



大豆籽粒皂苷含量的全基因组关联分析

唐 威¹, 熊雅文¹, 李岩哲¹, 张红梅², 张 威², 许文静³, 陈 熙¹, 陈华涛^{1,2}

(1. 南京农业大学 生命科学学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院 经济作物研究所, 江苏 南京 210014; 3. 南京农业大学 园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘 要:为解析大豆皂苷含量的遗传基础,本研究以包含 264 份大豆种质的自然群体为研究对象,利用高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)检测 3 种大豆皂苷 Aa(Soyasaponin Aa)、Ab(Soyasaponin Ab)和 Bb(Soyasaponin Bb)的含量,再结合高密度大豆基因型数据进行全基因组关联分析。分析 2020 和 2021 年表型数据,结果显示大豆干籽粒中大豆皂苷 Ab 的平均含量最高,分别为 0.311 和 0.740 mg·g⁻¹,大豆皂苷 Aa 和 Bb 的平均含量次之。相关性分析表明大豆皂苷 Aa 和 大豆皂苷 Ab 显著负相关,大豆皂苷 Ab 与大豆皂苷 Bb 显著的正相关。全基因组关联分析发现,两年检测到的与大豆皂苷 Aa 和 大豆皂苷 Ab 显著关联的 SNP 位点大多集中在 7 号染色体上,为主效 QTL 位点,并挖掘了调控大豆皂苷含量的 4 个候选基因;大豆皂苷 Bb 两年无共定位 SNP 位点,且显著关联的 SNP 较少,为 4 个。

关键词:大豆;皂苷;全基因组关联分析;SNP

Genome-wide Association Analysis of Saponin Content in Soybean Seeds

TANG Wei¹, XIONG Ya-wen¹, LI Yan-zhe¹, ZHANG Hong-mei², ZHANG Wei², XU Wen-jing³, CHEN Xi¹, CHEN Hua-tao^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To investigate the genetic basis of soybean saponin content, high performance liquid chromatography (HPLC) was taken to identify the contents of three soyasaponin components in the natural population containing 264 soybean varieties, including soyasaponin Aa, soyasaponin Ab, and soyasaponin Bb, and genome wide association study (GWAS) was carried out to detect the SNP significantly associated with soybean saponin in 2020 and 2021. The two-year results showed that the content of Ab in the three soyasaponins was the highest, 0.311 mg·g⁻¹ in 2020 and 0.740 mg·g⁻¹ in 2021. It was found that found that there was a major QTL on chromosome 7 associated with soyasaponin Aa and soyasaponin Ab detected by genome-wide association study both in the two years, and four candidate genes regulating soyasaponin content were identified. SNPs associated with soyasaponin Bb were only detected on chromosomes 5 and 14 in 2021 by GWAS. The results of this study provide new genetic resources and important reference for the genetic improvement of soybean soyasaponin.

Keywords: soybean; saponin; genome-wide association analysis; SNP

大豆是我国以及全世界最重要的经济作物之一,在人们的日常生活中具有不可替代的作用,其不仅含有丰富的蛋白质和油脂,还含有大豆皂苷、异黄酮、维生素等生物活性成分,广泛应用于食品、化妆品与医药行业^[1]。大豆皂苷属五环三萜类皂苷,其分子由低聚糖与齐墩果烯三萜连接而成。日本学者北川熏和大久保一良按照苷元的不同,主要将其分为 4 类,分别是 A 类、B 类、E 类和 DDMP 类^[2]。

大豆皂苷可溶于水,易溶于乙醇、水等极性较大的有机溶剂,因此一般使用有机溶剂提取法提取

大豆皂苷^[2]。范远景等^[3]利用 70% 乙醇提取大豆豆渣中的皂苷,效率较高,但是提取时间较长,固液比 1:5,所使用的溶剂量较大。李华^[4]比较了有机溶剂提取法、索式提取、微波和超声辅助提取法提取大豆皂苷情况,其中微波和超声辅助提取法相对另外两种步骤简单,所需时间较短,但是微波提取效率较低,而且所需温度较高。因此,超声辅助提取法相对其他方法优势较大。另外还有一些提取法比如高温蒸汽^[5]、闪氏提取器^[6]等方法也可取得不错的提取效果。

皂苷的检测法主要有光谱法、色谱法和比色

收稿日期:2022-10-18

基金项目:江苏省重点研发计划(现代农业)重点项目(BE2019376);国家重点研发计划(2018YFE0112200);江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(20)2007)。

第一作者:唐威(1998—),男,硕士研究生,主要从事功能性大豆分子育种技术研究。E-mail: xwei.tang@outlook.com。

通讯作者:陈华涛(1980—),男,博士,研究员,硕导,主要从事大豆分子育种技术及种质创新研究。E-mail: cht@jaas.ac.cn。

法。其中光谱法主要采用紫外分光光度法,一般选用与大豆皂苷结构类似的物质如齐墩果酸来作为对照,从而对所测大豆皂苷进行定量,光谱法简单、快捷,但是准确度不高^[7-9]。色谱法^[10-12]主要有3种:薄层色谱法、高效液相色谱法和液相色谱串联质谱法。色谱法分离效率较高,分析速度快,并且易于自动化。比色法虽然非常简便快捷,但是检出限较高。从经济、准确度、快捷和检出限等方面综合考虑,选择高效液相色谱法最为合适。

近年来,随着人们对大豆皂苷的深入研究,发现大豆皂苷是一种生物活性物质,对人体具有非常多的有利生理功能。Takahashi等^[13]研究表明大豆皂苷可以特异性地抑制人体内肾素的活性,从而达到降血压的目的;江燕等^[14]发现由大豆皂苷和绞股蓝提取物制成的复方大豆皂苷胶囊对高脂肪的大鼠具有降血脂作用;此外,大豆皂苷还具有抗肿瘤^[15]、抗炎^[16]、抗癌^[17]等许多生物学活性。

本研究以实验室收集的264份大豆种质资源为材料,基于基因组重测序获得群体基因型数据,利用高效液相色谱测得群体的皂苷含量表型数据,之后将两者数据结合进行全基因组关联分析(Genome Wide Association Study, GWAS),鉴定与大豆皂苷含量高低显著关联的SNP,旨在为进一步研究大豆皂苷的分子改良奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的264份大豆种质资源包含52份地方种和212份栽培种,由江苏省农业科学院经济作物研究所大豆课题组提供。2020年种植于海南三亚试验基地(109.68°E, 18.33°N);2021年种植于江苏南京试验基地(118.63°E, 32.47°N)。田间材料播种采取随机区组设计,3次重复。单次重复种植3垄,每垄播种10穴,每穴两株苗,垄长1.5 m,垄间距40 cm,穴距15 cm。按照常规田间管理方法,收获后及时晒干、脱粒保存。

4种大豆皂苷标品均购自于四川省维克奇生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆皂苷标准样品的制备 称取4种大豆皂苷标品各0.01 g(精确至0.000 1 g),用甲醇(色

谱纯)配置成浓度为1 mg·mL⁻¹的母液,再按梯度进行稀释,浓度为0.6,0.5,0.4,0.3,0.2,0.1,0.08,0.08,0.04,0.02 mg·mL⁻¹,过0.22 μm滤膜备用,其中配置的大豆皂苷标品溶液必须现配现用。

1.2.2 大豆皂苷提取 将大豆种子放入烘箱以80℃烘干至恒重,之后用植物组织研磨仪器充分磨碎成粉末,准确称取1.00 g(精确至0.01 g)大豆粉放入15 mL离心管中,加入70%(V/V)乙醇水溶液10 mL;40℃超声提取40 min(40 kHz),期间不时摇晃离心管以便充分提取皂苷;3 000 r·min⁻¹离心5 min;用1 mL针管吸取上清液经0.22 μm滤膜过滤,放入-20℃冰箱待用。

1.2.3 HPLC分析大豆皂苷 采用Agilent 1260高效液相色谱仪(HPLC)检测大豆皂苷的含量,检测器为蒸发光散射检测器(ELSD)。色谱柱:Thermo BDS Hypersil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相A:0.2%(V/V)乙酸水溶液,流动相B:100%(V/V)乙腈溶液;梯度:0 min,80% A相,20% B相;15 min,55% A相,45% B相;20 min,55% A相,45% B相;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:30℃;进样量:10 μL。每个样品重复进样3次,根据标准样品绘制的标准曲线计算样品中大豆皂苷组分的含量,取3次进样测得的平均值作为大豆皂苷组分最终的检测结果。

1.2.4 表型分析 采用SPSS 26.0和Excel 2011对4种大豆皂苷的所有检测数据进行分析。

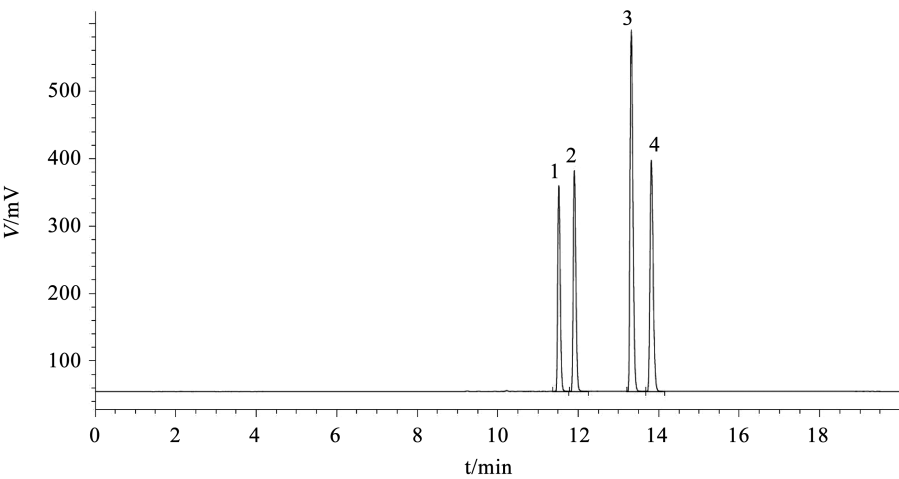
1.2.5 基因型分析 本课题组前期对264份材料进行重测序,平均测序深度为12.4 ×,获得高质量SNP标记2 597 425个^[18]。

1.2.6 全基因组关联分析 采用基于R软件GAPIT算法包进行全基因组关联分析(GWAS),采用混合线性模型(MLM)进行全基因组关联分析以控制假阳性关联位点。同时,以 $P \leq 1/2\ 597\ 425 = 3.85 \times 10^{-7}$, $-\log_{10} P \geq 6.4$ 作为显著阈值,当SNP的 $-\log_{10} P \geq 6.4$ 时,则被认为是显著关联位点。

2 结果与分析

2.1 HPLC色谱图分析

采用Agilent 1260高效液相色谱仪(HPLC)分离并检测大豆皂苷,可以清晰地分离4种皂苷,并根据保留时间定性确定皂苷类型,根据峰面积来确定皂苷含量,洗脱出来的顺序分别为Aa、Ab、Ba、Bb(图1)。



注:1. 大豆皂苷 Aa; 2. 大豆皂苷 Ab; 3. 大豆皂苷 Ba; 4. 大豆皂苷 Bb.
Note:1. Soyasaponin Aa; 2. Soyasaponin Ab; 3. Soyasaponin Ba; 4. Soyasaponin Bb.

图 1 大豆皂苷 4 种组分标准样品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of the standard samples of 4 components of soyasaponin

2.2 大豆种质的表型分析

此次共检测了 4 种主要大豆皂苷,但是根据两年测得的结果,大豆皂苷 Ba 含量相对较低且难以检测,并不具备 GWAS 分析所要求的量的条件,故将之剔除。结果表明:大豆皂苷 Aa 平均含量分别为 0.160 和 0.311 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,含量范围分别为 0.008 ~ 1.064 和 0.010 ~ 2.241 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;大豆皂苷 Ab 的平均含量分别为 0.311 和 0.740 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,含量范围分别为 0.019 ~ 0.900 和 0.013 ~ 3.307 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;而大豆皂苷 Bb 的平均含量分别为 0.290 和 0.202 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,含

量范围分别为 0.043 ~ 0.623 和 0.078 ~ 0.515 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。皂苷 Aa、皂苷 Ab 年份间含量差距较大,2021 年种植于南京的大豆种质皂苷 Aa 与皂苷 Ab 的平均含量分别为 0.311 和 0.740 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,分别为 2020 年种植于海南三亚的含量的 1.94 和 2.38 倍,其中测得的最小值并无太大差异,但是最大值比 2020 年分别多了 1.177 和 2.137 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,这可能是大豆皂苷含量受环境影响较大造成的。两年的变异系数都是大豆皂苷 Aa 最大,大豆皂苷 Bb 最小(表 1)。

表 1 2020 和 2021 年 264 份大豆种质不同皂苷的含量情况

Table 1 Contents of different saponins in 264 soybean germplasmsin 2020 and 2021

皂苷组分	年份	最小值	最大值	均值	标准差	变异系数
Saponin component	Year	Min.	Max.	Mean	SD	CV/%
大豆皂苷 Aa	2020	0.008	1.064	0.160	0.154	98.20
Soyasaponin Aa	2021	0.010	2.241	0.311	0.446	143.34
大豆皂苷 Ab	2020	0.019	0.900	0.311	0.156	50.03
Soyasaponin Ab	2021	0.013	3.037	0.740	0.393	53.17
大豆皂苷 Bb	2020	0.043	0.623	0.290	0.090	31.12
Soyasaponin Bb	2021	0.078	0.515	0.202	0.076	37.33

2.3 大豆皂苷各组分相关性分析

两年中大豆皂苷各组分之间显著性表现一致,其中大豆皂苷 Ab 与大豆皂苷 Bb 呈现显著的正相关(2020 年相关系数 $r = 0.392$,2021 年相关系数 $r = 0.278$),而大豆皂苷 Aa 与大豆皂苷 Ab 显著负相关(2020 年相关系数 $r = -0.522$,2021 年相关系数 $r = -0.402$),而大豆皂苷 Aa 与大豆皂苷 Bb 相关性较弱。

2.4 大豆皂苷的全基因组关联分析

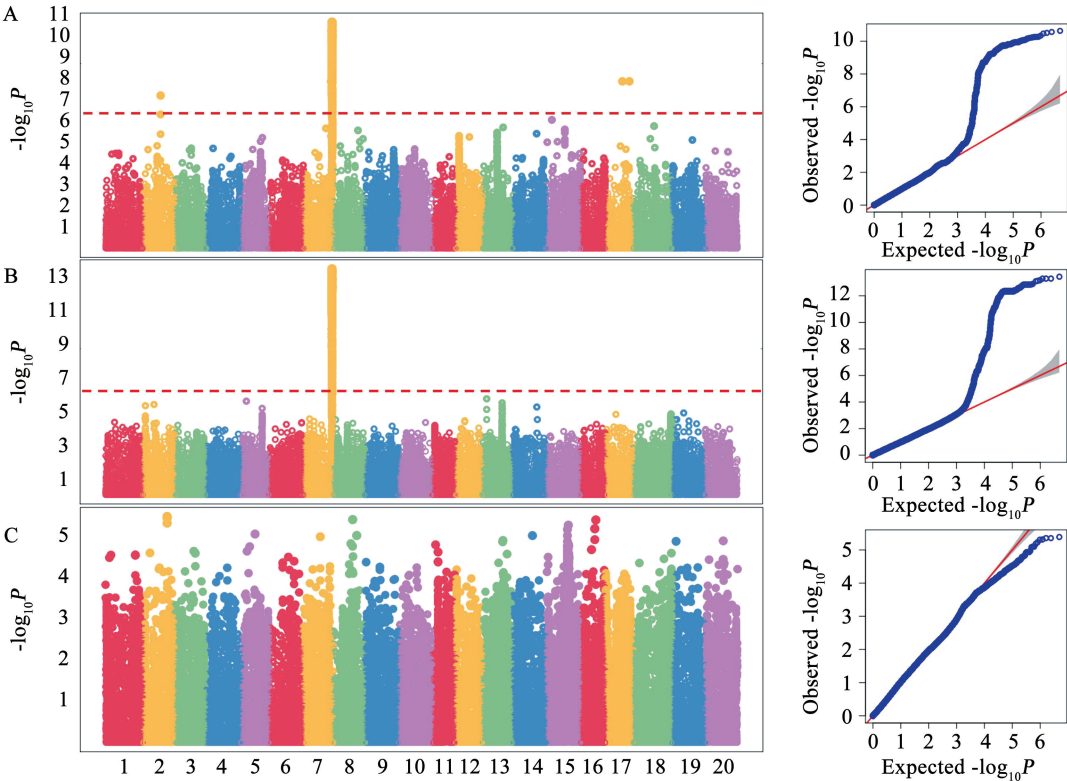
对不同环境下大豆自然群体皂苷含量(大豆皂苷 Aa、大豆皂苷 Ab、大豆皂苷 Bb)进行全基因组关联分析的结果表明,在 2020 年共检测到 1 137 个 SNP[$-\log_{10}P \geq 6.4$]与大豆皂苷 Aa 显著关联,分别位于 2 号、7 号和 17 号染色体上(图 2),其中有 1 133 个 SNP 位于 7 号染色体,各有 2 个 SNP 分别位于 2 号和 17 号染色体(表 2)。而 2021 年则检测到

1 343 个 SNP 与大豆皂苷 Aa 显著关联,位于 7 号、9 号和 14 号染色体(图 3),分别为 1 341 个、1 个和 1 个(表 2),两年共同定位到的 SNP 位点共有 906 个,都位于 7 号染色体上,其中 SNP S07_43135617 的 $-\log_{10} P$ 值最大,为 13.26,表型变异解释率为 37.33%。2020 年与大豆皂苷 Ab 显著关联的 SNP 位点共 806 个[$-\log_{10} P \geq 6.4$],都位于 7 号染色体上,2021 年与大豆皂苷 Ab 显著关联的 SNP 位点有

229 个,同样位于 7 号染色体上,两年共同定位的 SNP 有 227 个,其中 SNP S07_43154607 的 $-\log_{10} P$ 值最大,为 13.44,表型变异解释率为 25.79%,定位到的位置相同。而检测到与大豆皂苷 Bb 显著关联的 SNP 位点共 19 个,分别位于 5 号和 14 号染色体。结果表明大豆皂苷 Aa 与大豆皂苷 Ab 定位的 SNP 位点大都位于 7 号染色体,在该位点极有可能存在控制大豆皂苷 Aa 和 Ab 的关键基因。

表 2 各个皂苷显著相关的 SNPs
Table 2 SNPs significantly associated with each saponin

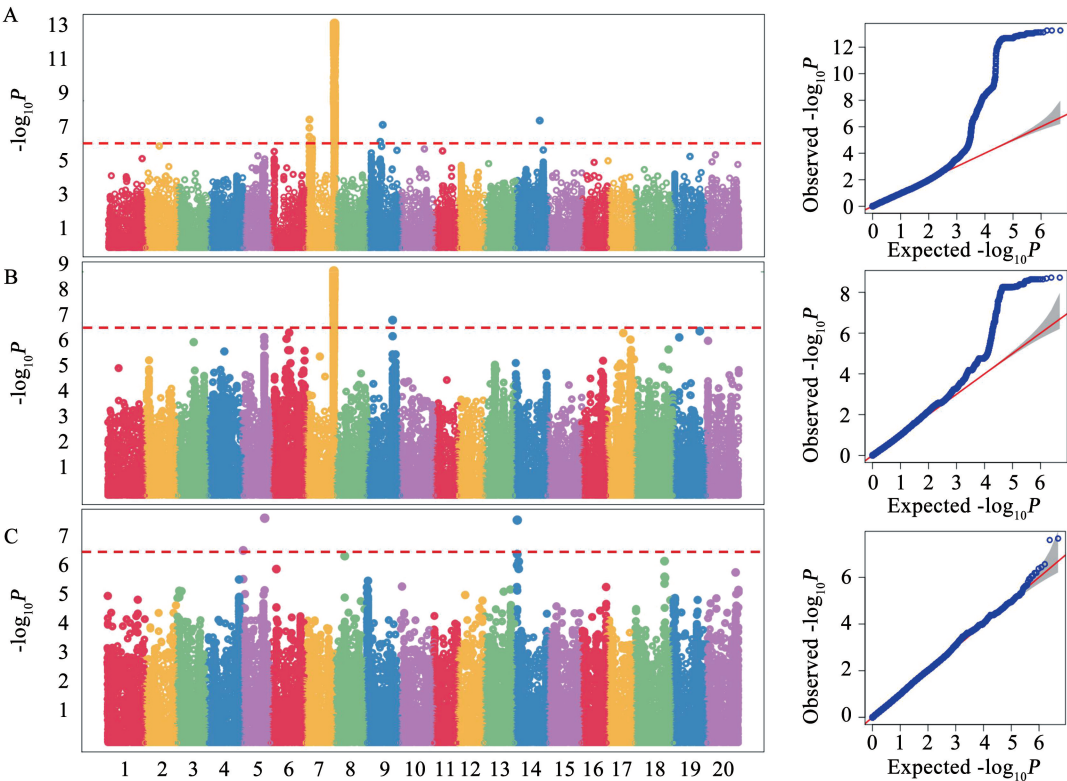
年份	皂苷组分	染色体	SNP 数目	极显著相关 SNP	$-\log_{10} P$ 值极大值	解释率
Year	Saponin component	Chromosome	SNP number	Extremly related SNP	$-\log_{10} P_{\max}$	$R^2/\%$
2020	Aa	2	2	S02_25855573	7.18	18.89
	Aa	7	1133	S07_42954134	10.63	30.36
	Aa	17	2	S17_35737828	7.85	21.00
	Ab	7	806	S07_43154607	13.44	25.79
2021	Aa	7	1341	S07_43135617	13.26	37.33
	Aa	9	1	S09_23186063	7.27	17.98
	Aa	14	1	S14_36847880	7.52	18.72
	Ab	7	227	S07_43133843	8.72	16.95
	Ab	9	2	S09_39078180	6.81	12.66
	Bb	5	2	S05_33311337	7.66	14.94
	Bb	14	2	S14_4225806	7.60	14.79



注:A. 大豆皂苷 Aa;B. 大豆皂苷 Ab;C. 大豆皂苷 Bb。
Note:A. Soyasaponin Aa; B. Soyasaponin Ab; C. Soyasaponin Bb.

图 2 2020 年 3 种大豆皂苷全基因组关联分析结果的曼哈顿图和 QQ 图

Fig.2 Manhattan and QQ plots for genome-wide association study results of three soyasaponins in 2020



注:A. 大豆皂苷 Aa;B. 大豆皂苷 Ab;C. 大豆皂苷 Bb。
Note: A. Soyasaponin Aa; B. Soyasaponin Ab; C. Soyasaponin Bb.

图3 2021年3种大豆皂苷全基因组关联分析结果的曼哈顿图和QQ图

Fig.3 Manhattan and QQ plots for genome-wide association study results of three soyasaponins in 2021

2.5 候选基因分析

与大豆皂苷 Aa 和 Ab 含量显著关联的 SNP 位点分别为 S07_43135617 和 S07_43154607,结果表明在大豆自然群体中,携带 SNP S07_43135617-A 的大豆种质的大豆皂苷 Aa 平均含量为 0.714 mg·g⁻¹,极显著高于携带 S07_43135617-G 的 0.10 mg·g⁻¹ ($P<0.001$);携带 SNP S07_43154607-A 的大豆种质的大豆皂苷 Aa 平均含量为 0.142 mg·g⁻¹,极显著低于携带 S07_43154607-G 的 0.352 mg·g⁻¹ ($P<0.001$)(图4)。这两个位点的表型变异解释率均超过 10%,且二者的物理位置相距只有 19 kb 左右,说明大豆皂苷 Aa 与大豆皂苷 Ab 可能由同一

位点控制,在该位点存在调控二者含量的关键基因。因此可在 S07_43135617 和 S07_43154607 位点的上下游 120 kb 区间范围,内寻找调控大豆皂苷含量的候选基因。依据数据库 phytozome 13 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 中大豆基因组注释信息可知,在区间内存在 40 个候选基因。在拟南芥中同源基因比对后发现,4 个基因可能为控制大豆皂苷 Aa/Ab 含量的候选基因,其中 *Glyma.07g253900* 编码磷酸酶 2C 蛋白 (PP2C), *Glyma.07g254500* 编码 MYB 转录因子, *Glyma.07G254600* 和 *Glyma.07G254600* 编码 UDP-糖基转移酶(表3)。

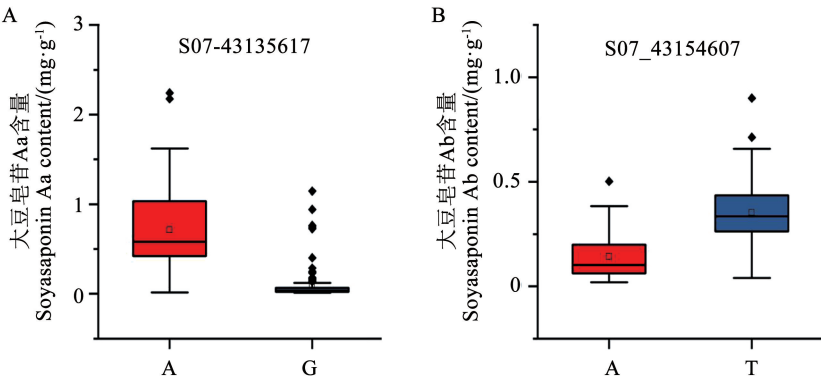


图4 不同基因型大豆种质皂苷 Aa(A)和皂苷 Ab(B)平均含量箱线图

Fig.4 Box plot of the average content of saponin Aa (A) and saponin Ab (B) in soybean germplasm with different genotypes

表 3 大豆皂苷 Aa/Ab 含量调控候选基因

Table 3 Candidate genes related with soybean saponin Aa/Ab content in soybean

基因 ID Gene ID	同源基因 Homologs	功能注释 Functional annotation
<i>Glyma. 07G253900</i>	<i>AT3G06270</i>	磷酸酶 2C 蛋白
<i>Glyma. 07g254500</i>	<i>AT2G44730</i>	MYB 转录因子
<i>Glyma. 07G254600/GmSg-1</i>	<i>AT2G36770</i>	UDP-糖基转移酶
<i>Glyma. 07G254700</i>	<i>AT4G34131</i>	UDP-糖基转移酶

3 讨论

随着社会经济的发展和人们生活水平的提高,普通的大豆品种已经不能满足于人们对于健康与品质的要求。皂苷是许多中草药如人参、桔梗等的主要有效成分,具有抗癌、镇静、解热等非常有价值的生物活性^[19-21],而人参等中草药价格又非常昂贵,因此高含量大豆皂苷品种的选育不仅可以提高大豆的营养价值,也便于健康水平提高。然而,国内外对于有关大豆皂苷的 GWAS 研究甚少,对于大豆皂苷调控基因的遗传机制研究相对较少。为此,本研究对含有 264 份大豆种质的自然群体的大豆皂苷含量进行了研究,结果发现同一环境下大豆自然群体皂苷含量的遗传变异较大,不同材料间皂苷组分含量差异大,最大含量差异达百倍以上,这说明不同基因型对大豆皂苷的合成代谢影响很大。而不同环境下,大豆皂苷含量差异也较为显著,种植于江苏南京的大豆平均皂苷含量显著高于种植于海南三亚的大豆,说明大豆皂苷含量也容易受到环境因素的影响。

全基因组关联分析(GWAS)是目前发现的复杂农艺性状相关遗传基础的有效研究方法,在植物中多有应用^[22-25]。目前,GWAS 在大豆油脂含量和蛋白质含量方面研究的应用较多。Wu 等^[23]分析了 200 份大豆种质和重组自交系的异黄酮含量,并利用 GWAS 和连锁分析确定 *GmMPK1* 调控大豆异黄酮的累积。Hu 等^[24]利用 302 份大豆的重测序结果,对其中的 164 份大豆进行 GWAS 和 *Gmef-CCCH* 基因的单倍型分析,发现 8 个基因在种子油或脂肪酸的合成中起重要作用,这些候选基因的发现十分有助于后续探明大豆油脂合成的机制以及高油大豆的选育改良。而本研究利用 GWAS 对大豆皂苷 Aa 和 大豆皂苷 Ab 含量进行遗传解析,分别在 2、5、7、9、14、和 17 号染色体上发现与大豆皂苷显著关联的 SNP 位点,其中位于 7 号染色体上的主效位点同时与大豆皂苷 Aa 和 大豆皂苷 Ab 显著关联,且在两年环境下均能重复检测到。分析比较发现 928 个与大豆皂苷 Aa 显著关联的 SNP 位点,在 2020 和 2021 年两次试验中均被检测到,且 227 个与大豆皂苷 Ab 显著关联的 SNP 位点同样在两年中均被检测到。

研究表明尿苷二磷酸糖基转移酶 (Uridin Diphosphate Glycosyltransferases, UGTs) 家族参与了皂苷元糖基的修饰,UGTs 将活化的糖基从尿苷糖核苷酸转移到皂苷元^[25-26]。本研究挖掘的 4 个调控大豆皂苷 Aa/Ab 含量的候选基因中的两个为 UDP-糖基转移酶,其生物学功能还有待进一步证实。本研究定位到的与大豆皂苷 Aa/Ab 含量显著关联的 SNP 可靠性强,针对这些 SNPs 设计 KASP 分子标记,可以为大豆高皂苷分子辅助育种提供有力的科学工具。而与皂苷 Bb 显著关联的位点只在 1 个环境中检测到,这就需要更多的研究数据进一步定位和解析,以便更加全面地了解不同大豆皂苷类型的遗传机制。本研究获得的显著关联 SNP 位点为分子辅助育种奠定基础,在特用大豆的育种方面具有重要应用价值。

4 结论

本研究对两年不同地区的 264 份大豆种质材料中的皂苷含量进行检测,再与基因型结合进行全基因组关联分析。发现控制大豆皂苷 Aa 和 大豆皂苷 Ab 含量的位点为同一主效位点,分布在 7 号染色体上,其中,与大豆皂苷 Aa 关联最为显著的 SNP 位点是 S07_43135617,与大豆皂苷 Ab 含量关联的 SNP 位点为 S07_43154607,二者的表型变异解释率分别为 37.33% 和 25.79%,并找到 4 个可能参与大豆皂苷含量调控的候选基因。而大豆皂苷 Bb 的两年结果中并没有共同的 SNP 位点,但 2021 年与 2020 年相比存在 4 个阈值大于 6.4 的 SNP 位点。本研究初步解析了大豆皂苷含量的遗传变异,鉴定了与大豆皂苷含量显著关联的关键位点,为后续利用大豆分子育种技术改良大豆皂苷提供了参考依据和基因资源。

参考文献

[1] 李向群,宋冰,王丕武,等. 大豆皂苷提取工艺的优化[J]. 吉林农业科学, 2014, 39(6): 93-96. (LI X Q, SONG B, WANG P W, et al. Optimization of the extraction technique of soyasaponins[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2014, 39(6): 93-96.)

[2] 于志萍,王昌禄,顾晓波. 大豆皂苷的研究与进展[J]. 粮油食品科技, 2002, 10(3): 17-18. (YU Z P, WANG C L, GU X

B. The research and development of soyasaponins[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2002,10(3): 17-18.

[3] 范远景, 王俊伟. 大豆皂苷的提取和纯化工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2007(35): 11354-11355,11367. (FAN Y J, WANG J W. Studies on the extraction and purification process of soybean saponin[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007(35): 11354-11355,11367.)

[4] 李华. 大豆皂苷提取方法的比较[J]. 食品科技, 2008(1): 122-125. (LI H. Comparison among different extraction methods of soybean saponin[J]. Food Science and Technology, 2008(1): 122-125.)

[5] LI H C, CHEN Y C, CHANG C M. Extracting and purifying isoflavones from defatted soybean flakes using superheated water at elevated pressures[J]. Food Chemistry, 2004,84(2): 279-285.

[6] 徐瑞超, 董自亮. 响应面法优化大豆异黄酮闪式提取工艺研究[J]. 成都中医药大学学报, 2012,35(1): 48-51. (XU R C, DONG Z L. Optimization of homogenated extraction of soybean isoflavones from soybean using response surface methodology[J]. Journal of Chengdu University of TCM, 2012,35(1): 48-51.

[7] MAB A, MS A, MJB B, et al. Quantitative NIR determination of isoflavone and saponin content of ground soybeans [J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126373.

[8] 光翠娥, 桑尚源, 于建平, 等. 光谱法及分子模拟分析大豆皂苷Ⅱ与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 食品与生物技术学报, 2018,37(1): 15-19. (GUANG C E, SANG S Y, GAN J P, et al. Molecular interaction between soyasaponin Ⅱ and bovine serum albumin determined by spectrometric and molecular modeling methods[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(1): 15-19.)

[9] 黄贤校, 谷克仁, 周菲. 紫外分光光度法测定大豆皂甙含量[J]. 粮食与油脂, 2005(10): 44-45. (HUANG X X, GU K R, ZHOU F. Determination of soybean saponin by UV spectrophotometry[J]. Cereals & Oils, 2005(10): 44-45.)

[10] BERHOW M A, KONG S B, VERMILLION K E, et al. Complete quantification of group a and group b soyasaponins in soybeans [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006,54(6): 2035-2044.

[11] GURFINKEL D M, RAO A V. Determination of saponins in legumes by direct densitometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(3): 426-430.

[12] DECROOS K, VINCKEN JP, HENG L, et al. Simultaneous quantification of differently glycosylated, acetylated, and 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one-conjugated soyasaponins using reversed-phase high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection [J]. Journal of Chromatography A, 2005,1072(2): 185-93.

[13] TAKAHASHI S, HORI K, SHINBO M, et al. Isolation of human renin inhibitor from soybean: Soyasaponin I is the novel human renin inhibitor in soybean[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2008,72(12): 3232-3236.

[14] 江燕, 高旭年. 复方大豆皂苷胶囊对高脂模型大鼠的降血脂作用[J]. 中药材, 2004(10): 758-760. (JANG Y, GAO X N. The hypolipidemic effect of compound soybean saponin capsules on hyperlipidemic model rats [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2004(10): 758-760.)

[15] KONOSHIMA T, KOKUMAI M, KOZUKA M, et al. Anti-tumor-promoting activities of afromosin and soyasaponin I isolated from *Wistaria brachybotrys* [J]. Journal of Natural Products, 1992, 55(12): 1776-1778.

[16] LEE I A, PARK Y J, JOH E H, et al. Soyasaponin Ab ameliorates colitis by inhibiting the binding of lipopolysaccharide (lps) to toll-like receptor (TLR)4 on macrophages[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(24): 13165-13172.

[17] RAO A V, SUNG M K. Saponins as anticarcinogens [J]. The Journal of Nutrition, 1995, 125(3 Suppl): 717S.

[18] ZHANG W, XU W J, ZHANG H M, et al. Comparative selective signature analysis and high-resolution GWAS reveal a new candidate gene controlling seed weight in soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021,134(5): 1329-1341.

[19] 曹梦醒, 师哲, 李勇. 人参皂苷通过上调糖皮质激素受体表达对 AIH 小鼠肝脏的保护作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(2): 203-210. (CAO M X, SHI Z, LI Y. Protective effects of ginsenosides on AIH mouse liver by upregulating glucocorticoid receptor expression[J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2023, 43(2): 203-210.)

[20] 余瑛, 张群贵, 崔华子, 等. 人参皂苷对人宫颈癌细胞相关生物学功能的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(23): 5836-5839. (YU Y, ZHANG Q G, CUI H Z, et al. Effects of ginsenosides on the biological functions related to human cervical cancer cells[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2022, 42(23): 5836-5839.)

[21] 钟渊涵, 王玲珍, 邱自超, 等. 基于代谢组学的去芹糖桔梗皂苷 D 镇咳化痰机制研究 [J]. 药学报, 2022, 57(10): 3186-3194. (ZHONG Y H, WANG L L, QIU Z C, et al. The antitussive and expectorant mechanisms of deapio-platycodin D as determined by metabolomics [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2022, 57(10): 3186-3194.)

[22] 李廷雨, 黎永力, 甘卓然, 等. 全基因组关联分析在大豆中的研究进展[J]. 大豆科学, 2020,39(3): 479-484. (LI T Y, LI Y L, GAN Z R, et al. Research progress of genome-wide association studies in soybean [J]. Soybean Science, 2020, 39(3): 479-484.)

[23] WU D, LI D, ZHAO X, et al. Identification of a candidate gene associated with isoflavone content in soybean seeds using genome-wide association and linkage mapping [J]. The Plant Journal, 2020, 104(4): 950-963.

[24] HU X, ZUO J. The CCCH zinc finger family of soybean (*Glycine max* L.) : Genome-wide identification, expression, domestication, GWAS and haplotype analysis [J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 511.

[25] SAYAMA T, ONO E, TAKAGI K, et al. The Sg-1 glycosyltransferase locus regulates structural diversity of triterpenoid saponins of soybean[J]. Plant Cell, 2012, 24(5): 2123-2138.

[26] KUROSAWA Y, TAKAHARA H, SHIRAIWA M. UDP-glucuronic acid: Soyasapogenol glucuronosyltransferase involved in saponin biosynthesis in germinating soybean seeds [J]. Planta, 2002, 215(4): 620-629.