. 1961. Purification and some properties of a highly active inhibitor of α-chymotrypsin from soyabeans. Biochim Biophys. Acta, 54: 378-388.
6. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein of utilizing the principle dye binding. Analyze Biochemistry, 72: 680-685.
7. Constantions, G.Z., C. Gagnon, S. Gleddie, Sh. Khanizadeh, E.R. Cober and R.J.D. Guillemette. 2007. Assessment of the protein quality of fourteen soybean (*Glycine max* L.) Merr. cultivars using amino acid analysis and two-dimensional electrophoresis. Food Reserch International 40: 129-146.
8. Danilsson, C.E. 1949. Seed globulins of the gramineae and leguninosae. Biochemistry Jornal, 44: 387-400.
9. Gade, W., A.J. Michele, B.D. Jeanne, L.S. Edwin and F. Wold. 1981. The Isolation and Characterization of a Root Lectin from Soybean (*Glycine max* (L), Cultivar Chippewa. Biological Chemistry, 25: 12905-12910.
10. Hajica, M., K. Igita and K. Kitamura. 1991. A line lacking all the seed lipoxygenase isozymes in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) induced by Gamma-ray irradiation. Japan Journal Breed, 41: 507-509.
11. Hisayasu, S., H. Orimo, S. Migita, Y. Ikeda, K. Satoh, S. Shinjo, Y. Hirai and Y. Yoshino. 1992. Soybean protein isolate and soybean lectin inhibit Iron absorption in rat. Jornal of Nutrition, 122: 1190-1196.
12. Jordinson, M., P.H. Deprez, R.J. Playford, S. Heal, T.C. Freeman, M. Alison and J. Calam. 1996. Soybean lectin stimulates pancreatic exocrine secretion via CCK-A receptors in rats. American Journal of Physiology imaging. Gustrointestinal and Liver Physiology, 270: G653-G659.
13. Kitamora, K., C.S. Davies and N.C. Nielsen. 1984. Inheritance of alleles for Cgy1 and Gy4 storage protein genes in soybean. Theoretical and Applied Genetics, 68: 253-257.
14. Kunitz, M. 1946. Crystalline soybean trypsin inhibitor. General Physiology, 291-310.
15. Laemmli. U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T_4. Nature, 277: 680-685.
16. Manjaya, J.G., K.N. Suseelan, T. Gopalakrishna, S.E. Pawar and V.A. Bapat. 2007. Radiation induced variability of seed storage proteins in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). Food Chemistry, 100: 1324-1327.

17. Micke, A. and A. Bahar. 1999. Mutation and in vitro mutation breeding. Ludhiana (India) 1999. pp: 1-19.
18. Morease, R.M., T.C.B. Soares, L.R. Colombo, M.F.S. Salla, J.G.A. Barros, N.D. Pioveson, E.G. Barros and M.A. Moreira. 2005. Assisted selection by specific DNA markers for genetic elimination of the kunitz trypsin inhibitor and lectinin soybean seeds. Euphytica, 149: 221-226.
19. Nakamura, I., H. Odonaka and N. Kaizuma. 1989. Segregation of α and β-subunits of seed conglycinin in mutant of soybean. Annual report-National Institute of Genetics Japan, 115.
20. Narvel, J.M., W.R. Fehr and G.A. Weke. 1998. Agronomic and seed trait of soybeans lacking seed lipoxygenase. Crop Science, 38: 926-928.
21. Narvel, J.M., W.R. Fehr and L.C. Weldon. 2000. Analysis of soybean seed lipoxygenase. Crop Science, 40: 838-840.
22. Norton, G. 1991. Proteinase inhibitors. In: Toxic substances in Crop Plants. D,Mello. J.P.F., C.M. Duffus and J.H. Duffus. Royal Society of Chemistry. Cambridge. UK. pp: 68-106.
23. Phan, T.H., N. Kaizuma, H. Odawaka and Y. Takahata. 1996. Specific inheritance of a mutant gene Controlling α, β-subunits of β-conglycinin in soybean (*Glycine Max* (L.) Merrill) and observation of chloroplast ultra structure of the mutant. Breeding Science, 46: 53-59.
24. Pusztai, A., G. Grant, S. Bardocz, E. Gelencser and G.Y. Hajos. 1997. Novel dietary strategy for over coming the antinutritional effects of soyabean whey of high agglutinin content. British Journal of Nutrition, 77: 933-945.
25. Samie, A.H., J. Pour-reza. 1999. Utilization of faba bean in broiler ratio and means of reducing the effect of its trypsin inhibitor. Jstnar. Isfahan university of technology, 2: 109-115.
26. Schulze, H., H.S. Saini, J. Huisman, M. Hessing, W. Berg and W.A. Verstegen. 1995. Increased nitrogen by inclusion of soya lectin in the diests of pigs. Journal of Science Food and Agriculture, 69: 501-510.
27. Takahashi, K., Y. Mizuno, S. Yumoto, K. Kitamura and S. Nakamura. 1996. Inheritance of the α-subunit of β-conglycinin in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) line induced by Gamma ray irradiation. Breeding Science, 46: 251-255.
28. Tsukada, Y., K. Kitamura, K. Harada and N. Kaizuma. 1986. Genetic analysis of subunits of two major storage protein (β-conglycinin and glycinin) in soybean seed. Japan Jornal of Breeding, 36: 390-400.
29. Yang, M.H and J.W. Burton. 1994. Seed protein quality of soybean mutants. Crop Science, 39: 278-284.

Investigation of Grain Quality Proteins in Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] Mutants

M. Arefrad[1], N.A. Babaeian Jelodar[2], G. Nematzadeh[2], S.K. Kazemitabar[3] and N.A. Bagheri[4]

Abstract

Lectin protein is considered as an important anti-nutrient factor in soybean seed. A low quality soybean proteins is associated whit the presence of lipoxygenase protein due to its unfavorable flavor. This research was conducted at the Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, during 2008-2009 to evaluate the effect of Gamma rays on anti-nutrient protein of Hill cultivar. M_1 generation seeds were obtained and grown as plant-to-row in next generation. In M_2 generation, highly variation was observed for plant height, flower color, sterility, leaf shape, early and late maturity, that among mutant plants with favorable morphological traits were selected. After protein evaluation by SDS-PAGE it hasn't shown the lectin protein in M-107 plant mutant and also anti-nutrient factor of lectin and lipoxygenase was absence in M-729 mutant. However, these two mutant plants which hadn't shown one or several subunit proteins, but not showed meaningful commutation in total volume protein and oil content. These two mutant plants can be considered very important for improving seed proteins in soybean breeding programs.

Keywords: Soybean, Anti-nutrient factors, Gamma ray, SDS-PAGE

1- Former M.Sc. Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
2- Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3- Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
4- Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University