

大豆子粒发育过程中异黄酮合成相关酶基因的表达模式与异黄酮积累的相关分析

田 玲,李 斌,张晶莹,范胜翔,闫淑荣,孙君明

(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:利用高效液相色谱法和实时定量 PCR 方法,分别测定了 2 个异黄酮含量显著差异的大豆品种鲁黑豆 2 号(LHD2)和南汇早黑豆(NHZ)在子粒发育过程中的异黄酮含量变化以及异黄酮合成相关酶基因的表达模式变化,试图分析异黄酮积累与各基因表达量变化的相关关系。结果表明在大豆子粒发育过程中,异黄酮含量逐渐升高,而不同异黄酮合成相关酶基因的表达趋势不同,*CHS7*、*CHS8*、*CHR*、*CHI1A* 和 *IFS2* 的表达趋势与异黄酮积累模式基本一致,而 *IFS1* 和 *CHI1B1* 的表达趋势与异黄酮积累模式相反。*IFR* 的表达模式在 2 个大豆品种中存在相反的趋势,在 LHD2 中与异黄酮组分积累趋势相反,而在 NHZ 中与异黄酮组分积累趋势相同。结果还表明,同一基因家族中不同基因在子粒发育过程中的表达量也存在差异。查尔酮合酶基因家族中 *CHS7* 和 *CHS8* 以及查尔酮异构酶基因家族的 *CHI1A* 的表达水平相对其他成员较高,异黄酮合酶基因家族中 *IFS2* 的表达量显著高于 *IFS1* 的表达量,预示这些基因家族在大豆子粒异黄酮积累过程中存在功能分化。此外,各基因表达模式与异黄酮积累的相关分析结果表明,不同基因表达模式与异黄酮积累的相关性在 2 个品种中也不尽相同。LHD2 中 *CHS7*、*CHS8* 和 *IFS2* 在子粒发育过程中的表达量变化与不同异黄酮组分呈显著正相关,*CHI1B1* 基因的表达量变化与不同异黄酮组分呈显著负相关。而在 NHZ 中,*IFR* 在子粒发育过程中的表达量变化与多个异黄酮组分呈显著正相关。这预示了不同大豆品种异黄酮含量差异的潜在遗传基础。各异黄酮合成相关酶基因表达量变化的相关分析表明,在 2 个品种中,苯丙氨酸水解酶 *PAL1* 与 *4CL*,*4CL* 与 *CHS2* 以及 *CHS1* 与 *IFS2* 基因的表达量均呈现显著正相关。表明这些基因可能通过协同作用共同调控异黄酮的合成与积累。这些结果为今后利用基因工程提高大豆异黄酮含量奠定了基础。

关键词:大豆;异黄酮;异黄酮合成相关酶基因

Correlation Analysis between Gene Expression of Isoflavone Synthesis Relative Enzymes and Isoflavone Accumulation During the Seed Development in Soybean

TIAN Ling, LI Bin, ZHANG Jing-ying, FAN Sheng-xu, YAN Shu-rong, SUN Jun-ming

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Ministry of Agriculture (MOA)

Key Laboratory of Soybean Biology, Beijing 100081)

Abstract: In this study, the HPLC and real-time PCR analyses were used to determine the isoflavone content and relative expression levels of genes encoding isoflavone synthesis relative enzymes during the seed development in two soybean cultivars with significantly different isoflavone content (*cv.* LHD2 and NHZ), and their correlation was also analyzed. We found that the isoflavone content increased gradually during the development of soybean seeds. In the meanwhile, the expression trends of different isoflavone synthesis relative enzyme genes differed significantly. The expression trends of *CHS7*, *CHS8*, *CHR*, *CHI1A* and *IFS2* were consistent with isoflavone accumulation, while the expression trends of *IFS1* and *CHI1B1* were opposite to isoflavone accumulation. The expression trend of

收稿日期:2014-04-29 修回日期:2014-05-30 网络出版日期:2014-10-13

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20141013.2021.006.html>

基金项目:转基因重大专项(2011ZX08004-003);科技支撑计划(2011BAD35B06-3);国家自然科学基金(31171576);中国农业科学院作物科学研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费(2014JB01-003)和中国农业科学院科技创新工程

第一作者研究方向为大豆品质的分子育种。E-mail: tianling159659@163.com;李斌为共同第一作者

通信作者:孙君明,研究方向为大豆品质分子标记辅助育种。E-mail: sunjunming@caas.cn

isoflavone reductase (*IFR*) differed between two cultivars. In LHD2, it was opposite to isoflavone accumulation, while in NHZ, it was consistent with isoflavone accumulation. Our results also demonstrated that different gene members in the same gene family exhibited different expression levels during the seed development. For instance, *CHS7* and *CHS8* showed higher expression levels than other members in *chalcone synthase* gene family, as well as the *CH1A* in *chalcone isomerase* gene family. The expression level of *IFS2* was also significantly higher than *IFS1* in *isoflavone synthase* gene family. This result suggested functional differentiations among different members of the same gene family. Additionally, the correlation analysis between expression level and isoflavone accumulation showed that the correlations differed between two cultivars for different isoflavone synthesis relative enzyme genes. In LHD2, the expression levels of *CHS7*, *CHS8* and *IFS2* showed significant positive correlations with multiple isoflavone components, *CHI1B1* exhibited significantly negative correlation with multiple isoflavone components. On the other hand, in NHZ, the expression level of *IFR* was significantly positively correlated with the accumulations of multiple isoflavone components. That implied a potential genetic basis for the varying isoflavone contents between both of soybean varieties. The correlation analysis among the expression levels of isoflavone biosynthesis relative enzyme genes during soybean seed development showed that *PAL1* and *CHS2* had significantly positive correlation with *4CL*, and that *CHS1* was significantly positively correlated with *IFS2*. This result suggested that these genes co-regulated the biosynthesis and accumulation of isoflavones. Taken together, our results provided substantial genetic basis on isoflavone biosynthesis and accumulation during soybean seed development, which would be useful to improve soybean isoflavones through genetic engineering in the future.

Key words: soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]; isoflavone; isoflavone synthesis relative enzyme genes

大豆异黄酮是大豆生长发育过程中形成的一类次生代谢产物,主要存在于大豆种子的子叶和胚轴中^[1],因其在抗癌和改善人类健康中具有许多重要的生理功能而被广泛关注^[2-5]。由于人类对异黄酮需求的增加,提高大豆品种中的异黄酮含量变得尤为紧迫。大豆种子中的异黄酮含量虽然受环境因素影响,但主要由遗传因素决定,因此在基因水平上研究异黄酮的积累对提高异黄酮含量具有重要意义。

大豆异黄酮的生物合成路径是苯丙氨酸代谢途径的分支。该路径从苯丙氨酸开始,经苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸在肉桂酸-4-羟化酶(C4H)、4-香豆素辅酶A连接酶(4CL)、查尔酮合酶(CHS)、查尔酮还原酶(CHR)、查尔酮异构酶(CHI)的共同作用形成异甘草素和柚皮素,而后在异黄酮合酶(IFS)、2-羟基异黄酮脱水酶(HID)、氧甲基转移酶(OMT)等的催化下进一步转化成异黄酮类产物^[6](图1)。前人的研究表明 *CHS8* 和 *IFS2* 在大豆种子异黄酮合成中发挥极其重要的作用^[7];另外,利用RNA干扰沉默 *IFS* 基因表达可导致转化根中异黄酮含量的急剧减少,表明 *IFS* 在异黄酮合成中的重要作用^[8]。大豆子粒发育过程中异黄酮含量是不断积累,且与发育天数呈显著正相关^[9]。在异黄酮积累过程中,查尔酮合酶基因 *CHS7* 和 *CHS8* 的表达

水平也显著升高,说明子粒发育后期异黄酮积累量的不同可能是由于 *CHS7* 和 *CHS8* 表达量的不同造成的^[10]。此外,不同生育时期大豆异黄酮合成相关酶基因的表达存在显著差异,并与异黄酮含量存在一定的相关性^[11]。

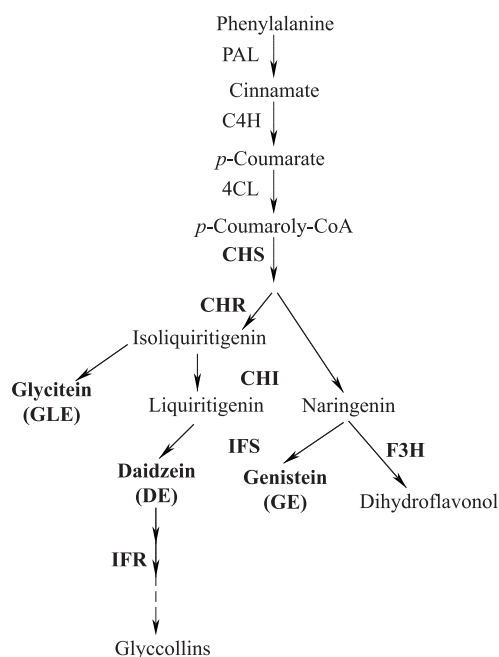


图1 异黄酮的生物合成途径

Fig. 1 Isoflavonoid biosynthesis pathway

本研究利用高效液相色谱(HPLC, high performance liquid chromatography)和实时定量PCR技术(real-time PCR)检测大豆子粒发育过程中异黄酮的积累动态及各异黄酮合成相关酶基因的表达模式,探讨各基因表达模式与异黄酮积累的相关关系,以期进一步理解多基因调控异黄酮合成的复杂性,并为利用基因工程策略提高异黄酮含量提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

高异黄酮含量品种鲁黑豆2号(LHD2)来自于黄淮大豆主产区,低异黄酮含量品种南汇早黑豆(NHZ)来自于南方大豆主产区。2个大豆品种虽然都为黑色种皮,但异黄酮含量却存在极显著差异,分别为3697.24 μg/g和1816.67 μg/g。

2013年6月将2个大豆品种分别种植于中国农业科学院作物科学研究所北圃场试验基地,行长2.0 m,行距0.5 m,株距0.1 m。选择生长状态

一致的植株,在相同节间位置,分别取开花后30 d、40 d、50 d、60 d和70 d的大豆子粒(相当于大豆生育时期的R4~R8时期),经液氮速冻后保存于-80℃超低温冰箱内备用。每个取样时间点设置3次重复。

1.2 试验方法

1.2.1 总RNA的提取及real-time PCR检测 利用Gene Mark公司的Plant Total RNA Miniprep Purification Kit提取子粒总RNA,并用1%琼脂糖凝胶电泳检测总RNA的质量。按照Promega公司的GoScript™ Reverse Transcription System说明,将总RNA反转录成第一链cDNA。以大豆PEPC16为内参基因,利用real-time PCR试剂盒(DRR081A, TaKaRa)在Bio-Rad MyiQ单色荧光实时定量PCR仪上进行反应。扩增程序为:95℃预变性30 s;95℃变性5 s,58℃退火30 s,72℃延伸20 s,40个循环;PCR反应后缓慢升至95℃,绘制熔解曲线。各基因的扩增引物见表1。

表1 定量RT-PCR中所用的大豆异黄酮合成相关酶基因的引物序列

Table 1 Primersequences of isoflavone synthesis relative enzyme genes used in RT-PCR test

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'-3')	下游引物 Reverse primer(5'-3')
PEPC16	TTCCTTTATCAGAAATAACGAGTTAGCT	TGTCTCATTTTGGCGCAGC
PAL1	AGCAACACAACCAGGATGTCAA	CAATTGCTTGGCAAAGTGCA
C4H	AGGCGAGATCAACGAAGACAAC	GTTCAACAAGCTCAGCAATGCC
4CL	AGGCAATGTACCTGGACAAAGCT	TCCGAGAGGACAGAGAAAGTGG
CHS1	GCAAGAGAACAAATCTTTCTTTTTCATAT	CAGAAGCATTTGCAGGGCA
CHS2	ACAACAAATCTTTCTTTTTCATATGTATTG	GAAGGCAGGGCAGGGAA
CHS3	CCAAGTCCTTTTCTTTCTTATTCATTC	AAGAAGCATGTGAGGGAAGCAG
CHS7	GCTGTGACTTGTGTTTGAGTTTC	GACTTGCTCTCACATGCGCTGGAA
CHS8	GCTCCCACTACTTTAATTGATTCTG	GACTTGCTCTCACATGCGCTGGAA
CHR	CAAAGCCATTGGAGTCAGCAA	CCATGCAAGGTTTCATCTCCACT
CHI1A	GGCGCTGAATACTCAAAGAAGG	AGAGGCACCAGGTGCAAAATT
CHI1B1	AGCTGAATTGCTCGACTCCCT	CAGATTGCATATGTGCCACACA
IFS1	AGAATTCCGTCCCAGAGAGGTT	TGCCATTCCTGAAGTAGCCAA
IFS2	AATGTGCCCTGGAGTCAATCTG	GGCGTCACCACCTTCAATAT
IFR	AGATGAAATGTGAAAGGAGCG	TGTGCACGGCTTTGTTCAAG

1.2.2 大豆子粒异黄酮提取和检测 对大豆品种LHD2和NHZ各时期的子粒准确称重,放入研钵,加入2 mL含0.1%(V/V)乙酸的70%(V/V)乙醇

水溶液,精细研磨后倒入带有螺帽的有机玻璃试管中,用3 mL提取液冲洗研钵的残留样品至试管中。振荡过夜,5000 r/min离心10 min,上清液通过

0.2 μm 滤膜过滤, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

大豆各发育时期子粒中异黄酮含量的检测采用 Agilent 1100 高效液相色谱仪, 手动进样 10 μL 。色谱柱: YMC-Pack, ODS-AM-303, 250 mm \times 4.6 mm I. D., S-5 μm , 120; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 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/min; 检测波长: 260 nm^[12]。

1.2.3 数据分析 根据 12 种异黄酮标准样品的保留时间和最大吸收光谱进行定性分析, 以 260 nm 处波长的紫外吸收值为标准, 参照 J. M. Sun 等^[13] 方法计算样品中异黄酮各组分、甾元及总含量。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{C}_T}$ 方法^[14] 分析各基因的相对表达量, 使用 Excel 2010 进行数据统计, 并制作趋势图。利用 SAS 9.1 软件中的 Corr 程序, 分析异黄酮含量与各基因相对表达量之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 大豆子粒发育过程中异黄酮含量变化

取鲁黑豆 2 号 (LHD2) 和南汇早黑豆 (NHZ) 开花后不同发育阶段的大豆子粒, 测定各阶段子粒中异黄酮含量, 研究子粒发育过程中异黄酮积累变化规律。如图 1 所示, LHD2 与 NHZ 的异黄酮含量随子粒发育过程不断增加, LHD2 在开花后 30 ~ 40 d 以及 50 ~ 60 d 阶段子粒中异黄酮积累速度较快, 而 NHZ 的异黄酮含量在开花后 40 ~ 50 d 时积累速度最快。NHZ 的生育时期较 LHD2 短, 开花后 30 d 基本达到 R5 期, 而 LHD2 处于 R4 期。因此同一生育时期 LHD2 子粒的异黄酮含量总是高于 NHZ。

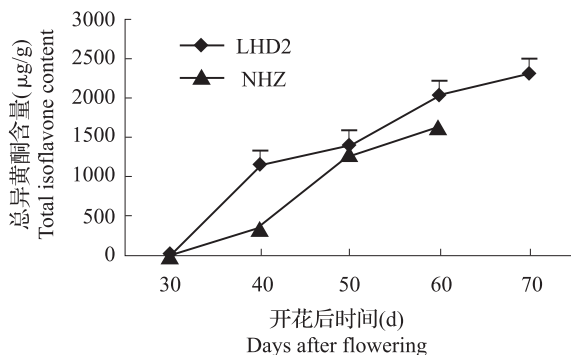


图2 大豆子粒发育过程中总异黄酮含量积累变化

Fig.2 The accumulation of total isoflavones during the seed development in soybean

2.2 大豆子粒发育过程中各异黄酮合成相关酶基因家族内不同基因的表达量变化

由表 2 可知, 大豆异黄酮合成相关酶基因家族中的不同成员在子粒发育过程中的表达量是存在差异的。*CHS* 多基因家族中, *CHS7* 和 *CHS8* 的相对表达量在 2 个品种子粒发育的各时期均显著高于 *CHS1*、*CHS2* 和 *CHS3*, *CHS8* 的表达量在 LHD2 的 40 ~ 70 d 阶段以及 NHZ 的 40 ~ 60 d 阶段均显著高于 *CHS7*; 同时在子粒发育后期, *CHS7* 和 *CHS8* 在 LHD2 中的表达量高于 NHZ。*CHI* 基因家族中, *CHIA* 的相对表达量在 LHD2 各时期和 NHZ 的 40 ~ 60 d 阶段均显著高于 *CHI1B1* 的表达; 在子粒发育后期 *CHIA* 在 LHD2 中的表达量高于 NHZ。*IFS* 基因家族中 *IFS2* 的相对表达量在 2 个品种子粒发育后期均显著高于 *IFS1* 的表达量, 且 *IFS2* 在 LHD2 中的表达量显著高于 NHZ。同一基因家族中不同基因表达丰度的差异可能是由于其功能上的分化, 进而对异黄酮的积累产生不同的影响。同一基因在 LHD2 和 NHZ 中的表达差异可能是造成二者异黄酮含量差异的原因。

2.3 大豆子粒发育过程中异黄酮合成相关酶基因的表达水平变化与异黄酮含量的相关性

为明确各异黄酮合成相关酶基因的表达水平与异黄酮含量之间的关系, 对异黄酮含量显著不同的 2 个大豆品种子粒发育过程中各基因表达量与异黄酮积累的相关关系进行了分析。由表 3 可知, LHD2 和 NHZ 中 *PAL1*、*C4H* 和 *4CL* 基因的表达变化与异黄酮各组分的积累无显著相关性, 由于这 3 个基因编码的酶主要在苯丙氨酸路径的上游发挥作用, 可能不是异黄酮合成过程中的主要限速酶。在 2 个大豆品种中, *CHS7* 和 *CHS8* 2 个基因的表达趋势基本一致, 均与异黄酮积累呈正相关关系, 特别是在 LHD2 中, *CHS7* 基因在子粒发育过程中的表达量变化与丙二酰基染料木苷和染料木素的积累呈显著正相关; *CHS8* 的表达量变化与丙二酰基染料木苷、染料木素及异黄酮总含量和甾元总含量呈显著正相关; 图 3 和图 4 同样显示, *CHS7* 和 *CHS8* 基因的相对表达量在 LHD2 和 NHZ 中均随子粒发育而不断升高, 且在开花后 50 d 时 2 个基因在 LHD2 的表达量显著高于 NHZ, 表明 *CHS7* 和 *CHS8* 可能在大豆子粒发育后期异黄酮积累过程中发挥重要作用, 同时表明 LHD2 中这 2 个基因的高水平表达可能是其异黄酮含量较高的原因之一。

表 2 大豆子粒发育的不同时期与异黄酮合成相关同一基因家族不同成员的基因表达量比较

Table 2 Comparison of expression level of various gene members from the same gene family related to isoflavone accumulation during the different seed developmental stage in soybean

品种 Cultivar	开花后时间(d) Days after flowering	CHS 基因家族 CHS gene family				
		CHS1	CHS2	CHS3	CHS7	CHS8
LHD2	30	0.028 ± 0.007b	0.066 ± 0.022b	0.050 ± 0.023b	0.617 ± 0.086a	0.678 ± 0.116a
	40	0.033 ± 0.007c	0.132 ± 0.034c	0.120 ± 0.029c	1.593 ± 0.266b	3.611 ± 0.129a
	50	0.012 ± 0.004c	0.240 ± 0.235c	0.247 ± 0.196c	9.522 ± 1.393b	28.166 ± 0.677a
	60	0.047 ± 0.030c	0.048 ± 0.016c	0.244 ± 0.012c	9.370 ± 6.190b	42.673 ± 15.714a
	70	0.062 ± 0.030c	0.052 ± 0.002c	0.226 ± 0.029c	12.531 ± 1.335b	46.596 ± 6.039a
NHZ	30	0.003 ± 0.003b	0.089 ± 0.019b	0.024 ± 0.011b	0.881 ± 0.128a	0.797 ± 0.255a
	40	0.011 ± 0.002c	0.179 ± 0.040c	0.286 ± 0.010c	3.554 ± 0.229b	3.943 ± 0.367a
	50	0.017 ± 0.010c	0.082 ± 0.037c	0.158 ± 0.046c	3.472 ± 0.056b	3.962 ± 0.269a
	60	0.054 ± 0.004c	0.100 ± 0.040c	0.274 ± 0.058c	7.017 ± 1.739b	16.926 ± 1.152a

品种 Cultivar	开花后时间(d) Days after flowering	CHI 基因家族 CHI gene family		IFS 基因家族 IFS gene family	
		CHIA	CHI1B1	IFS1	IFS2
LHD2	30	1.895 ± 0.450a	0.638 ± 0.129b	5.532 ± 3.136a	0.085 ± 0.046b
	40	5.103 ± 1.310a	0.256 ± 0.102b	14.916 ± 2.543a	3.798 ± 5.907b
	50	31.478 ± 0.089a	0.173 ± 0.002b	1.774 ± 1.302b	18.690 ± 10.867a
	60	35.174 ± 5.996a	0.128 ± 0.020b	3.208 ± 4.588b	372.383 ± 111.622a
	70	37.461 ± 5.907a	0.093 ± 0.010b	2.802 ± 0.464b	493.564 ± 88.926a
NHZ	30	2.011 ± 1.204a	0.688 ± 0.125a	3.495 ± 0.729a	0.645 ± 0.846b
	40	6.691 ± 0.390a	0.413 ± 0.050b	0.454 ± 0.303a	9.900 ± 6.390a
	50	3.235 ± 1.177a	0.008 ± 0.001b	2.794 ± 1.410b	46.621 ± 43.648a
	60	15.189 ± 5.367a	0.045 ± 0.001b	1.834 ± 0.045b	266.584 ± 39.871a

不同字母代表差异显著 ($P \leq 0.05$)

Different letters indicate significant difference at $P \leq 0.05$ level

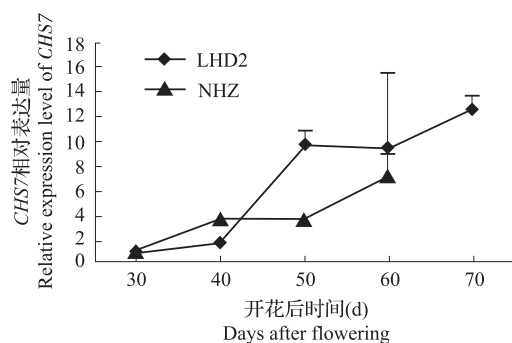
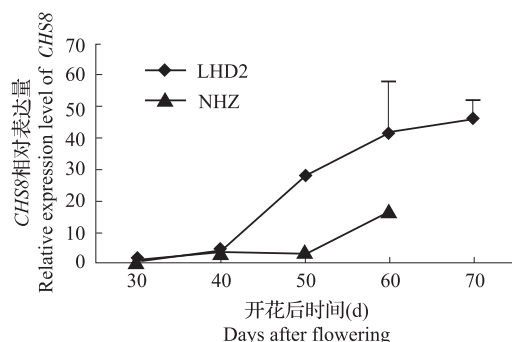
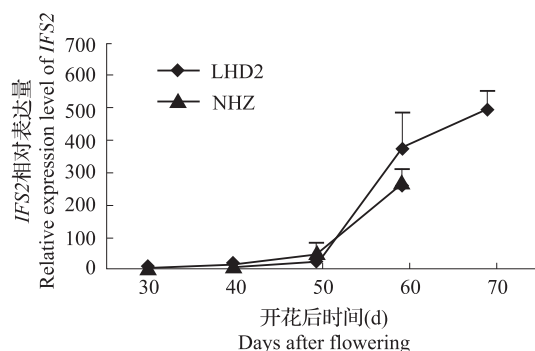
CHR 基因在 2 个品种中的表达趋势也是相同的,均与异黄酮积累呈正相关关系,特别是在 LHD2 中其表达量变化与丙二酰基染料木苷、染料木素及异黄酮总含量和甾元总含量呈极显著正相关,且在 LHD2 中的表达量显著高于 NHZ,表明 *CHR* 基因可能对异黄酮的积累具有重要的影响。

IFS 基因家族中存在 2 个家族成员,分别为 *IFS1* 和 *IFS2*,二者在种子发育过程中的表达与异黄酮的积累趋势不同。*IFS1* 基因在 2 个品种中表现出与大部分异黄酮组分积累存在负相关关系,而 *IFS2* 基因与异黄酮积累存在正相关关系,特别是在 LHD2 中该基因与丙二酰基染料木苷和染料木素的积累显著正相关。另外,*IFS2* 基因作为异黄酮合成分支的第一个关键酶基因,在开花后 50 ~ 60 d 阶段其相对表达量急剧上升,且在 LHD2 中的表达量显著高于 NHZ,表明 *IFS2* 在子粒发育后期异黄酮的积累中可能起关键作用(图 5)。

CHI 基因家族中的 *CHIA* 和 *CHI1B1* 均属于 II 型 *CHI* 基因,这 2 个基因在 2 个大豆品种存在相反的表达趋势。在 LHD2 中,*CHIA* 表达模式与异黄

酮各组分均存在正相关趋势,特别是与丙二酰基染料木苷、染料木素及异黄酮总含量的积累显著正相关,而 *CHI1B1* 基因的表达模式与异黄酮各组分基本上均存在显著或极显著负相关;而在 NHZ 中这 2 个基因与异黄酮组分积累也存在基本相同的相关趋势。同时图 6 的表达模式显示,*CHI1B1* 在 LHD2 的 30 ~ 40 d 和 NHZ 的 40 ~ 50 d 异黄酮含量快速上升期,其相对表达量急剧下降,表明 *CHI1B1* 作为 *CHI* 基因家族的成员,可能主要参与苯丙氨酸代谢途径中其他分支化合物的合成,如木质素等,而对异黄酮的积累可能存在抑制作用^[15]。

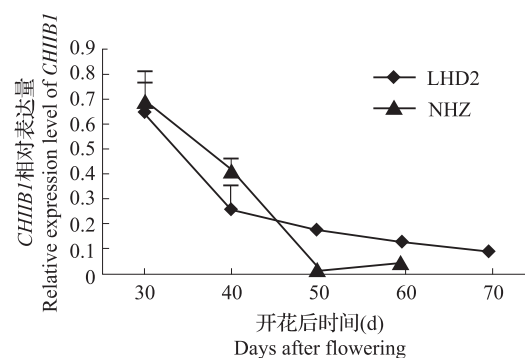
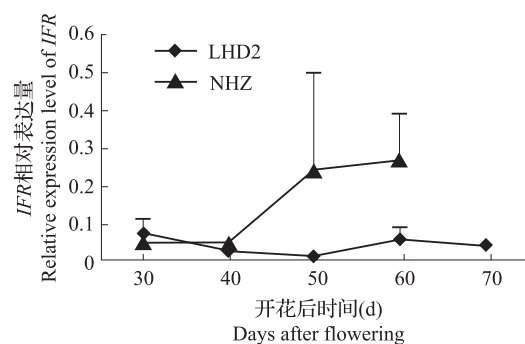
IFR 基因是异黄酮合成路径的下游基因,参与异黄酮组分的代谢(图 1)。在 2 个异黄酮含量差异显著的大豆品种中,*IFR* 基因的表达模式存在相反的趋势。在 LHD2 中 *IFR* 基因与异黄酮组分积累呈负相关关系,而在 NHZ 中该基因与异黄酮组分积累呈正相关关系,特别与染料木苷、丙二酰基黄豆苷、丙二酰基染料木苷、大豆黄素、染料木素、异黄酮总含量和甾元总含量的积累呈显著或极显著正相关(表 3)。由图 7 的表达模式可见,NHZ 中的 *IFR* 的

图3 *CHS7* 基因在子粒发育过程中的表达变化Fig. 3 The expression pattern of *CHS7* during the seed development in soybean图4 *CHS8* 基因在子粒发育过程中的表达变化Fig. 4 The expression pattern of *CHS8* during the seed development in soybean图5 *IFS2* 基因在子粒发育过程中的表达变化Fig. 5 The expression pattern of *IFS2* during the seed development in soybean

相对表达量显著高于 LHD2, 其表达量的逐渐升高可能促进了 NHZ 子粒中异黄酮组分的代谢, 可能是造成其异黄酮含量明显低于 LHD2 的原因之一。

2.4 子粒发育过程中各异黄酮合成相关酶基因表达的相关性

为明确不同异黄酮合成相关酶基因是否存在协同作用, 共同调控异黄酮的合成和积累, 对子粒发育过程中这些基因表达水平的相关性进行了分析。由表 4 可知, *PAL1* 与 *4CL* 基因, *4CL* 与 *CHS2* 基因, *CHS1* 与 *IFS2* 基因, *CHS7* 与 *CHS8* 基因以及 *CHS8*

图6 *CHI1B1* 基因在子粒发育过程中的表达变化Fig. 6 The expression pattern of *CHI1B1* during the seed development in soybean图7 *IFR* 基因在子粒发育过程中的表达变化Fig. 7 The expression pattern of *IFR* during the seed development in soybean

与 *CHI1A* 基因的表达在 2 个品种中均呈显著或极显著正相关, 表明各基因对子粒发育过程中异黄酮的积累可能具有协同调节的作用。另外, 在 LHD2 中 *CHS3* 和 *CHR* 的表达变化与 *CHS8* 及 *CHI1A* 的表达均呈显著正相关; NHZ 中 *CHS1* 的表达变化与 *CHS7* 和 *CHS8* 的表达呈显著正相关, *CHS8* 和 *CHR* 的表达与 *IFS2* 基因的表达也呈显著正相关, 表明 LHD2 和 NHZ 中不同基因间的协同表达可能是造成两者异黄酮含量差异的原因之一。*CHS*、*CHI* 和 *IFS* 基因都是多基因家族, 其家族中各基因的表达趋势不尽相同。*CHS* 基因家族中 *CHS7* 与 *CHS8* 的表达呈显著正相关, 而 *CHS2* 和 *CHS3* 与其他成员间的表达无明显相关性; *CHI1A* 与 *CHI1B1* 是 *CHI* 基因家族的成员, 两者在子粒发育过程中呈现相反的表达趋势; *IFS* 基因家族中 *IFS1* 与 *IFS2* 的表达无明显的相关性。由此可见, 同一基因家族中不同基因表达模式的不同可能在一定程度上影响异黄酮的积累。

表 3 大豆子粒发育过程中异黄酮相关酶基因表达量与异黄酮各组分含量的相关系数

Table 3 Correlation coefficients between gene expression level and isoflavone components content during the seed development in soybean

品种	基因	黄豆苷	黄豆黄苷	染料木苷	丙二酰基 黄豆苷	丙二酰基 黄豆黄苷	丙二酰基 染料木苷	大豆黄素	黄豆黄素	染料木素	异黄酮 总含量	甾元 总含量
Cultivar	Gene	Daidzin	Glycitin	Genistin	Malonyl- daidzin	Malonyl- glycitin	Malonyl- genistin	Daidzein	Glycitein	Genistein	Total isoflavone	Total isoflavone aglycon
鲁黑豆 2 号	<i>PAL1</i>	0.318	0.276	0.279	0.320	0.368	0.228	0.317	0.416	0.241	0.299	0.304
LHD2	<i>C4H</i>	0.002	-0.059	-0.127	-0.114	0.103	-0.325	-0.113	0.114	-0.304	-0.201	-0.195
	<i>4CL</i>	0.249	0.195	0.151	0.178	0.324	-0.024	0.178	0.351	0.002	0.104	0.111
	<i>CHS1</i>	0.356	0.418	0.505	0.538	0.220	0.712	0.536	0.232	0.699	0.617	0.610
	<i>CHS2</i>	0.050	-0.008	-0.065	-0.043	0.143	-0.235	-0.043	0.161	-0.216	-0.121	-0.115
	<i>CHS3</i>	0.794	0.792	0.842	0.860	0.769	0.804	0.857	0.818	0.833	0.877	0.880 *
	<i>CHS7</i>	0.606	0.626	0.730	0.790	0.531	0.928 *	0.784	0.597	0.921 *	0.876	0.874
	<i>CHS8</i>	0.666	0.693	0.792	0.825	0.587	0.940 *	0.820	0.641	0.942 *	0.906 *	0.905 *
	<i>CHR</i>	0.811	0.835	0.911 *	0.951 *	0.728	0.970 **	0.948 *	0.774	0.988 **	0.992 **	0.991 **
	<i>CHI1A</i>	0.667	0.682	0.773	0.808	0.609	0.894 *	0.803	0.668	0.899 *	0.879 *	0.878
	<i>CHI1B1</i>	-0.919 *	-0.923 *	-0.954 *	-0.980 **	-0.870	-0.845	-0.979 **	-0.905 *	-0.888 *	-0.960 **	-0.962 **
	<i>IFS1</i>	-0.017	-0.030	-0.145	-0.179	0.011	-0.479	-0.171	-0.054	-0.436	-0.320	-0.317
	<i>IFS2</i>	0.523	0.575	0.684	0.719	0.402	0.907 *	0.715	0.439	0.8967 *	0.819	0.814
	<i>IFR</i>	-0.422	-0.386	-0.366	-0.430	-0.440	-0.257	-0.430	-0.473	-0.280	-0.366	-0.370
南汇早黑豆	<i>PAL1</i>	-0.262	0.006	-0.463	-0.269	-0.169	-0.428	-0.270	-0.095	-0.441	-0.361	-0.362
NHZ	<i>C4H</i>	-0.647	-0.284	-0.808	-0.680	-0.453	-0.803	-0.676	-0.383	-0.808	-0.744	-0.743
	<i>4CL</i>	-0.344	-0.089	-0.533	-0.343	-0.262	-0.493	-0.347	-0.189	-0.506	-0.434	-0.435
	<i>CHS1</i>	0.804	0.480	0.806	0.878	0.531	0.870	0.863	0.511	0.854	0.849	0.846
	<i>CHS2</i>	-0.217	0.145	-0.439	-0.258	-0.038	-0.434	-0.252	0.040	-0.439	-0.345	-0.343
	<i>CHS3</i>	0.606	0.725	0.415	0.589	0.625	0.430	0.592	0.670	0.424	0.511	0.511
	<i>CHS7</i>	0.859	0.673	0.793	0.899	0.680	0.836	0.891	0.680	0.824	0.854	0.852
	<i>CHS8</i>	0.752	0.437	0.742	0.831	0.473	0.814	0.815	0.460	0.795	0.794	0.790
	<i>CHR</i>	0.695	0.259	0.776	0.792	0.359	0.848	0.772	0.318	0.830	0.789	0.785
	<i>CHI1A</i>	0.642	0.393	0.589	0.721	0.387	0.670	0.704	0.391	0.648	0.663	0.659
	<i>CHI1B1</i>	-0.987 *	-0.906	-0.956 *	-0.955 *	-0.962 *	-0.922	-0.964 *	-0.942	-0.932	-0.961 *	-0.963 *
	<i>IFS1</i>	-0.209	-0.480	0.021	-0.176	-0.322	0.011	-0.181	-0.391	0.016	-0.085	-0.086
	<i>IFS2</i>	0.744	0.373	0.771	0.831	0.436	0.844	0.813	0.411	0.825	0.808	0.804
	<i>IFR</i>	0.940	0.680	0.994 **	0.951 *	0.791	0.987 *	0.951 *	0.747	0.990 **	0.977 *	0.977 *

* 和 ** 分别代表 $P \leq 0.05$ 和 $P \leq 0.01$ 显著水平,下同* and ** represent the significant difference at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$ level, respectively. The same as below

表 4 大豆异黄酮合成各关键酶基因在种子发育过程中表达的相关性
Table 4 Correlation coefficients among the expression levels of key enzyme genes during the seed developmental stage in soybean

品种 Cultivar	基因 Gene	<i>PAL1</i>	<i>C4H</i>	<i>4CL</i>	<i>CHS1</i>	<i>CHS2</i>	<i>CHS3</i>	<i>CHS7</i>	<i>CHS8</i>	<i>CHR</i>	<i>CH11A</i>	<i>CH11B1</i>	<i>IFS1</i>	<i>IFS2</i>
鲁黑豆 2 号 LHD2	<i>C4H</i>	0.817												
	<i>4CL</i>	0.939 *	0.952 *											
	<i>CHS1</i>	-0.518	-0.854	-0.678										
	<i>CHS2</i>	0.867	0.995 **	0.974 **	-0.813									
	<i>CHS3</i>	0.651	0.143	0.429	0.222	0.226								
	<i>CHS7</i>	0.499	-0.086	0.210	0.438	0.010	0.922							
	<i>CHS8</i>	0.312	-0.283	0.014	0.576	-0.193	0.894 *	0.968 **						
	<i>CHR</i>	0.332	-0.205	0.105	0.610	-0.119	0.898 *	0.928 *	0.947 *					
	<i>CH11A</i>	0.497	-0.086	0.208	0.403	0.005	0.954 *	0.986 **	0.979 **	0.924 *				
	<i>CH11B1</i>	-0.495	-0.066	-0.358	-0.397	-0.141	-0.908 *	-0.822	-0.809	-0.939 *	-0.830			
	<i>IFS1</i>	-0.389	0.082	-0.066	-0.085	0.014	-0.574	-0.710	-0.680	-0.429	-0.722	0.223		
	<i>IFS2</i>	-0.158	-0.682	-0.426	0.8947 *	-0.610	0.594	0.773	0.876	0.844	0.761	-0.625	-0.462	
	<i>IFR</i>	-0.845	-0.782	-0.901 *	0.343	-0.822	-0.508	-0.357	-0.165	-0.350	-0.312	0.587	-0.063	0.169
南汇早黑豆 NHZ	<i>C4H</i>	0.872												
	<i>4CL</i>	0.995 **	0.896											
	<i>CHS1</i>	-0.065	-0.541	-0.111										
	<i>CHS2</i>	0.971 *	0.884	0.953 *	-0.167									
	<i>CHS3</i>	0.609	0.192	0.537	0.597	0.626								
	<i>CHS7</i>	0.125	-0.373	0.060	0.953 *	0.072	0.803							
	<i>CHS8</i>	0.030	-0.455	-0.013	0.994 **	-0.086	0.631	0.953 *						
	<i>CHR</i>	-0.313	-0.709	-0.337	0.944	-0.446	0.300	0.803	0.926					
	<i>CH11A</i>	0.267	-0.228	0.228	0.941	0.141	0.736	0.939	0.971 *	0.823				
	<i>CH11B1</i>	0.313	0.645	0.399	-0.699	0.232	-0.556	-0.774	-0.637	-0.588	-0.516			
	<i>IFS1</i>	-0.878	-0.602	-0.828	-0.228	-0.905	-0.898	-0.477	-0.292	0.091	-0.477	0.174		
	<i>IFS2</i>	-0.113	-0.570	-0.149	0.992 **	-0.238	0.505	0.909	0.988 *	0.94 *	0.927	-0.630	-0.138	
	<i>IFR</i>	-0.552	-0.868	-0.615	0.782	-0.535	0.315	0.739	0.712	0.787	0.540	-0.926	0.129	0.757

3 讨论

3.1 大豆异黄酮在不同品种子粒发育过程中积累变化的差异

本研究中测定了 2 个异黄酮含量显著差异的大豆品种鲁黑豆 2 号(LHD2)和南汇早黑豆(NHZ)在开花后 30 d、40 d、50 d、60 d 和 70 d 种子中异黄酮含量的变化趋势,结果显示子粒中异黄酮含量随子粒发育而逐渐积累,与 S. Dhaubhade 等^[16]的研究结果一致。由于 NHZ 的生育期较短,开花后 60 d 基本达到完熟期(R8 期),并出现炸荚现象,因此取样截止于开花后 60 d。由于 NHZ 花后的生育时期始

终早于 LHD2,可以推断花后两者在同一生育时期,LHD2 的异黄酮含量始终高于 NHZ,并最终造成 2 个品种显著的异黄酮含量差异。

3.2 调节异黄酮合成相关酶基因的表达可能增加大豆子粒中的异黄酮含量

前人的研究显示,调节苯丙氨酸路径中不同关键酶基因的表达可以促进大豆子粒中的异黄酮积累^[6],表明苯丙氨酸路径中各关键酶基因共同调控大豆异黄酮的合成。高异黄酮含量的 LHD2 在开花后 50 d 时,子粒中 *PAL1*、*C4H*、*4CL*、*CHS2*、*CHS3* 和 *CH11A* 基因的表达均出现一个高峰(未提供数据),这与王艳等^[11]的研究结果基本一致,表明这些基因

对子粒发育后期异黄酮的积累起重要作用。在异黄酮含量差异显著的 2 个品种中, *CHS7*、*CHS8*、*CHR* 和 *IFS2* 基因的相对表达量均随子粒的发育过程不断上升, 因此上调这些基因的表达可能促进异黄酮的积累。*CHI1B1* 基因的相对表达量随子粒的发育过程逐渐下降, 与多种异黄酮组分及异黄酮总含量呈显著或极显著负相关, 表明 *CHI1B1* 的表达可能对异黄酮的积累具有抑制作用。而 *IFR* 基因在 2 个品种中存在截然相反的表达趋势, 其在高异黄酮含量的 LHD2 子粒发育的不同时期表达量均较低, 而在低异黄酮含量的 NHZ 中表达量却持续升高, 可能是由于 *IFR* 主要参与异黄酮组分的下游代谢过程 (图 1), 可以将子粒中积累的甾元异黄酮类型转化为具有防御反应的植保素 (glyceollin) [17], 从而降低子粒中的异黄酮积累, 因此通过基因工程策略抑制其表达, 以达到增加子粒中异黄酮积累的目的。

3.3 同一基因家族不同成员的差异表达可能对异黄酮的积累具有不同的影响

调控大豆异黄酮合成的苯丙氨酸途径中与异黄酮合成相关的关键酶基因家族中不同成员的表达量是存在差异的 [18]。查尔酮合酶由多基因家族编码 [19], *CHS1* ~ *CHS6* 密切相关聚为一类, *CHS7* 和 *CHS8* 聚为另一类 [20]。本研究中 *CHS7* 和 *CHS8* 的相对表达量明显高于 *CHS1*、*CHS2* 和 *CHS3* 的表达, 而 *CHS1*、*CHS2* 和 *CHS3* 在种子中的表达水平较低, 与 A. Matkowschi [21] 的研究结果一致。此外, 两类基因在子粒发育过程中的表达变化趋势不同, 表明它们对异黄酮的合成可能具有不同的调控模式。*CHI* 基因家族中的 *CHI1A* 和 *CHI1B1* 均属于 II 型 *CHI*, 与异黄酮的合成紧密相关 [22-23], 但在本研究中二者却呈现完全相反的表达模式, 表明两者在大豆子粒异黄酮的积累中出现功能分化, 其在异黄酮合成中的作用还需做进一步研究。异黄酮合酶是异黄酮合成分支的第 1 个关键酶, 由 *IFS1* 和 *IFS2* 共同编码 [24]。前人研究表明, *IFS1* 主要在根和种皮中表达, 而 *IFS2* 在胚中具有较高的表达量 [16]。本研究中 *IFS1* 和 *IFS2* 基因在子粒中同样具有不同的表达模式, 且在子粒发育后期 *IFS2* 的表达量显著高于 *IFS1* 的表达量, 与 S. Dhaubhade 等 [16] 和 S. Subramanian 等 [25] 的研究结果一致, 表明 *IFS2* 可能更有助于子粒发育后期异黄酮的积累。

3.4 大豆异黄酮合成路径中关键酶之间存在复杂的网络调控

在植物的次生代谢路径中存在着多个合成分

支, 各个分支共享共同的底物, 导致不同代谢分支之间存在竞争关系, 从而形成异黄酮代谢的瓶颈问题需要综合考虑。前人的研究表明, 调节单个基因的表达, 如 *PAL*、*C4H*、*4CL*、*CHS* 和 *CHI* 等不能有效提高异黄酮的含量 [26-29], 因为异黄酮的合成受复杂调控网络的控制, 同时还存在相互竞争和关联的分支途径。如异黄酮合成酶 (*IFS*) 和黄酮-3-羟化酶 (*F3H*) 之间就存在竞争关系, 这已在拟南芥、玉米和烟草的研究中得到了证实 [6, 30-31]。通过将 *IFS* 基因转入拟南芥的 *F3H/DFR* 双突变体中, 可显著提高 GE 的积累水平, 表明 *IFS* 与内源黄酮路径之间存在竞争关系。同样, 利用 RNAi 方法将 *IFS2* 和 *CHS6* 基因沉默几乎完全抑制根部异黄酮的合成, 伴随着可溶性细胞壁中酚类相对高浓度的积累 [32]。在异黄酮合成路径中, 查尔酮还原酶 (*CHR*) 催化生成 DE 和异甘草素合成的查尔酮前体, 然后经过 *CHI* 和 *IFS* 作用, 生成 DE; GE 的合成主要由 *CHI* 和 *IFS* 酶催化查尔酮柚皮素转化而来的, 因此 *CHR* 是合成 DE 必要的酶, 而 *IFS* 是合成 GE 的必要酶。通过将 *CHR* 基因沉默, 导致根部的 DE 和植保素含量水平降低, 相对应的 GE 积累水平成倍增加, 而异黄酮总含量却没有变化, 因此通过抑制 DE 积累, 可以间接提高 GE 的积累。本研究中, *CHS7* 和 *CHS8* 的表达与大豆子粒中异黄酮的积累紧密相关, 二者在子粒发育过程中的表达呈显著正相关, 且在子粒发育后期, 2 基因在 LHD2 中的相对表达量明显高于 NHZ, 这可能是造成异黄酮含量差异显著的重要原因, 这与 S. Dhaubhade 等 [10] 研究结果一致。另外, 基因 *CHS1* 与 *IFS2* 在子粒发育过程中的表达呈显著正相关, 同时在 NHZ 中 *CHS8* 与 *IFS2* 的表达呈显著正相关, 表明二者可能共同调控异黄酮的合成, 与易金鑫等 [7] 的研究结果一致。*CHI1A* 基因与 *CHS3*、*CHS7*、*CHS8* 和 *CHR* 基因间均存在显著或极显著正相关关系, 而 *CHI1B1* 基因与之存在相反关系, 这充分说明大豆合成路径中的关键酶之间存在复杂的竞争关系。综上所述, 调控异黄酮合成过程中关键酶活性和底物积累的基因十分复杂, 要想利用转基因的手段显著提高异黄酮积累必须综合考虑如何有效提高异黄酮合成酶底物水平, 减少内源竞争酶的活性, 加强 *IFS* 酶活性效能等方面, 以期提高异黄酮积累水平。

参考文献

- [1] Kudou S, Fleury Y, Weltl D, et al. Malonyl isoflavone glucosides in soybean seeds (*Glycine max* Merrill) [J]. Agric Biol Chem,

- 1991,55:2227-2233
- [2] Barnes S, Grubbs C, Setchell K D R. Soybeans inhibit mammary tumors in models of breast cancer[J]. Prog Clin Biol Res, 1989, 347:239-253
- [3] Coward L, Barnes N C, Setchell K D R, et al. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates; anti-tumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets[J]. Agric Food Chem, 1993, 41:1961-1967
- [4] Anthonym S, Clarkson T B, Hughes J R C L. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys[J]. J Nutr, 1996, 126:43-50
- [5] White L R, Petrovitch H, Ross G W, et al. Brain aging and midlife tofu consumption[J]. J Am Col Nutr, 2000, 19:242-255
- [6] Yu O, Shi J, Hession A O, et al. Metabolic engineering to increase isoflavone biosynthesis in soybean seed[J]. Phytochemistry, 2003, 63:753-763
- [7] 易金鑫, 徐照龙, 王俊峰, 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
- [8] Subramanian S, Graham M Y, Yu O, et al. RNA interference of soybean isoflavone synthase genes leads to silencing in tissues distal to the transformation site and to enhanced susceptibility to *Phytophthora sojae*[J]. Plant Physiol, 2005, 137:1345-1353
- [9] 孙君明, 丁安林. 大豆种子发育过程中异黄酮的积累[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(1):10-13
- [10] Dhaubhadel S, Gijzen M, Moy P, et al. Transcriptome analysis reveals a critical role of *CHS7* and *CHS8* genes for isoflavonoid synthesis in soybean seeds[J]. Plant Physiol, 2007, 143:326-338
- [11] 王艳, 武林, 孙梦阳, 等. 不同生育时期大豆异黄酮合成相关酶基因表达的分析[J]. 大豆科学, 2012, 31(6):887-893
- [12] 张晶莹. 高密度大豆遗传连锁图谱构建与异黄酮主要组分 QTL 定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013
- [13] Sun J M, Sun B L, Han F X, et al. Rapid HPLC method for determination of 12 isoflavone components in soybean seeds[J]. Agr Sci China, 2011, 10:70-77
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method[J]. Methods, 2001, 25:402-408
- [15] Boerjan W, Ralph J, Baucher M. Lignin biosynthesis[J]. Annu Rev Plant Biol, 2003, 54:519-546
- [16] Dhaubhadel S, McGarvey B D, Williams R, et al. Isoflavonoid biosynthesis and accumulation in developing soybean seeds[J]. Plant Mol Biol, 2003, 53:733-743
- [17] Ng T B, Ye X J, Wong J H, et al. Glyceollin, a soybean phytoalexin with medicinal properties[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2011, 90:59-68
- [18] Vogt T. Phenylpropanoid biosynthesis[J]. Mol Plant, 2010, 3: 2-20
- [19] Tuteja J H, Clough S J, Chan W C, et al. Tissue-specific gene silencing mediated by a naturally occurring chalcone synthase gene cluster in *Glycine max*[J]. Plant Cell, 2004, 16:819-835
- [20] Matsumura H, Watanabe S, Harada K, et al. Molecular linkage mapping and phylogeny of the chalcone synthase multigene family in soybean[J]. Theor Appl Genet, 2005, 110:1203-1209
- [21] Matkowski A. In vitro isoflavonoid production in callus from different organs of *P. lobata* (Wild) Ohwi[J]. Plant Physiol, 2004, 161:343-346
- [22] Ralston L, Subramanian S, Matsuno M, et al. Partial reconstruction of flavonoid and isoflavonoid biosynthesis in yeast using soybean type I and type II chalcone isomerases[J]. Plant Physiol, 2005, 137:1375-1388
- [23] Kim J A, Chung I M. Change in isoflavone concentration of soybean seeds at different growth stages[J]. Sci Food Agric, 2007, 87:496-503
- [24] Jung W, Yu O, Lau S C, et al. Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes[J]. Nat Biotechnol, 2000, 18:208-212
- [25] Subramanian S, Stacey G, Yu O. Endogenous isoflavones are essential for the establishment of symbiosis between soybean and *Bradyrhizobium japonicum*[J]. Plant J, 2006, 48:261-273
- [26] Shirley B W, Hanley S, Goodman H M. Effects of ionizing radiation on a plant genome: analysis of two *Arabidopsis* transparent testa mutations[J]. Plant Cell, 1992, 4:333-347
- [27] Jez J M, Bowman M E, Dixon R A, et al. Structure and mechanism of the evolutionarily unique plant enzyme chalcone isomerase[J]. Nat Struct Mol Biol, 2000, 7:786-791
- [28] Verhoeven M E, Bovy A, Collins G, et al. Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthetic pathway[J]. J Exp Bot, 2002, 53:2099-2106
- [29] Yu O, McGonigle B. Metabolic engineering of isoflavone biosynthesis[J]. Adv Agron, 2005, 86:147-190
- [30] Yu O, Jung W, Shi J, et al. Production of the isoflavones genistein and daidzein in non-legume dicot and monocot tissues[J]. Plant Physiol, 2000, 124:781-794
- [31] Liu C, Blount J W, Steele C L, et al. Bottlenecks for metabolic engineering of isoflavone glycoconjugates in *Arabidopsis*[J]. PNAS, 2002, 99:14578-14583
- [32] Lozovaya V V, Lygin A V, Zernova O V, et al. Modification of phenolic metabolism in soybean hairy roots through down regulation of chalcone synthase or isoflavone synthase[J]. Planta, 2007, 225:665-679

欢迎订阅 2015 年《果树学报》

《果树学报》是中国农业科学院郑州果树研究所主办的国家级学术期刊, 中国农林水产类权威学术期刊, 中文园艺学核心期刊, 中国科技核心期刊, 已被中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)、美国化学文摘(CA)、日本科学技术振兴机构数据库(JST)、英国 CABI 等 20 余种国内外重要数据库收录。

本刊着重选发密切结合我国果树科研、教学、生产实际, 反映学科学术水平和发展动向的优秀稿件, 及时报道重大科研成果、阶段性成果和科研进展情况。栏目设置有种质资源·遗传育种·分子生物学、栽培·生理·生态、植物保护·果品质量与安全、贮藏·加工、专论与综述、技术与方法、新品种选育报告等。读者对象为果树学科的科研人员、高等农业院校师生及基层果树管理技术人员。

双月刊, 160 页/期, 定价 20 元/册, 全年 120 元。邮发代号 36-93, 国际代号 BM/1107。

地址: (450009) 河南省郑州市航海东路

电话: 0371-63387308

网址: <http://gskk.cbpt.cnki.net>

E-mail: chinagxb@163.com