

大豆异黄酮含量与主要农艺性状相关性及通径分析

曾国良,王继安,韩英鹏,张彬彬,姜振峰,滕卫丽,罗秋兰,李文滨

(国家教育部大豆生物学重点实验室,东北农业大学大豆研究所,哈尔滨 150030)

摘要 利用高效液相色谱法检测了中豆 27(♀)×九农 20(♂)重组自交系的异黄酮含量。结果显示重组自交系间异黄酮含量差异显著。分析了异黄酮含量同主要农艺性状和化学品质性状的相关性,结果表明:总异黄酮含量与蛋白含量、脂肪含量、蛋白脂肪总含量、分枝数、单株产量、总荚数、主茎荚数和分枝荚数呈现负相关,其中与蛋白含量和蛋白脂肪总含量相关都分别达到显著和极显著水平;同株高、主茎节数和百粒重呈正相关趋势,并进一步估算了各异黄酮的含量与主要农艺性状的通径系数。

关键词 大豆异黄酮;农艺性状;化学品质性状;相关性;通径系数

中图分类号 S 565.101 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)01-0025-05

CORRELATION OF ISOFLAVONES WITH THE MAJOR AGRONOMIC CHARACTERS IN SOYBEAN

ZENG Guo-liang, WANG Ji-an, HAN Ying-peng, ZHANG Bin-bin, JIANG Zhen-feng, TENG Wei-li, LUO Qiu-lan, LI Wen-bin

(Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education, Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract To investigate the correlation between the isoflavone content and the major agronomic traits, as well the chemical qualities traits in soybean, HPLC was used to measure the isoflavones content of RILs from a cross by high isoflavones and low isoflavones cultivars. The correlation coefficients between soybean isoflavones and the major agronomic characters, as well chemical qualities traits were calculated. The results showed that the correlation coefficients between total isoflavones content and the content of protein, fat, the total content of protein and fat, number of branch, seeds weight per plant, number of total pods, number of pods in main stem, number of pods in branch were negative; the correlation coefficients were positive between total isoflavones content and height of plant, number of main stem nodes, and 100-seed weight. The path-coefficients were calculated based on the above correlation results.

Key words Soybean isoflavones; Agronomic traits; Chemical quality traits; Correlation coefficients; Path-coefficients

大豆异黄酮是大豆体内特别是种子中积累的一类次生代谢产物。近年来的研究发现大豆异黄酮具

有特殊的生物功能,表现在具有弱雌激素活性,抗氧化活性,抗溶血活性和抗真菌活性,能有效预防和抑制白血病、骨质疏松、结肠癌、肺癌、骨癌、胃癌、乳腺癌和前列腺癌,改善妇女更年期综合症等多种疾病的发生,已广泛应用于食品、医药、美容和动物养殖等行业^[1~7]。另一方面,植物生理学和病理学的研究表明:异黄酮能够促进根瘤菌和大豆植株的结瘤过程^[8~10]。大豆植株向根际分泌的异黄酮,可以有效地限制外源微生物的生长^[11],在病原菌入侵及虫害侵食大豆植株时,作为一种植保素超常表达^[12,13]。

大豆中异黄酮含量受到诸多因素的影响。当前研究大致分为两个方面:一是内因,即本身的遗传特征;另一方面是外因,即大豆生长的环境。在影响大豆异黄酮含量的外因中,年份、生育期间的气候状况、经纬度、土壤的有机成分和肥力状况等都对大豆异黄酮含量的累积有影响^[14~19]。不同大豆品种间的大豆异黄酮含量差异特别大^[20~22],分析大豆异黄酮含量与主要农艺性状的相关性和通径关系,可为选育异黄酮含量高、综合性状好的品种提供理论依据。

1 材料及方法

1.1 材料和试验设计

2004年和2005年将亲本中豆27(♀)和九农20(♂)以及114个杂交F₄、F₅代重组自交系种于哈尔滨东北农业大学香坊农场试验基地,行长2m,株距6cm,行距70cm,两次重复,采用随机区组设计。

1.2 性状调查

收获后,每个重组自交系随机取5株用于室内考种,考种项目包括:株高、节数、主茎荚数、分枝荚数、分枝数、总荚数、单株粒重和百粒重。

籽粒于粉碎机内粉碎,80目过筛,装于7号自封袋,保存于-20℃冰箱备用。

1.3 品质分析方法

1.3.1 大豆蛋白和油分的测定

取适量备用豆粉用Perten8620近红外品质分析仪测定蛋白质和脂肪含量。

1.3.2 大豆异黄酮提取及测定^[23]

采用美国戴安高效液相色谱仪系统定量测定样品中的异黄酮含量。色谱系统包括:UVD170紫外检测器,AT330柱温箱,AXW-5温度控制器,ASI-

100自动进样注射仪,P680高效液相色谱泵,CHROMELEON操作系统。

准确称取大豆粉样品0.1000g,加入80%的乙醇提取液8mL于10mL离心管中,室温下超声波震荡1~2h。按参考文献的水解条件水解大豆异黄酮^[24]。水解液中和后用0.45μm滤膜过滤,加入液谱专用小瓶中封口,4℃下保存待测。

色谱分析条件:色谱柱:150mm×4.9mm C18HICHROM316A-LOK(UK);流动相:0.5%乙酸水溶液;色谱级甲醇=60:40;流速:1mL/min;检测波长:254nm;柱温:50℃;进样量:10μL;分析时间:50min/样品。

异黄酮标准样品购自上海同田生化公司样品根据标样的保留时间定性,根据标准样品峰面积定量。

1.4 统计分析方法^[25]

表型相关系数表达式:
$$r_{pij} = \frac{COV_{pij}}{\sqrt{\sigma_{pi}^2} \sqrt{\sigma_{pj}^2}}$$

直接通径系数表达式:
$$P_{iy} = b \frac{\sigma_{Xi}}{\sigma_y}$$

应用DPS统计分析软件(3.01专业版)及MS excel软件对考种和品质数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 重组自交系的各异黄酮含量分析

表1 大豆异黄酮含量变异分析

Table 1 Analysis of variance of isoflavones content

项目	最小值(μg/g)	最大值(μg/g)	平均值(μg/g)	变异系数
Item	Minimal	Maximal	Average	Variation
大豆黄素含量 DaC	164.82	1829.12	784.09	0.4344
黄豆黄素含量 GlyC	111.20	879.31	362.88	0.3805
染料木黄素含量 GeC	388.22	2251.26	1127.20	0.3304
总异黄酮含量 Total	682.55	5090.70	2359.07	0.3256

三类异黄酮及总异黄酮含量的变异幅度见表1。大豆黄素含量的变异幅度最大,为0.4344;其次为黄豆黄素(0.3805),染料木黄素(0.3304),异黄酮总含量(0.3256)。各异黄酮在含量方面所呈现出较大的变异系数,说明重组自交系后代的异黄酮含量变异范围广泛,遗传潜力巨大,具有较大的选择空间。

2.2 相关性分析

大豆黄素含量同大豆农艺性状的相关性在两个年份间重复性较好,其中大豆黄素的含量和蛋白含量、脂肪含量、蛋白脂肪总含量、分枝数、分枝荚数、

主茎荚数、总荚数和单株产量在两个年份都呈现负相关,且同脂肪和蛋白脂肪总含量的负相关在两个年份都达到了极显著水平,表现出较好的重复性;大豆黄素的含量同分枝数、分枝荚数和总荚数在 2004 年负相关达到了显著水平。大豆黄素的含量和株高、主茎节数、百粒重呈现正相关,且在 2005 年同主茎节数达到了极显著水平。

除同株高、分枝数和分枝荚数三者的相关性在两个年份表现不一致外,黄豆黄素的含量和其他性状的相关性保持一致。其中同蛋白含量、蛋白脂肪总含量、单株产量和百粒重呈现负相关,其中同蛋白含量和百粒重负相关在 2005 年达到显著水平;同脂肪含

量、主茎节数、主茎荚数和总荚数呈现了正相关,其中同主茎节数的相关在 2005 年达到了显著水平。

染料木黄素含量仅和脂肪含量、单株产量和百粒重呈现正相关;而同其他性状呈现负相关,其中和蛋白含量和总荚数的相关两个年份都达到负显著水平。

总异黄酮含量和蛋白含量、脂肪含量、蛋白脂肪总含量、分枝数、单株产量、总荚数、主茎荚数和分枝荚数在两个年份都呈现负相关,其中和蛋白含量与蛋白脂肪总含量相关都分别达到显著和极显著水平;同百粒重呈正相关;同株高和主茎节数间的相关性重复性较差。各异黄酮含量与主要的农艺和品质性状的相关性分析见表 2。

表 2 大豆异黄酮含量与主要农艺与品质性状的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between isoflavones contents and main agronomic traits, as well as chemical quality traits

	大豆黄素 Daidzein		黄豆黄素 Glycitein		染料木黄素 Genistein		总异黄酮 Total Isoflavones	
	2004	2005	2004	2005	2004	2005	2004	2005
蛋白含量 Pro	-0.0969	-0.1284	-0.0898	-0.1944*	-0.2139*	-0.2433**	-0.2143	-0.2149*
脂肪含量 Fat	-0.2446**	-0.2783**	0.1223	0.0735	0.0586	0.0636	-0.0628	-0.0926
蛋、脂含量 P&F	-0.3592**	-0.3705**	-0.0194	-0.113	-0.1093	-0.2372*	-0.2497**	-0.3154**
株高 PH	0.0716	0.1394	-0.0012	0.1656	-0.1314	-0.1295	-0.0316	0.0353
主茎节数 NMSN	0.1499	0.2614**	0.0598	0.1843*	-0.1796*	-0.0042	-0.0019	0.1587
分枝数 NB	-0.2656**	-0.103	-0.0886	0.0683	-0.0900	-0.0915	-0.1890*	-0.0915
分枝荚数 NBP	-0.2501**	-0.0224	-0.0710	0.0482	-0.1900*	-0.1125	-0.2439**	-0.0565
主茎荚数 NMSP	-0.1677	-0.1451	0.0412	0.0805	-0.1715	-0.2011*	-0.1621	-0.1532
总荚数 NTP	-0.2358*	-0.1134	0.0005	0.0813	-0.2090*	-0.1989*	-0.2256*	-0.1366
单株产量 SWP	-0.1470	-0.0329	-0.0290	-0.0452	-0.0887	0.0367	-0.1266	-0.0362
百粒重 100SW	0.2045	0.1667	-0.0624	-0.1979*	0.2099*	0.1373	0.1951*	0.1122

** -0.01 水平上显著 * -0.05 水平上显著

Note:Pro:Protein content; Fat:Fat content;P&F:Protein and fat total content; PH:Plant height;NMSN:Number of main stem nodes; NB:Number of branch;NBP:Number of branch pods; NMSP:Number of main stem pods;NTP:Number of total pods; SWP:Seeds weight per plant;100SW:100 seeds weight; " * ", " * "Indicate significance at the 0.01 and 0.05 level, respectively.

2.3 通径分析

大豆异黄酮含量对蛋白含量、脂肪含量、蛋白脂肪总含量、百粒重和单株产量的通径分析如表 3。

从表 3 中可以看出蛋白含量对三种异黄酮含量的直接效应依次为大豆黄素(0.19292)＞黄豆黄素(－0.08944)＞染料木黄素(－0.36705)。蛋白含量对黄豆黄素和染料木黄素的直接效应与表型相关一致;蛋白含量对大豆黄素的直接正效应主要为染料木黄素的负效应所掩盖,使得其直接效应与相关表现相反。

脂肪含量对三种异黄酮含量的直接效应依次为染料木黄素(0.51343)＞黄豆黄素(0.12561)＞大豆黄素(－0.58356),同时也表明脂肪含量对三种异黄酮含量的直接效应与表型相关的表现一致。

蛋白脂肪总含量对三种异黄酮含量的直接效应

次序为染料木黄素(0.08115)＞黄豆黄素(0.02042)＞大豆黄素(－0.4390),除蛋白脂肪总含量对大豆黄素的直接效应同表型相关一致外,蛋白脂肪总含量对黄豆黄素和染料木黄素含量的直接效应都同表型相关相反,表现出正值,这是由于受到大豆黄素的负向效应的掩盖,导致直接效应与表型相关不一致。

百粒重对三种异黄酮含量的直接效应次序为大豆黄素(0.180065)＞染料木黄素(0.15986)＞黄豆黄素(－0.34135),同表型相关的表现一致。

单株产量对三种异黄酮含量的直接效应次序为黄豆黄素(0.07366)＞大豆黄素(－0.01297)＞染料木黄素(－0.06952)。除单株产量对大豆黄素的直接效应同表型相关系数表现一致外,黄豆黄素和染料木黄素受到单株产量的直接效应都和其表型相关系数相反,这是由于大豆黄素对其的影响所至。

表3 大豆异黄酮含量对蛋白含量、脂肪含量、蛋白脂肪总含量、百粒重和单株产量的通径分析(2005年)

Table 3 Analysis of path coefficients between isoflavones and protein content,oil content, protein and oil total content, 100 seeds weight,seeds weight per plant

作用因子 Factors		大豆黄酮 Da	黄豆黄酮 Gly	染料木黄素 Gen
蛋白含量 Pro	大豆黄酮 Da	0.19292	-0.03477	-0.27402
	黄豆黄酮 Gly	0.07501	-0.08944	-0.16881
	染料木黄素 Gen	0.14403	-0.04113	-0.36705
脂肪含量 Fat	大豆黄酮 Da	-0.58356	0.04884	0.3833
	黄豆黄酮 Gly	-0.22688	0.12561	0.23613
	染料木黄素 Gen	-0.43566	0.05777	0.51343
蛋白脂肪 总含量 P&F	大豆黄酮 Da	-0.43903	0.00794	0.06058
	黄豆黄酮 Gly	-0.17069	0.02042	0.03732
单株产量 SWP	染料木黄素 Gen	-0.32776	0.00939	0.08115
	大豆黄酮 Da	-0.01297	0.02864	-0.0519
	黄豆黄酮 Gly	-0.00504	0.07366	-0.03197
百粒重 100SW	染料木黄素 Gen	-0.00968	0.03388	-0.06952
	大豆黄酮 Da	0.18006	-0.13271	0.11934
	黄豆黄酮 Gly	0.07	-0.34135	0.07352
	染料木黄素 Gen	0.13442	-0.15699	0.15986

Note:Pro:Protein content; Fat: Fat content; P&F:Protein and fat total content; SWP:Seeds weight per plant; 100SW:100 seeds weight; Da:daidzein; Gly:Glycitein; Gen:Genistein.

3 讨论

重组自交系后代的大豆异黄酮含量测定结果表明,在一定范围内异黄酮含量呈连续地变化,但同时各株系间也存在着较大的变化幅度,这种各株系间含量的差异也验证了大豆异黄酮含量是一种数量性状^[15]。测定的结果也证实了在大豆籽粒中各异黄酮含量的大小为:染料木黄酮>大豆黄酮>黄豆黄酮,但各异黄酮含量所占的比例在各株系间存在的差异也比较大。

当前大豆育种的最终目标主要是围绕着产量和化学品质性状两个方向进行的,而化学品质性状的主要目标是大豆籽粒中的蛋白和脂肪含量。大豆产量由粒数和百粒重构成,粒数又由大豆荚数和每荚粒数决定。大豆异黄酮同荚数呈现出负相关,而与百粒重呈现正相关。这两者的相互综合影响导致了大豆异黄酮含量同大豆产量也表现出一定的负相关,只是这种相关性趋势较小。

作为大豆化学品质性状的大豆蛋白、脂肪和大豆异黄酮这三者之间也存在矛盾关系,各种大豆异黄酮含量同蛋白含量均呈现负相关,大豆异黄酮的总含量同蛋白含量间的负相关呈现显著水平趋势。大豆异黄酮总含量同脂肪呈现负相关,是受到大豆黄酮同脂肪含量的极显著负相关的影响所致。由于蛋白质脂肪总含量往往主要决定于蛋白质的含量,

因而蛋白质同异黄酮的负相关导致了各种大豆异黄酮同大豆蛋白质脂肪总含量呈现显著的负相关性。以上的表现给培育大豆蛋白、脂肪和异黄酮含量三者均高的“三高品种”目标带来一定的困难。

通径系数常用来研究动植物遗传育种及作物栽培等方面的多变数各性状间的相关性分析。通径分析将简单相关系数分解为两部分,一部分为一性状对另一性状的直接效应,另一部分是该性状通过其他性状对另一性状的间接效应,并能分析出间接效应的途径和各条途径的效应大小,这样就可以从各性状间的复杂关系中,找出性状间的真实关系。

通经分析的结果表明,蛋白含量、脂肪含量和蛋白脂肪总含量对两种主要的异黄酮——染料木黄素和大豆黄酮含量直接效应恰恰相反;单株产量对大豆黄酮和染料木黄素的直接效应都为负值,同相关性分析一致;百粒重对这两种异黄酮的直接效应都为正值同相关性分析一致。

参 考 文 献

[1] 蔡娟,童小莉.大豆黄酮对畜禽生理及生产的影响[J].四川畜牧兽医学院学报.2002,16(4):36—40.

[2] 陈慧.异黄酮对骨质疏松症的预防作用[J].国外医学:老年医学分册.2000,21(1):22—23.

[3] 徐德平.大豆异黄酮的分离鉴定与抗氧化作用的研究[J].南京农业大学学报.2001,24(3):89—92.

[4] 阎祥华,顾景范,孙存普.大豆异黄酮的抗癌作用机制研究进

- 展[J]. 生理科学进展. 1997, 28(4): 362—364.
- [5] 郑高利, 朱寿民, 刘子贻. 大豆异黄酮的抗氧化作用[J]. 浙江医科大学学报 1997, 26(5): 196—199.
- [6] 刘波静, 陈国良. 大豆异黄酮的提取及其生物学效能的研究[J]. 中国粮油学报. 2003, 18(2): 50—53.
- [7] Fatemeh Rafii, Christy Davis, Miseon Park, et. al. Variations in metabolism of the soy isoflavonoid daidzein by human intestinal micro floras from different individuals[J]. Arch Microbiol, 2003, 180: 11—16.
- [8] A. Ozan, G. R. Safir, M. G. Nair. Persistence of isoflavones formononetin and biochanin a in soil and their effects on soil microbe populations[J]. Journal of Chemical Ecology. 1997, 23(2): 247—258.
- [9] Senthil Subramanian, Xu Hu, Guihua Lu, et. al. The promoters of two isoflavone synthase genes respond differentially to nodulation and defense signals in transgenic soybean roots[J]. Plant Molecular Biology. 2004, 54: 623—639.
- [10] Ali M. Belkheir1, Xiaomin Zhou et. al. Variability in yield and yield component responses to genistein pre-incubated Bradyrhizobium japonicum by soybean [*Glycine max* (L.) Merr] cultivars[J]. Plant and Soil. 2001, 229: 41—46.
- [11] Eva DeRijke, Leon Aardenburg, Jerry Van Dijk et. al. Changes isoflavones levels in red clover (*Trifolium pratense* L.) leaves with disturbed root nodulation in response to waterlogging[J]. Journal of Chemical Ecology. 2005, 31(6): 1285—1298.
- [12] Giorla Carla Piubelli, Clara Bea Triz, Hoffmann-campo O, et al. Flavonoid increase in soybean as a response to Nezara viridula injury and its effect on insect-feeding preference[J]. Journal of Chemical Ecology. 2003 29(5): 1223—1233.
- [13] James A, Saunders, Nichole R. O'neil. The characterization of defense responses to fungal infection in alfalfa[J]. BioControl. 2004, 49: 715—728.
- [14] 李卫东, 梁慧珍, 卢为国, 等. 大豆籽粒异黄酮含量与生态因子相关关系的研究[J]. 中国农业科学. 2004, 37(10): 1458—1463.
- [15] 沈黎明, 孙君明, 丁安林. 不同光照条件下大豆体内异黄酮的含量与分布[J]. 中国油料作物学报. 1999, 2(2): 36—40.
- [16] 刘丽君, 高明杰. 大豆加工品质的资源筛选和遗传改良的研究[J]. 黑龙江农业科学. 2002, (1): 13—14.
- [17] 梁慧珍, 李卫东. 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.
- [18] 孙君明, 丁安林. 大豆种子发育过程中异黄酮的积累[J]. 植物生理学通讯. 1998, 34(1): 10—13.
- [19] 孙君明, 丁安林. 地理环境对大豆种子中异黄酮积累的影响趋势[J]. 大豆科学. 1997, 16(4): 298—303.
- [20] 孙君明, 丁安林. 大豆异黄酮含量及影响因素的评价[J]. 中国粮油学报. 1998, 13(2): 11—16.
- [21] 孙君明, 丁安林, 常汝镇. 大豆籽粒中异黄酮含量的遗传初步分析[J]. 中国农业科学. 2002, 35(1): 16—21.
- [22] 孙君明, 丁安林. 大豆籽粒中异黄酮含量的质量—数量性状的遗传分析初探[J]. 大豆科学. 1998, 17(4): 305—310.
- [23] 王哲, 白志明, 宋宏哲, 等. 高效液相色谱法测定大豆异黄酮含量的研究[J]. 中国油脂. 2003, 18(11): 82—84.
- [24] 张炳文, 宋永生. 糖苷型大豆异黄酮水解工艺的研究[J]. 食品科学. 2002, 23(4): 73—75.
- [25] 朱明哲. 田间试验及统计分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990. 142—221.

欢迎订阅 2007 年《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农科院主办的学术性期刊。国内外公开发行, 双月刊, 16 开本, 每期 120 页。国内每期订价: 10.00 元, 全年 60.00 元, 邮发代号: 14—95。国外每期订价: 10.00 美元(包括邮资), 全年 60 美元。国外总发行由中国国际图书贸易总公司, 北京 399 信箱。国外代号: Q5587。

《大豆科学》是中国自然科学核心期刊, 中国科学引文数据库来源期刊及国内外多家权威数据库收入期刊源。主要刊登有关大豆的遗传育种, 品种资源, 生理生态, 耕作栽培、病、虫、杂草防治, 营养施肥, 生物技术、食品加工、药理研究和工业用途等方面的科研报告, 学术论文, 国内、外研究进展评述, 研究简报, 学术活动简讯、新品种介绍等。

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者, 大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。

本刊热忱欢迎广大科研单位及有关企业刊登广告, 广告经营许可证号: 2301004010071。

订阅办法: 全国各地邮局, 如在邮局漏订, 可到编辑部补订。通过邮局汇款至哈尔滨市南岗区学府路 368 号《大豆科学》编辑部。

邮政编码: 150086。

联系电话: 0451—86668735。

http://ddkx.chinajournal.net.cn

E-mail: dadoukx@sina.com