

文章编号: 0258-7025(2009)10-2728-06

Nd:YAG 倍频激光对大豆幼苗异黄酮的影响

赵新乐 金丽虹 申炳俊 王 研 李景梅 田 坚

(长春理工大学生命科学技术学院, 吉林 长春 130022)

摘要 以大豆为实验材料,研究了波长为 532 nm 的 Nd:YAG 倍频激光不同功率密度和不同照射时间对大豆发芽率、幼苗平均株高、幼苗子叶及叶片异黄酮含量的影响。从光合效率和植物异黄酮合成代谢起始酶苯丙氨酸转氨酶(PAL)活性两方面探讨激光预处理大豆种子提高其幼苗异黄酮含量的机理。结果表明,大豆种子经激光预处理后,其幼苗可溶性糖、蔗糖、淀粉等光合同化产物及异黄酮合成代谢起始酶 PAL 活性均得到提高,其中以 15 mW/mm² 激光预处理大豆种子 5 min 的效果最佳。幼苗光合效率得到了提高,为异黄酮的大量积累提供了基础。

关键词 生物光学; 异黄酮; 激光预处理; 苯丙氨酸转氨酶活性; 大豆幼苗; 光合效率

中图分类号 TN249; Q631 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL20093610.2728

Effect of Frequency Doubled Nd:YAG Laser on Isoflavone of Soybean Seeding

Zhao Xinle Jin Lihong Shen Bingjun Wang Yan Li Jingmei Tian Jian

(School of Life Science and Technology, Changchun University of Science and Technology, Changchun, Jiling 130022, China)

Abstract The pullulation ratio of the soybean, the content of the isoflavone for the cotyledon and laminae, and the mean height of the soybean seedling affected by a frequency doubled Nd:YAG 532 nm laser for different power density and time are presented in this paper. The mechanism is discussed from the activity of a phenylalanine ammonia-lyase (PAL) as an initial enzyme for synthesizing the isoflavone and the efficiency of the photosynthesis. The results show that the activity of the PAL and the products of the photosynthesis such as the soluble sugar, the sucrose, and the amyllum are all increased after the soybean seed being irradiated by laser, in which the best result is occurred at 15 mW/mm² of laser for 5 mins. At the same time, the efficiency of the photosynthesis of the soybean seedling is increased, which promotes the enormous accumulation of the isoflavone.

Key words biotechnology; isoflavone; pretreatment by laser; phenylalanine ammonia-lyase activity; soybean seedling; efficiency of photosynthesis

1 引 言

激光在农业方面的应用较为广泛,其研究主要集中在激光照射植物种子、植株以促进作物增产和激光诱变育种等^[1~3]。据统计,我国历年来已用于激光诱变育种的亲本材料共涉及了 40 多种植物^[4]。适当剂量的激光辐射可以提高种子的萌发率^[5~7],提高酶的活性、可溶性蛋白合成、叶绿素的含量以及植物的抗逆性^[5~9]。大豆选育新品种研究中,其育种途径有:杂交育种、辐射育种、系统育种、分子育种、花培育种等^[10]。作为育种的一个分支,激光育

种具有操作简单、使用安全等优点,已经应用于大豆育种^[5,6,11,12]。但有关激光对大豆幼苗异黄酮含量影响的报道较少。

异黄酮是大豆主要功能成分之一,具有防治癌症、降低血脂、防治动脉粥样硬化、抗氧化、防治骨质疏松和改善妇女更年期综合症等多种生理功能^[13~17]。随着经济发展和人们消费观念的转变,对大豆这种人类重要食物资源的品质提出了更高的要求^[2]。目前大豆生产中,多数优质品种为高蛋白、高油、高产大豆等,高异黄酮大豆品种非常少。本文以

收稿日期: 2009-02-17; 收到修改稿日期: 2009-04-10

基金项目: 吉林省教育厅基金(200828)资助项目。

作者简介: 赵新乐(1955—),女,副研究员,主要从事激光与生物相互作用方面的研究。E-mail: zhaoxl@cust.edu.cn

大豆为实验材料,研究了波长为 532 nm 的 Nd:YAG 倍频激光对大豆幼苗子叶和叶片异黄酮含量的影响,并从光合效率、植物异黄酮合成代谢起始酶两方面探讨激光预处理大豆种子提高其幼苗异黄酮含量的机理。

2 材料和方法

2.1 材料与处理

选取籽粒饱满、大小均匀的大豆种子(中黄 35, 北京金土地农业技术研究所),用质量分数为 0.1% 的氧化汞消毒处理,置于 40 °C 温水 0.5 h。随机分为 17 组,其中 16 组处理,1 组对照;每组预处理种子 100 粒,3 个重复。Nd:YAG 倍频激光波长 532 nm(长春理工大学,光斑直径 5 mm),激光直射处理组大豆种子胚,距离 10 cm。

激光辐照功率密度分别为 2 mW/mm², 6 mW/mm², 15 mW/mm² 和 25 mW/mm²;时间分别为 1 min, 3 min, 5 min 和 7 min,同时设立对照组(CK)。将对照组及处理组种子播种于盛有花卉土的托盘中,放置于恒温光照培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司,DK-98-I 型)中,光照时长 12 h,恒温 25 °C(白天)/18 °C(夜晚),培养 10 d。

2.2 测试项目及方法

1) 种子发芽率的统计:当发芽结束时统计各组的发芽数,以百分比表示发芽率。

2) 大豆幼苗株高测定:培养 10 d 时,测量大豆幼苗平均株高。

3) 大豆异黄酮的提取:取大豆幼苗子叶和叶片,60 °C 烘干,粉碎;每组样品各取 3 g,其异黄酮提取、测定方法参照周建芹提出的方法^[13];在乙醇-水体系中,乙醇体积分数为 80%,液料质量比 24:1(溶剂:原料),温度 50 °C 条件下,提取异黄酮;采用日立 U-2800 紫外分光光度计测定异黄酮含量。

4) 可溶性糖、蔗糖及淀粉光合产物的提取:取同向、同叶位叶片在 110 °C 烘箱中加热 15 min,然后继续在 70 °C 下处理 8 h。利用硫酸蒽酮水合法测定其可溶性糖含量^[18];取上述乙醇提取液利用间苯二酚光度法测定蔗糖含量^[19],对提取可溶性糖后的残渣采用碘显色法进行淀粉含量测定^[20]。

5) 苯丙氨酸转氨酶(PAL, EC 4.3.1.5)活性测定:激光预处理对幼苗子叶和叶片异黄酮含量影响显著组取同向、同叶位叶片 0.5 g,加入 2.5 mL 0.1 mol/L pH8.8 硼酸缓冲液和 0.05 g PVP 及少量石英砂,在预冷的研钵中研磨成匀浆,10000 r/m,

4 °C 离心 15 min,取上清液;日立 U-2800 紫外分光光度计测定 OD₂₉₀ 值的下降,以 OD 值变化 0.01 为一个酶活性单位。方法参照文献^[21]。

3 实验结果分析与讨论

3.1 激光预处理对大豆种子发芽率的影响

由图 1 可见,发芽率与激光辐射时间基本成正态分布关系。其中对照组发芽率为 81%,各激光预处理组发芽率分别高出 2.5%~3.7%,激光处理使大豆发芽率略有提高,激光处理表现为刺激效应。

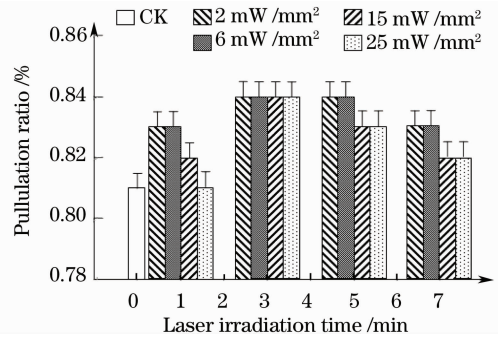


图 1 Nd:YAG 倍频激光处理对大豆发芽率的影响
Fig. 1 Effect of the frequency doubled Nd:YAG laser irradiation on the pullulation ratio of the soybean

3.2 激光预处理对大豆幼苗株高的影响

不同功率密度处理组和同一功率密度不同时间处理组的大豆幼苗株高与激光功率密度、辐射时间成正态分布关系(图 2)。其中对照组大豆幼苗平均株高为 32.2 cm;15 mW/mm² 激光 3 min 预处理组为 33.8 cm,比对照组高 5.9%(检测时间 $t=10.62$, 概率 $P<0.01$, 差异非常显著),5 min 预处理组为 34.1 cm,比对照组高 6.8%($t=68.54$, $P<0.01$, 差异非常显著);25 mW/mm² 激光 3 min 预处理组为 32.8 cm,比对照组高 2.5%($t=16.53$, $P<0.05$, 差异显著),

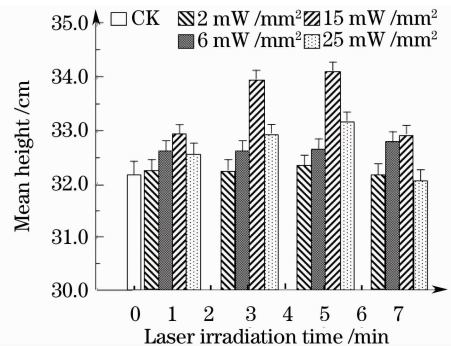


图 2 Nd:YAG 倍频激光处理对大豆幼苗平均株高的影响

Fig. 2 Effect of the frequency doubled Nd:YAG laser irradiation on the mean height of soybean seedling

5 min 预处理为 33.2 cm, 比对照组高 3.1% ($t=10.12$, $P<0.05$, 差异显著); 其他组激光处理使大豆平均株高略有提高。因此, 15 mW/mm² 激光 5 min 处理可显著提高大豆幼苗株高。

3.3 激光预处理对大豆幼苗异黄酮含量影响的分析

3.3.1 大豆幼苗子叶异黄酮含量分析

由图 3 可见, 大豆幼苗子叶异黄酮含量与辐照时间基本成正态分布关系。其中对照组大豆幼苗子叶异黄酮质量比为 645 $\mu\text{g/g}$; 15 mW/mm² 激光 3 min 预处理组子叶异黄酮质量比为 655 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 1.5% ($t=5.77$, $P<0.05$, 差异显著); 5 min 预处理子叶异黄酮质量比为 668 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 3.5% ($t=18.80$, $P<0.01$, 差异非常显著); 25 mW/mm² 激光 3 min 预处理组子叶异黄酮质量比是 654 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 1.4% ($t=4.36$, $P<0.05$, 差异显著)。因此, 15 mW/mm² 激光 5 min 处理可显著提高大豆幼苗子叶异黄酮含量。

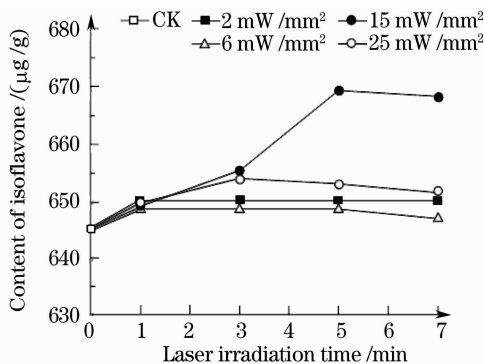


图 3 Nd:YAG 倍频激光处理对幼苗子叶异黄酮含量的影响

Fig. 3 Effect of the frequency doubled Nd:YAG laser irradiation on the content of isoflavone in the cotyledon of soybean seedling

3.3.2 大豆幼苗叶片异黄酮含量分析

激光对大豆幼苗叶片异黄酮含量影响结果见图 4, 大豆幼苗叶片异黄酮含量与辐照时间基本成正态

分布关系。其中对照组大豆幼苗子叶异黄酮质量比为 150 $\mu\text{g/g}$; 15 mW/mm² 激光 3 min 预处理组叶片异黄酮质量比为 160 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 6.7% ($t=6.29$, $P<0.05$, 差异显著); 5 min 预处理叶片异黄酮质量比为 170 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 13.3% ($t=18.00$, $P<0.01$, 差异非常显著); 25 mW/mm² 激光 1 min 预处理组叶片异黄酮质量比为 160 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 6.7% ($t=5.47$, $P<0.05$, 差异显著); 5 min 预处理叶片异黄酮质量比为 158 $\mu\text{g/g}$, 比对照组高 5.3% ($t=4.74$, $P<0.05$, 差异显著)。其他组激光对大豆幼苗子叶异黄酮含量影响效果不明显。因此, 15 mW/mm² 激光 5 min 处理可显著提高大豆幼苗叶片异黄酮含量。

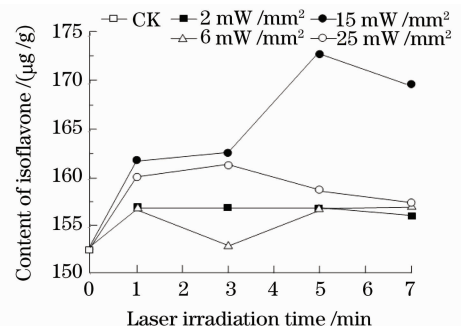


图 4 Nd:YAG 倍频激光处理对幼苗叶片异黄酮含量的影响

Fig. 4 Effect of the frequency doubled Nd:YAG laser irradiation on the content of isoflavone in the laminae of soybean seedling

3.4 激光预处理对光合产物的影响

由上述结果可知, 15 mW/mm² 激光预处理大豆种子对其幼苗子叶和叶片异黄酮含量影响较明显, 其大豆幼苗光合同化产物的测量结果见表 1。从表 1 可以看出, 处理组光合产物较对照组高, 5 min 组增幅最显著, 分别为 7.8%, 16.2% 和 6.8%。实验结果表明激光辐照促进了大豆幼苗光合同化产物的生成。

表 1 15 mW/mm² Nd:YAG 倍频激光预处理对大豆幼苗光合产物的影响

Table 1 Effect of the pretreatment by the frequency doubled Nd:YAG laser at power density of 15 mW/mm² on the photosynthesis's efficiency of the soybean seedling

Products	Sources	CK	1 min	3 min	5 min	7 min
Amylum / (mg/g)	Cotyledon	50.12±0.61	51.79±0.67	52.46±0.74	55.69±0.72	54.46±0.75
Sucrose / (mg/g)	Cotyledon	18.02±0.03	19.86±0.02	21.45±0.04	24.56±0.03	23.24±0.02
Soluble sugar / (mg/g)	Cotyledon	41.87±0.67	43.09±0.54	44.26±0.62	45.56±0.67	45.05±0.59
Amylum / (mg/g)	Laminae	49.76±0.47	49.92±0.64	50.08±0.58	52.05±0.64	50.94±0.69
Sucrose / (mg/g)	Laminae	15.46±0.02	16.02±0.02	16.87±0.03	18.92±0.03	17.05±0.02
Soluble sugar / (mg/g)	Laminae	39.09±0.42	39.84±0.44	40.42±0.55	40.92±0.56	40.37±0.49

3.5 激光预处理对大豆幼苗中 PAL 活性的影响

大豆幼苗异黄酮合成代谢起始酶 PAL^[22] 活性测量结果见表 2。由表 2 可知, 15 mW/mm² Nd:YAG 倍频激光预处理对大豆幼苗子叶和叶片

PAL 活性具有一定的影响, 处理时间的效果顺序为 5 min 优于 7 min 优于 3 min 优于 1 min 优于 CK。15 mW/mm² 激光 5 min 处理具有显著的影响, 其增幅高达 35.7%。

表 2 15 mW/mm² Nd:YAG 倍频激光预处理对大豆幼苗 PAL 活性的影响

Table 2 Effect of the pretreatment by the frequency doubled Nd:YAG laser at power density of 15 mW/mm² on the PAL activity of the soybean seedling

PAL activity	Sources	CK	1 min	3 min	5 min	7 min
DD ₂₉₀ / (g ⁻¹ ·min ⁻¹)	Cotyledon	1.83	1.89±0.12	2.02±0.11	2.49±0.17	2.35±0.15
OD ₂₉₀ / (g ⁻¹ ·min ⁻¹)	Laminae	1.81	1.83±0.11	1.87±0.13	2.45±0.14	2.20±0.18

3.6 激光处理对大豆幼苗异黄酮、光合产物及 PAL 活性的相关性分析

由上述实验结果可知, 15 mW/mm² 激光、预处理 5 min 对大豆幼苗异黄酮、光合产物及 PAL 活性

的影响较大, 其对比分析结果见表 3。由表 3 可知, 激光处理对子叶光合产物和 PAL 活性的影响高于叶片, 但异黄酮含量却低于叶片。此现象说明激光效应对大豆异黄酮含量的影响随大豆的生长逐渐增加。

表 3 15 mW/mm² Nd:YAG 倍频激光预处理 5 min 对大豆幼苗异黄酮、光合产物及 PAL 活性的影响

Table 3 Effect of 5 mins' pretreatment by the frequency doubled Nd:YAG laser at power density of 15 mW/mm² on the photosynthesis's efficiency, the activity of PAL, and the isoflavone of the soybean seedling

Category	Sources	Amylum / (mg/g)	Sucrose / (mg/g)	Soluble sugar / (mg/g)	PAL activity OD ₂₉₀ / (g ⁻¹ ·min ⁻¹)	Isoflavone / (μg/g)
CK	Cotyledon	1.83	645	18.02	41.87	1.83
	Laminae	1.81	150	15.46	39.09	1.81
Laser irradiation group	Cotyledon	2.49	668	23.24	45.05	2.49
	Laminae	2.45	170	17.05	40.37	2.45
Weight percent / %	Cotyledon	11.11	19.03	5.71	36.07	3.5
	Laminae	4.60	9.12	3.40	35.36	13.3

3.7 讨 论

3.7.1 激光处理对大豆种子发芽率及大豆幼苗株高作用机理

研究表明, 低功率的激光特别是可见光范围内的激光对生物体的作用主要是光效应和电磁效应, 而产生的热和压力很少^[23]。从实验结果来看, 波长为 532 nm 的激光处理大豆种子在一定程度上可以提高发芽率、株高, 其中 15 mW/mm² 激光处理组淀粉、蔗糖和可溶性糖比对照组均有不同程度的提高。文献^[24]等对种子萌发生长的微量热研究结果表明, 种子萌发生长热谱图表现出浸透阶段(约 0.5 h)、活化阶段和生长阶段。而采用浸泡 0.5 h 后的湿种子, 其浸透阶段基本完成, 激光处理满足了活化阶段热量需要。因此, 处理组大豆种子发芽率较对照组高, 这与文献^[25]的实验结果一致。由于激光磁场力使湿种子中的水磁化, 氢键被破坏, 水的缔合度减小, 致使水分子变小, 容易透过半透膜, 从而改善了营养物质的跨膜运输和利用。当水分子恢复缔合度时, 放出原来吸收的能量, 激发各种酶的活性, 从而加速了生长阶段生化代谢的启动^[25]。激光

处理组大豆幼苗株高较对照组高, 也间接证明了上述观点, 其结果与文献^[5]一致。

3.7.2 激光处理对大豆幼苗异黄酮作用机理

大豆异黄酮是植物体中苯丙氨酸的代谢产物。PAL 是此过程的 3 个关键酶之一, 也是初生代谢和苯丙氨酸代谢的纽带^[22~26]。从实验结果来看, 15 mW/mm² 激光电磁效应加速了大豆生长阶段的光合作用, 有利于初生代谢产物可溶性糖、蔗糖和淀粉积累, 这是次生代谢产物异黄酮合成的前提和物质基础^[27]。大豆异黄酮生物合成代谢起始物苯丙氨酸是植物淀粉代谢产物之一, 因此, 激光处理组淀粉含量的提高势必会引起苯丙氨酸的提高。15 mW/mm² 激光处理组 PAL 活性高于对照组的结果表明, 激光处理可提高酶的活性, 这与文献报道一致^[5~9], 其原因可能是由于激光的电磁效应使被照射植物细胞线粒体膜表面形成环形感应电场, 促使酶活性增加。因此可认为, 苯丙氨酸和 PAL 活性的提高是大豆幼苗子叶和叶片异黄酮增加的主要因素。

3.7.3 辐射参数控制机理

激光生物诱导育种研究中, 最重要的激光参数

就是波长和剂量。DNA 是生物体的遗传物质,它由戊糖、磷酸和碱基组成,三者之间以 C-C 键, P-Q 键, C-N 键相连,并以氢键等维持结构。这些键的共振波长分别是 349 nm, 357 nm, 534 nm 和 1480 nm^[23]。因此文中选用的 532 nm 激光可引起 DNA 分子光生物学共振效应,导致 C-N 键断裂,从而可能影响生物遗传稳定性。从实验结果来看,生命物质对激光刺激的反应均表现为能动地适应,激光辐射剂量低时对大豆幼苗株高、叶片和子叶异黄酮、光合产物及 PAL 活性产生刺激作用,但随着辐射剂量的增加,则会产生抑制作用。文中大豆幼苗异黄酮产生诱变最佳剂量为 135 J(15 mW/mm², 5 min),这与文献[28]发现的水稻对激光的吸收存在阈值的结论是一致的。

4 结 论

通过波长为 532 nmNd:YAG 倍频激光在不同功率密度和不同照射时间条件下对大豆幼苗子叶和叶片异黄酮含量的影响的研究,可得出如下结论:

- 1) 激光预处理大豆种子使其发芽率、株高有所提高,其中 15 mW/mm² 激光处理时间 5 min 对株高增加效果最明显,其增幅为 6.8%。
- 2) 激光预处理大豆种子使其幼苗子叶和叶片异黄酮含量有所提高,其中 15 mW/mm² 激光处理时间 5 min 对效果最明显,其增幅分别为 3.5%和13.3%。
- 3) 光合同化产物可溶性糖、蔗糖、淀粉含量的提高,表明激光预处理大豆种子能够提高幼苗光合效率,为异黄酮的大量积累提供了基础。
- 4) 15 mW/mm² Nd:YAG 倍频激光预处理 5 min提高了大豆幼苗异黄酮合成代谢起始酶苯丙氨酸转氨酶的活性,其增幅高达 35.7%。

参 考 文 献

- 1 Feng Guangwen, Cheng Hao, Xu Hui *et al.*. Application of laser mutation technology in biology breeding [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2007, **44**(5): 56~61
冯光文, 成浩, 徐辉等. 激光诱变技术在生物育种中的应用[J]. *激光与光电子学进展*, 2007, **44**(5): 56~61
- 2 Han Yaping, Cao Yan, Chen Bingcai. Development trend of laser mutation breeding for soybean [J]. *Soybean Science*, 2008, **27**(3): 532~535
韩亚萍, 曹岩, 陈炳才. 大豆激光诱变育种发展趋势研究[J]. *大豆科学*, 2008, **27**(3): 532~535
- 3 Chen Henglei, Xu Hui, Lü Changwu *et al.*. A survey of studies on laser mutation breeding[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2006, **15**(4): 436~440
陈恒雷, 徐辉, 吕长武等. 激光诱变育种的研究概况[J]. *激光生物学报*, 2006, **15**(4): 436~440
- 4 Wan Xianguo. Survey of plant breeding by laser's induced variation [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 1996, **5**(3): 865~869
万贤国. 我国植物激光诱变育种的概况[J]. *激光生物学报*, 1996, **5**(3): 865~869
- 5 Zhang Jiandong, Chen Yiping, Wang Xunling. Effects of CO₂ laser treatment on seeds germination and physiology of soybean [J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sinica*, 2004, **24**(2): 221~225
张建东, 陈怡平, 王勋陵. CO₂ 激光处理对大豆种子萌发及生理的影响[J]. *西北植物学报*, 2004, **24**(2): 221~225
- 6 Guo Jinhua, Yin Ruochun, Xu Jian *et al.*. Mechanism research of soybean seedling cold acclimation through pretreatment of soybean seeds with He-Ne laser [J]. *Laser Technology*, 2003, **27**(6): 506~509
郭金华, 尹若春, 徐剑等. 激光预处理种子提高大豆幼苗抗冷害的机理探讨[J]. *激光技术*, 2003, **27**(6): 506~509
- 7 Ren Yongbo, Li Chengzuo, Chen Jian. Analysis of the physiology and biochemistry effect of laser induced mutation in the onion [J]. *J. Hebei Agricultural Sciences*, 2001, **5**(4): 10~13
任永波, 李成佐, 陈健. 激光辐射洋葱种子生理生化效应分析[J]. *河北农业科学*, 2001, **5**(4): 10~13
- 8 Cai Suwen, Zhao Xuesong, Lu Fengtuo. The influence of He-Ne laser irradiation on the active oxygen metabolism of corn seedlings [J]. *Chinese J. Lasers*, 1994, **A21**(9): 767~771
蔡素雯, 赵雪淞, 卢凤涛. He-Ne 激光对玉米幼苗活性氧代谢的影响[J]. *中国激光*, 1994, **A21**(9): 767~771
- 9 Cai Suwen, Qi Zhi, Ma Xiaolai. The effect of He-Ne laser irradiation on soluble protein synthesis of corn seedling [J]. *Chinese J. Lasers*, 2000, **A27**(3): 284~288
蔡素雯, 齐智, 马小米. He-Ne 激光对玉米幼苗可溶性蛋白合成的影响[J]. *中国激光*, 2000, **A27**(3): 284~288
- 10 Wang Lianzheng, Wang Lan, Zhao Rongjuan *et al.*. Study in soybean breeding of high quality and high yield [J]. *Soybean Science*, 2006, **25**(3): 205~211
王连铮, 王岚, 赵荣娟等. 优质、高产大豆育种的研究[J]. *大豆科学*, 2006, **25**(3): 205~211
- 11 Chen Lixia, Du Jidao, Fei Zhihong *et al.*. Induced mutation technique and the application on soybean breeding [J]. *Soybean Science*, 2008, **27**(5): 874~878
陈丽霞, 杜吉到, 费志宏等. 诱变育种技术在大豆育种中的应用[J]. *大豆科学*, 2008, **27**(5): 874~878
- 12 Meng Jiwu, Hu Yakun, Zheng Rong'er. The breeding of high yield soybean with laser irradiation [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2001, **10**(3): 215~217
孟继武, 胡亚坤, 郑荣儿. 激光诱导优质高产大豆育种[J]. *激光生物学报*, 2001, **10**(3): 215~217
- 13 Zhou Jianqin. Optimization of extraction technology of soybean isoflavones and its physiological activity analysis [J]. *Soybean Science*, 2007, **26**(4): 276~279
周建芹. 大豆异黄酮提取工艺优化及其活性研究[J]. *大豆科学*, 2007, **26**(4): 276~279
- 14 Suzanne Hendrich. Bioavailability of isoflavones [J]. *J. Chromatography B*, 2002, **777**(1-2): 203~210
- 15 Chang Li-Hsun, Cheng Ya-Chuan, Chang Chieh-Ming. Extracting and purifying isoflavones from defatted soybean flakes using superheated water at elevated pressures [J]. *Food Chemistry*, 2004, **84**(2): 279~285
- 16 Kay L. Fritz, C. M. Seppanen, Mindy S. Kurzer *et al.*. The in vivo antioxidant activity of soybean isoflavones in human subjects [J]. *Nutrition Research*, 2003, **23**(4): 479~487
- 17 Mauricio A. Rostagno, Miguel Palma, Carmelo G. Barroso. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones [J]. *J. Chromatography A*, 2003, **1012**(2): 119~128
- 18 Wang Xuekui. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment [M]. Beijing: Higher Education Press,

2006. 202~204
王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 202~204
- 19 Xiao Shiyuan. The suitable conditions of measuring cane sugar by using resorcinol-photometric method[J]. *J. Sichuan Teachers College(Natural Science)*, 1998, **19**(3): 293~295
肖世远. 间苯二酚光度法测定蔗糖的适宜条件[J]. 四川师范学院学报(自然科学版), 1998, **19**(3): 293~295
- 20 Xu Changjie, Chen Wenjun, Chen Kunsong *et al.*. A simple method for determining the content of starch-Iodine colorimetry [J]. *Biotechnology*, 1998, **8**(2): 41~43
徐昌杰, 成文峻, 陈昆松 等. 淀粉含量测定的一种简便方法——碘显色法[J]. 生物技术, 1998, **8**(2): 41~43
- 21 Liu Yaguang, Li Haiying, Yang Qingkai. Study on the relationship between resistance of soybean and activity of PLA in leaves of soybean infected by cercospora sojina hara[J]. *Soybean Science*, 2002, **21**(3): 195~198
刘亚光, 李海英, 杨庆凯. 大豆品种的抗病性与叶片内苯丙氨酸解氨酶活性关系的研究[J]. 大豆科学, 2002, **21**(3): 195~198
- 22 Ouyang Guangcha, Xue Yinglong. Physiological role and regulation of phenylpropanoid metabolism in plant [J]. *Plant Physiology Communications*, 1988, (3): 9~16
欧阳光察, 薛应龙. 植物苯丙烷类代谢的生理意义及调控[J]. 植物生理学通讯, 1988, (3): 9~16
- 23 Xiang Yang, Ding Zhibao. The inquiry in effect mechanism of laser biology [J]. *J. Optoelectronics Lasers*, 1997, **8**(6): 475~478
向洋, 丁志宝. 激光生物学作用机理探讨[J]. 光电子·激光, 1997, **8**(6): 475~478
- 24 Zhou Peijiang, Hu Yunchu, Ling Xingyuan *et al.*. Microcalorimetric and nonequilibrium thermodynamic studies on the germination and growth of seeds[J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 1999, **15**(3): 274~278
周培疆, 胡云楚, 凌杏元 等. 种子萌发生长的微量热及非平衡热力学研究[J]. 物理化学学报, 1999, **15**(3): 274~278
- 25 Chen Yiping, Wang Xunling. Effects of He-Ne laser treatment seeds of isatis indigotica on photosynthesis of seedlings[J]. *Laser Technology*, 2004, **28**(1): 42~44
陈怡平, 王勋陵. He-Ne 激光处理对菘蓝幼苗光合作用的影响[J]. 激光技术, 2004, **28**(1): 42~44
- 26 Ma Junlan, Li Cheng, Wei Ying *et al.*. The pathway of isoflavone biosynthesis and its regulation [J]. *J. Northeast Agricultural University*, 2007, **38**(5): 692~696
马君兰, 李成, 魏颖 等. 异黄酮的生物合成途径及其调控[J]. 东北农业大学学报, 2007, **38**(5): 692~696
- 27 Liang Bing. Effect of lanthanum on flavonoids contents in soybean seedlings exposed to supplementary ultraviolet-B radiation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2006. 33~34
梁滨. 镧对 UV-B 辐射胁迫下大豆幼苗类黄酮的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2006. 33~34
- 28 Wang Kunlin, Ren Zhaohong, Xu Weihua *et al.*. An efficiency study and research into screening out the effective mutation dose of CO₂ laser irradiation on yunnan glutinous rice through laser mutagenesis[J]. *Laser Journal*, 2005, **26**(6): 85
王昆林, 任兆鸿, 徐卫华 等. CO₂ 激光诱变滇糯稻诱变剂量的筛选及其效应研究[J]. 激光杂志, 2005, **26**(6): 85