



大豆花色基因研究进展

肖红艳^{1,2}, 丁孝羊², 韩德复¹, 张春宝²

(1. 长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130031; 2. 吉林省农业科学院 大豆研究所, 吉林 长春 130033)

摘要: 花色是大豆最基本和重要的生物学指标之一,也是遗传育种中使用率较高的表型性状,其对保持大豆的遗传多样性具有重要的生物学意义。目前,在大豆中已发现 W_1 、 W_2 、 W_3 、 W_4 、 W_m 和 W_p 等多个调控花色的基因位点,但相关调控机制的研究还不够完善。本文对大豆花色基因研究现状进行了综述,并探讨了其应用前景,以期为大豆花色基因分子机理的深入解析及品种遗传改良提供参考。

关键词: 大豆; 花色; 基因克隆; 分子机制

Research Progress on Flower Color Genes in Soybean

XIAO Hongyan^{1,2}, DING Xiaoyang², HAN Defu¹, ZHANG Chunbao²

(1. School of Life Sciences, Changchun Normal University, Changchun 130031, China; 2. Soybean Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Flower color is one of the most basic and important biological indicators of soybean, and is also a phenotypic trait with high utilization rate in genetic breeding. It has important biological significance in maintaining genetic diversity of soybean. At present, several gene loci regulating flower color have been found in soybean, such as W_1 , W_2 , W_3 , W_4 , W_m and W_p . Meanwhile, gene cloning and functional identification have been completed, the related molecular regulation mechanism has also been preliminarily analyzed. This paper reviewed the current research progress of soybean flower color genes and discussed these application prospects, in order to provide a reference for further analysis of the molecular mechanism of flower color genes and their application in genetic improvement of soybean varieties.

Keywords: soybean; flower color; gene cloning; molecular mechanism

植物花色起源于传粉者亿万年的长期选择,是植物进化史上最具有适应意义的表型,不仅可以引导昆虫取食、授粉,增加结实率,也可以维持花朵的能量平衡,保护花器官免受伤害,具有重要的生物学意义^[1]。植物开花主要是为了传播花粉并繁殖后代,是植物生长发育过程的重要环节,决定高等植物的繁殖和遗传能力,也可增加农作物产量并提升品质^[2]。植物的花往往呈现出不同的颜色,这与植物自身内部的天然色素有关。不同植物合成有机色素分子的能力各有差异,因此表现出不同的花色。色素作为植物的次级代谢产物,广泛分布在植物花朵、叶片和果实等组织的细胞中。

植物色素包括脂溶性色素与水溶性色素两类。脂溶性色素主要为类胡萝卜素和叶绿素。白新祥^[3]发现菊花(*Chrysanthemum morifolium*)黄花品种的花色素主要源自栅栏组织中的类胡萝卜素;Wang等^[4]对桂花(*Osmanthus fragrans*)不同花色花瓣中类胡萝卜素成分的分析发现,由于多种基因对类胡萝卜素积累的影响,而产生了不同花色的桂花品种。Ohmiya^[5]也通过综合分析发现,花瓣呈现绿色的菊花品种,都源于其细胞中所含的大量叶绿素。

水溶性色素主要为花青素,在其合成途径中受数个基因调控,其中 CHS 和 F3H 都是参与合成花青素的重要酶类^[6]。Fukusaki 等^[7]利用 RNA 干扰技术沉默矮牵牛(*Petunia hybrida*) CHS 基因的 mRNA 编码区,矮牵牛的花色由蓝色变为白色。Wang 等^[8]将矮牵牛 *chsA* 基因导入烟草(*Nicotiana tabacum*),也可使其花色由紫变白。Hanumappa 等^[8]将通泉草(*Mazus japonicus*)中的 *MjCHS* 基因导入到矮牵牛中调控矮牵牛花色,花瓣由深紫色变为浅紫色。李霞等^[9]分析发现,*HoF3H* 基因的表达量决定了风信子(*Hyacinthus orientalis*)花青素的积累量,导致风信子花色形成差异。DFR 同样是花青素生物合成途径中的重要酶,决定花色素的形成^[6]。陈旦旦等^[10]在不同品种的绣球花(*Hydrangea macrophylla*)中发现,*HmDFR* 基因的表达量对不同品种绣球花的花色形成具有重要调控作用。另外,大多数花青素的合成通过 3 类转录因子 MYB-bHLH-WD40 (MBW 复合物)调节,而 MBW 复合物中的靶基因又多由 MYB 蛋白确定^[11]。Yin 等^[12]对百合(*Lilium brownii*) MYB 转录因子进行鉴定时发现,当沉默 *LvMYB5* 基因,其花色由红色变为白色,明确了该基因可促进

收稿日期:2022-12-06

基金项目:吉林省农业科技创新工程重大项目(CXGC2021ZD002);国家大豆产业技术体系建设专项(CARS-04)。

第一作者:肖红艳(1998—),女,硕士研究生,主要从事大豆杂种优势利用研究。E-mail:xyxhy0916@163.com。

通讯作者:张春宝(1980—),男,博士,研究员,主要从事大豆杂种优势利用研究。E-mail:cbzhang@cjaas.com;

韩德复(1965—),男,博士,教授,主要从事植物生理生态研究。E-mail:handefu@ccsfu.edu.cn。

花青素的合成并调控百合花色。洪燕红等^[13]发现, *FaMYB6* 和 *FaMYB90* 的表达量与花色苷含量呈正相关, 而花色苷积累引起草莓 (*Fragaria × ananassa*) 花瓣颜色变红。

大豆 (*Glycine max*) 是豆科属的一年生草本植物, 是我国重要的粮油饲兼用作物^[14]。大豆为自花授粉植物, 花色主要分为紫色和白色, 其突变花色又可分为蓝色、蓝紫色、淡紫色、粉色和洋红色等^[15]。育种家通常利用紫花和白花的显/隐性关系, 选择紫花材料作父本, 白花材料为母本进行杂交, 根据 F_1 代植株是否为紫花, 判断杂交是否成功。大豆虽为自交作物, 但也存在一定的异交率。Jeffery 等^[16]将紫花和白花大豆亲本间隔 0.9 m 种植, 统计发现有 56 株后代无天然异交现象, 其余 111 株均出现了不同程度的天然异交现象, 其天然异花授粉率约为 0.65% ~ 6.32%。Robacker 等^[17]研究表明, 植物花色是决定蜜蜂传粉行为的决定因素之一。赵丽梅等^[18]发现大豆花色的深浅可影响大豆花对蜜蜂的吸引力, 鲜艳的花色可以吸引更多的昆虫传粉。Lin 等^[19]发现, 大豆花期采集的蜂蜜普遍含大豆花粉。此外, Lucas 等^[20]发现, 利用蜜蜂为大豆授粉, 可以将大豆产量提高 20% 以上。大豆花色除了影响昆虫传粉外, 还影响鸟类对大豆的危害程度。降学峰等^[21]研究发现, 白花大豆品种的鸟类危害率为 60.3%, 危害程度为 0 ~ 43.3%; 紫花大豆品种的鸟类危害率为 42.4%, 危害程度为 0 ~

14.8%, 紫花品种受鸟类的危害程度显著轻于白花品种。随着大豆不育系的创制成功及虫媒传粉在杂交大豆繁/制种上的成功应用, 关于大豆花色对昆虫传粉效率影响的关注度不断提高。鉴于大豆花色性状在保持遗传多样性水平, 引导昆虫传粉, 增加结实率, 增加产量, 保护花器官免受伤害等方面发挥的重要作用, 可通过探究大豆花色形成基础及其调控机制, 利用分子设计育种等手段创制高异交率材料, 提升对传粉昆虫的吸引力, 加快大豆杂种优势利用步伐。本文针对大豆花色基因研究现状及其分子调控机制进行综述, 探讨大豆花色基因的应用前景, 为今后深入解析大豆花色相关基因的分子机理, 进一步促进其在实际生产中的应用提供参考。

1 大豆花色基因的遗传调控位点

近年来, 随着分子生物学技术的不断发展, 已有多大大豆花色基因被定位或克隆, 如 W_1 、 W_2 、 W_3 、 W_4 、 W_m 和 W_p 等。它们大多在花青素生物合成途径中起重要作用, 直接或间接调控大豆花色。其中 W_1 位点有 6 个等位突变, W_2 有 3 个等位突变, W_3 有 1 个等位突变, W_4 有 7 个等位突变, W_m 有 2 个等位突变, W_p 有 2 个等位突变(表 1)。这些突变多为自发突变, 只有 w_1-lp_2 、*GmPH4*、*GmPH5* 和 w_4-lp 是诱发突变, 由甲基磺酸乙酯(ethylmethylsulfone, EMS) 诱发处理而来。

表 1 调控大豆花色基因

Table 1 Regulatory genes of flower color in soybean

基因位点 Gene locus	调控合成酶类 Enzymes synthesized by regulating	突变株系基因型 Mutant strain genotype	突变类型 Mutation type	花色 Flower color	所在染色体 Chromosome
W_1	类黄酮 3'5'-羟化酶	w_1	自发突变	白色	13
		w_1-lp	自发突变	浅紫色	
		w_1-lp2	EMS 诱变	浅紫色	
		w_1-m	自发突变	紫白色	
		w_1-s3	自发突变	粉白色	
		<i>GmW1</i>	自发突变	紫花	
W_2	MYB 转录因子	w_2	自发突变	紫蓝色	14
		<i>GmPH4</i> 、 <i>GmPH5</i>	EMS 诱变	紫蓝色	
		<i>GmMYB-G20-1</i>	自发突变	紫蓝色	
W_3	二氢黄酮醇 4-还原酶-1	w_3	自发突变	近白色	14
W_4	二氢黄酮醇 4-还原酶-2	w_4	自发突变	近白色	12
		w_4-m	自发突变	杂色嵌合体	
		w_4-dp	自发突变	淡紫色	
		w_4-p	自发突变	淡紫色	
		w_4-lp	EMS 诱变	浅紫色	
		w_4-nw	自发突变	近白色	
		w_4-s1	自发突变	粉白色	
W_m	黄酮醇合酶	w_m	自发突变	洋红色	13
		<i>gmfls1</i>	自发突变	洋红色	
W_p	类黄酮 3'-羟化酶	w_p	自发突变	粉色	2
		w_p-m	自发突变	粉色或紫色	

2 大豆花色基因研究

2.1 W_1 基因的克隆与鉴定

W_1 基因最早由 Palmer 等发现^[15]。邱红梅等^[22]和 Chen 等^[23]利用简单序列重复 (Single Sequence Repeats, SSR) 分子标记在开白花的 F_2 代分离群体中定位了 W_1 基因,其调控大豆开紫花,而隐性等位基因 w_1 调控大豆开白花。Zabala 等^[24]通过分析大豆材料 Williams 82 及其近等位基因系,发现大豆开白花是由于编码合成 F3'5'H 的基因产生 65 bp 碱基的插入所引起的。显性等位基因 W_1 分别在 3'端和 5'端发生羟基化并编码合成 F3'5'H。Buzzell 等^[25]和 Yang 等^[26]研究发现,编码 F3'5'H 的 W_1 的遗传位点位于 13 号染色体上的 SSR 标记 Satt348 和 Satt160 之间,且紫花花瓣中花青素含量相较于白花显著增加。因此,大豆花色变异在一定程度上阐明了花青素的生物合成和代谢。Takahashi 等^[27]则在野生大豆中发现了隐性等位基因 w_1 调控大豆开浅紫色花并调控编码 F3'5'H。Yan 等^[28]利用酶切扩增多态性序列 (Derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequences, dCAPS) 标记和 InDel 标记在野生大豆编码 F3'5'H 的 W_1 基因中定位了一个新的隐性等位基因 w_1-lp_2 ,该基因调控大豆开淡紫色花。Sundaramoorthy 等^[29]在开粉白色花的大豆中发现 W_1 基因上发生了基因突变,通过多重序列分析,最终将突变的 SNP 位点定位到 F3'5'H 基因的第三个外显子上并确定了突变基因,该突变基因被命名为 w_1-s_3 。近期,Chen 等^[30]研究发现, W_1 可作为报告基因,通过过表达 W_1 基因使白花转变成可稳定遗传的紫花,幼茎色也由绿色变成紫色,因此可通过花色和幼茎色快速辨别转基因植株。

2.2 W_2 基因的克隆与鉴定

W_2 基因主要调控植物转录因子 R2R3-MYB 的合成^[31-35],R2R3-MYB 转录因子则调控花青素的合成基因的转录。有研究表明它位于 14 号染色体上的 SSR 标记 Satt009 和 Satt070 之间^[36]。Takahashi 等^[37]和 Sundaramoorthy 等^[38]使用 SSR 和酶切扩增多态性序列 (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences, CAPS) 分子标记对 EMS 诱变产生的紫蓝色花大豆突变系的液泡色素分析发现,紫蓝色花的产生是以 W_1 基因为背景,由 W_2 基因调控的。 W_2 调控基因的突变并没有改变大豆中的类黄酮含量,而是提高了花瓣内液泡的 pH 值^[39]。Takahashi 和 Sundaramoorthy 等^[40-41]还在开紫蓝色花的大豆及其突变系中鉴定出了一个编码 R2R3-MYB 转录因子

的候选基因 *GmMYB-G20-1*,发现该基因沉默会导致花色突变,并在 R2R3-MYB 结构域中发生碱基替换产生终止密码子,是 W_2 的等位基因。

2.3 W_3 和 W_4 基因的克隆与鉴定

W_3 和 W_4 基因分别编码二氢黄酮醇-4-还原酶-1 (dihydroflavonol 4-reductase-1, DFR1) 和二氢黄酮醇-4-还原酶-2 (dihydroflavonol 4-reductase-2, DFR2)。已知编码 DFR1 的 W_3 基因位于 14 号染色体上的 Sat_287 和 Sat_467 之间^[42]。有研究表明 W_3w_4 基因型大豆开淡紫色花,而 w_3w_4 基因型大豆则开白花,设计分子标记并进行 qRT-PCR 分析发现, w_3 在 w_4 基因背景下影响 DFR1 的表达量^[43],但目前关于 W_3 基因的研究还较少。而编码 DFR2 的 W_4 基因则位于 12 号染色体上的 Satt386 和 Sct_137 之间^[35]。在 DFR2 的第二个内含子突变产生 1 个隐性等位基因,命名为 w_4-m 。已知紫花大豆的下胚轴为紫色,白花大豆的下胚轴为绿色^[44]。Kim 等^[45]发现在 W_1 背景下 W_4 基因突变成 w_4 ,DFR2 的表达水平下降, w_4 调控的大豆花青素含量降低,导致大豆开白花,下胚轴由紫色突变为绿色。由隐性等位基因 w_1 和 w_4 共同调控的大豆近等位基因系中黄酮醇和二氢黄酮醇的含量与由隐性等位基因 w_4 调控的大豆基本相同,证明 W_1 和 W_4 共同影响花青素的生物合成。Xu 等^[46]和 Yan 等^[47]发现隐性等位基因 w_4 调控的大豆中也产生了中间稳定的逆转体,导致大豆开不同颜色的花,花色从紫花到近白色花不等,如 w_4-lp 突变系开浅紫色花, w_4-p 突变系开灰白色花, w_4-dp 突变系开花有紫喉, w_4-m 突变系开杂色花。Park 等^[48]也对野生大豆的花色突变系通过 CAPS 分析发现该突变系开粉白色花,该突变基因定位在 W_4 位点上,命名为 w_4-s_1 。

2.4 W_m 基因的克隆与鉴定

已知大豆开洋红色花是 W_m 基因调控的,是以 W_1 基因为背景发生的单碱基突变,位于 13 号染色体上^[15],且该突变使一个截断多肽缺乏双加氧酶结构域^[49]。Buzzell 等^[50]认为 W_4 和 W_m 不是等位基因,且在各自的等位基因对中无上位性,并认为 w_m 与 W_1 基因有关。由于 W_m 基因的调控,花和叶中的黄酮醇含量降低,影响大豆植株的光合速率和产量。隐性等位基因 w_m 调控黄酮醇的表达,抑制花青素和黄酮醇之间的色素积累,导致大豆开洋红色花。已知 W_1 基因调控大豆开紫花并合成花青素;而 W_m 基因调控大豆开洋红色花则可能是黄酮醇类色素含量降低,由此可知 W_m 基因编码类黄酮合酶。

同时观察到开洋红色花的大豆在接近成熟时,叶片呈紫红色。Takahashi 等^[49]先提取紫花大豆和洋红色花大豆的 cDNA,运用 SSR 和 CAPS 标记结合 qRT-PCR 分析,发现大豆中 *gmfls1* 基因发生了单碱基突变导致开洋红色花,此外还发现其叶片和花瓣中的转录组丰度低于开紫花的大豆。

2.5 W_p 基因的克隆与鉴定

大豆粉红色花由 W_p 基因上的 1 个隐性等位基因控制^[15]。Stephens 和 Nickell^[51]的研究表明 W_p 基因编码 F3'H, 位于 2 号染色体上的 SL007 和 Satt216 之间,其隐性等位基因 w_p 编码 F3H1, 该基因降低了花青素、黄酮醇苷和二氢黄酮醇含量,使大豆开粉红色花。Iwashina 等^[52]使用开紫花的亲本及其开白花的近等位基因系,利用高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)分析花瓣中花青素的种类与含量,发现与紫色花瓣相比,粉红色花瓣中的花青素含量降低至 72%。Hegstad 等^[53]则通过对能稳定表达花色的大豆杂交发现 w_p -*m* 基因若表达则导致大豆花呈粉色或紫色。该突变体开粉色花, w_p -*m* 突变体开紫色花,这是二者最明显的区别。Zabala 和 Vodkin^[54]向 w_p 基因中插入 1 个缺少亚末端重复序列的转座子,并携带从亲本基因组中获得的 4 个基因片段,转座子通过捕获非连续基因组序列的重排和融合来创造新的基因。而转座子插入携带的基因片段若异常表达则表明可能以某种方式介导了合成产物的改变。同时,转录异常可能会产生 RNA 干扰现象,导致基因组其他部位相应的同源转录本降解。由此可知, w_p 基因发生突变,可能会有新产物生成。

2.6 影响大豆花色的其它基因

大豆在自然条件下大多开白花或紫花,花色较为单一,自然条件下的黄花大豆鲜有报道。Gao 等^[55]通过使用 γ -射线照射大豆材料 Williams 82 获得了 4 株黄花突变体,分别命名为 *gmicc1*、*gmicc2*、*gmicc3* 和 *gmicc4*,并通过图位克隆技术获得了候选基因 *GmCCD4*。该基因编码类胡萝卜素裂解双加氧酶,使得 β -类胡萝卜素裂解为 β -紫罗兰酮,该研究解析了大豆中 *GmCCD4* 基因调控类胡萝卜素导致大豆呈现黄花的分子机制。Gao 等^[56]发现栽培大豆 P3 和 Wm82 的 F_1 代杂交群体的花色与栽培大豆 P3 的紫花相比,花色更重,呈蓝紫色。深入研究后发现该性状由 W_2 位点上的 MYB 转录因子调控,该基因被命名为 *GmMYBA2*。该基因的过表达不仅改变了大豆花色,其茎色和种皮色也开始呈现出紫

色。这表明该基因位于 2 号染色体的 45.32 Mb 处,与 W_p 基因位于同一连锁群。Takahashi 等^[57]将由 EMS 诱变产生的深紫色花的母本和紫色花的父本杂交得到 F_1 代,自交得到 F_2 代,再将 F_2 代中紫花和深紫色花的单株大豆杂交得到 F_3 代杂交群体。进行 SSR 分子标记筛选,结合连锁作图定位基因,并对花瓣液泡组分进行 HPLC 分析,发现了位于 18 号染色体的 SSR 标记 Satt612 和 Sct_199 之间的 W_d 基因。

3 展望

大豆所呈现的不同花色对于大豆遗传育种具有重要作用。随着不同花色基因的鉴定及显隐性关系的明确,育种家在今后进行有性杂交时,可在当代利用花色基因分子标记检测杂交种子中所含基因型,进而快速判断是否为伪杂种,避免传统育种需通过开花期观察花色所耗费的人力和时间;同时还可检测一些花色近似,杂种 F_1 花色无法通过肉眼有效分辨的材料。另外,大豆花色基因还可作为转基因选择标记应用于大豆遗传转化中。Chen 等^[30]发现,在白花绿茎野生型大豆材料 Wm82 背景下,所有 W_i 过表达植株的花和茎均为紫色; w_i 突变体在紫花紫茎大豆材料 ZH42 的背景下,花色变为白色,茎色变为绿色。因此,*GmW_i* 基因可作为大豆转化的可见颜色报告基因,通过观察其幼苗的茎色可快速识别出转基因植株,无需等待开花,相对缩短试验周期。由于花色的差异会影响蜜蜂等虫媒为大豆传粉的效率^[17],随着大豆杂种优势利用研究和应用的不断深入^[58],若能通过分子标记辅助选育或分子设计育种等手段,创制特定花色的高异交率材料,提升不育系对传粉昆虫的吸引力,提高其结实率,将有效降低杂交大豆制种成本,加速杂交大豆产业化进程。

前期研究虽已鉴定了多个影响大豆花色的基因,但这些基因如何调控大豆花色、其具体的生物合成途径尚未完全明确。此外,这些基因也无法解释一些特殊花色,说明在大豆中可能还存在其他花色调控基因。目前,对大豆花色和分子机制的研究仍较少,研究思路仍需参考其他植物的相关研究。随着现代分子生物学技术的不断发展,利用基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多组学联合分析,将为大豆花色基因调控网络的绘制及分子机制的深入解析提供理论指导,也将为今后利用花色性状进行大豆品种的遗传改良提供理论支撑。

参考文献

- [1] TRUNSCHKE J, LUNAU K, PYKE G H, et al. Flower color evolution and the evidence of pollinator-mediated selection [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 617851.
- [2] HE R Q, LI X M, ZHONG M, et al. A photo-responsive F-box protein *FOF₂* regulates floral initiation by promoting *FLC* expression in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2017, 91(5): 788-801.
- [3] 白新祥. 菊花花色形成的表型分析 [D]. 北京: 北京林业大学, 2007. (BAI X J. Phenotype analysis of flower coloration of *Chrysanthemum × morifolium* Ramat. [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2007.)
- [4] WANG Y G, ZHANG C, DONG B, et al. Carotenoid accumulation and its contribution to flower coloration of *Osmanthus fragrans* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1499.
- [5] OHMIYA A. Molecular mechanisms underlying the diverse array of petal colors in chrysanthemum flowers [J]. *Breeding Science*, 2018, 68(1): 119-127.
- [6] GONZALEZ A, ZHAO M Z, LEAVITT J M, et al. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG₁/bHLH/Myb transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings [J]. *The Plant Journal*, 2008, 53(5): 814-827.
- [7] FUKUSAKI E, KAWASAKI K, KAJIYAMA S, et al. Flower color modulations of *Torenia hybrida* by downregulation of chalcone synthase genes with RNA interference [J]. *Journal of Biotechnology*, 2004, 111(3): 229-240.
- [8] WANG C K, CHEN P, WANG H M, et al. Cosuppression of tobacco chalcone synthase using petunia chalcone synthase construct results in white flowers [J]. *Botanical Studies*, 2006, 47(1): 71-82.
- [9] 李霞, 吴钰滢, 封晔. 风信子不同花色品种花青素苷含量及相关基因表达分析 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18(14): 4562-4571. (LI X, WU Y Y, FENG Y. Analysis of anthocyanin content and related gene expression in different varieties of *Hyacinthus orientalis* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(14): 4562-4571.)
- [10] 陈旦旦, 李萌, 彭继庆, 等. *HmDFR* 基因表达与绣球花花色的关联分析 [J]. *植物生理学报*, 2020, 56(7): 1641-1649. (CHEN D D, LI M, PENG J Q, et al. Association between *HmDFR* gene expression and flower color of *Hydrangea macrophylla* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(7): 1641-1649.)
- [11] NAING A H and KIM C K. Roles of R2R3-MYB transcription factors in transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in horticultural plants [J]. *Plant Molecular Biology*, 2018, 98(1-2): 1-18.
- [12] YIN X J, ZHANG Y B, ZHANG L, et al. Regulation of MYB transcription factors of anthocyanin synthesis in lily flowers [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 761668.
- [13] 洪燕红, 叶清华, 李泽坤, 等. 红花草莓‘莓红’花瓣花色苷积累及其 MYB 基因的表达分析 [J]. *园艺学报*, 2021, 48(8): 1470-1484. (HONG Y H, YE Q H, LI Z K, et al. Accumulation of anthocyanins in red-flowered strawberry ‘Meihong’ petals and expression analysis of MYB gene [J]. *Horticultural Plant Journal*, 2021, 48(8): 1470-1484.)
- [14] 曹永强, 王昌陵, 王文斌, 等. 国内外大豆产业、科技现状浅析与我国大豆产业发展思考 [J]. *辽宁农业科学*, 2019, 60(6): 44-48. (CAO Y Q, WANG C L, WANG W B, et al. Wisconsin of domestic and foreign soybean industry, current situation of science and technology and thinking on the development of soybean industry in China [J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2019, 60(6): 44-48.)
- [15] SHIBLES R M, HARPER J E, WILSON R F, et al. Soybeans: Improvement, production and uses [M]. The United States of Wisconsin: American Society of Agronomy, 2004.
- [16] JEFFERYD R, THOMAS C K, CRAIG A A, et al. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions [J]. *Environment Biosafety Research*, 2003, 2(2): 133-138.
- [17] ROBACKER D C, FLOTTUM P K, SAMMATARO D, et al. Effects of climatic and edaphic factors on soybean flowers and on the subsequent attractiveness of the plants to honey bees [J]. *Filed Crops Research*, 1983, 6: 267-278.
- [18] 赵丽梅, 孙寰, 马春森, 等. 大豆昆虫传粉研究初探 [J]. *大豆科学*, 1999, 18(1): 73-76. (ZHAO L M, SUN H, MA C S, et al. Preliminary study on pollination of soybean insects [J]. *Soybean Science*, 1999, 18(1): 73-76.)
- [19] LIN C H, SREELAKSHMI S, EMMA M, et al. Soybean is a common nectar source for honey bees (*Hymenoptera: Apidae*) in a midwestern agricultural landscape [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2022, 115(6): 1846-1851.
- [20] LUCAS A G, LISA A S, DIEGO N J, et al. Time to integrate pollinator science into soybean production [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2021, 36(7): 573-575.
- [21] 降学峰, 刘学义. 旱地农业区危害大豆的鸟类及保护性预防 [J]. *大豆科学*, 2013, 32(3): 393-396. (JIANG X F, LIU X Y. Birds harm to soybean in dryland agricultural areas and protective prevention [J]. *Soybean Science*, 2013, 32(3): 393-396.)
- [22] 邱红梅, 陈亮, 侯云龙, 等. 大豆种子颜色遗传调控机制研究进展 [J]. *作物学报*, 2021, 47(12): 2299-2313. (QIU H M, CHEN L, HOU Y L, et al. Research progress on genetic regulatory mechanism of seed color in soybean (*Glycine max*) [J]. *The Crop Journal*, 2021, 47(12): 2299-2313.)
- [23] CHEN Y W, NELSON R L. Identification and characterization of a white-flowered wild soybean plant [J]. *Crop Science*, 2004, 44(1): 339-342.
- [24] ZABALA G, VODKIN L O. A rearrangement resulting in small tandem repeats in the F 3'5'H gene of white flower genotypes is associated with the soybean W₁ locus [J]. *Crop Science*, 2007, 47(2): 113-124.
- [25] BUZZELL R I, BUTTERY B R, MACTAVISH D C. Biochemical genetics of black pigmentation of soybean seed [J]. *The Journal of Heredity*, 1987, 78(1): 53-54.
- [26] YANG K, JEONG N, MOON J K, et al. Genetic analysis of genes controlling natural variation of seed coat and flower colors in soybean [J]. *The Journal of Heredity*, 2010, 101(6): 757-768.
- [27] TAKAHASHI R, DUBOUZET J G, MATSUMURA H, et al. A new allele of flower color gene W₁ encoding flavonoid 3'5'

- hydroxylase is responsible for light purple flowers in wild soybean *Glycine soja*[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 155-165.
- [28] YAN F, DI S K, MURAI Y, et al. New allelic variant discovered at soybean flower color locus W_1 encoding flavonoid 3' 5'-hydroxylase[J]. Crop Science, 2016, 56(4): 1506-1513.
- [29] SUNDARAMOORTHY J, PARK G T, JO H, et al. A novel pinkish-white flower color variant is caused by a new allele of flower color gene W_7 in wild soybean (*Glycine soja*) [J]. Agronomy, 2021, 11(5): 1001.
- [30] CHEN L, YUAN S, CAI Y P, et al. See the color, see the seed; GmW_7 as a visual reporter for transgene and genome editing in soybean[J/OL]. The Crop Journal, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.cj.2022.07.004>.
- [31] DE VLAMING P, SCHRAMA W, WIERING H. Genes affecting flower color and pH of flower limb homogenates in *Petunia hybrida* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1983, 66(3-4): 271-278.
- [32] VAN HOUWELINGEN A, SOUER E, SPELT K, et al. Analysis of flower pigmentation mutants generated by random transposon mutagenesis in *Petunia hybrida*[J]. The Plant Journal, 1998, 13(1): 39-50.
- [33] CHUCK G, ROBBINS T, NIJJAR C, et al. Tagging and cloning of a petunia flower color gene with the maize transposable element activator[J]. The Plant Cell, 1993, 5(4): 371-378.
- [34] SPELT C, QUATTROCHIO F, MOL J, et al. ANTHOCYANIN¹ of petunia controls pigment synthesis, vacuolar pH, and seed coat development by genetically distinct mechanisms[J]. The Plant Cell, 2002, 14(9): 2121-2135.
- [35] QUATTROCHIO F, VERWEIJ W, KROON A, et al. PH4 of petunia is an R2R3-MYB protein that activates vacuolar acidification through interactions with basic-helix-loop-helix transcription factors of the anthocyanin pathway[J]. The Plant Cell, 2006, 18(5): 1274-1291.
- [36] LEPINEC L, DEBEAUJON I, ROUTABOUL J M, et al. Genetics and biochemistry of seed flavonoids[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 405-430.
- [37] TAKAHASHI R, BENITEZ E R, OYOO M E, et al. Nonsense mutation of an MYB transcription factor is associated with purple-blue flower color in soybean[J]. The Journal of Heredity, 2011, 102(4): 458-463.
- [38] SUNDARAMOORTHY J, PARK G T, LEE J D, et al. A P_{3A} -type ATPase and an R2R3-MYB transcription factor are involved in vacuolar acidification and flower coloration in soybean[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 580085.
- [39] TAKAHASHI R, MATSUMURA H, OYOO M E, et al. Genetic and linkage analysis of purple-blue flower in soybean[J]. The Journal of Heredity, 2008, 99(6): 593-597.
- [40] TAKAHASHI R, YAMAGISHI N, YOSHIKAWA N. A MYB transcription factor controls flower color in soybean [J]. The Journal of Heredity, 2013, 104(1): 149-153.
- [41] SUNDARAMOORTHY J, PARK G T, LEE J D, et al. Genetic and molecular regulation of flower pigmentation in soybean[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2015, 58(4): 555-562.
- [42] FASOULA A D, STEPHENS A P, NICKELL D C, et al. Cosegregation of purple-throat flower color with dihydroflavonol reductase polymorphism in soybean[J]. Crop Science, 1995, 35(4): 1028-1031.
- [43] PARK G T, SUNDARAMOORTHY J, LEE J D, et al. Elucidation of molecular identity of the W_3 locus and its implication in determination of flower colors in soybean[J]. Plos One, 2015, 10(11): e0142643.
- [44] XU M, PALMER R G. Genetic analysis and molecular mapping of a pale flower allele at the W_4 locus in soybean[J]. NRC Research Press, 2005, 48(2): 334-340.
- [45] KIM J K, BAE D N, PARK S K, et al. Molecular genetic analysis of a novel recessive white flower gene in wild soybean[J]. Crop Science, 2017, 57(6): 3027-3034.
- [46] XU M, BRAR H K, GROSIC S, et al. Excision of an active CACTA-like transposable element from DFR2 causes variegated flowers in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) [J]. Genetics, 2010, 184(1): 53-63.
- [47] YAN F, DI S K, FELIPE R R, et al. Allelic variation of soybean flower color gene W_4 encoding dihydroflavonol 4-reductase 2[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14: 58.
- [48] PARK G T, SUNDARAMOORTHY J, LEE S, et al. Color variation in a novel *Glycine soja* mutant W_4 - S_7 with pinkish-white flowers is controlled by a single recessive allele at the W_4 Locus [J]. Crop Science, 2017, 57(6): 3112-3121.
- [49] TAKAHASHI R, GITHIRI M S, HATAYAMA K, et al. A single-base deletion in soybean flavonol synthase gene is associated with magenta flower color[J]. Plant Molecular Biology. 2007, 63(1): 125-135.
- [50] BUZZELL R I, BUTTERY B R, BERNARD R L. Inheritance and linkage of magenta flower gene in soybeans[J]. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 1977, 19(4): 749-751.
- [51] STEPHENS A P, NICKELL D C. Inheritance of pink flower color in soybean[J]. Crop Science, 1992, 32(5): 1131-1132.
- [52] IWASHINA T, OYOOE M, KHAN A N, et al. Analysis of flavonoids in flower petals of soybean flower color variants [J]. Crop Science, 2008, 48(5): 1918-1924.
- [53] HEGSTAD J M, VODKIN L O, NICKELL C D. Genetic and agronomic evaluation of w_p - m in soybean [J]. Crop Science, 2000, 40(2): 346-351.
- [54] ZABALA G and VODKIN L O. The w^p mutation of *Glycine max* carries a gene-fragment-rich transposon of the CACTA superfamily [J]. The Plant Cell, 2005, 17(10): 2619-2632.
- [55] GAO J S, YANG S X, TANG K Q, et al. *GmCCD4* controls carotenoid content in soybeans[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 19(4): 801-813.
- [56] GAO R F, HAN T T, XUN H W, et al. MYB transcription factors *GmMYBA2* and *GmMYBR* function in a feedback loop to control pigmentation of seed coat in soybean[J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(12): 4401-4418.
- [57] TAKAHASHI R, YAN F, DI S K, et al. Genetic and chemical analysis of deep purple flower in soybean [J]. Crop Science, 2017, 57(4): 1893-1898.
- [58] FANG X L, SUN Y Y, LI J H, et al. Male sterility and hybrid breeding in soybean[J]. Molecular Breeding, 2023, 43:47.