

西南大豆种质资源的化学评价及其 与田间霉变抗性的相关性研究

张潇文¹, 罗 涵¹, 吴海军¹, 杨才琼¹, 刘卫国^{1,2}, 刘 江^{1,2*}, 杨文钰^{1*}

¹农业部西南作物生理生态与耕作重点实验室; ²四川农业大学生态农业研究所, 成都 611130

摘要:以西南地区不同来源的 15 个大豆种质资源为研究对象, 研究大豆主要化学成分与其田间霉变抗性间的相关性。采用高效液相色谱法测定大豆中 12 种异黄酮含量, 气质联用法测定大豆中 19 种脂肪酸含量, 分光光度法测定大豆皂苷、可溶性多糖、蛋白含量, 并进行聚类及相关性分析。结果表明, 15 个大豆种质资源依据化学成分含量被分为 5 个类别, C103 等材料的品质性状优良, 具有较好的田间霉变抗性, 可作为优质大豆种质资源进一步开发利用。棕榈酸、反亚油酸和芥酸等脂肪酸组分含量高的大豆材料其霉变程度更高, A 环 C-6 位甲氧基化的 GL 型异黄酮(黄豆黄素、黄豆黄苷、乙酰黄豆黄苷、丙二酰黄豆黄苷)及异黄酮苷元含量高的大豆具有更大的抗霉变潜力。

关键词:大豆; 脂肪酸; 异黄酮; 皂苷; 田间霉变

中图分类号: S435.29

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.7.003

Correlation Analysis Between Chemical Profiles and Field Mildew Resistance in Different Soybean Genotypes

ZHANG Xiao-wen¹, LUO Han¹, WU Hai-jun¹, YANG Cai-qiong¹,

LIU Wei-guo^{1,2}, LIU Jiang^{1,2*}, YANG Wen-yu^{1*}

¹Key Laboratory of Crop Ecophysiology and Farming System in Southwest, Ministry of Agriculture;

²Institute of Ecological Agriculture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: Fifteen soybean germplasm resources were tested in this current research, they were collected from different areas of Southwest China. Correlation analyses between the main chemical constituents of the soybean and their field mildew resistance were conducted. The quantification of 12 isoflavones in soybean seeds were performed using an Agilent 1100-series high performance liquid chromatography (HPLC) system. The content of 19 fatty acids were measured using gas chromatograph-mass spectrometry (GC-MS). The soyasaponin, soluble polysaccharides and protein content were measured by UV-Vis spectrophotometry. From the result of our research, these fifteen soybean germplasms were divided into five groups. Soybean seed of C103 with high quality and better field mildew resistance, it can be used as high-quality soybean germplasm for further exploitation. Soybean seeds with higher mildew degree were rich in palmitic acid, translinoleic acid, erucic acid, etc. GL type of isoflavones (glycitein, glycitin, acetylglycitin, malonylglycitin) and aglycone were rich in the soybean germplasms with greater potential resistance effect for field mildew. Those isoflavones were methoxylation in the C-6 site of A-ring.

Key words: soybean; fatty acid; isoflavone; saponin; field mildew

西南大豆生产受到收获期低温高湿天气的影响, 导致大豆田间霉变泛滥成灾, 严重影响大豆产量和品质。我们的前期研究发现, 大豆蛋白质、脂肪、多糖等主要营养成分的含量随着田间霉变程度的增

加而降低^[1]; 不同大豆种质资源对田间霉变的响应程度不同, 脂肪是导致大豆籽粒田间霉变发生的主要品质诱因^[2]。大豆脂肪酸主要含有棕榈酸、硬脂酸等饱和脂肪酸(约占 15%), 亚油酸、油酸、 α -亚麻酸等不饱和脂肪酸(约占 85%)^[3], 已有研究表明, 不饱和脂肪酸易被氧化, α -亚麻酸更易导致豆油氧化变质, 降低 α -亚麻酸含量一度成为大豆育种的热方向^[4], 而上述不同类型脂肪酸含量与大豆田间

收稿日期: 2016-03-09 接受日期: 2016-05-05

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(31401329); 中国博士后科学基金面上项目(2014M560724)

* 通讯作者 E-mail: jiangliu@sicau.edu.cn; mssiyangwy@sicau.edu.cn

霉变感菌程度间是否也存在一定关联,这有待进一步探究。另一方面,大豆异黄酮具有极佳的抑菌活性,已有研究表明,大豆异黄酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、米根霉等多种细菌或真菌均具有明显的抑制作用^[5];直接从大豆中纯化得到的皂苷类成分的抑菌活性虽鲜有报道,但在其他豆科植物(苜蓿、羽扇豆、黄芪等)中获得的大豆皂苷(soyasaponin)类成分对木霉菌、稻瘟霉菌、白色念珠菌、大肠杆菌等均具有较好的抑制作用^[6];大豆异黄酮、皂苷等抑菌成分的含量与其田间霉变抗性之间是否存在关联,还尚不清楚。

本研究基于课题组前期阶段性研究结果,对具有不同田间霉变抗性的大豆种质资源的化学成分,

包括感菌的蛋白质、多糖、脂肪酸类成分,抗菌的异黄酮、皂苷类组分进行了分析比较,解析了不同抗性大豆材料的感菌、抗菌成分的组成情况,及其与田间霉变抗性间的关系,以期为优质大豆品种的选育,大豆天然产物的深入开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究所用大豆材料为从四川、重庆、广西等西南地区搜集得到的大豆种质资源,包括野生资源和西南大豆生产中常用的典型品种及未审定的育种中间材料^[1],样品信息如表1所示。

表1 供试大豆材料信息

Table 1 Soybean germplasms information

编号 Code	样品来源 Origin	种皮颜色 Coat color	籽粒霉变指数 Mildew index of seed	备注 Note
2080	四川地方材料	黄	26.79	野生种
2162	四川地方材料	黑	2.50	野生种
贡 378-1	四川地方材料	黄	48.92	育种材料
南 256-1	四川地方材料	黄	45.99	育种材料
D16	自贡市农科所	黄	32.90	栽培种(南豆 12)
雅安黑豆	四川地方材料	黑	3.72	野生种
A3	四川都江堰	黑	12.27	野生种
C103	南充市农科所	黑	1.61	育种材料
D15	四川自贡市	黄	58.79	野生种
D49	自贡市农科所	褐	12.04	野生种
E60	重庆市永川区	黄	54.60	野生种
E61	四川地方材料	绿	40.68	野生种
E70	广西农科院	绿	53.37	野生种
T41	四川地方材料	棕	10.56	野生种
T44	四川地方材料	棕	19.19	野生种

1.2 仪器设备与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱系统(Agilent Technologies, USA), 配备色谱柱 YMC-pack ODS-AQ (250 × 4.6 mm, S-5 μm, 12 nm); 岛津 2010 气相色谱质谱联用仪(SHIMADZU, Japan) 配备 RTX-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 石英毛细管柱。Milli-Q 超纯水系统(Millipore, USA)、分析天平(Sartorius BSA224S-CW, Germany)、移液器(Eppendorf, Germany)、漩涡振荡器(Scientific Industries, America)、Foss(Cyclotec 1093, Denmark)、离心机(BECKMAN Coulter Avanti J-25I, USA)、可见分光光度计(美普

达, 中国上海)、有机相针式滤头(13 mm × 0.22 μm)。

色谱纯乙腈(Thermo Fisher Scientific); 大豆混合脂肪酸甲酯标准样品(Nu-Chek Prep, Inc. USA, 货号: JA22-L); 12 种大豆异黄酮标准样品中, 6 个大豆异黄酮苷元及糖苷均购自 Weikeqi Bio-Technology Co., Ltd, China; 大豆苷元(DE, 批号: 130715)、黄豆黄素(GLE, 批号: 130716)、染料木素(GE, 批号: 130426)、大豆苷(DG, 批号: 131214)、染料木苷(GEG, 批号: 130429)、黄豆黄苷(GLG, 批号: 130629); 6 个酰化大豆异黄酮糖苷均购自 Wako

Pure Chemical Industries, Japan; 丙二酰大豆苷 (MD, 批号: ZYS-132-13821)、丙二酰染料木苷 (MG, 批号: ZYS-136-13841)、丙二酰黄豆黄苷 (MGL, 批号: ZYS-139-13831)、乙酰大豆苷 (AD, 批号: ZYS-013-18801)、乙酰染料木苷 (AG, 批号: ZYS-010-18811)、乙酰黄豆黄苷 (AGL, 批号: ZYS-010-18791); 大豆皂苷 Soyasaponin Bb (Must Bio-Technology Co., Ltd, China, 批号: MUST-15021104)、牛血清蛋白 BSA (REGAL Co., Ltd, China, 批号: 131109), 其它试剂均为市售普通分析纯产品。

1.3 实验方法

1.3.1 GC-MS 法测定脂肪酸含量

准确称取经粉碎干燥后的豆粉 100.0 mg 于 10 mL 离心管 1 中, 加 1.5 mL 正己烷超声振荡 15 min, 室温浸提 3 h, 6000 rpm 离心 5 min 后转移上层正己烷于离心管 2; 另取 1.5 mL 正己烷于离心管 1, 超声振荡 15 min, 合并离心后上层正己烷至离心管 2, 挥干离心管 1 内正己烷保存残余豆粉测定皂苷含量。于离心管 2 内加入 3.0 mL 甲酯化试剂 (0.4 mol/L KOH-MeOH) 进行甲酯化, 室温涡旋 30 s, 静置 60 min, 离心取上清液至 5 mL 容量瓶并定容, 移至色谱专用样品瓶中, 4 °C 冰箱保存待测。

大豆脂肪酸含量采用气相色谱质谱联用法 (岛

津 GCMS-QP2010) 定量测定, 色谱、质谱条件参考相关文献作进一步优化^[3]。分析检测条件为, 色谱柱: RTX-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 自动进样, 进样量: 1 μL; 采用分流进样, 分流比: 10:1; 进样口温度: 250 °C; 载气: 氦气, 40 mL/min; 采用程序升温的方式: 130 °C 保持 2 min, 以 6.5 °C/min 升到 170 °C, 保持 6 min, 然后以 3 °C/min 升到 215 °C 保持 13 min, 以 3 °C/min 升到 230 °C 保持 10 min; 离子源温度: 200 °C; 接口温度: 280 °C; 溶剂延迟时间: 0.97 min; 采用 SIM 模式测定, 标准曲线由 Lab solution 自动生成与校正。

1.3.2 HPLC 法测定异黄酮含量

大豆籽粒经 Foss 粉样机粉碎, 取适量豆粉于铝盒置 40 °C 真空干燥机干燥 24 h, 冷却至室温; 准确称量 200.0 mg 豆粉, 置于 10 mL 带盖的离心管中, 加入 80% 甲醇水溶液 5 mL (料液比 1:40); 密封, 漩涡振荡器震荡 10 s; 于 40 °C 超声 (40 KHz, 300 W) 提取 3 h, 11000 × g 离心 10 min, 取上清液约 1.5 mL 过 0.22 μm 滤膜 (有机相针式滤头) 至 2 mL 进样瓶, -20 °C 保存待测。

大豆异黄酮含量采用高效液相色谱法测定, 该方法在课题组原有测试方法的基础上^[7], 结合相关参考文献进行进一步优化^[8]。进样量 5 μL; 柱温 30 °C;

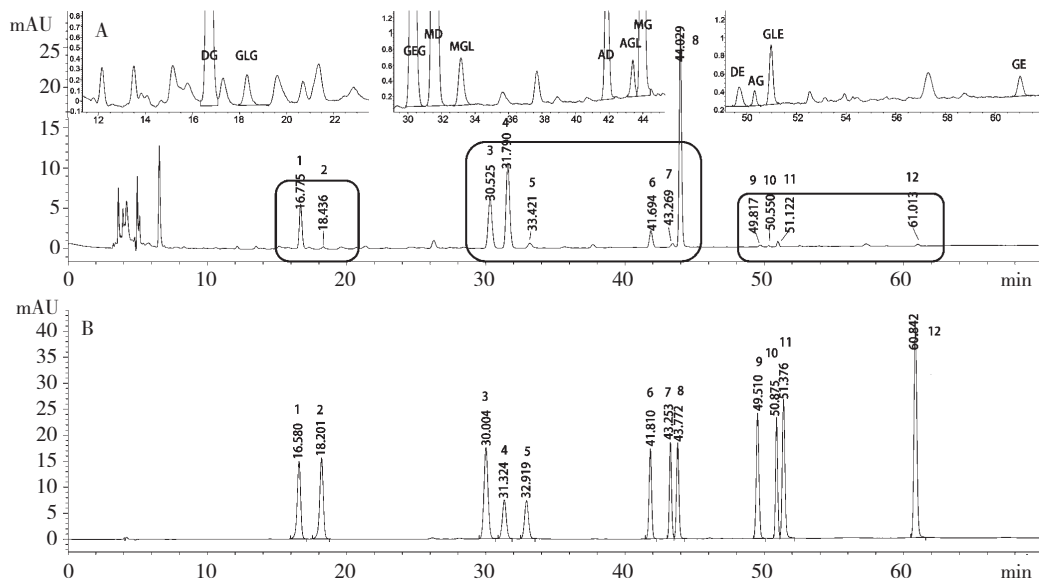


图 1 大豆样品 (A) 及异黄酮标准品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of soybean sample (A) and soy isoflavone standards (B)

注: 1-大豆苷元; 2-黄豆黄苷; 3-染料木苷; 4-丙二酰大豆黄苷; 5-丙二酰黄豆黄苷; 6-乙酰大豆黄苷; 7-乙酰黄豆黄苷; 8-丙二酰染料木苷; 9-大豆苷元; 10-乙酰染料木苷; 11-黄豆黄素; 12-染料木素

Note: peak 1-daidzin (DG); 2-glycitin (GLG); 3-genistin (GEG); 4-malonyldaidzin (MD); 5-malonylglycitin (MGL); 6-acetyldaidzin (AD); 7-acetylglycitin (AGL); 8-malonylgenistin (MG); 9-daidzein (DE); 10-acetylgenistin (AG); 11-glycitein (GLE); 12-genistein (GE)

流动相为 100% 乙腈 (A) 和 0.1% (V/V) 乙酸水溶液 (B); 流速 0.8 mL/min; 以 A (V/V): 0 min 15%, 0~30 min 20%, 30~60 min 40%, 60~70 min 40% 梯度洗脱; 延迟时间 5 min。检测波长 260 nm。大豆样品、混合标准品典型色谱图及色谱峰归属如图 1 所示。

1.3.3 分光光度法测定皂苷、可溶性多糖、可溶性蛋白含量

大豆总皂苷含量参考 Seguin P^[9] 的方法, 采用

香草醛-高氯酸水解比色法测定, 在 563 nm 下测定吸光度值, 以 Soysaponin Bb 为标准对照品, 绘制标准曲线为 $Y = 0.0026X - 0.0051$, $R^2 = 0.9994$ 。可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[10], 以牛血清蛋白为标准对照在 595 nm 下测定吸光值, 绘制标准曲线 $Y = 0.0047X + 0.0257$, $R^2 = 0.9996$; 可溶性多糖含量采用硫酸苯酚法测定^[1], 以葡萄糖为标准对照在 490 nm 下测定吸光值, 绘制标准曲线 $Y = 0.0069X + 0.0437$, $R^2 = 0.9993$ 。

表 2 不同大豆种质资源的化学成分变异分析

Table 2 Variation of chemical constituents in various soybean germplasms

材料 Sample	皂苷 Saponin (%)	可溶性 蛋白 Soluble protein (%)	可溶性 多糖 Polysaccharide (%)	脂肪酸 Fatty acid (%)			异黄酮 Isoflavone (%)					
				总脂肪 酸含量 Total content	饱和 脂肪酸 Saturated fatty acid	不饱和 脂肪酸 Unsaturated fatty acid	总异黄 酮含量 Total content	游离苷元 Aglycone	葡萄糖苷 β -Glucoside	丙二酰异 黄酮苷 Malonylg lucoside	乙酰异 黄酮苷 Acetylgl ucoside	
2080	0.4862 ± 0.0086	30.35 ± 0.93	7.22 ± 0.20	41.16 ± 2.83	5.44 ± 0.33	35.72 ± 2.49	3.46 ± 0.05	0.0929 ± 0.0061	1.93 ± 0.03	1.30 ± 0.02	0.1378 ± 0.0062	
2162	0.4516 ± 0.0117	25.81 ± 0.75	7.13 ± 0.19	43.60 ± 0.87	5.52 ± 0.42	38.08 ± 0.58	2.56 ± 0.06	0.1623 ± 0.0134	1.27 ± 0.01	1.03 ± 0.04	0.0944 ± 0.0023	
贡 378-1	0.4957 ± 0.0111	23.59 ± 0.35	7.10 ± 0.15	55.28 ± 2.71	6.79 ± 0.84	48.49 ± 1.91	4.60 ± 0.12	0.1491 ± 0.00713	2.44 ± 0.08	1.80 ± 0.03	0.2006 ± 0.0039	
南 256-1	0.5576 ± 0.0112	29.67 ± 0.36	8.39 ± 0.05	42.56 ± 0.86	5.57 ± 0.32	36.99 ± 0.96	3.38 ± 0.09	0.1160 ± 0.0057	1.82 ± 0.03	1.32 ± 0.05	0.1280 ± 0.0052	
D16	0.3602 ± 0.0064	29.37 ± 0.30	7.06 ± 0.13	48.62 ± 0.74	6.22 ± 0.30	42.40 ± 1.00	1.99 ± 0.05	0.1144 ± 0.0064	0.98 ± 0.03	0.82 ± 0.02	0.0775 ± 0.0029	
雅安黑豆	0.6496 ± 0.0142	27.42 ± 0.60	7.68 ± 0.22	44.28 ± 1.41	5.81 ± 0.20	38.47 ± 1.21	2.69 ± 0.04	0.2127 ± 0.0052	1.54 ± 0.01	0.85 ± 0.02	0.0918 ± 0.0030	
A3	0.5566 ± 0.0137	30.19 ± 0.30	7.96 ± 0.22	41.08 ± 2.86	5.55 ± 0.28	35.52 ± 2.60	1.88 ± 0.06	0.1655 ± 0.0084	0.92 ± 0.04	0.70 ± 0.02	0.0876 ± 0.0056	
C103	0.5387 ± 0.0139	26.49 ± 0.19	7.21 ± 0.20	43.60 ± 2.02	5.09 ± 0.57	38.52 ± 1.67	5.15 ± 0.21	0.2611 ± 0.0123	2.69 ± 0.08	1.99 ± 0.11	0.2052 ± 0.0114	
D15	0.5618 ± 0.0107	29.02 ± 0.63	7.69 ± 0.08	49.48 ± 1.73	5.83 ± 0.66	43.65 ± 1.11	3.67 ± 0.11	0.2255 ± 0.0033	1.91 ± 0.07	1.39 ± 0.04	0.1448 ± 0.0033	
D49	0.6081 ± 0.0109	28.63 ± 0.43	7.06 ± 0.06	48.55 ± 1.57	6.73 ± 0.28	41.81 ± 1.29	1.96 ± 0.03	0.0891 ± 0.0028	1.06 ± 0.02	0.73 ± 0.01	0.0834 ± 0.0009	
E60	0.4169 ± 0.0109	29.57 ± 0.85	7.56 ± 0.09	42.33 ± 1.51	5.22 ± 0.19	37.12 ± 1.37	2.02 ± 0.67	0.1128 ± 0.0135	1.06 ± 0.32	0.76 ± 0.30	0.0886 ± 0.0305	
E61	0.4547 ± 0.0100	27.43 ± 0.17	8.64 ± 0.18	44.48 ± 2.58	6.17 ± 0.36	38.31 ± 2.23	3.95 ± 0.06	0.2123 ± 0.0045	2.06 ± 0.04	1.54 ± 0.03	0.1405 ± 0.0041	
E70	0.5566 ± 0.0083	27.76 ± 0.43	8.35 ± 0.17	38.72 ± 0.65	4.75 ± 0.23	33.97 ± 0.86	2.91 ± 0.01	0.0887 ± 0.0077	1.57 ± 0.01	1.13 ± 0.03	0.1321 ± 0.0002	
T41	0.6480 ± 0.0083	23.58 ± 0.37	7.52 ± 0.10	42.33 ± 0.29	4.51 ± 0.37	37.82 ± 0.61	3.92 ± 0.07	0.2373 ± 0.0032	2.04 ± 0.06	1.48 ± 0.00	0.1639 ± 0.0017	
T44	0.5682 ± 0.0056	28.23 ± 0.53	8.50 ± 0.15	45.65 ± 1.58	5.71 ± 0.21	39.94 ± 1.37	2.27 ± 0.02	0.1495 ± 0.0007	1.22 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.0879 ± 0.0013	
平均值 Mean	0.5273 ± 0.0122	27.80 ± 0.33	7.68 ± 0.09	44.78 ± 0.72	5.66 ± 0.13	39.12 ± 0.63	3.10 ± 0.16	0.1609 ± 0.0086	1.64 ± 0.08	1.18 ± 0.06	0.1241 ± 0.0066	
最大值 Min	0.6637	30.35	8.97	55.28	6.79	48.49	5.15	0.2611	2.69	1.99	0.2052	
最小值 Max	0.3486	25.81	6.76	38.72	4.75	33.97	1.88	0.0887	1.06	0.73	0.0775	
组间变异 CV (%)	15.52%	8.05%	15.89%	10.81%	15.23%	10.82%	33.91%	35.64%	34.25%	35.96%	35.02%	

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 进行数据整理,采用 SPSS 23.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同大豆种质资源的化学评价

对供试大豆种质资源的 11 个品质性状分析结果表明,大豆异黄酮在各种质资源间的变异最大,总异黄酮变异系数(CV)达到 33.91%,异黄酮各组分的变异系数均达到 30% 以上(表 2)。其他品质性状的变异幅度较小($8\% < CV < 16\%$),其中,可溶性蛋白的变异系数最小,仅为 8.05%;脂肪酸中以饱和脂肪酸的变异系数最大,达到 15.23%。大豆异黄酮受到地理环境因素的影响最大,多糖、皂苷、脂肪酸次之,可溶性蛋白受到的影响最小。

供试的 15 个西南大豆种质资源中,皂苷平均含量为 0.5273‰,其中以雅安黑豆皂苷含量最高,达到 0.6496‰,D16(南豆 12)的含量最低,仅为 0.3602‰;可溶性蛋白平均含量为 27.80%,其中以 2080 的蛋白含量最高,达到 30.35%,T41 最低为 23.58%;可溶性多糖平均含量为 7.68%,其中以 E61 的多糖含量最高,达到 8.64%,D49 最低为 7.06%。大豆脂肪酸含量以不饱和脂肪酸为主,约占总脂肪酸的 87.4%;15 个供试材料中,以贡 378-1 的脂肪酸含量最高,达到 55.28‰,E70 最低,仅为 28.72‰;同时,饱和脂肪酸含量和不饱和含量均以贡 378-1 最高,E70 最低。异黄酮组分以葡萄糖苷、丙二酰异黄酮苷的含量最高,分别达到总异黄酮含量的 52.9% 和 38.1%,总异黄酮及其苷元、糖苷、酰化糖苷组分含量均以 C103 的含量最高。

2.2 不同大豆种质资源的聚类分析

基于 11 个品质性状数据对西南大豆的 15 份种质资源进行聚类分析(图 2),当欧氏距离为 7.5 时,供试材料被分为 5 类,类群 I 包含 7 个材料(E60、A3、T44、雅安黑豆、D16、D49、2162),该类材料的明显特征为总异黄酮含量较低,而游离苷元含量较高,脂肪酸含量都为中等;类群 II 包含 2080、南 256-1、E70、D15 等 4 个材料,该类材料的总异黄酮含量及其 4 种异黄酮组分含量和脂肪酸含量均为中等;类群 III 包含 E61、T41 两个材料,这两个材料的特征是总异黄酮含量较高,仅次于贡 378-1 和 C103,而游离苷元的含量也较高,仅次于 C103,脂肪酸含量为中等;贡 378-1 被单列为类群 IV,该材料的脂肪酸

含量最高($> 55\%$),而总异黄酮含量也较高,仅次于 C103;C103 被单列为类群 V,该材料的总异黄酮含量最高($> 5\%$),四种异黄酮组分的含量也最高,而总脂肪酸含量较低。

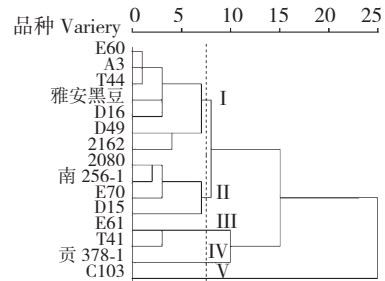


图 2 大豆种质资源化学聚类分析图

Fig. 2 Chemical clustering analysis of soybean germplasms

2.3 大豆化学成分与霉变特性的相关性分析

19 种大豆脂肪酸组分含量与霉变指数的相关性分析结果表明(表 3),棕榈酸、反亚油酸和芥酸的含量与霉变指数呈显著的正相关关系,相关系数分别为 0.332、0.315、0.359,其他多数类别脂肪酸含量与其霉变指数呈一定的正相关关系,但相关性不显著;这表明,棕榈酸、反亚油酸和芥酸的含量越高,大豆越易发生霉变。

12 种大豆异黄酮及其组分类别含量与霉变指数的相关性分析表明,黄豆苷(DG)、黄豆黄苷(GLG)、黄豆黄素(GLE)、丙二酰黄豆黄苷(MGL)、乙酰黄豆黄苷(AGL)及总苷元含量与霉变指数呈负相关关系(表 4),其中,黄豆黄素(GLE)及总苷元含量与霉变指数呈显著负相关,相关系数分别为-0.367 和-0.311。

大豆可溶性蛋白质含量与霉变指数的相关性不显著,大豆皂苷含量、可溶性多糖与霉变指数呈现显著的相关关系(表 5),相关系数分别为-0.346、0.301。

3 讨论与结论

大豆富含蛋白质、不饱和脂肪酸、异黄酮、皂苷等有益成分,南方大豆种质资源丰富,受到环境因素影响,南方大豆蛋白质、异黄酮含量相对北方大豆偏高^[7],从西南大豆种质资源中评价、筛选优异种质资源是实现特用大豆品种选育的基础。本研究对课题组前期搜集获得的多个西南大豆种质资源进行了全面的化学品质评价,结果发现,各类材料间皂苷、可溶性蛋白质、多糖等成分的含量变异幅度不大,而

表3 大豆脂肪酸与霉变指数的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between fatty acids and mildewing index

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20
X2	-0.147																			
X3	-0.023	0.418 **																		
X4	-0.088	-0.075	0.052																	
X5	0.111	-0.074	0.120	-0.107																
X6	-0.096	0.397 *	0.851 **	-0.049	-0.074															
X7	-0.095	0.400 *	0.860 **	-0.041	-0.066	0.999 **														
X8	-0.051	-0.060	-0.323 *	0.004	-0.023	-0.468 **	-0.452 **													
X9	-0.039	0.141	0.440 **	0.158	0.179	0.241	0.240	-0.149												
X10	0.325 *	0.173	0.259	-0.084	-0.201	0.187	0.190	-0.127	0.115											
X11	-0.099	0.336 *	0.070	-0.164	-0.239	0.165	0.164	-0.066	-0.205	0.088										
X12	-0.034	0.468 **	0.340 *	0.048	-0.149	0.390 **	0.389 **	-0.086	0.038	0.337 *	0.244									
X13	-0.035	0.267	0.378 *	0.088	-0.094	0.277	0.267	-0.166	0.137	0.477 **	0.045	0.608 **								
X14	0.112	0.069	-0.146	-0.012	0.102	-0.173	-0.167	0.286	0.037	-0.088	-0.040	-0.109	-0.194							
X15	-0.015	-0.117	-0.413 **	0.223	-0.047	-0.318 *	-0.319 *	0.181	0.049	-0.100	-0.150	0.110	-0.117	0.097						
X16	-0.048	0.137	-0.076	0.191	0.078	-0.196	-0.183	0.380 *	0.116	-0.173	-0.045	-0.061	-0.251	0.412 **	0.108					
X17	0.234	-0.025	0.008	-0.029	0.312 *	-0.200	-0.186	0.399 **	-0.058	-0.134	-0.128	-0.082	-0.126	-0.076	-0.080	0.282				
X18	-0.015	0.059	-0.086	0.315 *	0.135	-0.208	-0.195	0.232	0.166	-0.141	-0.315 *	-0.123	-0.240	0.325 *	0.096	0.762 **	0.173			
X19	-0.081	0.183	-0.037	0.262	0.096	-0.157	-0.143	0.238	0.072	-0.262	-0.038	-0.035	-0.248	0.343 *	0.094	0.899 **	0.238	0.864 **		
X20	-0.112	0.465 *	0.867 **	-0.054	-0.088	0.951 **	0.957 **	-0.203	0.224	0.212	0.271	0.434 **	0.282	-0.109	-0.320 *	-0.088	-0.084	-0.179	-0.090	
X21	0.163	0.028	0.332 *	0.129	0.293	0.087	0.109	0.154	0.315 *	0.291	-0.209	-0.046	-0.049	0.114	-0.152	0.151	0.189	0.359 *	0.232	0.161

注: X1-X21 分别表示月桂酸、十五烷酸、棕榈酸、环丙烷辛酸、十七烷酸、 α -亚麻酸、亚油酸、油酸、反亚油酸、反油酸、硬脂酸、花生四烯酸、花生五烯酸、花生三烯酸、花生二烯酸、 γ -亚麻酸、花生酸、芥酸、神经酸、总脂肪酸的含量和霉变指数。 ** 表示 $P < 0.01$ 显著, * 表示 $P < 0.05$ 显著, 下同。

Note: X1-X21 represented the content of dodecanoic acid (C12:0), pentadecanoic acid (C15:0), palmitic acid (C16:0), cyclopropanoic acid (C19:0), heptadecanoic acid (C17:0), α -linolenic acid (C18:3), linoleic acid (C18:2), Oleic acid (C18:1), translinoleic acid (C18:2), elaidic acid (C18:1), stearic acid (C18:0), arachidonic acid (C20:4), eicosapentanoic (C20:5), eicosatrienoic acid (C20:3), eicosadienoic acid (C20:2), γ -linolenic acid (C18:3), eicosanoic acid (C20:0), erucic acid (C22:1), nervonic Acid (C24:0), total fatty acids and mildewing index. ** indicated significant at $P < 0.01$ level, and * indicates significant at $P < 0.05$ level, Same as below.

表4 大豆异黄酮与霉变指数的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between soybean isoflavones and mildewing index

	GE	DE	GLE	GEG	DG	GLG	MG	MD	MGL	AG	AD	AGL	T-E	T-G	T-M	T-A	TT
DE	0.264																
GLE	0.433 **	-0.279															
GEG	0.901 **	0.391 **	0.319 *														
DG	0.730 **	0.508 **	0.369 *	0.828 **													
GLG	0.166	-0.404 **	-0.009	0.211	-0.057												
MG	0.880 **	0.313 *	0.373 *	0.975 **	0.805 **	0.266											
MD	0.763 **	0.501 **	0.325 *	0.883 **	0.931 **	0.031	0.899 **										
MGL	0.145	-0.375 *	-0.015	0.238	0.039	0.956 **	0.305 *	0.122									
AG	0.716 **	-0.043	-0.013	0.700 **	0.425 **	0.536 **	0.689 **	0.491 **	0.573 **								
AD	0.886 **	0.389 **	0.394 **	0.976 **	0.840 **	0.196	0.981 **	0.923 **	0.242	0.636 **							
AGL	0.449 **	0.452 **	0.098	0.548 **	0.478 **	0.139	0.588 **	0.647 **	0.130	0.247	0.630 **						
T-E	0.621 **	0.005	0.952 **	0.527 **	0.576 **	-0.078	0.557 **	0.538 **	-0.080	0.083	0.596 **	0.264					
T-G	0.871 **	0.389 **	0.343 *	0.978 **	0.904 **	0.246	0.961 **	0.923 **	0.295	0.676 **	0.966 **	0.549 **	0.545 **				
T-M	0.834 **	0.330 *	0.343 *	0.952 **	0.847 **	0.303 *	0.982 **	0.941 **	0.370 *	0.677 **	0.973 **	0.620 **	0.526 **	0.969 **			
T-A	0.891 **	0.338 *	0.298 *	0.967 **	0.789 **	0.298 *	0.974 **	0.890 **	0.339 *	0.751 **	0.980 **	0.667 **	0.493 **	0.954 **	0.969 **		
TT	0.872 **	0.355 *	0.386 **	0.974 **	0.888 **	0.261	0.979 **	0.938 **	0.316 *	0.669 **	0.980 **	0.585 **	0.578 **	0.993 **	0.989 **	0.968 **	
MI	0.025	0.152	-0.367 *	0.212	-0.080	-0.072	0.199	0.067	-0.058	0.186	0.129	-0.035	-0.311 *	0.088	0.131	0.136	0.088

注: T-E, T-G, T-M, T-A, TT, MI 分别表示苷元、糖苷、丙二酰糖苷、乙酰糖苷、总异黄酮的含量和霉变指数。

Note: T-E, T-G, T-M, T-A, TT and MI represented the content of aglycone, β -glucoside, β -glucoside, malonylglucoside, acetylglucoside, total isoflavone and mildewing index.

异黄酮含量存在较大差异。已有研究表明,大豆异黄酮受主-微效基因共同控制,环境因子对其具有很大影响^[11];异黄酮含量亦是西南大豆种质资源分类的主要依据。供试的 15 个大豆材料中, C103 与贡

378-1 分别为低脂肪高异黄酮和高脂肪高异黄酮含量大豆种质, C103 具有较好的田间霉变抗性, 可作为优质种质资源加以开发利用。

大豆一方面含有脂肪酸等霉变诱导成分, 另一

表5 大豆皂苷、可溶性多糖、可溶性蛋白与霉变指数的相关性分析

Table 5 Correlation analysis between soybean saponin, polysaccharide, soluble protein and mildewing index

	可溶性多糖 Polysaccharide	可溶性蛋白 Soluble protein	皂苷 Saponin
可溶性蛋白 Soluble protein	0.003		
皂苷 Saponins	0.108	-0.123	
霉变指数 Mildewing index	0.301 *	0.055	-0.346 *

方面又含有异黄酮、皂苷等抑菌活性成分,对这两大类成分的考察,是大豆资源开发的重要指标^[12]。大豆各主要化学成分与霉变指数的相关性分析表明,大豆脂肪酸含量与霉变指数具有不同程度的正相关;而考察的19个脂肪酸组分中,棕榈酸、反亚油酸和芥酸含量与霉变指数的相关性显著,我们前期的研究证实了脂肪酸为大豆田间霉变的主要诱因^[2],本研究则进一步剖析了脂肪酸各组分与田间霉变发生的关系,初步揭示了棕榈酸、反亚油酸和芥酸在大豆田间霉变发生中起到了重要作用,但其发生机理尚不清楚,这有待进一步研究。同时,本研究也对具有潜在抑菌活性的大豆异黄酮组分含量与霉变指数间的关系进行了分析,结果表明,GL型异黄酮(黄豆黄素、黄豆黄苷、乙酰黄豆黄苷、丙二酰黄豆黄苷)及总异黄酮苷元含量与大豆田间霉变指数均呈负相关关系,这表明,GL型异黄酮(A环C-6位甲氧基化)和异黄酮苷元含量高的大豆资源,其具有更好的抗田间霉变潜力,这与已有的黄酮类化合物构效关系的部分研究结果一致^[13]。另外,本研究也初步考察了大豆皂苷与田间霉变抗性间的关系,结果发现,大豆皂苷亦有一定的抗田间霉菌潜力^[12],下一步即开展大豆主要化学成分的抑菌活性评价,进一步证实上述结论。

参考文献

- Deng JC(邓俊才), Liu J(刘江), Lei T(雷婷), *et al.* Effect of seed mildew in field on yield and quality of soybean during harvest season. *Chin J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2015, 37: 77-82.
- Deng JC(邓俊才), Liu J(刘江), Lei T(雷婷), *et al.* The correlation and path analysis between the main agronomic traits and the resistance of soybean to seed mildew in field during harvest season. *Soybean Sci* (大豆科学), 2015, 34: 837-842.
- Feng Y, Chen Z, Liu N, *et al.* Changes in fatty acid composition and lipid profile during koji fermentation and their relationships with soy sauce flavour. *Food Chem*, 2014, 158: 438-444.
- Fehr WR. Breeding for modified fatty acid composition in soybean. *Crop Sci*, 2007, 47: S72-S87.
- Shi ZQ(石治强), Wu YS(吴雨珊), Yang WY(杨文钰), *et al.* Advanced research of soybean isoflavones on bacteriostasis. *Soybean Sci* (大豆科学), 2011: 1047-1050
- Abbruscato P, Tosi S, Crispino L, *et al.* Triterpenoid glycosides from *Medicago sativa* as antifungal agents against *Pyricularia oryzae*. *J Agric Food Chem*, 2014, 62: 11030-11036.
- Wan YY, Xiang DB, Ye MY, *et al.* Isoflavonoid accumulation pattern as affected by shading from maize in soybean (*Glycine max*) under relay strip intercropping system. *Plant Prod Sci*, 2015, 18: 302-313.
- Sun J, Sun B, Han F, *et al.* Rapid HPLC method for determination of 12 isoflavone components in soybean seeds. *Agric Sci China*, 2011, 10: 70-77.
- Seguin P, Chennupati P, Tremblay G, *et al.* Crop management, genotypes, and environmental factors affect soyasaponin B concentration in soybean. *J Agric Food Chem*, 2014, 62: 7160-7165.
- The State Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine. Determination of Coomassie brilliant blue SN export milk proteins Beans protein content / T3926-. In People's Republic of China Entry-Exit Inspection and Quarantine industry standards, Vol. SN/T 3926-2014.
- Li JY(李菊艳), Yao WQ(姚文秋), Gong SB(宫绍斌), *et al.* The research progress of the circumstance factors on the effect of soybean isoflavones content. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2010, 26: 167-170.
- Kim SL, Berhow MA, Kim JT, *et al.* Evaluation of soyasaponin, isoflavone, protein, lipid, and free sugar accumulation in developing soybean seeds. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 10003-10010.
- Chang J(常军), Wang CX(王晨曦), Li YP(李玉萍). Research progress on structure-activity relationship of natural flavonoids compounds. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1006-1010.