

光周期调控大豆开花期分子机理研究的新进展

杜维广^{1,2}, 盖钧镒³

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 国家大豆改良中心牡丹江试验站, 黑龙江 牡丹江 157041; 3. 南京农业大学大豆研究所/国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室/农业部大豆生物学与遗传育种重点实验室(综合), 江苏 南京 210095)

摘要:综述了中国科学院大豆分子设计育种重点实验室国际合作团队关于大豆光周期调控开花期分子机理及其相关领域研究取得的新进展,并评述了其所获成果的理论和实践意义。

关键词:大豆光周期;开花;分子机理

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.04.0545

Advances in Molecular Mechanism of Photoperiod-mediated Flowering Date in Soybean

DU Wei-guang^{1,2}, GAI Jun-yi³

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. Mudanjiang Experimental Station National Center for Soybean Improvement, Mudanjiang 157041, China; 3. Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University/National Center for Soybean Improvement /National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement/Key Laboratory for Biology and Genetic Improvement of Soybean(General), Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China)

Abstract: The research progresses on molecular mechanism of photoperiod-mediated flowering date in soybean obtained by an international research team of the Key Laboratory of Soybean Molecular Design Breeding, Chinese Academy of Sciences were reviewed, and the evaluation of the significance of the results to the research area and potential application in plant breeding were provided.

Keywords: Soybean photoperiod; Flowering date; Molecular mechanism

大豆是我国主要的蛋白质和油脂作物。大豆的产量、蛋白质、油脂与大豆的生育期有关,因而与生态区域和播种季节都有关。光周期是调控大豆开花期的重要因子。随着分子遗传学及其研究技术的发展,探讨大豆光周期调控开花期的分子机理已经成为大豆功能基因组学领域研究的一个热点与前沿命题。中国科学院大豆分子设计育种重点实验室科学家和以日本为主的国外科学家合作,经过多年的系统工作,在光周期调控开花期的相关领域取得多方面的新进展。

经典遗传学研究表明:与大豆光周期和开花期有关的基因有10个,分别是*E1*、*E2*、*E3*、*E4*、*E5*、*E6*、*E7*、*E8*、*E9*和*J*。该研究团队经过近10年的努力,已成功地将*E1*基因定位于第六号染色体LG C2连锁群上约17 kb区域,在该区间鉴定出唯一候选基因,通过转基因技术对候选基因的功能进行了验证,生物信息学分析表明在拟南芥和水稻基因组中不存在近等同源序列,发现该基因是豆科植物特有的转录因子,并且*E1*基因处于开花期基因表达的中枢位置^[1]。在大豆基因组中,同时存在着2个*E1*同源基因*E1La*和*E1Lb*,进一步的研究表明*E1*与

E1L(*E1-Like*)的表达受控于*E3*与*E4*(*E3*、*E4*编码光敏色素A蛋白)。揭示了在光周期调控的大豆开花期机制中,光敏色素A介导的*E1*与*E1*同源基因的光诱导转录起着关键作用。预示着大豆基因组中存在着控制开花期与成熟期的独特途径与调控网络^[2]。

该研究团队通过图位克隆策略将*E2*基因定位于一个约100 kb的BAC克隆GMMIB300H1中,通过近等基因系序列解析和突变体表型分析证明了*E2*基因为*GIGANTEA*的同源基因。由于该基因对生育期贡献值大,对光周期反应影响较小,具有受外在的环境影响较小的特性,因此在育种实践上具有很广阔的应用前景^[3]。

该研究团队利用图位克隆策略将*E3*位点定位于L连锁群上,与*Dt1*连锁。通过突变体和近等基因系分析证明,*E3*基因为*GmPhyA3*;同时发现*E3*基因受控于*E1*,在*e1*遗传背景下,*E3*的功能得不到充分发挥^[4],为揭示大豆光周期调控开花期分子机理提供了重要依据。*E3*基因同时也存在着3种等位变异,*E3*和*E4*基因的不同等位变异组合控制着大豆品种在高纬度地区的光周期不敏感性,决定

收稿日期:2015-08-06
第一作者简介:杜维广(1943-),男,研究员,主要从事大豆遗传育种。
通讯作者:盖钧镒,教授。E-mail: sri@njau.edu.cn。

大豆品种在高纬度地区的生态适应区域^[5-6];将 *E4* 基因定位在 *I* 连锁群上,证明 *E4* 基因编码光敏色素蛋白基因^[7-9]。进一步通过一对 *E4* 近等基因系解析表明 *e4* 是由于在 *E4* 位点第一个外显子上插入 LTR 型反转录转座子进而造成该基因失活的突变类型,与已报道的其它 LTR 型反转录转座子比较,该反转录转座子是一个新家族的成员,命名为 SORE1 型反转录转座子,并且在高温诱导下, SORE1 型反转录转座子易发生转座,类似于 *E4* 基因的开关^[10]。发现大豆生育期新基因,精细定位到 16 号染色体上介于标记 M5 和 M7 之间 245 kb 区间内。该基因被美国大豆遗传委员会审阅后,命名为 *E9*。*E9* 基因的精细定位及连锁标记 (*ID1*) 的开发对于高纬度地区大豆的稳产及早熟品种的分子标记辅助育种具有理论和实际意义^[11]。

该研究团队还图位克隆了大豆结荚习性 *Dt1* 基因,序列分析表明 *Dt1* 是拟南芥 *Terminal Flower 1* (*TFL1*) 的同源基因,发现了第四个外显子上发生单碱基置换的突变类型,通过其在大豆中过量和减少表达验证了其功能,开发了鉴定大豆结荚习性类型的方法。研究结果揭示了大豆结荚习性的分子机理,解决了大豆结荚习性鉴定的科学问题^[12]。证实 *TFL1* 基因抑制大豆开花,阐明了不同 *FT* 基因参与不同日照条件中的功能,揭示了短日照植物含有与长日照植物不同的光周期反应调控机制。研究揭示了大豆 *FT* 蛋白与 *FD* 蛋白互作及其调控机理,表明大豆 *FT* 基因调控开花和生育期,与模式植物拟南芥存在着相同的调控机制^[13]。

该研究团队发现 *E4* 基因存在 5 种突变类型,其中 *e4a* 型变异与光形态建成相关,种植在相同纬度具有纯合半显性 *e4a* 基因型品种比纯合 *E4* 基因型品种生育期提前 3 d 左右成熟,但产量几乎没有变化。因此, *e4a* 基因的科学意义在于不仅为早熟分子设计育种提供了关键模块,而且解决了早熟与高产间的矛盾^[5-6]。同时发现, *E3* 和 *E4* 基因不但控制大豆的开花期,同时控制大豆开花后期的光周期敏感性,决定大豆开花后期的籽粒灌浆期长度、大豆节数和大豆荚数,最终影响大豆产量; *E3* 和 *E4* 基因控制大豆开花后期的光周期敏感性是通过诱导大豆结荚习性基因 *Dt1* (*TFL1b*) 来实现的^[5]。

综上, (1) 大豆生育期 *E3*、*E4* 基因是拟南芥光敏色素 *PHYA* 的同源基因^[4,8], *E2* 基因是拟南芥开花控制基因 *GIGANTEA* 的同源基因^[3], *E1* (*E1L*) 是豆科植物特有的转录因子,预示着大豆基因组中存在着独特的控制开花期与成熟期的调控网络^[1-2]; (2) *E3*、*E4* 基因的功能受控于 *E1*, *E3*、*E4* 调控大豆

生育期,通过调控 *E1* 或 *E1L* 实现的,而 *E1* 或 *E1-Like* 基因通过调控两个 *FT* 基因 (*GmFT2a* 和 *Gm-FT5a* 基因) 控制大豆生育期,从而证明了大豆存在着特有的大豆光周期对开花期和生育期的调控途径 *PHYA-E1/E1L-FT*^[1-2,14]; (3) 研究还发现大豆光周期开花基因 *CO*、*miR156*、*miR172* 调控大豆光周期和开花期均受到 *E1* 的调控作用,从而进一步证明了大豆光周期的开花期调控途径 *PHYA-E1/E1L-FT* 是大豆光周期对开花期和生育期调控的主要调控途径^[15-18]。上述研究结果揭示了大豆基因组中存在着与拟南芥和水稻不同的光周期控制开花期与成熟期特异的且主要的遗传调控网络: *PHYA-E1/E1L-FT*。

以上研究成果以论文形式发表,其中至 2015 年 SCI 收录的论文共 31 篇,总影响因子达 121.5,文章被引用次数至 2014 年达 840 余次。这组研究推进了大豆光周期调控开花期分子机理研究的进展,对于深刻理解长、短日照作物光周期调控开花期进化的分子机制具有重要参考价值^[19-27]。研究结果对于指导生育期育种、选育早熟高产或超早熟高产大豆品种有重要科学意义和应用价值。大豆生育期的经典遗传学研究是从熟期组 II ~ IV 的材料开始的,近半个世纪来大豆的生育期通过人工进化已衍生出特早的 000 组品种和特晚的 X 组品种,希望中国科学院大豆分子设计育种重点实验室的国际团队再接再厉,把光周期调控开花期和成熟期的研究向更宽、更深的领域发展。

参考文献

[1] Xia Z, Watanabe S, Yamada T, et al. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus *E1* that regulates photoperiodic flowering[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2012, 109 (32): 2155-2164.

[2] Xu M, Yamagishi N, Zhao C, et al. Soybean-specific *E1* family of floral repressors controls night-break responses through down-regulation of FLOWERING LOCUS T orthologs[J]. Plant Physiology, 2015, 1: 763.

[3] Watanabe S, Xia Z, Hideshima R, et al. A map-based cloning strategy employing a residual heterozygous line reveals that the *GIGANTEA* gene is involved in soybean maturity and flowering [J]. Genetics, 2011, 188(2): 395-407.

[4] Watanabe S, Hideshima R, Xia Z, et al. Map-based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus *E3*[J]. Genetics, 2009, 182(4): 1251-1262.

[5] Xu M, Xu Z, Liu B, et al. Genetic variation in four maturity genes affects photoperiod insensitivity and *PHYA*-regulated post-flowering responses of soybean[J]. BMC Plant Biology, 2013, 13: 91-105.

- [6] Tsubokura Y, Matsumura H, Xu M L, et al. Genetic variation in soybean at the maturity locus *E4* is involved in adaptation to long days at high latitudes[J]. *Agronomy*, 2013, 3(1): 117-134.
- [7] Liu B, Fujita T, Yan Z H, et al. QTL mapping of domestication-related traits in soybean (*Glycine max*) [J]. *Annals of Botany*, 2007, 100(5): 1027-1038.
- [8] Liu B, Kanazawa A, Matsumura H, et al. Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of the phytochrome A gene[J]. *Genetics*, 2008, 180(2): 995-1007.
- [9] Liu B, Abe J. QTL mapping for photoperiod Insensitivity of a Japanese soybean landrace sakamotowase [J]. *Journal of Heredity*, 2010, 101(2): 251-256.
- [10] Kanazawa A, Liu B, Kong F, et al. Adaptive evolution involving gene duplication and insertion of a novel Ty1/copia-like retrotransposon in soybean [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2009, 69(2): 164-175.
- [11] Kong F, Nan H, Cao D, et al. A new dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean [J]. *Crop Science*, 2014, 54(6): 2529-2535.
- [12] Liu B, Watanabe S, Uchiyama T, et al. The soybean stem growth habit gene *Drl* is an ortholog of *Arabidopsis* TERMINAL FLOWER1 [J]. *Plant Physiology*, 2010, 153(1): 198-210.
- [13] Nan H, Cao D, Zhang D, et al. *GmFT2a* and *GmFT5a* redundantly and differentially regulate flowering through interaction with and upregulation of the bZIP transcription factor *GmFDL19* in soybean [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97669.
- [14] Kong F, Liu B, Xia Z, et al. Two coordinately regulated homologs of FLOWERING LOCUS T are involved in the control of photoperiodic flowering in soybean [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154(3): 1220-1231.
- [15] Zhao X, Cao D, Huang Z, et al. Dual functions of *GmTOE4a* in the regulation of photoperiod-mediated flowering and plant morphology in soybean [J]. *Plant Molecular Biology*, 2015, 88(4-5): 343-355.
- [16] Zhai H, Lu S X, Liang S, et al. *GmFT4*, a homolog of FLOWERING LOCUS T, is positively regulated by *E1* and functions as a flowering repressor in soybean [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): 89030.
- [17] Zhai H, Lu S X, Wang Y Q, et al. Allelic variations at four major maturity E genes and transcriptional abundance of the *E1* gene are associated with flowering time and maturity of soybean cultivars [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): 97636.
- [18] Jiang B, Nan H, Gao Y, et al. Allelic combinations of soybean maturity loci *E1*, *E2*, *E3* and *E4* result in diversity of maturity and adaptation to different latitudes [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e106042.
- [19] Xia Z J, Zhai H, Liu B H, et al. Molecular identification of genes controlling flowering time, maturity, and photoperiod response in soybean [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2012, 298(7): 1217-1227.
- [20] Xia Z, Zhai H, Lu S, et al. Recent achievement in gene cloning and functional genomics in soybean [J]. *Scientific World Journal*, 2013, 2013: 1-7.
- [21] Matsumura H, Liu B, Abe J, et al. AFLP mapping of soybean maturity gene *E4* [J]. *Journal of Heredity*, 2008, 99(2): 193-197.
- [22] Xia Z, Tsubokura Y, Hoshi M, et al. An integrated high-density linkage map of soybean with RFLP, SSR, STS, and AFLP markers using a single F₂ population [J]. *DNA Research*, 2007, 14(6): 257-269.
- [23] Tsubokura Y, Watanabe S, Xia Z J, et al. Natural variation in the genes responsible for maturity loci *E1*, *E2*, *E3* and *E4* in soybean [J]. *Annals of Botany*, 2014, 113(3): 429-441.
- [24] Peng J, Shi X, Sun Y, et al. QTLMiner: QTL database curation by mining tables in literature [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(10): 1689-1691.
- [25] Shi X, Peng J, Yu X, et al. PopGeV: a web-based large-scale population genome browser [J]. *Bioinformatics*, 2015: 324.
- [26] Lu S, Li Y, Wang J, et al. QTL mapping for flowering time in different latitude in soybean [J]. 2015. *Euphytica* 0. 1007/s10681-015-1501-5.
- [27] Tsubokura Y, Hajika M, Kanamori H, et al. The beta-conglycinin deficiency in wild soybean is associated with the tail-to-tail inverted repeat of the alpha-subunit genes [J]. *Plant Molecular Biology*, 2012, 78(3): 301-309.