

菜用大豆籽粒代谢物的相关性分析

张玉梅, 胡润芳, 陈宇华, 林国强

(福建省农业科学院 作物研究所, 福建 福州 350013)

摘要:菜用大豆食味品质与代谢物的种类和数量显著相关,为研究菜用大豆籽粒代谢物间的相关性,以菜用大豆新品种闽豆 6 号为材料,采用气质谱联用仪(GC-MS)对不同时期籽粒的代谢物进行相关性分析。结果表明:在检测到的 102 种代谢物中,有机酸 36 种,其次为氨基酸 21 种、多元醇 11 种、糖 9 种、磷酸 7 种、胺类 5 种、脂肪酸和核苷酸各 4 种、其它物质 5 种;对这 9 类代谢物间的相关性分析表明氨基酸与有机酸、糖及其它类代谢物均成负相关,与多元醇、磷酸、胺、核苷酸以及脂肪酸均呈正相关,相关性达显著或极显著水平;9 种糖类代谢物相关分析表明蔗糖与葡萄糖和果糖的相关性达显著或极显著水平;21 种氨基酸的相关分析表明除蛋氨酸与半胱氨酸、焦谷氨酸与蛋氨酸和谷氨酸负相关外,其它氨基酸均两两正相关,此外含硫氨基酸蛋氨酸和半胱氨酸以及焦谷氨酸与其它 20 种氨基酸的相关性较弱;阿魏酸等 6 种酚酸的相关性分析表明,苯甲酸与其它 5 种酚酸相关性均不显著;阿魏酸与没食子酸、奎尼酸和莽草酸呈极显著负相关,与芥子酸呈显著正相关;没食子酸与奎尼酸呈极显著正相关,奎尼酸与莽草酸呈极显著正相关。研究结果可为菜用大豆品质改良提供依据。

关键词:菜用大豆;代谢物;相关性分析

中图分类号:S643. 7 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2018. 02. 0231

Correlation Analysis Between Metabolites in Vegetable Soybean Seeds

ZHANG Yu-mei, HU Run-fang, CHEN Yu-hua, LIN Guo-qiang

(Crop Science Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

Abstract: The edible quality of vegetable soybean is significantly associated with the amount and type of metabolite. In order to study the correlation between metabolites of vegetable soybean, correlation analysis of metabolite in new vegetable soybean variety of Mindou 6 was investigated with GC-MS technique. The results showed that a total of 102 metabolites were identified from vegetable soybean seeds, including 36 organic acids, 21 amino acids, 11 polyol, 9 sugars, 7 phosphoric acids, 5 amines, 4 fatty acids, 4 nucleotides, and 5 other kinds. Among these nine categories, amino acids were negatively correlated with organic acids, sugars and others, and positively correlated with polyol, phosphoric acid, amine, nucleotide and fatty acids at a 95% or 99% confidence level. The correlation between sucrose and glucose, fructose were significant or extremely significant positive. Among 21 amino acids, except negative correlation of methionine and cysteine, pyroglutamic acid and methionine, pyroglutamic acid and glutamic acid, correlation between the others were positive. The correlation between two sulfur-containing amino acids (methionine and cysteine) as well as pyroglutamic acid and the other 20 amino acid were weak. Among 6 phenolic acids, benzoic acid and others were not significantly correlated, ferulic acid and gallic acid, quinic acid and shikimic acid were extremely significant negative correlation, ferulic acid and sinapic acid showed significant positive correlation, gallic acid and quinic acid showed highly significant positive correlation, quinic acid and shikimic acid was extremely significant positive correlation. The results could provide basis for vegetable soybean quality improvement.

Keywords: Vegetable soybean; Metabolites; Correlation

菜用大豆俗称毛豆,是指荚籽粒饱满,荚色和籽粒都呈翠绿色时采青食用的大豆^[1-2],菜用大豆营养丰富、风味独特,市场供应期长、潜力大、经济效益好^[3-4]。福建和浙江等南部沿海地区是我国菜用大豆主要生产和消费地区^[5]。随着人们对绿色、有机食品的日益关注,菜用大豆新品种的选育,在对其外观品质选育的基础上,更注重其营养品质特别是食味品质的研究。菜用大豆采摘期籽粒中代谢物种类及其含量对食味品质影响较大。研究表明可溶性糖含量高的品种有较强的甜味,淀粉含量高的品种糯性较强,脂肪含量高的品种质地较软,

蛋白质中游离氨基酸含量较高的品种有较强的鲜味^[6]。目前研究较多的是糖类、淀粉、蛋白质、氨基酸等单种或几种物质对菜用大豆食味品质的影响^[6-7],鲜见报道菜用大豆籽粒中代谢物种类和含量对菜用大豆不同发育时期籽粒中代谢物相关性的系统研究。

代谢物作为基因表达的最终产物,其种类与数量的变化与植物的表型显著相关^[8]。代谢组学是对特定生理时期内某一生物或细胞所有低分子量代谢物进行定性、定量分析的一门学科。随着近年来气质联用(GC-MS)技术及对应数据库的逐步完

收稿日期:2017-11-29
基金项目:福建省科技重大专项(2015NZ0002-3);福建省属公益类科研院所基本科研专项(2016R1025-6);福建省农业科学院科技创新团队(STIT2017-2-6)资助。
第一作者简介:张玉梅(1980-),女,博士,助理研究员,主要从事大豆新品种选育及栽培技术研究。E-mail: zym1122@126.com。
通讯作者:林国强(1965-),男,研究员,主要从事大豆新品种选育及栽培技术研究。E-mail: lgq308@163.com。

善与发展,代谢组学成为继基因组、转录组、蛋白质组后又一热点领域^[9]。目前,代谢组学已广泛应用于大豆 (*Glycine max*)^[10]、茶 (*Camellia sinensis* L.)^[11]、苦荞麦 (*Fagopyrum tataricum*)^[12]、油菜 (*Brassica napus*)^[13-14]、以及水稻^[15]等作物对其发育、逆境胁迫等的研究。利用代谢组学对耐盐和盐敏感品种代谢谱分析表明异黄酮和皂苷类代谢物可作为区分耐盐和盐敏感基因型的依据,特别是染料木苷和 B 型皂苷等次生代谢物与耐盐性有密切的关系^[16]。

本研究对菜用大豆不同发育时期籽粒的代谢物进行相关性分析,研究结果将有助于从代谢水平剖析菜用大豆籽粒的代谢物,系统分析菜用大豆代谢物间的相关性,为改善菜用大豆的品质提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2014 年在福清国家级农作物品种区域试验站进行,供试材料为福建省农业科学院作物研究所自主选育的优质菜用大豆新品种闽豆 6 号。秋季种植,常规大田管理,分别于采摘期前后即开花后 49,55,61 和 67 d,选取不同植株同一部位大小相对一致的豆荚,置于液氮中快速冷冻,−80℃ 保存备用以进行测定。DAF67 时期籽粒仍保持绿色,但是其荚的颜色已经变黄。

1.2 方法

1.2.1 代谢物提取 采用 Lisec 等^[17]的植物 GC-MS 代谢物的提取方法。以核糖醇作为内标,为准确性,以色标正构烷烃标样 C₈-C₂₀, C₂₁-C₄₀ (Fluka Chemika, 瑞士) 作为保留指数。为避免系统误差,所有样品为一批做完随机进样,6 次重复。

1.2.2 GC/MS 检测程序 检测设备为 Agilent 7890A/5975C 气-质联用仪(安捷伦,美国)。

色谱条件:色谱柱 HP-5MS 毛细管柱(5% phenyl methyl silox; 30 m × 250 μm i. d., 0.25 μm; agilent J&W scientific, Folsom, CA);分流进样,进样量 1 μL,分流比 20:1。进样口温度 280℃;离子源温度 250℃;接口温度 150℃。程序升温起始温度 80℃,保持 5 min,以 20℃ · min^{−1} 升至 300℃,保持 6 min。总运行时间为 22 min,载气为氦气,载气流速 1 mL · min^{−1}。

MS 条件:电喷雾电离(ESI)源,全扫描方式,电子能量 70 eV;四极杆扫描范围 m/z 35 ~ 780。

1.3 数据分析

1.3.1 GC/MS 数据处理及代谢物注释 利用 GC-MS 预处理软件 XCMS (www. bioconductor. org/)^[18]

对 Agilent 7890A/5975C 气质联用仪检测获得的原始文件进行数据预处理。除 XCMS 默认的参数以外进行如下的调整^[19]: xcmsSet (fwhm = 3, snthresh = 0, mzdiff = 0.5, step = 0.1, steps = 2, max = 500, prefmeth = “binlin”), retcor (method = “obiwarp”), plotype = c(“deviation”), bandwidth (bw) 为 2, minfrac = 0.3。采用内标法(ribitol)对原始数据进行归一化处理。利用 National Institute of Standards and Technology (NIST)商业数据库和 The Golm Metabolome Database (GMD) ([http://gmd. mpimp-golm. mpg. de/](http://gmd.mpimp-golm.mpg.de/))^[20]数据库进行代谢物的注释。

1.3.2 相关性分析 利用 SPSS 18.0 的 Spearman 相关分析方法对代谢物和代谢物之间的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 代谢物注释

对获得的保留时间、质核比及峰强矩阵(共 315 个变量)进行代谢物注释,共获得 102 个可以被数据库注释的变量。利用公共代谢谱库共检测到 102 种代谢物,其中有机酸种类最多为 36 种,占 35%;其次为氨基酸 21 种,占 20%;多元醇 11 种,占 11%;糖类 9 种,占 9%;磷酸 7 种,占 7%;胺类 5 种,占 5%;脂肪酸和核苷酸各 4 种,各占 4%;以及其它物质 5 种,占 5%(图 1)。

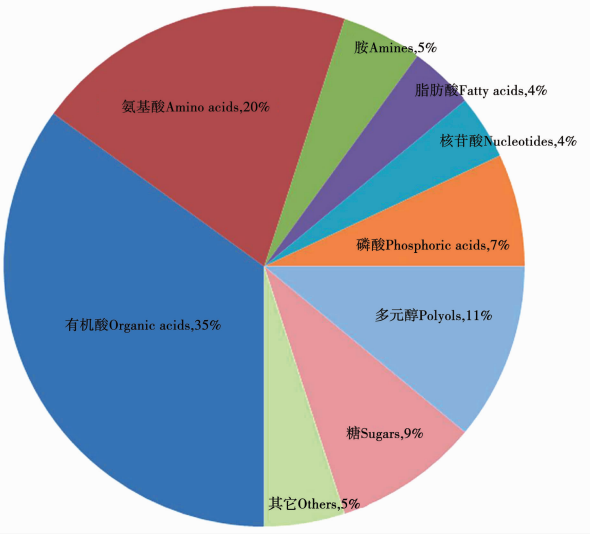


图 1 102 个鉴定到的代谢物分类图

Fig. 1 Category of one hundred and two metabolites identified from developing seeds

2.2 9 类代谢物之间的相关性分析

从 9 类代谢物两两相关性分析表 1 可以看出,除糖类代谢物外,氨基酸类代谢物与有机酸类和其它类代谢物呈显著负相关,相关系数依次为 −0.502* 和 −0.520*;与多元醇、脂肪酸、磷酸、胺

以及核苷酸均呈正相关,相关性达显著或极显著水平。有机酸类代谢物与其它(0.767**)呈极显著正相关,与有机酸(−0.502*)、磷酸(−0.475*)和核苷酸(−0.676**)类代谢物均呈显著或极显著负相关。糖类代谢物与核苷酸类代谢物呈极显著负相关(−0.530**),与其它类代谢物呈极显著正相关

(0.592**)。多元醇类代谢物与氨基酸(0.679**)、磷酸(0.748**)、胺(0.616**)和核苷酸(0.558**)类代谢物均呈极显著正相关,与其它(−0.474*)类代谢物呈显著负相关。脂肪酸类代谢物与氨基酸类代谢物(0.509*)呈显著正相关,与胺类代谢物(0.600**)呈极显著正相关。

表 1 9 类代谢物之间的相关性分析

代谢物 Metabolite	氨基酸 Amimo acid	有机酸 Organic acid	糖 Sugar	多元醇 Polyol	脂肪酸 Fatty acid	磷酸 Phosphoric acid	胺 Amine	核苷酸 Nucleotides	其它 Others
氨基酸 Amimo acid	1.000								
有机酸 Organic acid	−0.502 *	1.000							
糖 Sugar	−0.202	0.234	1.000						
多元醇 Polyol	0.679 **	−0.169	−0.304	1.000					
脂肪酸 Fatty acid	0.509 *	0.283	0.118	0.356	1.000				
磷酸 Phosphoric acid	0.637 **	−0.475 *	−0.271	0.748 **	0.186	1.000			
胺 Amine	0.870 **	−0.178	−0.029	0.616 **	0.600 **	0.496 *	1.000		
核苷酸 Nucleotides	0.607 **	−0.676 **	−0.530 **	0.558 **	0.038	0.686 **	0.358	1.000	
其他 Others	−0.520 *	0.767 **	0.592 **	−0.474 *	0.135	−0.545 **	−0.174	−0.851 **	1.000

** :1% 水平达显著相关; * :5% 水平达显著相关,下同。
** :There was significant difference at 0.01 level; * There was significant difference at 0.05 level, the same as below.

2.3 糖类代谢物之间的相关性分析

从糖类代谢物相关性分析(表 2)可以看出,1 − 甲基 −β − D 吡喃甘露糖苷与果糖正相关,与其它 7 种糖类均呈负相关,相关性均未达显著或极显著水平;除 1 − 甲基 −β − D 吡喃甘露糖苷外,纤维二糖与其它 8 种糖类均呈正相关,相关性不显著;果糖与其它 8 种糖类均呈正相关,且与蔗糖、葡萄糖和核糖的相关性达显著或极显著水平;葡萄糖与果糖、异

麦芽糖、蜜二糖、核糖和蔗糖均正相关,相关性达极显著水平;蔗糖与葡萄糖和果糖的相关性达显著或极显著水平,与 1 − 甲基 −β − D 吡喃甘露糖苷负相关,与纤维二糖、吡喃葡萄糖、异麦芽糖、蜜二糖、核糖正相关,相关性不显著;吡喃葡萄糖与其它 8 种糖的相关性均不显著;异麦芽糖与蜜二糖呈极显著正相关,核糖与葡萄糖和果糖极显著正相关。

表 2 糖类代谢物相关性分析

代谢物 Metabolite	1 − 甲基 −β − D 吡喃甘露糖苷 1-Methyl beta-D- mannopyranoside	纤维二糖 Cellobiose	果糖 Fructose	吡喃葡萄糖 Glucopyranose	葡萄糖 Glucose	异麦芽糖 Isomaltose	蜜二糖 Melibiose	核糖 Ribose	蔗糖 Sucrose
1 − 甲基 −β − D 吡喃甘露糖苷 1-Methyl beta-D-mannopyranoside	1.000								
纤维二糖 Cellobiose	−0.141	1.000							
果糖 Fructose	0.091	0.083	1.000						
吡喃葡萄糖 Glucopyranose	−0.291	0.382	0.130	1.000					
葡萄糖 Glucose	−0.195	0.255	0.905 **	0.219	1.000				
异麦芽糖 Isomaltose	−0.379	0.402	0.341	−0.126	0.584 **	1.000			
蜜二糖 Melibiose	−0.379	0.402	0.341	−0.126	0.584 **	1.000 **	1.000		
核糖 Ribose	−0.215	0.300	0.545 **	0.033	0.581 **	0.361	0.361	1.000	
蔗糖 Sucrose	−0.052	0.303	0.481 *	0.130	0.579 **	0.275	0.275	0.082	1.000

2.4 氨基酸类代谢物之间的相关性分析

从氨基酸类代谢物两两相关性分析表 3 可以看出,除蛋氨酸与半胱氨酸,焦谷氨酸与蛋氨酸和谷氨酸负相关,相关性不显著外,其它氨基酸均两两正相关。缬氨酸与其它 20 种氨基酸类代谢物的相

关性均达显著或及显著水平(0.443 ~ 0.987);除焦谷氨酸和半胱氨酸外,4 − 氨基丁酸与其它 18 个氨基酸均呈正相关,相关性达极显著水平;蛋氨酸、半胱氨酸和焦谷氨酸整体上与其它 20 种氨基酸呈正相关,但相关性较弱,也与个别氨基酸呈负相关。

表 3 氨基酸类代谢物相关性分析

Table 3 Correlation analysis of amino acid metabolites

代谢物 Metabolite	4-氨基 丁酸 4-Aminobutyric acid	丙氨酸 Alanine	天冬 酰胺 Asparagine	天冬 氨酸 Aspartic acid	氨基丙酸 β-Alanine	半胱 氨酸 Cysteine	谷氨酸 Glutamic acid	谷氨 酰胺 Glutamine	组氨酸 Histidine	高丝 氨酸 Homoserine	异亮 氨酸 Isoleucine	亮氨酸 Leucine	赖氨酸 Lysine	蛋氨酸 Methionine	苯丙 氨酸 Phenylalanine	脯氨酸 Proline	焦谷 氨酸 Pyroglutamic acid	丝氨酸 Serine	苏氨酸 Threonine	酪氨酸 Tyrosine	缬氨酸 Valine
4-氨基丁酸 4-Aminobutyric acid	1.000																				
丙氨酸 Alanine	0.853 **	1.000																			
天冬酰胺 Asparagine	0.742 **	0.871 **	1.000																		
天冬氨酸 Aspartic acid	0.824 **	0.820 **	0.863 **	1.000																	
氨基丙酸 beta-Alanine	0.912 **	0.866 **	0.772 *	0.783 **	1.000																
半胱氨酸 Cysteine	0.312	0.504 **	0.678 **	0.554 **	0.335	1.000															
谷氨酸 Glutamic acid	0.565 **	0.542 *	0.397	0.290	0.607 **	0.065	1.000														
谷氨酰胺 Glutamine	0.775 **	0.840 **	0.698 **	0.724 **	0.831 *	0.337	0.303	1.000													
组氨酸 Histidine	0.734 **	0.874 **	0.852 *	0.769 **	0.835 **	0.411	0.333	0.844 **	1.000												
高丝氨酸 Homoserine	0.705 **	0.904 **	0.962 **	0.836 **	0.775 *	0.688 **	0.426 *	0.711 **	0.884 **	1.000											
异亮氨酸 Isoleucine	0.870 **	0.958 **	0.823 **	0.806 **	0.915 **	0.420 *	0.577 **	0.862 **	0.870 **	0.862 **	1.000										
亮氨酸 Leucine	0.815 **	0.947 **	0.852 **	0.836 **	0.878 **	0.446 *	0.498 *	0.862 **	0.905 **	0.892 **	0.981 **	1.000									
赖氨酸 Lysine	0.904 **	0.954 **	0.831 **	0.826 **	0.940 **	0.410	0.581 **	0.905 **	0.876 **	0.849 **	0.969 **	0.953 **	1.000								
蛋氨酸 Methionine	0.710 **	0.600 **	0.400	0.469 *	0.651 **	-0.077	0.762 **	0.503 *	0.367	0.389	0.648 **	0.559 **	0.660 **	1.000							
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.811 **	0.875 **	0.699 **	0.640 **	0.843 **	0.244	0.782 **	0.720 **	0.756 **	0.747 **	0.916 **	0.874 **	0.884 **	0.762 **	1.000						
脯氨酸 Proline	0.804 **	0.955 **	0.850 **	0.817 **	0.868 **	0.458 *	0.537 **	0.833 **	0.890 **	0.896 **	0.984 **	0.995 **	0.946 **	0.578 **	0.891 **	1.000					
焦谷氨酸 Pyroglutamic acid	0.116	0.359	0.670 **	0.397	0.213	0.784 **	-0.035	0.174	0.483 *	0.653 **	0.298	0.358	0.249	-0.252	0.194	0.372	1.000				
丝氨酸 Serine	0.846 **	0.985 **	0.822 **	0.796 **	0.879 **	0.412	0.569 **	0.864 **	0.888 **	0.873 **	0.969 **	0.965 **	0.964 **	0.614 **	0.898 **	0.968 **	0.274	1.000			
苏氨酸 Threonine	0.798 **	0.969 **	0.840 **	0.790 **	0.859 **	0.483 *	0.523 *	0.821 **	0.906 **	0.908 **	0.952 **	0.959 **	0.934 **	0.503 *	0.877 **	0.964 **	0.379	0.980 **	1.000		
酪氨酸 Tyrosine	0.720 **	0.875 **	0.711 *	0.625 **	0.846 *	0.309	0.520 *	0.837 **	0.900 **	0.797 **	0.919 **	0.910 **	0.878 **	0.511 *	0.883 **	0.912 **	0.319	0.913 **	0.922 **	1.000	
缬氨酸 Valine	0.799 **	0.951 **	0.873 **	0.828 **	0.859 **	0.536 **	0.542 **	0.806 **	0.872 **	0.915 **	0.970 **	0.978 **	0.935 **	0.546 **	0.887 **	0.987 **	0.443 *	0.951 **	0.961 **	0.891 **	1.000

2.5 有机酸类代谢物之间的相关性分析

2.5.1 酚酸与其它有机酸类代谢物相关性分析

本试验中通过 GC-MS 共检测到 36 种有机酸,其中阿魏酸、没食子酸、奎尼酸、莽草酸、芥子酸和苯甲酸等 6 种酚酸类代谢物,占有机酸类代谢物种类的 1/6。酚酸类物质与其它有机酸的相关性分析如表 4 所示,阿魏酸与 3-脱氧阿拉伯糖基粘酸、4-羟基-3-甲氧基苯甲酸、乌头酸、柠檬酸、葡萄糖二酸、葡萄糖酸、核糖酸、芥子酸呈显著或极显著正相关,与酒石酸、延胡索酸、没食子酸、乙醇酸、苹果酸、丙二酸、草酸、奎尼酸、莽草酸、环庚基甘氨酸、琥珀酸、季酮酸和苏糖酸呈显著或极显著负相关;没食子酸与酮戊二酰单酰胺、乙醇酸、苹果酸、草酸、奎尼酸、环庚基甘氨酸、琥珀酸和季酮酸呈显著或极显著正相关;与 3-脱氧阿拉伯糖基粘酸、4-羟基-3-甲氧基苯甲酸、乌头酸、阿魏酸、葡萄糖二酸、

葡萄糖酸、烟酸和核糖酸呈显著或极显著负相关;奎尼酸与酒石酸、没食子酸、乙醇酸、苹果酸、丙二酸、莽草酸、环庚基甘氨酸、琥珀酸和季酮酸呈显著或极显著正相关,与 3-脱氧阿拉伯糖基粘酸、4-羟基-3-甲氧基苯甲酸、阿魏酸和甲基柠檬酸呈显著或极显著负相关;莽草酸与酒石酸、 γ -羟基丁酸、延胡索酸、苹果酸、丙二酸、丙酮酸、奎尼酸、环庚基甘氨酸、琥珀酸、季酮酸和苏糖酸呈显著或极显著正相关,与 2-甲基琥珀酸、3-脱氧阿拉伯糖基粘酸、4-羟基-3-甲氧基苯甲酸、乌头酸、柠檬酸、阿魏酸、葡萄糖二酸、衣康酸和烟酸呈显著或极显著负相关;芥子酸与阿魏酸、甲基柠檬酸、核糖酸呈显著或极显著正相关,与乙醇酸成显著负相关;苯甲酸除与 γ -羟基丁酸极显著正相关、与乙醇酸、乳酸、顺丁烯二酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸显著正相关外,与其它 28 种有机酸相关性均不显著。

表 4 酚酸与其它有机酸类代谢物相关性分析

Table 4 Correlation analysis of phenolic acids metabolites and organic acids metabolites

代谢物 Metabolite	阿魏酸 Ferulic acid	没食子酸 Gallic acid	奎尼酸 Quinic acid	莽草酸 Shikimic acid	芥子酸 Sinapinic acid	苯甲酸 Benzoic acid
酒石酸 2,3-Dihydroxybutanedioic acid	-0.655 **	0.322	0.422 *	0.925 **	0.069	0.294
2-氨基己二酸 2-Aminoadipic acid	-0.090	0.184	-0.239	0.010	-0.187	0.337
2-羟基戊二酸 2-Hydroxyglutaric acid	0.181	-0.145	-0.303	0.144	0.107	0.392
酮戊二酸单酰胺 2-Ketogluconic acid	-0.296	0.526 **	0.374	-0.009	0.013	-0.001
2-甲基琥珀酸 2-Methyl-Butanedioic acid	0.194	0.361	-0.049	-0.420 *	-0.085	0.411
3-脱氧阿拉伯糖基粘酸 3-Deoxy-Arabino-Hexaric acid	0.934 **	-0.725 **	-0.463 *	-0.642 **	0.369	-0.206
4-羟基-3-甲氧基苯甲酸 4-Hydroxy-3-Methoxybenzoic acid	0.961 **	-0.496 *	-0.447 *	-0.667 **	0.367	0.079
γ -羟基丁酸 4-Hydroxy-Butyric acid	-0.274	0.227	0.307	0.548 **	-0.122	0.572 **
乌头酸 Aconitic acid	0.897 **	-0.644 **	-0.389	-0.685 **	0.350	-0.255
苯甲酸 Benzoic acid	-0.060	0.410	0.283	0.186	-0.182	1.000
柠檬酸 Citric acid	0.757 **	-0.219	-0.395	-0.906 **	0.065	-0.016
阿魏酸 Ferulic acid	1.000	-0.659 **	-0.524 **	-0.649 **	0.430 *	-0.060
反丁烯二酸 Fumaric acid	-0.655 **	0.323	0.428 *	0.855 **	-0.128	0.398
半乳糖酸 Galactonic acid	0.328	-0.231	0.074	-0.280	0.190	-0.360
没食子酸 Gallic acid	-0.659 **	1.000	0.521 **	0.249	-0.278	0.410
葡萄糖二酸 Glucaric acid	0.879 **	-0.645 **	-0.329	-0.568 **	0.298	-0.161
葡萄糖酸 Gluconic acid	0.629 **	-0.605 **	-0.014	-0.184	-0.091	0.126
甘油酸 Glyceric acid	-0.066	-0.034	0.315	0.400	-0.350	0.401
乙醇酸 Glycolic acid	-0.544 **	0.606 **	0.580 **	0.399	-0.466 *	0.489 *

续表 4

代谢物 Metabolite	阿魏酸 Ferulic acid	没食子酸 Gallic acid	奎尼酸 Quinic acid	莽草酸 Shikimic acid	芥子酸 Sinapinic acid	苯甲酸 Benzoic acid
衣康酸 Itaconic acid	0.302	-0.125	-0.246	-0.448 *	0.137	-0.059
乳酸 Lactic acid	-0.108	0.102	0.320	0.403	-0.165	0.429 *
顺丁烯二酸 Maleic acid	-0.105	0.329	0.061	0.027	-0.107	0.255
苹果酸 Malic acid	-0.657 **	0.494 *	0.434 *	0.836 **	-0.078	0.468 *
丙二酸 Malonic acid	-0.578 **	0.375	0.462 *	0.833 **	0.017	0.452 *
甲基柠檬酸 Methylcitric acid	0.446 *	-0.372	-0.499 *	-0.017	0.624 **	-0.096
烟酸 Nicotinic acid	0.678 **	-0.483 *	-0.108	-0.482 *	0.017	-0.014
草酸 Oxalic acid	-0.552 **	0.695 **	0.261	0.128	-0.123	-0.076
丙酮酸 Pyruvic acid	-0.307	0.206	0.271	0.632 **	0.312	0.392
奎尼酸 Quinic acid	-0.524 **	0.521 **	1.000	0.543 **	-0.229	0.283
核糖酸 Ribonic acid	0.830 **	-0.645 **	-0.313	-0.327	0.654 **	-0.186
莽草酸 Shikimic acid	-0.649 **	0.249	0.543 **	1.000	0.010	0.186
芥子酸 Sinapinic acid	0.430 *	-0.278	-0.229	0.010	1.000	-0.182
环庚基甘氨酸 Suberyl glycine	-0.849 **	0.577 **	0.422 *	0.719 **	-0.245	0.142
琥珀酸 Succinic acid	-0.684 **	0.672 **	0.633 **	0.733 **	0.026	0.489 *
季酮酸 Tetronic acid	-0.782 **	0.471 *	0.501 *	0.883 **	-0.117	0.236
苏糖酸 Threonic acid	-0.484 *	0.162	0.348	0.759 **	0.076	0.211

2.5.2 酚酸类代谢物相关性分析

阿魏酸、没食子酸等 6 种酚酸的相关性分析表明,苯甲酸与其它 5 种酚酸相关性均不显著;阿魏酸与没食子酸、奎尼酸和莽草酸呈极显著负相关,与芥子酸呈显著正相关;没食子酸与奎尼酸呈极显著正相关;奎尼酸与莽草酸呈极显著正相关(表 5)。

表 5 酚酸类代谢物相关性分析

Table 5 Correlation analysis of phenolic acids metabolites

代谢物 Metabolite	阿魏酸 Ferulic acid	没食子酸 Gallic acid	奎尼酸 Quinic acid	莽草酸 Shikimic acid	芥子酸 Sinapinic acid	苯甲酸 Benzoic acid
阿魏酸 Ferulic acid	1.000					
没食子酸 Gallic acid	-0.659 **	1.000				
奎尼酸 Quinic acid	-0.524 **	0.521 **	1.000			
莽草酸 Shikimic acid	-0.649 **	0.249	0.543 **	1.000		
芥子酸 Sinapinic acid	0.430 *	-0.278	-0.229	0.010	1.000	
苯甲酸 Benzoic acid	-0.060	0.410	0.283	0.186	-0.182	1.000

3 结论与讨论

对菜用大豆闽豆 6 号采摘期前后不同时间点籽粒进行 GC-MS 检测,共鉴定到 9 类 102 种代谢物,其中有机酸种类最多为 36 种,其次为氨基酸 21 种,多元醇 11 种,糖类 9 种,磷酸 7 种,胺类 5 种,脂肪酸和核苷酸各 4 种,以及其它物质 5 种。对这 9 类代谢物间的相关性分析表明氨基酸类代谢物与有机酸呈显著负相关(-0.502 *),与糖呈负相关且相关

性不显著(-0.202),核苷酸与有机酸(-0.676 **)和糖(-0.530 **)呈极显著负相关,糖与多元醇呈负相关,相关性不显著,这些可能与植物体内两大代谢(碳氮代谢)相互促进相互制约有关,如何协调两者的关系也是提高作物品质和产量的重要因素^[21]。周卫霞等^[22]研究表明玉米籽粒建成对弱光胁迫的响应存在明显的基因型差异,但淀粉合成能力和碳氮比的下降可能是弱光胁迫条件下籽粒发育不良,以致最终造成败育的主要原因。与粒用大

豆相比,菜用大豆籽粒更大,口感更好,因此菜用大豆在其由营养生长进入生殖生长过程中往往需要追肥和较强的光照满足籽粒生长的需要。

糖类代谢物对菜用大豆食味品质的贡献主要在于甜味。研究表明蔗糖、葡萄糖和果糖也是菜用大豆最主要的可溶性糖,其中蔗糖的含量最高,鲜食期蔗糖对菜用大豆甜味的贡献率达 71%^[23]。9 种糖类代谢物相关分析表明蔗糖与葡萄糖和果糖的相关性达显著或极显著水平,葡萄糖和果糖的相关性(0.905**)达到极显著水平。多数糖类代谢物之间的相关性不显著,可能与其它糖类代谢物含量较低有关,这也从另一方面说明葡萄糖、果糖和蔗糖是菜用大豆籽粒中的最重要的糖类物质。

氨基酸是重要的呈味物质,Komata^[24]根据其呈味特征将氨基酸分为 4 组,即鲜味、甜味、苦味和无味。谷氨酸与天门冬氨酸呈现很强的鲜味,丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸则表现出纯厚的甜味,这与菜用大豆籽粒中含有丰富的游离氨基酸,尤其是谷氨酸和丙氨酸含量较高相一致。Masuda^[25]研究也证实菜用大豆中淀粉、蔗糖、果糖、谷氨酸和丙氨酸含量较高,因而具有较好的风味。多数食用菌味道鲜美,与其含有的鲜味和甜味氨基酸含量较高有关。21 种氨基酸的相关分析表明蛋氨酸、半胱氨酸和焦谷氨酸与其它 20 种氨基酸的相关性较弱;除蛋氨酸与半胱氨酸,焦谷氨酸与蛋氨酸和谷氨酸负相关,相关性不显著外,其它氨基酸均两两正相关。

有机酸对果蔬风味的影响已有报道^[26-29],但有机酸对大豆风味的影响未见报道。有机酸中酚酸类物质是植物体内的次级代谢物,是一种重要的多酚类物质,约占植物总酚含量的 1/3^[30],该类物质主要是通过莽草酸途径生成^[31],植物性食物中酚类物质含量十分丰富,广泛存在于蔬菜、水果、茶、酒中。酚酸类物质由于具有抗氧化、抗肿瘤以及抗病毒等生理活性而受到重视。本试验对检测到 6 种酚酸与其它有机酸的相关性进行分析,并对这 6 种酚酸之间的相关性进行分析,以期利用其为菜用大豆品质进行改良。

致谢:感谢苏州帕诺米克生物科技有限公司提供 GC-MS 服务。

参考文献

[1] Mimura M, Coyne C J, Bambuck M W, et al. SSR diversity of vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2007, 54: 497-508.

[2] Czaikoski K, Leite R S, Mandarino J M G, et al. Canning of vegetable-type soybean in acidified brine: Effect of the addition of su-

crose and pasteurisation time on color and other characteristics [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 45: 472-476.

[3] 徐有,王凤敏,默郡景,等. 我国菜用大豆的研究现状与发展趋势[J]. 河北农业科学,2012,16(4):42-45. (Xu Y, Wang F M, Mo S Y, et al. Research status and development tendency of vegetable soybean in China [J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2012,16(4):42-45.)

[4] 张彩英,常文锁,李喜焕,等. 种植密度和施肥对菜用大豆产量性状的效应研究[J]. 中国农学通报, 2005,21(7):190-192. (Zhang C Y, Chang W S, Li X H, et al. Effect of plant density and phosphorus application rate in yield of vegetable soybean [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005,21(7):190-192.)

[5] 张玉梅,胡润芳,林国强. 菜用大豆品质性状研究进展[J]. 大豆科学, 2013, 32(5):239-243. (Zhang Y M, Hu R F, Lin G Q. Research advance on quality traits of vegetable soybean [J]. Soybean Science, 2013, 32(5):698-702.)

[6] 张玉梅,赵晋铭,王明军,等. 南方菜用大豆资源营养品质性状的遗传变异[J]. 大豆科学, 2006, 25(3): 239-243. (Zhang Y M, Zhao J M, Wang M J, et al. Genetic variance of nutritional quality of vegetable soybean germplasm of *Glycine max* Merr. in southern China [J]. Soybean Science, 2006, 25(3): 239-243.)

[7] 王丹英,汪自强. 菜用大豆食味品质及其与内含物关系研究[J]. 金华职业技术学院学报, 2002, 2(3): 15-17. (Wang D Y, Wang Z Q. Studies on the relationship between vegetable soybean eating quality and its components [J]. Journal of Jinhua Polytechnic, 2002, 2(3): 15-17.)

[8] Fiehn O. Metabolomics-The link between genotypes and phenotypes [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 48:155-171.

[9] Hall R D. Plant metabolomics: From holistic hope, to hype, to hot topic [J]. New Phytologist, 2006, 169(3):453-468.

[10] Chebrolu K K, Fritschi F B, Ye S, et al. Impact of heat stress during seed development on soybean seed metabolome [J]. Metabolomics, 2016, 12(2):1-14.

[11] Shen J, Wang Y, Chen C, et al. Metabolite profiling of tea (*Camellia sinensis* L.) leaves in winter [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 192:1-9.

[12] Peng L X, Zou L, Su Y M, et al. Effects of light on growth, levels of anthocyanin, concentration of metabolites in *Fagopyrum tataricum* sprout cultures [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2015, 50(6):1382-1389.

[13] Tan H, Xie Q, Xiang X, et al. Dynamic metabolic profiles and tissue-specific source effects on the metabolome of developing seeds of *Brassica napus* [J]. Plos One, 2015, 10(4): e0124794.

[14] Kortensniemi M, Vuorinen A L, Sinkkonen J, et al. NMR metabolomics of ripened and developing oilseed rape (*Brassica napus*) and turnip rape (*Brassica rapa*) [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 63-70.

[15] 赵秀琴,张婷,王文生,等. 水稻低温胁迫不同时间的代谢物谱图分析[J]. 作物学报, 2013, 39(4):720-726. (Zhao X Q, Zhang T, Wang W S, et al. Time-course metabolic profiling in rice under low temperature treatment [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4):720-726.)

[16] Wu W, Zhang Q, Zhu Y, et al. Comparative metabolic profiling reveals secondary metabolites correlated with soybean salt tolerance

[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2008, 56(23): 11132-11138.

[17] Lisec J, Schauer N, Kopka J, et al. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants [J]. Nature Protocols, 2006,1: 387-396.

[18] Smith C A, Want E J, Grace O M, et al. XCMS: Processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification [J]. Analytical Chemistry, 2006, 78:779-787.

[19] Vanholme R, Storme V, Vanholme B, et al. A systems biology view of responses to lignin biosynthesis perturbations in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2012, 24: 3506-3529.

[20] Kopka J, Schauer N S, Birkemeyer C, et al. GMD@ CSB. DB: The golm metabolome database [J]. Bioinformatics, 2005, 21: 1635-1638.

[21] Chikov V, Bakirova G. Relationship between carbon and nitrogen metabolisms in photosynthesis [J]. Photosynthetica, 2001, 37 (4): 519-527.

[22] 周卫霞,董朋飞,王秀萍,等. 弱光胁迫对不同基因型玉米籽粒发育和碳氮代谢的影响 [J]. 作物学报, 2013, 39(10): 1826-1834. (Zhou W X, Dong P F, Wang X P, et al. Effects of low-light stress on kernel setting and metabolism of carbon and nitrogen in different maize (*Zea mays* L.) genotypes [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(10):1826-1834.)

[23] 张秋英,李彦生,刘长锴,等. 菜用大豆食用品质关键组分及其积累动态研究[J]. 作物学报, 2015, 41(11):1692-1700. (Zhang Q Y, Li Y S, Liu C K, et al. Key components of eating quality and their dynamic accumulation in vegetable soybean varieties [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(11): 1692-1700.)

[24] Komata. The taste and constituents of foods [J]. Nippon Sho-kuhin Kogyo Gakkaishi, 1969, 3:26.

[25] Masuda R. Qualityrequirement and improvement of vegetable soybean[M]//Shanmugasundaram S. The workshop vegetable soybean research needs for production and quality improvement. Taiwan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1991: 92-102.

[26] Wen Y Q, Cui J, Zhang Y, et al. Comparison of organic acid levels and L-IldnDH expression in Chinese-type and European-type grapes[J]. Euphytica, 2014, 196(1):63-76.

[27] Liu R L, Wang Y Y, Qin G Z, et al. Molecular basis of 1-methylcyclopropane regulating organic acid metabolism in apple fruit during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 117: 57-63.

[28] López-Bucio J, Nieto-Jacobo M F, Ramírez-Rodríguez V, et al. Organic acid metabolism in plants: From adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils[J]. Plant Science, 2001, 160(1):1-13.

[29] Mattila P, Hellstrom J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20: 152-160.

[30] 于东,方忠祥,杨海花,等. 紫山药酚酸类化合物鉴定及含量测定[J]. 中国农业科学, 2010, 43(12):2527-2532. (Yu D, Fang Z X, Yang H H, et al. Identification and determination of phenolic acids in purple yam [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(12):2527-2532.)

[31] Kita T, Imai S, Sawada H, et al. The biosynthetic pathway of curcuminoid in turmeric (*Curcuma longa*) as revealed by ¹³C-labeled precursors [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2008, 72(7): 1789-1798.