

大豆生育期 *E1*、*E2*、*E3* 和 *E4* 基因的研究与应用

吕世翔^{1,2} 王萍¹ 孙明明¹ 夏正俊^{2*}

(1. 黑龙江省农业科学院 信息中心, 哈尔滨 150086;

2. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/大豆分子设计育种重点实验室, 哈尔滨 150081)

摘要 大豆 *E1*~*E4* 基因作为对大豆生育期影响最大的 *E* 系列基因, 与大豆品种生态类型密切相关。为总结大豆主要生育期基因 *E1*~*E4* 的研究进展和应用现状, 促进中国大豆生育期育种模式的形成, 本研究综述 *E1*~*E4* 基因不同变异类型、变异类型鉴定方法和调控大豆光周期机理的研究进展及大豆群体 *E1*~*E4* 基因型分析在大豆品种生长适应性研究中的应用, 以期对大豆生育期遗传调控机理的全面深入研究提供参考, 同时为适应不同生态区域的大豆遗传育种工作提供依据。

关键词 大豆; 生育期; 生态适应性; *E1*~*E4*; 变异类型鉴定; 应用

中图分类号 S565.1; Q756

文章编号 1007-4333(2019)02-0012-08

文献标志码 A

Research and application of soybean growth period genes *E1*, *E2*, *E3* and *E4*

LV Shixiang^{1,2}, WANG Ping¹, SUN Mingming¹, XIA Zhengjun^{2*}

(1. Information Center, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China;

2. Key Laboratory of Soybean Molecular Design Breeding/Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China)

Abstract Of the *E*-series gene, *E1*-*E4* genes affect on soybean growth periods greatly and are closely related to the ecological type of soybean variety. In order to summarize the research progress and application status of the main growth stage gene *E1*-*E4* of soybean and promote the formation of soybean breeding pattern in China, this study overviews different genotypes and genotyping methods and of *E1*-*E4* genes. The applications of *E1*-*E4* genotype information of soybean population on growth adaptation analysis are also summarized. This review can provide guidance on the research of genetic regulation mechanism of soybean growth period, and theoretical basis on genetic breeding of soybeans cultivars adapting to different ecological areas.

Keywords soybean; growth period; ecological suitability; *E1*-*E4*; variation type; application

在特定生态环境下获得适应的成熟期是最大限度提高农作物产量的潜在前提条件^[1]。作为一种典型短日作物,栽培大豆开花和成熟时间是其重要生态和农艺性状。不同品种的光周期敏感性使其具有不同开花和成熟时间,种植于长日照高纬度地区的大豆品种需要具有光不敏感性,以保证其在霜冻前成熟。因而大豆光周期敏感性遗传因素的研究对于

大豆育种具有重要意义^[2-3]。早在1927年, Owen^[4]发现大豆中存在能够控制其生育期的遗传因子。1942年,王金陵^[5]的《大豆之光期性》开启中国大豆光周期研究,拉开对大豆生育期遗传规律研究的序幕^[6]。盖钧镒等^[7]在前人关于中国大豆栽培区域划分的基础上,将中国大豆品种生态区划分为6大区,并在其中3个区内进一步分区。国内外学者相继

收稿日期: 2018-02-08

基金项目: 国家重点研发项目(2016YFD0100201, 2016YFD0101902); 国家自然科学基金项目(31471518, 31771818, 31771869)

第一作者: 吕世翔, 博士研究生, E-mail: lv-shi-xiang@qq.com

通讯作者: 夏正俊, 研究员, 主要从事大豆分子育种研究, E-mail: xiazjh@iganeigaehrb.ac.cn

对不同生育期大豆品种比对研究,结果表明大豆生育期由多个基因同时调控,目前发现的控制大豆开花和成熟的基因有 $E1^{[8]}$ 、 $E2^{[9]}$ 、 $E3^{[10]}$ 、 $E4^{[11]}$ 、 $E5^{[12]}$ 、 $E6^{[13]}$ 、 $E7^{[14]}$ 、 $E8^{[15]}$ 、 $E9^{[16]}$ 、 $E10^{[17]}$ 和 $J^{[18]}$ 基因,其中 $E1$ 、 $E3$ 、 $E4$ 和 $E7$ 基因是决定光周期敏感性的主要基因^[19]。随着分子遗传学和分子生物学的发展, $E1^{[20]}$ 、 $E2^{[21]}$ 、 $E3^{[22]}$ 、 $E4^{[23]}$ 、 $E9^{[16]}$ 、 $E10^{[17]}$ 和 $J^{[24]}$ 已经被定位或克隆。其中, $E1\sim E4$ 基因是研究最为深入、应用最为广泛的大豆生育期基因,研究表明 $E1\sim E4$ 基因与大豆品种的生态类型密切相关,对大豆开花期变异贡献率高达 62%~66%^[23]。分子水平的研究显示 $E1\sim E4$ 基因分别位于大豆基因组 C2、O、L 和 I 连锁群上^[20-23]。

大豆生育期基因 $E1$ 是对大豆开花期及成熟期影响最大的 E 系列基因,主要功能是抑制开花和延长生育期。 $E1$ 基因是豆科作物特有的转录因子,在四季豆 (*Phaseolus vulgaris*) 及百脉根 (*Lotus japonicus*) 等豆科作物中存在同源性高的基因序列,在水稻与拟南芥中没有相应同源序列^[20, 25]。Zhang 等^[26] 研究菜豆中 $E1$ 同源基因 *Phvul.009G204600* (*PvE1L*) 和苜蓿中 $E1$ 同源基因 *Medtr2g058520* (*MtE1L*),证明 *PvE1L* 基因能够延迟大豆开花时间,而 *MtE1L* 基因对大豆的开花时间没有影响,但 *MtE1L* 基因能够促进苜蓿开花。推测豆科作物中 $E1$ 基因家族在开花和植株生长调控作用中功能的保守性和变异性可能跟系谱和基因组复制有关。 $E1$ 蛋白是一个具有转录抑制活性的转录因子,N 端含一个双元核定位信号,C 端含有与植物转录因子 B3 远缘相近的结构域^[20]。 $E2$ 基因与拟南芥 *GI* (*GIGANTEA*) 基因同源,对开花期的调控可能不受到光周期影响,而与生物钟节律相关,不同环境条件下 $E2$ 基因对开花期的作用相对稳定^[19]。 $E3$ 和 $E4$ 基因分别编码光敏色素 A 同源基因^[22-23, 27],其但对光质量的反应既重叠又互不相同^[22, 25, 28]。 $E3$ 基因对光质的差异并不敏感,导致种植在不同光质长日照条件下植株的开花期相近^[20], $E3$ 与 $E4$ 基因对 $E1$ 基因的表达有调控作用^[20]。

近年来各国学者广泛开展 $E1\sim E4$ 基因不同变异类型与不同大豆品种生态适应性关系研究。但是对变异类型的总结、鉴定和应用前景方面鲜有报道,中国亟待形成适应我国地域特点的基于 $E1\sim E4$ 基因变异类型的分子辅助育种模式。本研究就 $E1\sim E4$ 基因的不同变异类型、变异类型鉴定方法及各国

学者针对世界各地不同大豆品种 $E1\sim E4$ 基因开展的相关研究进行综述,以期为大豆生育期遗传调控机理的全面深入研究提供参考,同时为适应不同生态区域大豆遗传育种工作提供依据,以期促进中国大豆生育期分子育种模式的形成。

1 大豆 $E1\sim E4$ 基因的等位变异

1.1 $E1$ 基因类型变异

$E1$ 基因(*Glyma06g23040.1*)编码区全长 864 bp,没有内含子。常见的 $E1$ 基因变异类型包括 $e1-fs$ 、 $e1-nl$ 、 $e1-as$ 和 $e1-b3a$ ^[20, 30]。 $e1-fs$ 和 $e1-nl$ 同为功能丧失型,均表现出极早的开花期和成熟期, $e1-fs$ 型实变体 DNA 序列 49 bp 处单碱基缺失导致移码突变; $e1-nl$ 为基因整体缺失。 $e1-as$ 基因型为非同义突变,DNA 序列 44 bp 处出现单碱基突变,使编码蛋白的定位发生变化,该基因型为早花型^[20]。 $e1-as$ 型开花及成熟期介于 $E1$ 与功能丧失型($e1-fs$ 及 $e1-nl$)之间。 $e1-b3a$ 型 334~338 bp 存在变异,在 444 bp 提前终止,蛋白质三级结构发生改变,定位于细胞核,该基因型也为早花型^[29]。除此之外, $e1-re$ 基因型在 $e1$ 基因起始位点上游 148 bp 处有 1 个 3.1 kb 的 LINE(long interspersed nuclear element)序列插入,该基因型的品种较基因型背景相近品种提前开花 14 d^[30]。 $e1-p$ 基因型在 $E1$ 基因 5' 侧翼序列存在差异^[30]。

1.2 $E2$ 基因变异类型

$E2$ 基因(*Glyma10g36600*)编码区全长 3 758 bp,包含 14 个外显子,编码 1 170 个氨基酸的蛋白。目前发现的 $E2$ 基因变异类型有 $e2-ns$ 、 $e2-in$ 和 $e2-dl$ 。 $e2-ns$ 型最常见,编码区内 4 个单碱基位点变异致使编码序列提前终止。 $e2-ns$ 基因型品种(Harosoy)较 $e2$ 基因型品种(Clark)开花时间早^[21]。 $e2-in$ 和 $e2-dl$ 型是 $E2$ 基因的无义突变,分别为第 8 个内含子处 36 bp 插入和缺失,5' 侧翼序列均存在序列变异^[30]。

1.3 $E3$ 基因变异类型

$E3$ 基因(*Glyma19g41210*)编码区包含 4 个外显子,编码 1 130 个氨基酸的蛋白质。目前发现的 $E3$ 基因的变异类型包括 $E3-Mi$ 、 $e3-Ha$ 、 $e3-T$ ($e3-tr$)、 $e3-Mo$ 、 $e3-ns$ 和 $e3-fs$,其中 $e3-Mi$ 、 $E3-Ha$ 和 $e3-T$ 型较常见。 $e3-Mi$ 型编码正常光敏色素 A, $e3-Mo$ 型第四内含子处插入 1 个 2 633 bp 反转录转座子且在第三外显子处碱基序列改变导致编码蛋白功能

减弱, *E3-Ha* 型包含 1 个与 *e3-Mo* 相似的反转录转座子, 但其编码正常光敏色素 A。 *e3-T* 型第三外显子之后出现 13.33 kb 缺失, 使组氨酸结构域出现部分缺失, 导致编码蛋白没有功能^[22]。 *e3-ns* 和 *e3-fs* 型是 *E3* 基因的无义突变型。 *e3-ns* 型第三外显子单碱基突变, *e3-fs* 型第一外显子单碱基插入导致移码突变, 序列提前终止^[31]。

1.4 *E4* 基因变异类型

E4 基因 (*Glyma20g22160*) 编码区包含 4 个外显子, 编码 1 123 个氨基酸的 *GmPhyA2* 蛋白质序列。 目前发现的 *E4* 基因变异类型包括 *e4-SORE1*、*e4-kam*、*e4-kes*、*e4-oto* 和 *e4-tsu*。 *e4* (*e4-SORE-1*) 型第一外显子存在 6 238 bp 的 *Ty1/copia-like* 反转座子插

入, 插入序列中的终止密码子使序列提前终止, 产生功能缺失的蛋白序列。 *e4-kam* 和 *e4-kes* 型第二外显子单碱基缺失和插入导致编码蛋白的组氨酸激酶结构域缺失, 而保留调控下游的 PAS 结构域。 *e4-oto* 和 *e4-tsu* 型分别为第一和第二外显子单碱基缺失, 导致组氨酸激酶结构域和 PAS2 结构域均缺失^[28, 32]。

2 大豆 *E1*~*E4* 基因变异类型的分子标记鉴定

E1~*E4*, 4 个基因等位变异型的分子标记鉴定方法主要包括 CAPS、dCAPS、InDel 和 FLP, 根据其基因序列和长度设计引物, 采用合适的限制性内切酶对其加以区分, 如表 1。

表 1 *E1*~*E4* 基因变异类型的鉴定
Table 1 Identification of *E1*-*E4* variation type

基因 Locus	变异类型 Variation type	引物序列(5'~3') Primer sequence (5'-3')	标记方法 Marker type	限制性内切酶 Restriction enzyme	参考文献 Reference
<i>E1</i>	<i>e1-as</i>	F:TCAGATGAAAGGGAGCAGTGTCAAAAGAAGT R:TCCGATCTCATCACCTTTCC	dCAPS	<i>Taq</i> I	[20]
	<i>e1-fs</i>	F:TCAGATGAAAGGGAGCAGTGTCAAAAGAAGT R:TCCGATCTCATCACCTTTCC	dCAPS	<i>Hinf</i> I	[20]
	<i>e1-fs</i>	F:CACTCAAATTAAGCCCTTTCA R:TTCATCTCCTCTTCATTTTTGTTG	CAPS	<i>Hinf</i> I	[31]
	<i>e1-b3a</i>	F:CACTCAAATTAAGCCCTTTCA R:TTCATCTCCTCTTCATTTTTGTTG	dCAPS	<i>Bfu</i> I	[29]
<i>E2</i>	<i>e2-ns</i>	F:AAGCCTATGCCAGCTAGGTATTT R:GAAGCCCATCAGAGGCATGTCTTATT	dCAPS	<i>Dra</i> I	[21]
	<i>e2-ns</i>	F:GAAGCCCATCAGAGGCATGTCTTATT R:GAGGCAGAGCCAAAGCCTAT	dCAPS	<i>Dra</i> I	[21, 30]
	<i>E2-in/E2-dl</i>	F:TGTTGATATTACATGCACATGCAT R:GGCAGTTTCACCTTCTTAGC	InDel		[30]
<i>E3</i>	<i>E3-Ha</i> (<i>E3-Mo</i>)/ <i>E3-Mi</i> / <i>e3-T</i>	F:TGGAGGGTATTGGATGATGC R1:CTAAGTCCGCCTCTGGTTTCAG R2:CGGTCAAGAGCCAACATGAG R3:GTCCTATAACAATTCTTTACGACG	FLP		[33]
	<i>E3-Ha/E3-Mo</i>	F:TTGCATGAAGTTTTGGTTGC4 R:CAACTGAACTGAAGACCCACAA	CAPS	<i>Mse</i> I	[30]
	<i>e3-fs</i>	F:GGGATAGTTCTGATGCTGTTCAA R:CCTTGTATCGATAGCATATGTGCT	CAPS	<i>Ale</i> I	[31]
	<i>e3-ns</i>	F:GTTGAAGAGAAGATCACAA R:GATGAACTAATTTCCCTAACTGCA	dCAPS	<i>Mfe</i> I	[31]

表 1(续)

基因 Locus	变异类型 Variation type	引物序列(5'~3') Primer sequence (5'-3')	标记方法 Marker type	限制性内切酶 Restriction enzyme	参考文献 Reference
$E4$	$e4$ -SORE-1	F:AGACGTAGTGCTAGGGCTAT R1:GCATCTCGCATCACCAGATCA R2:GCTCATCCCTTCGAATTTCAG	FLP		[23]
	$e4$ -kes	F:CTTAATAAAGCCATGACTGGTTTG R:CTTGAGTTTCAATGAGGTTTCAAC	CAPS	<i>Bsp</i> H I	[32]
	$e4$ -kam	F:CTTAATAAAGCCATGACTGGTTTG R:CTTGAGTTTCAATGAGGTTTCAAC	CAPS	<i>Afl</i> II	[32]
	$e4$ -oto	F:CCCAGACACTCTTGTGTGAT R:CCATACTCTCGGTATCTTTG	CAPS	<i>Sac</i> I	[32]
	$e4$ -tsu	F:CACCCTAGGAGTTGTGTTGTT R:GCGGTTCTGTACAATTGCCTGATA	dCAPS	<i>Eco</i> R V	[32]

3 大豆 $E1 \sim E4$ 基因功能研究进展

3.1 $E1 \sim E4$ 基因调控大豆开花时间

研究表明,大豆特异的调控开花的光周期通路 *PHYA(E3E4)-J-E1-FT*,与拟南芥和水稻光周期反应的调控主通路 *CO-FT* 存在明显差异。 $E3$ 和 $E4$ 基因编码光反应通路必不可少的光敏色素, J 基因编码蛋白能够结合在 $E1$ 基因启动子上,调控 $E1$ 基因的表达, $E1$ 基因编码豆科作物特有的和具有转录抑制功能的转录因子,负向调控大豆成花基因 *FT2a* 和 *FT5a* 的表达^[20,24]。

$E1 \sim E4$ 基因能够调控大豆开花时间,有功能 $E1$ 基因的转录丰度与开花时间显著相关,基因表达量越高开花时间越晚,这一点在转基因大豆和普通大豆品种中均被证实^[2,20]。 $E2$ 基因是拟南芥生物钟 *GI* 基因的同源基因,在长日照和短日照条件下均表现出节律性表达特性,纯和隐性基因型 $e2/e2$ 通过诱导 *GmFT2a* 的表达使大豆开花提前,而在不同光照条件下 $E2$ 基因对开花期的作用相对稳定^[21]。 $E3$ 和 $E4$ 基因编码的光敏色素对不同光质的敏感性不同,不同纬度条件下,其对 $E1$ 基因的表达量的影响随纬度变化而有所改变。 $E3$ 和 $E4$ 基因所编码的光敏色素蛋白对不同光质的敏感性不同, $E3$ 基因编码的 *GmPhyA3* 对光质的差异并不敏感,导致种植在不同纬度植株的开花期差异不大。而随着海拔的升高, $R:FR$ 逐渐变小, $E4$ 基因编码的 *GmPhyA2* 对光照的敏感性明显增强。隐性 $E3$

和 $E4$ 基因同时存在才能使大豆品种表现出光照不敏感特征^[10-11]。

3.2 $E1 \sim E4$ 在大豆整个生长期的调控作用

$E1$ 基因正常表达能够延迟开花,但不能延长生殖期, $E2$ 和 $E3$ 基因正常表达能够延长花期和开花后的时期, $E4$ 基因正常表达能够推迟开花和成熟^[12]。不论是开花前还是开花后的光周期反应中,光敏色素 $E3$ 和 $E4$ 基因都是主要调控者,基因型为 $E3$ 或 $E4$ 品种的繁殖期和开花后的茎生长对光照变化很敏感,原因在于 *GmphyA2* 和 *GmphyA3* 能够调控生长习性 *Dt1* 基因表达,使茎尖分生组织的营养活动存在持续性^[31]。隐性基因型 $e1$ 、 $e1-as$ 、 $e2$ 、 $e3$ 和 $e4$ 对于大豆品种在高寒地区的适应性具有重要意义,其可以不同程度地促进大豆开花和成熟,而且其隐性基因数量越多表现出的光周期不敏感性越强。研究表明绝大多数高寒地区大豆品种为 $e1/e2$ 基因型^[1,34]。对 332 个栽培大豆品种和 85 个野生大豆品种中 $e4$ -SORE-1 基因型分布情况的研究结果表明,仅日本北部地区栽培大豆品种存在基因型为 $e4$ -SORE-1 的品种,说明 $e4$ -SORE-1 编码功能缺失的 *GmphyA2*,导致大豆植株表现光不敏感特性,从而适应高纬度生存环境^[30,35]。

4 大豆 $E1 \sim E4$ 等位变异在生育期研究中的应用

目前世界上大豆种植范围已经超过 $50^\circ N$ 和 $40^\circ S$ ^[36]。近年来各国学者广泛研究不同地理区域

大豆品种的 $E1\sim E4$ 基因型,并对不同基因型组合品种生态适应性展开了更为深入的分析。目前,中国、日本、俄罗斯、哈萨克斯坦、美洲和欧洲等地区关于大豆品种 $E1\sim E4$ 基因型鉴定与分析工作已经开展多年。

4.1 中国大豆品种 $E1\sim E4$ 等位变异与生育期关系研究

2014年 Zhai 等^[3]鉴定 180 个具有代表性的中国大豆品种 $E1\sim E4$ 基因型,在全国主要大豆生态区的 6 个试点($33^{\circ}57'\sim 45^{\circ}70'N$, $117^{\circ}17'\sim 126^{\circ}64'E$)对大豆开花期与成熟期进行表型观察,结果表明 $E2$ 基因的隐性基因型比率最高,高达 84.45%。明确我国品种的基因型主要可分为 8 个类型, $e1-nf$ 、 $e1-asE4$ 、 $E1-asE3E4$ 、 $e1-asE2(E3)E4$ 、 $E1$ 、 $E1E4(E3)$ 、 $E1E3E4$ 和 $E1E2E3E4$,其中 $E1E3E4$ 为优势基因型,占 26.1%。 $e1-nf$ 型($E1$ 功能缺失型)开花最早,而来自南部地区的 $E1E2E3E4$ 基因型品种不能适应高纬度地区日照时间较长的环境,开花很晚或者在高纬度地区霜冻之前没有开花。研究发现不同品种中 $E1$ 基因的表达量与大豆开花期呈极显著相关。进一步证明 $E1\sim E4$ 尤其是 $E1$ 显性基因对大豆光周期敏感性的抑制作用。 $e1-as$ 具有一定抑制开花的功能,其对开花的抑制作用小于 $E1$ 基因。

2017年 Li 等^[37]研究 299 个中国大豆核心种质在中国 4 个不同地区的成熟期,采用 Sequenom MassARRAY iPLEX platform 系统鉴定 228 个品种 $E1\sim E4$ 基因型并分析其与开花期和成熟期的综合效应。结果表明 $E1/e2-ns/E3/E4$ 和 $E1/E2/E3/E4$ 是主要基因型,4 个基因的隐性基因型不同程度促进早花,而其显性基因型在成熟期较长的品种中出现频率较高。研究结果表明中国核心种质资源在基因型和表型上存在较大遗传多样性,能够为中国大豆种植的生育区划分和地理适应性分析提供重要信息,同时为培育适应特殊气候环境的品种提供种质资源。

4.2 国外大豆品种 $E1\sim E4$ 等位变异与生育期关系研究

国外大豆品种 $E1\sim E4$ 基因型鉴定工作整体晚于中国,2014年 Jiang 等^[35]检测 85 个大豆品种的 $E1\sim E4$ 基因型,其中除 46 个品种为中国品种外,还包括来自南美 MG 000~MGV III 和 MG X 的 13 个生育期组的 38 个大豆品种,1 个俄罗斯大豆品种

($50^{\circ}N$),中国大豆品种中有 4 个为野生型大豆品种($23^{\circ}N$ 、 $39^{\circ}N$ 、 $46^{\circ}N$ 和 $50^{\circ}N$)。85 个品种中共有 10 种基因型,其中 $E1/E2/E3/E4$ 和 $E1/e2/E3/E4$ 型是主要基因型。 $e1$ 基因型大豆品种更适宜高纬度地区种植, $e4$ 等位变异对于大豆品种对高纬度地区的适应性具有重要意义,4 个带有隐性 $e4$ 等位基因的品种均适应高纬度地区,并表现出光周期不敏感性。带有等位基因 $e1$ 、 $e1-as$ 或 $e2$ 的品种的出苗期~初花期天数变化范围较出苗期~成熟期和初花期~成熟期短。

2017年 Kurasch 等^[38]研究 75 个欧洲大豆品种 $E1\sim E4$ 基因型与成熟期相关性。首次发现有两个品种是杂合基因型品种,Ruzica 品种的 $E3$ 基因为杂合位点,基因型是 $e3-tr/e3-fs$,Carla_TD 品种的 $E4$ 基因为杂合位点,基因型是 $E4/e4-SORE-1$ 。没有检测到 $E1$ 基因型的品种,在 MG 000 和 MG 00 生育区检测出 4 个 $e1-nl$ 基因型品种,每个生育区中均有 $e1-as$ 基因型品种。 $e1-nl$ 基因型品种的开花和成熟时间最早,在所有 22 个种植地点都能成熟。与 $e1-as$ 基因型品种相比, $e1-nl$ 基因型品种营养生长期在整个生长期的占比较长。该研究结果说明大豆光周期作用和 E 系列基因研究对欧洲栽培大豆品种生态适应性研究的重要意义。2017年 Abugaliev 等^[39]鉴定了来自哈萨克斯坦农业科学院的 120 个品种(系) $E1\sim E4$ 基因型,这些品种是该地区育种工作的主要品种来源,研究材料来自西欧、东欧、北美、东亚和哈萨克斯坦 5 个地区 12 个国家。该研究共检测到 17 个不同的基因型组合,5 个主要组合是 $e1-as/e2/E3/E4$ 、 $e1-as/e2/e3/E4$ 、 $e1-as/e2/e3/e4$ 、 $e1-nl/e2/E3/E4$ 和 $e1-nl/e2/E3/e4$ 。该研究分析了产量表型与基因型的关系, $e1-as/e2/E3/E4$ 基因型的品种(系)数量最多,但在 3 个地区都不是产量最高的基因型,具有显性等位基因 $E3$ 或 $E4$ 基因的品种在这 3 个地区的产量均较高。5 个主要组合的 $E2$ 基因全部为隐性基因型。研究表明东南和东部地区形成一个整体环境,与需要种植成熟期较早的大豆品种的北部地区明显区分开来,这些研究结果将为哈萨克斯坦大豆种植区的基因和表型模式关系的研究与应用提供参考。

2017年 Langewisch 等^[1]鉴定 238 个大豆品种(系) $E1/e1-as$ 、 $E2/e2$ 和 $E3-Ha/E3-Mi/e3-tr$ 基因型,238 个品种中 127 个为美国地方品种,48 个为中国栽培大豆品种,17 个为北美祖先品种,46 个为

北美栽培大豆品种,其中,40%品种采用分子标记方法鉴定,对60%品种进行重测序,利用 Zhou 等^[40]的302个大豆品种的重测序 SNP 数据库分析其基因型。结果表明,美国和加拿大现代大豆育种工作以有限亲本材料为基础,大部分亲本材料来自中国,本土品种 E1~E3 基因等位变异类型存在局限性。美国 MG 0~MG IV 生育区错误的全部使用了基因型为 *e1-as* 的大豆品种,美国至少 2 400 万 hm² 大豆产量受此限制。该研究形成基于大豆主要成熟期位点 E1、E2 和 E3 的美国大豆生育区分子育种模式,该模式能够使育种者更高效的培育出适应不同生态区、具有特定农艺性状的大豆品种。该方法也可以用于优化基因预测及筛选方案,从而整体提高美国和加拿大的大豆品种繁育效率。

不同大豆种植区的研究结果进一步说明尽管 4 个 E 基因不同变异的影响程度存在差异,但其不同基因型组合显著地决定品种的生态适应性,4 个 E 位点等位基因组合和相应分子标记技术能够促进大豆分子繁育从而提高大豆产量。

5 展 望

E1 变异基因型 *e1-b3a* 编码蛋白具正常核定位信号,但 B3 结构域发生变异。*e1-b3a* 在高纬度哈尔滨地区种植的花期较 E1 基因型提前 30 d,在淮安地区约提前 10 d,而 *e1-b3a* 蛋白与 E1 蛋白的亚细胞定位结果一致,而与 *e1-as* 不同,证明 B3 结构域对 E1 基因生物学功能具有重要作用。Tsubokura 等^[28]发现少数品种为 *e1-re*、*e1-p*、*E2-in* 和 *E2-dl* 变异类型。对这些变异类型的深入研究将有助于对 E1 和 E2 基因功能的深入揭示。

E1~E4 对开花的综合贡献估计高达 62%~66%,还有目前尚不为人所知的基因控制^[28]。已知基因(如 E3、E4 和 J)和其他未知因素,至少可以通过调控 E1 基因表达来发挥作用^[2, 24]。大豆中很多农艺性状相关 QTLs 已经被定位但没有克隆出来,相关基因的克隆将有助于对大豆生育期基因调控网络特点的进一步认识^[41],最终实现对大豆生育期调控网络的深入揭示。

重测序和 Sequenom MassARRAY iPLEX platform 系统等^[37,40]更多新型、快速的鉴定方法将有助提高 E1~E4 基因型的鉴定效率,从而带来高效率群体鉴定与分析的可能,包括 E1~E4 基因型鉴定在内的更多大豆农艺性状相关基因的研究和鉴定将

促进分子遗传学研究结果应用到大豆育种工作中。

参考文献 References

- [1] Langewisch T, Lenis J, Jiang G L, Wang D C, Pantalone V, Bilyeu K. The development and use of a molecular model for soybean maturity groups[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17(1):91
- [2] Jia H C, Jiang B J, Wu C X, Lu W C, Hou W S, Sun S, Yan H R, Han T F. Maturity group classification and maturity locus genotyping of early-maturing soybean varieties from high-latitude cold regions[J]. *PLoS ONE*, (2014-09-04)DOI: 10.1371/journal.pone.0094139. eCollection 2014
- [3] Zhai H, Lü S X, Wang Y Q, Chen X, Ren H X, Yang J Y, Cheng W, Zong C M, Gu H P, Qiu H M, Wu H Y, Zhang X Z, Cui T T, Xia Z J. 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*, (2014-09-05) DOI: 10.1371/journal.pone.0097636. eCollection 2014
- [4] Owen F V. Inheritance studies in soybeans. II. Glabrousness, color of pubescence, time of maturity, and linkage relations [J]. *Genetics*, 1927, 12(2): 519-529
- [5] 邱丽娟, 韩天富, 常汝镇. 大豆遗传育种学家王金陵[J]. *遗传*, 2010, 32(10): 979-980
Qiu L J, Han T F, Chang R Z. Soybean geneticist Wang jinling[J]. *Hereditas*, 2010, 32(10): 979-980 (in Chinese)
- [6] 王金陵. 大豆遗传与选种[M]. 北京: 科学出版社, 1958
Wang J L. *Soybean Heredity and Selection* [M]. Beijing: Science Press, 1958 (in Chinese)
- [7] 盖钧镒, 汪越胜. 中国大豆品种生态区域划分的研究[J]. *中国农业科学*, 2001, 34(2): 139-145
Gai J Y, Wang Y S. A study on the varietal eco-regions of soybean in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2001, 34(2): 139-145 (in Chinese)
- [8] Bernard R L. Two major genes for time of flowering and maturity in soybeans[J]. *Crop Science*, 1971, 11(2): 242-244
- [9] Abe J, Xu D, Miyano A, Komatsu K, Kanazawa A, Shimamoto Y. Photoperiod-insensitive Japanese soybean landraces differ at two maturity loci[J]. *Crop Science*, 2003, 43(4):1300-1304
- [10] Buzzell R I. Inheritance of a soybean flowering response to fluorescent day length conditions [J]. *Canadian Journal Genetics and Cytology*, 1971, 13(4): 703-707
- [11] Buzzell R I, Voldeng H D. Inheritance of insensitivity to long day length[J]. *Soybean Genet News*, 1980, 7: 26-29
- [12] McBlain B A, Bernard R L. A new gene affecting the time of flowering and maturity in soybean[J]. *Journal of Heredity*, 1987, 78(3): 160-162
- [13] Bonato E R, Vello N A. E6, a dominant gene conditioning

- early flowering and maturity in soybeans[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 1999, 22(2): 229-232
- [14] Cober E R, Voldeng H D. A new soybean maturity and photoperiod sensitive locus linked to *E1* and *T*[J]. *Crop Science*, 2001, 41(3): 698-701
- [15] Cober E R, Molnar S J, Charette M, Voldeng H D. A new locus for early maturity in soybean[J]. *Crop Science*, 2010, 50(2): 524-527
- [16] Zhao C, Takeshima R, Zhu J H. A recessive allele for delayed flowering at the soybean maturity locus *E9* is a leaky allele of *FT2a*, a Flowering Locust ortholog [J]. *Plant Biology*, 2016, 16(1): 20
- [17] Samanfar B, Molnar S J, Charette M. Mapping and identification of a potential candidate gene for a novel maturity locus, *E10*, in soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130(2): 377-390
- [18] Ray J D, Hinson K, Mankono E B, Malo M F. Genetic control of a long juvenile trait in soybean[J]. *Crop Science*, 1995, 35(4): 1001-1006
- [19] Cober E R, Morrison M J. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 120(5):1005-1012
- [20] Xia Z J, Watanabe S, Yamada T, Tsubokura Y, Nakashima H, Zhai H, Anai T, Sato S, Yamazaki T, Lyu S X, Wu H Y, Tabata S, Haradab K. 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 of the United States of America*, 2012, 109(32): E2155-2164
- [21] Watanabe S, Xia Z, Hideshima R, Tsubokura Y, Sato S, Yamanaka N, Takahashi R, Anai T, Tabata S, Kitamura K, Harada K. 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
- [22] Watanabe S, Hideshima R, Xia Z J, Tsubokura Y, Sato S, Nakamoto Y, Yamanaka N, Takahashi R, Ishimoto M, Anai T, Tabata S, Harada K. Map based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus *E3*[J]. *Genetics*, 2009, 182(4): 1251-1262
- [23] Liu B, Kanazawa A, Matsumura H, Takahashi R, Harada K, Abe J. Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of the phytochrome A gene[J]. *Genetics*, 2008, 180(2): 995-1007
- [24] Lu S J, Zhao X H, Hu Y L, Liu S L, Nan H Y, Li X M, Fang C, Cao D, Shi X Y, Kong L P, Su T, Zhang F G, Li S C, Wang Z, Yuan X H, Cober E R, Weller J L, Liu B H, Hou X L, Tian Z X, Kong F J. Natural variation at the soybean *J* locus improves adaptation to the tropics and enhances yield[J]. *Nature Genetics*, 2017, 49(5):773-779
- [25] Cober E R, Tanner J W, Voldeng H D. Soybean photoperiod-sensitivity loci respond differentially to light quality[J]. *Crop Science*, 1996, 36(3):606-610
- [26] Zhang X Z, Zhai H, Wang Y Y, Tian X J, Zhang Y P, Wu H Y, Lü S X, Yang G, Li Y Q, Wang L, Hu B, Bu Q Y, Xia Z J. Functional conservation and diversification of the soybean maturity gene *E1* and its homologs in legumes[J]. *Scientific Reports*, (2016-12-24) DOI: 10.1038/srep295486
- [27] Upadhyay A, Summerfield R H, Ellis R H, Roberts E H, Qi A. Variation in the durations of the photoperiod-sensitive and photoperiod-insensitive phases of development to flowering among 8 maturity isolines of soybean [*Glycine max* (L) Merrill][J]. *Annals of Botany*, 1994, 74(1):97-101
- [28] Liu B, Kanazawa A, Matsumura H, Takahashi R, Harada K. Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of the phytochrome A gene[J]. *Genetics*, 2008, 180(2): 996-1007
- [29] Zhai H, Lü S X, Wu H Y, Zhang Y P, Zhang X Z, Yang J Y, Wang Y Y, Yang G, Qiu H M, Cui T T, Xia Z J. Diurnal expression pattern, allelic variation, and association analysis reveal functional features of the *E1* gene in control of photoperiodic flowering in soybean[J]. *PLoS ONE*, (2015-10-08) DOI: 10.1371/journal.pone.0135909. eCollection 2015
- [30] Tsubokura Y, Watanabe S, Xia Z J, Kanamori H, Yamagata H, Kaga A, Katayose Y, Abe J, Ishimoto M, Harada K. 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
- [31] Xu M L, Xu Z H, Liu B H, Kong F J, Tsubokura Y, Watanabe S, Xia Z J, Harada K, Kanazawa A, Yamada T, Abe J. Genetic variation in four maturity genes affects photoperiod insensitivity and *PHYA*-regulated post-flowering responses of soybean[J]. *Plant Biology*, 2013, 13(1): 91
- [32] Tsubokura Y, Matsumura H, Xu M L, Liu B H, Nakashima H, Anai T, Kong F J, Yuan X H, Kanamori H, Katayose Y, Takahashi R, Harada K, Abe J. 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
- [33] Harada K, Watanabe S, Xia Z, Tsubokura Y, Yamanaka N, Anai T. In *Soybean-genetics and Novel Techniques for Yield Enhancement: Positional Cloning of the Responsible Genes for Maturity Loci E1, E2 and E3 in Soybean*[M]. America: InTech, 2011
- [34] Jiang B J, Nan H Y, Gao Y F, Tang L L, Yue Y L, Lu S J, Ma L M, Cao D, Sun S, Wang J L, Wu C X, Yuan X H, Hou W S, Kong F J, Han T F, Liu B H. Allelic combinations of soybean maturity Loci *E1*, *E2*, *E3* and *E4* result in diversity of maturity and adaptation to different latitudes[J]. *PLoS ONE*, (2014-09-08) DOI: 10.1371/

- journal. pone. 0106042. eCollection 2014
- [35] Kanazawa A, Liu B H, Kong F J, Arase S, Abe J. 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
- [36] Gupta S, Bhatia V S, Kumawat G, Thakur D, Singh G, Tripathi R, Satpute G, Devadas R, Husain S M, Chand S. Genetic analyses for deciphering the status and role of photoperiodic and maturity genes in major Indian soybean cultivars[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2017, 96(1), 147-154
- [37] Li J C, Wang X B, Song W W, Huang X Y, Zhou J, Zeng H Y, Sun S, Jia H C, Li W B, Zhou X N, Li S Z, Chen P Y, Wu C X, Guo Y, Han T F, Qiu L J. Genetic variation of maturity groups and four E genes in the Chinese soybean mini core collection[J]. *PLoS ONE*, (2017-12-02) DOI:10.1371/journal.pone.0172106. eCollection 2017
- [38] Kurasch A K, Hahn V, Leiser W L, Vollmann J, Schori A, Béatrix C A, Mayr B, Winkler J, Mechtler K, Aper J, Sudaric A, Pejic I, Sarcevic H, Jeanson P, Balko C, Signor M, Miceli F, Strijk P, Rietman H, Muresanu E, Djordjevic V, Pospisil A, Barion G, Weigold P, Streng S, Krön M, Würschum T. Identification of mega-environments in Europe and effect of allelic variation at maturity E loci on adaptation of European soybean[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, 40(5): 765-778
- [39] Abugalieva S, Didorenko S, Anuarbek S, Volkova L, Gerasimova Y, Sidorik I, Turuspekov Y. Assessment of soybean flowering and seed maturation time in different latitude regions of Kazakhstan[J]. *PLoS ONE*, (2016-11-12) DOI:10.1371/journal.pone.0166894. eCollection 2016
- [40] Zhou Z K, Jiang Y, Wang Z, Gou Z H, Lyu J, Li W Y, Yu Y J, Shu L P, Zhao Y J, Ma Y M, Fang C, Shen Y T, Liu T F, Li C C, Li Q, Wu M, Wang M, Wu Y S, Dong Y, Wan W T, Wang X, Ding Z L, Gao Y D, Xiang H, Zhu B G, Lee S H, Wang W, Tian Z X. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean[J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(4): 408-414
- [41] Xia Z J, Zhai H, Lü S X. Recent achievement in gene cloning and functional genomics in soybean[J]. *The Scientific World Journal*, (2013-9-18) DOI: 10.1155/2013/281367

责任编辑: 吕晓梅