



东北大豆种质不同多胺组分含量分析

郑宇宏, 马铃铃, 邱红梅, 范旭红, 张云峰, 孟凡凡, 孙星邈, 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, 吉林 长春 130033)

摘要:为分析东北大豆种质资源的多胺含量及不同多胺组分之间的相关性,采用《国家标准 – 食品中生物胺含量的测定方法》(GB 5009. 208-2008),对不同熟期的包括栽培、野生和半野生类型的78份东北大豆种质的4种多胺成分亚精胺、精胺、腐胺和尸胺组分含量进行测定,通过遗传多样性、相关性、因子与聚类分析,对大豆种质多胺组分含量进行表型鉴定及分析。结果表明:78份大豆种质的4种多胺组分含量存在较丰富的遗传变异,腐胺、亚精胺与精胺组分的离散程度较高,特异含量种质较多。栽培类型中腐胺、尸胺、亚精胺、精胺含量的遗传多样性指数分别为1.09、1.09、1.32和1.74,表明调控亚精胺和精胺各组分的基因型和遗传变异较丰富。亚精胺含量为 $0.10 \sim 1.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,均值为 $0.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,变异系数18.45%,表明大豆品种间亚精胺含量存在较大差异。除野生类型与半野生类型大豆尸胺含量差异显著($P < 0.05$)外,各种类型大豆种质中多胺组分含量相对较一致,类型间无显著差异($P > 0.05$)。亚精胺组分含量与精胺组分含量呈极显著正相关,腐胺组分含量与多胺总含量呈极显著正相关,亚精胺和精胺两种成分之间遗传关系比较紧密。主成分分析发现,多胺组分中具有代表性的因子为腐胺、亚精胺和精胺。聚类分析结果将66份栽培类型种质分为3类,类群2、3包含种质数量较少,其中大部分种质生育期为早熟类型。

关键词:大豆; 种质; 亚精胺; 多胺; 表型鉴定; 聚类分析

Preliminary Analysis of Polyamine Composition Content in Soybean Germplasm of the Northeast China

ZHENG Yu-hong, MA Ling-ling, QIU Hong-mei, FAN Xu-hong, ZHANG Yun-feng, MENG Fan-fan, SUN Xing-miao, WANG Shu-ming

(Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences /National Engineering Research Center for Soybean, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to analyze the polyamine content of soybean germplasm resources in the Northeast China and the correlation between different polyamine components, this study adopted the National Standard-Determination of Biogenic Amine Content in Food (GB 5009. 208-2008) to determine four polyamine components of 78 soybean germplasms in different maturity stages, including cultivated, wild and semi-wild types. The contents of amines, spermine, putrescine and cadaverine were determined. Phenotypic identification and preliminary analysis of polyamines in soybean germplasm were carried out by genetic diversity, correlation, factor and cluster analysis. The results showed that there were abundant genetic variations in the contents of four polyamines in 78 soybean germplasms. The dispersions of putrescine, spermidine and spermine components were higher, and there were more specific contents in 78 soybean germplasms. The genetic diversity indices of putrescine, cadaveric amine, spermidine and spermine contents in cultivation types were 1.09, 1.09, 1.32 and 1.74, respectively, indicating that there were abundant genotypes and genetic variations regulating spermidine and spermine components. Spermidine content ranged from 0.1 to $1.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, with a mean value of $0.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and a coefficient of variation of 18.45%. This indicated that there were significant differences in spermidine content among soybean varieties. The content of polyamines in all types of soybean germplasms was relatively the same, but there was no significant difference between the wild and semi-wild soybean germplasms except that the content of cadaverine in wild and semi-wild soybean germplasms was significantly different ($P < 0.05$). The content of spermidine was positively correlated with that of spermine, the content of putrescine was positively correlated with that of polyamines, and the genetic relationship between spermidine and spermine was close. Principal component analysis showed that putrescine, spermidine and spermine were the representative factors in polyamines. Cluster analysis showed that 66 cultivar germplasms were divided into three groups. Group 2 and 3 contained fewer germplasms, and most of them were early maturity type.

Keywords: Soybean; Germplasm; Spermidine; Polyamines; Phenotypic identification; Cluster analysis

大豆起源于中国,有三千多年的种植历史^[1],是重要的油料、食用和饲料作物。大豆含有较高含量的蛋白质和油份,是人类和动物植物蛋白质和油份的主要来源,因而应用于食品加工中的比例非常高。除油份和蛋白质以外,大豆还含有如异黄酮、核酸、低聚糖、氨基酸、膳食纤维、磷脂、多胺及多种

维生素等多种具有保健功效的成分^[2]。已有研究证明,大豆中的这些特殊成分可以起到增加免疫力、防止血管硬化、延缓衰老、降血脂、降血压、补充骨骼钙质、抗癌等功效。近年来,随着大豆及大豆制品食用功能和保健功能的宣传普及,大豆的营养健康功效已得到了广泛的认可。

收稿日期:2019-07-24

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(CARS-04-PS11)。

第一作者简介:郑宇宏(1982-),女,硕士,助理研究员,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:zhengyuhong520@163.com。

通讯作者:王曙明(1963-),男,博士,研究员,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:shumingw@263.net。

多胺(polyamine, PA)是一类相对分子量较低、具有生物活性的含氮有机碱,主要包括腐胺、亚精胺、精胺和尸胺4种^[3],对植物的生长和分化起着非常重要的作用,同时对植物细胞的形态形成、分裂和衰老等过程也发挥了一定的调节作用^[4]。研究发现大豆种子中富含亚精胺,且含量水平较一般谷类、蔬菜、块根农作物、水果和畜产品高,这可能与大豆中蛋白含量特别是多胺生物合成的重要前体精氨酸含量较高相关^[5]。

亚精胺(spermidine)是一类带正电的烷基胺类聚合阳离子,极易与带负电的分子结合发生反应,因此参与DNA的稳定性、细胞生长、增殖和死亡等重要的生命过程^[6-7]。目前已证实其能显著延长酵母、果蝇、线虫以及人外周血单个核细胞寿命及生存率,它主要通过诱导自噬途径发挥抗衰老作用^[8]。亚精胺之所以发挥延寿抗衰老的作用,主要依靠其能够激活细胞自噬过程,从而实现细胞内各组分的降解和循环利用^[9]。2016年,日本科学家大隅良典因发现细胞自噬机制而获得诺贝尔生理学或医学奖。随着年龄的增长,细胞内多胺的水平会下降,近期有研究结果表明在衰老过程中维持亚精胺水平或许能促进长寿,由此可见亚精胺在抗衰老和衰老相关疾病方面具有潜在用途^[10-11]。亚精胺作为一种无毒的自然物质,常见于各种食品中,包括成熟奶酪、豆类和全谷类。

越来越多的研究表明,富含亚精胺及其他多胺的大豆食品与异黄酮等物质一样对于健康和抗衰老具有重要意义^[12]。有研究表明,与其它植物或动物加工食品相比,大豆食品中含有的亚精胺浓度更高,说明大豆中亚精胺成分对大豆食品保健功能起着重要作用。但目前为止,其在大豆种子中含量的相关研究十分匮乏,国外有少量研究^[13],国内对大豆品种进行亚精胺含量分析的相关研究尚未见报道。本试验以东北大豆为试材,研究不同大豆品种亚精胺和其它多胺含量的遗传变异,探求各组分之间的关系,旨在初步分析不同大豆种质间多胺组分含量及其相关性,为优异种质创制和品质育种提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 78份大豆资源,由吉林省农业科学院大豆研究所种质资源研究室提供,包括栽培大豆种质66份,野生大豆种质6份,半野生大豆种质6份。其中栽培大豆材料早熟组19份,中熟组16份,中晚熟组31份。

1.1.2 仪器设备 Agilent 1260高效液相色谱仪(包括VWD可变波长紫外检测器,四元泵,1260Infinity柱温箱,标准自动进样器G1329B);宁

波新芝型数控超声波清洗器;Precisa XB 220A型电子天平(0.1 mg);精宏DZF-6030型真空干燥箱;福玛HHW-21CU-600A型电热恒温水浴锅;E-S-COT1000R离心机。

1.1.3 试剂 甲醇、丙酮、乙醚、正己烷为色谱纯,购买于西格玛公司;正丁醇、三氯甲烷、谷氨酸钠、碳酸氢钠、氯化钠、氢氧化钠、盐酸、三氯乙酸等为分析纯,购买于天津光复;亚精胺标准品(纯度≥98%)购于上海源叶生物。

1.2 试验设计

试验于2016年在吉林省农业科学院范家屯试验基地进行。地理位置43°72'N,125°09'E,海拔210 m,全年≥10℃的有效积温为3 078.5℃,平均日照2 743 h,无霜期140 d左右,平均降水量594.8 mm。试验地地势平坦,中等肥力。试验采用随机区组设计,4行区,3次重复,行长4.5 m,行距0.65 m,株距0.1 m,常规田间管理。秋季种子成熟收获后,测定多胺组分,3次重复。

1.3 方法

多胺含量测定以《国家标准—食品中生物胺含量的测定方法》(GB 5009.208-2008)^[14]为依据,将粉碎后的大豆样品0.5 g,加入1 mL 5%三氯乙酸溶液和0.1 mL(100 mg·L⁻¹)内标使用液,振荡后取上清液,然后用5%三氯乙酸稀释至刻度,滤纸过滤,后经净化、萃取、生物胺的衍生过程。净化时取上述试样提取液10 mL,置25 mL具塞试管中,加入10 mL正己烷,涡旋振荡5 min,弃去上层有机相,重复进行2次。萃取过程如下:将去除脂肪后溶液加入适量氯化钠使其饱和,取5.0 mL,置于15 mL离心管中,用0.1 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液调节pH12,加入5.0 mL正丁醇-三氯甲烷混合溶液,涡旋振荡5 min,3 600 r·min⁻¹离心10 min,吸取上层有机相,再重复萃取两次,合并萃取液。取3.0 mL萃取液并加入0.2 mL 1 mol·L⁻¹盐酸,混合后40℃氮气吹干,加入1 mL 0.1 mol·L⁻¹盐酸使残留物溶解,待衍生。衍生方法:取上述带衍生试样溶液0.50 mL置10 mL具塞试管中,加入1.5 mL饱和碳酸氢钠溶液、1.0 mL丹磺酰氯衍生溶液,震荡混匀。置60℃培养箱中反应30 min,中间震荡两次,取出,分别加入100 μL谷氨酸钠溶液,振荡混匀,60℃保温15 min。取出,每个试管中加入1.0 mL超纯水,在40℃下用氮气去除丙酮。加入3.0 mL乙醚,振荡2 min,静置分层,取上层有机相,重复萃取两次,合并萃取液,氮气吹干,加入1.0 mL甲醇使残留物溶解,振荡混匀,0.22 μm滤器过滤,待测。将处理所得的溶液通过0.22 μm注射器进行过滤后进行色谱分析。色谱条件:ZORBAX SB-C18(250 mm×4.6 mm,5 μm)紫外波长254 nm,进样量20 μL,柱温30℃,

流速 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。本研究同时分析 4 种多胺含量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。通过一次进样可同时测定 4 种多胺组分含量, 样品分析时间为 35 min, 利用国标中多胺含量计算公式 $\rho = mI \times f/m$, ρ 表示试样中多胺的含量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), mI 表示试样中各多胺色谱峰与内标色谱峰的峰面积比值对应的多胺质量 (μg), f 表示试样稀释倍数, m 表示取样量 (g)。

1.4 数据分析

用 Excel 2010 软件分析处理栽培大豆腐胺、亚精胺、精胺和尸胺的多样性指数。由于供试材料中野生资源为 6 份, 半野生资源为 3 份, 样本容量过少, 因此未进行多样性指数分析。参照胡建斌等^[15]方法, 将数量性状根据平均值 (X) 和标准差 (δ) 进行分级, 共分为 10 级, 1 级 $< X - 2\delta$, 10 级 $\geq X + 2\delta$, 每级相差 0.5δ 。性状遗传多样性用 Shannon's 的信息指数 (H') 进行评价, 公式为 $H' = - \sum P_i \ln P_i$, 其中 P_i 表示第 i 种变异出现频率, 一组或所有种质的遗传多样性程度用各性状 H' 的平均值表示。

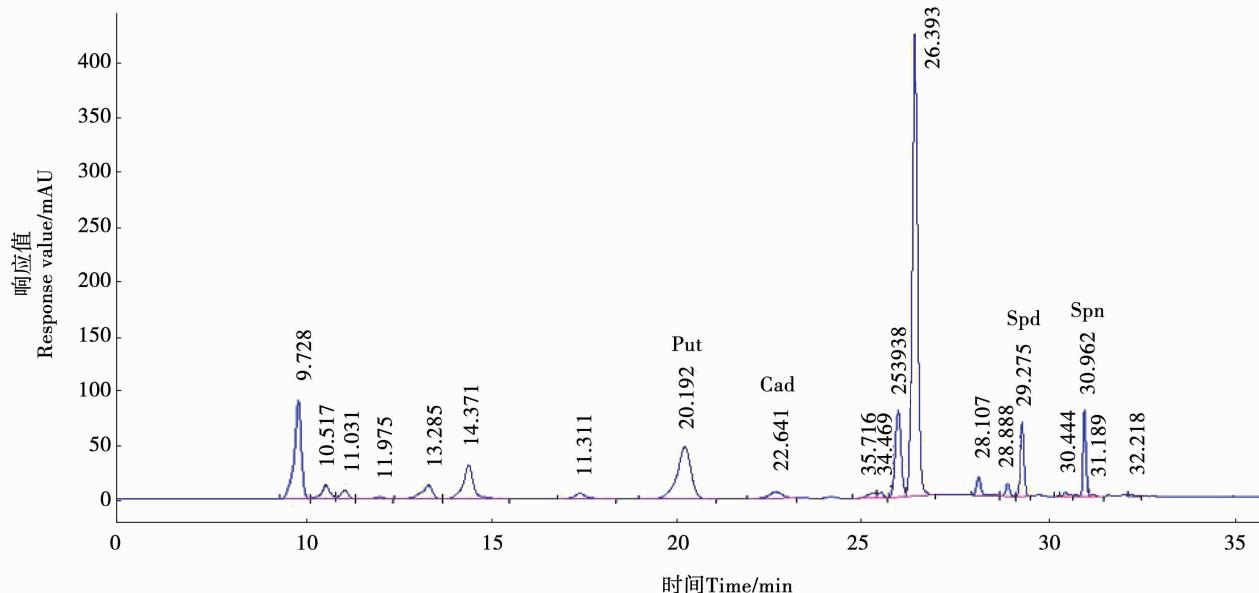
利用 DPS v 7.05 软件分析 4 种多胺组分含量均值、标准差及变异系数; 并进行数据标准化转换的欧氏距离法^[16]进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 不同大豆种质的 4 种多胺组分含量表现及多样性分析

如图 1 所示, 供试大豆样品的色谱图均清晰呈

现多胺成分的 4 个峰, 其中腐胺、尸胺、亚精胺、精胺峰值的保留时间分别为 20.192, 22.647, 29.275 和 30.962 min。78 份大豆种质的 4 种多胺组分含量存在较丰富的遗传变异(表 1)。栽培类型中, 腐胺、尸胺、亚精胺和精胺平均含量分别为 4.66, 0.23, 0.53 和 $1.21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。野生类型中, 腐胺、尸胺、亚精胺和精胺平均含量分别为 $2.67, 0.26, 0.42$ 和 $1.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。半野生类型中, 腐胺、尸胺、亚精胺和精胺平均含量分别为 $10.96, 0.21, 0.48$ 和 $1.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。半野生类型腐胺平均含量最高, 野生类型的尸胺和精胺平均含量最高, 栽培类型的亚精胺平均含量最高。3 种类型大豆种质各多胺组分含量中, 变异系数最大的是腐胺, 为 52.25%, 最小的是尸胺, 为 1.93%, 亚精胺、精胺组分变异系数居中。这说明大豆种质的腐胺、亚精胺与精胺组分的离散程度较高, 其中特异含量的种质相对较多。大豆种质的尸胺组分含量较多分布在均值左右, 特异含量种质相对较少。栽培类型中腐胺、尸胺、亚精胺、精胺含量的遗传多样性指数分别为 1.09, 1.09, 1.32 和 1.74, 其中最高的为精胺组分, 亚精胺组分次之。表明此部分类型中调控亚精胺和精胺各组分的基因型和遗传变异较丰富。野生类型与半野生类型大豆尸胺含量在 5% 水平上存在显著差异, 其它成分在 3 种类型大豆种质中均不存在显著性和极显著性差异。表明在各种类型大豆种质中, 多胺组分含量相对较一致, 类型间无显著差异。



Put: 腐胺; Cad: 尸胺; Spd: 亚精胺; Spn: 精胺。

Put: Putrescine; Cad: Cadaverine; Spd: Spermidine; Spn: Spermine.

图 1 大豆样品色谱图

Fig. 1 Chromatography graph of soybean tested samples

表1 不同类型大豆种质多胺成分含量的统计分析

Table 1 Statistical analysis on the polyamine content of different type soybean germplasms

性状 Trait	栽培类型 Cultivated types				野生类型 Wild types				半野生类型 Semi-wild types		
	均值 /(mg·kg ⁻¹)	Mean SD	标准差 CV/%	多样性指数 H'	均值 /(mg·kg ⁻¹)	Mean SD	标准差 CV/%	均值 /(mg·kg ⁻¹)	Mean SD	标准差 CV/%	
	/	(mg·kg ⁻¹)	SD	CV/%	/	(mg·kg ⁻¹)	SD	CV/%	/	(mg·kg ⁻¹)	SD
腐胺 Putrescine	4.66	aA	10.5	52.25	1.09	2.67	aA	6.19	46.21	10.96	aA
尸胺 Cadaverine	0.23	abA	0.04	2.96	1.09	0.26	aA	0.03	2.11	0.21	bA
亚精胺 Spermidine	0.53	aA	0.82	18.45	1.32	0.42	aA	0.84	14.17	0.48	aA
精胺 Spermine	1.21	aA	1.37	33.13	1.74	1.45	aA	1.51	26.67	1.28	aA

不同大小写字母表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。

Different lowercase and uppercase indicate there is significant difference at the 0.05 and 0.01 level.

2.2 多胺组分含量的相关性和主成分分析

2.2.1 相关性分析 由表2可知,亚精胺组分含量与精胺组分含量呈极显著正相关,可以看出亚精胺和精胺两种成分之间遗传关系比较紧密。腐胺组分含量与多胺总含量呈极显著正相关,说明腐胺组分对多胺总含量影响较大。

表2 78份大豆种质多胺组分含量的相关性分析

Table 2 Correlation analysis on the polyamine content of 78 soybean germplasms

	腐胺 Putrescine	尸胺 Cadaverine	亚精胺 Spermidine	精胺 Spermine	多胺 Polyamine
腐胺 Putrescine	1.00				
尸胺 Cadaverine	0.11	1.00			
亚精胺 Spermidine	0.09	0.05	1.00		
精胺 Spermine	0.08	0.11	0.37 **	1.00	
多胺 Polyamine	0.99 **	0.13	0.16	0.21	1.00

* 和 ** 分别表示显著和极显著相关。

* and ** indicate significant and extremely significant correlation, respectively.

2.2.2 主成分分析 对78份供试材料4个多胺组分性状的平均值进行了主成分分析,得到各组分间的相关矩阵,算出了相关矩阵的特征值、特征值累计贡献率及各特征值相对应的特征向量。经计算得到公因子方差 $\delta = 13.559$, 检验值 $P = 0.035$, O ,

符合因子分析的检验值。按大于1的最小特征值得到3个公因子,累计贡献率达87.47%,经方差极大正交旋转后的因子特征值及累计贡献率见表3。因子1的贡献率高达42.58%,反映了原始变化的部分信息。因子1中腐胺的特征向量较大,为第一主成分,其值越大表明种质的多胺含量越高,此结果与相关性分析结果相符。因子2中亚精胺和精胺的特征向量较大为第二主成分,其含量值对多胺含量也起到较大作用。

表3 多胺组分含量的因子分析

Table 3 Factor analysis of polyamine content for 78 soybean germplasm

性状 Trait	因子1 Factor 1	因子2 Factor 2	因子3 Factor 3
腐胺 Putrescine	0.64	-0.32	-0.07
尸胺 Cadaverine	0.18	0.14	0.97
亚精胺 Spermidine	0.24	0.64	-0.23
精胺 Spermine	0.27	0.64	-0.06
特征值 Eigenvalue	2.13	1.28	1.06
贡献率 Contribution ratios/%	42.58	25.66	19.24
累计贡献率 Total contribution ratios/%	42.58	68.23	87.47

2.3 多胺组分含量的聚类分析

采用欧氏距离最长距离法对栽培类型大豆种质多胺组分含量进行聚类分析,得到聚类分析图(图2)。由于野生类型和半野生类型样本数量较少,在此不进行聚类分析。在遗传距离19.86处,将66份栽培大豆种质分为3个类群。类群1包含61份种质,类群2包含3份种质,分别为吉黑2号、克北1号、黑河小豆,类群3包含2份种质,分别为绥农1号和黑河43。类群1涵盖种质最多,生育期分布广泛,类群2和类群3包含种质数量较少,其中大部分种质生育期为早熟类型。

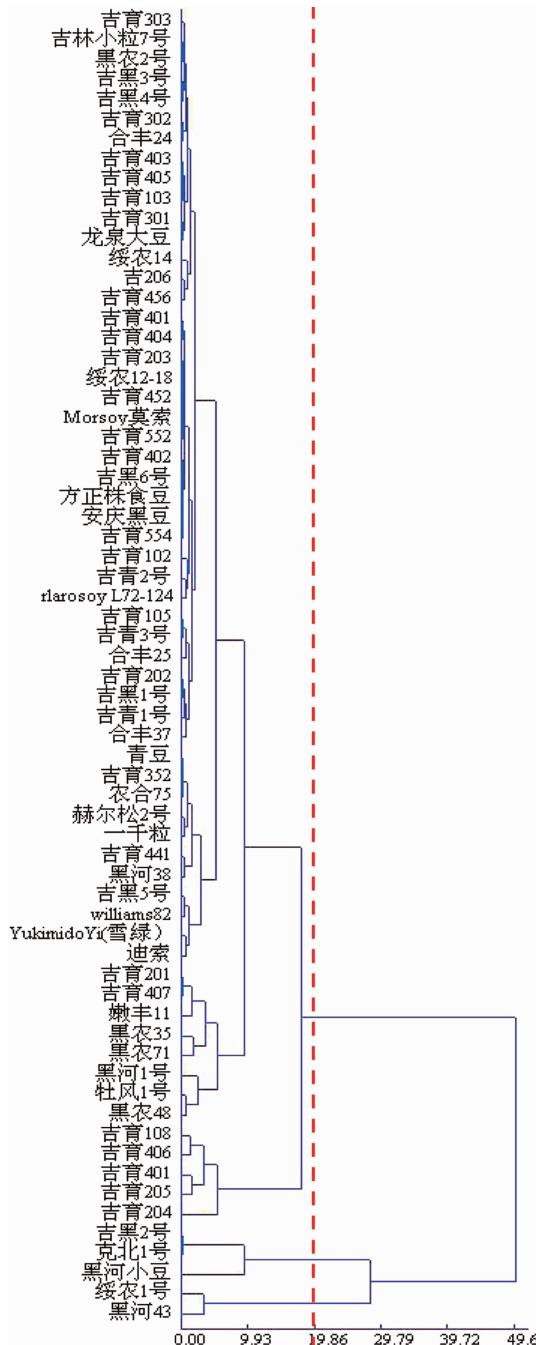


图2 栽培大豆种质多胺含量的聚类分析结果

Fig. 2 The cluster dendrogram of polyamine content in cultivated soybean germplasm

3 讨论

本研究依照《国家标准 - 食品中生物胺含量的测定方法》测量78份不同生态类型大豆种质的多胺组分含量,含量测定结果与部分国外大豆多胺组分含量测定结果存在一定差异^[17-18]。国标方法在衍生反应中采用的衍生试剂为丹磺酰氯(Dns-Cl),国外测定方法中多采用6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚氨基甲酸酯(AQC)^[19]。Dns-Cl与AQC衍生试剂多用于对大豆多胺组分进行检测。比较而言,丹磺酰氯衍生方法中反应活性较差,速度慢,反应时间较长且衍生产物不稳定,衍生完后需要立即进样分析,重复性较差。由于其操作方法复杂,导致大豆多胺成分在前处理过程中损失较严重。AQC是一种较新的柱前衍生剂,在试验中具有操作简单、反应时间短、衍生产物稳定、衍生缓冲液pH使用范围宽,但衍生试剂水解产物影响分离。因此,建立一套高效、标准的大豆多胺含量检测方法意义重大,同时可为其它领域的研究提供数据支持。

本研究中供试材料选用栽培、野生及半野生类型大豆种质,旨在观察亚精胺及多胺含量是否与大豆种质类型存在一定关系。试验结果显示,12份野生及半野生类型大豆种质间各组分含量并未存在显著差异。由于本试验中采用的样本量较少,还需后续试验进行补充和验证。

对78份东北大豆4种多胺组分含量进行测定,通过遗传多样性分析发现,78份大豆种质的4种多胺组分含量存在较丰富的遗传变异,大豆品种间亚精胺含量存在较大差异,说明调控亚精胺和精胺各组分的基因型和遗传变异较丰富。经相关性和主成分分析发现亚精胺和精胺两种成分之间遗传关系比较紧密,同时发掘到一些具有代表性的因子,为后续研究奠定了基础。对78份种质的多胺组合含量聚类结果显示,类群2和3包含种质数量较少,其中大部分种质生育期为早熟类型,推断多胺组分可能与生育期长短存在相关性。这些结果可为将来开展亚精胺基因挖掘及选育高含量大豆品种等相关研究提供参考。

一个优良的大豆专用品种(系)除某一品质性状优良外,更应具有高产优质广适等良好的综合性状表现,而不能只是单一性状突出^[20]。因此,在本试验研究基础上,应拓宽选择性状范围,增加其它优良性状的测定和筛选,为满足杂交组合亲本选配、特用大豆生产和食品加工等行业提供优质的品种资源。

4 结 论

本研究通过对 78 份东北大豆种质 4 种多胺成分亚精胺、精胺、腐胺和尸胺组分含量进行表型鉴定和初步分析,表明大豆种质的 4 种多胺组分含量存在较丰富的遗传变异。腐胺组分含量与多胺总含量呈极显著正相关,说明腐胺组分对多胺总含量影响较大。调控亚精胺和精胺各组分的基因型和遗传变异较丰富,大豆品种间亚精胺含量存在较大差异。亚精胺组分含量与精胺组分含量呈极显著正相关,亚精胺和精胺两种成分之间遗传关系比较紧密。这些结果对将来高亚精胺含量优异种质创制及品种选育具有重要参考价值。

参考文献

- [1] Hymowitz T. On the domestication of the soybean [J]. *Economic Botany*, 1970, 24:408-421.
- [2] 江连洲. 大豆加工利用现状及发展趋势 [J]. 食品与机械, 2000(1):7-10. (Jiang L Z. Current situation and development trend of soybean processing and utilization [J]. *Food and Machinery*, 2000(1):7-10.)
- [3] 潘瑞炽. 多胺是植物生长发育的调节物 [J]. *植物生理学报*, 1985(6):65-70. (Pan R Z. Polyamine is the regulator of plant growth and development [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1985(6):65-70.)
- [4] 赵福庚, 刘友良. 高等植物体内特殊形态多胺的代谢及调节 [J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36(1):1-5. (Zhao F G, Liu Y L. Metabolism and regulation of uncommon polyamines in high plants [J]. *Plant Physiology Communications*, 2000, 36(1):1-5.)
- [5] Kalač P. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005-mid 2013 [J]. *Food Chemistry*, 2014, 161(11): 27-39.
- [6] Minois N, Carmonagutierrez D, Madeo F. Polyamines in aging and disease [J]. *Aging*, 2011, 3(8): 716.
- [7] Kusano T, Berberich T, Tateda C, et al. Polyamines: Essential factors for growth and survival [J]. *Planta*, 2008, 228: 367-381.
- [8] Eisenberg T, Knauer H, Schauer A, et al. Induction of autophagy by spermidine promotes longevity [J]. *Nature Cell Biology*, 2009, 11(11): 1305-1314.
- [9] Minois N. Molecular basis of the 'anti-aging' effect of spermidine and other natural polyamines-a mini-review [J]. *Gerontology*, 2014, 60 (4): 319-326.
- [10] Soda K, Dobashi Y, Kano Y, et al. Polyamine-rich food decreases age-associated pathology and mortality in aged mice [J]. *Experimental Gerontology*, 2009, 44 (11): 727-732.
- [11] Soda K, Kano Y, Sakuragi M, et al. Long-term oral polyamine intake increases blood polyamine concentrations [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2009, 55(4): 361-366.
- [12] Larocca T J, Gioscia-Ryan R A, Jr C M H, et al. The autophagy enhancer spermidine reverses arterial aging [J]. *Mechanisms of Ageing & Development*, 2013, 134 (7-8): 314-320.
- [13] Sagara T, Fiechter G, Pachner M, et al. Soybean spermidine concentration: Genetic and environmental variation of a potential 'anti-aging' constituent [J]. *Journal of Food Composition & Analysis*, 2017, 56: 11-17.
- [14] 中国国家标准化管理委员会. 食品中生物胺含量的测定方法: GB 5009. 208-2008 [S]. 北京: 国家卫生部, 2008. (National Standardization Administration. Determination of biogenic amine in foods: GB 5009. 208-2008 [S]. Beijing: Ministry of Health, 2008.)
- [15] 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. (Hu J B, Ma S W, Jian Z H, et al. Analysis of genetic diversity of Chinese melon (*Cucumis melo* L.) germplasm resources based on morphological characters [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14(4): 612-619.)
- [16] 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. (Zhao W J, Zhang F Y, Chang Y H, et al. Evaluation and correlation analysis of lodging resistance on sweet sorghum lines [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14(1): 58-64.)
- [17] Draisci R, Volpe G, Lucentini L, et al. Determination of biogenic amines with an electrochemical biosensor and its application to salted anchovies [J]. *Food Chemistry*, 1998, 62(2): 225-232.
- [18] Koski P, Helander I M, Sarvas M. Analysis of polyamines as their dabsyl derivatives by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 164 (1): 261-266.
- [19] Fiechter G, Sivec G, Mayer H K. Application of UHPLC for the simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in ripened acid-curd cheeses [J]. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 2013, 927 (5): 191-200.
- [20] 杜维广, 盖钧镒. 大豆超高产育种研究进展的讨论 [J]. *土壤与作物*, 2014, 3(3): 81-92. (Du W G, Gai J Y. A discussion on advances in breeding for super high-yielding soybean cultivars [J]. *Soil and Crop*, 2014, 3(3): 81-92.)