



大豆炸荚特性及调控机制研究进展

涂冰洁^{1,2}, 刘晓冰¹, 刘长锴^{1,2}, 王 雪^{1,2}, 李彦生¹, 张秋英¹

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 为了探究大豆炸荚的形态学特征和调控机制, 本文从荚的表观形态、解剖结构和荚壁的形态学, 炸荚的物理张力、荚果水分含量和环境相对湿度中的作用, 调控炸荚的关键酶和内源激素的生理学以及炸荚基因的定位、标记和克隆等分子生物学的角度, 重点综述了有关大豆炸荚特性研究的最新进展, 讨论了相关作物的研究成果, 并展望了今后大豆炸荚研究需要重视的几个方面, 为解析大豆炸荚机制和创制抗炸荚的大豆新种质提供参考。

关键词: 大豆; 炸荚; 开裂区; 基因; 调控机制

A Review of Pod Dehiscence Characteristics and Regulation Mechanism in Soybean

TU Bing-jie^{1,2}, LIU Xiao-bing¹, LIU Chang-kai^{1,2}, WANG Xue^{1,2}, LI Yan-sheng¹, ZHANG Qiu-ying¹

(1. Key Laboratory of Mollisols Agroecology/Northeast Institute of Geography and Agroecology Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The objective of this study was to understand the anatomical characteristics and control mechanism of pod dehiscence in soybean. The latest research progress of pod morphology, pod wall and anatomy, tensions, pod moisture as well as environmental relative humidity in relation to pod dehiscence in soybean were summarized. The regulation of key enzymes and endogenous hormones and genic localization and cloning of pod-dehiscence genes were also discussed. The pod shattering research achievements in other crops were involved. Several key issues were proposed for further investigation. Hopefully, the article can provide reference for understanding the mechanism of pod dehiscence and creating pod-resistant germplasm in soybean.

Keywords: Soybean; Pod shattering; Dehiscence zone; Genes; Regulation mechanism

炸荚也称为裂荚, 是指作物收获之前, 荚果沿着腹缝线和背缝线裂开, 使种子散播的现象。炸荚是许多野生植物繁衍后代的重要特性, 也是导致某些驯化作物产量损失的主要原因之一^[1-3]。炸荚现象在豆科(大豆、豌豆等)、禾本科(水稻等)和十字花科(拟南芥、油菜等)等作物中均有发生^[4-7]。早在 1989 年印度学者就进行了有关大豆炸荚造成产量损失的研究, 统计了热带和亚热带大豆种植区大豆炸荚造成的损失, 发现易炸荚和中度炸荚大豆品种的田间产量损失分别为 57 ~ 175 kg·hm⁻² 和 0 ~ 186 kg·hm⁻²^[8]。我国黄淮流域主栽大豆品种因炸荚造成的田间产量损失约为 112.5 kg·hm⁻²^[9]。同时有国外学者报道, 在干燥的天气收割易炸荚的大豆品种时会致使产量损失 50% ~ 100%^[10], 由此可见, 炸荚给国内外栽培大豆带来的产量损失不容小觑。相关研究表明在野生型及小粒大豆中, 炸荚现象较为普遍^[11-13], 但是一些地方大粒品种和菜用大豆专用品种, 由于不同的生态适应性使得在收获和制种时也会出现炸荚现象, 炸荚损失一般都在 7% ~ 13% 以上, 高者达到 90% 以上。由此可见大豆炸荚

现象的发生增加了生产成本, 严重制约着各类大豆产业的发展。解决大豆炸荚的问题是我国大豆生产和研究中需要重视的主要问题之一。本文以大豆为重点, 兼顾相关作物, 阐述了荚的表观形态、荚的解剖结构特征与炸荚的关系, 剖析了炸荚的物理张力和环境中相对湿度的作用, 总结了与炸荚相关的酶和激素以及炸荚基因的定位、标记和克隆的最新研究进展, 旨在为炸荚机理的研究和抗炸荚大豆新种质的创制和品种培育提供参考。

1 荚的形态

荚果的形态学包括表观形态学和微观形态学, 微观形态学也称为解剖学。荚果表观形态学和解剖学的特征都与炸荚的机制密切相关, 但是解剖学的特征要比形态学的特征更为重要。

1.1 荚果的表观形态学研究

大豆的表观形态学主要包括荚长, 荚宽, 荚的厚度(图 1), 以及荚果的弯曲程度。荚果的表观形态学特征可能与炸荚的发生有关, 在豆科作物中, 豆荚较长或者弯曲程度较大呈弯镰型的荚果不易

收稿日期: 2018-11-01

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0100201-28)。

第一作者简介: 涂冰洁(1991-), 女, 博士, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: 1032559754@qq.com。

通讯作者: 张秋英(1962-), 女, 博士, 研究员, 主要从事大豆生理育种研究。E-mail: zhangqiuying@iga.ac.cn。

炸荚。在十字花科的油菜籽中,荚角、荚长、荚宽和荚的厚度也影响炸荚的发生^[14]。随着相关研究的不断深入,一些学者们发现荚果的宽厚比是调控炸荚的重要因素^[15]。Lou 等^[16]发现大豆的炸荚率与豆荚的宽厚比呈负相关,Tsuchiya^[17]发现在抗炸荚的大豆品种中,荚果的宽厚比普遍较小,但是较小的宽厚比是否会抑制炸荚的发生并没有得到证实。在豌豆中,易炸荚和抗炸荚品种豆荚的宽厚比并没有显著的差别^[18-19]。因此也有一些学者认为,炸荚的发生与荚果的宽厚比没有直接关系。

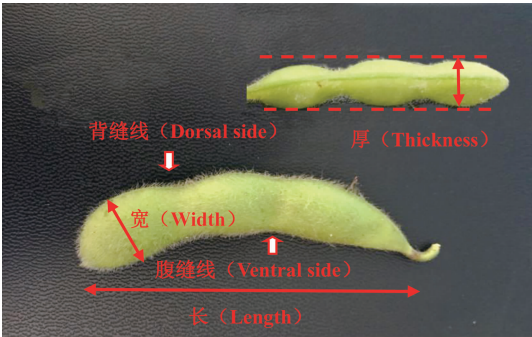
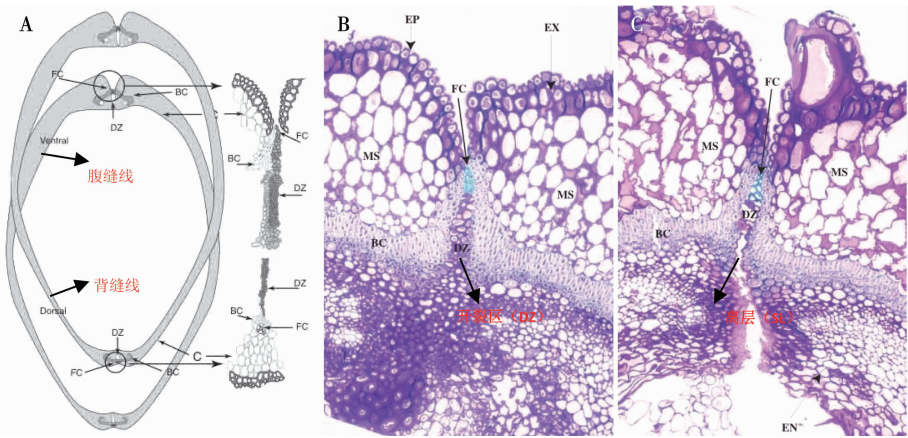


图1 大豆荚参数测量界定
Fig.1 Schematic illustration of soybean pod and parameters measured

1.2 荚果的解剖结构

1.2.1 荚果的微观组成 豆荚是由包含两片瓣膜的单心皮组成,中央的空腔是包含种子的地方。分离的两个瓣膜之间通过背侧缝线和腹侧缝线(图1和图2A)的薄壁组织连接在一起,完熟期时,豆荚从此处裂开^[5,19]。在大豆荚皮中,背部缝线包含着一个心皮的主脉,而腹部的缝合线是由两个主要的纤维丛组成,相当于单心皮边缘的静脉^[20]。大豆荚果绿色生长时期(图2B),木质化的细胞中间有一个瓣膜边缘细胞组成的狭窄区域,这个区域被称为开裂区(dehiscence zone);在黄色成熟期,开裂区演变为大约有2个细胞层厚的非木质化的离层(SL)^[5,21](图2C)。离层的薄壁组织分离使得荚果开裂,释放出成熟的种子^[20,22]。研究认为,在促进豆荚开裂的过程中,离层是不可缺少的重要结构,离层的退化可以提高抗炸荚的能力^[18]。Christiansen等^[5]对大豆这2个成熟时期的荚皮背缝线和腹缝线横切面的微观结构进行分析,发现大豆豆荚的开裂区域在功能上等同于十字花科作物中使两片瓣膜边缘分开的开裂区。开裂区是影响炸荚发生的重要区域,探究开裂区及周围组织的特点有助于探究炸荚发生的解剖学机制。



BC:包帽;EN:内果皮;EP:表皮;EX:外果皮;DZ:开裂区;FC:纤维帽;MC:中果皮;C:心皮。
图片来源:Christiansen 等^[5]。

BC: Bundle cap; EN: Endocarp; EP: Epidermis; EX: Exocarp; DZ: Dehiscence zone; FC: Fibre cap cells; MC: Mesocarp; C: Carpel. The picture is from Christiansen, et al. ^[5] .

图2 大豆荚背缝线和腹缝线的横切面(A)及大豆荚背缝线开裂区绿色生长期(B)和成熟期(C)的解剖结构

Fig.2 Schematic representation of cross – sections of dorsal and ventral pods (A) and light micrographs of dorsal dehiscence zone at fully grown green stage (B) and mature yellow pod stage (C) in soybean

开裂区的参数与炸荚密切相关。Tiwari 和 Bhatia^[20]最早发现了易炸荚的成熟大豆荚皮中,两片瓣膜之间包帽中的薄壁组织细胞退化,且大豆荚皮缝线处包帽的长度、厚度以及豆荚壁的厚度与炸荚程度呈极显著负相关。研究发现,所用供试的大

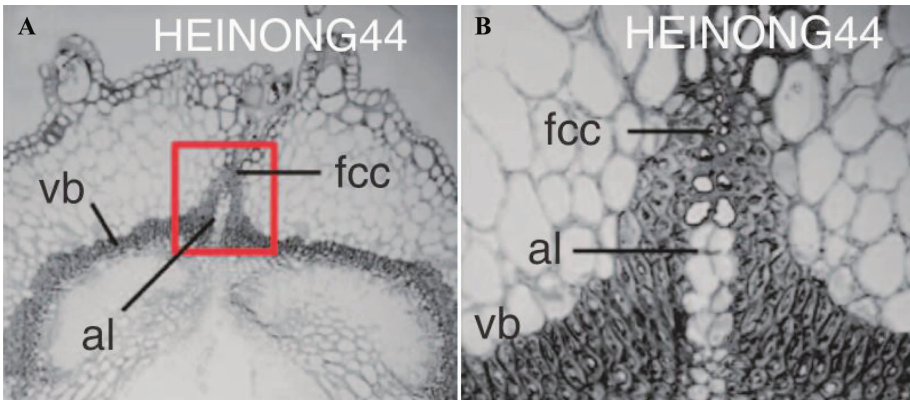
豆品种荚果开裂的程度越大,对炸荚就越敏感。然而,并没有证实退化的薄壁组织细胞层是否就是开裂区。与此研究相反,Suzuki 等^[19]发现,在近等基因系中,包帽区域的细胞层没有明显的区别,包帽的长度和厚度与炸荚的程度并没有关系。

1.2.2 炸荚的发生 Yang 等^[23]提出了三叶型的牛角花荚果的开裂与中果皮的木质化程度密切相关;Child 等^[24]也发现在油菜籽的荚果中,炸荚的程度随着开裂区(DZ)木质化程度增加而增加。研究者认为大豆炸荚的过程是从背缝线开始的,因为腹缝线的开裂区并没有跨越中果皮,豆荚腹部的炸裂要比背部需要更大的推动力^[16-17,19],所以大豆更易于从背部炸裂。然而,箭舌豌豆豆荚的炸裂却是从荚皮腹缝线开始的^[25]。油菜籽荚果的炸裂是从荚的底部或者尖端开始的,一直沿着开裂区不断延伸,直到两片瓣膜完全分开^[26]。当油菜籽的荚果张开的时候,开裂区的细胞自由的漂浮在细胞外的基质中,初生壁严重变薄^[22,27-28],在特定的细胞层退化进而促进豆荚开裂的过程中,薄壁细胞层和开裂区扮演着相同的角色。

1.2.3 荚壁 荚壁的分化对于开裂区细胞之间胞间层的退化是必不可少的。荚壁可以分为3个功能层,即外果皮、中果皮和内果皮^[1]。外果皮是由一层单细胞组成的表皮层,它被气孔填充,促进荚皮与外界进行气体交换;中果皮是含有大量叶绿体的绿色薄壁组织细胞层;而内果皮由2个不同的细胞层组成,表层(ena)是薄壁细胞,内层(enb)是小而紧密的浓集细胞,从而形成了几个背斜的细胞区^[29]。Brecheisen^[30]对百脉根属刺参的荚皮解剖结构进行分析,发现荚皮解剖结构中的薄壁组织、皮下组织和表皮层似乎对荚果的炸裂没有直接的影响。

对三叶型牛角花而言,炸荚的主要原因被认为

是荚壁细胞方向的改变,主要是不同程度的膨胀和收缩^[31]。在大豆中,荚皮腹缝线离层中连接两片瓣膜的纤维帽细胞的过度木质化增加了临近细胞的粘结强度,进而形成了栽培大豆抗炸荚的特点。在抗炸荚的大豆品种中,纤维帽细胞的次生壁显著增厚,但在易炸荚的大豆品种中并没有发现这一特点^[6,32]。在箭舌豌豆荚皮腹缝线的解剖结构中,并没有纤维帽细胞,但是有一个全新的结构——外部瓣膜边缘细胞,它由2~4层平行的细胞组成,并均匀分布在两片瓣膜的边缘。细胞壁的外层变厚,而内层未改变,这些增厚的外部瓣膜边缘细胞更加有力的连接两片瓣膜,意味着细胞壁过度的增厚可以显著地增加两片瓣膜之间的连接力,防止豆荚炸裂。因此,外部瓣膜边缘细胞是豌豆抗炸荚研究中十分关键的结构^[18]。研究发现,抗炸荚的大豆品种荚皮缝合线的位置隐藏着一个很浅的楔形物(图3中红框中的部位为楔形区域)^[17],可能与炸荚有关。但是,Suzuki 等^[19]发现,易炸荚和抗炸荚荚果缝合线处的楔形物的任何参数都没有明显的区别。也有研究表明,大豆荚壁的厚度和荚皮背缝线维管束帽细胞厚壁组织的长度与炸荚有关^[16],但在其它豆科作物中还并没有得到验证。如果这一现象真实存在,将会给炸荚的鉴定和培育抗炸荚的品种带来很多帮助。由此可见,木质化的纤维帽细胞和中果皮的结构在防止荚果开裂中都扮演了非常重要的角色,外部瓣膜边缘细胞和一些未知的结构及其作用也值得进一步探讨。



al: 离层;fcc:纤维帽细胞;vb:维管束。图片来源: Dong 等^[6]。B 图为 A 图中红框部位放大区域。

al: Abscission layer; vb: Vascular bundle; fcc: Fiber cap cells. Picture from Dong, et al. ^[6]. B is magnified views of A.

图3 大豆荚皮腹缝线解剖结构(A)和离层楔形物区域(B)

Fig.3 Semi – thin cross sections of soybean ventral suture of pods (A) and the shallow wedge (B)

2 影响炸荚的主要因素

炸荚的发生是荚果本身的特性和周围环境因素共同作用的结果。荚果的张力和环境中的相对湿度是炸荚发生的物理作用力。

2.1 炸荚发生的张力

豆科和十字花科植物荚果的内表皮和外表皮失水变干,这时产生的特殊力学性能就是张力^[32]。炸荚的发生是由于荚果水分含量相对较低,致使豆荚的内生厚壁组织层细胞的张力发生改变。这种荚皮内的张力是在干旱诱导下内果皮和外果皮表面发生不同程度收缩时形成的^[33]。这种张力存在并垂直于内果皮的纤维细胞层中,也就是在内部缝合线对角线的方向产生的^[34]。炸荚的张力主要来自荚壁^[35],而瓣膜边缘木质化细胞层和单层木质化瓣膜细胞共同增加了瓣膜从胚座框炸裂的张力^[29]。张力是炸荚发生的主要推动力,减小炸荚过程中荚果因失水产生的张力,就能有效的抑制荚果的炸裂。

炸裂过程出现在非同源组织、断裂处有很多小细胞连接在一起的离层和周围组织木质化的细胞中,这些结构对荚果的开裂和脱落过程都有非常重要的作用^[36-37]。所以对豆科作物而言,无论是木质化的内层厚壁组织,还是果胶丰富的外果皮都是影响炸荚的重要因素。内层厚壁组织层和外果皮层发育程度、细胞排列方式以及组织学特征,比如细胞壁的厚度、组成、木质化程度和水合作用都是形成张力所需的重要因素。细胞之间粘附力弱化并且与周围组织的张力相互间的物理作用力引发离层细胞脱落,这种张力与不同的化学组成和荚果的结构有关^[29]。当荚壁的张力超过了两片瓣膜之间的粘结强度时,荚果开裂并散播出种子^[6,32]。

荚果炸裂时形成的张力与荚皮的化学组成和保水能力有关,Romkaew 等^[38]发现,易炸荚与抗炸荚的大豆品种荚皮纤维素含量和荚皮保水能力差别很大,易炸荚的品种纤维素的含量较高而且保水能力差。因为张力的差异长豇豆和野生豇豆荚皮中的不同化学组成及特征也与炸荚相关^[39]。

2.2 荚果水分含量和环境相对湿度

2.2.1 荚果含水量 荚果的开裂主要受荚皮含水量的影响^[40],因为含水量的变化会引起张力改变^[41-43]。Buckovic^[44]提出百脉根荚果的开裂由不同组织的水分损失引起,其中薄壁细胞的失水率远远高于纤维状细胞。研究表明大豆收获时含水量降低,炸荚率升高从而会增加大豆收割时的损失^[45]。Romkaew 等^[46]研究表明大豆成熟期茎秆含水量高时,豆荚不炸裂,成熟期以后主茎失水严重,豆荚含水量减少,导致主茎上部分豆荚炸裂频率增

加。一系列研究说明茎秆和豆荚的水分含量是控制炸荚的主要因素。

2.2.2 环境湿度 周围环境的相对湿度(RH)会影响荚果的含水量,这是影响炸荚发生的最重要的环境因素。在低湿度条件下,成熟的大豆荚沿着背缝线和腹缝线开裂,释放出种子。有研究表明当周围环境的相对湿度低于40%,成熟的荚果易发生炸裂^[47]。天气晴朗时,豆荚表面的温度要比环境空气中的温度高50℃左右,这导致豆荚表面相对湿度的改变^[48],从而导致炸荚的发生。还有研究表明法国牛角花荚果在低温高湿时的炸荚率要明显低于高温低湿时^[48-49]。但是1961年 Gershon^[50]发现,温室里种植的牛角花的炸荚率与相对湿度没有关系,但1996年 Grant 等^[51]通过牛角花大田试验发现大田里牛角花荚果炸荚率与相对湿度有关。Romkaew 等^[46]发现,相对湿度与炸荚的程度密切相关,相对湿度小于25%促进荚果开裂,相对湿度高于50%可以抑制炸荚的发生。

在大豆荚壁失水变干的过程中,有两个因素导致炸荚的发生,一个是荚皮粘结力方向发生了改变,另一个就是炸荚驱动力的产生。干燥条件下,荚壁失水收缩并且沿着垂直于轴线纤维方向的垂直面卷曲,这种干燥荚壁的扭曲力是低湿度条件下发生炸荚的主要驱动力^[2]。因此,炸荚发生的首要因素是荚果和大气中的水分平衡。但荚果含水量和周围环境的相对湿度仅是致使炸荚发生的物理作用力,而其它影响炸荚的因素还有待进一步研究。

为了改变荚果水分含量和环境中的相对湿度对炸荚的影响,可以适时收获,适当喷水或干燥剂来减少炸荚造成的损失,但是操作不当还会出现荚皮发霉或者成本昂贵等问题^[52-54]。

3 炸荚的生理学研究

裂荚的发生不仅受荚果内部结构和外界环境的影响,还受到荚果细胞内酶的调节。因此炸荚是一个复杂的物理作用和生理生化反应共同发生的过程。生理生化反应一般包括开裂区细胞壁的降解、细胞之间粘着力弱化和内源激素的变化等。Christiansen 等^[5]对大豆的荚果发育过程进行了深入研究,将其分为3个阶段,第一阶段为绿色荚果生长时期,这一时期荚果在背缝线和腹缝线处形成离区;第二阶段是黄色荚果成熟期,这一时期离区细胞的胞间层和细胞壁开始降解,细胞开始失水使得离层细胞互相分离;第三阶段是褐色荚果衰老期,这个时期离层细胞经过失水和降解后,出现大量断裂,使得荚果开裂。一些细胞壁修饰酶类是影响开裂区细胞退化和降解的重要物质,而内源激素的变

化也可能参与此过程。

3.1 影响炸荚的关键酶

如上所述,开裂区是与炸荚相关的重要区域,发生炸荚并散落出种子多数是因为开裂区和胞间层细胞退化以及两片瓣膜之间的粘结力弱化的结果^[1,20-21]。研究发现,果胶与细胞之间的粘着力相关,在易炸荚的植物种质中发现果胶降解严重,尤其是同聚半乳糖醛酸富集的胞间层果胶的降解与炸荚密切相关^[32,55]。 β -葡萄糖酶和多聚半乳糖醛酸内切酶(endo-PG)是在炸荚过程中发挥着重要作用的两类酶。在芸苔属的植物中,易炸荚种质的开裂区葡萄糖水解酶的活性增加并且细胞壁被降解^[56]。也有研究显示, β -葡萄糖酶的转变和分配参与了离层分离的整个过程^[57]。在大豆炸荚的过程中,内源多聚半乳糖醛酸在荚果开裂之前就参与了胞间层的降解,多聚半乳糖醛酸内切酶在开裂区的表达量增加,能够催化果胶中聚半乳糖醛酸的主链,进而促进相关糖苷的水解作用,这种水解作用促进了胞间层的退化^[41]。

有研究显示,多聚半乳糖醛酸活性的增加与荚果脱落过程中细胞的分离有关^[58]。在作物成熟和衰老的过程中,增加内源-1,4- β -葡萄糖水解酶和内源多聚半乳糖醛酸酶的活性,可以显著的降低开裂区果胶的含量^[17]。这些结果显示,内源-1,4- β -葡萄糖水解酶和内源多聚半乳糖醛酸酶可能会瓦解离层的胞间层,进而减少细胞之间的粘着力。

植物初生壁主要是纤维素和半纤维素组成的网络,在拟南芥和其它双子叶植物中,木葡聚糖是主要的细胞壁半纤维素^[59]。Agrawal 等^[60]测定了大豆荚皮中的纤维素酶活性,发现荚果成熟期易炸荚种质中纤维素酶的活性显著提高,而且会从荚果的其它部位转移到离区,而在抗炸荚种质中纤维素酶的活性正好相反。进一步分析发现,纤维素酶可以催化离层细胞壁的降解,而多聚半乳糖醛酸酶使胞间层的果胶溶解,促进荚皮软化。

由此可见,细胞壁的修饰酶影响开裂区的退化,这些酶类通过分解和重建开裂区的细胞壁以及影响相邻细胞之间的约束力参与炸荚过程^[61-63]。关于这些酶类的表达、在荚果中的活性以及促进细胞壁退化的作用机理有待进一步研究。

3.2 激素在炸荚中的作用

植物激素是植物自身代谢产生的微量有机物质,它是一种特殊的信息物质,通过影响酶的活性,细胞壁的可塑性、细胞的分裂和分化以及蛋白质的合成等调节作物的生长发育。

大豆组织中内源激素的变化影响其生理生化反应。研究显示,乙烯与果实的成熟和脱落有

关^[64],豆荚开裂开始时籽粒中乙烯的含量突然增多,乙烯含量会出现一个短暂的高峰,这时 β -葡萄糖水解酶的活性也增强,而 β -葡萄糖水解酶与易炸荚种质中细胞壁的降解密切相关^[65]。说明乙烯含量的增多可以促进荚果的开裂,而且由于在荚果开裂的过程中,乙烯含量峰值的出现通常早于荚果的开裂,因此,乙烯含量的峰值可能是裂荚发生的信号。

研究显示,开裂区生长素的积累和分配影响 β -葡萄糖水解酶的活性,进而调控荚果的开裂。相关研究表明在开裂区,生长素会抑制 β -1,4-葡萄糖水解酶 mRNA 的积累,减少开裂区植物激素的含量,增加 β -葡萄糖水解酶的活性^[66]。在油菜籽中,赤霉素(GA)与荚果的伸长有关^[67],然而,赤霉素在调控裂荚方面的研究还没有报道。虽然另外两个重要的植物激素脱落酸和细胞分裂素对调控作物生长发育非常重要,但是有关这两种激素在调控荚果开裂中的作用研究很少^[68-69]。迄今为止,关于植物激素是否参与开裂区细胞的分化和炸荚的过程,以及如何起作用还不清楚。

在豆荚发育的过程中,植物激素是不断变化的,在荚果开裂的过程中,可能并不是单独的一种激素起作用,而是植物激素之间的协同作用或者是拮抗作用调控炸荚的发生。这方面的研究能够揭示内源激素在作物抗炸荚生理机理中的作用,以后的相关研究中很有必要进行探讨分析。

4 炸荚的分子生物学研究

炸荚主要是受遗传因子调控,挖掘与炸荚相关的基因可以深化对炸荚的认识,同时也可以更深入的揭示炸荚的分子机理。近年来,随着分子生物学和基因组学的飞速发展,国内外学者对控制炸荚的分子遗传机制进行了深入研究,并取得了一系列成果。

4.1 炸荚基因的定位和标记

利用大豆易裂荚和抗裂荚品种构建重组自交系,并利用这些家系开展大豆裂荚特性的 QTL (quantitative trait locus)定位和分析是开展抗裂荚分子鉴定研究的有效途径。早在 1997 年 Bailey 等^[41]利用大豆 F₄代家系的裂荚特性定位到了 12 个 QTL 座位,分别位于第 2、第 15、第 16 和第 19 染色体上,并且构建了大豆遗传连锁图谱。2006 年 Funatsuki 等^[70]以大豆重组近交系(RIL)为材料,通过复合区间作图法,在两种环境中确定了连接组 J 上的 SSR(simple sequence repeat)标记 Sat_093 和 Sat_366 之间的 1 个主要 QTL,确定了该 QTL 位于第 16 号染色体上,并将其命名为 *qPDH1*。2009 年 Kang

等^[71]利用抗炸荚种质和易裂荚种质开发的重组近交系,独立构建了具有 SSR 标记的 2 个连锁图谱,并定位了 1 个主效和 3 个微效 QTL,其中,主效 QTL 位于第 16 号染色体上的 *qPDH1* 座位附近。随后的一些研究也表明,不同种群定位的抗裂荚基因都在 *qPDH1* 附近^[72-73]。2014 年日本学者 Funatsuki 等^[2]揭示了调控大豆荚果开裂的主要 QTL,并且发现了一个新的调控炸荚的基因 *Pdh1*,该基因在木质素沉积的开始阶段,尤其是荚壁中富含木质素的内果皮高度表达。进一步研究表明,*Pdh1* 通过增加干燥荚果壁的扭曲力促进荚果开裂,这种扭曲力是低湿度条件下荚果开裂的驱动力。

4.2 炸荚基因的克隆

迄今为止,至少已经克隆出 2 个与调控大豆炸荚相关的基因,分别是 *pdh1*^[2] 和 *SHATI-5*^[6]。2014 年, Funatsuki 等^[2]图位克隆了抗炸荚基因 *pdh1*,在湿度较低条件下,该基因通过降低荚皮表面的扭曲力来降低大豆炸荚性,该基因将对全球大豆发展起到重要作用。同年董阳等^[6]以抗炸荚品种黑农 44 与易炸荚野生大豆 ZYD00755 为研究材料,在 16 号染色体的 116 kb 的区域内,成功克隆一个抗炸荚的基因,命名为 *SHATI-5*。进一步利用实时定量 PCR 研究了该基因的表达情况,发现该基因在厚壁组织细胞(叶、幼根、花)的表达量很低,但在茎、果实这些含有次生细胞壁的组织中表达量很高,证实在黑农 44 中该基因通过调控纤维帽(FCC)细胞次生细胞壁的增厚增强,进而形成抗炸荚性。2018 年,林延慧等^[74]对山东栽培大豆与野生大豆抗裂荚基因 *SHATI-5* 进行克隆及序列分析,发现供试的栽培豆与野生豆的裂荚性并不受 *SHATI-5* 的调控。因此,尽管二者都是调控大豆炸荚的关键因子,但其作用方式截然不同。*pdh1* 在干旱或半干旱地区通过降低荚皮表面的扭曲力来降低大豆炸荚性,而 *SHATI-5* 基因则参与 FCC 细胞中次生细胞壁的增厚,进而起到抑制炸荚作用。

5 结论与展望

豆科植物的炸荚现象普遍存在,选育抗炸荚的优良品种,是人们育种的主要目标之一。抗炸荚性是一个复杂的物理和生理生化反应共同发生的过程,任何一个环节的变化都可能抑制或促进大豆荚的炸裂。尽管研究者已从生理学和形态学角度研究了炸荚的发生,而且炸荚发生的分子生物学研究也取得了突破性的进展,克隆了调控炸荚的基因,但仍有很多科学问题需要深入探明,并需要对性状差异明显的品种进行功能验证。

针对以上问题,大豆炸荚在未来迫切需要开展

以下 3 个方面的研究。首先,在形态学上,应该关注大豆荚壁的厚度、荚皮缝线处维管束帽细胞中厚壁组织的长度以及纤维帽细胞的粘结作用和外部瓣膜边缘细胞等一些未知的结构。除开裂区外,中果皮在防止荚果开裂中的重要作用也不能忽视。在生理学上,从影响炸荚的酶和内源激素的角度入手,解析炸荚的生理过程,荚皮和开裂区内源激素调控水解酶类进而影响炸荚的信号作用。内源激素之间的平衡和相互作用与炸荚的关系也应进行深入研究。在分子生物学上,抗炸荚新基因的挖掘、功能验证和基因关联分析任重而道远。在未来的研究中我们既要探索炸荚发生的生理机制,还要从分子水平揭示炸荚的遗传机制,更加全面和深入的了解炸荚的机理,为大豆的育种工作做出贡献。

参考文献

[1] Bennett E J, Roberts J A, Wagstaff C. The role of the pod in seed development: Strategies for manipulating yield [J]. New Phytologist, 2011, 190(4): 838-853.

[2] Funatsuki H, Suzuki M, Hirose A, et al. Molecular basis of a shattering resistance boosting global dissemination of soybean [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(50): 17797-17802.

[3] Child R D, Summers J E, Babij J, et al. Increased resistance to pod shatter is associated with changes in the vascular structure in pods of a resynthesized Brassica napus line [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(389): 1919-1930.

[4] AbdEl-Moneim A M. Selection for non-shattering common vetch, *Vicia sativa* L [J]. Plant Breeding, 2010, 110(2): 168-171.

[5] Christiansen L C, Degan F D, Ulvskov P, et al. Examination of the dehiscence zone in soybean pods and isolation of a dehiscence-related endopolygalacturonase gene [J]. Plant Cell & Environment, 2002, 25(4): 479-490.

[6] Dong Y, Yang X, Liu J, et al. Pod shattering resistance associated with domestication is mediated by a NAC gene in soybean [J]. Nature Communications, 2014, 5(2): 3352.

[7] Rodríguez-Gacio M D C, Nicolás C, Matilla A J. Cloning and analysis of a cDNA encoding an endo-polygalacturonase expressed during the desiccation period of the silique-valves of turnip-tops (*Brassica rapa*, L. cv. Rapa) [J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(2): 219-227.

[8] Meng J, Xu J, You X. Optimizing soybean harvest date using HJ-1 satellite imagery [J]. Precision Agriculture, 2015, 16(2): 164-179.

[9] 张跃进, 马赛斐, 高启云, 等. 黄淮流域主栽大豆品种炸荚性研究[J]. 河南农业科学, 2006, 35(6): 56-59. (Zhang Y J, Ma S F, Gao Q Y, et al. Study on the pod-shattering of main soybean varieties of huanghuai area [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2006, 35(6): 56-59.)

[10] Bhor T J, Chimote V P, Deshmukh M P. Inheritance of pod shattering in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] [J]. Electronic Journal of Plant Breeding, 2014, 5: 671-676.

- [11] 林红, 来永才, 齐宁, 等. 大豆种间杂交新品种龙小粒豆一号的选育[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(4):44-46. (Lin H, Lai Y C, Qi N, et al. Breeding of longxiaolidou No. 1, a new soybean variety from-specific crossing [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(4):44-46.)
- [12] 王志新, 郭泰, 吴秀红, 等. 高产优质耐密栽培特用小粒大豆品种合农 58 号的选育[J]. 中国种业, 2010(6):55-56. (Wang Z X, Guo T, Wu X H, et al. Characteristics and cultivation practices for new soybean cultivar Henong No. 58 [J]. China Seed Industry, 2010(6):55-56.)
- [13] 王荣昌, 张春文. 大豆野生资源在育种中的应用[J]. 世界农业, 1986(2):16-17. (Wang C R, Zhang C W. The application of the wild resources in soybean breeding [J]. World Agriculture, 1986(2):16-17.)
- [14] Morgan C L, Ladbroke Z L, Bruce D M, et al. Breeding oilseed rape for pod shattering resistance [J]. The Journal of Agricultural Science, 2000, 135(135):347-359.
- [15] Caviness C E. Heritability of pod dehiscence and its association with some agronomic characters in soybeans [J]. Crop Science, 1969, 9(2):207-209.
- [16] Lou R, Gong P, Zhao D, et al. QTL mapping and analysis of traits related to pod dehiscence in soybean [J]. Legume Genomics and Genetics, 2012, 3(3):14-20.
- [17] Tsuchiya T. Studies on shattering resistance in soybean breeding [J]. Report of Hokkaido Prefectural Agricultural Experiment Station, 1986, 58:1-53.
- [18] Dong D, Yan L, Dong R, et al. Evaluation and analysis of pod dehiscence factors in shatter-susceptible and shatter-resistant common vetch [J]. Crop Science, 2017, 57(5):2770-2776.
- [19] Suzuki M, Fujino K, Funatsuki H. A major soybean QTL, qPDH1, controls pod dehiscence without marked morphological change [J]. Plant Production Science, 2009, 12(2):217-223.
- [20] Tiwari S P, Bhatia V S. Characters of pod anatomy associated with resistance to pod-shattering in soybean [J]. Annals of Botany, 1995, 76(5):483-485.
- [21] Ferrándiz C, Liljegren S J, Yanofsky M F. Negative regulation of the SHATTERPROOF genes by FRUITFULL during *Arabidopsis* fruit development [J]. Science, 2000, 289(5478):436-438.
- [22] Meakin P J, Roberts J A. Dehiscence of fruit in oilseed rape (*Brassica napus* L.) I. anatomy of pod dehiscence [J]. Journal of Experimental Botany, 1990, 41(8):995-1002.
- [23] Yang J B, Somers D A, Wright R L, et al. Seed pod dehiscence in birdsfoot trefoil, *Lotus corniculatus*, and their interspecific somatic hybrid [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1990, 70(1):279-284.
- [24] Child R D, Chauvaux N, John K, et al. Ethylene biosynthesis in oilseed rape pods in relation to pod shatter [J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49(322):829-838.
- [25] 董德珂, 董瑞, 王彦荣, 等. “兰箭 3 号”箭筈豌豆荚果发育动态及腹缝线结构研究[J]. 西北植物学报, 2016, 36(7):1376-1382. (Dong D K, Dong R, Wang Y R, et al. Study on pod development and ventral suture structure of *Vicia sativa* cultivar lanjian No. 3 [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2016, 36(7):1376-1382.)
- [26] Davies G C, Bruce D M. Fracture mechanics of oilseed rape pods [J]. Journal of Materials Science, 1997, 32(22):5895-5899.
- [27] Petersen M, Sander L, Child R, et al. Isolation and characterisation of a pod dehiscence zone-specific polygalacturonase from *Brassica napus* [J]. Plant Molecular Biology, 1996, 31(3):517-527.
- [28] Sessions R A, Zambryski P C. *Arabidopsis* gynoceium structure in the wild and in ettn mutants [J]. Development, 1995, 121(5):1519-1532.
- [29] Spence J, Vercher Y, Gates P, et al. ‘Pod shatter’ in *Arabidopsis thaliana*, *Brassic napus* and *B. juncea* [J]. Journal of Microscopy, 1996, 181(2):195-203.
- [30] Brecheisen D M. An investigation of seed pod dehiscence and anatomy in *Lotus japonicus* Regel [D]. Lafayette: Purdue University, 1971.
- [31] Repkova J H J. Seed pod shattering in the genus *Lotus* and its overcoming [J]. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding - UZEI (Czech Republic), 2009, 45(2):39-44.
- [32] Dong Y, Wang Y Z. Seed shattering: From models to crops [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6:476.
- [33] Armon S, Efrati E, Kupferman R, et al. Geometry and mechanics in the opening of chiral seed pods [J]. Science, 2011, 333(6050):1726-1730.
- [34] Nagata T. Studies on the significance of the indeterminate growth habit in breeding soybeans (XI): Varietal difference in the pod dehiscence and moisture content in the stem, pod, and seed [R]. Japan: Science Reports of Faculty of Agriculture Kobe University, 1973, 11(1):25-34.
- [35] Liljegren S J, Roeder A H K, Kempin S A, et al. Control of fruit patterning in *Arabidopsis*, by indehiscent [J]. Cell, 2004, 116(6):843-853.
- [36] Estornell L H, Agustí J, Merelo P, et al. Elucidating mechanisms underlying organ abscission [J]. Plant Science, 2013, 199(3):48-60.
- [37] Ballester P, Ferrándiz C. Shattering fruits: Variations on a dehiscence theme [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2017, 35:68-75.
- [38] Romkaew J, Nagaya Y, Goto M, et al. Pod dehiscence in relation to chemical components of pod shell in soybean [J]. Plant Production Science, 2008, 11(3):278-282.
- [39] Suanum W, Somta P, Kongjaimun A, et al. Co-localization of QTLs for pod fiber content and pod shattering in F_2 , and backcross populations between yardlong bean and wild cowpea [J]. Molecular Breeding, 2016, 36(6):80.
- [40] Esau K. Anatomy of seed plants [J]. Soil Science, 1977, 90(2):501-531.
- [41] Degan F D, Child R, Svendsen I, et al. The cleavable N-terminal domain of plant endopolygalacturonases from clade B may be involved in a regulated secretion mechanism [J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(38):35297-35304.
- [42] Bailey M A, Mian M A R, Carter T E, et al. Pod dehiscence of soybean: Identification of quantitative trait Loci [J]. Journal of Heredity, 1997, 88(2):152-154.
- [43] Vance C P. Legumes: Importance and constraints to greater use [J]. Plant Physiology, 2003, 131(3):872-877.
- [44] Buckovic R G. Some of the morphologic and agronomic factors associated with pod dehiscence in *Lotus corniculatus* [D]. Oregon: Oregon State University, 1952.
- [45] Philbrook B. Soybean field losses as influenced by harvest delays

- [J]. Agronomy Journal, 1989, 81(2):251-258.
- [46] Romkaew J, Umezaki T, Suzuki K, et al. Pod dehiscence in relation to pod position and moisture content in soybean [J]. Plant Production Science, 2007, 10(3):292-296.
- [47] Anderson S R. Development of pods and seeds of birdsfoot trefoil, *Lotus corniculatus* L. as related to maturity and to seed yields [J]. Agronomy Journal, 1955, 47(10):483-487.
- [48] Metcalfe D S, Johnson I J, Shaw R H. The relation between pod dehiscence, relative humidity and moisture equilibrium in birdsfoot trefoil, *Lotus corniculatus* L [J]. Agronomy Journal, 1957, 49(3):130-134.
- [49] McGraw R L, Beuselink P R. Growth and seed yield characteristics of birdsfoot trefoil I [J]. Agronomy Journal, 1983, 75(3):443-446.
- [50] Gershon D. Breeding for resistance to pod dehiscence in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) and some studies of the anatomy of pods, cytology and genetics of several *Lotus* species and their interspecific hybrids [D]. Ithaca: Cornell University, 1961.
- [51] Grant W F. Seed pod shattering in the genus *Lotus* (Fabaceae): A synthesis of diverse evidence [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1996, 76(3):447-456.
- [52] Garciadiaz C A, Steiner J J. Birdsfoot trefoil seed production: III. Seed shatter and optimal harvest time [J]. Crop Science, 2000, 40(2):457-462.
- [53] Hughes M A. The effects of misting upon seed yield of birdsfoot trefoil, *Lotus corniculatus* L, and the relationship of moisture content of pod, seed and fruit at dehiscence [D]. Bozeman: Montana State University-Bozeman, 1982.
- [54] Wiggins S C, Metcalfe D S, Thompson H E. The use of desiccant sprays in harvesting birdsfoot trefoil for seed [J]. Agronomy Journal, 1956, 48(7):281-284.
- [55] Ridley B L, O'Neill M A, Mohnen D. Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling [J]. Phytochemistry, 2001, 57(6):929-967.
- [56] Kemmerer E C, Tucker M L. Comparative study of cellulases associated with adventitious root initiation, apical buds, and leaf, flower, and pod abscission zones in soybean [J]. Plant Physiology, 1994, 104(2):557-562.
- [57] Sexton R, Durbin M L, Lewis L N, et al. Use of cellulase antibodies to study leaf abscission [J]. Nature, 1980, 283(5750):873-874.
- [58] Kalaitzis P, Solomos T, Tucker M L. Three different polygalacturonases are expressed in tomato leaf and flower abscission, each with a different temporal expression pattern [J]. Plant Physiology, 1997, 113(4):1303-1308.
- [59] Lashbrook C C, Cai S. Cell wall remodeling in *Arabidopsis* stamen abscission zones: Temporal aspects of control inferred from transcriptional profiling [J]. Plant Signaling & Behavior, 2008, 3(9):733-736.
- [60] Agrawal A P, Basarkar P W, Salimath P M, et al. Role of cell wall-degrading enzymes in pod-shattering process of soybean, *Glycine max* (L.) Merrill [J]. Current Science, 2002, 82(1):58-60.
- [61] Campillo E D. 2 Multiple Endo-1, 4- β -D-glucanase (Cellulase) genes in *Arabidopsis* [J]. Current Topics in Developmental Biology, 1999, 46(8):39-42.
- [62] Rose J K, Bennett A B. Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: Parallels between cell expansion and fruit ripening [J]. Trends in Plant Science, 1999, 4(5):176-183.
- [63] Hadfield K A, Rose J K, Yaver D S, et al. Polygalacturonase gene expression in ripe melon fruit supports a role for polygalacturonase in ripening-associated pectin disassembly [J]. Plant Physiology, 1998, 117(2):363-373.
- [64] Davies P J. Ethylene in plant biology [M]. Saltveit San Diego: Academic Press, 1992.
- [65] Oeller P W, Lu M W, Taylor L P, et al. Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA [J]. Science, 1991, 254(5030):437-439.
- [66] Tucker M L, Sexton R, del Campillo E, et al. Bean abscission cellulase: Characterization of a cDNA clone and regulation of gene expression by ethylene and auxin [J]. Plant Physiology, 1988, 88(4):1257-1262.
- [67] Bouttier C, Morgan D G. Development of oilseed rape buds, flowers, and pods *in vitro* [J]. Journal of Experimental Botany, 1992, 43(253):1089-1096.
- [68] Finkelstein R R, Rock C D. Absciscic acid biosynthesis and response [M]. American: *Arabidopsis* Book, 2013.
- [69] Humplik J F, Bergougnoux V, Van Volkenburgh E. To stimulate or inhibit? That is the question for the function of abscisic acid [J]. Trends in Plant Science, 2017, 22(10):830-841.
- [70] Funatsuki H, Ishimoto M, Tsuji H, et al. Simple sequence repeat markers linked to a major QTL controlling pod shattering in soybean [J]. Plant Breeding, 2006, 125(2):195-197.
- [71] Kang S T, Myounghai K, Hyeunyeung K, et al. Population-specific QTLs and their different epistatic interactions for pod dehiscence in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. Euphytica, 2009, 166(1):15-24.
- [72] Yamada T, Funatsuki H, Hagihara S, et al. A major QTL, *qPDHI*, is commonly involved in shattering resistance of soybean cultivars [J]. Breeding Science, 2009, 59(4):435-440.
- [73] Suzuki M, Fujino K, Nakamoto Y, et al. Fine mapping and development of DNA markers for the *qPDHI* locus associated with pod dehiscence in soybean [J]. Molecular Breeding, 2010, 25(3):407-418.
- [74] 林延慧, 李伟, 张彦威, 等. 山东栽培豆与野生豆抗裂荚基因 SHAT1-5 的克隆及序列分析 [J]. 山东农业科学, 2018(2):1-6. (Lin Y H, Li W, Zhang Y W, et al. Cloning and sequence analysis of pod shattering resistant gene SHAT1-5 from cultivated and wild soybeans in Shandong province [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2018(2):1-6.)