

高异黄酮低豆腥味大豆新品种中黄 68 的选育

孙君明, 韩粉霞, 闫淑荣, 杨 华, 李 斌

(中国农业科学院 作物科学研究所/农业部大豆生物学重点实验室, 北京 100081)

**摘 要:**高异黄酮大豆品种中黄 68 系中国农业科学院作物科学研究所缺失脂肪氧化酶-2 基因(*lx-2*)的低豆腥味大豆品种中黄 18 为母本, 日本引进的 7S 蛋白亚基缺失( $\alpha'$  亚基缺失和  $\beta$  亚基含量低)的大豆材料 7S3 (Karikoi-434) 为父本, 经有性杂交, 采用高效液相色谱 (HPLC) 技术检测后代籽粒的异黄酮含量, 等电聚焦聚丙烯酰胺凝胶电泳 (IEF-PAGE) 技术检测脂肪氧化酶基因缺失, 并进行多年生化标记辅助选择而成。该品种 2013 年通过北京市品种审定委员会审定, 其突出特点是高产、稳产、异黄酮含量高 (5 135.86 mg·kg<sup>-1</sup>)、缺失脂肪氧化酶-2 基因 (*lx-2*)、商品性好、综合性状优良, 属高异黄酮含量低豆腥味的特用大豆新品种。

**关键词:**大豆; 新品种; 中黄 68; 高异黄酮; 低豆腥味

**中图分类号:** S565.1      **文献标识码:** A      **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.05.0900

Development of a Novel Soybean Cultivar Zhonghuang 68 with High Isoflavone Content and Low Off-Flavor

SUN Jun-ming, HAN Fen-xia, YAN Shu-rong, YANG Hua, LI Bin

(Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences /Ministry of Agriculture (MOA) Key Laboratory of Soybean Biology, Beijing 100081, China)

**Abstract:** A novel soybean cultivar-Zhonghuang 68 was developed in the Institute of Crop Science, CAAS, which derived from *cv.* Zhonghuang 18 (female parent, null lipoxigenase-2 gene) and line 7S3 (Male parent, Karikoi-434, null  $\alpha'$ -subunit and low content of  $\beta$ -subunit). This cultivar was developed by the biochemical marker assistant selection using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method for isoflavone content and Isoelectric Focusing-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (IEF-PAGE) method for lipoxigenase genes. In 2013, this variety was passed the examination and approved by Beijing Committee of Crop Variety Examination and Approval because of its outstanding characteristics, such as high and stable yield, high isoflavone content (5 135.86 mg·kg<sup>-1</sup>), null lipoxigenase-2 (*lx2*) gene, as well as good general characters. It belongs to the novel soybean variety with high isoflavone content and low off-flavor in China.

**Keywords:** Soybean; Novel cultivar; Zhonghuang 68; High isoflavone content; Low off-flavor

大豆不仅含有大量的植物蛋白和油脂, 且富含各种生物活性物质, 如大豆异黄酮、皂甙、脂肪氧化酶、胰蛋白酶抑制剂等。大豆异黄酮 (isoflavone) 是大豆体内形成的一类次生代谢产物。最近研究者发现大豆异黄酮组分三羟基异黄酮 (genistein) 在肿瘤细胞孕育中可有效地阻滞血管增生, 延缓或阻止肿瘤癌变<sup>[1-2]</sup>。另外, 研究者还发现大豆食品中的三羟基异黄酮是导致亚洲人癌症发病率低的主要原因, 特别是乳腺癌和前列腺癌<sup>[3]</sup>。大豆异黄酮作为植物雌激素, 具有抑制和协同的双向调节作用, 可有效改善女性的雌激素平衡, 减轻其更年期综合征<sup>[1]</sup>, 且在预防肿瘤、保护心血管疾病和防止骨质疏松等方面都具有重要生理活性, 因而引起国际营养学界的普遍重视<sup>[4]</sup>。

大豆异黄酮主要由 9 种异黄酮糖苷 (daidzin、glycitin、genistin、malonyldaidzin、malonylglycitin、malonylgenistin、acetyldaidzin、acetylglycitin 和 acetylgenistin) 和 3 种配糖体 (daidzein、glycitein 和 genistein) 共 12 种化合物组成<sup>[46]</sup>。在大豆种子中的异黄酮以大豆甙 (daidzin)、染料木甙 (genistin)、丙二酰基大豆甙 (malonyldaidzin) 和丙二酰基染料木甙 (malonylgenistin) 4 种组分为主, 占总含量的 80% ~ 90%<sup>[5,7]</sup>。

不同大豆品种的异黄酮含量是不同的。种子中的异黄酮总含量大约为 500 ~ 7 000 mg·kg<sup>-1</sup>, 平均含量在 1 000 ~ 2 000 mg·kg<sup>-1</sup>, 其中在种子下胚轴中的异黄酮含量最高, 子叶次之, 种皮中的含量最低<sup>[5-6]</sup>; 在大豆幼苗中, 以子叶中含量最高, 叶片和根中含量较低<sup>[8]</sup>。国内外科学家对大量的来自不同生态类型的大豆品种开展异黄酮含量的分析, 发现不同生态类型的大豆品种的异黄酮含量差异极显著, 显示其遗传差异的存在<sup>[5,7,10-13]</sup>。由于大豆异

收稿日期: 2015-02-03

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划 (2014BAD11B01-X02); 中央级公益性科研院所基本科研业务费和中国农业科学院科技创新工程。

第一作者简介: 孙君明 (1972-), 博士, 研究员, 主要从事大豆高产品质育种与栽培研究。E-mail: sunjunming@caas.cn。

黄酮具有预防癌症的功效,因而其市场需求潜力巨大,从1998年的30 t增至2008年的1 430 t,产值已达约70亿元,十年间的年产量增长近50倍。然而大豆籽粒中异黄酮总含量普遍较低,含量仅为0.1%~0.2%<sup>[5]</sup>,导致异黄酮提取成本显著增加,相应的异黄酮保健药品价格也普遍偏高,因此培育高异黄酮含量的大豆品种,对异黄酮保健药品的推广具有重要意义。

大豆脂肪氧化酶(Lipoxygenase)是引起大豆制品产生豆腥味的主要因子。它主要催化不饱和脂肪酸氧化,形成过氧化氢衍生物<sup>[14]</sup>,产生豆腥味等挥发性物质;在大豆加工中必须利用加热方法将其活性降低,这既消耗了能源,又降低了大豆蛋白利用率<sup>[15]</sup>。大豆籽粒中脂肪氧化酶主要由3种同工酶(Lox1、Lox2和Lox3)组成,分别由1对基因控制<sup>[16]</sup>,因此通过基因工程手段培育低豆腥味的大豆品种可提高大豆制品的加工品质和营养价值。

本研究利用低豆腥味大豆品种中黄18为母本,日本引进的7S蛋白亚基缺失材料为父本,采用有性杂交,结合HPLC和IEF-PAGE生化标记方法,经过多年标记辅助选择选育了国内第一个高异黄酮含量低豆腥味的大豆新品种中黄68,填补了国内大豆生化品质育种的空白。该品种2014年已申请了植物新品种权,品种权申请号:CNA20140676.3。

1 材料与方法

1.1 亲本来源

选用中国农业科学院作物科学研究所选育的缺失脂肪氧化酶-2基因(*lx-2*)的低豆腥味大豆品种中黄18为母本,日本引进的7S蛋白亚基缺失( $\alpha'$ 亚基缺失和 $\beta$ 亚基含量低)的大豆材料7S3(Karikoi-434)为父本,1997年进行杂交组配。

1.2 异黄酮含量HPLC检测

大豆异黄酮样品提取制备:取20 g左右大豆籽粒在旋风磨(Retsch ZM100,  $\Phi = 1.0$  mm, Rheinische, Germany)中磨粉;准确称取100 mg大豆粉放入试管中,加入5 mL含0.1% (V/V)乙酸的70% (V/V)乙醇水溶液中,放摇床中提取过夜,5 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液0.2 mm滤膜过滤,移至液谱专用瓶中4℃保存待用<sup>[17]</sup>。

采用Agilent 1100高效液相色谱仪(HPLC)检测大豆异黄酮含量<sup>[17]</sup>。检测条件:手动进样10  $\mu$ L。色谱柱:YMC-Pack, ODS-AM-303, 250 mm  $\times$  4.6 mm I.D., S-5  $\mu$ m, 120;柱温:35℃;流动相A含为0.1% (V/V)乙酸的超纯水,B为含0.1% (V/V)乙酸的

乙腈;梯度洗脱:13~35%;运行时间:65 min;流速:1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;检测波长:260 nm。

1.3 脂肪氧化酶基因鉴定

大豆脂肪氧化酶(Lox)基因采用薄层等电聚焦聚丙烯酰胺凝胶电泳(IEF-PAGE)技术进行基因缺失鉴定<sup>[18]</sup>。脂肪氧化酶提取:15 mg豆粉加入0.2 mL Tris-HCl-CaCl<sub>2</sub> (pH = 7.0)缓冲液中研磨,4℃下提取过夜后进行冷冻离心,取上清液4℃下保存备用。IEF胶版制备:使用含13.6% (29.1% Acr + 0.9% Bis)的聚丙烯酰胺凝胶溶液,4.0%两性电解质(pH4.0~8.0),0.82% APS和0.073% TEMED。凝胶规格为44 mm  $\times$  50 mm  $\times$  0.45 mm;IEF电泳和染色:15  $\mu$ L样品液按顺序点样到凝胶版正极,电泳全过程由系统内设定程序控制,电泳时间50 min。电泳后将凝胶先放入联苊香胺-亚油酸(pH8.5)酶染液中染色3 h,在进行考马斯亮蓝染色15 min,使Lox同工酶带显色。

1.4 蛋白质和脂肪含量测定

大豆籽粒中的蛋白质和脂肪含量的测定委托农业部谷物品质监督检验测试中心分别参照行业标准NY/T3-1982和NY/T4-1982检测完成。每个样品重复检测2次,取2次检测的平均值作为蛋白质和脂肪含量值。

1.5 数据分析

依据12种大豆异黄酮标准样品的保留时间和最大吸收光谱进行异黄酮组分定性,以波长260 nm的紫外吸收值为标准,参照Sun等<sup>[17]</sup>方法计算样品中异黄酮主要组分含量和总含量。利用SAS 9.1软件进行区试和品比试验的方差分析和差异显著性分析。

2 中黄68产量、品质、抗性与特征特性

2.1 亲本来源与选育报告

中黄68(原名中作02-760)是中国农业科学院作物科学研究所中黄18为母本,日本引进材料7S3为父本,经有性杂交选育而成。母本中黄18为高产矮秆低豆腥味大豆品种,抗大豆花叶病毒病;父本为日本引进的缺失7S亚基缺失的材料。1997年F<sub>1</sub>代,1998年温室加代,1999~2005年田间选择,2002年获优良单株中作02-760,2003~2004年进行品系鉴定试验,2005~2009年进行品比试验,2011~2012年参加北京市夏播大豆区域试验,2012年同时参加北京市夏播大豆生产试验,2013年通过北京市农作物品种审定委员会审定(图1)。

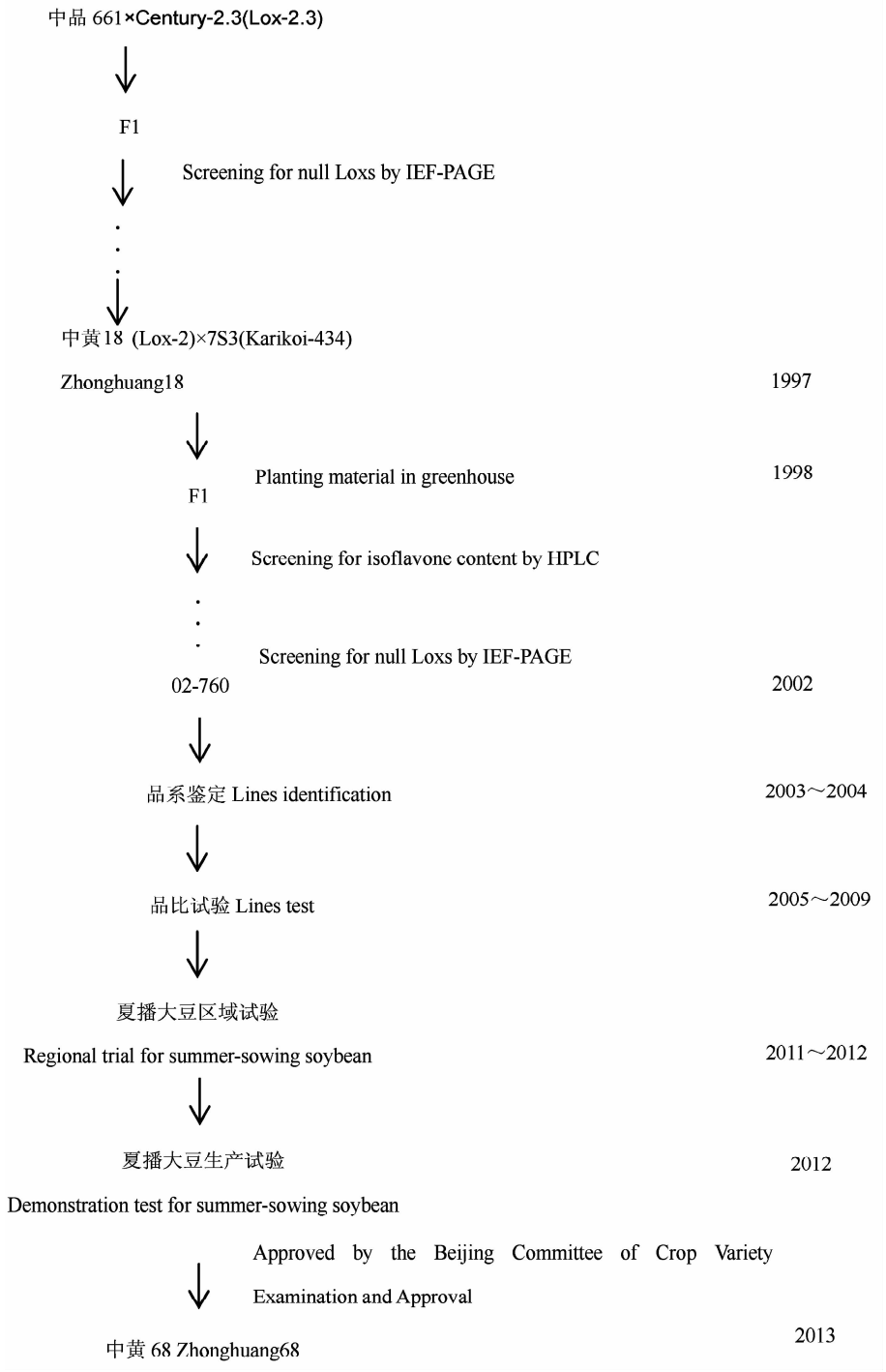


图 1 中黄 68 品种选育过程

Fig. 1 Breeding procedure of cv. Zhonghuang 68

2.2 产量表现

2004 年中黄 68 参加本所的鉴定试验,平均产量2 858.40 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照早熟 18 增产 27.27%。2005 年参加本所品比试验,平均产量 2 128.20 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照早熟 18 增产 27.18%;2006 年品比试验,平均产量2 418.45 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照早熟 18 增产 42.36%。2009 年参加品比试验,平均产量 1 720.80 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照冀豆 12 增产 30.1%。

2011~2012 年中黄 68 参加北京市大豆品种夏

播区域试验,2011 年平均产量3 100.05 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照科丰 12 增产 17.30%,比对照冀豆 12 增产 13.4%,增产均达极显著水平;2012 年平均产量 3 123.90 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照中黄 37 增产 -4.10%,比对照冀豆 12 增产 -7.2%;两年区试平均产量 3 112.5 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照冀豆 12 增产 2.1%(表 2)。2012 年参加北京市夏播生产试验,平均产量 3 345.9 kg·hm<sup>-2</sup>,比对照冀豆 12 增产 15.1%,比对照中黄 37 增产 4.5%(表 3)。

表 2 中黄 68 参加北京市大豆夏播区域试验产量结果

Table 2 Yield of soybean cv. Zhonghuang 68 in the regional trial for summer-sowing soybean in Beijing					
年度 Year	产量 Yield /kg·hm <sup>-2</sup>	对照品种 Control cultivar		增产 Increase /%	显著性 Significance
		名称 Variety	产量 Yield/kg·hm <sup>-2</sup>		
2011	3100. 05	科丰 14 Kefeng 14	2642. 85	17. 30	极显著 Highly significance
		冀豆 12 Jidou 12	2733. 30	13. 40	极显著 Highly significance
2012	3123. 90	中黄 37 Zhonghuang 37	3257. 10	- 4. 10	不显著 No significance
		冀豆 12 Jidou 12	3366. 75	- 7. 20	极显著 Highly significance
平均 Mean	3112. 50	冀豆 12 Jidou 12	3049. 50	2. 10	

表 3 中黄 68 参加北京市夏播生产试验产量结果

Table 3 Yield of soybean cv. Zhonghuang 68 in the demonstration test for summer-sowing soybean in Beijing					
地点 Plots	产量 Yield/kg·hm <sup>-2</sup>	对照品种 Control cultivar		增产 Increase /%	
		名称 Variety	产量 Yield/kg·hm <sup>-2</sup>		
北京房山 Fangshan, Beijing	3448. 20	冀豆 12 Jidou 12	3041. 40	13. 40	
		中黄 37 Zhonghuang 37	3068. 10	12. 40	
北京顺义 Shunyi, Beijing	3222. 00	冀豆 12 Jidou 12	2193. 00	46. 90	
		中黄 37 Zhonghuang 37	3285. 00	- 1. 90	
北京通州 Tongzou, Beiiing	3018. 00	冀豆 12 Jidou 12	3117. 00	- 3. 20	
		中黄 37 Zhonghuang 37	3183. 00	- 5. 20	
北京昌平 Changping, Beiiing	3694. 80	冀豆 12 Jidou 12	3271. 20	12. 90	
		中黄 37 Zhonghuang 37	3266. 40	13. 10	
平均值 Mean	3345. 90	冀豆 12 Jidou 12	2905. 80	15. 10	
		中黄 37 Zhonghuang 37	3200. 70	4. 50	

2.3 品种特征特性

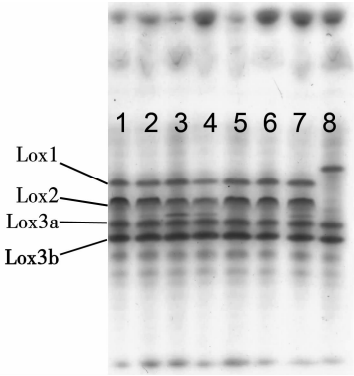
中黄 68 为夏播大豆品种。夏播生育期 110 d, 比对照科丰 14 和冀豆 12 晚熟 1 d, 比对照中黄 37 早熟 2 d。亚有限结荚习性, 卵圆叶, 白花, 棕毛, 黄荚。平均株高 115. 8 cm, 主茎节数 18. 5 个, 有效分枝 1. 4 个; 底荚高度 14. 2 cm, 单株有效荚数 52. 5 个; 椭圆粒, 种皮黄色, 有光泽, 黑脐, 百粒重 21. 4 g。

2.4 品质与抗性鉴定

大豆品种中黄 68 经农业部谷物品质监督检验测试中心测定, 其蛋白质含量 38. 91%, 脂肪含量 19. 79%。采用国标 NY/T1740-2009 方法检测, 中黄 68 的异黄酮组分黄豆苷含量 2 517. 54 mg·kg<sup>-1</sup>, 黄豆黄素苷含量 342. 80 mg·kg<sup>-1</sup>, 黄豆苷含量 2 275. 52 mg·kg<sup>-1</sup>, 总含量为 5 135. 86 mg·kg<sup>-1</sup>, 属高异黄酮含量特用大豆品种。另外, 经 IEF-PAGE 检测, 中黄 68 大豆种子中缺失脂肪氧化酶-2 基因 (lx2), 属低豆腥味大豆新品种。

经南京农业大学国家大豆改良中心大豆花叶病毒病 (SMV) 接种抗性鉴定, 2011 年中黄 68 对 SMV 的 3 号生理小种 (SC3) 表现中感, 对 7 号生理

小种 (SC7) 表现为抗病; 2012 年中黄 68 对 3 号生理小种 (SC3) 表现中感, 对 7 号生理小种 (SC7) 表现为中感 (表 4)。



电泳条带 1~7 为脂肪氧化酶正常品种; 条带 8 为脂肪氧化酶-2 基因缺失 (lx2) 品种中黄 68。

Lanes 1-7 represent the soybean varieties with normal lipoxigenase genes; Lane 8 represents the cv. Zhonghuang 68 with null lipoxigenase-2 gene (lx2).

图 2 大豆脂肪氧化酶基因检测的 IEF-PAGE 电泳图谱  
Fig. 2 IEF-PAGE electrophoretogram for lipoxigenase screening in soybean seeds

表4 中黄68对大豆花叶病毒病抗性鉴定结果

Table 4 Resistance to Soybean Mosaic Virus of soybean cv. Zhonghuang 68

年份 Year	SMV-SC3		SMV-SC7	
	病情指数 Disease index /%	抗性结论 Resistant level	病情指数 Disease index /%	抗性结论 Resistant level
2011	45	中感 Middle resistance	8	抗病 Resistance
2012	45	中感 Middle resistance	36	中感 Middle resistance

中黄68对大豆花叶病毒病的抗性鉴定委托南京农业大学大豆研究所完成。  
Resistance to SMV of cv. Zhonghuang 68 was determined by the Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University.

2.5 适应种植范围

中黄68适宜京津地区及河北、山东、山西等省部分地区夏播种植。

2.6 栽培技术措施

2.6.1 精选良种 中黄68的大田用良种必须经过仔细筛选,剔除破碎粒、秕粒、小粒、虫食粒、病粒、异种粒以及其它杂物等。选用籽粒饱满未破碎粒作大豆种子备用。

2.6.2 适时早播,种植密度适中 中黄68为夏播大豆品种,麦收后应及时灭茬中耕施肥,适时早播,足墒播种。京津地区适宜在6月中下旬播种,行距50 cm左右,株距10 cm左右,适宜密度22.5万株·hm<sup>-2</sup>左右。

2.6.3 田间管理措施 中黄68适宜中、上等肥力地块夏播种植,播前施有机肥10 005 kg·hm<sup>-2</sup>、磷酸二铵150 kg·hm<sup>-2</sup>;出苗后适时间苗、定苗,如有缺苗及时补苗,确保苗齐、苗壮;出苗后及时中耕锄草,开花初期和鼓粒期注意浇水、初花期追施75 kg·hm<sup>-2</sup>氮磷钾三元复合肥;苗期及时中耕除草;开花结荚期注意防治病虫害;成熟期应及时收获,防治炸荚和烂荚。

3 中黄68应用前景分析

据研究报道,美国每年有40万乳腺癌和前列腺癌患者,其中4.5万乳腺癌和3.3万前列腺癌患者死亡,数目相当惊人。目前我国人口结构日趋老龄化,男性45岁以上前列腺疾病和女性中年以上乳腺疾病患者为数也相当可观。而大豆异黄酮对癌症特别是乳腺癌和前列腺癌具有较好的抑制作用,可提高人体免疫力。因此培育高异黄酮含量的大豆品种,制成保健品或提取为药品,为特殊人群提供特种医疗和保健需要势在必行。另外,异黄酮还能够抑制和清除自由基,预防和减轻自由基对畜禽机体损伤,可以作为添加剂加入日粮中防止畜禽应激反应和提高生产性能。

“九五”期间,国家大豆改良中心将异黄酮含量高于3 500 mg·kg<sup>-1</sup>的大豆品种定义为高异黄酮含量品种。2000年中国农业科学院作物科学研究所

曾在北京市审定通过了国内第一个高异黄酮含量大豆品种中豆27,其异黄酮含量为3 704 mg·kg<sup>-1</sup> [19]。其后国内许多大豆育种单位陆续审定一系列高异黄酮含量的大豆新品种,如垦农21(4 748 mg·kg<sup>-1</sup>) [20]、垦鉴豆43(4 821 mg·kg<sup>-1</sup>) [21]、东农51(4 557 mg·kg<sup>-1</sup>) [22]、东农53(4 250 mg·kg<sup>-1</sup>) [23]、吉育94(4 230 mg·kg<sup>-1</sup>) [24]和吉育97(3 630 mg·kg<sup>-1</sup>) [25]等,上述品种的异黄酮含量均未超过5 000 mg·kg<sup>-1</sup>,而中黄68的异黄酮含量高达5 135.86 mg·kg<sup>-1</sup>。另外,由于大豆籽粒中异黄酮含量受环境条件的影响较大,同一品种不同年份间其异黄酮含量差异较大 [27],而中黄68大豆品种的异黄酮含量在连续3年的HPLC检测中,其异黄酮含量均稳定在4 500 mg·kg<sup>-1</sup>以上,是迄今为止通过审定的异黄酮含量最高且相对稳定的高异黄酮大豆新品种。如果利用中黄68进行大豆异黄酮活性物质的提取,将比普通品种提高效率2~3倍,具备进行大豆异黄酮产业化加工的广阔前景。另外,该品种经IEF-PAGE法检测缺失脂肪氧化酶-2基因,豆腥味低。中国农业科学院作物科学研究所和国内其他科研单位也相继培育出1批低豆腥味大豆新品种,如中黄16、中黄18、中黄28 [27]、中黄31、五星1号和五星2号等,但通过审定的异黄酮含量高同时缺失脂肪氧化酶-2基因的大豆品种目前国内外尚未见有关报道,中黄68是我国第一个通过省市审定的高异黄酮低豆腥味的大豆新品种,填补了我国大豆生化品质育种空白。

参考文献

[1] Adlercreutz C H T, Goldin B R, Gorbach S L, et al. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk [J]. Journal of Nutrition, 1995, 125: 757S-770S.

[2] Peterson T G, Barnes S. Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cells; Independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene [J]. Biochemical Biophysical Research Communications, 1991, 179: 661-667.

[3] Coward L, Barnes N C, Setchell K D R. Genistein, daidzein, and their glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41: 1961-1967.

[4] 孙君明, 韩粉霞. 植物次生代谢产物异黄酮的调控机理 [J]. 西南农业学报, 2005, 18(5): 663-667. (Sun J M, Han F X. Manipulating mechanism of secondary metabolites-isoflavone in plants [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2005, 18(5): 663-667. )

[5] 孙君明, 丁安林, 常汝镇, 等. 中国大豆异黄酮含量的初步分析 [J]. 中国粮油学报, 1995, 10(4): 51-54. (Sun J M, Ding A L, Chang R Z, et al. Preliminary analysis on soybean isoflavones content in China [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 1995, 10(4): 51-54. )

[6] Kudou S, Fleury Y, Welti D, et al. Malonyl isoflavone glucosides in soybean seeds (*Glycine max* Merri) [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1991, 55(9): 2227-2233.

[7] 孙君明, 韩粉霞, 丁安林. 高效液相色谱 (HPLC) 技术鉴定中国南方大豆品种异黄酮主要组分 [J]. 植物遗传资源学报, 2004, 23(4): 245-248. (Sun J M, Han F X, Ding A L. Determination of major isoflavone components based on HPLC technology in southern soybean varieties in China [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2004, 5(3): 222-226. )

[8] 孙君明, 丁安林, 沈黎明. 光照对大豆幼苗组织中异黄酮含量和分布的影响 [J]. 植物学报, 1998, 40(11): 1015-1021. (Sun J M, Ding A L. Light effect on the tissue contents and distribution of isoflavones in the developing seedling of soybean [J]. Acta Botanica Sinica, 1998, 40(11): 1015-1021. )

[9] Kitamura K, Igita K, Kikuchi A, et al. Low isoflavone content in some early maturing cultivars, so-called "Summer type soybean" (*Glycine max* (L.) MERRILL) [J]. Japan Journal of Breed, 1991, 41: 651-654.

[10] 林红, 来永才, 齐宁, 等. 黑龙江省野生大豆、栽培大豆高异黄酮种质资源筛选 [J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(1): 53-55. (Lin H, Lai Y C, Qi N, et al. Screening of germplasm with high content of isoflavones in wild and cultivated soybean in Heilongjiang [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(1): 53-55. )

[11] 来永才, 李炜, 王庆祥, 等. 黑龙江省野生大豆高异黄酮新种质创新利用 I 异黄酮含量及与籽粒相关性状的分析 [J]. 大豆科学, 2006, 25(4): 414-416. (Lai Y C, Li W, Wang Q X, et al. Innovation and utilization of new high isoflavone resource of wild soybean in Heilongjiang province I Analysis of isoflavone content and relevant of characters [J]. Soybean Science, 2006, 25(4): 414-416. )

[12] 李辉, 戴常军, 兰静, 等. 黑龙江栽培大豆异黄酮含量的初步分析 [J]. 中国粮油学报, 2007, 22(1): 38-40. (Li H, Dai C J, Lan J, et al. Primary Analyse of Isoflavones content in Heilongjiang province soybean cultivars [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2007, 22(1): 38-40. )

[13] 葛一楠, 孙君明, 韩粉霞, 等. 代表性大豆种质异黄酮主要组分含量鉴定 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(6): 921-927. (Ge Y N, Sun J M, Han F X, et al. Major isoflavone components in soybean seeds from the representative core samples [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(6): 921-927. )

[14] Axelrod B. Lipoygenase form soybeans [J]. Meth enzymol, 1981, 71: 441-451.

[15] 韩粉霞, 孙君明, 丁安林, 等. 缺失 Kunitz 胰蛋白酶抑制剂和脂肪氧化酶 2 的大豆新品种中黄 31 的选育 [J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(2): 210-213. (Han F X, Sun J M, Ding A L, et al. Development of a new soybean variety Zhonghuang 31 with null kunitz trypsin inhibitor and lipoygenase 2 genes [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2006, 28(2): 210-213. )

[16] Eskin N A M. Biochemistry of lipoygenase EC01, 13, 11, 13 in relation to food quality [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1977, 9: 1-41.

[17] Sun J M, Sun B L, Han F X, et al. Rapid HPLC method for determination of 12 isoflavone components in soybean seeds [J]. Agricultural Science China, 2011, 10: 70-77.

[18] 丁安林, 傅翠真, 常汝镇, 等. 大豆中脂肪氧化酶同工酶的鉴定研究 [J]. 作物学报, 1994, 20(3): 373-374. (Ding A L, Fu C Z, Chang R Z, et al. Study on identifying fatty oxidase isozymes in soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 1994, 20(3): 373-374. )

[19] 韩粉霞, 丁安林, 孙君明. 高异黄酮含量大豆新品种中豆 27 的特征特性及栽培技术要点 [J]. 大豆科学, 2002, 21(3): 231-233. (Han F X, Ding A L, Sun J M. Development of a new soybean variety with high isoflavone Zhongdou 27 and its cultivation practices [J]. Soybean Science, 2002, 21(3): 231-233. )

[20] 朱洪德, 谢甫娣, 费志宏. 高油高异黄酮大豆新品种垦农 21 的选育和配套栽培技术 [J]. 种子, 2006(5): 92-95. (Zhu H D, Xie F T, Fei Z H. Breeding and cultivation of new soybean variety Kennong 21 with high oil an high isoflavone [J]. Seeds, 2006(5): 92-95. )

[21] 朱洪德, 王树坤, 费志宏, 等. 高异黄酮大豆新品种垦鉴豆 43 的育成及配套高产栽培技术 [J]. 黑龙江农业科学, 2006(3): 14-16. (Zhu H D, Wang S K, Fei Z H, et al. Breeding and cultivation of new soybean variety Kenjiandou 43 with high isoflavone [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2006(3): 14-16. )

[22] 宁海龙, 李文滨, 李文霞, 等. 高异黄酮含量大豆新品种东农 51 号的选育 [J]. 作物杂志, 2007(6): 96. (Ning H L, Li W B, Li W X, et al. Breeding of new soybean variety Dongnong 51 with high isoflavone [J]. Crops, 2007(6): 96. )

[23] 宁海龙, 李文滨, 李文霞, 等. 高油高异黄酮含量大豆新品种东农 53 号的选育 [J]. 作物杂志, 2010(4): 104. (Ning H L, Li W B, Li W X, et al. Breeding of new soybean variety Dongnong 53 with high oil an high isoflavone [J]. Crops, 2010(4): 104. )

[24] 李楠, 颜秀娟, 李明姝, 等. 高异黄酮含量、高产大豆新品种吉育 94 的选育及栽培技术 [J]. 吉林农业科学, 2009, 34(3): 14-15. (Li N, Yan X J, Li M S, et al. Breeding and cultivation of new soybean variety Jiyu 94 with high yield an high isoflavone [J]. Jilin Agricultural Sciences, 2009, 34(3): 14-15. )

[25] 马巍, 王新风, 王巍巍, 等. 高油高异黄酮春大豆新品种吉育 97 的选育 [J]. 湖北农业科学, 2013(4): 771-772. (Ma W, Wang X F, Wang W W, et al. Breeding of new soybean variety Jiyu 97 with high oil an high isoflavone [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013(4): 771-772. )

[26] Zhang J Y, Ge Y N, Han F X, et al. Isoflavone content of soybean cultivars from maturity group 0 to VI grown in northern and southern China [J]. Journal of American Oil Chemists Society, 2014, 91: 1019-1028.

[27] 孙君明, 韩粉霞, 丁安林. 优质大豆新品种 [J]. 大豆科学, 2002, 21(1): 81-82. (Sun J M, Han F X, Ding A L. Supreme new soybean variety [J]. Soybean Science, 2002, 21(1): 81-82. )