

# 黄淮海大豆异黄酮含量分析与特异种质遴选

崔艳伟,李喜焕,李文龙,常文锁,张彩英

(河北农业大学/教育部华北作物种质资源研究与利用重点实验室,保定 071001)

**摘要:**以黄淮海生态区 181 份栽培大豆与 32 份野生大豆为材料,采用高效液相色谱法测定其子粒异黄酮及组分含量,分析该地区大豆子粒异黄酮含量遗传变异,遴选高异黄酮特异种质,为相关基因克隆表达、RIL 群体构建和专用型品种选育提供资源。结果表明,供试栽培大豆异黄酮含量在 1462.6~6115.5  $\mu\text{g/g}$ ,平均为 3558.2  $\mu\text{g/g}$ ,最大差异可达 4.2 倍;供试野生大豆异黄酮含量在 3896.1~7440.4  $\mu\text{g/g}$ ,平均为 5182.4  $\mu\text{g/g}$ ,最大差异可达 1.9 倍。可见,黄淮海生态区大豆资源异黄酮及组分含量存在较大遗传变异,且野生大豆异黄酮平均含量显著高于栽培大豆。从供试资源中遴选出异黄酮含量超过 6000  $\mu\text{g/g}$  特异种质 4 份(超过 7000  $\mu\text{g/g}$  种质 1 份)。

**关键词:**异黄酮;种质资源;栽培大豆;野生大豆;遗传变异

## Genetic Variability Analysis and Elite Germplasm Selection of Isoflavone Content in Soybean from HuangHuaiHai Ecotype Region

CUI Yan-wei, LI Xi-huan, LI Wen-long, CHANG Wen-suo, ZHANG Cai-ying

(North China Key Laboratory of Crop Germplasm Resources, Education Ministry of China/Agriculture University of Hebei, Baoding 071001)

**Abstract:** To analyze the genetic variability and select elite germplasm with high content of total isoflavone and its components in soybean seed, 213 accessions, including 181 cultivated and 32 wild soybean originating from HuangHuaiHai ecological region, were tested by high performance liquid chromatography (HPLC) technique. The results showed that a large genetic variation in total isoflavone and its components existed in both cultivated and wild soybeans, and the average content of total isoflavone in wild soybean seed was much higher than the cultivated seed. The range of total isoflavone in cultivated soybean was 1462.6-6115.5  $\mu\text{g/g}$  (4.2-fold variation), with an average of 3558.2  $\mu\text{g/g}$ , while the total isoflavone in wild soybean was 3896.1-7440.4  $\mu\text{g/g}$  (1.9-fold variation), with an average of 5182.4  $\mu\text{g/g}$ . From the accessions, four elite germplasm with high isoflavone content ( $> 6000 \mu\text{g/g}$ ) were screened out, of which one elite accession content was above 7000  $\mu\text{g/g}$ , and could be used for molecular cloning of related genes, construction of RIL population, and new variety breeding with high isoflavone content in further study.

**Key words:** isoflavone; germplasm resource; cultivated soybean; wild soybean; genetic variation

大豆不仅是我国人民主要食物蛋白质和脂肪来源,还富含多种生理活性成分(异黄酮、多肽、磷脂、低聚糖、皂甙等),在保健食品和医学领域具有极高的潜在应用价值<sup>[1-2]</sup>。异黄酮因富含酚羟基,易脱氢发挥还原效应,被认为是天然抗氧化剂,具有阻止

自由基氧化损伤导致疾病的重要功能。异黄酮的分子结构还与雌激素非常相似,可与人体内的雌激素受体结合,因而在抑制激素依赖性癌症及预防骨质疏松症等方面具有重要作用<sup>[1,3]</sup>。研究发现,大豆异黄酮主要存在于种子中,含量仅 0.4%~5%,且

收稿日期:2013-01-31 修回日期:2013-02-28 网络出版日期:2013-10-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20131022.1548.031.html>

基金项目:科技部农业科技成果转化资金项目(2012GB2A200032);河北省自然科学基金项目(C2013204020)

第一作者主要从事大豆分子生物学与转基因研究。E-mail: cuiyanwei07@126.com

通信作者:李喜焕,从事大豆遗传育种与转基因研究。E-mail: lixihuan@hebau.edu.cn

张彩英,从事大豆遗传育种与转基因研究。E-mail: zhangcaiying@hebau.edu.cn

提取工艺需要经过溶剂浸提、杂质过滤、浓缩回收、吸附分离、真空干燥等过程,其生产量远不能满足需求<sup>[4-5]</sup>。据统计,国际市场大豆异黄酮年需求量约 1500 t,且逐年递增,而全球异黄酮实际生产能力仅 500 t/年<sup>[6]</sup>。因此,广泛评价现有大豆资源,遴选高异黄酮特异种质,培育专用品种便成为解决这一问题的关键。

针对不同大豆品种异黄酮含量测定,国内外均有报道,并获得一些高异黄酮专用型材料。V. Tepavcević等<sup>[7]</sup>分析 4 个国家 20 份大豆品种发现,异黄酮变异范围在 1450 ~ 4590  $\mu\text{g/g}$ ,平均为 3250  $\mu\text{g/g}$ ; G. Sakhivelu 等<sup>[8]</sup>测定印度与保加利亚 11 份品种异黄酮发现,印度品种在 558 ~ 1049  $\mu\text{g/g}$ ,保加利亚品种在 628 ~ 1717  $\mu\text{g/g}$ 。王春娥等<sup>[9]</sup>测定选自中国各生态区的 895 份、国外 88 份大豆资源异黄酮含量,优选出高异黄酮 (>7000  $\mu\text{g/g}$ ) 特异种质 7 份,其中 6 份是来自黄淮海二熟春夏豆生态区(河南、河北和山西)的地方品种或野生大豆,这是迄今为止筛选范围最广、入选种质异黄酮含量最高的报道。袁凤杰等<sup>[10]</sup>利用来自 17 个不同省份(黄淮海区域和南方省份)的 300 份大豆品种为试材,从中筛选出 5 份异黄酮含量高于 5000  $\mu\text{g/g}$  的优异种质,并认为黄淮海区域省份内的大豆异黄酮含量显著高于南方省份。葛一楠等<sup>[11]</sup>按照不同生态区和类型比例,从大豆微核心种质和主栽品种中选取了 100 份代表性资源,通过测定其子粒异黄酮含量,筛选出高异黄酮特异种质 2 份,其中含量最高的平顶黑豆(4459  $\mu\text{g/g}$ ) 来自黄淮海夏大豆区。

大豆品种鉴定表明,黄淮海地区大豆资源中蕴藏着丰富的高异黄酮特异种质。然而针对该地区大豆品种资源进行大范围的异黄酮含量测定研究却鲜有报道,许多潜在高异黄酮含量大豆特异种质尚未被发现。鉴于此,本研究以 213 份来自黄淮海生态区(河北、北京、河南、山东、山西和江苏)大豆品种资源为试材,采用高效液相色谱法测定其子粒异黄酮及其组分含量,分析该地区大豆资源子粒异黄酮及其组分含量遗传变异,并遴选高异黄酮特异种质,为异黄酮功能基因发掘、标记开发及新品种培育奠定物质基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试品种

选取黄淮海大豆生态区(河北、北京、河南、山东、山西等)种质资源 199 份,其他地区 13 份,国外

品种 1 份,共计 213 份,作为供试材料,由中国农业科学院国家作物种质库、河北省作物种质资源库、河北省农林科学院粮油作物研究所和河北农业大学提供(表 1)。

表 1 供试大豆种质分布

Table 1 Soybean germplasm and its origin

地区 Region	数量(份) Number	生态区 Ecotype region	地区 Region	数量(份) Number	生态区 Ecotype region
河北	99	黄淮海	黑龙江	5	北方
北京	49	黄淮海	辽宁	3	北方
山东	17	黄淮海	吉林	2	北方
河南	16	黄淮海	湖北	2	南方
山西	13	黄淮海	江苏	2	黄淮海
安徽	3	黄淮海	内蒙古	1	北方

### 1.2 试验方法

**1.2.1 材料种植** 供试材料于 2011 年 6 月种植在河北农业大学作物育种中心试验场(保定),随机区组设计,3 次重复,双行区,行长 5 m,行距 0.5 m,密度 1.2 万株/667  $\text{m}^2$ ,田间管理同一般大田。

**1.2.2 异黄酮含量标准曲线的制作方法** 准确称取各异黄酮组分标准品 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,甲醇溶液进行定容, -20  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。准确量取上述异黄酮组分保存液 5  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$ 、40  $\mu\text{L}$ 、80  $\mu\text{L}$  和 160  $\mu\text{L}$ ,分别置于 2 mL 离心管中,甲醇溶液定容,即为不同浓度的标准溶液,用于标准曲线制作。

采用岛津 Prominence LC-20A 型高效液相色谱系统 (SHIMADZU, Japan) 进行样品异黄酮含量测定。色谱条件为:SHIMADZU VP-ODS 柱(4.6 mm  $\times$  150 mm),柱温 36  $^{\circ}\text{C}$ ,检测波长 254 nm,进样量 10  $\mu\text{L}$ ;流动相采用 7:3 的乙腈:超纯水,流速 0.3 mL/min,分析时间为 30 min。

**1.2.3 异黄酮含量测定方法的可靠性分析** 为准确测定供试样品的异黄酮含量,在建立标准曲线回归方程的基础上,进行了测定方法的精密度、重现性、稳定性和回收率试验,以确保测定结果的精确性和准确性。具体方法如下:

(1) 精密度试验:利用已配制的标准样品溶液,独立重复测定 6 次,分析测定结果的变异范围。

(2) 重现性试验:以供试品种收获后的种子为材料,从样品称取开始,独立重复测定异黄酮含量 5 次,分析测定结果的变异程度。

(3) 稳定性试验:提取供试品种子粒中的异黄

酮,密封4℃保存,每隔4h重复测定1次,直至72h(共18次),分析测定结果在日内(24h内)和日间(72h内)的变异范围。

(4)加标回收率试验:吸取不同体积的标准样品溶液,采用已知浓度的大豆样品进行定容,并进行异黄酮含量测定,每个试验独立重复3次,计算加标回收率及变异系数。

**1.2.4 供试大豆种质资源异黄酮含量测定** 收获后的大豆种子经高速粉碎机研磨,过筛;准确称取0.100g置于10mL离心管中,每个样品独立重复3次。利用80%甲醇溶液将样品定容至8mL,50℃超声(频率40kHz,功率300W)辅助提取1h。10000r/min离心10min,吸取上清液约2mL,采用0.22μm滤膜过滤,注入HPLC自动进样专用小瓶(1.5mL),进行异黄酮含量测定。

### 1.3 统计方法

试验数据采用Microsoft Excel 2003进行描述统计和回归分析,其中描述统计次数分布表制作方法如下:计算数据极差,确定最小值为第1组组中值,计算上下限,进而确定其他组别上下限,并对数据进行分组。采用DPS 3.01进行数据方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 异黄酮含量测定回归方程的建立

通过测定6个不同浓度异黄酮组分标准样品,以标准样品浓度为自变量(X),吸收峰面积为因变量(Y),得到线性回归方程(表2)。分析回归方程发现,方程的决定系数( $R^2$ )分别为0.9999、0.9974和0.9986(一般要求大于0.99),说明在自变量取值2.5~80.0μg/mL范围内,具有线性关系,且达到极显著水平,可用于大豆异黄酮组分含量测定。

表3 异黄酮组分测定的加标回收率分析

Table 3 Recover test of the determination procedure of isoflavone component

标准样品 Component	重复 Repeat	样品含量(μg/mL) Original amount	加入量(μg/mL) Added amount	测定值(μg/mL) Measured value	回收率(%) Recovery	平均回收率(%) Mean recovery	RSD (%)
大豆苷 Daidzin	1	33.82	10.00	43.67	98.46	98.91	1.42
	2	33.82	20.00	53.92	100.48		
	3	33.82	40.00	72.93	97.77		
黄豆黄苷 Glycitin	1	23.57	10.00	33.71	101.44	99.93	1.89
	2	23.57	20.00	43.67	100.53		
	3	23.57	40.00	62.69	97.81		
染料木苷 Genistin	1	27.83	2.50	30.34	100.46	101.46	1.73
	2	27.83	5.00	32.85	100.43		
	3	27.83	10.00	38.18	103.49		

表2 异黄酮标准样品制作的回归方程及其决定系数

Table 2 Linear regression equation and determination coefficient of isoflavone component

标准样品 Component	线性范围 (μg/mL) Linear range	回归方程 Regression equation	决定系数 Determination coefficient
大豆苷 Daidzin	2.5~80.0	$Y = 90834.7X + 122252.2$	0.9999**
黄豆黄苷 Glycitin	2.5~80.0	$Y = 92098.4X + 81557.5$	0.9974**
染料木苷 Genistin	2.5~80.0	$Y = 10419.7X - 8237.4$	0.9986**

\*\*表示极显著差异

\*\* means significance at 0.01 level

### 2.2 异黄酮含量测定方法的可靠性检验

通过分析标准样品6次重复的异黄酮组分发现,各组分(大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷)的相对标准偏差(RSD)分别为0.96%、1.53%和1.31%(要求<2%),说明所用测定方法精密度高。分析同一供试品种5次重复异黄酮组分结果发现,各组分(大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷)的RSD分别为1.89%、1.85%和1.65%(要求<2%),说明所用测定方法重现性好。

进一步分析供试品种每隔4h重复测定(直至72h)的异黄酮组分发现,各组分(大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷)的日内稳定性RSD分别为1.76%、0.89%和1.27%(要求<2%),日间稳定性RSD分别为0.98%、1.28%和1.02%(要求<2%),说明所用测定方法在日内和日间的稳定性均高。通过分析所用测定方法的回收率发现,各组分(大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷)的加标回收率分别为98.91%、99.93%和101.46%(要求95%~105%),相对应的RSD值分别为1.42%、1.89%和1.73%(要求<3%),说明测定方法的回收率高,变异程度小(表3)。

由此可见,本试验所用异黄酮及其组分测定方法在精密性、重现性、稳定性和回收率方面均符合要求,所测结果的精确性和准确性高,可以用于供试样品异黄酮及其组分含量测定。

### 2.3 供试大豆种质资源异黄酮及其组分含量综合评价

分析供试 213 份大豆种质异黄酮含量发现,3 次重复间的相关系数分别为 0.91、0.88 和 0.87,均达到极显著水平,说明测定结果的重复性好,可信度高;同时发现,种质间差异达极显著水平( $F = 20.18^{**}$ ),变异系数为 28.0%,表明黄淮海生态区大豆资源异黄酮含量存在着丰富遗传差异,可以从种质中筛选出极端类型种质。

对供试栽培大豆按照异黄酮及其组分含量进行

分组发现(表 4),总异黄酮含量分布范围在 1462.6 ~ 6115.5  $\mu\text{g/g}$ ,极差为 4652.9  $\mu\text{g/g}$ ,最大差异可达 4.2 倍;总异黄酮平均含量为 3558.2  $\mu\text{g/g}$ ,有 85.6% 的品种分布在 2250.0 ~ 4875.0  $\mu\text{g/g}$  之间。大豆苷含量分布在 627.4 ~ 3500.6  $\mu\text{g/g}$ ,极差为 2873.2  $\mu\text{g/g}$ ,最大差异达 5.6 倍,平均含量为 1945.0  $\mu\text{g/g}$ ,77.9% 的品种分布在 1107.4 ~ 2707.4  $\mu\text{g/g}$ 。黄豆黄苷含量分布在 105.4 ~ 2277.1  $\mu\text{g/g}$ ,极差为 2171.7  $\mu\text{g/g}$ ,最大差异达 21.6 倍,平均含量为 859.1  $\mu\text{g/g}$ ,81.8% 的品种分布在 465.4 ~ 1185.4  $\mu\text{g/g}$ 。染料木苷含量分布在 351.8 ~ 1990.5  $\mu\text{g/g}$ ,极差为 1638.7  $\mu\text{g/g}$ ,最大差异达 5.7 倍,平均含量 902.8  $\mu\text{g/g}$ ,79.6% 的品种分布在 442.8 ~ 1170.8  $\mu\text{g/g}$ 。

表 4 供试栽培大豆品种子粒异黄酮及其组分含量分布情况

Table 4 The distribution situation of seed isoflavone and component contents of cultivated soybean

总异黄酮 Isoflavone content		大豆苷 Daidzin content		黄豆黄苷 Glycitin content		染料木苷 Genistin content	
组限( $\mu\text{g/g}$ )	频率(%)	组限( $\mu\text{g/g}$ )	频率(%)	组限( $\mu\text{g/g}$ )	频率(%)	组限( $\mu\text{g/g}$ )	频率(%)
Group limits	Percent	Group limits	Percent	Group limits	Percent	Group limits	Percent
1200 ~ 1725	0.017	467 ~ 787	0.011	0 ~ 225	0.006	261 ~ 443	0.028
1725 ~ 2250	0.039	787 ~ 1107	0.088	225 ~ 465	0.055	443 ~ 625	0.160
2250 ~ 2775	0.133	1107 ~ 1427	0.133	465 ~ 705	0.271	625 ~ 807	0.221
2775 ~ 3300	0.243	1427 ~ 1747	0.127	705 ~ 945	0.309	807 ~ 989	0.260
3300 ~ 3825	0.221	1747 ~ 2067	0.260	945 ~ 1185	0.238	989 ~ 1171	0.155
3825 ~ 4350	0.127	2067 ~ 2387	0.133	1185 ~ 1425	0.066	1171 ~ 1353	0.077
4350 ~ 4875	0.133	2387 ~ 2707	0.127	1425 ~ 1665	0.028	1353 ~ 1535	0.055
4875 ~ 5400	0.061	2707 ~ 3027	0.072	1665 ~ 1905	0.022	1535 ~ 1717	0.028
5400 ~ 5925	0.022	3027 ~ 3347	0.028	1905 ~ 2145	0.000	1717 ~ 1899	0.006
5925 ~ 6450	0.006	3347 ~ 3667	0.022	2145 ~ 2385	0.006	1899 ~ 2081	0.011

同时,分析供试野生大豆异黄酮及其组分含量发现(表 5),总异黄酮变异幅度在 3896.1 ~ 7440.4  $\mu\text{g/g}$  之间,平均含量为 5182.4  $\mu\text{g/g}$ ,极差达到 3544.3  $\mu\text{g/g}$ ,相差 1.9 倍,变异系数为 14.6%。大豆苷变异幅度在 808.4 ~ 1612.4  $\mu\text{g/g}$  之间,平均含量为 1128.4  $\mu\text{g/g}$ ,极差达到 804.0  $\mu\text{g/g}$ ,相差 2.0 倍,变异系数为 18.0%。黄豆黄苷变异幅度在 1480.3 ~ 3439.1  $\mu\text{g/g}$  之间,平均含量为 2170.1  $\mu\text{g/g}$ ,极差达到 1958.8  $\mu\text{g/g}$ ,相差 2.3 倍,变异系数为 19.3%。染料木苷变异幅度在 1247.2 ~ 2513.2  $\mu\text{g/g}$  之间,平均含量为 1883.8  $\mu\text{g/g}$ ,极差达到 1266.0  $\mu\text{g/g}$ ,相差 2.0 倍,变异系数为 17.5%。可见,供试野生大豆子粒黄豆黄苷与染料木苷含量相对较

多,而大豆苷含量相对较低。进一步比较野生大豆与栽培大豆异黄酮含量发现,供试野生大豆异黄酮平均含量显著高于栽培大豆,说明野生大豆中蕴藏着丰富的高异黄酮含量资源。

### 2.4 子粒高异黄酮含量大豆特异种质遴选

通过分析各供试种质异黄酮及其组分含量,筛选出高异黄酮及其组分特异种质 10 份(表 6)。具体包括:异黄酮含量超过 6000  $\mu\text{g/g}$  种质 4 份,其中超过 7000  $\mu\text{g/g}$  种质 1 份;大豆苷含量超过 3400  $\mu\text{g/g}$  种质 3 份,黄豆黄苷含量超过 3000  $\mu\text{g/g}$  种质 2 份,染料木苷含量超过 2500  $\mu\text{g/g}$  种质 1 份,可供异黄酮分子生物学和品种选育应用。

表 5 供试野生大豆子粒异黄酮及其组分含量分布

Table 5 The distribution situation of seed isoflavone and component contents of wild soybean

总异黄酮 Isoflavone content		大豆苷 Daidzin content		黄豆黄苷 Glycitin content		染料木苷 Genistin content	
组限(μg/g)	频率(%)	组限(μg/g)	频率(%)	组限(μg/g)	频率(%)	组限(μg/g)	频率(%)
Group limits	Percent	Group limits	Percent	Group limits	Percent	Group limits	Percent
3457 ~ 4343	0.094	700 ~ 901	0.063	1235 ~ 1725	0.063	1092 ~ 1408	0.063
4343 ~ 5229	0.500	901 ~ 1102	0.500	1725 ~ 2215	0.563	1408 ~ 1725	0.250
5229 ~ 6115	0.313	1102 ~ 1303	0.250	2215 ~ 2705	0.281	1725 ~ 2041	0.344
6115 ~ 7001	0.063	1303 ~ 1504	0.094	2705 ~ 3195	0.063	2041 ~ 2358	0.250
7001 ~ 7887	0.031	1504 ~ 1705	0.094	3195 ~ 3685	0.031	2358 ~ 2674	0.094

表 6 入选高异黄酮大豆特异种质及其含量

Table 6 Selected elite accessions with high isoflavone or component contents

名称	异黄酮(μg/g)	名称	大豆苷(μg/g)	名称	黄豆黄苷(μg/g)	名称	染料木苷(μg/g)
Name	Isoflavone	Name	Daidzin	Name	Glycitin	Name	Genistin
YD-157	7440.4	中豆 34	3500.6	YD-157	3439.1	YD-131	2513.2
YD-146	6691.4	吉林 35	3439.3	YD-146	3061.3		
YD-132	6488.2	商豆 14	3437.4				
中作 J9056	6115.5						

### 3 讨论

异黄酮仅存在于豆科植物,且大豆中含量最高。近年来有一些学者致力于发掘和利用大豆高异黄酮特异种质研究,旨在为相关基因分子克隆、关键基因差异表达、RIL 群体构建和专用型品种选育提供材料。根据本研究统计,我国东北地区大豆异黄酮含量测定的报道约有 12 篇,涉及 1933 份资源,遴选特异种质约 73 份(高、低异黄酮含量);南方地区大豆资源异黄酮含量的报道约有 5 篇,涉及 1062 份资源,遴选特异种质为 15 份;而涉及黄淮海生态区研究仅有 3 篇,鉴定 475 份资源(品种覆盖我国所有大豆生态区),入选特异种质仅 11 份<sup>[9-24]</sup>。黄淮海地区蕴藏着丰富的高异黄酮含量资源,加强其异黄酮含量鉴定及特异种质遴选十分必要和迫切。

针对我国黄淮海地区大豆资源异黄酮含量研究较少和种质缺乏问题,本研究选取黄淮海生态区(河北、北京、河南、山东、山西和江苏等)的 213 份大豆种质资源作为供试材料,通过测定其子粒异黄酮及组分含量,对该地区的大豆资源异黄酮及组分含量进行大范围筛选和评价,明确了该区大豆异黄酮及组分含量水平,遴选高异黄酮含量特异种质,进一步丰富了我国该类特异种质的数量,为开展异黄酮分子生物学研究和专用品种选育提供了基础材

料。研究表明,黄淮海地区栽培大豆异黄酮平均含量超过 3500 μg/g,最大差异可达 4652.9 μg/g(约 4.2 倍);野生大豆异黄酮平均含量超过 5000 μg/g,最大差异达 3544.3 μg/g(约 1.9 倍),说明该地区大豆资源异黄酮含量存在丰富变异,且蕴藏着一些高异黄酮含量特异种质。

同时,本研究通过分析我国不同生态区大豆异黄酮含量发现,南方地区品种(江苏、安徽、湖北、浙江、四川和广东,249 份)异黄酮含量分布范围在 367 ~ 4932 μg/g<sup>[12]</sup>;重庆地区野生大豆(96 份)异黄酮变异范围在 610 ~ 5260 μg/g,地方品种(102 份)在 410 ~ 5100 μg/g<sup>[13]</sup>;东北地区栽培大豆(黑龙江、吉林、辽宁和内蒙古,128 份)异黄酮分布在 1040 ~ 4434 μg/g<sup>[16]</sup>;吉林省大豆资源(261 份)异黄酮变异幅度在 1460 ~ 4970 μg/g<sup>[17]</sup>;黑龙江省野生大豆(598 份)异黄酮分布在 416 ~ 6808 μg/g,栽培大豆(465 份)在 914 ~ 6249 μg/g<sup>[14-15,18-19,21,23]</sup>。本研究测定黄淮海地区大豆(213 份)异黄酮发现,野生大豆分布在 3896 ~ 7440 μg/g,栽培大豆分布在 1463 ~ 6116 μg/g,与国内其他地区相比,高异黄酮含量种质较多,低异黄酮含量种质较少。

另外,为提高测定大豆异黄酮含量精确性和准确性,本研究对测定方法精密度(同一标样重复测定,反映测定仪器、试剂及环境一致性)、重现性(同一测试样品重复测定,反映测试仪器和方法一致性)、稳定性

(同一测试样品每隔4 h重复测定,连续测定3 d,反映测试方法和样品稳定性)和加标回收率(标准样品和测试样品混合后重复测定,反映测试方法准确性)进行分析,证明所用方法在上述4个方面符合要求,测试结果具有较高准确度和精确度。同时,为确定测试结果可靠性,选取了3个已知异黄酮含量品种(中豆27、豫豆25和郑92116)作为参照<sup>[25-26]</sup>;发现测定值与前人报道基本一致,相差不超过80  $\mu\text{g/g}$ ,充分说明了本研究结果的可靠性和真实性。

#### 参考文献

- 钱贻崧,程浩,喻德跃.从农业到生物医学:大豆育种研究的新方向[J].大豆科学,2011,30(4):683-688
- 邱丽娟,常汝镇,袁翠平,等.国外大豆种质资源的基因挖掘利用现状与展望[J].植物遗传资源学报,2006,7(1):1-6
- Cheng H, Yu Oliver, Yu D Y. Polymorphisms of *IFS1* and *IFS2* gene are associated with isoflavone concentrations in soybean seeds[J]. Plant Sci, 2008, 175: 505-512
- 刘蓉蓉,胡鸾雷,林忠平.合成大豆异黄酮的植物基因工程研究进展[J].农业生物技术学报,2007,15(5):888-895
- 彭游,余盛禄.大豆异黄酮提取研究最新进展[J].大豆科学,2012,31(2):320-323
- 李卫东,周鹏.异黄酮及其在非豆科植物中生成的研究进展[J].分子植物育种,2005,3(6):888-894
- Tepavčević V, Atanacković M, Miladinović J, et al. Isoflavone composition, total polyphenolic content, and antioxidant activity in soybeans of different origin[J]. J Med Food, 2010, 13(3): 657-664
- Sakthivelu G, Akitha Devi M K, Giridhar P, et al. Isoflavone composition, phenol content, and antioxidant activity of soybean seeds from India and Bulgaria[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56: 2090-2095
- 王春娥,赵团结,盖钧镒.中国大豆资源异黄酮含量及其组分的遗传变异和演化特征[J].中国农业科学,2010,43(19):3919-3929
- 袁凤杰,姜莹,董德坤,等.中国大豆核心种质异黄酮含量的分析[J].中国粮油学报,2011,26(2):5-8
- 葛一楠,孙君明,韩粉霞,等.代表性大豆种质异黄酮主要组分含量鉴定[J].植物遗传资源学报,2011,12(6):921-927
- 孙君明,韩粉霞,丁安林.高效液相色谱(HPLC)技术鉴定中国南方大豆品种异黄酮主要组分[J].植物遗传资源学报,2004,5(3):222-226
- 张应,李向华,肖鑫辉,等.重庆不同类型大豆异黄酮含量与品质性状的测定与分析[J].大豆科学,2011,30(1):67-72
- 杨雪峰,李文滨,齐宁,等.野生大豆蛋白质、脂肪含量与异黄酮含量的相关性研究[J].大豆科学,2011,30(1):161-163
- 张海军,李琳,苏连泰,等.黑龙江省栽培大豆品种(系)异黄酮含量测定与主要性状相关性分析及灰色关联度分析[J].西华大学学报,2011,30(6):73-76
- 张海军,王英,苏连泰,等.东北地区栽培大豆品种种子粒异黄酮含量分析及不同测定方法优化比较[J].大豆科学,2011,30(6):979-986
- 宋志峰,王丽,孟凡钢,等.吉林省普通大豆品种(系)异黄酮含量分析[J].大豆科学,2009,28(6):1076-1080
- 李辉,戴常军,兰静,等.黑龙江省栽培大豆异黄酮含量的初步分析[J].中国粮油学报,2007,22(1):38-40
- 刘广阳,齐宁,林红,等.黑龙江省野生和栽培大豆异黄酮与其组分相关性分析[J].植物遗传资源学报,2008,9(3):378-380
- 李炜,来永才,毕远林,等.黑龙江省野生大豆高异黄酮新种质创新利用研究Ⅱ异黄酮含量与大豆品质相关性的分析[J].大豆科学,2007,26(3):319-321
- 林红,来永才,齐宁,等.黑龙江省野生大豆栽培大豆高异黄酮种质资源筛选[J].植物遗传资源学报,2005,6(1):53-55
- 王春娥.我国大豆资源豆腐乳得率和异黄酮含量的遗传变异及两类性状的QTL分析[D].南京:南京农业大学,2008:43-46
- 来永才,李炜,王庆祥,等.黑龙江省野生大豆高异黄酮新种质创新利用Ⅰ异黄酮含量及与子粒相关性状的初步分析[J].大豆科学,2006,25(4):414-416
- 张海军,苏连泰,李琳,等.高效液相色谱法(HPLC)测定大豆异黄酮含量的研究[J].大豆科学,2011,30(4):672-679
- 韩粉霞,丁安林,孙君明.高异黄酮含量大豆新品种中豆27[J].大豆科学,2002,21(3):231-233
- 梁慧珍,李卫东,方宣钧,等.大豆异黄酮及其组分含量的配合力和杂种优势[J].中国农业科学,2005,38(10):2147-2152

## 欢迎订阅《西北农林科技大学学报(自然科学版)》

《西北农林科技大学学报(自然科学版)》创刊于1936年,是西北地区创办最早的综合性农业科学学术期刊,其前身是《西北农业大学学报》。本刊立足国际科学发展前沿,兼顾理论探索与应用开发研究,面向社会,主要刊登农林科学、植物保护、资源环境科学、园艺科学、动物科学与医学、食品科学、生命科学、农田水利与建筑工程、机械与电子工程等方面的原创性学术研究成果。读者对象为国内外农林科技工作者、高等院校教师、研究生和农林管理干部。

本刊现为中国自然科学核心期刊、全国综合性农业科学核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊和中国科技核心期刊,论文被国内外多家权威性数据库和文摘期刊固定转载和收录。

月刊,每月10日出版,国内外公开发行。每期定价15元,全年180元。邮发代号为52-82,全国各地邮局均可订阅,亦可直接向本刊编辑部订阅。国外总发行为中国国际图书贸易总公司(北京399信箱)。

地址:(712100)陕西杨凌西北农林科技大学北校区40号信箱

电话:029-87092511

E-mail: xnxbz@nwsuaf.edu.cn

网址: <http://www.xnxbz.net>