

不同生育时期大豆异黄酮合成相关酶基因表达的分析

王 艳, 武 林, 孙梦阳, 韩英鹏, 赵 雪, 滕卫丽, 李文滨

(东北农业大学大豆生物学教育部重点实验室, 东北农业大学农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:通过 Real-time PCR 分析了不同生育时期 7 个大豆异黄酮合成相关酶基因 (*PAL*, *C4H*, *4CL*, *CHS*, *CHI*, *IFS* 和 *F3H*) 的相对表达情况。并利用高效液相色谱法测定了籽粒发育过程中豆荚(含籽粒)中异黄酮及其组分的含量, 同时利用 SAS 8.2 分析了 $F_{5:11}$ 重组自交系群体(RILs)豆荚中异黄酮含量与部分基因相对表达量间的相关性。结果表明:从营养生长进入生殖生长阶段, 部分基因(*PAL*, *CHI*, *IFS* 和 *F3H*)的相对表达量普遍有显著提高;*PAL*, *C4H*, *CHS* 和 *IFS* 基因在叶片中的相对表达量高峰出现在 R1 期, 大部分基因在 2 个品种豆荚中相对表达量差异显著的时期为 R6 期。在 R6 期, 豆荚中 *PAL* 基因的相对表达量与染料木素(GT)和总异黄酮含量(TI)呈显著正相关。*CHS* 基因的相对表达量与大豆黄素(DZ)、染料木素(GT)和总异黄酮含量(TI)呈显著正相关, 但是与黄豆黄素(GC)呈显著负相关, *IFS* 基因的相对表达量与大豆黄素(DZ)含量呈显著正相关;*F3H* 基因的相对表达量与所有异黄酮成分均呈显著负相关。研究明确了相应基因的表达情况, 对于理解异黄酮含量变异的遗传机制具有重要意义。

关键词:大豆异黄酮;异黄酮合成相关酶基因;Real-time PCR;相对表达量

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)06-0887-07

Analysis of Gene Expression Underlying Soybean Isoflavone Synthesis Relative Enzymes at Different Growth Stages

WANG Yan, WU Lin, SUN Meng-yang, HAN Ying-peng, ZHAO Xue, TENG Wei-li, LI Wen-bin

(Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education, Key Laboratory of Biology and Breeding/Genetics of Chinese Agriculture Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: Real-time PCR was used to measure the relative expression quantity of seven isoflavone synthetic enzyme related genes (*PAL*, *C4H*, *4CL*, *CHS*, *CHI*, *IFS* and *F3H*) in high isoflavone cv. Zhongdou27, low isoflavone cv. Jiunong20, as well as their derived 130 $F_{5:11}$ RILs. High performance liquid chromatography (HPLC) was adopted to survey isoflavone content in pod at different growth stages, at the same time, correlations between total/individual isoflavone content and the expression of partial genes in $F_{5:11}$ RILs were performed using SAS 8.2. The relative expression quantity of (*PAL*, *CHI*, *IFS* and *F3H*) was generally increased in reproductive stage than vegetative stage. Relative expression quantity of *PAL*, *C4H*, *CHS* and *IFS* gene in leaf appeared a peak value at R1 stage, and the expression quantity of most selected genes appeared significant difference in pod between two variety was at R6 stage. At R6 stage, the relative expression quantity of *PAL* gene manifested positive correlation with genistein (GT) and total isoflavone content (TI); *CHS* exhibited positive relevance with daidzein (DZ), GT and TI but negative with glycitein (GC); *IFS* displayed positive correlation with DZ; *F3H* showed negative correlation with individual and total isoflavone contents. Results will facilitate the understanding of genetic mechanism of the variation underlying isoflavone content.

Key words: Soybean isoflavone; Isoflavone synthesis relative enzyme genes; Real-time PCR; Relative expression quantity

大豆异黄酮是普遍存在于豆科植物中的一类酚类化合物的总称,是大豆重要的次生代谢产物之一^[1],因其在医疗、美容等方面的重要作用而日益受到关注^[2]。但是异黄酮的合成和积累容易受环境和遗传因素的影响^[3],从代谢和基因的角度探讨异黄酮积累的遗传基础具有重要意义。

大豆异黄酮合成于苯丙烷次生代谢途径,异黄酮类物质的合成前体是苯丙氨酸和丙二酰辅酶 A,经苯丙氨酸解氨酶(*PAL*)、肉桂酸 4-羟化酶(*C4H*)、

4-香豆酸辅酶 A 连接酶(*4CL*)、查尔酮合成酶(*CHS*)、查尔酮异构酶(*CHI*)、异黄酮合成酶(*IFS*)和黄豆素 3-羟化酶(*F3H*)等酶催化,经过羟基化、甲氧基化和烷基化过程形成不同的异黄酮类化合物^[4]。Yu 等^[4]研究表明,调控苯丙烷代谢途径可增加异黄酮在大豆籽粒中的积累^[4]。Gutierrez 等^[5]研究发现,一系列与异黄酮积累相关的基因组区段之间存在一个复杂的遗传互作网络,并在部分区段定位出一些候选关键酶基因;易金鑫等^[6]研究

收稿日期:2012-09-10

基金项目:农业部大豆产业技术体系资助项目(CARS-04-PS04);国家“十二五”科技支撑计划课题(2011BAD35B06);973 前期项目(2012CB126311);国家自然科学基金项目(31201227);中国博士后项目(20110491024);黑龙江省博士后项目(LBH11220);黑龙江省骨干教师项目的资助项目(1252G014)。

第一作者简介:王艳(1986-),男,在读硕士,研究方向为大豆生物化学与分子生物学。E-mail:wy11544@126.com。

通讯作者:李文滨(1958-),男,教授,博士生导师,研究方向为大豆遗传育种。E-mail:wenbinli@yahoo.com。

发现,大豆中异黄酮的积累由 *CHS8* 和 *IFS2* 基因共同决定。可见,从多个酶基因入手来研究异黄酮的合成与积累,对于理解各个基因之间的互作并进一步明确其遗传调控网络具有重要意义。

大豆籽粒异黄酮的积累是一个动态的过程,与异黄酮合成相关的酶基因的表达也具有时空性。董李平^[7]发现大豆籽粒中异黄酮含量随种子的发育进程而逐渐提高;在种子发育过程中,叶片中的异黄酮逐渐向种子中转移。Kim 等^[8]发现籽粒中大豆异黄酮总含量、各组分含量均与大豆生育时期呈极显著相关。张大勇^[9]研究发现,发育中的大豆籽粒异黄酮总含量及 3 种苷元组分含量与籽粒发育日数呈极显著正相关。因此,从基因水平分析不同生育时期多个异黄酮合成相关酶基因的表达情况显得十分重要。

实时定量 PCR (Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction, Real-time PCR) 是一种快速、准确测定基因相对表达量的有效手段^[10]。利用 Real-time PCR 手段分析不同生育时期大豆异黄酮合成相关酶基因的表达丰度,对于明确相应基因的表达情况及异黄酮含量变异的遗传机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

高异黄酮含量品种中豆 27(中国农业科学院作物科学研究所选育)和低异黄酮含量品种九农 20(吉林市农业科学院选育)及其杂交衍生的 130 个 $F_{5:11}$ 重组自交系群体。

1.2 试验设计

2011 年 5 月将供试材料种植于东北农业大学香坊农场试验基地,行长 2 m,株距 6 cm,行距 70 cm,3 次重复。

按照大豆生育时期划分标准^[11-12],在 V2 ~ R2 期,每时期分别取 2 个亲本顶部第一片全展叶;在 R3 ~ R8 期,每时期分别取 2 个亲本及其重组自交系群体同一节位的豆荚(含荚皮及其内部的籽粒)。3 次重复, - 80℃ 超低温冰箱内保存。然后提取样品总 RNA,利用基于相应基因的特异引物进行 Real-time PCR。利用高效液相色谱法(HPLC)测定豆荚(含荚皮及其内部的籽粒)中各异黄酮成分的含量,并与基因相对表达量进行相关分析。

1.3 方法

1.3.1 总 RNA 的提取及 cDNA 的合成 利用 RNA 提取试剂盒(D9108A, TaKaRa)提取总的 RNA,然后

利用反转录试剂盒(D6110A, TaKaRa)将总 RNA 反转录成第一链 cDNA。

1.3.2 异黄酮合成相关酶基因的选取及特异引物的设计 选取苯丙烷代谢途径^[5](图 1)中多个与异黄酮合成相关的酶基因:苯丙氨酸解氨酶 *PAL* 基因(GenBank 登录号:GQ220305),肉桂酸 4-羟化酶 *CAH* 基因(GenBank 登录号:FJ968526),4-香豆酰辅酶 A 连接酶 *4CL* 基因(GenBank 登录号:FJ770469),查耳酮合成酶 *CHS* 基因(GenBank 登录号:EU526827),查耳酮异构酶 *CHI* 基因(GenBank 登录号:AF276302),异黄酮合成酶 *IFS* 基因(GenBank 登录号:FJ770473),黄烷酮 3-羟化酶 *F3H* 基因(GenBank 登录号:AY595420)。利用 Primer Premier 5.0 软件设计特异的 Real-time PCR 引物(表 1),引物由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。

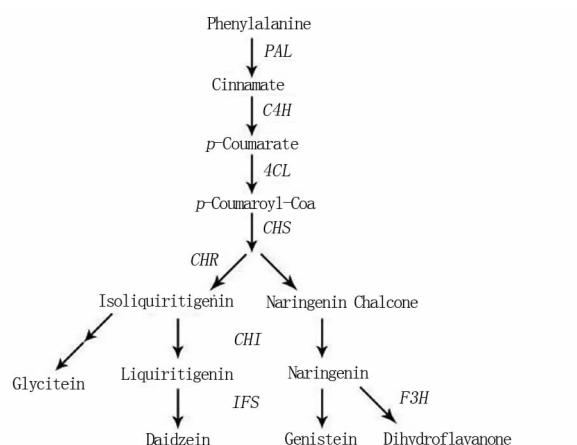


图 1 与异黄酮合成相关的苯丙烷代谢部分途径

Fig. 1 Schematic representation of partial phenylpropanoid pathway relative to isoflavone synthesis

1.3.3 Real-time PCR 及数据分析 选取大豆看家基因 *actin4*(GenBank 登录号:AF049106)作为内参基因,利用 Real-time PCR 试剂盒(DRR081A, TaKaRa)进行实时荧光定量 PCR 反应,具体步骤如下:

20 μL 反应体系包括:SYBR Green qPCR Mix, 10 μL; cDNA, 1 μL; RNA Free Water, 8 μL; Primer F, 1 μL; Primer R, 1 μL。每个样本 3 次重复。使用 Bio-Rad 荧光定量 PCR 仪进行三步 PCR, PCR 反应条件:95℃ 60 s; 40 个循环:95℃ 11 s, 60℃ 12 s; 72℃ 18 s。PCR 反应后温度从 60℃ 上升到 95℃ 绘制熔解曲线以判断扩增产物的正确性。

1.3.4 异黄酮含量测定 参考 Zeng 等^[13]的方法,采用高效液相色谱法(HPLC)测定大豆籽粒发育过程(R3 ~ R8)豆荚(含荚皮及其内部的籽粒)中各异黄酮成分的含量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Real-time PCR primer pairs for isoflavone synthetic enzyme genes

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'-3')	下游引物 Reverse primer(5'-3')	PCR 产物长度 PCR product length/bp
<i>actin4</i>	GTGTCAGCCATACTGTCCCATTT	GTTTCAAGCTCTTGCTCGTAATCA	214
<i>PAL</i>	ATTATGGATTCAAGGGAGCT	AATGAGGAAAGTGGAGGACA	182
<i>C4H</i>	ATGGGGCAGCGTAATCTC	AAGAAGGGGACGGTCATG	197
<i>4CL</i>	CGGTGATGTTGGCTATGTAGAT	GCAATGGAGGGATGGCTTA	135
<i>CHS</i>	AAAATGCCATCTCCTCAAACA	GGATCTCAGCTACGCTCACC	155
<i>CHI</i>	GAGAACAAGGCTGTATCAGCG	AGCGACAAGAAAGAAAGGAGA	192
<i>IFS</i>	GCCCTGGAGTCAATCTGG	CAAGACTATGTGCCCTTGGGA	171
<i>F3H</i>	GCTTGGGAGAATTGGGGTAT	CCTTGGAGATGGCTGGAGAC	176

1.3.5 相关分析 利用 Opticon Monitor™ (BioRad, USA)软件,并采用 2^{-ΔΔCT}方法^[14]分析各基因相对表达丰度。利用 SAS 8.2 软件,分析异黄酮含量与 F_{5:11} 重组自交系群体中各基因相对表达量之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同生育时期异黄酮合成相关酶基因的相对表达量

2.1.1 *PAL* 基因 由图 2 可见,不同生育时期 *PAL* 基因在叶片和豆荚中的表达存在显著差异;在叶片中,*PAL* 基因在 2 个品种间的表达趋势较为接近,均在 R1 出现一个相对表达量高峰;在豆荚中,高异黄酮含量品种中豆 27 的相对表达量较大,并在 R6 期

粒发育过程中发挥着较为关键的作用,其较高的表达量更有助于异黄酮在豆荚和籽粒中的积累。

2.1.2 *C4H* 基因 由图 3 可见,不同生育时期 *C4H* 基因在叶片和豆荚中的表达存在差异,特别是在豆荚中的差异更为显著;在叶片中,2 个品种 *C4H* 基因的相对表达量在 R1 期出现高峰;在豆荚中,高异黄酮品种中豆 27 中 *C4H* 基因的表达量在 R6 期出现峰值。表明在大豆生殖生长后期,*C4H* 基因的较高表达可能有助于促进异黄酮在豆荚和籽粒中的积累。

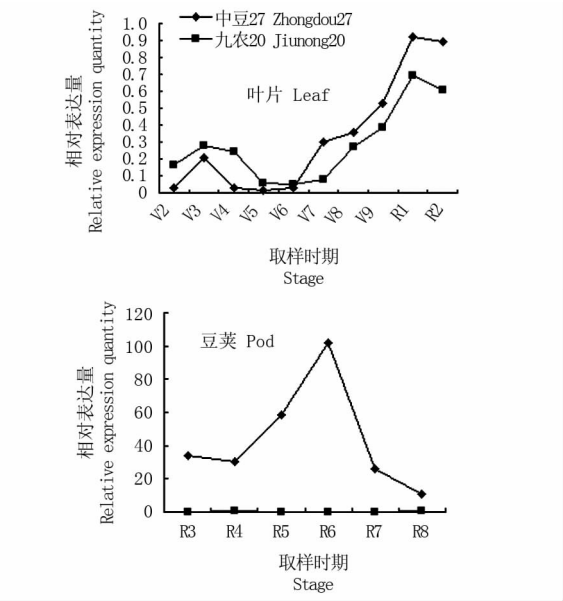


图 2 *PAL* 基因在不同生育时期的表达情况

Fig. 2 The expression of *PAL* at soybean different growth stages

出现峰值,而低异黄酮品种九农 20 中 *PAL* 基因的相对表达量无明显变化。说明作为苯丙烷代谢途径中的第一个关键酶基因,*PAL* 基因可能在大豆籽

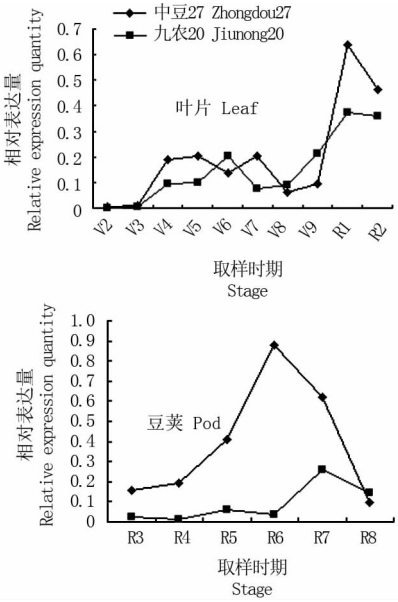


图 3 *C4H* 基因在不同生育时期的表达情况

Fig. 3 The expression of *C4H* at soybean different growth stages

2.1.3 *4CL* 基因 *4CL* 基因在叶片和豆荚中的表达情况见图 4。在叶片中,*4CL* 基因的相对表达量在 V2 期达到高峰,但随着植株的生长,其在 2 个品种间的表达量差异较小,表明它可能对异黄酮在叶片中的积累影响不大。在豆荚中,从 R5 期开始,低

异黄酮品种九农 20 中 4CL 基因的相对表达量要高于高异黄酮品种中豆 27,并在 R6 期出现峰值。由此推测,同时作为木质素合成途径中具有标志性的关键酶基因,4CL 基因可能更有助于木质素的积累^[15]。

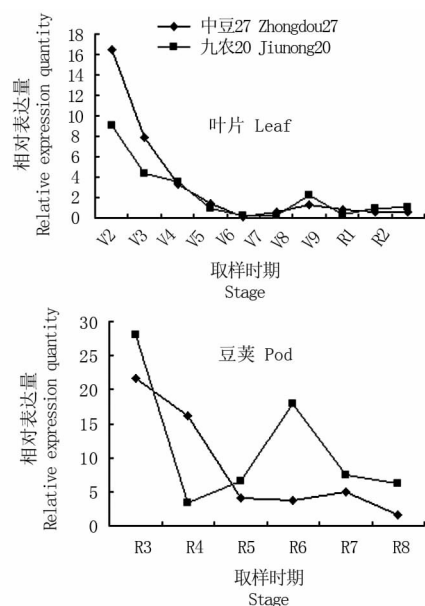


图 4 4CL 基因在不同生育时期的表达情况

Fig. 4 The expression of 4CL at soybean different growth stages

2.1.4 *CHS* 基因 由图 5 可见,不同生育时期 *CHS* 基因在叶片和豆荚中的表达存在较明显差异;在叶片中,*CHS* 基因在 2 个品种间的表达趋势是协同变

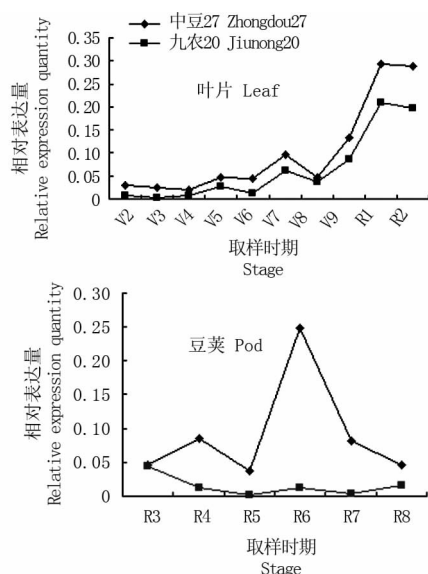


图 5 *CHS* 基因在不同生育时期的表达情况

Fig. 5 The expression of *CHS* at soybean different growth stages

化的,均在 R1 期出现一个相对表达高峰;在豆荚中,*CHS* 基因在 2 个品种间的表达量差异达到最大出现在 R6 期,并在高异黄酮品种中豆 27 中达到一个高峰。说明在生殖生长后期,作为异黄酮合成途径中的第一个分支酶基因,*CHS* 基因可能对异黄酮的积累影响较大,是异黄酮合成途径中的关键酶基因之一。

2.1.5 *CHI* 基因 *CHI* 基因的表达情况如图 6 所示。不同生育时期,*CHS* 基因在豆荚中的相对表达量均要高于其在叶片中的表达;在叶片中,*CHI* 基因在 2 个品种间的表达差异不明显,均在 V8 期出现一个表达量高峰;在豆荚中,高异黄酮品种中豆 27 中 *CHI* 基因的相对表达量在 R6 期出现峰值,而低异黄酮品种九农 20 中其相对表达量变化差异不明显,表明在大豆籽粒成熟后期,*CHI* 基因的较活跃表达可能对异黄酮的合成和积累有重要影响。

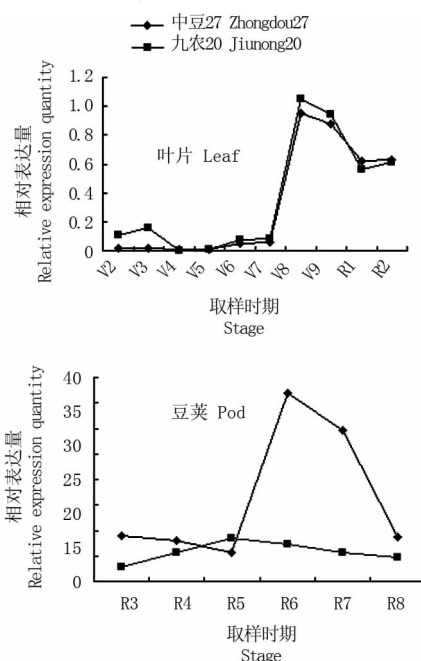


图 6 *CHI* 基因在不同生育时期的表达情况

Fig. 6 The expression of *CHI* at soybean different growth stages

2.1.6 *IFS* 基因 由图 7 可见,在不同生育时期的叶片和豆荚中,*IFS* 基因在 2 个品种间的相对表达量差异较明显。在 R1 期叶片中,*IFS* 基因相对表达量出现一个高峰;在 R6 期豆荚中,*IFS* 基因在高异黄酮的中豆 27 中出现一个表达峰,而低异黄酮品种九农 20 中 *IFS* 基因的相对表达量变化不明显。说明作为异黄酮代谢途径中的第一个中间合成酶基因,*IFS* 基因在异黄酮的合成和积累中可能发挥着较重要作用,其较高的表达量可能更有助于异黄酮在叶片和豆荚中的积累^[4]。

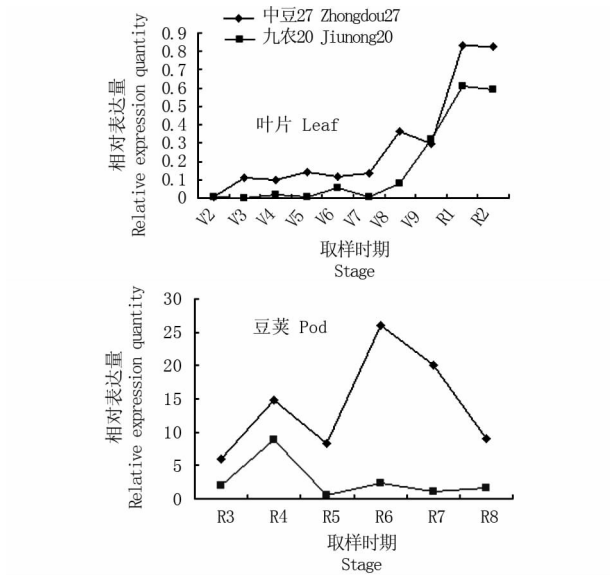


图7 *IFS* 基因在不同生育时期的表达情况
Fig.7 The expression of *IFS* at soybean different growth stages

2.1.7 *F3H* 基因 *F3H* 基因的表达情况见图8。在大豆不同生育时期,*F3H* 基因在叶片和豆荚中的表达量存在差异。在 V8 期叶片中,*F3H* 基因在 2 个品种间的表达量均达到一个高峰;从 V8 期开始,低异黄酮品种九农 20 中 *F3H* 基因在叶片和豆荚中的表达量均高于其在高异黄酮品种中豆 27 中的表达量,并在 R6 期的豆荚中达到高峰。说明与 *IFS* 竞争共同底物的 *F3H* 基因的活跃表达,可能会转运合成异黄酮的底物从而减少异黄酮的合成和积累。

2.2 相关分析

对不同生育时期异黄酮合成相关酶基因表达丰度分析发现,选取的 7 个基因在 2 个品种间的相对表达量在 R6 期豆荚中差异最显著。为了进一步明确该时期基因表达水平与异黄酮含量变化之间的

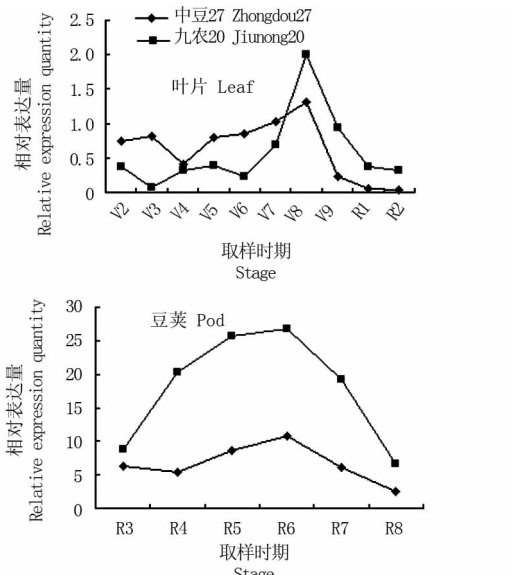


图8 *F3H* 基因在不同生育时期的表达情况
Fig.8 The expression of *F3H* at soybean different growth stages

关系,利用 SAS 8.2 分析了 RILs 群体 R6 期豆荚中异黄酮含量之间及异黄酮含量与部分表达差异较显著基因(*PAL*,*CHS*,*IFS* 和 *F3H*)的相对表达量间的相关性(表2)。

由表2可知,*PAL* 基因在豆荚中的相对表达量与豆荚中染料木素和总异黄酮含量呈显著正相关;*CHS* 的相对表达量与大豆黄素、染料木素和总异黄酮含量呈显著正相关,但是与黄豆黄素(GC)呈显著负相关;*IFS* 的相对表达量与大豆黄素含量呈显著正相关;*F3H* 的相对表达量与所有异黄酮成分均呈显著负相关。说明在大豆籽粒发育过程中,异黄酮合成相关酶基因的表达确实影响了大豆豆荚中异黄酮的含量;调控大豆籽粒发育过程某些合成相关酶基因的表达,可以促进异黄酮在豆荚和籽粒中的积累。

表2 在 F_{5:11} RILs 群体上异黄酮含量之间及其与 4 个基因表达量间的相关性
Table 2 Correlations among individual and total isoflavone contents,as well as the expression levels of the four genes in the F_{5:11} RIL populations

性状 Traits	大豆黄素 DZ	黄豆黄素 GC	染料木素 GT	总异黄酮 TI	<i>PAL</i> 表达量 <i>PAL</i> expression	<i>CHS</i> 表达量 <i>CHS</i> expression	<i>IFS</i> 表达量 <i>IFS</i> expression
黄豆黄素 GC	0.249 *						
染料木素 GT	0.762 **	0.294 *					
总异黄酮 TI	0.943 **	0.363 *	0.928 **				
<i>PAL</i> 表达量 <i>PAL</i> expression	-0.094	0.092	0.269 *	0.304 *			
<i>CHS</i> 表达量 <i>CHS</i> expression	0.223 *	-0.191 *	0.201 *	0.230 *	0.063		
<i>IFS</i> 表达量 <i>IFS</i> expression	0.327 *	-0.032	0.169	0.140	-0.022	0.022	
<i>F3H</i> 表达量 <i>F3H</i> expression	-0.248 *	-0.248 *	-0.276 *	-0.273 *	0.105	0.108	-0.001

* $P < 0.05$ 为显著相关, ** $P < 0.01$ 为极显著相关。
* $P < 0.05$ means significant correlation, ** $P < 0.01$ means extremely significant correlation.

3 结论与讨论

研究表明,调控苯丙烷代谢途径,可以增加异黄酮在大豆籽粒中的积累^[4]。分析与异黄酮合成相关的候选基因的表达情况,不但可以帮助理解表型(异黄酮含量)变异的遗传机制,还可以提供一种通过调控基因表达从而改进表型的方法^[16]。因此,本研究从异黄酮合成相关酶基因着手,分析了不同生育时期 7 个基因的表达情况,并将特定时期各基因表达量与相应异黄酮含量进行了相关分析。

根据大豆源库理论^[17],V2~R2 期叶片是同化产物的主要场所(源)^[18],故 V2~R2 期从叶片水平分析各基因的表达情况;进入 R3 期后,豆荚成为同化物积累的主要场所(库),接受从叶片、茎尖、花蕾等源供应的同化产物^[18-19],故 R3~R8 期从豆荚水平分析各基因的表达情况。此外,在前期研究中,发现各基因在荚皮中的相对表达量差异明显,而在籽粒中的相对表达量不明显(未提供数据),因此在进行 R3~R8 期相关基因表达分析时,将整个豆荚(荚皮及籽粒)作为取样材料进行分析。

本研究发现,从营养生长进入生殖生长阶段,部分基因(*PAL*,*CHI*,*IFS* 和 *F3H*)的相对表达量显著提高。不同品种间,基因的表达水平存在差异;同一品种不同生育时期,基因的相对表达量也有差异。在 R1 期,*PAL*,*C4H*,*CHS* 和 *IFS* 基因在叶片中的表达均出现一个峰,可能是因为大豆进入开花期花青素的合成增加,导致该途径代谢活跃,进而使相应基因的表达量提高,这与张大勇^[9]的结果相吻合。说明进入开花期,苯丙烷代谢途径中相关酶基因的较高表达可能有助于大豆叶片中异黄酮含量的积累。

7 个大豆异黄酮合成酶相关基因在 2 个品种豆荚中的相对表达量差异显著时期均出现在 R6 期。可能是因为鼓粒期,光合作用的主要产物可溶性碳水化合物的含量在豆荚中达到最高^[20],使合成异黄酮的底物较多,进而相应合成酶基因活跃表达促进异黄酮的合成与积累。需要特别指出的是,在 R6 期 *4CL* 基因出现一个明显的相对表达峰,但是其在低异黄酮品种九农 20 中的表量要高于高异黄酮品种中豆 27,可能是因为该基因更有利于向木质素合成方向进行,而对其下游异黄酮合成的影响并不明显^[15]。此外,从 V8 开始,*F3H* 基因在九农 20 中的

相对表达量一直高于其在中豆 27 中的表达。可能是因为与 *IFS* 竞争共同底物的 *F3H* 基因的活跃表达减少了合成异黄酮的底物,进而影响异黄酮在豆荚中的积累^[21]。

相关分析表明, $F_{5:11}$ 群体 R6 期豆荚中异黄酮含量与部分酶基因(*PAL*,*CHS*,*IFS*,*F3H*)相对表达量之间存在显著相关性。说明苯丙烷代谢途径中相关酶基因的表达,能够调控异黄酮在大豆籽粒中的积累。可见,明确异黄酮合成相关酶基因的表达情况,能帮助理解异黄酮含量变异的遗传机制。

参考文献

- [1] Dhaubhadel S,McGarvey B D,Williams R,et al. Isoflavonoid biosynthesis and accumulation in developing soybean seeds[J]. Plant Molecular Biology,2003,53:733-743.
- [2] Brouns F. Soya isoflavones;a new and promising ingredient for the health food sector[J]. Food Research International,2002,35:187-193.
- [3] Murphy S E,Lee E A,Woodrow L,et al. Genotype \times environment interaction and stability for isoflavone content in soybean[J]. Crop Science,2009,49:1313-1321.
- [4] Yu O,Shi J,Hession A O,et al. Metabolic engineering to increase isoflavone biosynthesis in soybean seed[J]. Phytochemistry,2003,63:753-763.
- [5] Gutierrez-Gonzalez J J,Wu X L,Gillman J D,et al. Intricate environment-modulated genetic networks control isoflavone accumulation in soybean seeds[J]. BMC Plant Biology,2010,10:105.
- [6] 易金鑫,徐照龙,王峻峰,等. *GmCHS8* 和 *GmIFS2* 基因共同决定大豆中异黄酮的积累[J]. 作物学报,2011,37(4):571-578. (Yi J X,Xu Z L,Wang J F,et al. Accumulation of soybean isoflavone determined by *GmCHS8* and *GmIFS2* together[J]. Acta Agronomica Sinica,2011,37(4):571-578.)
- [7] 董李平. 大豆异黄酮代谢机理的研究[D]. 重庆:西南农业大学,2003:26-47. (Dong L P. Study of soybean isoflavone metabolic mechanism[D]. Chongqing: Southwest Agricultural University, 2003:26-47.)
- [8] Kim J A,Chung I M. Change in isoflavone concentration of soybean (*Glycine max* L.) seeds at different growth stages[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2007,87(3):496-503.
- [9] 张大勇. 大豆异黄酮含量影响因素的分析[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2009:80-94. (Zhang D Y. Analysis of factors effecting soybean isoflavone content[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University,2009:80-94.)
- [10] Wall S J,Edward D R. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (TR-PCR): A comparison of prime_dropping, competitive, and real-time RT-PCR[J]. Analytical Biochemistry, 2002,300(2):269-273.

- [11] Fehr W R, Caviness C E. Stages of soybean development [R]. Iowa; Iowa State University, 1977: 1-11.
- [12] Ritchie S W, Hanway J J, Thompson H E, et al. How a soybean plant develops [R]. Iowa; Iowa State University, 1996.
- [13] Zeng G L, Li D M, Han Y P, et al. Identification of QTL underlying isoflavone contents in soybean seeds among multiple environments [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118: 1455-1463.
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [15] 石海燕, 张玉星. 木质素生物合成途径中关键酶基因的分子特征 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(5): 288-291. (Shi H Y, Zhang Y X. Molecular characterization of key enzyme genes related to the pathway of lignin biosynthesis [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(5): 288-291.)
- [16] Yin Z, Meng F, Song H, et al. Expression quantitative trait loci analysis of two genes encoding rubisco activase in soybean [J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 152(3): 16-25.
- [17] 秦胜华, 颜秀娟, 李明妹, 等. 大豆源库流关系研究浅析 [J]. 湖南农业科学, 2010, 17: 54-56. (Qin S H, Yan X J, Li M S, et al. Analysis of relationships among source, sink and flux of soybean [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2010, 17: 54-56)
- [18] 闰兴中, 贾观钦. 大豆鼓粒期源库关系研究 [J]. 江苏农业学报, 1991, 7(4): 13-19. (Gui X Z, Jia G Q. Analysis of relationships among source and sink at soybean seed-filling period [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Science, 1991, 7(4): 13-19.)
- [19] 王玲玲, 杜吉到, 郑殿峰, 等. 大豆源库流关系的研究进展 [J]. 大豆科学, 2009, 28(1): 167-171. (Wang L L, Du J D, Zheng D F, et al. Advances in the studies of relation among source sink and flux of soybean [J]. Soybean Science, 2009, 28(1): 167-171.)
- [20] 刘洪梅, 李英, 卜贵军, 等. 大豆豆荚光合物质转运与分配对籽粒发育的影响 [J]. 核农学报, 2008, 22(4): 519-523. (Liu H M, Li Y, Bu G J, et al. Effect of photosynthetic material transporting and distributing of soybean pod to seed development [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2008, 22(4): 519-523.)
- [21] 柳青, 李欣达, 王玉民, 等. RNAi 干扰的 *F3H* 基因转化大豆的研究 [J]. 北京农业, 2010(15): 7-11. (Liu Q, Li X D, Wang Y M, et al. Studies on transformation of *F3H* gene interfered by RNAi in soybean [J]. Beijing Agriculture, 2010(15): 7-11.)

产业动态

四川省套作大豆创高产

张明荣

(国家大豆产业技术体系南充综合试验站)

近年来,四川大豆发展形势喜人,播种面积逐年扩大,据四川省农业厅统计,1985 年全省大豆播种面积为 175.5 万亩,至 2011 年全省大豆播种面积扩大到 630 万亩,单产水平也逐步提高,在全国大豆播种面积逐年萎缩的情况下,四川大豆生产呈现出强劲的发展态势。2012 年四川大豆生产又传来捷报,全省播种面积扩大到 640 万亩,尽管在大豆苗期遭受了持续多雨寡照危害,大豆仍然喜获丰收,比较效益显著提升。国家大豆产业技术体系为四川套作大豆的发展发挥了积极的技术支撑作用。

2012 年,南充综合试验站在西充青狮示范基地展示示范“玉/豆”、“玉/豆+豆”带状复合种植模式 120 亩,经南充市农牧局组织专家测产:“玉/豆+豆”模式高产攻关田大豆亩产达到 212.26 千克,以当地市场价 5.6 元/千克计,实现亩产值 1188.7 元;“玉/豆”模式高产攻关田大豆亩产达到 193.3 千克,实现亩产值 1082.4 元;“玉/豆”模式 100 亩平均亩产大豆 155.74 千克,比大面积平均亩产 103.6 千克增产 52.1%,亩增加收入 292.0 元。在阆中彭城镇示范基地展示“玉/豆”、“玉/豆+豆”带状复合种植模式 310 亩,经南充市农牧局组织专家测产,10 亩“玉/豆+豆”模式大豆平均亩产 182.4 千克,比大面积平均亩产 103.6 千克增产 76.1%,产量最高地块大豆亩产达到 232.19 千克;300 亩“玉/豆”模式平均亩产大豆 150.2 千克,比大面积平均亩产 103.6 千克增产 45.0%,亩增效益 261.0 元。国家大豆产业技术体系岗位科学家杨文钰教授在乐至县宝林镇示范基地示范机械化播种“玉/豆”模式 1000 亩,经组织专家测产,1000 亩平均亩产大豆 143.7 kg,比大面积增产 38.7%,亩增收效益 224.6 元。经南充综合试验站组织科技人员到服务区域大豆主产区大面积生产上随机抽样测产:大面积平均亩产达到 103.6 千克。

为了加大大豆综合试验站在大面积生产上所取得的成果的宣传,扩大在当地大豆农业生产中的影响,2012 年 10 月 8-11 日,华南农业大学年海教授和南充综合试验站联合主办了四川大豆生产现场观摩会议,农业部全国农技推广中心、四川省农业厅及地方主管农业的领导,大豆产业技术体系育种与种子研究室岗位科学家周新安研究员、年海教授,产业经济研究室岗位科学家何秀荣教授,机械研究室岗位科学家余永昌教授及朱丹华、陈渊、王铁军、朱星陶等综合试验站的相关专家共 20 余人参加了会议。

在观摩会上,参会代表考察了四川大豆主产区乐至、大英及西充三县的套作大豆高产示范和大面积生产情况。在考察途中,每到一处,都被满山遍野丰收在望的金色大豆所感动,参会的领导和大豆体系专家都充分肯定了套作大豆在四川大豆产业发展中的作用。农民在被采访时说:“以前我们种大豆没有收成,几乎不种大豆了,但现在在科技人员的帮助下,种大豆产量高、投入少、省工、效益高,今年大豆丰收了,今后我们还要继续扩大面积种大豆”。