

黑龙江省高皂甙大豆种质资源筛选

赵 越^{1,2}, 孙 岩², 胡国华¹, 陆 芳², 曹 迪²

(¹黑龙江省农垦科研育种中心, 黑龙江 哈尔滨 150036; ²东北农业大学生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:为了筛选黑龙江省高皂甙种质资源,采用酶标仪比色法分别检测了黑龙江省 15 份野生大豆(*Glycine soja*)、55 份栽培大豆(*Glycine. max*)的皂甙含量。结果表明:不同类型大豆皂甙含量有明显遗传差异,变幅为 1156.97 ~ 3977.84 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。栽培大豆的皂甙含量高于野生大豆,筛选出高皂甙含量的野生大豆种质资源 1 份、栽培大豆种质资源 3 份。

关键词:野生大豆;栽培大豆;大豆皂甙

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2009)04-0755-03

Screening of Soybean Germplasm with High Saponins Content in Heilongjiang Province

ZHAO Yue^{1,2}, SUN Yan², HU Guo-hua¹, LU Fang², CAO Di²

(¹ Land-Reclamation Research and Breeding Center of Heilongjiang, Harbin 150036, ² Life Science College of North-east Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: To screen the high saponins content soybean germplasms, 15 accessions of *Glycine soja* and 55 accessions of lycine from Heilongjiang province were determined. The results showed that there was obvious genetic variation of saponins content in different type of soybean germplasm. The mean content of saponins in cultivated soybean was higher than that in wild soybean, with the range of 1156.97 – 3977.84 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. One accession of *G. soja* and three accessions of *G. max* with high content of saponins were detected.

Key words: *Glycine soja*; *Glycine max*; Saponins

大豆不仅含有丰富的蛋白质和油脂,而且还含有大量具有生理活性的成分,包括大豆异黄酮、大豆皂甙、大豆磷脂、低聚糖等。大豆皂甙曾被认为对人体健康不利,而且是大豆制品苦涩味的主要来源,即被视为抗营养因子,近年来研究表明大豆皂甙的毒副作用不仅很小,而且还具有较多有益的生理功能^[1-3],大豆皂苷可降低血液中胆固醇和甘油三酯的含量,大豆皂苷还具有抗氧化、抗自由基、抗病毒、抗血栓形成、提高胰岛素水平的生理活性,大豆皂苷能抑制肿瘤细胞的生长,增强机体的免疫能力^[4-9]。目前专家学者们在大豆生理活性物质方面做了一些工作,但还未见对野生大豆种质资源大豆皂甙含量的研究报道。研究利用酶标仪比色法对黑龙江省野生大豆、栽培大豆皂甙的含量进行检测,为特用大豆

种质资源创新和新品种选育,提供遗传基础更为广泛的优异资源。

1 材料与方法

1.1 材料

原产黑龙江省不同类型、有代表性的野生大豆 15 份,选育推广的栽培大豆品种 55 份,总计 70 份。所用的大豆品种均于 2006 年春季在黑龙江省北大荒种业集团种业基地种植,同年 10 月份收获。

1.2 仪器与试剂

酶标仪 SF-360 型;96 孔酶标板;KQ-250B 型超声波清洗器;ZKJ-1 型循环水真空泵;

RE-52AAA 型旋转蒸发仪;电子天平;离心机等。齐墩果酸(购于美国 Sigma 公司),香草醛及其

收稿日期:2008-03-14
基金项目:黑龙江省农垦总局博士后基金资助项目;黑龙江省教育厅资助项目(10551024);国家科技支撑计划资助项目(2006BAD21B01);黑龙江省教育厅资助项目(10551024)。
作者简介:赵越(1970-),女,副教授,博士。研究方向为生化与分子生物学。
通讯作者:胡国华,研究员。E-mail:hugh757@vip.163.com。

它试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 大豆皂甙的提取 精密称取干燥恒重的脱脂大豆粉末(100 目)2.0 g 于 150 mL 三角瓶中,加入乙醇在指定温度下搅拌一定时间,抽滤,取上清液,然后减压蒸馏,将乙醇蒸出。

1.3.2 标准曲线的测定 用水饱和过的正丁醇 60 mL 分 3 次萃取,取上清液,挥去正丁醇后以甲醇溶解,并加入 10 倍甲醇体积的丙酮,离心,取沉淀。以大豆皂甙的甙单元类似物齐墩果酸作为标准品^[10],精密称取干燥至恒重的齐墩果酸对照品 10.0 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇 5 mL 超声处理 5 min,用甲醇稀释至刻度,摇匀得浓度为 1 mg·mL⁻¹的对照品储备液。移取齐墩果酸标准溶液 0. 10、0. 20、0. 30、0. 40、0. 50 mL 于 20.00 mL 具塞试管中,80℃ 水浴将溶剂挥干,然后分别加入新鲜配制的 5% 的

香草醛-冰醋酸溶液 0. 40 mL(取 0. 50 g 香草醛用冰醋酸定容于 10. 00 mL 容量瓶中),再加入高氯酸 1. 60 mL,于 70℃ 水浴中加热振荡 15 min,取出后流水冷却,加入 4.00 mL 乙酸乙酯稀释,在酶标仪上扫描,测定皂甙的最大吸收波长为 560 nm。得到回归方程: $A=0.1444x-0.0136,r=0.9997$ 。线性关系良好。

1.3.3 样品含量的测定 精密吸取样品溶液 5 0 μL 加入酶标板孔中,每个样品平行点样三孔,按 1. 3. 2 的方法测定。

2 结果与分析

2.1 品种间皂甙含量比较

不同大豆品种间皂甙的含量存在较大差异,其变幅为 1156. 97 ~ 3977. 84 μg·g⁻¹,平均含量 1862. 40 μg·g⁻¹。皂甙含量最高的品种是中豆 27-2,含量最低的是 05011-3,前者比后者高 2. 85 倍(表 1)。

表 1 不同类型大豆皂甙含量
Table 1 Saponins tryptophane content of soybean types

类型 Type	种质资源名称 Acession	皂甙含量 Saponins content /μg·g ⁻¹	类型 Type	种质资源名称 Acession	皂甙含量 Saponins content /μg·g ⁻¹
野生大豆 <i>G. soja</i>	ZYD00360	1332. 41	栽培大豆 <i>G. max</i>	J099	1572. 48
	GD-5008-03	1355. 49		J020	1186. 42
	05004-4	1263. 16		绥农 10 Suinong 10	1577. 10
	05011-3	1156. 97		中豆 27-2 Zhongdou 27-2	3977. 84
	05002-8	1927. 98		中品 03-5224 Zhongpin 03-5224	2897. 51
	05021-2	1457. 06		合丰 35 Hefeng 35	1572. 48
	05026-2	2204. 99		合丰 36 Hefeng 36	1498. 61
	05011-2-2	2394. 28		上农 705 Shangnong 705	2016. 42
	ZYD00327	1470. 91		北育 03-96 Beiyu 03-96	3031. 39
	GD-5009-5	1401. 66		特丰 1 号 Tefeng No. 1	1771. 01
	05003-2-1	1470. 91		东农 1569 Dongnong 1569	1891. 04
	05002-3	1373. 96		东农 690 Dongnong 690	1840. 26
	05033-4-1	1392. 43		J1071 YX04-6520	2103. 42
	05022-1	2412. 74		J154	1433. 98
	05002-4	1526. 32		绥 04-5896 Sui 04-5806	1683. 29
				农大 45069 Nongda 45069	2210. 84
栽培大豆 <i>G. max</i>	绥 98-6227 Sui 98-6227	1983. 38		农大 45476 Nongda 45476	1480. 15
	垦丰 10 Kenfeng 10	1687. 90		钢 85711 Gang 85711	1835. 64
	垦丰 5 Kenfeng 5	1955. 68		钢 85713 Gang 85713	1433. 98
	垦丰 14 Kenfeng 14	3299. 17		哈交 01-5314 Hajiao 01-5314	1517. 08
	垦丰 18 Kenfeng 18	1586. 33		哈交 1423 Hajiao1423	1507. 85
	垦农 2 Kennong 2	2029. 27		合辐 02-505 Hefu 02-505	1452. 45
	垦农 18 Kennong 18	2879. 04		合辐 04-26 Hefu 04-26	1941. 83
	北 02-419 Bei 02-419	1167. 42		黑农 37 Heinong 37	3451. 52
	东农 45570 Dongnong 45570	1821. 79		黑农 48 Heinong 48	2024. 93
	东农 49 Dongnong 49	1951. 06		黑河 38 Heihe 38	2698. 98
	东农 97-30024 Dongnong 97-30024	1457. 06		黑河 30 Heihe 30	1503. 23
	东农 30194 Dongnong 30194	2043. 40		建 02-148 Jian 02-148	2468. 14
	东农 48 Dongnong 48	1521. 70		建 03-527 Jian 03-527	1637. 12
	东农 47 Dongnong 47	2703. 60		建 03-1873 Jian 03-1873	1212. 37
	东农 42 Dongnong 42	1632. 50		安达 98-16 Anda 98-16	1590. 95
	吉育 69 Jiyu 69	1655. 59		吉引 14 Jiyin 14	1632. 50
	吉育 77 Jiyu 77	1212. 37		吉引 15 Jiyin 15	1692. 52
	吉引 19 Jiyin 19	2495. 84		农垦 5 Ken No. 5	1655. 59
	铁 69-15 Tie 69-15	1498. 61		绥农 11 Suinong 11	2417. 36
	农大 46670 Nongda 46670	2218. 84			

2.2 栽培大豆皂甙含量高于野生大豆

从70份品种中筛选出大豆皂甙含量3 200 μg·g⁻¹以上的大豆种质资源3份、含量2 000 μg·g⁻¹以下种质资源3份(表1)。结果表明:栽培大豆皂甙含量高于野生大豆。不同类型大豆皂甙含量变异幅度大,总的趋势是栽培大豆高于野生大豆。15份野生大豆皂甙含量变幅为1 156.97~1 526.32,平均含量为1 609.42 μg·g⁻¹。55份栽培大豆皂甙含量变幅为1167.42~3977.84,平均含量为1931.25 μg·g⁻¹。从中筛选出皂甙含量最高的品种是栽培大豆中豆27-2,其含量高达3977.84 μg·g⁻¹,其次是栽培大豆黑农37,含量为3451.23 μg·g⁻¹。15份野生大豆中皂甙含量最高的是品种05002-4为1526.32 μg·g⁻¹,而野生大豆05011-3是总试验材料最低的,含量仅为1 156.97 μg·g⁻¹。

3 讨论

用酶标仪定量测定大豆总皂甙,可在96孔酶标板上一次对多个样品点样,并在短时间内测定多个样品的吸光度,因而可有效克服皂甙显色不稳定而导致的吸光度随时间延长而下降的问题。另外所用的香草醛-冰乙酸溶液需现用现配,否则空白值的颜色会加深,影响测定的结果。大豆品种间总皂甙含量差异较大,通过筛选,获得高皂甙含量的品种和种质资源,可为优质大豆品种选育提供物质基础。研究还表明:栽培大豆皂甙含量高于野生大豆,现仅测定黑龙江省70个品种,要确定大豆皂甙的遗传特性,有待进一步研究。

参考文献

[1] 刘晓庚,陈梅梅,陈学恒. 大豆皂甙的研究初步[J]. 中国粮油学

报,2000,15(4):18-22. (Liu X G,Chen M M,Chen X H. Preliminary research on soyasaponins [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association,2000,15(4):18-22.)

[2] 龙彭年. 大豆营养保健研究应用现状和发展策略[J]. 世界农业,2003,287(3):43-45. (Long P N. Present situation of study on soybean nutrient value to health protection and its development strategy [J]. World Agriculture,2003,287(3):43-45.)

[3] 唐传核,杨晓泉,彭志英. 大豆皂甙最新研究概况[J]. 大豆科学,2001,20(1):60-65. (Tang C H ,Tang X Q ,Peng Z Y. Survey of recent researches on soyasaooni [J]. Soybean Science,2001,20(1):60-65.)

[4] 郁利平. 大豆皂甙的抑瘤效应[J]. 白求恩医科大学学报,1992,18(4):333-335. (Yu L P. Inhibiting effect of total soyasaponin on tumor cells [J]. Journal of Norman Bethune University of Medical Science,1992,18(4):333-335.)

[5] 孙学斌. 大豆皂甙及其抗肿瘤作用[J]. 木本植物研究,2000,7:328-331. (Sun X B. Soy saponins and its anticarcinogenic effect [J]. Bulletin of Botanical Research,2000,7:328-331.)

[6] 江燕,高旭年. 复方大豆皂苷胶囊对高脂模型大鼠的降血脂作用[J]. 中药材,2004,10:758-760. (Jiang Y, Gao X N. The decrease effect of blood lipid of mixed soybean saponin capsule on mice with high blood lipids [J]. Chinese Medicine, 2004, 10: 758-760.)

[7] 王银萍. 大豆皂苷和人参茎叶皂苷的抗糖尿病动脉粥样硬化作用[J]. 白求恩医科大学学报,1994,6:881-884. (Wang Y P. The Effect of Antidiabetes Artherosclerosis with Soyasaponin and Panaxoside [J]. Journal of Norman Bethune University of Medical Science,1994,6:881-884.)

[8] 陈曾三. 大豆皂苷功能性[J]. 粮食与油脂,2000,2:48-49. (Chen Z S. Functions of soybean saponin [J]. Grain and Oil,2000,2:48-49.)

[9] 滕燕平,张玉梅,刘颖,等. 分光光度法测定大豆总皂甙的含量[J]. 中国食品卫生,2000,12(4):7-9. (Teng Y P,Zhang Y M, Liu Y, et al. Determination of soybean saponins by the method of spectrophotometry. [J]. Chinese Journal of Food Hygiene,2000,12(4):7-9.)

黑龙江省农业科学院出版中心关于抵制学术不端行为的联合声明

近年来中国学术界有了空前的发展和繁荣。与此同时,学术界也频频出现一稿多投、抄袭剽窃、重复发表、伪造实验数据、虚假注释、不实参考文献等学术不端行为。

尽管媒体曾多次揭露报道违背学术道德、无视学术规范的不端行为,学术管理部门也相继出台了各种条例,但各种形形色色的学术不端行为依然存在。

为尊重和保护知识产权,维护正常的学术生态,促进学术事业的健康发展,黑龙江省农业科学院出版中心下属三个编辑部:《大豆科学》、《北方园艺》、《黑龙江农业科学》,共同发表如下声明:

一、从本声明公布之日起,凡向以上三个编辑部投稿的文章如出现以下任何一种情况者:一稿多投、抄袭剽窃、重复发表、伪造数据、虚假注释、不实参考文献,一经发现,立即撤稿(包括已通过终审的文章);

二、三刊将相互通报行为不端者的有关情况,并在各自刊物上对其曝光,揭露其欺骗行径,清除其不良影响;

三、凡被发现有任何一种学术不端行为者,三刊将在5年之内拒发其任何文章。

三刊发表的声明旨在抵制学术不端行为,促进学术事业健康发展,创造良好的学术氛围。

发表声明单位:

《大豆科学》编辑部 《北方园艺》编辑部 《黑龙江农业学》编辑部
2009年7月10日