

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00711

## 黑龙江省大豆籽粒异黄酮含量生态差异

张大勇 李文滨 卢翠华\*

东北农业大学大豆研究所, 黑龙江哈尔滨 150030

**摘 要:** 大豆异黄酮由于其特有的生理保健功能而受到日益广泛的关注。为了明确黑龙江省大豆籽粒异黄酮含量的生态差异规律, 2005 年选定 5 个生态条件差异明显的试验点及 4 个大豆品种进行试验。结果表明, 年份、地点、基因型及基因型×环境互作对大豆籽粒异黄酮总含量及 3 种酸解处理后所得苷元的含量具有显著效应。2006 年的大豆异黄酮总含量及 3 种苷元组分含量的平均值显著高于其他 2 年; 大豆籽粒异黄酮含量不同基因型间及不同地点间均差异显著, 大豆籽粒异黄酮总含量及其 3 种酸解后所得苷元含量与纬度呈极显著正相关。据此认为, 大豆籽粒异黄酮含量在黑龙江省存在优势生产区, 对大豆籽粒异黄酮含量进行品质区划是可行的。

**关键词:** 大豆籽粒; 异黄酮; 基因型; 生态环境; 黑龙江

## Ecologic Difference of Isoflavones Content in Soybean Seeds in Heilongjiang Province

ZHANG Da-Yong, LI Wen-Bin and LU Cui-Hua\*

Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

**Abstract:** Isoflavones in soybean is paid widely and extensively attention due to its function in physical health care. As important secondary metabolic compounds in soybean seeds, isoflavones content have been reported to be easily impacted by environment. To survey the difference of isoflavones content in soybean seeds in different environment in Heilongjiang, which is main area to plant soybean in China, four cultivars were planted at five locations from 2005 to 2007. There were significant difference in total and individual isoflavones contents among years, locations, genotypes and genotypes × locations. The mean contents of total isoflavones and individual hydrolyzing isoflavones were significantly higher in 2006 than those in the other two years. And, total and individual isoflavone contents were significantly positively correlated with latitude of the locations at the 0.01 probability level. As a whole, there are predominant production regions for isoflavones of soybean seeds in Heilongjiang province, so it was feasible to categorize the production regions based on soybean isoflavone in Heilongjiang province.

**Keywords:** Soybean seeds; Isoflavones; Genotype; Ecological environment; Heilongjiang

对于大豆异黄酮的研究国外早有报道, 1931 年 Walz<sup>[1]</sup>用 90% 甲醇从豆奶中提取了大豆异黄酮糖苷 5, 7, 4'-三羟基异黄酮-7-葡萄糖苷(genistin), 并发现其能被盐酸水解成 1 分子的染料木素(genistein)和 1 分子的葡萄糖(glucose), 以后国外陆续有关于异黄酮的报道, Kossak 等<sup>[2]</sup>1987 年发现大豆异黄酮具生物活性, 是大豆根瘤菌结瘤基因的诱导物质; 1990 年 Graham 等<sup>[3]</sup>研究表明大豆异黄酮是大豆组织对疫霉根腐病菌侵染的反应物质。美国国家癌症研究所 ACI(American Cancer Institute)邀请有关专家研究

表明, 大豆异黄酮是较佳抗癌防癌物质, 在医药界引起很大轰动, 即被列为大豆精深加工和医药产品重点开发项目<sup>[4]</sup>。

不同基因型、生长地、年份条件下, 大豆异黄酮的含量差异十分显著。国内外学者分析发现, 品种间异黄酮含量变异幅度较大并筛选出一批异黄酮含量差异较大的种质资源<sup>[5-7]</sup>。Wang 等<sup>[8]</sup>发现同一个大豆品种在同一地点经 1989—1991 年连续种植, 异黄酮总含量年份间变异幅度在 1 176~3 309  $\mu\text{g g}^{-1}$  之间, 1989 年的含量是 1991 年的近 3 倍。Wang 等<sup>[8]</sup>

本研究由国家科技支撑计划项目(2006BAD01A04)和黑龙江“十一五”科技攻关项目(GA06B101-1-3)资助。

\* 通讯作者(Corresponding author): 卢翠华。

第一作者联系方式: E-mail: zhangdayong03@yahoo.com.cn

Received(收稿日期): 2008-08-18; Accepted(接受日期): 2008-12-13.

也对品种 Vinton 81 进行了不同生长地(A、B、C 三地)的试验,测得其异黄酮含量的变幅为 1 176~1 749  $\mu\text{g g}^{-1}$ 。Hoeck 等<sup>[9]</sup>用 6 个大豆栽培品种在 8 个地点于 1995—1996 年进行试验表明,9 种异黄酮含量及其总含量在不同地点间差异达显著水平,1996 年各品种异黄酮总含量的平均值和 9 种异黄酮中 6 种的各平均值显著高于 1995 年,各品种异黄酮总含量和 9 种异黄酮年份×地点交互、基因型×年份交互、基因型×地点交互、基因型×年份×地点交互差异均达显著水平。孙君明等<sup>[10]</sup>用 7 个异黄酮含量不同的大豆品种,在 7 个地区大体同期播种,研究表明大豆籽粒异黄酮含量与纬度和海拔呈正相关,与各地大豆生育期平均气温和降水量呈负相关,与日照时数呈正相关;Tsukamoto 等<sup>[11]</sup>对 2 个不同纬度条件下大豆品种的异黄酮含量研究发现,在种子发育过程中,温度影响种子中异黄酮的积累。Kitamura 等<sup>[12]</sup>指出,种子发育中的环境温度是决定异黄酮含量的主要因素。李卫东等<sup>[13]</sup>针对大豆生长发育的不同阶段,从气象、土壤养分和海拔等 33 个生态因子中找到了 9 个与大豆籽粒异黄酮含量密切相关的生态因子,其中,大豆鼓粒成熟期的日均温和昼夜温差对异黄酮积累的影响相对较大。

中国大豆主产区黑龙江省不同地区生态条件差异较大。本试验探索黑龙江省大豆异黄酮含量的生态分布规律,以期对黑龙江省大豆优质生产提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试品种及试验地点

选择熟期不同、异黄酮总含量不同的 4 个大豆品种垦鉴豆 27 (生育期 110 d)、黑河 18 (生育期 112 d)、北丰 9 号(生育期 117 d)和垦丰 11(生育期 118 d),种植于黑龙江省从北至南 5 个地点即黑河农科所(北纬 50°14′)、嫩北农场(北纬 49°29′)、北安(北纬 48°14′)、绥化(北纬 46°38′)和哈尔滨(北纬 45°45′)。

### 1.2 试验设计

于 2005、2006 及 2007 年分别进行随机区组试验设计,3 次重复,5 m 行长,4 行区,成熟后收获中间两行,籽粒送东北农业大学大豆所测定异黄酮含量。

### 1.3 室内检测方法

采用美国戴安高效液相色谱仪系统定量测定样品中的异黄酮含量。色谱系统包括 UVD170 紫外检

测器, C18 色谱柱, AT330 柱温箱, AXW-5 温度控制器, ASI-100 自动进样仪, P680 高效液相色谱泵, CHROMELEON 操作系统。色谱柱为 150 mm × 4.9 mm C18HICROM316A-LOK(UK); 流动相以去离子水 色谱级甲醇=50 : 50; 流速 1 mL min<sup>-1</sup>; 检测波长 254 nm; 柱温 50 ; 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 分析时间为每样品 25 min。异黄酮标准样品购自 Sigma 公司, 样品根据标样的保留时间定性, 根据标准样品峰面积定量。

以色谱峰峰面积对进样量进行线性回归分析。用 Excel 软件处理得回归方程。大豆黄素  $y=1.158x-0.0702$ ,  $R^2=0.9986$ , 出峰时间为 11 min; 大豆染料木黄素  $y=0.806x+0.1860$ ,  $R^2=0.9994$ , 出峰时间为 17 min; 黄豆黄素  $y=2.4013x+0.0061$ ,  $R^2=0.9970$ , 出峰时间为 13 min。

采用改进的张晓波等<sup>[14]</sup>的方法进行样品的前处理。准确称取大豆粉样品 0.100 g 于 25 mL 容量瓶中, 加 2.0 mol L<sup>-1</sup> 盐酸, 在旋混仪上充分混匀后, 在 90 °C 水浴锅水解 90 min。冷却至室温后, 加氢氧化钠溶液调 pH 值至 7, 加无水乙醇定容至 25 mL。用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 将滤液注入液谱专用小瓶中封口, 4 °C 下保存待测。

参照鞠兴荣等<sup>[15]</sup>提供的 3 种苷元与其相应葡萄糖化合物的换算系数(分别为 1.64、1.60 和 1.54)进行换算, 单位为  $\mu\text{g g}^{-1}$ 。换算公式如下:

大豆黄素类异黄酮含量=大豆黄素含量×1.64

染料木素类异黄酮含量=染料木素含量×1.60

黄豆黄素类异黄酮含量=黄豆黄素含量×1.54

大豆异黄酮总含量=大豆黄素含量×1.64+染料木素含量×1.60+黄豆黄素含量×1.54

### 1.4 面统计分析方法

采用 SPSS12.0 及 Excel, 在微型机上进行数据统计分析。方差分析中基因型、地点为固定相, 年份为随机相, 使用一般线性模型(GLM)进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 布点试验的方差分析及方差成分分析

异黄酮总含量及酸解后所得 3 种组分的地点、品种的单年效应及基因型×年份×地点交互效应的  $F$  测验均极显著。年份效应中大豆黄素含量与总含量均极显著, 黄豆黄素显著, 而染料木素含量不显著; 在地点效应的联合方差分析中, 大豆黄素含量

与总含量显著，而染料木素含量不显著，这可能是在  $F$  测验时选择做分母相的年份 $\times$ 地点效应较大的缘故；年份 $\times$ 地点效应中除大豆黄素显著外，其余 3 项均极显著；在基因型效应的联合方差分析中，染料木素含量显著，总含量极显著，而黄豆黄素不显著；基因型 $\times$ 年份效应及基因型 $\times$ 地点效应的联合方差分析中除染料木素不显著外，其余 3 项均未选入模型(表 1)。

以上分析可见，在黑龙江省范围内环境条件及

基因型对大豆籽粒异黄酮总含量及其组分含量均存在影响。本试验设计中各项效应的相对重要程度分析如表 2。

异黄酮总含量的各项效应为年份 $>$ 地点 $>$ 年份 $\times$ 地点 $>$ 基因型 $\times$ 年份 $\times$ 地点 $>$ 基因型。染料木素含量的各项效应为年份 $\times$ 地点 $>$ 地点 $>$ 年份 $>$ 基因型。黄豆黄素含量的各项效应为基因型 $\times$ 年份 $\times$ 地点 $>$ 年份 $>$ 年份 $\times$ 地点。大豆黄素含量的各项效应为年份 $>$ 基因型 $\times$ 年份 $\times$ 地点 $>$ 地点 $>$ 年份 $\times$ 地点(表 2)。

表 1 大豆品种多点试验籽粒异黄酮含量方差分析  
Table 1 Variance analysis of isoflavone contents of soybean cultivars seeds tested over five sites

		异黄酮 Isoflavone			异黄酮总含量
		大豆黄素 Daidzein	黄豆黄素 Glycitein	染料木素 Genistein	Total isoflavones
年份 Year		**	*	NS	**
地点 Location	2005	**	**	**	**
	2006	**	**	**	**
	2007	**	**	**	**
	2005–2007	*	—	NS	*
	年份 $\times$ 地点 Year $\times$ location	*	**	**	**
基因型 Genotypes	2005	**	**	**	**
	2006	**	**	**	**
	2007	**	**	**	**
	2005–2007	—	NS	*	**
基因型 $\times$ 年份 Genotypes $\times$ year		—	—	NS	—
基因型 $\times$ 地点 Genotypes $\times$ location	2005	**	**	**	**
	2006	**	**	**	**
	2007	**	**	**	**
	2005–2007	—	—	NS	—
基因型 $\times$ 年份 $\times$ 地点 Genotypes $\times$ year $\times$ location		**	**	**	**

\*, \*\*: 分别表示 0.05 和 0.01 的显著水平; NS 表示显著性测验为不显著; — 表示模型选择中剔除该项。  
\*, \*\*: significant difference at the 0.05 and the 0.01 probability levels, respectively; NS: no significance at the 0.05 probability level; —: deleted in the mathematical model.

表 2 异黄酮性状方差分量估算  
Table 2 Variance of each effect on isoflavones in soybean seeds and their relative variation

因素 Factor	异黄酮 Isoflavone			异黄酮总含量
	大豆黄素含量 Daidzein	黄豆黄素 Glycitein	染料木素含量 Genistein	Total isoflavones
年份 Year	46492.42	1766.14	15985.63	384081.55
地点 Location	11296.99	—	21889.52	197731.82
基因型 Genotype	—	140.01	12089.80	45175.59
品种 $\times$ 年份 Variety $\times$ year	—	—	319.55	—
品种 $\times$ 地点 Variety $\times$ location	—	—	4492.98	—
年份 $\times$ 地点 Year $\times$ location	5910.20	1744.39	27099.61	127858.95
年份 $\times$ 地点 $\times$ 品种 Year $\times$ location $\times$ variety	17419.06	2217.75	13662.24	112395.20
误差 Error	368.20	108.68	616.37	3933.53

— 表示模型选择中剔除该项。— Mean not in the mathematical model.

由以上结果可见(表 1~表 3), 大豆籽粒中的异黄酮总含量及酸解后所得 3 种苷元组分含量受环境条件的影响较大, 这与前人的研究结果较为一致。基因型×年份与基因型×地点的联合方差分析效应的不显著或未选入模型使得我们分析基因型效应相对简单, 以垦丰 11 的异黄酮总含量为例(表 3), 在 15 个环境条件中有 12 个环境高于其他品种, 换言之, 品种具有相对稳定性。年度间大豆籽粒异黄酮含量差异较大(表 3)。

若以大豆籽粒异黄酮含量为目标进行大豆生产时, 生产地点、基因型选择应该在首先考虑的范围之内。年份效应虽然很大, 但是对于年份的预判有一定的困难, 并且基因型×年份×地点效应相对较大, 使我们对某地区某年份某品种的异黄酮产量的预见也很困难。

2.2 年份间差异的比较

大豆籽粒异黄酮含量的年度间差异较大(表 1~表 4)。2006 年的 3 项酸解后所得组分含量及总含量均大于其余两年。单品种的年度间差异更大, 如黑河 18 在绥化种植, 异黄酮总含量 2005 年为 2 517.29  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 2007 年的含量为 764.06  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 前者是后者的 3 倍多(表 3)。

足见年度间气候条件的变化对大豆籽粒异黄酮含量有极大的影响, 从而使某地区、某品种的大豆籽粒异黄酮含量具一定不确定性, 为以种植高异黄酮含量为目标的大豆生产带来困难。

2.3 品种间差异的比较

异黄酮总含量与酸解后所得 3 种苷元组分含量在品种间存在着显著或极显著的差异, 各品种异黄酮含量的变异系数也不相同(表 5)。其中, 垦丰 11 的

表 3 不同地点、年份及品种的大豆异黄酮总含量  
Table 3 Mean content of four soybean cultivars seeds for total isoflavones in three years among five locations ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

地点 Location	年份 Year	品种 Variety			
		垦鉴 27 Kenjian 27	北丰 9 Beifeng 9	黑河 18 Heihe 18	垦丰 11 Kenfeng 11
哈尔滨 Harbin	2005	2399.15	2663.52	2182.60	2719.45
	2006	2424.46	2690.22	2767.49	3016.18
	2007	1473.16	1686.41	1285.23	1794.90
绥化 Suihua	2005	2371.00	2554.94	2517.29	2839.50
	2006	2908.54	3101.88	2194.59	3569.19
	2007	1568.24	1264.62	764.06	1643.16
北安 Bei'an	2005	2477.55	2309.23	2016.60	2359.16
	2006	3665.67	3392.20	3495.80	4597.69
	2007	1717.67	1978.07	2114.00	2341.05
嫩北农场 Nenbei	2005	2801.22	2719.67	3668.81	2618.40
	2006	4045.54	3905.43	3825.26	4140.72
	2007	1935.39	2857.57	2490.35	2703.42
黑河 Heihe	2005	2834.07	2794.75	2476.44	4018.28
	2006	3308.86	3926.75	3936.20	3693.92
	2007	3204.33	2969.12	3024.22	4169.13

表 4 年份间异黄酮含量差异  
Table 4 Difference of isoflavone contents in different cultivars seeds ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

年份 Year	异黄酮 Isoflavone			异黄酮总含量 Isoflavones
	大豆黄素含量 Daidzein	黄豆黄素含量 Glycitein	染料木黄素含量 Genistein	
2005	562.15 bB	243.25 bB	856.59 bB	2667.08 bB
2006	778.39 aA	250.97 aA	1104.55 aA	3430.33 aA
2007	337.73 cC	165.63 cC	837.66 cC	2149.20 cC

不同的大、小字母分别表示 0.01 和 0.05 的差异显著水平。  
Averages followed by a different letter are significantly different at the 0.01 and 0.05 probability levels, respectively.

表 5 供试品种间异黄酮含量差异  
Table 5 Difference of isoflavone contents in different cultivars seeds ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

品种 Cultivar	大豆黄素含量 Daidzein		黄豆黄素含量 Glycitein		染料木黄素含量 Genistein		异黄酮总含量 Isoflavones	
	平均 Average	变异系数 CV	平均 Average	变异系数 CV	平均 Average	变异系数 CV	平均 Average	变异系数 CV
垦鉴豆 27 Kenjian 27	529.86 cC	0.37	222.21 bB	0.37	873.64 cC	0.28	2608.99 cC	0.28
北丰 9 Beifeng 9	565.71 bB	0.42	197.02 cC	0.24	931.12 bB	0.27	2720.96 bB	0.26
黑河 18 Heihe 18	558.91 bB	0.54	222.34 bB	0.35	828.07 dD	0.33	2583.93 cC	0.34
垦丰 11 Kenfeng 11	583.23 aA	0.46	238.23 aA	0.30	1098.90 aA	0.27	3081.61 aA	0.29

不同的大、小字母分别表示 0.01 和 0.05 的差异显著水平。  
Averages followed by a different letter are significantly different at the 0.01 and 0.05 probability levels, respectively.

总含量及组分含量均最高，异黄酮总含量在 3 年 5 个地点的 15 个环境中有 12 个环境是以垦丰 11 最高(表 3)。可见，大豆品种间异黄酮含量具有相对的稳定性差异。通过育种手段培育高低异黄酮含量，且含量相对稳定的品种具有可行性与生产的现实意义。

2.4 试验点间异黄酮含量差异

供试的 5 个试验地点间大豆异黄酮总含量及组分含量存在显著或极显著的差异(表 6)。其中，黑河的总含量及组分含量均最高。以大豆籽粒异黄酮总含量为例，无论单年含量还是 3 年平均含量均呈现北高南低的趋势(表 3)。这种趋势在图 1 中更为明显和直观。

地理纬度与大豆籽粒异黄酮总含量及 3 种酸解后所得苷元组分含量的表型均为极显著正相关，表型相关系数在大豆黄素与纬度间是 0.96\*\*，黄豆黄素与纬度间是 0.93\*\*，染料木素与纬度间是 0.98\*\*，异黄酮总含量与纬度间是 0.98\*\*。说明高纬度有利于大豆籽粒异黄酮的生成(表 6 和图 1)。

3 讨论

作为次生代谢产物的大豆籽粒异黄酮，其含量

极易变化。对于影响大豆籽粒异黄酮含量的各主要因素，Wang 等<sup>[8]</sup>认为年份效应较地点效应更为重要，Hoeck 等<sup>[9]</sup>认为年份与地点的相对重要性在不同试验中不同。本试验结果虽然支持 Wang 等的结论，但是，考虑到所选择试验年份会有其特殊性，所以认为 Hoeck 等的分析更为合理。大豆籽粒异黄酮含量存在品种间差异，并且受环境条件的影响呈连续变异，前人已经通过遗传试验认定其为数量性状<sup>[16-18]</sup>。从本实验结果中也可以看到，大豆籽粒异黄酮含量存在显著的基因型差异，并且对环境条件的反应程度也不相同(表 5)。所以，在以大豆籽粒异黄酮含量为目标性状的大豆育种中，应该参考多年多点的数

据对其进行综合评价与选择。  
Tsukamoto 等<sup>[11]</sup>研究发现，大豆种子发育阶段低温条件较高温条件利于大豆籽粒高异黄酮含量的形成。李卫东等<sup>[13]</sup>研究发现，在大豆鼓粒至成熟期，籽粒异黄酮含量与日平均气温呈负相关，与昼夜温差呈正相关。本试验未对该时期的气象资料进行测量记录，但 5 个试验点大豆鼓粒至成熟期的日平均气温从南到北逐渐降低，昼夜温差逐渐增大，大豆籽粒异黄酮含量南低北高的规律与前两研究结论相符。

表 6 试点间异黄酮含量差异  
Table 6 Difference of isoflavone contents over different locations ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

地点 Location	异黄酮 Isoflavone			异黄酮总含量 Isoflavones
	大豆黄素含量 Daidzein	黄豆黄素含量 Glycitein	染料木黄素含量 Genistein	
哈尔滨 Harbin	453.77 cC	205.34 dD	748.85 eE	2258.56 dD
绥化 Suihua	429.63 dD	220.46 bB	769.15 dD	2274.75 dD
北安 Beian	566.65 bB	213.45 cC	904.60 cC	2705.39 cC
嫩北 Nenbei	624.48 aA	227.92 aA	1104.69 bB	3142.65 bB
黑河 Heihe	722.59 aA	232.58 aA	1137.36 aA	3363.01 aA

不同的大、小字母分别表示 0.01 和 0.05 的差异显著水平。  
Values followed by a different letter are significantly different at the 0.01 and 0.05 probability levels, respectively.

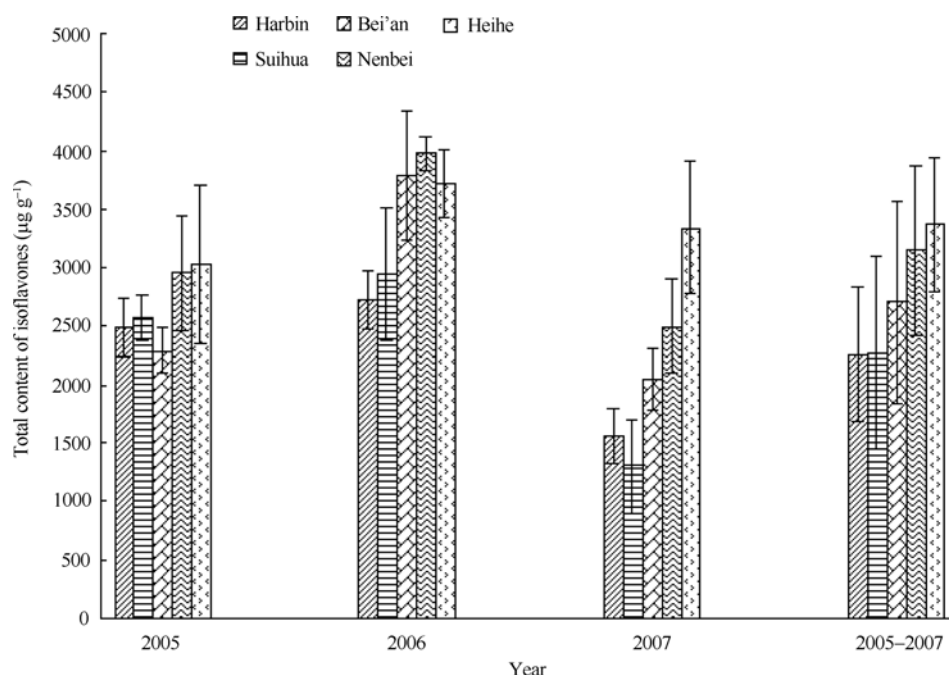


图 1 5 个试验点单年与 3 年异黄酮总含量平均值  
Fig. 1 Mean isoflavone contents at five locations in single year and three years

#### 4 结论

黑龙江省大豆籽粒异黄酮铜含量的年度间变化较大, 基因型间存在显著差异, 受环境条件的影响较大。大豆籽粒异黄酮总含量与 3 种酸解后所得苷元组分含量与纬度间呈现极显著正相关。在黑龙江省存在高籽粒异黄酮含量大豆生产的优势区域, 具备进行以大豆籽粒异黄酮含量为目标性状的品质区划的可行性。

#### References

- [1] Walz E. Isoflavone and saponin-glucoside in *Soja hispida*. *Ann Chem*, 1931, 489: 118–155
- [2] Kossak R M, Bookland R, Barkei T. Induction of Bradyrhizobium japonicum common nod genes by isoflavones isblated from *Glycine max*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 7428–7432
- [3] Graham T L, Kim J E, Graham M Y. Role of constitutive isoflavone conjugates in the accumulation of glyceollin in soybean infected with *Phytophthora megasperma*. *Mol Plant Microbe Interact*, 1990, 3: 157–166
- [4] Kenis B. The preparation of isoflavones specimen and the clinical utilization of cancer resistance. *Soybean Digest*, 1993, (9): 26–29
- [5] Carrao-Panizzi M C, Kitamura K. Isoflavone content in Brazilian soybean cultivars. *Breed Sci*, 1995, 45: 295–300
- [6] Sun J-M(孙君明), Ding A-L(丁安林), Chang R-Z(常汝镇), Dong H-R(东惠茹). Primary analyse of isoflavones contents in Chinese soybean cultivars. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), 1995, 10(4): 51–54 (in Chinese with English abstract)
- [7] Eldridge A, Kwolek W. Soybean isoflavones: Effect of the environment and variety on composition. *Agric Food Chem*, 1983, 31: 394–396
- [8] Wang H J, Murphy P A. Isoflavone composition of American and Japanese soybean in Iowa: Effects of variety, crop year, and location. *Agric Food Chem*, 1994, 42: 1674–1677
- [9] Hoeck J A, Fehr W R, Murphy P A, Welke G A. Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean. *Crop Sci*, 2000, 40: 48–51
- [10] Sun J-M(孙君明), Ding A-L(丁安林), Shen L-M(沈黎明). Effects of geographical conditions on the accumulation of isoflavones in soybean seeds. *Soybean Sci* (大豆科学), 1997, 16(2): 298–303 (in Chinese with English abstract)
- [11] Tsukamoto C, Shimada S, Igita K. Factors isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. *J Agric Food Chem*, 1996, 43: 1184–1192
- [12] Kitamura K, Igita K, Kikuchi A. Low isoflavone content in some early maturing cultivars so-called “Summer type soybean” [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Jpn J Breed*, 1991, 41: 651–654
- [13] Li W-D(李卫东), Liang H-Z(梁慧珍), Lu W-G(卢为国), Wang S-F(王树峰), Yang Q-C(杨青春), Yang C-Y(杨彩云), Liu Y-F(刘亚非). Effects of eco-physiological factors on isoflavone contents in soybean seeds. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2004, 37(10): 1458–1463 (in Chinese with English abstract)
- [14] Zhang X-B(张晓波), Wu Y(吴岩), Lin H(林红). Study on method of hydrolyze isoflavone in soybean by HPLC. *Cereals Oils* (粮食与油脂), 2006, (4): 19–21 (in Chinese with English abstract)

- [15] Ju X-R(鞠兴荣), Yuan J(袁建), Wang H-F(汪海峰). Determination of isoflavone in extract of soybean by HPLC. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), 2000, 15(4): 26–29 (in Chinese with English abstract)
- [16] Sun J-M(孙君明), Ding A-L(丁安林), Chang R-Z(常汝镇). Qualitative-quantitative analysis for inheritance of isoflavone content in soybean seed. *Soybean Sci* (大豆科学), 1998, 17(4): 305–310(in Chinese with English abstract)
- [17] Liang H-Z(梁慧珍), Li W-D(李卫东), Cao Y-N(曹颖妮), Wang H(王辉). Genetic effects analysis of isoflavone content in soybean seed. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2006, 32(6): 856–860 (in Chinese with English abstract)
- [18] Sun J-M(孙君明), Ding A-L(丁安林), Chang R-Z(常汝镇). Genetic analysis on isoflavone content in soybean seeds. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2002, 35(1): 16–21 (in Chinese with English abstract)