

植物信号分子对大豆开花与结瘤的协同调控

王志莉^{1,2}, 刘 薇², 吴存祥², 冯永君¹

(1. 北京理工大学生命学院, 北京 100081; 2. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘 要:大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]是世界上重要的粮食和油料作物, 其显著的生长特点是营养生长和生殖生长交错时间长, 导致以结瘤为代表的营养生长和以开花为代表的生殖生长在物质和能量需求上存在激烈竞争。本文综述了蔗糖、植物激素以及 miRNAs 等植物信号分子对大豆开花和结瘤调控作用, 将有助于理解大豆开花、结瘤的协同调控机制, 以期对明确大豆生长发育规律、提高大豆产量提供理论支撑。

关键词:大豆; 开花; 结瘤; 植物信号分子

中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2017. 02. 0315

Regulation of Plant Signal Molecules on the Processes of Flowering and Nodulation in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]

WANG Zhi-li^{1,2}, LIU Wei², WU Cun-xiang², FENG Yong-jun¹

(1. School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081; 2. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081)

Abstract: As an important crop for food and oil, soybean has a long cross-time between vegetative and reproductive growth, which triggers an energy-competition especially between nodulation and flowering. This paper reviewed the biological effects of plants signal molecules sucrose, phytohormones and miRNAs on the regulation of flowering and nodulation in soybean. Understanding of the regulatory and molecular mechanism of these regulation would be significant to pinpoint the developmental pattern and improve the production of soybean.

Keywords: Soybean; Flowering; Nodulation; Signal Molecules

大豆是世界上重要的粮食和油料作物, 与玉米、水稻、小麦等主要粮食作物相比, 大豆植株生长发育过程的一个突出特点是其生殖生长和营养生长交错时间长。我国大豆生理学家董钻教授对影响大豆产量的因素进行了总结概括, 其中由不同生理过程之间的协同调控所导致的生殖发育和营养生长对同化产物的竞争尤为突出, 即在以结瘤为代表的营养生长和以开花为代表的生殖生长过程中存在对物质和能量的剧烈竞争^[1]。

开花过程位于大豆形态学上端, 对于物质与能量的消耗巨大, 光合作用产生的碳水化合物和根瘤固定的氮素大都汇集于籽粒中。大豆作为典型的短日照作物, 在短日照条件下开花提前, 长日照条件下开花延迟; 大豆经短日照转长日照处理后会导致开花逆转现象^[2]。近年来, 以大豆为模式植物研究信号分子对开花调控的报道并不多, 这也限制了对大豆发育过程机理的深入理解。

大豆作为一种豆科植物, 可以与土壤环境中的

根瘤菌等微生物进行共生互利的相互作用, 一方面微生物使大豆生长所需的氮肥远远少于其他作物, 另一方面大豆为微生物的生长提供了必需的栖息环境。根瘤的形成对大豆而言是一个高度耗能的过程, 与花的形成共同竞争着光合产物。经过长期的进化, 大豆已经发展出了一套结瘤自主调控机制 (autoregulation of nodulation, AON): 在氮不足的情况下可以产生更多的共生固氮, 而已经形成的根瘤能够抑制新的根瘤的生成, 从而控制根瘤的数目, 这一机制主要依靠植物体内信号分子的调控完成^[3]。

在生殖生长和营养生长交错期, 开花和结瘤对物质和能量的需求均很强烈, 这也导致开花结荚和结瘤固氮成为大豆生理学研究的重点, 深入研究这两个过程的协同调节及信号应答机制, 对于理解大豆的生长发育、提高大豆产量具有重要的意义。

本文综述了蔗糖、植物激素以及 miRNAs 等信号分子在大豆开花、结瘤过程中的功能及对二者的

收稿日期: 2016-12-20
基金项目: 国家自然科学基金(31271636); 农业部财政部现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-04)。
第一作者简介: 王志莉(1992-), 女, 硕士, 主要从事大豆发育生物学研究。E-mail: zhiliwang0804@sina.cn。
通讯作者: 吴存祥(1969-), 男, 博士, 研究员, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: wucunxiang@caas.cn;
冯永君(1973-), 男, 博士, 教授, 主要从事植物内生菌研究研究。E-mail: fengyj@bit.edu.cn。

调控作用,为更好的理解大豆开花和结瘤过程提供一定的理论支持。

1 蔗糖对大豆开花、结瘤过程的调控

在大多数高等植物中,蔗糖是光合作用的主要产物,也是碳水化合物在维管组织中运输的主要形式^[4]。蔗糖在成熟叶片中合成后,通过韧皮部装载、长距离运输、蔗糖卸载后到达库器官^[5]。蔗糖在库器官作为代谢物质提供能量的同时,还为脂类、蛋白质和核酸的合成提供了碳骨架。研究表明,蔗糖在植物体内可以作为信号分子参与糖信号的传导、调控植物开花、结瘤等重要生长发育过程^[6]。

1.1 蔗糖对大豆开花过程的调控

蔗糖可以在韧皮部从源到库自由运输,因此有可能从叶片向茎尖生长点传输信号调控植物的开花过程。大量研究表明适当浓度的蔗糖促进植物开花,而高浓度的蔗糖则显著阻碍植物开花,而且这种抑制是由糖代谢引起的而非渗透压的作用,可见蔗糖对植物开花的调控作用与蔗糖浓度有关^[7-8]。

大豆叶片中光合产物的运输具有就近分配的特性,多是同节位的叶片和花荚形成一个源库单位,鼓粒期对同化物的需求量大导致叶片光合速率的提高^[9]。大豆在幼苗至始花期期间营养器官的蔗糖含量逐渐增高,在始花期达到高峰点,蔗糖为开花提供能源的同时还可能参与了大豆开花过程^[10]。

蔗糖结合蛋白(SQUAMOSA promoter binding protein, SBP)是大豆体内与蔗糖的运输与吸收相关的膜蛋白, Pedra 等^[11-12]将编码大豆 GmSBP 同源物的基因在烟草中进行研究时发现,当该基因过表达时能够促进植株生长、加快开花诱导;而抑制该基因表达时植株的生长发育也受到了阻滞。大豆 AP2/ERBP 转录因子家族 *GmRAV* 基因在短日条件下抑制大豆开花, Lu 等^[13]研究发现对大豆外施蔗糖后该基因在叶片中的表达量显著下降,缓解开花抑制现象,说明蔗糖还能通过调控基因的表达量控制开花。这些研究都说明了蔗糖的合成、运输以及相关基因的调控均参与了大豆开花调控。近年, Wong 等^[14]将在长日条件下生长 10 d 的大豆进行短日条件处理,对开花诱导前的顶端分生组织进行转录组测序,发现经过短日处理后 β -淀粉酶基因表达量显著增加,该基因产物淀粉在顶端分生组织积

累,促进花序转化,该研究同时表明大豆体内的糖、生长素以及 ABA 信号通路交互调控形成复杂的网络参与大豆的生殖发育。

1.2 蔗糖对大豆根瘤过程的调控

土壤中的根瘤菌能够侵染大豆根部并相互作用形成根瘤,在大豆中,根瘤的形成和固氮作用主要依赖于蔗糖的输入和代谢^[15]。光合作用生成的蔗糖通过韧皮部从叶片运输到根瘤中富含侵染细胞的皮层部位进行卸载,在这一过程中蔗糖合成酶参与到其中。接着蔗糖被蔗糖合成酶裂解形成 UDP-G 和果糖后经过复杂的反应形成有用的碳代谢产物被根瘤菌利用,因此侵染中心蔗糖的含量与根瘤的固氮活性密切相关^[16]。

蔗糖合成酶所涉及的蔗糖代谢对提高大豆根瘤的固氮活性发挥了重要作用。González 等^[17]发现大豆在干旱条件下,根瘤中的蔗糖合成酶基因的表达量和酶活大大降低,根瘤的固氮活性也随之降低; Gordon 等^[18-19]同样发现大豆在干旱、高盐等逆境条件下,根瘤的固氮活性与根瘤中蔗糖合成酶的活性密切正相关,蔗糖合成酶活性的增加可以保证环境中蔗糖浓度的增加从而减轻逆境胁迫带来的危害。大豆 *ENOD40* 基因在根瘤形成早期表达,对共生结瘤起到核心调控作用,该基因编码的一个多肽链可以与蔗糖合成酶结合,这种修饰作用可以增强蔗糖合成酶对蔗糖的裂解活性,从而调节根瘤固氮过程中对蔗糖的吸收和利用^[20-21]。

此外,研究发现蔗糖直接影响根瘤的固氮活性和发育进程。对大豆进行黑暗处理 1 d 时,根瘤中葡萄糖含量基本没有变化,但蔗糖含量下降了 60%,根瘤的固氮活性也大大下降;向黑暗处理的大豆施加 50 mmol·L⁻¹ 蔗糖后,根瘤的固氮活性逐渐增高^[22-23]。Fujikake 等^[24]用水培法培养大豆,当向培养基中加入氮素后,根瘤的生长速度大大减弱,随后向培养基中加入蔗糖,这种现象大大缓和,说明根瘤生长速度需要合适的碳氮比。蔗糖作为大豆光合作用的主要产物在根瘤生成过程中发挥了重要的作用。

蔗糖不仅可以作为能源物质为结瘤过程提供能源,还能作为信号分子激活或抑制结瘤相关基因的表达^[25]。大豆 *GmNMHC5* 基因属于 MADS-box 家族一员,研究发现,该基因在大豆发状根中过表达后能够显著促进侧根以及根瘤的发育,而且该基因与蔗糖之间存在交互调控,说明受蔗糖调控的应答基因对糖信号的响应不仅仅是单向的关系,某些

基因的表达反过来可能又会调节植物体内蔗糖的水平,这种交互关系对植物体生长发育的协同调控起到了重要的作用^[26]。

叶片将光合产物合理地分配给大豆形态学的两端,决定了大豆开花和结瘤有条不紊地进行。即蔗糖通过在地上部和地下部的积累对大豆开花、结瘤过程进行协同调控,在这一过程中蔗糖合成酶等蔗糖代谢通路中的关键酶的活性起到了关键性的作用,具体的蔗糖转化机理和对大豆开花、结瘤的协同调控作用机制尚需进一步的研究。

2 植物激素对大豆开花、结瘤过程的调控

植物激素是由植物自身代谢产生的一类有机物质,能够自产生部位移动到作用部位,在极低浓度下就能对植物的生长发育起到明显的生理效应。目前,植物激素对大豆开花和结瘤过程的作用机制受到研究者们越来越多的关注。

2.1 生长素(auxin)对大豆开花、结瘤过程的调控

生长素是植物生长重要的调节剂,调控植物的生长发育。在植物体内生长素的作用类似长日照条件,早在1964年Greer等^[27]用萘乙酸(NAA)处理大豆时发现NAA能够显著延迟大豆开花和结实。在Wong等^[14]的研究中发现,花诱导前在顶端分生组织中存在IAA,色氨酸合成酶基因、生长素运输载体基因以及大量生长素响应基因表达量的增加,说明顶端分生组织的生长素水平升高参与到大豆花起始发育过程。在大豆花萼脱落方面,生长素表现的效果与细胞分裂素相反,Nonokawa等^[28]的研究发现生长素能够加速大豆花萼的脱落。然而,Oberholster等^[29]的研究显示生长素的作用相反。说明生长素在调控大豆花萼脱落方面的作用的结论存在矛盾,这可能是由于大豆基因型以及生长环境的差异所导致的。

生长素参与了根瘤形成的不同阶段,主要调控细胞的分裂、分化以及维管束的形成。大豆中的研究表明在根瘤原基中尖端的生长素浓度最高,而在成熟根瘤中生长素在根瘤外缘积累^[30]。在对豆科植物根瘤发育研究中发现,根瘤菌接种几小时内在根部接种位置的IAA瞬时运输被抑制,而在皮层细胞分裂之前接种区的IAA又开始累积^[31]。Ghosh等^[32]研究发现,IAA前体物质色氨酸在根中含量要比根瘤中少,并且根中IAA氧化酶和过氧化酶的量要比根瘤中高,从而导致成熟根瘤中的IAA含量比根中高。通过对IAA响应基因*GH3*启动子表达模

式分析发现,IAA主要分布在分裂的皮层细胞中^[33]。Billy等^[34]研究发现生长素输入载体AUX1调控了生长素从侧根维管束运输到根瘤原基发挥作用。

根瘤菌侵染大豆根时也会产生生长素,对根瘤的形成及成熟过程发挥了重要的作用。根瘤菌的生长与IAA的产生往往是同时的,随着根瘤菌生长到稳定期,IAA的生成量达到最高之后逐渐下降,这可能是由于IAA降解酶导致的,因此,根瘤菌产生的IAA对于根瘤菌与豆科植物根系之间共生结瘤至关重要^[31]。Subramanian等^[35]研究发现,大豆慢生根瘤菌可以产生较高水平的IAA作用于根瘤的发育,提高根瘤的固氮活性。Datta^[36]的研究表明根瘤菌产生的生长素能够刺激根部皮质细胞的分裂并且促进根瘤发育。

2.2 赤霉素(gibberellins, GA)对大豆开花、结瘤过程的调控

赤霉素(GA)在模式植物拟南芥中促进开花的机制已经获得了深入的研究。大豆作为典型的短日照作物,其开花途径中的光周期反应和赤霉素(GA)反应对提高大豆产量起到很重要的作用,然而赤霉素对大豆开花途径的调控并未获得深入研究。Suo等^[37]在大豆中过表达拟南芥*AtDREB1A*基因后发现,转基因植株表现出赤霉素缺陷表型,体内赤霉素合成相关基因表达量降低、赤霉素活性抑制,并导致了大豆晚花现象。Sun等^[38]的研究发现,大豆开花诱导阶段叶片以及顶端分生组织中GA水平升高,说明GA对大豆开花诱导也起到了重要的作用。Huff等^[39]的研究指出适当浓度赤霉素可以促进大豆荚的形成。GAs还可以通过与基因相互调控影响开花,GAMYB是赤霉素信号通路的正向调控子,在大豆中GAMYB结合蛋白基因*GmGBP1*的表达量受GAs的正调控,同时赤霉素信号会受*GmGBP1*基因的诱导增强,当*GmGBP1*过表达时会促进开花并引起包括株高增高在内的赤霉素反应表现^[40]。

早期研究表明赤霉素能够促进大豆根瘤的生成。在大豆根瘤早期,GA合成途径中关键基因*GmGA3ox 1a*和*GmGA20ox a*表达量也出现了上调,接种后12 h达到峰值,随后逐渐下降,而且*GmGA20ox a*具有根瘤特异性,这些基因可以提高GA的合成量,进而调控了大豆结瘤^[41]。Méndez等^[42]的研究发现,大豆慢生根瘤菌在侵染大豆根部形成根瘤时会合成赤霉素GA₉,说明赤霉素也可以

由根瘤菌合成。

2.3 细胞分裂素 (cytokinins, CK) 对大豆开花、结瘤过程的调控

细胞分裂素在某些情况下能够诱导开花。细胞分裂素对调控大豆开花结荚起到重要的作用,内源细胞分裂素的水平与大豆花的脱落与形成有密切的关联^[43]。外施细胞分裂素也可以刺激大豆花器官的产生并且能够有效防止大豆花的早落,Nagel等^[44]在大豆开花期外施 6-BA 显著提高了大豆的产量,说明细胞分裂素在植物体内可以重新分配至不同的库器官,增强积累量从而防止大豆发育的花和荚的脱落。

在结瘤方面,细胞分裂素属于正向调控信号分子。研究表明细胞分裂素能够促进细胞分裂调控根形态的建成包括维管组织的发育、侧根原基的生成以及根瘤的形成^[45]。在对根瘤发育过程的研究中发现,细胞分裂素磷酸化信号途径参与了结瘤因子信号通路的下游网络^[46]。当大豆处于干旱胁迫时通过外施结瘤因子可以稳定根部细胞分裂素的浓度,从而保证大豆正常进行结瘤固氮^[47]。同时,细胞分裂素能够诱导共生相关基因的表达来影响结瘤,比如 *GmCLE* 基因参与大豆结瘤自主调控途径,同时又受到细胞分裂素的诱导表达^[48]。有研究表明,在豆科植物根部外施细胞分裂素后能够诱导生成根瘤结构^[49]。相反,Sasaki 等^[50]的研究表明,根瘤菌侵染过程中会使茎中细胞分裂素的含量增高,而茎中的细胞分裂素又会通过抑制 TML 蛋白负调控结瘤过程、限制根瘤的数目,说明在豆科植物自主调控机制中细胞分裂素的茎-根长距离运输发挥了重要调控作用,以保证结瘤过程中养分和能量的平衡。

2.4 其它植物激素对大豆开花、结瘤过程的调控

乙烯和脱落酸 (abscisic acid, ABA) 属于植物体内的应激激素,二者之间也存在一个负反馈调节环,乙烯可以在非生物逆境环境下通过抑制内源赤霉素的量来抑制开花^[38]。程云清等^[51]的研究发现外施乙烯能够显著抑制大豆花粉的育性,可能与光合产物向花芽组织中运输受阻相关。脱落酸作为植物体内重要的逆境调节因子,在大豆花序发育阶段,顶端分生组织中的脱落酸水平升高,并且这种改变与蔗糖调控相关^[38, 52]。Wong 等^[14]的研究发现在大豆生殖生长阶段顶端分生组织中 ABA 含量升高,推测在大豆中 ABA 属于开花促进信号分子,但 ABA 参与开花起始过程的机制并没有得到很好

的解释。

在豆科植物中的研究表明乙烯、水杨酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 以及脱落酸通过调控根表皮细胞对根瘤菌的反应而抑制根瘤菌的入侵^[53]。乙烯作为一种气态的植物激素在结瘤过程中受根瘤菌的诱导,并负调控根瘤过程。研究发现,乙烯能够抑制结瘤因子的信号转导从而降低了根瘤菌的侵染水平,抑制了根毛卷曲、钙尖峰信号、侵染线的伸长以及皮层细胞的径向分裂,最终减少了根瘤的数目^[54-55]。同时,Prayitno 等^[56]研究发现,由于在结瘤过程中乙烯影响了生长素的长距离运输以及局部运输,可以说乙烯间接参与了根瘤发育的不同阶段。

在结瘤抑制方面,茉莉酸和乙烯有类似的协同交互作用^[57]。外施茉莉酸能够抑制 ENOD11 的转录进而抑制钙尖峰信号,然而在调控钙尖峰信号方面,茉莉酸与乙烯的作用是拮抗的,这表明茉莉酸和乙烯在负调控结瘤过程存在一个复杂的交互调控网络^[58]。

外施 ABA 能够减少大豆根瘤的数量和重量,抑制根瘤的形成^[59]。Wang 等^[60]从大豆中克隆了 WNK 激酶同源物基因 *GmWNK1*,发现该基因通过参与 ABA 信号通路影响大豆侧根的形成。Cho 等^[61]在大豆中的研究表明 ABA 抑制结瘤与 ABA 抑制异黄酮合成水平一致。

水杨酸 (SA) 可以通过抑制结瘤素基因 *RIP1* 的表达来抑制根瘤的形成,而根瘤菌能够分泌水杨酸羟化酶来抑制水杨酸的作用,从而保证根瘤菌侵染形成正常数量的根瘤^[62-63]。

植物激素作为植物体内重要的调节因子,在植物的生长发育过程中发挥了重要的作用。植物维管组织被认为是植物信号分子长距离运输的通道,植物激素在维管组织中的运输,决定了茎-根之间信号的传导,激素之间的复杂作用关系决定了对大豆开花、结瘤的协同调控,但其中的作用机制尚未明确。

3 miRNA 对大豆开花、结瘤过程的调控

microRNA (miRNA) 是一类分布广泛的非编码的单链 RNAs,大小约为 22 个核苷酸,其功能是负调控基因的表达。近年来,miRNAs 在大豆开花、结瘤过程中的调控也获得了深入研究。

miR172 是植物体中一个保守的 miRNA, Yan 等^[64]在大豆根中过表达 miR172 后发现,miR172 能

够显著促进根瘤的形成并提高了根瘤的固氮活性。Subramanian 等^[65]对大豆注射慢生型大豆根瘤菌 3 h 后鉴定得到 35 个新型的 miRNAs, 在接种后 12 h 内根瘤发育的不同时期发挥了不同的调控作用, 同时他们还发现, 这些 miRNAs 作为内源的调控因子在结瘤早期通过调控生长素信号的转导来调控结瘤。在开花方面, 越来越多的研究表明 miRNAs 参与了大豆的开花调控过程。Wang 等^[66]将大豆 *gma-miR172a* 在拟南芥中过表达后, 发现其通过上调开花促进基因 *FT*、*LFY* 以及 *AP1* 的表达量而促进拟南芥开花。Cao 等^[67]研究发现在大豆中过表达 *GmmiR156b* 导致了晚花表型, 多个开花促进因子的表达受到下调。随着研究的深入, 将会有更多的影响大豆开花、结瘤过程的 miRNAs 被鉴定。

植物 miRNA 的靶基因大多参与了植物体的生长发育以及抗胁迫过程^[68]。因此, 在大豆体内 miRNAs 可能通过对靶基因的调控, 完成对开花和结瘤的协同调控。同时有研究表明 miR167 调控靶基因 *GmARF8* 响应根部生长素信号影响大豆根瘤的发育^[69]。因此 miRNAs 也可能通过调节生长素、细胞分裂素的体内平衡来调控大豆开花、结瘤过程。

4 总结与展望

开花和结瘤是豆科植物生殖生长和营养生长中极具代表性的两个生理过程, 二者在时间和空间上受到精确调控。大豆开花与结瘤过程的协同调控进行是保证大豆产量的重要前提, 研究表明植物体内由蔗糖以及植物激素等信号分子相互作用形成了一个复杂的调控网络, 通过维管组织运输共同参与了大豆开花、结瘤过程。

大豆在生殖发育和营养生长交错时期, 开花和结瘤对物质和能量需求竞争激烈, 为了保证二者能够有条不紊地进行, 植物体内的蔗糖、植物激素等信号分子发挥了重要的调控作用, 文中所阐述的信号分子在大豆开花、结瘤过程的功能和作用机制大多还处于初始阶段, 其分子作用机理仍需进行深入的挖掘研究。因此, 今后的研究应以信号分子为切入点深入大豆开花和结瘤的协同调节过程以及信号应答机制。

随着研究的不断深入, 将会有更多的作用机制被阐释, 进一步帮助我们深刻理解大豆开花、结瘤的调控机制并将其应用于实践, 为指导大豆遗传育种及栽培工作提供重要的理论依据。

参考文献

- [1] 董钻. 大豆产量生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 188-194. (Dong Z. Soybean yield physiology[M]. Beijing: Agricultural Press, 2000: 188-194.)
- [2] Wu C X, Ma Q B, Yam K-M, et al. In situ expression of the *Gm-NM7* gene is photoperiod-dependent in a unique soybean (*Glycine max*[L.] Merr.) flowering reversion system[J]. *Planta*, 2006, 223(4): 725-735.
- [3] Abd-Alla H M. Autoregulation of soybean-*Bradyrhizobium* nodule symbiosis is controlled by shoot or/and root factors[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 1999, 15: 715-722.
- [4] Kühn C, Barker L, Bürkle L, et al. Update on sucrose transport in higher plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50: 935-953.
- [5] Frommer B W, Sonnewald U. Molecular analysis of carbon partitioning in solanaceous species[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1995, 46(287): 587-607.
- [6] Seger M, Gebril S, Tabilona J, et al. Impact of concurrent overexpression of cytosolic glutamine synthetase(GS1) and sucrose phosphate synthase (SPS) on growth and development in transgenic tobacco[J]. *Planta*, 2015, 241(1): 69-81.
- [7] Roldán M, Gómez-Mena C, Ruiz-García L, et al. Sucrose availability on the aerial part of the plant promotes morphogenesis and flowering of *Arabidopsis* in the dark[J]. *The Plant Journal*, 1999, 20(5): 581-590.
- [8] Ohto M, Onai K, Furukawa Y, et al. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2001, 127: 252-261.
- [9] 董钻. 大豆栽培生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 33-51. (Dong Z. Soybean cultivation physiology[M]. Beijing: Agricultural Press, 1997: 33-51.)
- [10] 马春梅, 郭海龙, 龚振平, 等. 不同基因型大豆糖分积累规律的研究—(II)蔗糖含量积累规律研究[J]. 作物杂志, 2011(1): 25-29. (Ma C M, Guo H L, Gong Z P, et al. Sugar accumulation in soybean among different genotypes—(II) Sucrose[J]. *Crops*, 2011(1): 25-29.)
- [11] Pedra J H, Delú-Filho N, Pirovani C P, et al. Antisense and sense expression of a sucrose binding protein homologue gene from soybean in transgenic tobacco affects plant growth and carbohydrate partitioning in leaves[J]. *Plant Science*, 2000, 152: 87-98.
- [12] Ripp G K, Viitanen V P, Hitz D W, et al. Identification of a membrane protein associated with sucrose transport into cells of development soybean cotyledons[J]. *Plant Physiology*, 1988, 88: 1435-1445.
- [13] Lu Q Y, Zhao L, Li D M, et al. A *GmRAV* ortholog is involved in photoperiod and sucrose control of flowering time in soybean[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89145.
- [14] Wong C E, Singh M B, Bhalla P L. Molecular processes underlying the floral transition in the soybean shoot apical meristem[J]. *The Plant Journal*, 2009, 57(5): 832-845.
- [15] Chopra J, Kaur N, Gupta K A. Carbohydrate status and sucrose

- metabolism in mungbean roots and nodules[J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(7): 1891-1895.
- [16] Udvardi K M, Day A D. Metabolite transport across symbiotic membranes of legume nodules [J]. *The Annual Review of Plant Biology and Plant Molecular Biology*, 1997, 48: 493-523.
- [17] González E M, Gordon A J, James C L, et al. The role of sucrose synthase in the response of soybean nodules to drought[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1995, 46(291): 1515-1523.
- [18] Gordon J A, Minchin R F, Skøt L, et al. Stress-induced declines in soybean N, fixation are related to nodule sucrose synthase activity [J]. *Plant Physiology*, 1997, 114: 937-946.
- [19] López M, Herrera-Cervera J A, Lluh C, et al. Trehalose metabolism in root nodules of the model legume *Lotus japonicus* in response to salt stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 128(4): 701-709.
- [20] Röhrig H, John M, Schmidt J. Modification of soybean sucrose synthase by S-thiolation with ENOD40 peptide A[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 325(3): 864-870.
- [21] Röhrig H, Schmidt J, Miklashevichs E, et al. Soybean ENOD40 encodes two peptides that bind to sucrose synthase[J]. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 2002, 99(4): 1915-1920.
- [22] Gordon J A, Ougham J A, James L C. Changes in levels of gene transcripts and their corresponding proteins in nodules of soybean plants subjected to dark-induced stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 44(266): 1453-1460.
- [23] Ching T M, Hedtke S, Russell A S. Energy state and dinitrogen fixation in soybean nodules of dark-grown plants[J]. *Plant Physiology*, 1975, 55: 796-798.
- [24] Fujikake H, Yamazaki A, Ohtake N, et al. Quick and reversible inhibition of soybean root nodule growth by nitrate involves a decrease in sucrose supply to nodules[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(386): 1379-1388.
- [25] D'Haeseleer K, De Keyser A, Goormachtig S, et al. Transcription factor MtATB2: About nodulation, sucrose and senescence[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2010, 51(9): 1416-2144.
- [26] Liu W, Han X D, Zhan G, et al. A novel sucrose-regulatory MADS-Box transcription factor *GmNMHC5* promotes root development and nodulation in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(9): 20657-20673.
- [27] Greer H A L. Effect of growth regulators on reproduction in soybean[J]. *Retrospective Theses and Dissertations*, 1964: 2708.
- [28] Nonokawa K, Kokubun M, Nakajima T, et al. Roles of auxin and cytokinin in sybean pod setting [J]. *Plant Production Science*, 2007, 10(2): 199-206.
- [29] Oberholster S D, Peterson C M, Dute R R. Pedicel abscission of soybean: Cytological and ultrastructural changes induced by auxin and ethephon [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1991, 69: 2177-2186.
- [30] Turner M, Nizampatnam N R, Baron M, et al. Ectopic expression of miR160 results in auxin hypersensitivity, cytokinin hyposensitivity, and inhibition of symbiotic nodule development in soybean [J]. *Plant Physiology*, 2013, 162(4): 2042-2055.
- [31] Ferguson B J, Mathesius U. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2014, 40(7): 770-790.
- [32] Ghosh S, Basu P S. Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of *Phaseolus mungo* [J]. *Microbiological Research*, 2006, 161(4): 362-366.
- [33] Pacios-Bras C, Schlaman H R. M, Boot K, et al. Auxin distribution in *Lotus japonicus* during root nodule development [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52: 1169-1180.
- [34] Billy F, Grosjean C, May S, et al. Expression studies on *AUX1*-like genes in *Medicago truncatula* suggest that auxin is required at two steps in early nodule development [J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2001, 14(3): 267-277.
- [35] Subramanian P, Kim K, Krishnamoorthy R, et al. Endophytic bacteria improve nodule function and plant nitrogen in soybean on co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* MN110 [J]. *Plant Growth Regulation*, 2014, 76(3): 327-332.
- [36] Datta C, Basu P S. Indole acetic acid production by a Rhizobium species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan* [J]. *Microbiological Research*, 2000, 155(2): 123-127.
- [37] Suo H C, Ma Q B, Ye K X, et al. Overexpression of *AtDERB1A* causes a severe dwarf phenotype by decreasing endogenous Gibberellin levels in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45568.
- [38] Sun M-x, Wong C E, Singh M B, et al. The dynamics of soybean leaf and shoot apical meristem transcriptome undergoing floral initiation process [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65319.
- [39] Huff A, Dybing D C. Factors affecting shedding of flowers in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1980, 31(122): 751-762.
- [40] Zhao L, Wang Z, Lu Q, et al. Overexpression of a *GmGBP1* ortholog of soybean enhances the responses to flowering, stem elongation and heat tolerance in transgenic tobaccos[J]. *Plant Molecular Biology*, 2013, 82(3): 279-299.
- [41] Hayashi S, Reid D E, Lorenc M T, et al. Transient Nod factor-dependent gene expression in the nodulation-competent zone of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) roots [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(8): 995-1010.
- [42] Méndez C, Baginsky C, Hedden P, et al. Gibberellin oxidase activities in *Bradyrhizobium japonicum* bacteroids[J]. *Phytochemistry*, 2014, 98: 101-109.
- [43] Noodén L D, Singh S, Letham D S. Correlation of xylem sap Cytokinin levels with monocarpic senescence in soybean [J]. *Plant Physiology*, 1990, 93: 33-39.
- [44] Nagel L, Brewster R, Riedell W E, et al. Cytokinin regulation of flower and pod set in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) [J]. *Annals of Botany*, 2001, 88: 27-31.
- [45] Bishopp A, Help H, Helariutta Y. Chapter 1 Cytokinin signaling during root development[J]. 2009, 276: 1-48.

- [46] Frugier F, Kosuta S, Murray J D, et al. Cytokinin: Secret agent of symbiosis [J]. Trends in Plant Science, 2008, 13 (3): 115-120.
- [47] Prudent M, Salon C, Smith L D, et al. Nod factor supply under water stress conditions modulates cytokinin biosynthesis and enhances nodule formation and N nutrition in soybean[J]. Plant Signaling & Behavior, 2016, 11(9): e1212799.
- [48] Mortier V, Fenta B A, Martens C, et al. Search for nodulation-related *CLE* genes in the genome of *Glycine max*[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(8): 2571-2583.
- [49] Heckmann A B, Sandal N, Bek A S, et al. Cytokinin induction of root nodule primordia in *Lotus japonicus* is regulated by a mechanism operating in the root cortex[J]. Molecular Plant Microbe Interactions, 2011, 24(11): 1385-1395.
- [50] Sasaki T, Suzaki T, Soyano T, et al. Shoot-derived cytokinins systemically regulate root nodulation[J]. Nature Communication, 2014, 5: 4983.
- [51] 程云清, 张奇, 刘剑锋, 等. 外源乙烯调控大豆花粉育性的研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2014, 40(1): 25-32. (Cheng Y Q, Qi Zhang, Liu J F, et al. Studies on pollen fertility regulated by exogenous ethylene in soybean (*Glycine max* L. Merrill) [J]. Journal of Zhejiang University (Agricultural and Life Science), 2014, 40(1): 25-32.
- [52] Rook F, Hadingham S A, Li Y, et al. Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression[J]. Plant, Cell and Environment, 2006, 29(3): 426-434.
- [53] Oldroyd G E, Downie J A. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 519-546.
- [54] Oldroyd G E. D, Engstrom E M, Long S R. Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*[J]. The Plant Cell, 2001, 13: 1835-1849.
- [55] Heidstra R, Yang W C, Yalcin Y, et al. Ethylene provides positional information on cortical cell division but is not involved in Nod factor-induced root hair tip growth in *Rhizobium-legume* interaction[J]. Development, 1997, 124: 1781-1787.
- [56] Prayitno J, Rolfe B G, Mathesius U. The Ethylene-insensitive sickle mutant of *Medicago truncatula* shows altered auxin transport regulation during nodulation[J]. Plant Physiology, 2006, 142 (1): 168-180.
- [57] Ding Y L, Oldroyd G E D. Positioning the nodule, the hormone dictum[J]. Plant Signaling and Behavior, 2009, 4(2): 89-93.
- [58] Sun J, Cardoza V, Mitchell D M, et al. Crosstalk between jasmonic acid, ethylene and Nod factor signaling allows integration of diverse inputs for regulation of nodulation[J]. Plant Journal, 2006, 46(6): 961-970.
- [59] Cho M J, Harper J E. Effect of abscisic acid application on root isoflavonoid concentration and nodulation of wild-type and nodulation-mutant soybean plants[J]. Plant and Soil, 1993, 152: 145-149.
- [60] Wang Y, Suo H, Zheng Y, et al. The soybean root-specific protein kinase GmWNK1 regulates stress-responsive ABA signaling on the root system architecture[J]. Plant Journal, 2010, 64(2): 230-242.
- [61] Cho J M, Harper E J. Effect of abscisic acid application on root isoflavonoid concentration and nodulation of wild-type and nodulation-mutant soybean plants[J]. Plant and Soil, 1993, 152: 145-149.
- [62] Martínez-Abarca F, Herrera-Cervera J A, Bueno P, et al. Involvement of salicylic acid in the establishment of the *Rhizobium meliloti*-Alfalfa symbiosis[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1998, 11(2): 153-155.
- [63] Stacey G, McAlvin C B, Kim S Y, et al. Effects of endogenous salicylic acid on nodulation in the model legumes *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula*[J]. Plant Physiology, 2006, 141(4): 1473-1481.
- [64] Yan Z, Hossain M S, Wang J, et al. miR172 regulates soybean nodulation[J]. Molecular Plant Microbe Interactions, 2013, 26 (12): 1371-1377.
- [65] Subramanian S, Fu Y, Sunkar R, et al. Novel and nodulation-regulated microRNAs in soybean roots[J]. BMC Genomics, 2008, 9(1): 160.
- [66] Wang T, Sun M Y, Wang X S, et al. Over-expression of *GmGla*-regulated soybean *miR172a* confers early flowering in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(5): 645.
- [67] Cao D, Li Y, Wang J, et al. GmmiR156b overexpression delays flowering time in soybean[J]. Plant Molecular Biology, 2015, 89 (4): 353-363.
- [68] Simon S A, Meyers B C, Sherrier D J. MicroRNAs in the *Rhizobia* legume symbiosis[J]. Plant Physiology, 2009, 151(3): 1002-1008.
- [69] Wang Y N, Li K X, Chen L, et al. MicroRNA167-directed regulation of the auxin response factors *GmARF8a* and *GmARF8b* is required for soybean nodulation and lateral root development[J]. Plant Physiology, 2015, 168: 101-116.