

# 我国野生大豆的皂角苷成分研究进展

王克晶, 李向华, 高桥祐也

( 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081 )

**摘要:** 大豆皂角苷具有增强人体免疫力、降血脂、养肝、抗癌等功效。在国家自然科学基金资助下, 近年来我们对中国野生大豆皂角苷进行了初步研究, 结果如下: (1) 在国际上已知的 5 组类别大豆皂角苷之外, 从中国野生大豆中鉴定出第 6 组, 即  $\beta$  组新类别, 同时发现 4 个新皂角苷成分 A- $\alpha$ g、K- $\alpha$ g、KA- $\alpha$ g 和 HAb- $\alpha$ g, 其中 A- $\alpha$ g 化合物被确认是 A 组、 $\alpha$  组和  $\beta$  组皂角苷的总前体; (2) 发现了控制 C-22 碳位阿拉伯糖结合的 Sg-7 位点; (3) 鉴定出若干 A0 突变体、稀有的 AuAe 表型和高 Bd 含量的变异种质, 并发现  $\alpha$  组皂角苷成分的单独存在个体; (4) 皂角苷成分表型及基因可以作为新的化学成分有关的遗传标记, 通过此标记分析了中国野生大豆的遗传多样性及地理分化; (5) 我国南方区域野生大豆 AaBc 表型及 Sg-4 基因具有东亚最高频率, 意味着是更具有原始祖本特征的区域群体, 东亚野生大豆皆来源于我国华南及南方地区野生大豆扩散。

**关键词:** 皂角苷; 化学结构; 遗传标记; 遗传多样性; 野生大豆

## Research Progress in Soyasaponin in Chinese Wild Soybean

WANG Ke-jing, LI Xiang-hua, TAKAHASHI Yuya

( Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081 )

**Abstract:** Soyasaponin has the functions of enhancing human immunity, reducing blood lipid, nourishing liver and anti-cancer. In recent years, our researches on soyasaponin in Chinese wild soybean have achieved some preliminary progresses supported by the NSFC, showing that Chinese wild soybeans were rich in the components and genetic variation of saponin composition. These progresses were as followings: ( i ) a new category of group- $\beta$  was identified in addition to reported five groups of soyasaponin and four new components A- $\alpha$ g, K- $\alpha$ g, KA- $\alpha$ g and HAb- $\alpha$ g were found, of which the A- $\alpha$ g component was first recognized to be the total precursor of the groups A,  $\alpha$  and  $\beta$ ; ( ii ) a Sg-7 locus controlling arabinose bonding to the C-22 position of the aglycone was discovered; ( iii ) a number of A0 mutants and rare accessions with AuAe phenotype and high-content Bd component, as well as the individuals with separate group  $\alpha$  components in Chinese wild soybeans were identified; ( iv ) soyasaponin phenotypes and genes could be used as genetic markers of chemical composition, by which the genetic diversity and geographical differentiation were analyzed in Chinese wild soybeans; ( v ) wild soybeans in South China had the highest frequencies of AaBc phenotype and Sg-4 gene in eastern Asia, which implied that the southern wild soybeans were a regional population possessing more primitive ancestral characteristics, and that eastern Asian wild soybeans originally came from southern China.

**Key words:** soyasaponin; chemical structure; genetic marker; genetic diversity; wild soybean

大豆种子含有多种有益的化学活性物质。除了含有已知的雌性类激素异黄酮活性成分外, 还含有大约 0.6%~6.2% 的皂角苷活性成分, 野生大豆含量至少 3 倍于栽培大豆<sup>[1-2]</sup>。大豆皂角苷是大豆次生代谢产生的一类三萜类化合物, 其分子结构有一个

糖苷配基和双链或单链糖基( 图 1 )。大豆皂角苷是有益于人体健康的活性物质, 具有增强人体免疫力、降血脂、养肝、抗癌等作用, 尤其 DDMP 组、B 组和 E 组活性成分更为有益<sup>[3-11]</sup>。近年来, 还发现 A 组皂角苷成分有阻止小鼠记忆损伤的功效<sup>[12-13]</sup>。

收稿日期: 2020-05-15    修回日期: 2020-07-07    网络出版日期: 2020-07-11

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200515001>

第一作者研究方向为野生大豆资源, E-mail: wangkj@caas.net.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目( 31571697 )

Foundation project: National Natural Science Foundation( 31571697 )

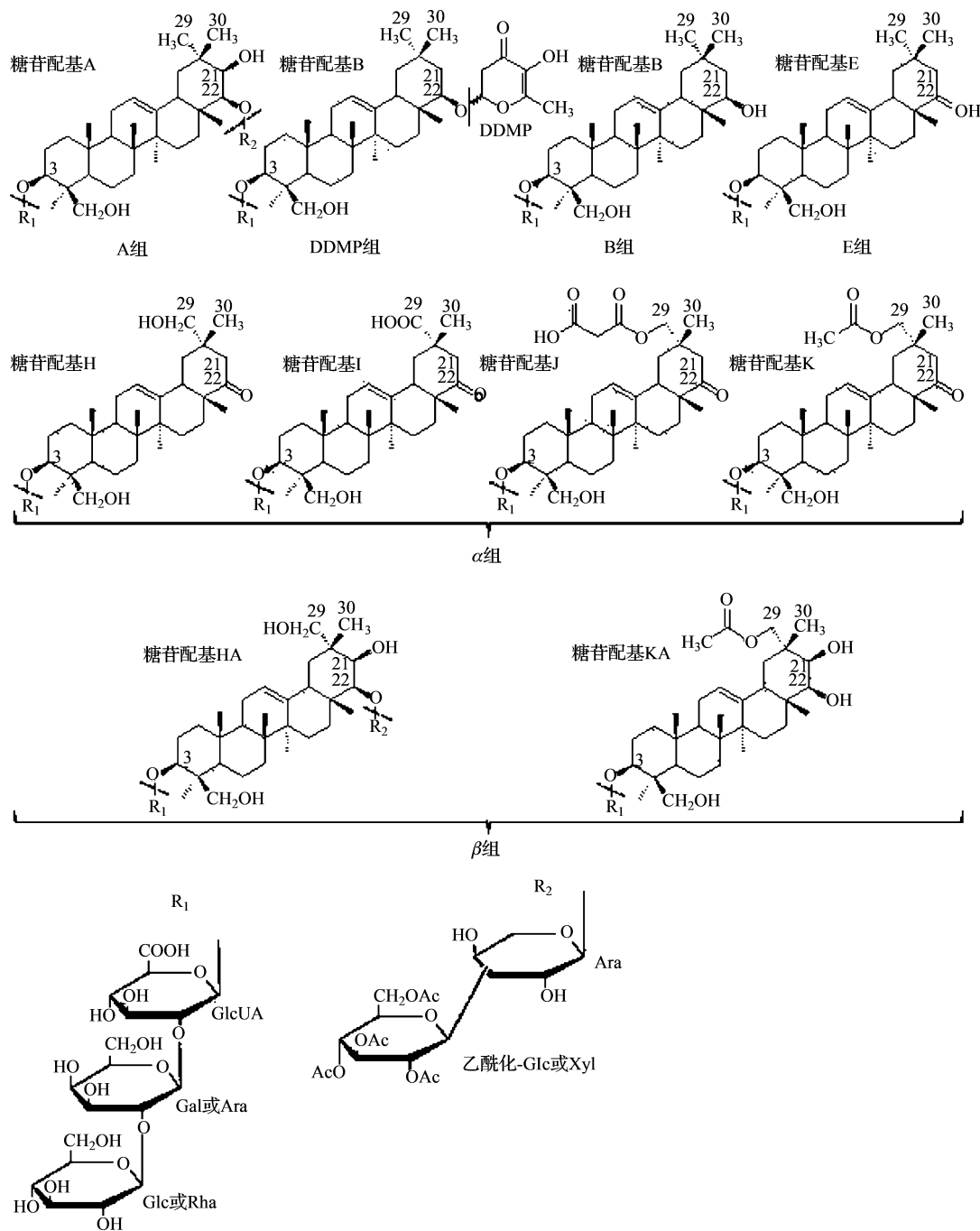


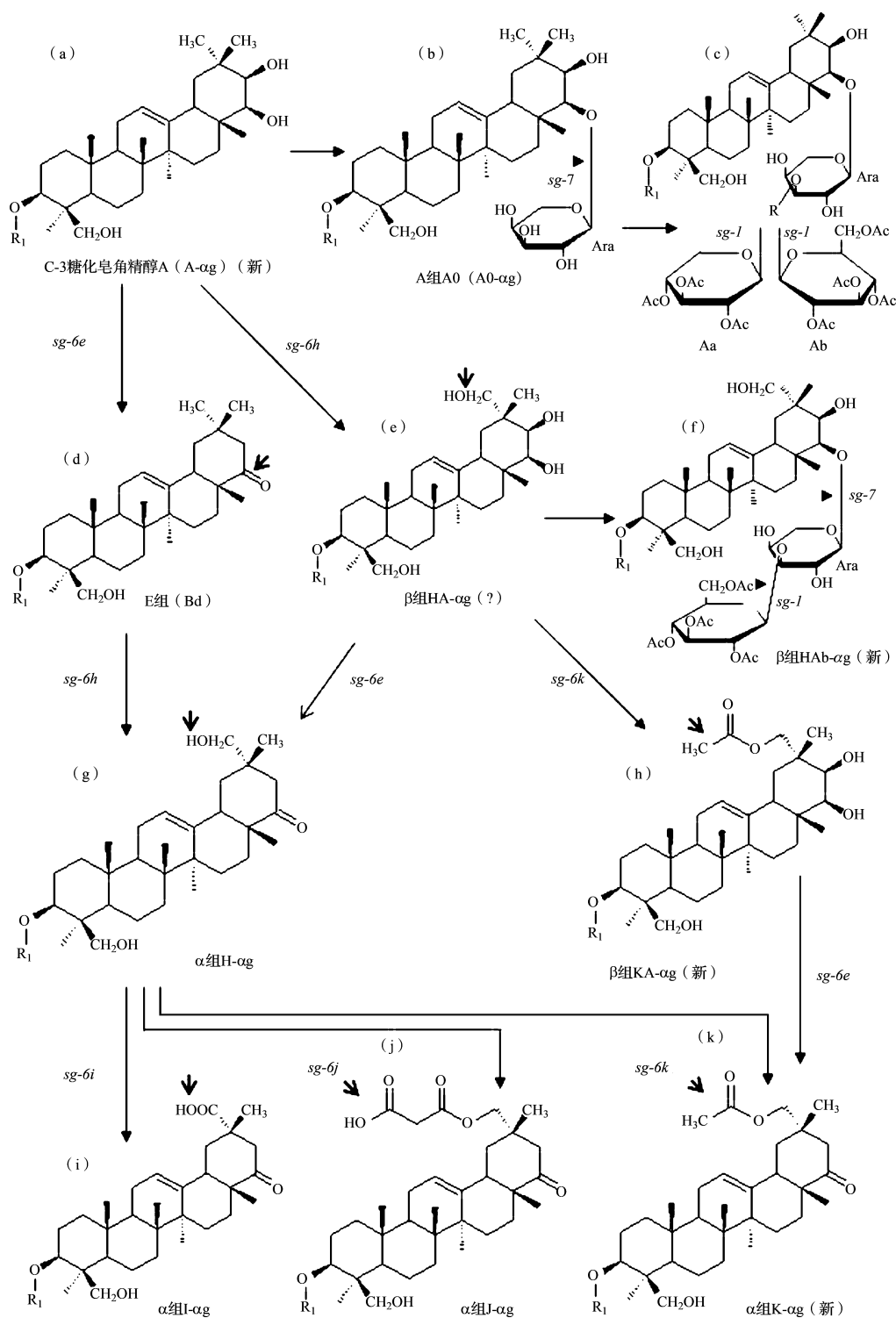
图1 大豆皂角苷6个组类和化学结构

Fig.1 Six categories and their chemical structures of soyasaponins

大豆皂角苷化合物目前至少发现有50余种主要成分,包括其衍生物和变体成分多达百余种<sup>[14-22]</sup>。根据其糖苷配基化学结构划分为六大组(类):A组、DDMP组、B组、E组、α组和新鉴定出的β组成分<sup>[14-18, 22]</sup>(图1)。DDMP组皂角苷也容易受环境因素影响分解成B组和E组成分<sup>[16-17]</sup>。

大豆皂角苷的形成是复杂的生物化学合成过程。目前的文献报道中至少18个基因位点涉及皂角苷生物合成[Sg-1、Sg-3、Sg-4、Sg-5、Sg-6、Sg-6e、

Sg-6h、Sg-6i、Sg-6j、Sg-6k、Sg-7、Sg-8(GmSGT2)、Sg-9、Sg-10(GmSGT3)、Sg-11(UGASGT)、Sg-12(CYP72A61)、Sg-13(CYP93E1)、Sg-14(GmBAS1)]<sup>[18, 20, 22-32]</sup>。其中Sg-1基因已经被克隆<sup>[31]</sup>。6个基因Sg-6、Sg-6e、Sg-6h、Sg-6i、Sg-6j、Sg-6k被推测参入或涉及α组和β组成分的形成<sup>[22, 33]</sup>。控制连接C-22碳位阿拉伯糖基因Sg-7最近也被发现(图2)<sup>[20]</sup>。

图2 A组、 $\alpha$ 组和 $\beta$ 组大豆皂角苷生物合成可能途径及基因Fig.2 Putative biosynthetic pathways and related genes for group A,  $\alpha$  and  $\beta$  of soysaponins

尽管大豆皂角苷对人的健康具有许多有益功效,但是A组皂角苷由于在C-22位末端的糖基被乙酰化而产生苦涩味。作为东亚人或许对鲜大豆乳的苦涩味不是很敏感。但是,大豆乳在商品化生产过程中这一问题显得异常突出,会使大豆乳口感不佳<sup>[34]</sup>,是影响豆乳商品化及广泛推广的重要因素之

一。在豆乳生产过程中还没有有效的工艺或方法能够彻底解决豆乳苦涩味难题,有人研究豆乳生产中使用化学食品添加剂(遮蔽剂)掩盖苦涩味。所以,利用大豆育种方法除去或减少苦涩味也是品质育种的目标之一。虽然我国栽培大豆目前还未测定出这种无苦味基因变异的存在,但是我们从中国野生大豆

中已经筛选到这种基因变异,是宝贵的优异基因资源。下面就中国野生大豆皂角苷研究进展进行简要综述。

## 1 检测出的成分

从 3805 份中国野生大豆(包括若干半野生型)中使用薄层层析(TLC)高速液相层析(HPLC)确认了大豆 23 个皂角苷成分(表 1),分属于前述六大组类。其中, $\beta$  组和 4 个成分是从我国野生大豆中发现的新化合物<sup>[20-22]</sup>。4 个新皂角苷成分分别是 A 组 A- $\alpha$ g、 $\alpha$  组 K- $\alpha$ g、 $\beta$  组 KA- $\alpha$ g 和 HAb- $\alpha$ g(图 2(a)、(k)、(h)、(f))。通过高分辨质谱测定(LC-HRMS)和液相色谱-质谱测定(LC-MS/MS)分析了新化合物成分的分子结构(图 2)。

新成分 A- $\alpha$ g 化合物(C-3 糖化皂角精醇 A)的测定具有重要意义,不仅是首次发现的大豆皂角苷新成分,而且为弄清 A 组皂角苷、 $\alpha$  组和  $\beta$  组皂角苷初始生物合成路径提供了重要线索。根据目前的研究显示,A- $\alpha$ g 化合物是 A 组、 $\alpha$  组和  $\beta$  组皂角苷的总前体(图 2(a))。

## 2 皂角苷 A0 突变体

野生大豆中会出现稀有的 A0 突变体(图 2(b)),在日本、韩国和中国野生大豆中都存在。这种突变体是由于 C-22 碳位缺少末端糖基,不发生末端糖基乙酰化作用,从而使大豆苦涩味降低。这种变异可应用于大豆无苦涩味食品和豆乳开发。这种变异的明显特征是检测不到 Aa 或 Ab 成分,相应会出现 A0- $\alpha$ g(A0 表型)或 A- $\alpha$ a 成分(A0Bc 表型)(表 1、图 3(d)、(e)),其分子结构如图 2(A 组 A0 成分)。由 Sg-1 基因发生隐性突变( $sg-1^{0-a}$  或  $sg-1^{0-b}$ )导致 C-22 末端糖基缺失木糖(Xyl)或葡萄糖(Glc)。通过基因测序比对,中国的 A0 突变体与日本和韩国野生大豆 A0 突变体是 Sg-1 基因不同的碱基突变(表 2)<sup>[35]</sup>。

我国野生大豆的 5 份 A0 变异体都是  $sg-1^{0-b}$  等位基因类型的变异,即 Ab 成分等位基因发生隐性突变。测序结果显示,是由基因中出现碱基缺失(材料 No.115、No.262、No.1168; $sg-1^{0-b2}$ )和终止密码(材料 No.1842 和 No.5026; $sg-1^{0-b3}$ )两种变异所导致(表 2)。

还有 3 份遗传机制未明的 A0 突变体(表 2)。2 份材料(No.676-1、No.676-2; $sg-1^{b-0}$ )是完全正常的基因序列,另一份材料(No.4278; $sg-1^{b-01}$ )是发

生一个氨基酸替换。通过对结构基因前 2000 bp 碱基信号区域测序检查,这 3 个材料没有发现异常。可能有以下原因导致这 3 个材料 A0 突变:(1)基因中发生某种修饰造成类似于表观遗传学的原因;(2)该基因表达需要第三者域外关联基因互作,关联基因发生变异;(3)也许材料 No.4278( $sg-1^{b-01}$ )替代氨基酸是酶作用中心或是其他原因。通常一个非关键部位氨基酸替换不至于导致 Ab 成分缺失。在其他另外测定的 2 份 Aa 表型材料和 4 份 Ab 表型材料的等位基因也看到有一个氨基酸替代发生,但是都能正常生产 Aa 或 Ab 成分。以上的可能原因还有待于研究。

中国野生大豆还发现另一种特殊 A0 突变体(表型 A $\beta_{KA}$ )(图 4(c)),它是由控制皂角苷糖苷配基 C-22 碳位第 1 个糖基,即阿拉伯糖转移酶基因(Sg-7)发生隐性突变( $sg-7$ ),不能将阿拉伯糖(Ara)连接到 A 组糖苷配基 C-22 碳位上,因而不能发生乙酰化作用。这个合成路径节点的阿拉伯糖转移酶基因定名为 Sg-7 位点。由于  $sg-7$  隐性突变会导致 A 组、 $\alpha$  组和  $\beta$  组皂角苷总前体化合物 A- $\alpha$ g 成分大量积累。这个变异材料的明显特征也是检测不到 A 组 Aa 或 Ab 成分,相应出现 KA- $\alpha$ g(分子量 1033.5)和 A- $\alpha$ g(分子量 975.5)成分(图 4(c)),它们的分子结构也被确定(图 2(a)、(h))。

Sg-7 基因也是首次在大豆亚属中被发现。 $sg-7$  突变基因是一个具有营养改良潜力的重要基因资源,如果能与一个超高表达的 E 组 Bd 基因组合,使大豆种子合成大量的具有健康活性的 E 组成分具有重大意义。

## 3 皂角苷成分含量变异

中国野生大豆还存在皂角苷成分含量变异。有的含量变异是有意义的优良变异。HPLC 测定 107 份材料的 A 组、DDMP 组、B 组、E 组、 $\alpha$  和  $\beta$  组成分的含量,发现 2 份 E 组 Bd 成分含量高的优异资源(图 5)。在测定的 105 份材料中,Bd 含量为 0.18~1.71  $\mu\text{mol/g}$ (试样干重),而这 2 份高 Bd 含量变异体含量分别是 9.40  $\mu\text{mol/g}$  和 4.76  $\mu\text{mol/g}$ 。这种变异发生的原因可能与 Sg-7 酶活性低下或 Sg-6e 基因(C-22 碳位脱氢酶)超表达有关,Sg-7 基因活性低下使 A- $\alpha$ g 成分积累,有利于 E 组 Bd 成分产生。同时发现这 2 个变异体的  $\alpha$  和  $\beta$  组含量也相对较高(略),间接证实了 Sg-7 基因活性低下。



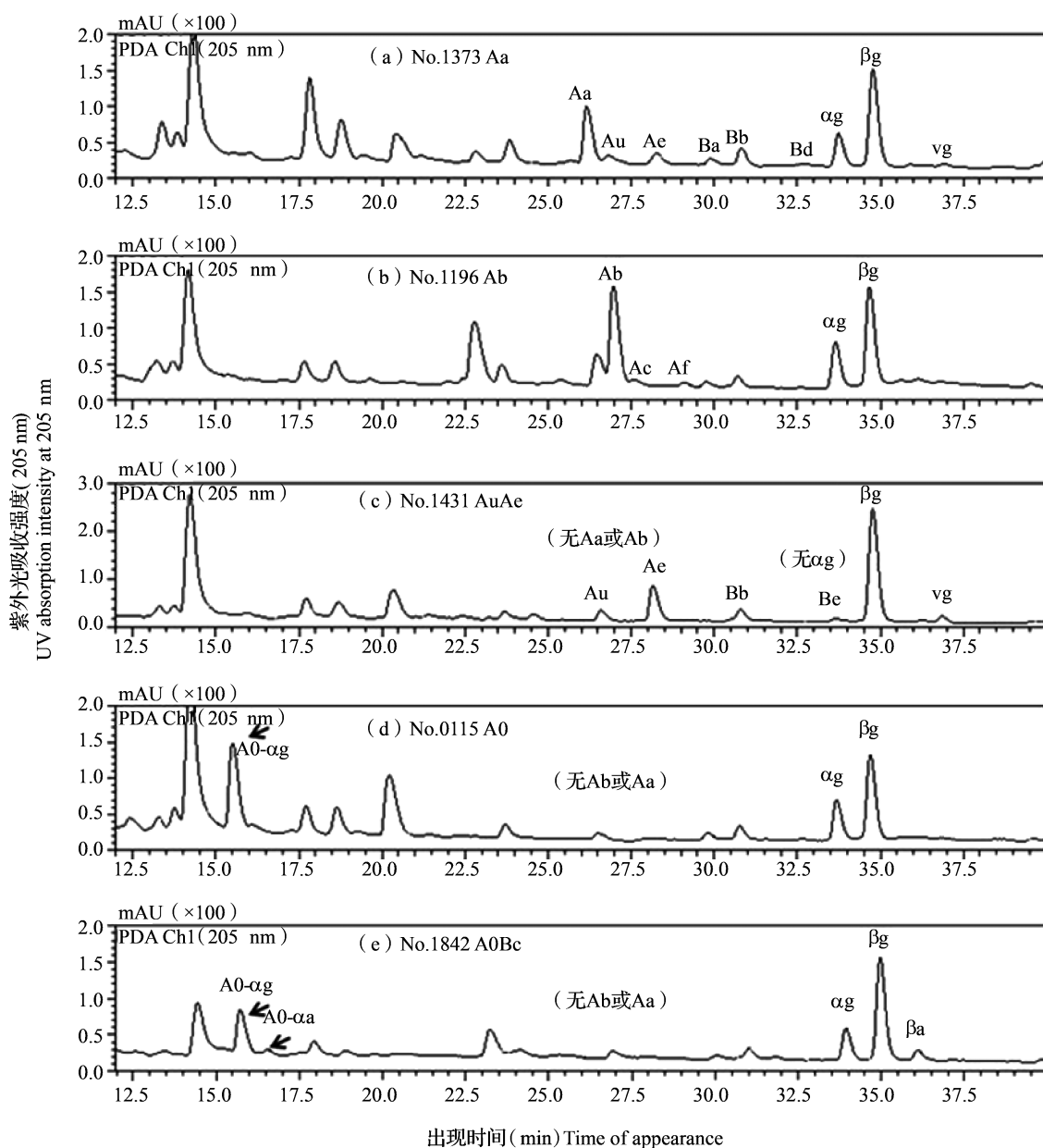
表 1 中国野生大豆中测定出的 6 组 23 种皂苷成分、不同成分资源材料频率

Table 1 Six categories and 23 components of soyasaponin, and frequencies of the accessions with the various components identified in Chinese wild soybean

A 组 A group												DDMP 组 DDMP group		B 组 B group		E 组 E group				
Aa- 系列 Aa-Series		频率 ( % ) Frequencies	Ab- 系列 Ab-Series		频率 ( % ) Frequencies	A0- 系列 A0-Series		频率 ( % ) Frequencies	A- 系列 A-Series		频率 ( % ) Frequencies	DDMP		频率 ( % ) Frequencies	B 组 B group		频率 ( % ) Frequencies	E 组 E group		频率 ( % ) Frequencies
Aa		78.8	Ab		20.9	A0-ag		0.21	A-ag		0.03	ag		99.9	Ba		9.9	Bd		0.03
Au		0.1	Ac		-	A0-βg		-	A-βg		-	βg		100	Bb		0.1	Be		-
Ac		78.9	Af		20.9	A0-γg		-	A-γg		-	γg		-	Bb'		0.1	Be'		-
Ax		25.0	Ad		5.7	A0-αa		0.08	A-αa		-	αa		-	Bx		-	Bf		-
Ay		-	Az		-	A0-βa		-	A-βa		-	βa		30.8	Bc		-	Bg		-
Ag		-	Ah		-	A0-γa		-	A-γa		-	γa		-	Bc'		-	Bg'		-
α 组 α group												β 组 β group								
H- 系列 H-Series		频率 ( % ) Frequencies	I- 系列 I-Series		频率 ( % ) Frequencies	J- 系列 J-Series		频率 ( % ) Frequencies	K-s 系列 K-s Series		频率 ( % ) Frequencies	KA- 系列 KA-Series		频率 ( % ) Frequencies	HAb- 系列 HAb-Series		频率 ( % ) Frequencies			
H-ag		0.6	I-ag		11.4	J-ag		10.9	K-ag		0.5	KA-ag		0.03	HAb-ag		0.03			
H-βg		-	I-βg		-	J-βg		-	K-βg		-	KA-βg		-	HAb-βg		-			
H-γg		-	I-γg		-	J-γg		-	K-γg		-	KA-γg		-	HAb-γg		-			
H-αa		-	I-αa		-	J-αa		-	K-αa		-	KA-αa		-	HAb-αa		-			
H-βa		-	I-βa		-	J-βa		-	K-βa		-	KA-βa		-	HAb-βa		-			
H-γa		-	I-γa		-	J-γa		-	K-γa		-	KA-γa		-	HAb-γa		-			

-: 无标识频率的成分在我国没有检测出来

-: The components, marked, were not detected



材料(a)和(b)分别是正常型Aa和Ab;突变体A0和A0Bc的隐性基因 $sg-1^0$ 导致无A组Aa或Ab成分材料(d)和(e); AuAe表型的 $sg-3$ 隐性基因不能产生Aa或Ab、 $\alpha g$ 成分材料(c)

Materials (a) and (b) were normal types Aa and Ab, The recessive  $sg-1^0$  gene in A0 and A0Bc mutants caused no Group A Aa or Ab materials (d) and (e), The recessive  $sg-3$  in AuAe phenotype caused no Aa and  $\alpha g$  material (c)

图3 HPLC分析的中国野生大豆A0突变体和AuAe表型材料

Fig.3 HPLC analysis of saponins from A0 mutants materials (D) and (E) and AuAe

中国野生大豆还存在A组Au和Ae成分高含量、无Aa和 $\alpha g$ 成分的表型(AuAe)(图3(c))。这种表型是由于 $Sg-3$ 基因发生了隐性突变( $sg-3$ )造成A组成分的C-3糖链终端的葡萄糖缺失。这个隐性性状可能由于补偿作用能够使DDMP组 $\beta g$ 成分含量升高和总DDMP组+B组+E组含量增高,同时A组总含量降低。测定的69份非AuAe材料中DDMP组的 $\beta g$ 成分含量变动为17.36~

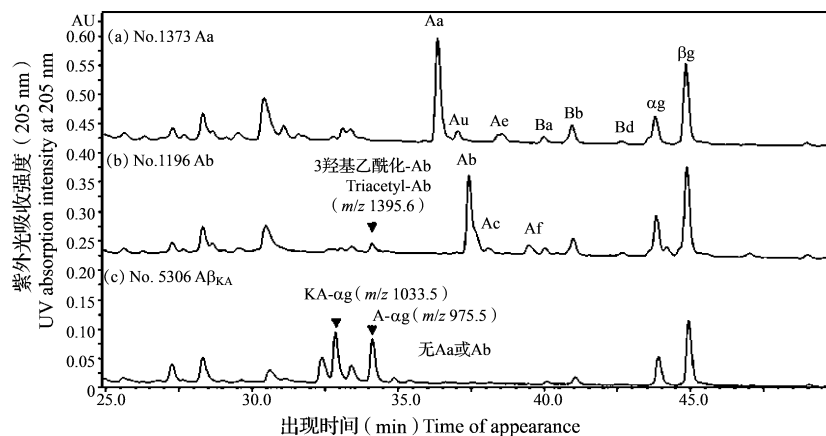
20.85  $\mu\text{mol/g}$ (试样干重),而3份AuAe材料 $\beta g$ 成分含量平均为36.45  $\mu\text{mol/g}$ 。69份非AuAe材料总DDMP组+B组+E组平均含量为36.45  $\mu\text{mol/g}$ ,而3份AuAe材料平均为45.13  $\mu\text{mol/g}$ 。29份非AuAe材料的A组总含量平均为16.10  $\mu\text{mol/g}$ ,而3份AuAe含量平均为10.96  $\mu\text{mol/g}$ ,A组总含量降低。因此,这种表型也是优异的资源,因为A组含量降低和总DDMP组+B组+E组含量增高。

表 2 野生大豆缺失 A 组 Aa 或 Ab 成分的 A0 突变体碱基和氨基酸差异

Table 2 Nucleotide and amino acid differences among variants (A0) lacking group-A Aa or Ab components detected in Chinese wild soybean

材料 Material	种 Species	表型 Phenot- ypes	基因 Genes	来源 Sources	nt																															
					27~56	72	73	114	156	295	304	384	387	412-3	427	431	433-4	446	456	495	514	561	598	~643	762	797	874	948	978	1004	1035	1368				
					AA	9~19	24	25	38	52	99	102	128	129	138	143	144	145	149	152	165	172	187	200	~215	254	266	292	316	326	335	345	390			
						↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓		↓				
Shirosemari	<i>G. max</i>	Aa	<i>Sg-I<sup>a</sup></i>	日本	A--~--G	CTC	TGC	GTC	AA	A	GGA	GCC	AAG	CTG	TCA	GCC	GTC	AGC	TCC	TCT	ATT	GTC	GAC	A--~--C	TGG	GTA	CCA	TGG	AGA	TGG	CCT	GGG				
JP-36121	<i>G. soja</i>	A0	<i>sg-I<sup>ba1</sup></i>	日本	Deletion	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
CWS2133	<i>G. soja</i>	A0	<i>sg-I<sup>ba1</sup></i>	韩国	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
Ohsuzu	<i>G. max</i>	Ab	<i>Sg-I<sup>b</sup></i>	日本	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
Kinusayaka	<i>G. max</i>	A0	<i>sg-I<sup>ba2</sup></i>	日本	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
676-1, 676-2	<i>G. soja</i>	A0	<i>Sg-I<sup>ba3</sup></i>	中国	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
115, 262, 1168	<i>G. soja</i>	A0	<i>sg-I<sup>ba2</sup></i>	中国	CT-	-GC	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
1842, 5026	<i>G. soja</i>	A0Bc	<i>sg-I<sup>ba3</sup></i>	中国	--C	T--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			
4278	<i>G. soja</i>	A0Bc	<i>Sg-I<sup>ba1</sup></i>	中国	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---			

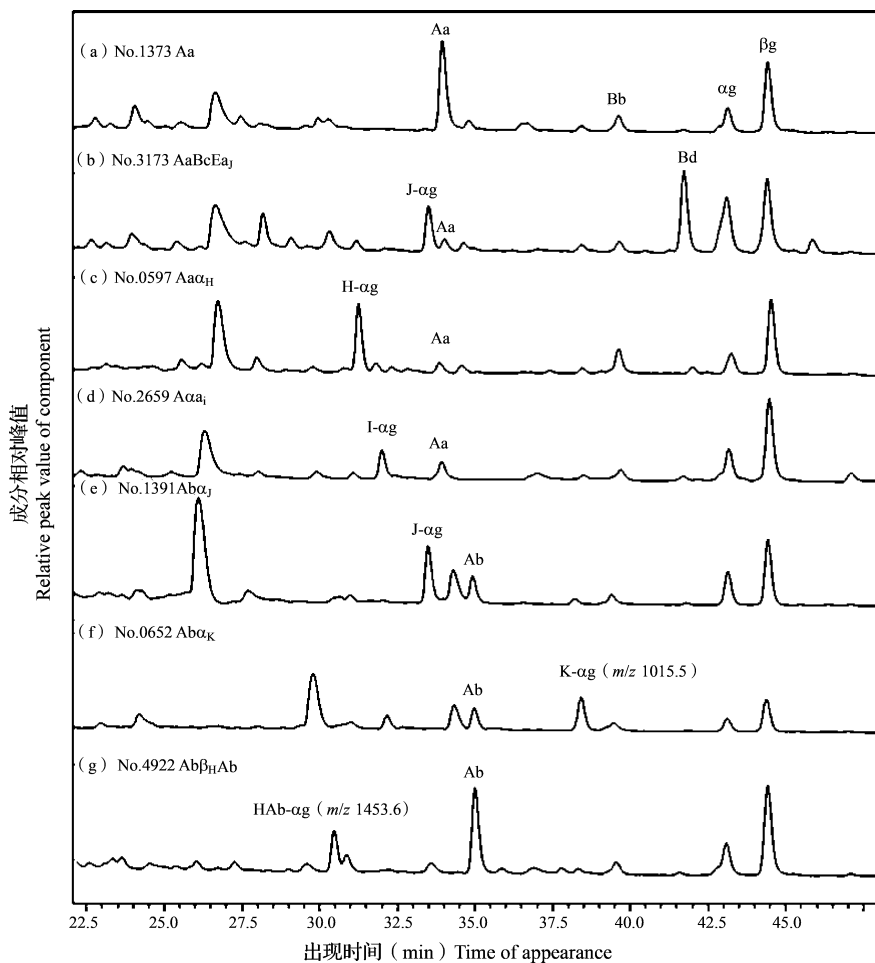
nt: 碱基; AA: 氨基酸; ↓: 基因中长短片碱基缺失; Shirosemari: *Sg-I<sup>a</sup>* 等位基因标准品种; Ohsuzu: *Sg-I<sup>b</sup>* 等位基因标准品种nt: base, AA: amino acid, ↓: indicates deletion of large fragment, Shirosemari: standard variety for gene *Sg-I<sup>a</sup>*, Ohsuzu: standard variety for gene *Sg-I<sup>b</sup>*



材料 (a) 和 (b) 为正常表型 Aa 和 Ab; Aβ<sub>KA</sub> 突变体显示无 Aa 或 Ab 成分, 但是出现分子量 1033.5 和 975.5 的 KA-αg 和 A-αg 新成分 (c)  
Materials (a) and (b) were normal types Aa and Ab, and the phenotype Aβ<sub>KA</sub> showed no signal of Aa or Ab component but had two new components KA-αg and A-αg, with molecular mass 1033.5 and 975.5, respectively

图 4 LC-PDA/MS/MS 鉴定 sg-7 突变体 (c)

Fig.4 LC-PDA/MS/MS identified sg-7 mutant (material c, phenotype AβKA)



α 组成分 H-αg (材料 No.0597)、I-αg (材料 No.2659)、J-αg (材料 No.1391、3173) 和新成分 K-αg (分子量 1015.5, 材料 No.0652) 分别独立出现在不同植株个体。材料 No.4922 出现新的成分 β 组 Ab-αg (分子量 1453.6)。材料 No.3173 是高 Bd 含量积累的突变体 Group α H-αg (No. 0597), I-αg (No. 2659), J-αg (Nos. 1391, 3173) and new K-αg component (MW1015.5) appeared in separate plants, respectively. Material No. 4922 had a new Group β Hab-αg component (MW1453.6). Material No. 3173 was a high-content Bd mutant

图 5 HPLC 鉴定 α 和 β 组成分

Fig.5 HPLC chromatography identified groups α and β components

## 4 $\alpha$ 组皂角苷成分的存在形式

中国野生大豆绝大多数不含  $\alpha$  组皂角苷,其频率约占 86.23%,仅约 13.77% 个体含有  $\alpha$  组皂角苷。在韩国野生大豆中  $\alpha$  组 H- $\alpha$ g、I- $\alpha$ g 和 J- $\alpha$  的 3 个成分被报告总是不分离的一组复合成分团,3 种成分或同时存在或都不存在。复合成分团存在与否受控于一个显性基因 *Sg-6*<sup>[33]</sup>。但是,在中国野生大豆中没有发现 H- $\alpha$ g、I- $\alpha$ g 和 J- $\alpha$ g 这 3 种成分同时存在的现象(图 5(b)、(c)、(d)、(e)),存在形式是 H- $\alpha$ g、I- $\alpha$ g、J- $\alpha$ g、K- $\alpha$ g 分别独立存在,I- $\alpha$ g J- $\alpha$ g K- $\alpha$ g 同时存在、I- $\alpha$ gJ- $\alpha$ g 同时存在,I- $\alpha$ gK- $\alpha$ g 同时存在,或者  $\alpha$  组成分都不存在。中国野生大豆的情况说明了 H- $\alpha$ g、I- $\alpha$ g、J- $\alpha$ g 和 K- $\alpha$ g 成分的合成可能是受控于不同的基因(*Sg-6h*、*Sg-6i*、*Sg-6j*、*Sg-6k*),而不是一个 *Sg-6* 基因。

H- $\alpha$ g 被认为是 I- $\alpha$ g 和 J- $\alpha$ g 的前体,H- $\alpha$ g 又来源于 A- $\alpha$ g,通过 *Sg-6e* 基因(C-22 碳位脱氢酶,酮基=O 形成)和 *Sg-6h* 基因(C-29 加氧作用)而形成 H- $\alpha$ g(图 2)<sup>[19]</sup>。我们推测,Krishnamurthy 等<sup>[33]</sup>报告的韩国野生大豆的 *Sg-6* 基因可能是 *Sg-6e*(或 *Sg-6h*)基因,其隐性基因(*sg-6e* 或 *sg-6h*)使不能产生前体成分 H- $\alpha$ g(或 HA- $\alpha$ g),使  $\alpha$  组皂角苷不存在。

由此推测,中国绝大多数野生大豆、大约 86.23% 不含有  $\alpha$  组皂角苷的材料可能都是携带 *sg-6e* 或 *sg-6h* 隐性基因。

## 5 中国野生大豆皂角苷表型、基因型及基因地理分布与地理遗传多样性及分化

我国野生大豆根据测出的皂角苷成分和已知及推定的共 10 个相关位点可划分 32 个表型和 34 个基因型(表 3)。其中,11 个表型是中国野生大豆特有(Aa $\alpha_K$ 、Aa $\alpha_{IK}$ 、Aa $\alpha_{IJK}$ 、AaBcE $\alpha_J$ 、AaBc $\alpha_K$ 、AbE $\alpha_{IJ}$ 、Ab $\alpha_K$ 、Ab $\alpha_{IK}$ 、Ab $\alpha_{IJK}$ 、Ab $\beta_{HAB}$ 、Ab $\beta_{KA}$ );4 个主要表型 Aa、AaBc、Ab、AbBc 分别占 48.44%、21.34%、11.70%、4.42%。

10 个基因位点中,以 *Sg-4* 位点的多样性值最大(*I* 和 *h* 值),其次是 *Sg-1*,再次是 *Sg-6e*、*Sg-6h*、*Sg-6i*、*Sg-6j*(表 4)。基因分化以 *Sg-4* 位点最大( $F_{st}=0.324$ ),*Sg-6e*、*Sg-6h*、*Sg-6i*、*Sg-6j* 次之( $F_{st}=0.081\sim 0.124$ ),而 *Sg-1* 位点基因分化较小( $F_{st}=0.020$ )(表 4)。

地理上,我国野生大豆有 2 个皂角苷基因遗传多样性中心,分别是我国南北两端,即东北和华南地区(有最高的 *I* 和 *h* 值)。东部沿海、华北和西北部

等黄河流域遗传多样性相对较低,而长江中部以南及西南部相对较高(表 5)。我国野生大豆具有特别的地理特征:4 个主要表型(Aa、AaBc、Ab、AbBc)及主要的 *Sg-1* 和 *Sg-4* 基因位点在东亚地理分布上表现出明显的地理分布性(表 5)。

AaBc 表型是原始类型。表型 AaBc 和 AbBc 在我国南部野生大豆具有最高频率的分布,同时也是 *Sg-4* 基因分布频率最高的区域(表 5)。我国野生大豆的这种表现在皂角苷表型及有关基因的分布方式应该与野生大豆起源有着密切关系,完全认证了我国华南地区可能存在古老的野生大豆种群<sup>[36]</sup>;早期野生大豆伴随着 AaBc 类型及 *Sg-4* 基因从我国南方周围扩散。在远古时期的多次冰河时期,AaBc 类型及 *Sg-4* 基因通过陆桥向东北亚的日本和韩国扩散;远离中国南方的地区野生大豆如华北和东北野生大豆含有相对较低的 AaBc 类型和 *Sg-4* 基因频率。

基于 10 个皂角苷位点等位基因评价我国野生大豆的地理分化,我国野生大豆基本是以长江为界的南北存在明显的遗传分化(图 6a),这个结果与 SSR 评价基本一致(图 6b)。

## 6 今后研究及利用

### 6.1 皂角苷研究与营养改良利用

初步的研究显示,我国野生大豆的皂角苷种类和变异非常丰富。今后若干已知成分的合成路径和遗传机制有待分析,若干未知成分的分子结构还有待解明。

通过含量测定分析,A0 突变体和 Bd 高含量变异可以用于大豆苦涩味去除或营养改良育种,这项工作正在开展。根据 AuAe 表型含量分析显示的总 DDMP 组+B 组+E 组含量增高和 A 组总含量降低的趋势,考虑也可以用于营养改良育种。 $\alpha$  组成分对人的健康功效目前还不清楚,需要研究。如果此类成分具有活性作用也具有育种利用价值。

### 6.2 作为遗传新标记利用价值

野生大豆是短日植物,越是低纬度野生大豆光照敏感越强<sup>[37]</sup>。野生大豆 500 万年前从多年生野生大豆分离出来<sup>[38]</sup>。我国东南沿海的福建和广东分布多年生野生大豆多毛豆(*Glycine tomentella*)和烟豆(*G. tabacina*)。我国的华南一带应该我国野生大豆早期的诞生地。我国南方地区野生大豆具有高频率的 AaBc 表型,充分说明了我国南方区域野生大豆是更具有原始祖本特征的群体,东亚野生大豆皆来源于南方野生大豆的扩散。



表 3 中国野生大豆鉴定出的皂角苷 32 个表型和 34 个基因型

Table 3 Thirty-two phenotypes and 34 genotypes identified in Chinese wild soybean

序号 No.	表型 Phenotypes	频率 (%) Frequencies	基因型 Genotypes
1	Aa	48.44	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
2	Aa $\alpha_{\text{H}}$	0.21	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
3	Aa $\alpha_{\text{I}}$	0.76	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
4	Aa $\alpha_{\text{J}}$	0.47	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
5	Aa $\alpha_{\text{IJ}}$	3.71	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
6	Aa $\alpha_{\text{K}}$	0.11	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
7	Aa $\alpha_{\text{JK}}$	0.03	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
8	Aa $\alpha_{\text{IJK}}$	0.03	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
9	AaBc	21.34	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
10	AaBcE $\alpha_{\text{J}}$	0.03	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
11	AaBc $\alpha_{\text{I}}$	0.47	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
12	AaBc $\alpha_{\text{J}}$	0.47	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
13	AaBc $\alpha_{\text{IJ}}$	2.60	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
14	AaBc $\alpha_{\text{K}}$	0.05	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
15	AuAe	0.11	<i>Sg-1<sup>a</sup> sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
16	Ab	11.70	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
17	AbE $\alpha_{\text{IJ}}$	0.03	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
18	Ab $\alpha_{\text{H}}$	0.21	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
19	Ab $\alpha_{\text{I}}$	0.37	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
20	Ab $\alpha_{\text{J}}$	0.66	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
21	Ab $\alpha_{\text{IJ}}$	1.89	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
22	Ab $\alpha_{\text{K}}$	0.03	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
23	Ab $\alpha_{\text{JK}}$	0.29	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
24	Ab $\alpha_{\text{IJK}}$	0.05	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 Sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>
25	Ab $\beta_{\text{HAb}}$	0.03	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
26	AbBc	4.42	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
27	AbBc $\alpha_{\text{I}}$	0.24	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
28	AbBc $\alpha_{\text{J}}$	0.13	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
29	AbBc $\alpha_{\text{IJ}}$	0.92	<i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e Sg-6h Sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
30	A0*	0.08	① <i>sg-1<sup>0</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
		0.05	② <i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
31	A0Bc**	0.05	① <i>sg-1<sup>0</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
		0.03	② <i>Sg-1<sup>b</sup> Sg-3 Sg-4 Sg-5 sg-6e sg-6h sg-6i sg-6j sg-6k Sg-7</i>
32	A $\beta_{\text{KA}}$ ***	0.03	<i>Sg-1<sup>a</sup> Sg-3 sg-4 Sg-5 sg-6e Sg-6h sg-6i sg-6j Sg-6k Sg-7</i>

\*: ①隐性等位基因 *sg-1<sup>0-b2</sup>* (碱基缺失); ②正常 *Sg-1<sup>b</sup>* 等位基因 (*Sg-1<sup>b-0</sup>*); \*\*: ①隐性等位基因 *sg-1<sup>0-b3</sup>* (终止密码); ②正常 *Sg-1<sup>b</sup>* 等位基因 (*Sg-1<sup>b-01</sup>*); \*\*\*: 正常 *Sg-1<sup>a</sup>* 等位基因, 隐性等位因 *sg-7*

\*: ① recessive allele, *sg-1<sup>0-b2</sup>* (base deletion), ② normal allele, *Sg-1<sup>b</sup>* (*Sg-1<sup>b-0</sup>*), \*\*: ① recessive allele, *sg-1<sup>0-b3</sup>* (Stop codon), ② normal allele, *Sg-1<sup>b</sup>* (*Sg-1<sup>b-01</sup>*), \*\*\*: normal allele, *Sg-1<sup>a</sup>* and recessive allele, *sg-7*

表 4 10 个皂角苷合成相关的位点等位基因多样性  
Table 4 Genetic diversity at 10 loci involved in soyasaponin biosyntheses

位点 Locus	香浓指数 $I_g$	基因多样性 $h$	基因分化系数 $F_{st}$	位点 Locus	香浓指数 $I_g$	基因多样性 $h$	基因分化系数 $F_{st}$
<i>Sg-1</i>	0.524	0.334	0.020	<i>Sg-6i</i>	0.354	0.201	0.081
<i>Sg-3</i>	0.008	0.002	0.002	<i>Sg-6j</i>	0.346	0.196	0.124
<i>Sg-4</i>	0.617	0.426	0.324	<i>Sg-6k</i>	0.037	0.012	0.003
<i>Sg-5</i>	0	0	0	<i>Sg-7</i>	0.002	0.001	0.003
<i>Sg-6e</i>	0.400	0.237	0.112	平均 Mean	0.269	0.165	0.145
<i>Sg-6h</i>	0.401	0.238	0.112				

$I_g$ : Shnnon index,  $h$ : Nei's (1973) gene diversity,  $F_{st}$ : coefficient of gene differentiation, the same as below

表 5 基于遗传多样性东亚野生大豆皂角苷主要表型和有关等位基因频率比较  
Table 5 Frequency comparison of main phenotypes and related alleles of soyasaponin among Eastern Asian wild soybeans

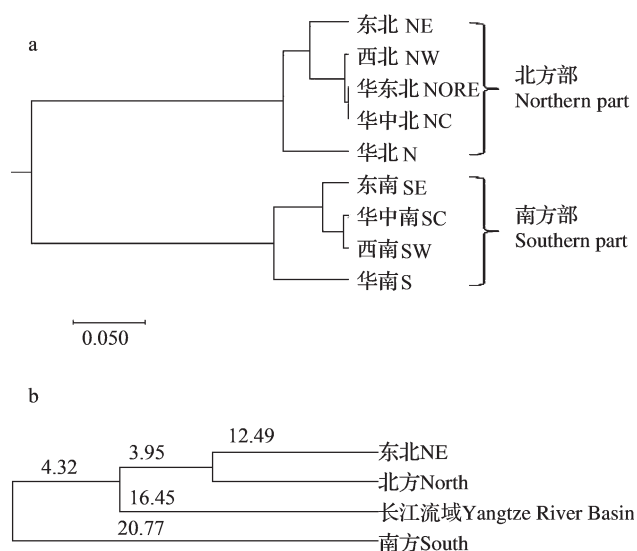
区域 Regions	样本 Samples	主要表型频率 (%) Phenotypes frequencies				等位基因频率 (%) Allele frequencies				遗传多样性 Genetic diversity	
		Aa	AaBc	Ab	AbBc	<i>Sg-1</i> <sup>a</sup>	<i>Sg-1</i> <sup>b</sup>	<i>Sg-4</i>	<i>sg-4</i>	h	$I_g$
东北 NE	1617	59.1	15.1	20.5	4.6	74.46	25.23	19.79	80.21	0.216	0.333
华北 N	739	70.8	10.3	18.0	0.9	81.06	18.94	11.23	88.77	0.077	0.145
西北 NW	210	58.6	32.9	7.1	1.4	91.43	8.57	34.29	65.71	0.069	0.117
华东北 NORE	422	54.0	29.9	8.8	7.3	83.89	16.11	37.20	62.80	0.096	0.162
华中北 NC	285	54.4	30.2	10.9	3.9	84.91	15.09	34.39	65.61	0.116	0.200
华中南 SC	209	11.0	61.3	7.2	20.6	72.25	27.75	81.82	11.18	0.105	0.180
东南 SE	161	6.2	70.8	5.0	18.0	77.02	22.98	88.82	11.18	0.081	0.149
西南 SW	110	18.2	65.5	6.4	10.0	83.64	16.36	75.45	24.55	0.123	0.210
华南 S	52	13.5	67.3	3.8	15.4	80.77	19.23	82.69	17.31	0.217	0.328
中国 China	3805	53.7	25.0	15.2	5.7	78.84	21.02	30.75	69.25	0.165	0.269
日本 *Japan	329	21.6	58.4	9.7	4.6	79.94	14.29	62.92	37.08		
韩国 **Korea	3720	37.8	60.6	0.4	0.8	98.39	1.32	61.40	38.60		

不考虑  $\alpha$  组的情况下的皂角苷 4 种主要表型及频率;  : 我国南方地区有高的 AaBc 表型频率, 高的 AbBc 表型频率和高的 *Sg-4* 基因频率; 遗传多样性是基于有关 10 个皂角苷位点的等位基因频率计算; \*: 日本引自 Tsukamoto et al (1993); \*\*: 韩国引自 Krishnamurthy et al (2014a)

Four main phenotypes and their frequencies of soyasaponins without considering group  $\alpha$ ,   indicate that there were higher frequencies of AaBc and AbBc phenotypes and *Sg-4* gene of soyasaponin in southern China, Genetic diversity was calculated based on the allelic frequencies of related 10 soyasaponin loci, \*: The Japan 's data were quoted from Tsukamoto et al (1993), \*\*: The South Korea 's data were quoted from Krishnamurthy et al (2014). NE: Northeast, N: North, NW: Northwest, NORE: Northeast, NC: North center, SC: South center, SE: Southeast, SW: Southwest, S: South. The same as below

大豆皂角苷化学成分表型和基因鉴定开辟了研究野生大豆地理遗传分化、遗传多样性和大豆起源的新途径<sup>[22, 39]</sup>。大豆皂角苷成分表型及基因可作为遗传研究的新标记起到重要作用。如我国南北方野生大豆明显的以长江为界的遗传分化, 从化学成分上的标记分析也证实了这一现象。野生大豆诞生之后在东亚地区扩散, 我国作为世界公认的大豆的

起源地, 我们的祖先在具体什么地方最开始驯化大豆还不清楚, 我国野生大豆分布的任何一个地方都有可能是大豆的最初起源地, 因为人类农业文明的发生仅有一万余年的历史。丰富的大豆皂角苷表型及有关基因今后可以用作遗传标记, 有助于大豆起源地研究。



a: 使用皂角苷 10 个位点的 Nei's (1973) 的遗传距离进行 9 个区域 (3805 份野生大豆) 的 UPGMA 地理聚类; b: 使用 70 对 SSR 引物的 Nei's (1972) 的遗传距离进行 4 个区域 (196 份国家基因库核心样本) 的 UPGMA 聚类; 我国野生大豆明显地存在以长江为界的南北地理分化<sup>[40]</sup>

a: cluster for nine geographical regions (3805 wild soybeans) based on Nei's (1973) genetic distance from the frequencies of alleles of ten saponin composition loci by the UPGMA, b: cluster for four geographical regions (a set of genebank micro-core collection of 196 wild soybeans) based on Nei's (1972) genetic distance from the allelic frequencies of 70 SSR loci. There was distinct genetic differentiation between the two geographical regions of the northern and southern China as the Yangtze River<sup>[40]</sup>

图 6 中国野生大豆地理分化

Fig.6 Geographical genetic differentiation of wild soybean in China

#### 参考文献

- [1] Shiraiwa M, Harada K, Okubo K. Composition and content of saponins in soybean seed according to variety, cultivation year and maturity. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1991, 55: 323-331
- [2] Tsukamoto C, Kikuchi A, Kudou S, Harada K, Iwasaki T, Okubo K. Genetic improvement of saponin components in soybean//Huang M T, Osawa T, Ho C T, Rosen R T. *Food phytochemicals for cancer prevention I*. Washington: American Chemical Society, 1994: 372-379
- [3] Fenwick G R, Price K R, Tsukamoto C, Okubo K. Saponins in toxic substances in crop plants//Mello J P F D, Duffus C M, Duffus J H. *Cambridge: The Royal Society of Chemistry*, 1991: 285-327
- [4] Kuzuhara H, Nishiyama S, Minowa N, Sasaki K, Omoto S. Protective effects of soyasapogenol A on liver injury mediated by immune response in a concanavalin A-induced hepatitis model. *European Journal of Pharmacology*, 2000, 391: 175-181
- [5] Rowlands J C, Berhow M A, Badger T M. Estrogenic and antiproliferative properties of soy sapogenols in human breast cancer cells in vitro. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 40: 1767-1774
- [6] Murata M, Houdai T, Yamamoto H, Matsumori M, Oishi T. Membrane interaction of soyasaponins in association with their antioxidation effect-analysis of biomembrane interaction. *Soy Protein Research*, 2006, 9: 82-86
- [7] Ellington A A, Berhow M A, Singletary K W. Induction of macroautophagy in human colon cancer cells by soybean B-group triterpenoid saponins. *Carcinogenesis*, 2005, 26: 159-167
- [8] Ellington A A, Berhow M A, Singletary K W. Inhibition of Akt signaling and enhanced ERK1/2 activity are involved in induction of macroautophagy by triterpenoid B-group soyasaponins in colon cancer cells. *Carcinogenesis*, 2006, 27: 298-306
- [9] Kang J H, Sung M K, Kawada T, Yoo H, Kim Y K, Kim J S, Yu R. Soybean saponins suppress the release of proinflammatory mediators by LPS-stimulated peritoneal macrophages. *Cancer letters*, 2005, 230: 219-227
- [10] Lee S O, Simons A L, Murphy P A, Hendrich S. Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. *Experimental Biology and Medicine*, 2005, 230: 472-478
- [11] Ishii Y, Tanizawa H. Effects of soyasaponins on lipid peroxidation through the secretion of thyroid hormones. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 29: 1759-1763
- [12] Hong S W, Yoo D H, Woo J Y, Jeong J J, Yang J H, Kim D H. Soyasaponins Ab and Bb prevent scopolamine-induced memory impairment in mice without the inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62: 2062-2068
- [13] Yang S H, Ahn E K, Lee J A, Shin T S, Tsukamoto C, Suh W, Itabashi M, Chung G. Soyasaponins Aa and Ab exert an anti-obesity effect in 3T3-L1 adipocytes through downregulation of PPAR $\gamma$ . *Phytotherapy Research*, 2015, 29: 281-287
- [14] Shiraiwa M, Harada K, Okubo K. Composition and structure of group A saponin in soybean seed. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1991, 55: 315-322
- [15] Shiraiwa M, Harada K, Okubo K. Composition and structure of group B saponin in soy seed. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1991, 55: 911-917
- [16] Kudou S, Tonomura M, Tsukamoto C, Shimoyamada M, Uchida T, Okubo K. Isolation and structural elucidation of the major genuine soybean saponin. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1992, 56: 142-143
- [17] Kudou S, Tonomura M, Tsukamoto C, Uchida T, Sakabe T, Tamura N, Okubo K. Isolation and structural elucidation of DDMP-conjugated soyasaponins as genuine saponins from soybean seeds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1993, 57: 546-550
- [18] Tsukamoto C, Kikuchi A, Harada K, Kitamura K, Okubo K. Genetic and chemical polymorphisms of saponins in soybean seed. *Phytochemistry*, 1993, 34: 1351-1356
- [19] Takahashi Y, Kon T, Muraoka H, Ishimoto M, Tsukamoto

- C. The dominant *Sg-6* synthesizes saponins with a ketone function at oleanane aglycone C-22 position in soybean//11th International meeting on biosynthesis, function and biotechnology of isoprenoids in terrestrial and marine organisms ( TERPNET ). Crete, Greece: Kolymvari, 2013; 197
- [ 20 ] Takahashi Y, Li X H, Tsukamoto C, Wang K J. Identification a novel variant lacking group-A soyaaponin in a Chinese wild soybean ( *Glycine soja* Sieb. & Zucc. ) with the implication of breeding significance. *Plant Breeding*, 2016, 135: 607-613
- [ 21 ] Takahashi Y, Li X H, Tsukamoto C, Wang K J. Categories and components of soyaaponin in the Chinese wild soybean ( *Glycine soja* Sieb. & Zucc. ) genetic resource collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2017, 64: 2161-2171
- [ 22 ] Takahashi Y, Li X H, Tsukamoto C, Wang K J. Phenotypic and genotypic signature of saponin chemical composition in Chinese wild soybean ( *Glycine soja* ): revealing genetic diversity, geographical variation and dispersal history of the species. *Crop & Pasture Science*, 2018, 69: 1126-1139
- [ 23 ] Shiraiwa M, Yamauchi F, Harada K, Okubo K. Inheritance of group A saponin in soybean seed. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1990, 54: 1347-1352
- [ 24 ] Kikuchi A, Tsukamoto C, Tabuchi K, Adachi T, Okubo K. Inheritance and characterization of a null allele for group A acetyl saponins found in a mutant soybean ( *Glycine max* ( L. ) Merrill ). *Breeding Science*, 1999, 49: 167-171
- [ 25 ] Kurosawa Y, Takahara H, Shiraiwa M. UDP-glucuronic acid: soyaapogenol glucuronosyltransferase involved in saponin biosynthesis in germinating soybean seeds. *Planta*, 2002, 215: 620-629
- [ 26 ] Shibuya M, Hoshino M, Hayashi H, Kushiro T, Ebizuka Y. Identification of  $\beta$ -amyrin and sophoradiol 24-hydroxylase by expressed sequence tag mining and functional expression assay. *FEBS Journal*, 2006, 273: 948-959
- [ 27 ] Shibuya M, Nishimura K, Yasuyama N, Ebizuka Y. Identification and characterization of glycosyltransferases involved in the biosynthesis of soyaaponin I in *Glycine max*. *FEBS Letter*, 2010, 584: 2258-2264
- [ 28 ] Takada Y, Sayama T, Kikuchi A, Kato S, Tatsuzaki N, Nakamoto Y, Suzuki A, Tsukamoto C, Ishimoto M. Genetic analysis of variation in sugar chain composition at the C-22 position of group A saponin in soybean, *Glycine max* ( L. ) Merrill. *Breeding Science*, 2010, 60: 3-8
- [ 29 ] Takada Y, Tayama I, Sayama T, Sasama H, Saruta M, Kikuchi A, Ishimoto M, Tsukamoto C. Genetic analysis of variations in the sugar chain composition at the C-3 position of soybean seed saponins. *Breeding Science*, 2012, 61: 646-652
- [ 30 ] Takada Y, Sasama H, Sayama T, Kikuchi A, Kato S, Ishimoto M, Tsukamoto C. Genetic and chemical analysis of a key biosynthetic step for soyaapogenol A, an aglycone of group A saponins that influence soymilk flavor. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126: 721-731
- [ 31 ] Sayama T, Ono E, Takagi K, Takada Y, Horikawa M, Nakamoto Y, Hirose A, Sasama H, Ohashi M, Hasegawa H, Terakawa T, Kikuchi A, Kato S, Tatsuzaki N, Tsukamoto C, Ishimoto M. The *Sg-1* glycosyltransferase locus regulates structural diversity of triterpenoid saponins of soybean. *Plant Cell*, 2012, 24: 2123-2138
- [ 32 ] Krishnamurthy P, Fujisawa Y, Abe H, Ohashi U, Yamane K, Mukaiyama K, Tsukamoto C, Kaga A, Anai T, Ishimoto M. Identification of mutants in the saponin biosynthetic pathway using a high-density soybean mutant library: an indispensable resource for functional genomics. *San Diego: Conference of International Plant & Animal Genome*, 2017
- [ 33 ] Krishnamurthy P, Tsukamoto C, Singh R J, Lee J D, Kim H S, Yang S H, Chung G. The *Sg-6* saponins, new components in wild soybean ( *Glycine soja* Sieb. and Zucc. ): polymorphism, geographical distribution and inheritance. *Euphytica*, 2014, 198: 413-424
- [ 34 ] Okubo K, Iijima M, Kobayashi Y, Yoshikoshi M, Uchida T, Kudou S. Components responsible for the undesirable taste of soybean seeds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1992, 56: 99-103
- [ 35 ] Takahashi Y, Li X H, Tsukamoto C, Wang K J. Allelic differentiation at the *Sg-1* locus for the terminal sugar of the C-22 position of group A saponin in wild soybean ( *Glycine soja* Sieb. and Zucc. ). *Molecular Breeding*, 2018, 38: 93
- [ 36 ] 赵团结, 盖钧镒. 栽培大豆起源与演化研究进展. *中国农业科学*, 2004, 37 ( 7 ): 954-962  
Zhao T J, Gai J Y. The origin and evolution of cultivated soybean [ *Glycine max* ( L. ) Merr. ]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37 ( 7 ): 954-962
- [ 37 ] 王金陵, 孟庆喜, 祝其昌. 中国南北地区野生大豆光照生态类型分析. *遗传学通讯*, 1973 ( 3 ): 1-8  
Wang J L, Meng Q X, Zhu Q C. Study on photoperiodic response of wild soybean originating from different locations of China. *Genetics Communication*, 1973 ( 3 ): 1-8
- [ 38 ] Singh R J, Nelson R L. The utilization of soybean wild relatives: how can it be effective? *Beijing: The Abstracts of Proceedings of the Eight World Soybean Research Conference*, 2009
- [ 39 ] Krishnamurthy P, Lee C M, Tsukamoto C, Takahashi Y, Singh R J, Lee J D, Chung G. Evaluation of genetic structure of Korean wild soybean ( *Glycine soja* ) based on saponin allele polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2014, 61: 1121-113
- [ 40 ] 王克晶, 李向华. 中国野生大豆遗传资源搜集基本策略与方法. *植物遗传资源学报*, 2012, 13 ( 3 ): 325-334  
Wang K J, Li X H. Fundamental strategies and methods for collection of wild soybean germplasm resources in China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13 ( 3 ): 325-334