

荞麦属种质资源发芽种子酯酶同工酶研究

张以忠^{1,2}, 陈庆富^{1*}

(1. 贵州师范大学 生命科学院 植物遗传育种研究所, 贵阳 550001; 2. 毕节学院 环境与生命科学系, 贵州 毕节 551700)

摘要: 用聚丙烯酰胺凝胶电泳对荞麦属 8 个种(含大粒组 7 个和小粒组 1 个)33 份材料发芽种子的酯酶同工酶进行了研究。结果表明: 酯酶同工酶不同酶带合计 22 条, 不同物种的酶带数 4 到 8 条。其中, 甜荞有 8 条带, 苦荞为 7 条。酶带及聚类分析表明, 大粒组荞麦种的谱带与细野荞等小粒组荞麦种间差异极大, 甜荞和苦荞酶带分别与大野荞和毛野荞相似, 并分别与 *F. megaspartanium* 和 *F. pilus* 聚类最近, 支持 *F. megaspartanium* 和 *F. pilus* 可能分别是甜荞和苦荞祖先种的假说。

关键词: 甜荞; 苦荞; 野荞; 酯酶同工酶; 系统关系

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)02-0233-06

Esterase isozyme on sprouting seeds of genus *Fagopyrum*

ZHANG Yi-Zhong^{1,2}, CHEN Qing-Fu^{1*}

(1. Institute of Plant Genetics and Breeding, School of Biological Technology and Engineering, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2. Department of Environment and Life Science, Bijie College, Bijie 551700, China)

Abstract: The esterase isozyme of thirty-three collections of cultivated and wild buckwheat belonging to eight species of genus *Fagopyrum* including seven species in the big-achene group and one species in the small-achene group were studied by means of polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE). The results showed that there were twenty-two different bands of esterase isozyme, with a range from four bands to eight bands among different buckwheat species. *F. esculentum* and *F. tataricum* had eight bands and seven bands, respectively. The variations of esterase isozyme zymograph were much great among different buckwheat species but less in the same species. The results of the zymograph analysis and the clustering showed that there were great differences of zymographs between the big-achene group and the small-achene group and that *F. megaspartanium* and *F. pilus* were close in clustering tree to *F. esculentum* and *F. tataricum*, respectively, supporting Chen's hypothesis that *F. megaspartanium* and *F. pilus* might be the ancestor species of *F. esculentum* and *F. tataricum*, respectively.

Key words: common buckwheat; tartary buckwheat; wild buckwheat; esterase isozyme; phylogeny

酯酶同工酶具有明显的种属、组织和发育阶段特异性,在一定程度上反应植物的系统发生(胡能书等,1985;刘至斋等,2004)。同工酶作为基因表达的产物,其酶谱的差异能够很好衡量种间的亲缘关系,

也可揭示种间、种内在进化过程中的变异程度(杨尧军等,2006;陈朝武等,2006)。利用同工酶技术探讨植物的亲缘关系是一种较为可靠的手段(铁军等,2005;李惠敏等,2007;张以忠等,2008b,c,d,e)。

收稿日期: 2010-05-08 修回日期: 2010-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(31060207);贵州省动植物育种专项(黔农育专字[2010]023号);贵州省农业攻关项目[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31060207);Special Project of Guizhou Animal and Plant Breeding(2010-023);Key Agricultural Technology Research and Development Project of Guizhou]

作者简介: 张以忠(1977-),男,贵州毕节人,博士研究生,副教授,从事生物学等课程的教学和荞麦科研工作,(E-mail)z8300300@163.com。

* 通讯作者: 陈庆富,教授,从事植物遗传、进化与育种研究,(E-mail)cqf1966@163.com。

荞麦(Buckwheat)属蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*),有甜荞(*F. esculentum*)和苦荞(*F. tataricum*)两个栽培种。早在1913年Gross对中国的荞麦种进行了系统分类(Ye等,1992; Ohnishi等,1996)。Steward(1930)和Ye等(1992)对亚洲的蓼科植物进行了划分,列出了10个荞麦种类(其中1个种后来被认为是蓼属种),Ye等(1992)的分类工作证实了Steward的种类并重新进行了划分。Ohnishi等(1996)提出了原产中国的3个新的小粒组种类。Chen(1999a,b)发现并描述了中国的3个新的大粒组种类。到目前为止,荞麦属种类约有15个自然物种和1个人工合成种类。其中6个自然种和1个人工合成种类属于大粒组,即:*F. esculentum*、*F. tataricum*、*F. zuogongense*、*F. megaspartanium*、*F. pilus*、*F. cymosum*和*F. giganteum*(Lee等,1994)。其中多年生的二倍体*F. megaspartanium*、二倍体*F. pilus*、异源四倍体*F. cymosum*由于形态相似被称为金荞复合物(*F. cymosum* complex)。9个种属于小粒组,包括*F. gracilipes*、*F. leptopodum*、*F. statice*、*F. capillatum*、*F. callianthum*、*F. gilesii*、*F. pleioramosum*、*F. lineare*和*F. urophyllum*。两个组间遗传差异很大(Chen, 1999a,b,2001b;Chen等,2004)。

关于栽培荞麦起源,一般认为多年生花柱异长的金荞是栽培荞麦的祖先,而且金荞、甜荞和苦荞在分类学上关系较近(Hedberg, 1946, Campbell, 1976)。最近的研究(Chen, 1999a, b; Chen等, 2004)表明,*F. megaspartanium*与甜荞、*F. pilus*与苦荞分别在形态学、同工酶、染色体核型上相似,而且彼此可杂交性较高,*F. megaspartanium*、*F. pilus*可能分别是甜荞和苦荞的祖先种。

目前国内外对荞麦同工酶的研究主要有过氧化物酶同工酶(赵钢等,1990;高洪君等,1994;张以忠等,2008a,b,c)、谷草转氨酶同工酶(Chen等,2004;张以忠等,2008d)等研究,而在荞麦酯酶同工酶方面的研究,仅有王转花等(1998)对甜荞和苦荞干种子酯酶同工酶、Chen(1999a)对7个荞麦种类干种子的酯酶同工酶以及张以忠等(2008e)对荞麦三叶期幼叶的酯酶同工酶等研究。本研究对荞麦属所有大粒组种和部分小粒组种的发芽时期酯酶同工酶进行研究,以期对荞麦属种间系统关系、栽培荞麦起源与演化、荞麦遗传育种等研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料的名称、编号、种名、倍性、原产地、代号等见表1。所有试验材料全部由贵州师范大学生命科学学院植物遗传育种研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 种子发芽和样品制备 荞麦种子用0.125%新洁尔灭消毒30s,自来水冲洗,放入培养皿中的湿润滤纸上,在25℃光照培养箱中保湿培养。待芽长到约2cm时,剥去瘦果皮,称取0.5g发芽种子加0.8mL提取液(0.1mol/L Tris-HCl缓冲液, pH7.5)、0.96g聚乙烯基吡咯烷酮(PVPP)和0.5g石英砂,冰浴研磨至匀浆,于4℃下1650g离心20min。上清液置-24℃下保存备用。

1.2.2 凝胶电泳 用聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳,分离胶浓度8.5%(pH8.9),浓缩胶浓度5.16%(pH6.3),胶板为20cm×12.5cm×0.23cm,每个样品槽加样60μL。4℃下进行电泳,起始电压100V,2h后加至200V。染色参考Chen(1999a)及胡能书等(1985),并稍加改动。具体方法为:电泳完毕并经双蒸水冲洗3次的凝胶放入pH6.0的磷酸盐缓冲液(配方为:取31.43g NaH₂PO₄·2H₂O定容到1000mL记为A液,再取71.66g Na₂HPO₄·12H₂O定容到1000mL记为B液。然后取A液460mL+B液40mL+双蒸水500mL,并用1mol/L NaOH调pH6.0)中,37℃下保温30min后倒出缓冲液,换上染色液(配方为:10mL 0.2mol/L Na₂HPO₄+50mL 0.2mol/L NaH₂PO₄+40mL 双蒸水+坚牢蓝RR盐0.2g,充分搅拌溶解过滤待用)。置37℃下保温50min,倒出染色液,用自来水冲洗,拍照后放入7%的乙酸中保存。

1.3 数据分析方法

用系统聚类法,先将各样品看成一类,有酶带数计为1,无酶带计为0,用SPSS11.1软件分析,利用欧氏距离计算样品间距离,用最短距离法计算类群间距离,按系统聚类分析法对收集系进行聚类分析。

2 结果与分析

从图1看出,共有酯酶同工酶谱带22条。根据谱带的分布特征,可分为3个区,即A区(EST 1-

6),B 区(EST 7-11),C 区(EST 12-22)。甜荞(ES1-6、8-11)共 8 条带(EST-3、4、5、12、14、17、18、20)。其中,有 5 条带(EST-3、4、5、14、18)为共有带,其余带(EST-12、17、20)在甜荞不同收集系之间存在变异。苦荞(TA1-12,14,15)共 7 条带(EST-2、5、10、13、17、21、22),有 4 条共有带(EST-2、5、10、13),其

余带(EST-17、21、22)在苦荞不同收集系之间存在变异。*F. zuogongense*(ZU1),共 4 条谱带(EST-4、5、17、19)。*F. pilus*(PI1),共 5 条谱带(EST-5、10、13、19、21)。*F. giganteum*(GI1、2),共 7 条带(EST-3、5、7、9、15、16、20),有 5 条带(EST-5、7、9、15、16)为共有带,2 条带(EST-3、20)在不同收集系

表 1 供试荞麦材料

Table 1 Buckwheat accessions used in this study

名称 Name	编号 Accession	种名 Species name	倍性 Ploidy	原产 Native to	代号 Symbol
毕节甜荞 Bijie Tianqiao	ES2004010101	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州毕节	ES1
黔西甜荞 Qianxi Tianqiao	ES2004102902	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州黔西	ES2
威宁甜荞 Weining Tianqiao	ES2004010201	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州威宁	ES3
水城甜荞 Shuicheng Tianqiao	ES2004091702	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州水城	ES4
遵义甜荞 Zunyi Tianqiao	ES2004091703	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州遵义	ES5
道真甜荞 Daozhen Tianqiao	ES2004091701	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州道真	ES6
兴仁甜荞 Xingren Tianqiao	ES2004010401	<i>F. esculentum</i>	2x	贵州兴仁	ES8
平桥二号 Pingqiao 2	ES2004030101	<i>F. esculentum</i>	2x	四川凉山	ES9
湖南甜荞 Hunan Tianqiao	ES2004102901	<i>F. esculentum</i>	2x	湖南武冈	ES10
Sibano	ES2004062001	<i>F. esculentum</i>	2x	德国	ES11
捷克甜荞 Prague Tianqiao	ES2004082201	<i>F. esculentum</i>	2x	捷克	ES12
毕节苦荞 Bijie Kuqiao	TA2003120101	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州毕节	TA1
威宁苦荞 2Weining Kuqiao 2	TA2003120102	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA2
威宁苦荞 3Weining Kuqiao 3	TA2003120103	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA3
苦刺荞 Thorny Kuqiao	TA2001112202	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA4
黔黑 1 号 Qian Hei 1	TA2004041507	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA5
黔苦 2 号 Qianku 2	TA2004041503	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA6
黔苦 4 号 Qianku 4	TA2004081103	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA7
老鸦苦荞 Laoya Kuqiao	TA2001112203	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州威宁	TA8
水城苦荞 Shuicheng Kuqiao	TA2004100102	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州水城	TA9
沿河苦荞 1Yanhe Kuqiao 1	TA2001100501	<i>F. tataricum</i>	2x	贵州沿河	TA10
沿河苦荞 2Yanhe Kuqiao 2	TA1998100101	<i>F. tataricum</i>	4x	人工合成	TA11
九江苦荞 Jiujiang Kuqiao	TA2004081101	<i>F. tataricum</i>	2x	四川九江	TA12
湖南苦荞 Hunan Kuqiao	TA2004102902	<i>F. tataricum</i>	2x	湖南武冈	TA14
山西苦荞 Shanxi Kuqiao	TA2003100801	<i>F. tataricum</i>	2x	山西大同	TA15
野甜荞 wild common buckwheat	HO2004101901	<i>F. escu. var. homotropicum</i>	2x	云南	HO1
云南金荞 Yunnan Jinqiao	CY2002062501	<i>F. cymosum</i>	4x	云南	CY1
佐贡野荞 Zuogong wild buckwheat	ZU2003070101	<i>F. zuogongense</i>	4x	西藏	ZU1
毛野荞 Pilous buckwheat	PI2004120101	<i>F. pilus</i>	2x	西藏	PI1
大野荞 Big wild buckwheat	ME2003101201	<i>F. megaspartanium</i>	2x	贵州	ME4
巨荞 Giganteum buckwheat	GI2003032001	<i>F. giganteum</i>	4x	人工合成	GI1
巨荞 Giganteum buckwheat	GI2003080101	<i>F. giganteum</i>	4x	人工合成	GI2
细野荞 Small wild buckwheat	GR2004100701	<i>F. gracilipes</i>	4x	云南	GR1

间存在变异。*F. megaspartanium*(ME4),共 4 条带(EST-1、4、5、18)。*F. gracilipes*(GR1),共 4 条带(EST-6、7、8、11)。*F. esculentum* var. *homotropicum*(HO1),共 6 条带(EST-3、4、5、15、16、18)。*F. cymosum*(CY1),共 4 条带(EST-5、10、16、20)。

根据酶带在各区中的分布情况,参试荞麦材料可分为三种类型。类型Ⅰ:B 区无带,A 区有谱带 EST-5,包括甜荞、*F. megaspartanium*(ME4)、*F.*

zuogongense(ZU1)、*F. esculentum* var. *homotropicum*(HO1)。类型Ⅱ:B 区 1-3 条带,A 区有谱带 EST-5,包括苦荞、*F. pilus*(PI1)、*F. cymosum*(CY1)、*F. giganteum*(GI1、2)。类型Ⅲ:B 区有 4 条较深的带,A 区无带,仅有 *F. gracilipes*(GR1)。

从上述分析看出,甜荞、*F. megaspartanium*、*F. zuogongense*、*F. esculentum* var. *homotropicum* 都属于类型Ⅰ,苦荞、*F. pilus*、*F. cymosum*、*F.*

giganteum 都属于类型Ⅱ。显然, *F. megaspartanum* 和 *F. pilus* 的谱带分别与甜荞、苦荞相似。 *F. gracilipes* 与上述荞麦无相同的带, 独立成为类型Ⅲ。

运用欧氏距离, 对上述 9 种荞麦进行系统聚类 (图 2)。从图 2 中可以看出, $T=9$ 时, 供试荞麦独立成类, 与传统分类一致。 $T=16$ 时, 供试荞麦分为

4 个类群。类群 1 包括苦荞和 *F. pilus* 和 *F. cymosum*。类群 2 为 *F. giganteum*。类群 3 包括甜荞、 *F. megaspartanum*、 *F. zuogongense*、 *F. esculentum* var. *homotropicum*。类群 4 为 *F. gracilipes*。其中甜荞和 *F. megaspartanum*, 苦荞和 *F. pilus* 分别聚得最近。 $T=22$ 时, 供试荞麦明显分为 2 个类群, 分别为大粒组种和小粒组种。

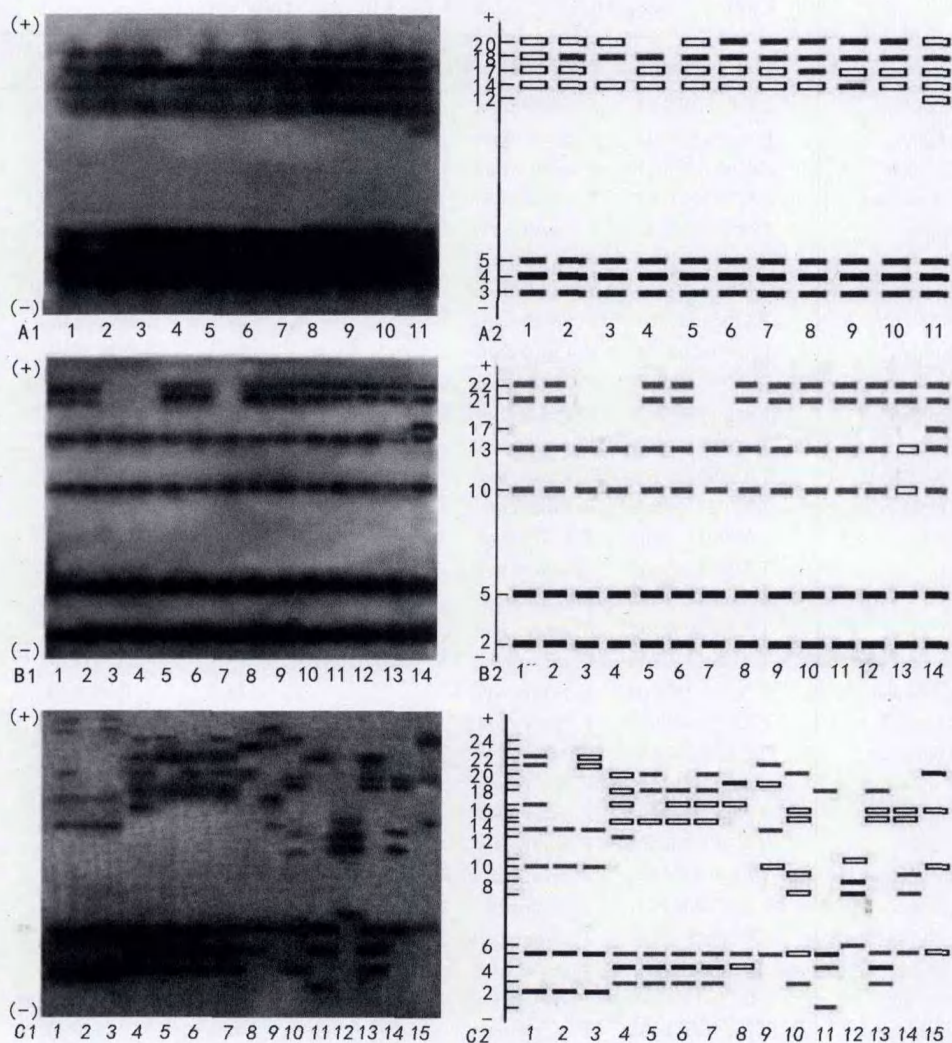


图 1 荞麦酯酶同工酶电泳图及模式图

Fig. 1 Esterase isozyme zymographs and idiograms of buckwheat

A1 和 A2 分别为甜荞酯酶同工酶电泳图及其模式图; 1-11 分别是 ES1, ES2, ES3, ES4, ES5, ES6, ES8, ES9, ES10, ES11, ES12; B1 和 B2 分别为苦荞酯酶同工酶电泳图(B1)及其模式图(B2); 1-14 分别是 TA9, TA4, TA10, TA15, TA5, TA8, TA11, TA6, TA7, TA12, TA2, TA3, TA14, TA1; C1 和 C2 分别为荞麦属不同种酯酶同工酶电泳图(C1)及其模式图(C2); 1-15 分别是 TA1, TA10, TA9, ES9, ES12, ES11, ES10, ZU1, PH1, GI1, ME4, GR1, HO1, GI2, CY1; 黑框表示很深的带, 灰色框表示深带, 空框表示浅带。

3 讨论

关于荞麦酯酶同工酶研究报道极少。Chen

(1999a)研究了 7 个荞麦种干种子的酯酶同工酶, 发现了 16 个不同谱带, 认为酯酶同工酶在同一种不同品系之间变异很小, 但在不同种间表现出明显的差异。同时发现 *F. megaspartanum* 和 *F. pilus* 的谱

带分别与甜荞和苦荞的相似。王转花等(1998)利用荞麦干种子研究了甜荞和苦荞的酯酶同工酶, 结果发现苦荞有 4 个不同谱带, 甜荞有 3 个不同谱带, 并发现苦荞的酯酶同工酶在种内存在一定变异, 甜荞种内差异较小。张以忠等(2008e)研究了荞麦属所有大粒组种和部分小粒组种三叶期幼叶的酯酶同工酶, 共发现了 31 个不同的酯酶同工酶酶带, 其中甜荞有 8 条带, 而苦荞为 9 条。认为酯酶同工酶在同一种不同品系之间变异很小, 但在不同种间表现出明显的差异。同时发现 *F. megaspartanium* 和 *F. pilus* 的谱带分别与甜荞和苦荞的相似。本研究对荞麦属所有大粒组种和 1 个小粒组种进行了种子发芽期的酯酶同工酶研究, 结果发现的酯酶谱带数 22 条, 甜荞有 8 条带, 而苦荞有 7 条。其谱带数和酶带的位置与上述研究均有差异, 这可能是本研究与上述研究材料的生育期不同基因表达存在差异的原因。本研究还发现发芽荞麦种子的酯酶同工酶无论是种间还是种内都有一定的变异, 以种间变异最大。另外, *F. megaspartanium* 和 *F. pilus* 的谱带分别与甜荞和苦荞的相似, 而且在聚类树上分别聚得最近, 这些结果与 Chen(1999a, b; 2001b; 2004) 以及张以忠等(2008b, c, d, e) 的研究结果一致。

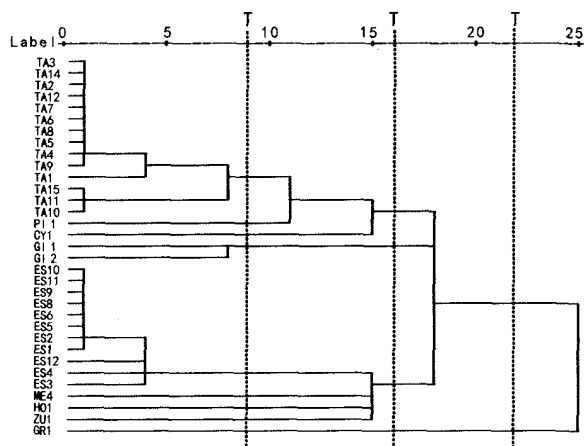


图 2 荞麦发芽种子酯酶同工酶聚类图

Fig. 2 Clustering of esterase isozyme zymographs of sprouting seeds of buckwheat

目前, 国内外对荞麦属种间系统关系及栽培荞麦起源上有一定的争议。赵钢等(1990)的过氧化物同工酶研究认为, 栽培荞麦由金荞进化而来, 金荞是栽培荞麦的祖先种。Ohnishi(1991, 2007)认为金荞、甜荞、苦荞的亲缘关系很远, 金荞不可能是栽培荞麦的祖先种。Chen(1999a, b)和 Chen 等(2004)

根据生殖生物学、细胞学、同工酶、种间杂交等分析结果, 将金荞复合物剖分为三个种类即二倍体大野荞、二倍体毛野荞、异源四倍体的金荞, 并认为: 大野荞是甜荞的祖先种, 毛野荞是苦荞的祖先种。本研究结果支持 Chen(1999a, b) 及 Chen(2001) 的假说——*F. megaspartanium* 和 *F. pilus* 分别是甜荞和苦荞祖先种。

参考文献:

- 胡能书, 万贤国. 1985. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社: 72-75, 102-104
- Campbell CG. 1976. Buckwheat[C]//Simmonds NW(ed). Evolution of crop plants. London: Longman; 235-237
- Chen CW(陈存武), Zhou SB(周守标). 2006. Isoenzyme pattern analysis for five kinds of enzyme in six species of *Polygonatum* from Dabieshan Mountain(大别山区六种黄精属植物的五种同工酶分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(4): 395-397
- Chen QF. 1999a. A study of resources of *Fagopyrum* (Polygonaceae) native to China[J]. *Bot J Linnean Society*, 130: 53-64
- Chen QF. 1999b. Hybridization between *Fagopyrum* (Polygonaceae) species native to China[J]. *Bot J Linnean Society*, 131: 177-185
- Chen QF(陈庆富). 2001a. Karyotype analysis of five *Fagopyrum* species native to China(五个中国荞麦种的核型分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), 21(2): 107-110
- Chen QF. 2001b. Discussion on the origin of cultivated buckwheat in genus *Fagopyrum* (Polygonaceae) [J]. *Advances in Buckwheat Research*; 207-213
- Chen QF, Hsarm S, Zeller J. 2004. A study of isozyme and inter-specific hybridization on big-achene group of buckwheat species (*Fagopyrum*, Polygonaceae)[J]. *Crop Sci*, 44: 1511-1518
- Gao HJ(高洪君), Hou XG(侯旭光), Li D(李丹), et al. 1994. A study on peroxidase isoenzymes of six species of buckwheat(六种荞麦过氧化物酶同工酶研究初报)[J]. *J Zhelimu Animal Husbandry Coll*(哲里木畜牧学院学报), 4(2): 53-56
- Hedberg O. 1946. Pollen morphology in the genus *Polygonum* and its taxonomical significance[J]. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 40: 371-404
- Lee BS, Ujihar A, Minami M, et al. 1994. Breeding of inter-specific hybrids in genus *Fagopyrum*. 4. production of interspecific hybrid ovules culture among *F. esculentum*, *F. tataricum* and *F. cymosum*[J]. *Breeding Sci*, 44: 183
- Li HM(李惠敏), Huang XY(黄夕洋), Gao CW(高成伟), et al. 2007. Sex identification of *Siraidia grosvenorii* by isozyme analysis(罗汉果雌雄株同工酶性别鉴定研究). *Guihaia*(广西植物), 27(5): 792-795
- Lin RF, Zhou YN, Wang R, et al. 2001. A study on the extract of tartary buckwheat. I. toxicological safety of the extract of tartary buckwheat[J]. *Advances in Buckwheat Research*; 602-607
- Liu ZZ(刘至斋), Cai YL(蔡一林), Wang JG(王久光). 2004. Effect of low temperature stress on POD activity in isolated maize (*Zea mays*) leaf(不同低温处理对离体玉米叶片 POD 活性的影响)[J]. *J Southwest Agric Univ: Nat Sci Edi*(西南农业大学学报·自然科学版), 26(4): 386-388

- Ohnishi MR. 1991. Discovery of the wild ancestor of common buckwheat[J]. *Fagopyrum*, **11**:5-10
- Ohnishi O, Matsuoka Y. 1996. Search for the wild progenitor of buckwheat II. Taxonomy of *Fagopyrum* (Polygonaceae) species based on morphology, isozymes and cpDNA variability[J]. *Genes and Genetic Systems*, **71**:383-380
- Ohnishi O. 2007. Natural populations of wild ancestor of cultivated common buckwheat, *Fagopyrum esculentum* ssp. *ancestrale* from the Dongyi river valley-their distribution and allozyme variations[J]. *Advances in Buckwheat Research*:13-18
- Tie J(铁军), Jin S(金山), Bai HY(白海艳), et al. 2005. The interspecific hybridization and identification of F1 hybrids by POD isozyme application in *Aloe* (芦荟属植物种间杂交及其 F1 代 POD 同工酶鉴定)[J]. *Guihaia*(广西植物), **25**(5):449-452
- Wang ZH(王转花), MA WL(马文丽). 1998. The analysis of isoenzyme polymorphism in buckwheat[J]. *J Shanxi Agric Sci* (山西农业科学), **26**(2):24-26
- Yang YJ(杨尧军), Li Y(李毅), Zhang SH(张生华), et al. 2006. Analysis of EST and PER isozyme of populus *Xianhumao* and its parents(箭胡毛杨及其亲本酯酶和过氧化物酶的同工酶分析)[J]. *J Gansu Agric Univ*(甘肃农业大学学报), **41**(2):46-50
- Ye NG, Guo GQ. 1992. Classification, origin and evolution of genus *Fagopyrum* in China[J]. *Advances in Buckwheat Research*:19-28
- Zhao G(赵钢), Tang Y(唐宇). 1990. The study of peroxidase isozyme of buckwheat(荞麦过氧化物酶研究)[J]. *Fagopyrum* (荞麦动态), (2):10-15
- Zhang YZ(张以忠), Chen QF(陈庆富). 2008a. Study on peroxidase isozyme of buckwheat(几种荞麦的过氧化物酶同工酶研究)[J]. *Seed*(种子), **27**(1):17-19
- Zhang YZ(张以忠), Chen QF(陈庆富). 2008b. Peroxidase isozyme on sprouting seeds of genus *Fagopyrum*(荞麦属种质资源发芽种子过氧化物酶同工酶研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(4):553-557
- Zhang YZ(张以忠), Chen QF(陈庆富). 2008c. Peroxidase isozyme of young leaves at three-leaf stage of genus *Fagopyrum* plants(荞麦属植物三叶期幼叶过氧化物酶同工酶研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **26**(2):213-217
- Zhang YZ(张以忠), Chen QF(陈庆富). 2008d. Study of glutamate oxaloacetate transaminase isozyme on resources of genus *Fagopyrum*(荞麦属种质资源的谷草转氨酶同工酶研究)[J]. *Seed*(种子), **27**(5):39-42, 46
- Zhang YZ(张以忠), Chen QF(陈庆富). 2008e. Esterase isozymes of young leaves at three-leaf stage of genus *Fagopyrum* plants(荞麦属植物三叶期幼叶酯酶同工酶研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **26**(4):428-432

(上接第 269 页 Continue from page 269)

- Chem*, **41**:1 961-1 967
- Fuan XJ(樊兴君), You JM(尤进茂), Tan GZ(谭干祖), et al. 1998. Progress in microwave organic reaction enhancement chemistry(微波促进有机化学反应研究进展)[J]. *Prog in Chem*(化学进展), **3**:285-295
- Gangler K, Slag AA. 1990. Effective sample preparation method for extracting biologically active compounds from different matrices by microwave technique[J]. *J Chrom*, **520**:257-262
- Huang J(黄进), Luo Q(罗琼), Li XL(李晓莉), et al. 2004. Hyperglycemia lowering effect of soybean isoflavone(SI) on alloxan-induced diabetic mice(大豆异黄酮的降血糖作用研究)[J]. *Food sci*(食品科学), **25**(1):166-170
- Li XJ(李学坚), Huang HB(黄海滨). 2000. Extraction technology research of clove oil by microwave(微波浸提技术提取丁香油的研究)[J]. *Guangxi Trad Chin Med*(广西中医药), **5**(3):49-50
- Min JL(闵嘉霖), Zeng AW(曾爱武), Yuan XG(袁希钢), et al. 2006. Extraction of soybean isoflavone(大豆异黄酮提取)[J]. *Mach Cereals Oil Food Pro*(粮油加工与食品机械), **1**:47-52
- Ulchins AM, McIver IE, Johnston CS, et al. 2005. Soy isoflavone and ascorbic acid supplementation alone or in combination minimally affect plasma lipid peroxides in healthy postmenopausal women[J]. *J Am Diet Assoc*, **105**:1 134-1 137
- Wang LS(王林山), Chen YY(陈月英). 2004. Research progress of the soy isoflavone(大豆异黄酮的研究进展)[J]. *Food Res Dev*(食品研究与开发), **25**(5):14-17
- Xie MJ(谢明杰), Song M(宋明), Zou CX(邹翠霞), et al. 2004a. Extraction on soybean isoflavone by ultrasonic wave(超声波提取大豆异黄酮)[J]. *Soybean Sci*(大豆科学), **23**(1):74-76
- Xie MJ(谢明杰), Xu CH(徐春华), Gao S(高爽), et al. 2004b. Acid hydrolysis condition of soybean isoflavone glucoside(酸法水解大豆异黄酮的研究)[J]. *J Shenyang Agric Univ*(沈阳农业大学学报), **35**(1):36-41
- Xie MJ(谢明杰), Shi SS(石姗姗), Lu MC(卢明春), et al. 2004c. Enzymolysis condition of soybean isoflavone glucoside(酶法水解大豆异黄酮)[J]. *Food Ferm Ind*(食品与发酵工业), **30**(3):21-24
- Yang FQ, Ma Y, Ito Y. 2001. Separation and purification of isoflavones from a crude soybean extract by high-speed counter-current chromatography[J]. *J Chromatogr A*, **928**(2):163-170