



基于 CIELAB 的大豆种皮颜色全基因组关联分析

王存虎, 许 潇, 许锐能, 钟永嘉, 廖 红

(福建农林大学 根系生物学研究中心/资源与环境学院, 福建 福州 350002)

摘 要:为探究基于色差仪的 CIELAB 量化方法在大豆种皮颜色遗传多样性分析中的应用潜力,本研究以 274 份大豆核心种质作为关联群体,基于 CIELAB 方法,利用色差仪进行种皮颜色测定,获得 6 个颜色参数。利用主成分分析,明确表征大豆种皮颜色的最佳参数。在此基础上,通过遗传多样性和全基因组关联分析,挖掘与大豆种皮颜色显著关联的 SNP 位点。主成分分析表明,大豆种皮颜色主要包括黄、绿、黑和其他等 4 个类型,其中黄色占比较大,且黄蓝色度值(b^*)是表征大豆种皮颜色的最佳参数。遗传多样性分析表明,黄色相关性状在品种间表现出丰富的遗传变异,变异系数为 -35.53% ~ 48.19%。对 172 份黄色种皮大豆全基因组关联分析,共检测到 462 个与 b^* 显著相关的 SNP 位点,包括 287 个新位点和 175 个与已报道的 I 和 $L1$ 位点重合的位点。综上,利用色差仪精准量化种皮颜色是一种能够客观评估大豆种皮颜色的新方法。利用该方法,检测到一些与大豆种皮颜色显著关联的新 SNP 位点,有助于进一步解析调控大豆种皮颜色的遗传机制。

关键词:CIELAB 色彩空间;大豆;种皮颜色;全基因组关联分析

Genome-Wide Association Study of Soybean Seed Coat Color Based on CIELAB

WANG Cunhu, XU Xiao, XU Ruineng, ZHONG Yongjia, LIAO Hong

(Root Biology Center/College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Seed coat color is a crucial phenotypic feature in plants, whose accurate quantification is vital for variety classification, genetic analysis and agricultural applications. Using 274 soybean core germplasm as an association population, seed coat color was measured with a colorimeter based on CIELAB to obtain six color parameters. Principal component analysis was used to identify the best parameters for characterizing soybean seed coat color. Based on this, genetic diversity and genome-wide association analysis were conducted to identify SNP loci significantly associated with soybean seed coat color. Soybean seed coat color was classified into four groups, including yellow, green, black, and other group. Principal component analysis indicated that yellow was the predominant color, and the yellow-blue value (b^*) was the best parameter for characterizing soybean seed coat color. Genetic diversity analysis showed that yellow-related traits exhibited rich genetic variations among genotypes, with a coefficient of variation ranging from -35.53% to 48.19%. Genome-wide association analysis using 172 soybean genotypes with yellow seed coat color detected a total of 462 SNP loci significantly associated with the b^* parameter, including 287 novel loci and 175 loci that coincide with the previously reported I and $L1$ loci known to control soybean seed coat color. Precise quantification of seed coat color using the colorimeter is a new method that could objectively verify soybean seed coat color. Using this method, several new SNP loci significantly associated with soybean seed coat color were detected, which would help to further elucidate the genetic mechanisms regulating soybean seed coat color.

Keywords: CIELAB color space; soybean; seed coat color; genome-wide association analysis

植物表型是关联遗传学、生态学和农业科学的桥梁,表型的精准鉴定日益受到重视^[1-3]。颜色特征是植物重要的外观表型性状,也是作物品种特性及分类分级的重要标准和依据^[4-5]。植物颜色表型的精准鉴定,对品种分类、遗传分析和农业实践具有重要意义。植物种皮颜色多样性高,不仅颜色类型不同,同一颜色深浅也不同^[6]。传统的颜色测量手段不够精准,鉴定的指标在种质资源群体中遗传力较低,难以对种皮颜色这类复杂性状进行遗传解析^[7]。因此,建立一种精准定量种皮颜色的方法,

对研究植物种皮颜色遗传特性具有重要意义。目前,植物颜色特征大多采用图像分析、定性描述或借助比色卡进行测量^[8]。CIELAB 色彩空间是 1976 年国际照明委员会(Commission Internationale de l'Éclairage, 法语简称为 CIE)定义的一种色彩空间^[9-10]。CIELAB 色彩空间被广泛用于检测颜色的细微差异,在食品化学工业应用较多,包括对水果^[11-13]、肉类^[14-15]、面粉^[16-17]、食用油^[18]等进行颜色检测。在农业领域,CIELAB 色彩空间主要运用于植物叶片色泽和品质评价。例如,代祥等^[19]利用

收稿日期:2024-07-11

基金项目:国家重点研发计划项目(2021YFF1000500)。

第一作者:王存虎(1993—),男,博士研究生,主要从事大豆养分高效遗传改良研究。E-mail:wcunhu@163.com。

通讯作者:廖红(1969—),女,博士,教授,主要从事作物根系形态构型与养分高效遗传改良研究。E-mail:hliao@fafu.edu.cn。

色差仪对茶叶叶色相关指标进行量化研究,发现群体之间,茶叶叶色主要存在明亮度和鲜艳度的差异,红绿色度值差异较大。蔡锦玲等^[20]发现番茄表皮的色光值与番茄红素含量存在显著的相关性,并构建了回归方程快速估测番茄果实中番茄红素含量。

大豆(*Glycine max*)作为全球重要的粮油作物,其种皮颜色的多样性不仅赋予了大豆独特的外观特征,而且与遗传特性、生态适应性以及营养价值密切相关^[21-22]。目前,大豆种皮颜色的测定主要依赖于肉眼观察和可见光光谱分析法^[23],这些方法在计算上通常较为复杂、准确性不高,阻碍了对大豆种皮色调调控机制的深入研究。本研究基于 CIELAB 色彩空间,建立一个能精准量化大豆种皮颜色的新方法。在此基础上,利用核心种质开展大豆种皮颜色相关性状全基因组关联分析,检测大豆种皮颜色的遗传位点,为解析大豆种皮颜色的遗传机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料和种植方法

利用 274 份种皮颜色各异的大豆核心种质为材料,其中黄色 172 份、黑色 49 份、绿色 28 份及其他颜色 25 份,该群体源于实验室前期收集。

供试材料于 2022 年 4—8 月种植在福建省农科院南平分院试验站(118. 17°E, 26. 65°N)。试验采用随机区组设计,单独起垄种植,小区面积 1 m²,行数 3 行,行长 1 m,株行距为 0. 20 m × 0. 30 m,每份种质材料 3 个重复。大豆种植期间田间管理(包括施肥、病虫害防控等)同常规生产,种子完全成熟后进行大豆种皮颜色表型鉴定。

1.2 CIELAB 精准定量大豆种皮颜色的方法和颜色参数介绍

采用一种低成本光谱方法(手提式多功能色差仪 NR60CP)对大豆种皮颜色进行量化分析。测定条件:可选光源 D₆₅,视场选择 8°视角,测定孔径 Φ 4 mm,光源 LED 蓝光激发,仪器误差 $\Delta E^*ab \leq 0.5$ 。测定步骤:首先对仪器进行黑白板校正;再通过比较测量物体表面或者透射光线与标准光源的差异,计算物体表面色差(图 1A);进而进行样品测定。

利用白色 A4 纸作为对照,每份材料平行测定 3 次,取平均值为测量值。

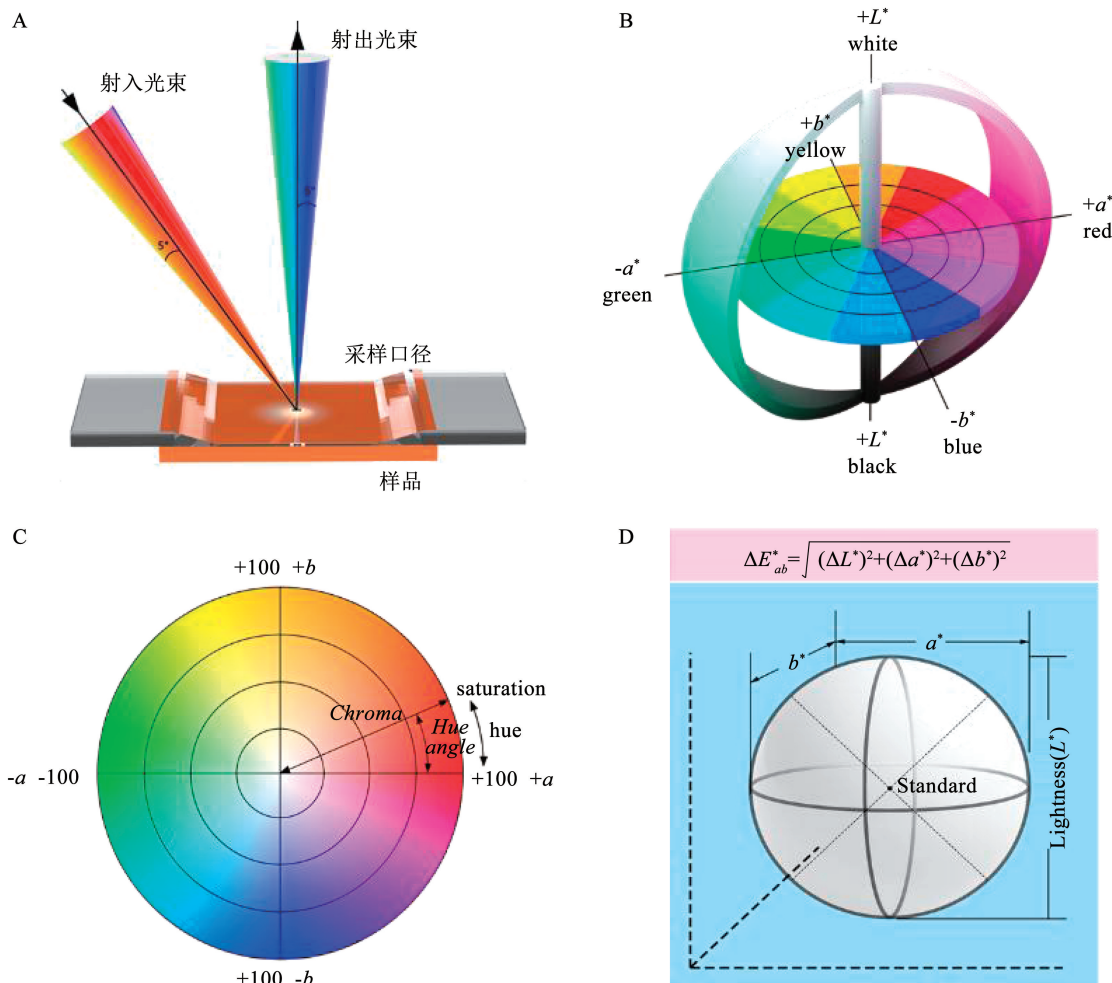
基于独立于设备的 CIELAB 颜色模型(图 1B), CIELAB 色彩空间测量的指标主要包括: L^* (Lightness) 亮度或明度,表示颜色的明暗程度,范围从 - 100 (纯黑) 到 100 (纯白); a^* (Redness/Greenness) 红绿轴,表示颜色在红色和绿色之间的相对位置。正值表示红色到黄色,负值表示绿色到蓝色; b^* (Yellowness/Blueness) 黄蓝轴,表示颜色在黄色和蓝色之间的相对位置,正值表示黄色到绿色,负值表示蓝色到紫色。Chroma 饱和度和 Hue angle 色调角分别用于定量和定性描述混合色彩。这些参数共同构成了 CIELAB 色彩空间中的一个点,可以用来精确描述和比较颜色^[9-10]。计算颜色之间的差异,用 ΔE^*ab 表示,作为颜色差异的量化指标,用于衡量两个颜色样本之间的视觉差异。 ΔE^*ab 值越小,两种颜色的视觉差异越小。该方法消除了视觉颜色规格的主观性,定量描述了大豆种皮颜色,准确量化品种间差异,为全基因组关联分析提供准确且连续的表型数据。

1.3 大豆种皮颜色的全基因组关联分析

Illumina 测序数据从国家生物技术信息中心数据库下载,登录号为 PRJNA633739。具体 SNP 检测流程参考本中心前期相关工作^[24]。为控制背景变异,消除假阳性标记,利用亲缘关系矩阵和种群结构,采用 FaST-LMM v2. 07^[25] 执行线性混合模型(LMM)。亲缘关系矩阵及群体结构数据参考本中心前期相关工作^[24]。Bonferroni 阈值为 $-\log_{10}(P)$,显著关联 SNP 阈值设为 8. 0,利用 R 语言(R3. 6. 5)的 CMplot 包绘制曼哈顿图和 Q-Q 图^[26]。ANOSIM 分析采用 vegan 和 ggplot2 绘制^[27],主成分分析双标图(PCA-Biplot)通过 factoextra 包([https:// cloud. r-project. org/package = factoextra/](https://cloud.r-project.org/package=factoextra))绘制。

1.4 数据分析

采用软件 SPSS19 与 Excel 2013 内置公式进行基础数据的描述性统计和显著性分析,以及基本统计量的计算。饱和度 $Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$,色调角 $Hue\ angle = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ 。



注:A:色差仪测定的基本原理;B: 色差仪XYZ转换成Lab的原理;C:色差中的色调角和饱和度计算方法;D: CIE1976 颜色空间色差公式的计算。 L^* : 明暗色度; a^* : 红绿色度; b^* : 黄蓝色度; ΔE^*ab : 色差值; $Chroma$: 饱和度; $Hue\ angle$: 色调角。下同。

Note. A. The basic principle of color difference measurement by a colorimeter; B. The principle of converting XYZ to Lab by a colorimeter; C. The calculation methods for hue angle and saturation in color difference; D. The calculation of the CIE 1976 color space color difference formula. L^* : Lightness; a^* : Red-green axis; b^* : Yellow-blue axis; ΔE^*ab : Color difference; $Chroma$: Saturation; $Hue\ angle$: Hue angle. The same below.

图1 色差仪原理和参数基本信息

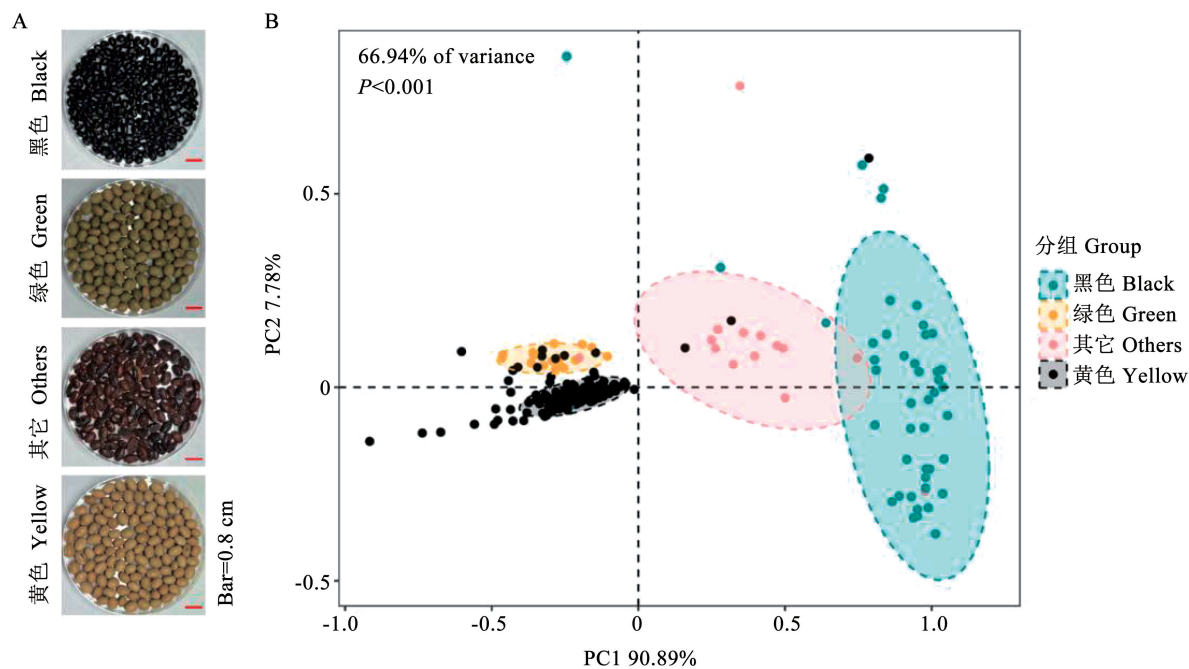
Fig.1 Principle of colorimeter and basic information on parameters

2 结果与分析

2.1 利用 CIELAB 进行大豆种皮颜色的表型鉴定

利用 CIELAB 色彩空间,对 274 份大豆核心种质种皮颜色进行表型鉴定(图 2A),获得 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*ab 、 $Chroma$ 和 $Hue\ angle$ 等 6 个颜色指标。主成分分析结果表明,颜色分组对 CIELAB 色彩空间参数总变异的贡献极其显著($P<0.001$),不同颜色分组能够解释总变异的 66.94%(图 2B)。进一步通过主成分分析双标图(PCA-Biplot)发现,种皮黄色、绿色和其它颜色分组的样本点在第一主成分(Dim1)上的变化范围较大,而黑色种皮在 Dim2 上的变化范围较大。其中黄色种皮主要集中在的正值区域,其值大约在 -0.3 到 2.4 之间。各个特征

变量的箭头,按照贡献用不同的颜色绘制。箭头的方向代表了与两个主成分的相关性,箭头的长短说明这个变量在前两个主成分中的代表性。如; b^* 指向 Dim1 的正值方向,长度约为 3,这表明 b^* 与 Dim1 有较强的正相关性。此外,在 Dim1 中, b^* 贡献最大,贡献率为 18.35%; a^* 对 Dim2 贡献最大,贡献率为 15.12%(图 3A)。通过相似性(ANOSIM)分析(图 3B)发现 $R=0.787$, $P=0.001$,说明同一颜色分类间(组内) CIELAB 色彩空间参数相似度极高,不同颜色分组(组间)差异显著均大于同一颜色分类间(组内)的差异。其中黄色种皮在种内变异较小(图 3B),在同为黄色分类的种间区分度($CV=14.70\%$)较高(表 1),说明 b^* 是表征大豆种皮颜色的最佳参数。

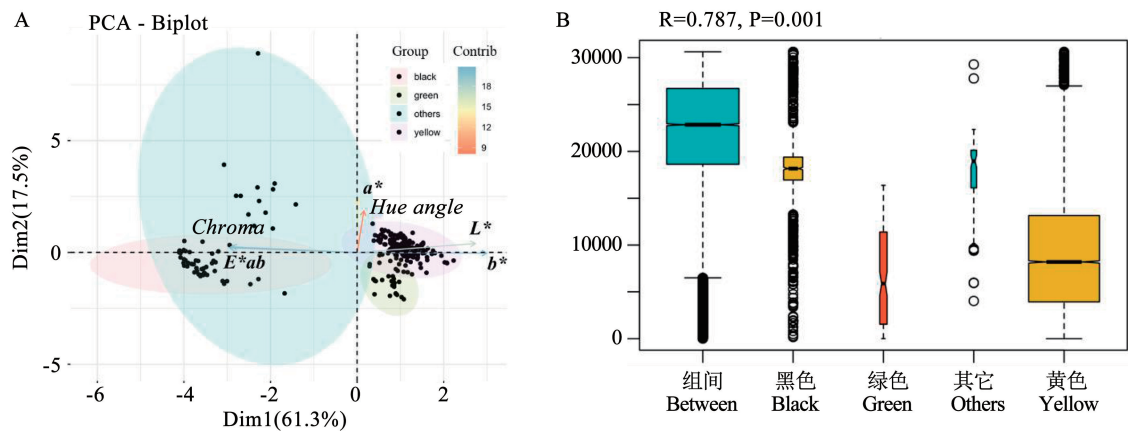


注:A:黑色、绿色、黄色和其它颜色分组中代表性家系的表型图;B:66.94% of variance 表示组间的差异占总体差异的 66.94%, $P<0.001$ 表示组间有显著差异,两轴百分比分别表示主坐标轴 1 和主坐标轴 2 可解释差异的百分比。

Note: A. Phenotypic plots of representative materials in the black, green, yellow, and other color groups. 66.94% of variance in (B) represents the ratio of differences among the three groups to overall differences. $P<0.001$ indicates a significant difference among the three groups. X and Y axes represent the percentages of explainable differences between PC1 and PC2, respectively.

图 2 不同色差值的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of different color difference values



注:A.主成分分析双标图(PCA-Biplot),Dim1 和 Dim2 分别表示第一和第二主成分,方差解释比例分别为 61.3% 和 17.5%,箭头表示各个变量对主成分的贡献度,箭头的长度与贡献度成正比;B. ANOSIM 分析,图中显示的 R 值为 0.787,表示组间相似性与组内相似性的差异程度,R 值大于 0 意味着组间差异大于组内差异,P 值用于评估 R 值的统计显著性, $P=0.001$ 意味着组间差异是可信的。

Note: A. Principal Component Analysis Biplot (PCA-Biplot), Dim1 and Dim2 denote the first and second principal components, respectively, with 61.3% and 17.5% of variance explained, respectively. The arrows indicate the contribution of each variable to the principal components, and the length of the arrow is proportional to the contribution; B. ANOSIM analysis, the R value shown in the figure is 0.787, indicating the degree of difference between the similarity between groups and the similarity within groups, an R value greater than 0 means that the differences between groups are greater than the differences within groups, the P-value is used to assess the statistical significance of the R-value, where $P=0.001$ means that the difference between groups is credible.

图 3 不同色差值的主成分分析双标图 (A) 及相似性分析 (B)

Fig. 3 Principal component analysis (PCA) biplot (A) and similarity analysis(B) of different color difference values

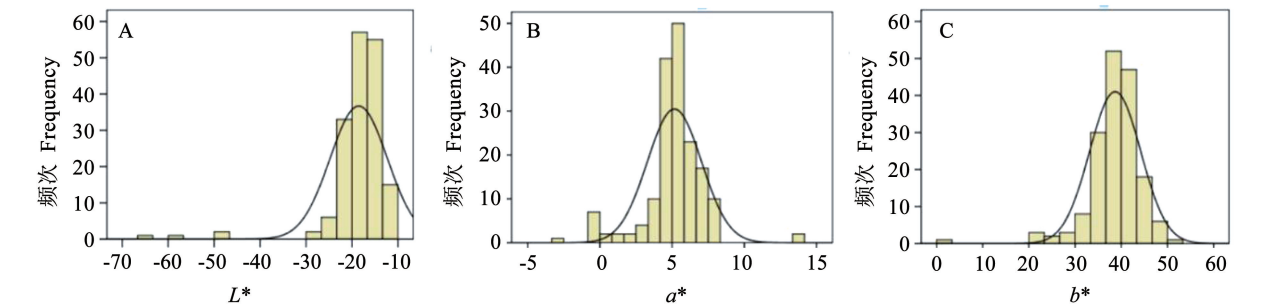
2.2 黄色大豆种皮颜色的遗传分析

进一步对 172 份黄色核心种质材料的种皮色进行统计分析。统计了 L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE^*ab 、 $Chroma$ 和 $Hue\ angle$ 共 6 个指标的最大值、最小值、平均值、标准差、变异系数、偏度和丰度等。 L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE^*ab 、 $Chroma$ 和 $Hue\ angle$ 的品种间变异系数分别为

–35.53%、40.89%、14.70%、11.63%、14.30% 和 48.19% (表 1)。其中, L^* 、 a^* 、 b^* 3 个种皮颜色指标整体均符合正态分布(图 4)。 b^* 的变异范围为 0.85 ~ 50.54,且 b^* 在大豆种皮由淡黄过度暗黄色过程中呈连续性变化,一定程度上体现了采用多功能色差仪(NR60CP)量化种皮颜色的优势。

表 1 黄色大豆 172 份核心种质群体的表型分析
Table 1 Phenotypic analysis of 172 core germplasm accessions of yellow soybeans

种皮颜色		自然群体 Natural population						
Color parameters		均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV/%	最小值 Min	最大值 Max	丰度 Skew	偏度 Kurt
黄色	L^*	–18.58	6.602	–35.53	–64.05	–10.13	23.146	–4.192
Yellow (n = 172)	a^*	5.14	2.102	40.89	–2.99	13.89	4.659	–0.347
	b^*	38.64	5.681	14.70	0.85	50.54	11.572	–2.219
	ΔE^*ab	43.82	5.098	11.63	28.89	64.05	2.573	0.443
	$Chroma$	39.05	5.584	14.30	0.95	51.04	12.517	–2.247
	$Hue\ angle$	74.06	35.688	48.19	–89.89	89.57	16.822	–4.291



注:A. 明暗色度值;B. 红绿色度值;C. 黄蓝色度值。
Note: A. Value of brightness and darkness; B. Red green degree value; C. Yellow blue chromaticity value.

图 4 黄色大豆种皮颜色相关性状的分布图

Fig. 4 Distribution of yellow soybean seed coat color-related traits

2.3 黄色大豆种皮颜色 b^* 的全基因组关联分析

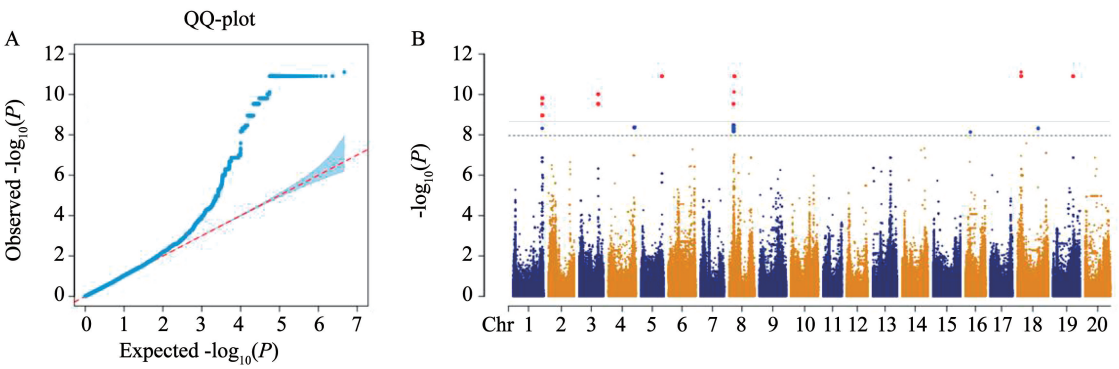
利用 172 份黄色大豆重测序数据的结果共获得 4 618 874 个高质量 SNP($MAF\geq0.05$),进行基因分型。结合种皮颜色性状的表型数据,进行全基因组关联分析(图 5),每个子图左侧为 QQ 图,右侧为曼哈顿图,虚线表示阈值,当 $-\log_{10}(P)$ 值高于虚线时,认为该 SNP 与该性状显著相关,二者均表明在全基因组范围内存在与黄色大豆种皮颜色显著关联的位点。共检测到 462 个与黄蓝色度值(b^*)显著相关的 SNP 位点,分别位于 1、3、4、5、8、16、18 和 19 号染色体上。其中,19 号染色体的 Gm_37707976 和 8 号染色体 Gm_8391374 已被报

道,但 1 号染色体的 Gm_54367397、3 号染色体 Gm_35921235、4 号染色体 Gm_49236606、5 号染色体 Gm_39294961、16 号染色体 Gm_9314094 和 18 号染色体的 Gm_39108287 和 Gm_6739424 是本研究新发现的 SNP 位点(表 2)。值得一提的是,8 号染色体上的 Gm_8391374 位点 $-\log_{10}(P)$ 值高达 10.91,与已报道的经典遗传位点 I 重合^[28-30]。19 号染色体的 Gm_37707976 位点 $-\log_{10}(P)$ 值高达 10.91,与已报道的黑荚的经典基因座 LI 重合^[31],说明基于 CIELAB 进行大豆种皮颜色遗传研究具有较高的可信度和准确性,能够用于种皮颜色这类复杂性状的遗传研究。

表 2 大豆黄色种皮 *b** 黄蓝色度值性状关联显著 SNP

Table 2 Significant SNPs associated with the *b** Yellow-Blue chromaticity trait in soybean yellow seed coat

染色体 Chr.	SNP 数目 SNP number	区间位置 Position interval	极显著 SNP 位置 Peak SNP position	等位 基因型 Alleles	$-\log_{10}(P$ 值极大值) $-\log_{10}$ (P max)	已报道 基因/区间 Reported interval	基因编号 (v2.1) Gene ID (v2.1)	遗传位点 Genetic locus
1	154	54297609 – 54481734	54367397	C/T	9.81	–	–	–
3	63	35913108 – 35940094	35921235	G/A	10.01	–	–	–
4	32	49112569 – 49276710	49236606	G/A	8.37	–	–	–
5	26	39277180 – 39318800	39294961	A/G	10.91			
8	166	8370312 – 8421571	8391374	C/T	10.91	查尔酮 合成酶 4 查尔酮 合成酶 1 查尔酮 合成酶 3	Glyma.08g109200 (<i>CHS4</i>) ^[28] Glyma.08g109500 (<i>CHS1</i>) ^[29] Glyma.08g110300 (<i>CHS3</i>) ^[30]	<i>I</i>
16	1	9288204 – 9437369	9314094	A/G	8.14			
18	3	38833264 – 41004657	39108287	G/A	8.32	–	–	–
18	8	6708086 – 6752012	6739424	T/A	11.11	–	–	–
19	9	36564097 – 37787089	37707976	C/A	10.91	红果酸 合成酶	Glyma.19g120400 (<i>LI</i>) ^[31]	<i>LI</i>



注:A. 估计阈值的 Q-Q 图;B. 曼哈顿图, 水平黑色虚线表示阈值 $-\log_{10}(P) = 8.00$ 。

Note: A. Q-Q plot for estimating threshold; B. Manhattan chart, horizontal black dashed line represents threshold $-\log_{10}(P) = 8.00$.

图 5 大豆黄色种皮 *b** 黄蓝色度值的全基因组关联分析

Fig.5 Genome-wide association analysis of *b** yellow-blue chromaticity values in soybean yellow seed coat

3 讨论

3.1 基于 CIELAB 建立的大豆种皮颜色精准鉴定新方法

关于种皮颜色的遗传分析主要集中在不同颜色种皮的遗传机制上,而单独针对黄色种皮颜色的研究相对较少。此外,传统的颜色测量手段不够精准,鉴定的指标在种质资源群体中遗传力较低^[7],难以对同一色系种皮颜色这类复杂性状进行遗传解析。手提式多功能色差仪 NR60CP 具有高灵敏性、通用性、可比性和分析速度快等优势,可用来精确描述和比较颜色的细微差异。因此,CIELAB 色彩空间是研究复杂性状差异的有效手段。基于 CIELAB 色彩空间,本研究提出了一个可以客观评估同一颜色类别大豆种皮颜色差的新方法。其中有 4 个颜色指标在品种内变异系数小于 10%。它们分别是 L^* 、 b^* 、 ΔE^*_{ab} 和 $Hue\ angle$ 。目前,常用比较不同参数在品种内的变异系数,如果变异系数小于 10% 通常认为该参数符合一致性标准^[26]。进一步分析发现,色差仪参数是定距变量,其 0 点也代表一种“颜色”,而不代表“没有”或“不存在”。综合相似性分析和 GWAS 分析得到的位点与 LI 基因座^[31]和 I 位点^[28-30]吻合,说明基于 CIELAB 进行大豆种皮颜色遗传研究具有较高的可信度和准确性,CIELAB 精准量化种皮颜色是一种能够客观评估大豆种皮颜色的新方法。

3.2 大豆种皮颜色遗传颜色调控新位点

大豆种皮色是基本的生物学性状,多样性高,表型易于观察,是大豆中较早开展遗传研究的性状之一^[32]。1910 年,Piper 和 Morse 首次报道大豆种皮色在杂交子代有分离现象,但并未明确其遗传规律^[33]。1928 年,Owen 报道了黑色种皮与棕色茸毛位点连锁^[34]。迄今,种皮色从经典遗传到分子标记再到功能基因等研究都取得了显著进展^[31,35]。利用经典遗传学方法,目前研究表明 I 、 R 、 T 为控制种皮色的主效位点, I 位点决定种皮是否含有花色素^[22,36-39]。本研究针对大豆黄色种皮检测到 462 个与黄蓝色度值(b^*)显著相关的 SNP 位点,分别位于 1、3、4、5、8、16、18 和 19 号染色体上,其中 8 号染色体上的 Gm_8391374 位点与已报道的 I 位点重合^[37]。据报道 I 位点有 4 个等位基因,分别为 I 、 i^i 、 i^k 、 i ,显性关系顺序为 $I > i^i > i^k > i$ ^[38]。 I 基因型时,种皮呈黄色,我国北方育成品种多为该基因型;

i^i 基因型时,为黄种皮黑脐; i^k 基因型时,种脐色素向外延伸至鞍区,种皮为鞍挂; i 基因型时,种皮含有花色素,呈现黑或褐种皮^[39]。19 号染色体上的 Gm_37707976 位点与已报道的黑荚的经典基因座 LI 重合。目前在 LI 位点报道的基因具有红果酸合成酶的功能,可促进红果酸和番石榴酸的合成,而红果酸和番石榴酸是大豆豆荚和种皮着色的重要物质^[31]。位于 1、3、4、5、8、16、18 和 19 号染色体的 Gm_54367397、Gm_35921235、Gm_49236606、Gm_39294961、Gm_9314094、Gm_39108287、Gm_6739424 和 Gm_37707976 位点和大豆黄色种皮颜色性状显著关联,但目前的研究报道较少,可能是大豆黄色种皮调控相关的新位点。位于 1 号染色体 54.298 ~ 54.482 Mb 的区间检测到 154 个 $-\log_{10}(P)$ 大于 8 的 SNP 位点,其中 Gm_54367397 位点的 $-\log_{10}(P)$ 最大,为 9.81。但这个标记位点未见报道,推测这些标记位点可能是控制大豆黄色种皮性状的新位点。鉴于种皮色与外观品质及内在营养价值密切相关,建议进一步验证这些标记位点的稳定性、可靠性和多效性。

3.3 CIELAB 色彩空间在农业领域中的应用前景

CIELAB 色彩空间在农业领域中的应用极为广泛,它为精准量化作物颜色提供了一种科学和客观的方法。这种颜色量化技术对于评估作物品质、成熟度和新鲜度至关重要,尤其是在水果和蔬菜的分类与选择中^[11-13]。色差仪作为一种精密的光学测量设备,其 CIELAB 色彩空间是基于人眼对颜色的感知设计,通过 L^* 、 a^* 和 b^* 3 个基础参数来描述颜色,这与人类视觉系统对颜色的感知一致^[40]。色差仪测量的结果不受特定设备或显示技术的影响,同时 CIELAB 色彩空间是国际照明委员会(CIE)制定的国际标准,确保了颜色数据的通用性和可比性。然而,CIELAB 色彩空间的应用关键在于精确确定具体的颜色参数。有研究表明 a^* 对不同成熟度小麦褪绿颜色变化反应敏感^[41],符运阳等^[42]的研究也发现 a^* 能很好地反映植物病害叶片褪绿的颜色状态。也有研究表明 a^* 对绿色植被的识别能力较好,更适合提取棉花植被覆盖度^[43]。本研究发现 b^* 是大豆种皮颜色定量描述的最佳参数,并且证实了 CIELAB 色彩空间在客观评估黄色大豆种皮色差方面的可靠性。这一发现不仅对选择特定颜色特征的品种具有指导作用,而且为其他果实类作物种皮颜色的精确描述提供参考。特别是在解析同一

色系种皮颜色这类复杂性状的遗传机制方面, CIELAB 色彩空间显示出了显著的优势。可见 CIELAB 在农业领域具有广泛的应用前景,有待于进一步拓展研究。

4 结论

本研究以 274 份大豆核心种质作为关联群体, 利用色差仪进行大豆种皮颜色测定, 基于 CIELAB 色彩空间共获取 6 个颜色参数。主成分分析表明黄蓝色度值 (b^*) 是大豆种皮颜色定量描述的最佳参数, 利用该方法对 172 份黄色种皮大豆全基因组关联分析, 共检测到 287 个新位点和 175 个已报道位点, 这些位点与大豆种皮颜色显著关联, 位于 1 号染色体的 Gm_54367397 位点的 $-\log_{10}(P)$ 最大, 为 9.81。该位点目前未见报道, 推测该位点可能是控制大豆黄色种皮性状的新位点。CIELAB 精准量化种皮颜色是一种能够客观评估大豆种皮颜色的新方法, 有助于进一步解析调控大豆种皮颜色的遗传机制。

参考文献

[1] AWADA L, PHILLIPS P W B, SMYTH S J. The adoption of automated phenotyping by plant breeders[J]. *Euphytica*, 2018, 214 (8): 148.

[2] FINKEL E. Imaging. With ‘phenomics’, plant scientists hope to shift breeding into overdrive[J]. *Science*, 2009, 325 (5939): 380-381.

[3] MIR R R, REYNOLDS M, PINTO F, et al. High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era[J]. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 2019, 282: 60-72.

[4] WALTER A, LIEBISCH F, HUND A. Plant phenotyping: From bean weighing to image analysis[J]. *Plant Methods*, 2015, 11: 14.

[5] ARIF M A R, KOMYSHEV E G, GENAEV M A, et al. QTL analysis for bread wheat seed size, shape and color characteristics estimated by digital image processing[J]. *Plants*, 2022, 11(16): 2105.

[6] MIRZAEI R, BOUZARI B, HOSSEINI-FARD S R, et al. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in nervous system disorders[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 2021, 139: 111661.

[7] ARAUS J L, KEFAUVER S C, ZAMAN-ALLAH M, et al. Translating high-throughput phenotyping into genetic gain[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(5): 451-466.

[8] PATIL J K, KUMAR R. Analysis of content based image retrieval for plant leaf diseases using color, shape and texture features[J].

Engineering in Agriculture, Environment and Food, 2017, 10 (2): 69-78.

[9] CIE. CIE Publication No. 15.2, Colorimetry, 2nd ed[R]. Vienna: Central Bureau of the Commission Internationale de l'Eclairage, 1986.

[10] DA SILVA D L, MATTOS C T, DE ARAÚJO M V, et al. Color stability and fluorescence of different orthodontic esthetic archwires[J]. *The Angle Orthodontist*, 2013, 83(1): 127-132.

[11] LANA M M, TIJSKENS L M M, VAN KOOTEN O. Effects of storage temperature and stage of ripening on RGB colour aspects of fresh-cut tomato pericarp using video image analysis[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 77(4): 871-879.

[12] SALVADOR A, SANZ T, FISZMAN S M. Changes in colour and texture and their relationship with eating quality during storage of two different dessert bananas[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2007, 43(3): 319-325.

[13] SILVEIRA A C, AGUAYO E, ARTÉS F. Emerging sanitizers and clean room packaging for improving the microbial quality of fresh-cut ‘Galia’ melon[J]. *Food Control*, 2010, 21(6): 863-871.

[14] SARRIÉS M V, BERIAIN M J. Colour and texture characteristics in meat of male and female foals[J]. *Meat Science*, 2006, 74 (4): 738-745.

[15] WULF D M, WISE J W. Measuring muscle color on beef carcasses using the $L^*a^*b^*$ color space[J]. *Journal of Animal Science*, 1999, 77(9): 2418-2427.

[16] MURTHY K V, RAVI R, BHAT K K, et al. Studies on roasting of wheat using fluidized bed roaster[J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 89(3): 336-342.

[17] SHARMA P, GUJRAL H S. Milling behavior of hulled barley and its thermal and pasting properties[J]. *Journal of Food Engineering*, 2010, 97(3): 329-334.

[18] MOYANO M J, MELÉNDEZ-MARTÍNEZ A J, ALBA J, et al. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIE XYZ non-uniform colour space[J]. *Food Research International*, 2008, 41(5): 505-512.

[19] 代祥, 梅菊芬, 杨亦扬, 等. 基于色差仪的茶树叶色量化研究[J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47(2): 232-241. (DAI X, MEI J F, YANG Y Y, et al. Quantification of tea tree leaf color based on colorimeter[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2024, 47(2): 232-241.

[20] 蔡锦玲, 姚文, 陈品品, 等. 番茄果皮颜色的基因功能标记开发及色差仪参数相关分析[J]. *热带农业科学*, 2022, 42 (11): 37-43. (CAI J L, YAO W, CHEN P P, et al. The development of molecular functional marker and colorimeter analysis of tomato pericarp color[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2022, 42(11): 37-43.)

[21] 曹杰. 大豆红色种皮的花青素鉴定及相关基因发掘[D]. 长春: 吉林农业大学, 2023. (CAO J. Identification of anthocyanins in soybean red seed coat and exploration of related genes[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2023.)

[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]. Acta Agronomica Sinica, 2021, 47(12): 2299-2313.)

[23] 林萍, 何坚强, 邹志勇, 等. 基于可见光谱图的大豆外观品质判别方法[J]. 光学学报, 2019, 39(8): 0815002. (LIN P, HE J Q, ZOU Z Y, et al. Soybean appearance quality discrimination based on visible spectrogram [J]. Acta Optica Sinica, 2019, 39(8): 0815002.)

[24] GUO Z, CAO H, ZHAO J, et al. A natural uORF variant confers phosphorus acquisition diversity in soybean [J]. Nature Communications, 2022, 13: 3796.

[25] LIPPERT C, LISTGARTEN J, LIU Y, et al. FaST linear mixed models for genome-wide association studies[J]. Nature Methods, 2011, 8: 833-835.

[26] YIN L, ZHANG H, TANG Z, et al. rMVP: A memory-efficient, visualization-enhanced, and parallel-accelerated tool for genome-wide association study [J]. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 2021, 19(4): 619-628.

[27] WICKHAM H. ggplot2: Elegant graphics for data analysis[M]. New York: Springer New York, 2009.

[28] LIU Y, DU H, LI P, et al. Pan-genome of wild and cultivated soybeans[J]. Cell, 2020, 182(1): 162-176, e13.

[29] AKADA S, DUBE S K. Organization of soybean chalcone synthase gene clusters and characterization of a new member of the family [J]. Plant Molecular Biology, 1995, 29(2): 189-199.

[30] SENDA M, JUMONJI A, YUMOTO S, et al. Analysis of the duplicated *CHS1* gene related to the suppression of the seed coat pigmentation in yellow soybeans [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(6): 1086-1091.

[31] LYU X, LI Y H, LI Y, et al. The domestication-associated *L1* gene encodes a eucomic acid synthase pleiotropically modulating pod pigmentation and shattering in soybean[J]. Molecular Plant, 2023, 16(7): 1178-1191.

[32] 宋健. 大豆种皮色相关基因的图位克隆及功能解析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019. (SONG J. Mapping cloning and functional analysis of genes related to soybean seed coat color[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.)

[33] PIPER C V, MORSE W J. The soybean: history, varieties, and field studies[J]. United States Department of Agriculture, 1910, 197:1-84.

[34] OWEN F V. Inheritance studies in soybeans. III. seed-coat color and summary of all other Mendelian characters thus far reported [J]. Genetics, 1928, 13(1): 50-79.

[35] LINDSTROM J T, VODKIN L O. A soybean cell wall protein is affected by seed color genotype[J]. The Plant Cell, 1991, 3(6): 561-571.

[36] TODD J J, VODKIN L O. Duplications that suppress and deletions that restore expression from a *Chalcone* synthase multigene family[J]. The Plant Cell, 1996, 8(4): 687-699.

[37] SENDA M, KASAI A, YUMOTO S, et al. Sequence divergence at chalcone synthase gene in pigmented seed coat soybean mutants of the Inhibitor locus[J]. Genes & Genetic Systems, 2002, 77(5): 341-350.

[38] 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]. The Plant Cell, 2004, 16(4): 819-835.

[39] CLOUGH S J, TUTEJA J H, LI M, et al. Features of a 103-kb gene-rich region in soybean include an inverted perfect repeat cluster of CHS genes comprising the *I* locus[J]. Genome, 2004, 47(5): 819-831.

[40] 汪哲弘. 颜色视觉辨别特性及色差评价研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009. (WANG Z H. Study on color visual discrimination characteristics and color difference evaluation [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.)

[41] 许高建, 沈杰, 徐浩宇. 基于 Lab 颜色空间下的小麦赤霉病图像分割[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(10): 149-156. (XU G J, SHEN J, XU H Y. Image segmentation of wheat scab based on Lab color space[J]. Journal of China Agricultural University, 2021, 26(10): 149-156.)

[42] 符运阳, 郭胜娜, 王兵, 等. 基于 LAB 颜色空间的植物病变区域提取[J]. 电子世界, 2017(20): 105-106. (FU Y Y, GUO S N, WANG B, et al. Extraction of plant leaf lesions based on LAB color space [J]. Electronics World, 2017(20): 105-106.)

[43] 牛亚晓, 张立元, 韩文霆. 基于 Lab 颜色空间的棉花覆盖度提取方法研究[J]. 农业机械学报, 2018, 49(10): 240-249. (NIU Y X, ZHANG L Y, HAN W T. Research on cotton coverage extraction method based on lab color space [J]. Journal of Agricultural Machinery, 2018, 49(10): 240-249.)