

刘念析, 钱雪艳, 邱红梅, 等. 大豆主要生育期基因型鉴定与分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(11): 1992-2000.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.11.002

大豆主要生育期基因型鉴定与分析

刘念析, 钱雪艳, 邱红梅, 刘月, 厉志, 刘佳, 王英男, 谭化, 刘晓冬, 王玉民, 董英山, 李玉秋

(吉林省农业科学院<中国农业科技东北创新中心>, 吉林 长春 130033)

摘要: 大豆是光周期敏感作物, 大豆的生育期除了受到环境条件的影响, 还受到遗传因素的调控。目前的研究发现, 调控大豆开花和成熟的位点包括 *E1~E12* 和 *J* 基因, 其中 *E1~E4* 是调控大豆开花和成熟的主要基因。本研究鉴定了 250 份大豆材料的 *E1~E4* 基因型及开花、成熟表型, 通过关联分析发现, *E1*、*E3* 基因与始花期、成熟期间的关系最密切, 显性的 *E1*、*E3* 基因均有延迟开花的作用, 隐性变异由于功能部分或完全丧失, 导致开花提前。结果显示, 大豆基因型组合可分为 10 组, 分别为 *e1-nle2e4*、*e1-nlE2E3e4*、*e1-nle2E4*、*e1-nlE2E4*、*e1-asE2E4*、*e2e3e4*、*e1-ase2E4*、*E1e2E4*、*E1E2e3e4*、*E1E2E4*, 不同基因型组合决定了大豆生育期的多样化和对不同生态区的适应性。本研究结果为分子设计育种提供了分子模型, 对于培育特定生态区的大豆品种具有重要意义。

关键词: 大豆; 生育期; 基因型; 分子育种模型

中图分类号: S565.101

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2024)11-1992-09

Identification and analysis of major maturity genotypes in soybean

LIU Nianxi, QIAN Xueyan, QIU Hongmei, LIU Yue, LI Zhi, LIU Jia, WANG Yingnan, TAN Hua, LIU Xiaodong, WANG Yumin, DONG Yingshan, LI Yuqiu

(Jilin Academy of Agricultural Sciences (Northeast Agricultural Research Center of China), Changchun 130033, China)

Abstract: Soybean is a photoperiod sensitive crop. The maturity of soybean is not only affected by environmental conditions, but also regulated by genetic factors. At present, *E1-E12* and *J* genes were found to regulate the flowering and ripening of soybean, among which *E1-E4* were the main genes regulating the flowering and ripening of soybean. In this study, 250 soybean materials with *E1-E4* genotypes and flowering and maturity phenotypes were identified. Association analysis showed that *E1* and *E3* genes were most closely related to the first flowering and maturity stages. Dominant *E1* and *E3* genes delayed flowering, while recessive variation caused early flowering due to partial or complete loss of function. In this study, soybean genotype combinations could be divided into 10 groups, namely *e1-nle2e4*, *e1-nlE2E3e4*, *e1-nle2E4*, *e1-nlE2E4*, *e1-asE2E4*, *e2e3e4*, *e1-ase2E4*, *E1e2E4*, *E1E2e3e4*, *E1E2E4*. Different genotype combinations determined the diversification of soybean growth period and its adaptability to different ecological zones. The results of this study provide a molecular prediction model for molecular design breeding, which is important for breeding soybean varieties in specific ecological zones.

Key words: soybean; growth period; genotype; molecular breeding model

收稿日期: 2024-01-30

基金项目: 国家重点研发计划政府间国际合作项目(2022YFE0130300)

作者简介: 刘念析(1987-), 女, 山东高密人, 博士研究生, 副研究员, 主要从事大豆遗传育种及抗病鉴定研究。(E-mail) lnx69@126.com。钱雪燕为共同第一作者。

通讯作者: 李玉秋, (E-mail) lyqhb1@126.com; 董英山, (E-mail) ysdong@cjaas.com

大豆在全世界范围内的分布较广泛, 从 53°N 到 35°S 的区域都有大豆种植。虽然大豆分布范围广泛、适应能力较强, 但是对于具体大豆品种而言, 适种范围非常有限^[1]。主要原因是大豆是非常典

型的光周期敏感作物,尤其体现在纬度差异上,每一纬度的光周期差异会造成大豆的敏感性,导致单一大豆品种的生态适应区非常狭窄,不能被广泛种植。大豆生育期是受到光周期调控的重要生态指标之一,不仅会影响大豆产量,还会影响大豆的品质。除了受到环境影响,大豆生育期主要受到遗传因素的调控,借助经典正向遗传学手段研究发现,调控大豆生育期的位点主要有 *E1~E12* 和 *J*^[2-3],目前人们已经克隆并进行功能解析的有 *E1*、*E2*、*E3*、*E4*、*E9*、*E10*、*E11* 和 *J* 基因^[4-17],其中 *E1*、*E2*、*E3*、*E4* 是研究较深入、应用较多的大豆生育期基因。

E4 基因是最先被克隆的大豆生育期基因,该基因是大豆光敏色素 *A* 基因之一 (*GmphyA2*),编码光敏色素蛋白,其隐性等位变异位点的形成原因是控制该位点的基因 *GmphyA2* 的第 1 个外显子存在 1 个长末端重复序列 (Long terminal repeat, LTR) 型反转录转座子插入,从而造成功能丧失^[7]。*E4* 基因中存在 *e4-kes*、*e4-SORE1*、*e4-kam*、*e4-oto* 和 *e4-tsu* 等 4 个隐性等位变异^[18-19]。作为大豆光敏色素 *A* 基因 (*GmphyA3*) 的另一个拷贝, *E3* 是第 2 个被克隆的大豆生育期基因^[2]。*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,决定了大豆品种在高纬度地区的生态适应区域。*E3* 基因编码区包含 4 个外显子,编码长度为 1 130 个氨基酸的蛋白质, *E3* 基因存在 *E3-Mi*、*E3-Ha*、*e3-tr*、*e3-mo*、*e3-ns* 和 *e3-fs* 等 6 种等位变异类型,其中 *E3-Mi*、*E3-Ha* 和 *e3-tr* 型较常见^[18,20]。

E2 基因为拟南芥 *GI* (*GIGANTEA*) 的同源基因 *GmGla*, 是第 3 个被克隆的大豆生育期基因^[6]。*E2* 基因是生物钟相关基因,在 *CO-FT* 光周期调控途径中起到重要作用,作用于 *CO* 和 *FT* 的上游,无论在长日照还是短日照条件下都呈现周期性节律表达。目前发现的 *E2* 基因变异类型^[18] 有 *e2-dl*、*e2-ns* 和 *e2-in*,其中 *e2-ns* 型最常见。*E1* 是第 4 个被解析且对大豆生育期影响最大的基因。Xia 等^[4] 通过精确定位将该基因定位到单基因水平,克隆了 17.4 kb 区域内唯一的候选基因 (*E1*), *E1* 基因中存在 *e1-fs*、*e1-as*、*e1-nl* 及 *e1-b3a* 4 种等位变异基因型。*E1* 是豆科作物所特有的基因,在长日照条件下会抑制开花,且呈现昼夜节律性表达,对开花期的作用大于对成熟期的作用。

E1、*E2*、*E3*、*E4* 是最早被解析的大豆生育期相关

的主效基因,而且 *E1~E4* 位点的不同等位基因型不仅调控大豆的生育期,还决定着大豆的生态适应性。各国研究者先后对其国内不同生态区的大豆品种进行了 *E1~E4* 基因型鉴定与分析,根据表型将大豆品种划分为不同组别,用于生产中品种的定向选育、熟期划分、精准育种等方面^[18-28]。为了研究 *E* 系列基因位点与农艺性状间的关系,2016 年 Abugalieva 等^[25] 鉴定了来自不同地区 and 国家的 120 个大豆资源,发现主要基因组合是 *e1-as/e2/E3/E4*,当 *E3*、*E4* 位点为显性时,大豆资源在不同区域都表现出高产。2017 年 Langewisch 等^[26] 鉴定了 238 个大豆品种 (系) 的 *E1~E3* 基因型,发现 70% 的北美祖先种都是 *e1-as* 型, *E2* 主要存在于农家种和中国大豆品种中,而北美祖先种中 71% 都是 *E2* 基因型。2023 年 Yerzhebayeva 等^[27] 对来自哈萨克斯坦的 11 个群体及 667 份后代材料的生育期表型和基因型进行了调查、鉴定,通过分析,将基因型分为 10 组,发现超短生育期组 MG00 与 *e1e3 E4 e7* 间的关联度最高,早熟组 MG0 与 *e1e3 E4 e7* 间的关联度最高。本研究拟对 300 份大豆资源进行生育期表型鉴定及 *E1~E4* 基因等位变异分析,探索 *E1~E4* 基因等位变异与大豆生育期基因间的关系,并用分子生物学手段构建大豆的生育期分子预测模型,与生态适应性研究结合,以期为中国大豆生育区划分、区域适应性分析提供参考,本研究结果对实现高效、定向、精准的分

1 材料与方法

1.1 供试材料

250 份栽培大豆材料由吉林省农业科学院大豆研究所栽培大豆资源课题组提供。

1.2 表型性状的调查与鉴定

2017–2019 年将 250 份大豆资源种植于吉林省公主岭市,春季播种,行长 4.50 m,垄距 0.65 m,每行播种 60 粒。出苗后调查出苗期 (VE)、始花期 (R1)、成熟期 (R8) 等数据。

1.3 DNA 提取与引物设计

采用改良的十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 法提取叶片 DNA。取适量叶片放入 2 mL 离心管中,用液氮速冻后将组织打碎,分别加入 600~800 μ L 预热 (65 $^{\circ}$ C) 的 CTAB 溶液、10 μ L β -巯基乙醇,65 $^{\circ}$ C 放置 40 min,中间晃动 2 次并加入 600~800 μ L 三氯

甲烷-异戊醇混合溶液(体积比=24:1)混匀,12 000 *g* 室温离心 30 min 后,取上清液(约 500 μ L)转移到新的 2 mL 离心管中,加入 420 μ L 异丙醇混匀,室温放置 1 h,12 000 *g* 离心 30 min,弃上清液并加入 800 μ L 75%乙醇洗涤沉淀,12 000 *g* 室温离心 1 min,倒掉乙醇后在室温下晾干,加入 80 μ L 去离子水溶解 DNA。用 Nano Drop 2000 超微量分光光度计检测 DNA 浓度。用于检测 *E1*~*E4* 基因型的引物参考前人使用的 CAPS、dCAPS、InDel 等引物^[28],引物序列由吉林省库美生物科技有限公司合成。

1.4 PCR 反应体系与酶切反应体系

PCR 反应体系:0.8 μ L (10 μ M) 引物,5.0 μ L DNA 聚合酶[2 \times EasyTaq[®] PCR SuperMix (+dye)],1.0 μ L 模板 DNA (50 ng),用 ddH₂O 补足至 10.0 μ L。

PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94 $^{\circ}$ C 变性 15 s,52~56 $^{\circ}$ C 复性 20 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,循环 35 次。

限制性酶切反应体系:0.5 μ L PCR 产物,1.0 μ L 限制性内切酶,1.0 μ L 10 \times buffer,用 ddH₂O 补足体积至 20.0 μ L,于 37 $^{\circ}$ C 反应 2~3 h。通过 10% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测酶切产物。

1.5 基因型鉴定方法

参照刘月等^[28]的 *E1*~*E4* 基因型鉴定方法,根据 PCR 扩增产物及酶切反应产物大小鉴定生育期基因型。

1.6 统计分析

用 IBM SPSS 20 软件进行相关性分析,选择 Spearman 相关系数分析分类变量。

2 结果与分析

2.1 大豆始花期、成熟期表型的调查

250 份大豆种质资源于 2017~2019 年种植于吉林省公主岭市,出苗后调查出苗期,用于生育期数据分析。在大豆生长期,对其出苗期(VE)、始花期(R1)、成熟期(R8)进行调查。结果表明,大豆始花期在各年间表现稳定,由图 1A、图 1B 可以看出,2017 年的始花期与 2018 年、2019 年较为一致。由于受到品种差异、环境及气候的影响,成熟期的表现不尽相同,但各年间相对较为稳定。

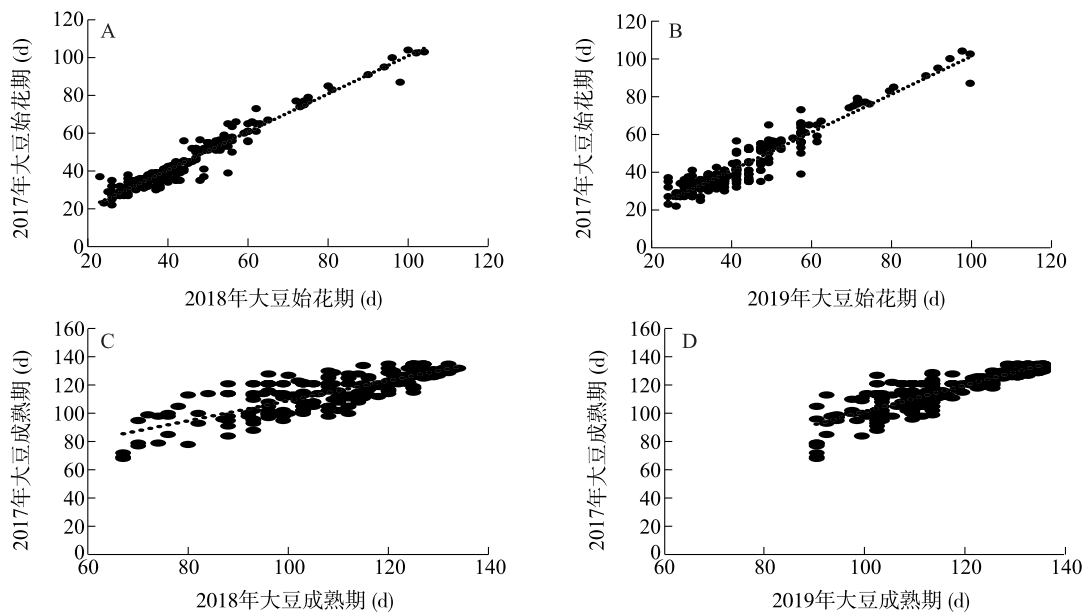
2.2 大豆生育期基因型的鉴定

对 250 份大豆材料进行生育期 *E1*~*E4* 基因型的鉴定,从 *E1* 基因中共鉴定出 3 个等位变异,分别为 *E1*、*e1-as*、*e1-nl*。*E1* 位点上的显性基因型(*E1*)

最多,占 48%;*e1-as* 与 *e1-nl* 的等位变异数量相等,占比均为 26%(图 2A、图 2E)。从 *E2* 基因中共鉴定出 2 个等位变异,分别为 *E2*、*e2*,其中 *e2* 占比最高,达 82%,*E2* 占比为 18%(图 2B、图 2F)。从编码光敏色素 *PhyA* 的 *E3* 基因中共鉴定出 5 个等位变异,分别为 *E3-Ha*、*E3-Mi*、*e3-tr*、*e3-mo*、*e3-fs*,其中 *E3-Ha* 等位变异占 26%,*E3-Mi* 等位变异占 19%,*e3-tr* 等位变异占 47%,*e3-mo* 等位变异占 7%,*e3-fs* 等位变异较少,仅占 1%(图 2C、图 2G)。从编码光敏色素 *PhyA* 的 *E4* 基因中共鉴定出 2 个等位变异,分别为 *E4* 和 *e4-SORE1*,其中 *E4* 占 94%,*e4-SORE1* 仅占 6%(图 2D、图 2H)。

2.3 大豆生育期基因型及表型的关联分析

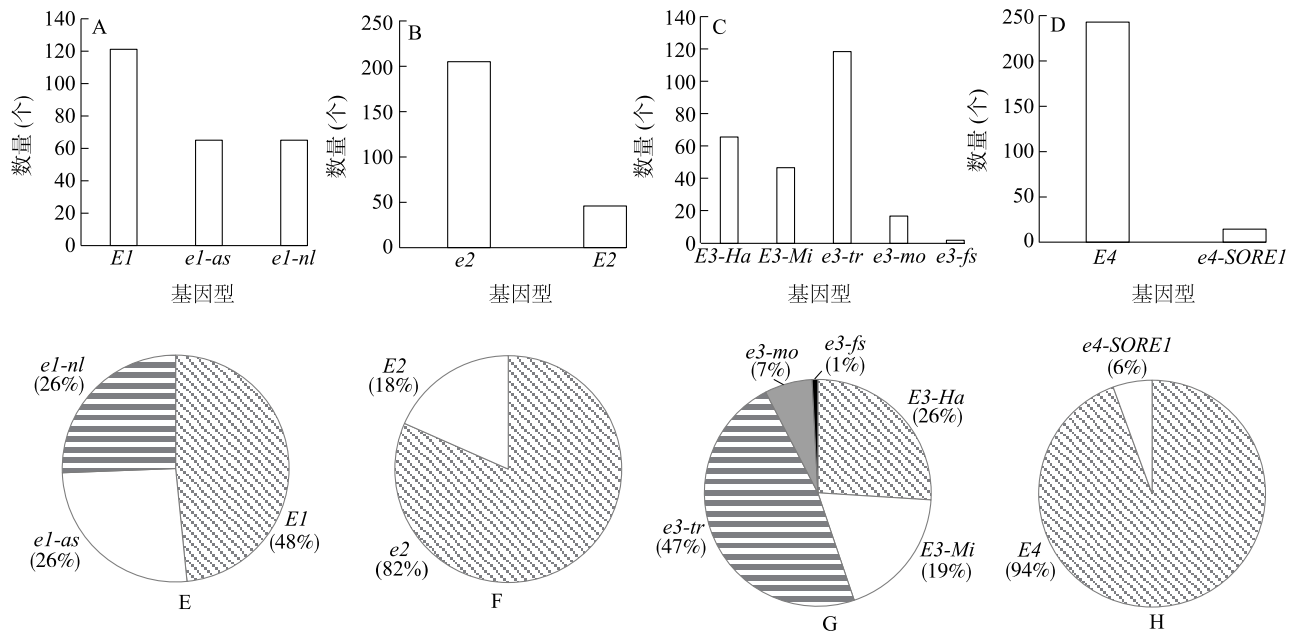
对上述资源的生育期基因 *E1*、*E2*、*E3*、*E4* 的来源地、始花期、生育期及生殖生长期进行了相关性分析。表 1 表明,*E1* 基因与生殖生长期显著相关,与种质来源地、始花期极显著相关。*E1* 基因是已知生育期相关基因中对始花期影响最大的基因,具有抑制开花的作用。*E1* 编码功能型蛋白质,*e1-as* 编码功能部分缺失型蛋白质,*e1-nl* 变异类型蛋白质功能完全缺失。*E1* 调控的始花期平均为 51.45 d,*e1-as* 品种的平均始花期为 36.51 d,*e1-nl* 品种的平均始花期为 37.33 d(图 3A)。由此可见,在延迟开花功能方面,*E1*>*e1-nl*>*e1-as*,在促进大豆开花功能方面,*e1-as*>*e1-nl*>*E1*。*E1* 基因型的大豆材料平均生育期为 118.14 d,*e1-as* 基因型的大豆材料平均生育期为 109.23 d,*e1-nl* 基因型的大豆材料平均生育期为 115.14 d(图 3C)。由此可见,含有显性 *E1* 位点的大豆品种开花迟、成熟晚。*E1* 基因型大豆材料的平均生殖生长期为 72.32 d,*e1-as* 基因型大豆材料的平均生殖生长期为 72.70 d,*e1-nl* 基因型大豆材料的平均生殖生长期为 77.71 d。此外,品种来源地与 *E1* 基因型紧密相关,在 64 份含有 *e1-nl* 基因型的材料中,23 份来源于黑龙江省,31 份来源于吉林省,4 份来源于辽宁省;在 65 份含有 *e1-as* 基因型的材料中,29 份来源于黑龙江省,18 份来源于吉林省;在含有 *E1* 基因型的 121 份材料中,来自黑龙江省的材料有 14 份,来自吉林省的材料有 47 份,来自南方、黄淮地区的材料有 29 份(表 2)。由此可见,大多数含有 *e1-as*、*e1-nl* 基因型的大豆材料来自黑龙江省、吉林省等地区。



A: 2017 年与 2018 年大豆始花期数据拟合结果; B: 2017 年与 2019 年大豆始花期数据拟合结果; C: 2017 年与 2018 年大豆成熟期数据拟合结果; D: 2017 年与 2019 年大豆成熟期数据拟合结果。

图 1 2017–2019 年大豆始花期及成熟期数据拟合结果

Fig.1 Data fitting of initial flowering stage and maturity stage of soybean resources from 2017 to 2019



A: *E1* 等位基因变异频率; B: *E2* 等位基因变异频率; C: *E3* 等位基因变异频率; D: *E4* 等位基因变异频率; E: *E1* 等位基因变异分布比例; F: *E2* 等位基因变异分布比例; G: *E3* 等位基因变异分布比例; H: *E4* 等位基因变异分布比例。

图 2 大豆种质资源生育期基因型频率

Fig.2 Frequencies of maturity genotypes in soybean germplasm resources

E3 与始花期、生育期呈极显著相关。*E3-Mi* 基因型大豆材料的平均始花期为 45.52 d, *E3-Ha* 基因型大豆材料平均始花期为 53.40 d, *e3-tr* 基因型大豆材料的平均始花期为 39.59 d, *e3-mo* 基因型大豆材

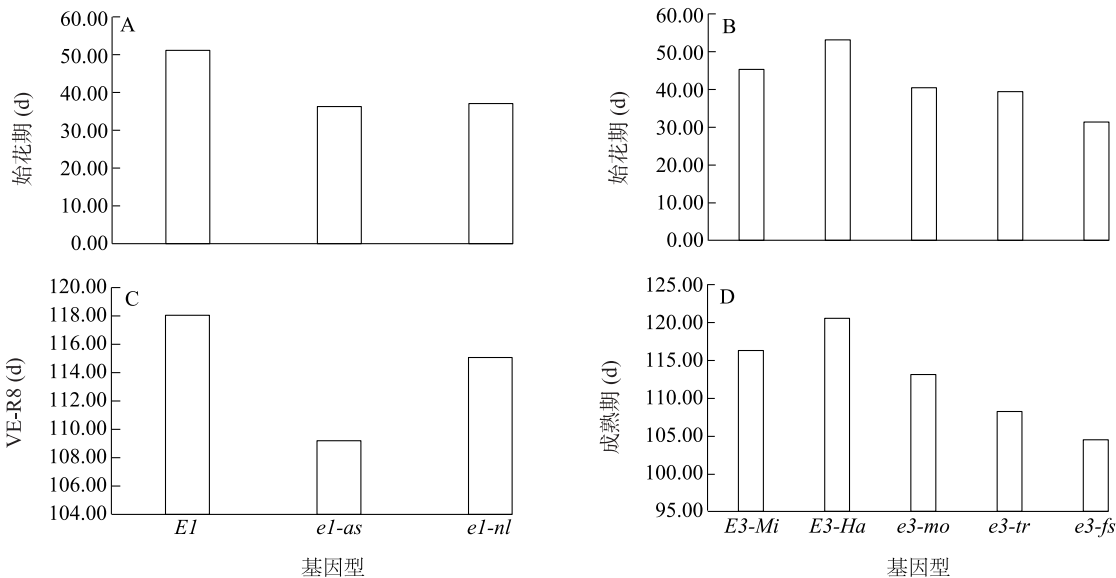
料的平均始花期为 40.63 d, *e3-fs* 基因型大豆材料的平均始花期为 31.50 d。由此可见,在延长始花期功能上, $E3-Ha > E3-Mi > e3-mo > e3-tr > e3-fs$ 。相反,促进开花的功能则表现为 $e3-fs > e3-tr > e3-mo > E3-Mi >$

表 1 生育期基因与始花期、成熟期及种质来源间的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of growth stage genes with initial flowering stage, maturity stage and germplasm sources

类别	相关系数							
	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>	来源地	始花期	生育期	生殖生长期
<i>E1</i>	1.000							
<i>E2</i>	0.050	1.000						
<i>E3</i>	0.088	0.101	1.000					
<i>E4</i>	0.107	0.028	0.122	1.000				
来源地	0.204 **	0.004	0.040	0.103	1.000			
始花期	0.390 **	0.137 *	0.196 **	0.092	0.364 **	1.000		
生育期	0.120	0.024	0.178 **	0.034	0.067	0.623 **	1.000	
生殖生长期	0.173 *	0.066	0.112	0.000	0.264 **	0.134 *	0.688 **	1.000

*、** 分别表示显著 ($P<0.05$)、极显著 ($P<0.01$) 相关。



A: *E1* 不同等位基因型的始花期; B: *E3* 不同等位基因型的始花期; C: *E1* 不同等位基因型的平均生育期; D: *E3* 不同等位基因型的成熟期。VE-R8; 出苗至成熟期。

图 3 *E1*、*E3* 基因不同等位变异的大豆始花期和生育期

Fig.3 The initial flowering stage and growth period of soybean with different allelic variations of *E1* and *E3* genes

E3-Ha。*E3-Mi* 基因型大豆材料的平均生育期为 116.35 d, *E3-Ha* 基因型大豆材料的平均生育期为 120.61 d, *e3-tr* 基因型大豆材料的平均生育期为 108.25 d, *e3-mo* 基因型大豆材料的平均生育期为 113.17 d, *e3-fs* 基因型大豆材料的平均生育期为 104.50 d。在延长生育期功能方面, $E3-Ha>E3-Mi>e3-mo>e3-tr>e3-fs$ 。品种来源地与始花期、生殖生长期呈极显著相关。经鉴定发现, 250 份材料中有 46 份材料含有显性 *E2* 基因型, 204 份材料均为 *E2* 基因型; 236 份材料 *E4* 位点均为显性基因型, 仅有 14 个大豆材料为 *E4* 基因型, 且多数为黑龙江的大豆

品种。

2.4 基因型分组

基于 *E1*~*E4* 基因的等位变异情况, 将 250 份大豆材料分为 10 个组合, 分别为 *e1-nle2e4*、*e1-nlE2E3e4*、*e1-nle2E4*、*e1-nlE2E4*、*e1-asE2E4*、*e2e3e4*、*e1-ase2E4*、*E1e2E4*、*E1E2e3e4*、*E1E2E4* (表 2)。*e1-nle2e4* 组包括 *e1-nl+e2+e3-tr+e4-SORE1*、*e1-nl+e2+e3-mo+e4-SORE1*、*e1-nl+e2+E3-Ha+e4-SORE1*、*e1-nl+e2+E3-Mi+e4-SORE1* 这 4 种基因型, 该组共有 5 个材料, 占总材料数的 2%, 其中 3 个材料来源于黑龙江省, 2 个材料来源于吉林省。*e1-nlE2E3e4* 组只包含 1 个来自黑龙江

江省的大豆材料,基因型为 $e1-nl+E2+E3-Mi+e4-SORE1$ 。 $e1-nle2E4$ 组包括 4 种基因型,分别为 $e1-nl+e2+e3-tr+E4$ 、 $e1-nl+e2+e3-mo+E4$ 、 $e1-nl+e2+E3-Mi+E4$ 、 $e1-nl+e2+E3-Ha+E4$ 。 $e1-nl+e2+e3-tr+E4$ 基因型的 27 个材料的平均始花期为 (36.06 ± 2.00) d,平均生育期为 (105.23 ± 7.37) d; $e1-nl+e2+e3-mo+E4$ 基因型的 2 个材料的平均始花期为 (30.67 ± 1.26) d,平均生育期为 (89.33 ± 9.07) d; $e1-nl+e2+E3-Mi+E4$ 基因型的 8 个材料的平均始花期为 (38.54 ± 1.66) d,平均

生育期为 (120.38 ± 5.58) d; $e1-nl+e2+E3-Ha+E4$ 基因型的 11 个材料的平均始花期为 (39.44 ± 1.45) d,平均生育期为 (115.64 ± 5.40) d。从始花期和生育期数据看出,在促进开花功能方面, $e3-fs > e3-tr (e3-mo) > E3-Mi > E3-Ha$ 。 $e1-nlE2E4$ 组共有 3 种基因型,分别为 $e1-nl+E2+e3-tr+E4$ 、 $e1-nl+E2+e3-mo+E4$ 、 $e1-nl+E2+E3-Ha+E4$,共 10 个材料,其中有 7 个来自吉林省,2 个来自黑龙江省,1 个来自黄淮地区。

表 2 基因型的分组信息

Table 2 Grouping information of genotypes

分组	基因型组合	资源数量 (个)	资源来源地及数量
$e1-nle2e4$	$e1-nl+e2+e3-tr+e4-SORE1$	1	黑龙江省,1 个
	$e1-nl+e2+e3-mo+e4-SORE1$	2	黑龙江省,1 个;吉林省,1 个
	$e1-nl+e2+E3-Ha+e4-SORE1$	1	黑龙江省,1 个
	$e1-nl+e2+E3-Mi+e4-SORE1$	1	吉林省,1 个
$e1-nlE2E3e4$	$e1-nl+E2+E3-Mi+e4-SORE1$	1	黑龙江省,1 个
$e1-nle2E4$	$e1-nl+e2+e3-tr+E4$	27	黑龙江省,15 个;吉林省,6 个;辽宁省,3 个;欧洲,2 个;加拿大,1 个
	$e1-nl+e2+e3-mo+E4$	2	吉林省,1 个;欧洲,1 个
	$e1-nl+e2+E3-Mi+E4$	8	吉林省,8 个
	$e1-nl+e2+E3-Ha+E4$	11	黑龙江省,2 个;吉林省,7 个;辽宁省,1 个;日本,1 个
$e1-nlE2E4$	$e1-nl+E2+e3-tr+E4$	7	黑龙江省,1 个;吉林省,5 个;黄淮地区,1 个
	$e1-nl+E2+e3-mo+E4$	1	吉林省,1 个
	$e1-nl+E2+E3-Ha+E4$	2	黑龙江省,1 个;吉林省,1 个
$e1-asE2E4$	$e1-as+E2+e3-tr+E4$	3	黑龙江省,2 个;吉林省,1 个
	$e1-as+E2+e3-mo+E4$	3	黑龙江省,2 个;日本,1 个
	$e1-as+E2+E3-Mi+E4$	2	吉林省,1 个;辽宁省,1 个
	$e1-as+E2+E3-Ha+E4$	1	美国,1 个
$e2e3e4$	$e1-as+E2+e3-fs+E4$	1	黑龙江省,1 个
	$e1-as+e2+e3-tr+e4-SORE1$	4	黑龙江省,4 个
$e1-ase2E4$	$E1+e2+e3-tr+e4-SORE1$	3	黑龙江省,2 个;美国,1 个
	$e1-as+e2+e3-tr+E4$	25	黑龙江省,11 个;吉林省,8 个;辽宁省,1 个;欧洲,2 个;美国,2 个;内蒙古自治区,1 个
	$e1-as+e2+e3-mo+E4$	2	内蒙古自治区,1 个;欧洲,1 个
	$e1-as+e2+E3-Mi+E4$	6	黑龙江省,2 个;吉林省,3 个;美国,1 个
	$e1-as+e2+E3-Ha+E4$	17	黑龙江省,6 个;吉林省,5 个;辽宁省,1 个;内蒙古自治区,1 个;欧洲,1 个;美国,3 个
$E1e2E4$	$e1-as+e2+e3-fs+E4$	1	黑龙江省,1 个
	$E1+e2+e3-tr+E4$	37	黑龙江省,5 个;吉林省,10 个;辽宁省,10 个;日本,2 个;黄淮地区,5 个;南方地区,2 个;美国,1 个;欧洲,2 个
	$E1+e2+e3-mo+E4$	5	吉林省,4 个;内蒙古自治区,1 个
	$E1+e2+E3-Mi+E4$	24	黑龙江省,2 个;吉林省,11 个;辽宁省,1 个;新疆维吾尔自治区,1 个;黄淮地区,7 个;南方地区,2 个
$E1e2E3e4$	$E1+e2+E3-Ha+E4$	26	吉林省,15 个;辽宁省,6 个;日本,1 个;黄淮地区,1 个;南方地区,3 个
	$E1+E2+e3-tr+e4-SORE1$	1	美国,1 个
	$E1+E2+e3-tr+E4$	11	黑龙江省,4 个;吉林省,3 个;辽宁省,1 个;日本,1 个;黄淮地区,2 个
$E1E2E4$	$E1+E2+e3-mo+E4$	2	吉林省,1 个;辽宁省,1 个
	$E1+E2+E3-Mi+E4$	5	吉林省,1 个;黄淮地区,3 个;南方地区,1 个
	$E1+E2+E3-Ha+E4$	7	黑龙江省,1 个;吉林省,2 个;辽宁省,1 个;黄淮地区,2 个;南方地区,1 个

e1-asE2E4 组共有 *e1-as+E2+e3-tr+E4*、*e1-as+E2+e3-mo+E4*、*e1-as+E2+E3-Mi+E4*、*e1-as+E2+E3-Ha+E4*、*e1-as+E2+e3-fs+E4* 这 5 种基因类型。*e2e3e4* 组共有 2 种基因型,分别为 *e1-as+e2+e3-tr+e4-SORE1*、*E1+e2+e3-tr+e4-SORE1*,前一种基因型的 4 个大豆材料的始花期为 (32.92±1.70) d,生育期为 (101.08±10.04) d,后一种基因型的 3 个大豆材料的始花期为 (39.11±2.80) d,生育期为 (113.67±9.60) d,这组中含有的 *e1-as* 基因型的大豆材料比 *E1* 基因型的大豆材料开花早,生育期短。*e1-ase2E4* 组含有 *e1-as+e2+e3-tr+E4*、*e1-as+e2+e3-mo+E4*、*e1-as+e2+E3-Mi+E4*、*e1-as+e2+E3-Ha+E4*、*e1-as+e2+e3-fs+E4* 这 5 个基因型。第 1 种基因型大豆材料的平均始花期为 (34.39±2.00) d,平均生育期为 (105.43±5.97) d;第 2 种基因型大豆材料的平均始花期为 (37.33±1.90) d,平均生育期为 (102.50±5.15) d;第 3 种基因型大豆材料的平均始花期为 (46.61±2.54) d,平均生育期为 (123.06±3.86) d;第 4 种基因型大豆材料的平均始花期为 (37.71±2.54) d,平均生育期为 (108.71±5.94) d;第 5 种基因型的材料仅有 1 个。

E1E2e3e4 组仅有 1 个材料,来源于美国。*E1e2E4* 组有 *E1+e2+e3-tr+E4*、*E1+e2+e3-mo+E4*、*E1+e2+E3-Mi+E4*、*E1+e2+E3-Ha+E4* 这 4 个基因型。第 1 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (47.38±2.40) d,平均生育期为 (116.62±5.48) d;第 2 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (40.60±1.02) d,平均生育期为 (117.47±4.89) d;第 3 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (55.42±2.22) d,平均生育期为 (118.11±3.16) d;第 4 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (48.62±2.44) d,平均生育期为 (117.00±3.68) d;在延迟开花功能方面,*E3-Mi>E3-Ha>e3-tr>e3-mo*。*E1E2E4* 组有 *E1+E2+e3-tr+E4*、*E1+E2+e3-mo+E4*、*E1+E2+E3-Mi+E4*、*E1+E2+E3-Ha+E4* 这 4 个基因型,第 1 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (43.65±2.85) d,平均生育期为 (108.73±4.42) d;第 2 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (63.50±3.20) d,平均生育期为 (118±2.08) d;第 3 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (75.13±2.02) d,平均生育期为 (130.33±1.26) d;第 4 种基因型的大豆材料的平均始花期为 (63.40±3.20) d,平均生育期为 (117.17±4.08) d;在延迟开

花及生育期功能方面,*E3-Mi>E3-Ha*。

3 讨论

3.1 *E1~E4* 基因等位变异多样性

大豆生育期等位基因变异的多样性决定了大豆品种的生态适应性。调控大豆生育期的主要位点为 *E1~E4*。*E1* 基因具有延迟开花、促进成熟的作用,目前 *E1* 的等位变异类型主要有 *e1-nl*、*e1-fs*、*e1-as*、*e1-b3a* 和 *E1*。拥有功能缺失型基因(*e1-fs*、*e1-nl*)的大豆材料表现出极早的始花期、成熟期。由于单碱基突变,导致 *e1-as* 基因型的功能部分缺失,其开花期和成熟期介于 *E1* 和 *e1-nl* 之间。在本研究中,*E1* 基因主要鉴定出 *E1*、*e1-nl*、*e1-as* 这 3 种变异类型,其中 *E1* 占比最高,达 48%,而 *e1-nl*、*e1-as* 的占比相当。*E1* 可显著延长营养生长期,而携带 *e1-nl* 基因型的大豆材料的营养生长期明显缩短。*E2* 基因的变异类型有 *e2-ns*、*e2-in* 和 *e2-dl*,本研究中鉴定的 *E2* 位点主要为 *E2*、*e2(e2-ns)* 类型,82% 为 *e2* 类型,18% 为 *E2* 类型。*E2* 类型虽然占比较低,但在北方大豆、南方大豆材料中均有分布。*E3* 位点的等位变异较为丰富,本研究中该位点的主要基因型有 *E3-Mi*、*E3-Ha*、*e3-tr*、*e3-mo* 和 *e3-fs*,其中 *e3-tr* 基因类型的占比最高,达 47%,而 *e3-fs* 基因型较少,只占 1%。携带 *e3-tr* 基因型的大豆材料的开花期、生育期均居中,在南方和黄淮地区,此基因型相对较少,多数存在于黑龙江省、吉林省等北方大豆材料中。*E3-Ha* 和 *E3-Mi* 基因型均具有延迟开花期和生育期的功能,占比分别为 26%、19%。*E4* 位点的遗传变异同样较为丰富,目前发现的 *E4* 位点变异类型主要有 5 种,但本试验中的大部分材料均为 *E4* 显性基因型,仅有 14 个大豆材料为 *E4* 基因型,且多数为黑龙江省的大豆品种,说明 *E4* 基因型适应高纬度区域,为光钝感型,这与 Tsubokura 等^[19]、Lange-wisch 等^[26]、Jiang 等^[23] 的研究结果一致。

3.2 *E1~E4* 基因等位变异组合对生育期的影响

大豆的生育期决定了其生态适应性,探索 *E1~E4* 基因不同等位变异类型组合与大豆生育期的相关性,对于育种者进行大豆生态区域划分具有重要的指导意义,对分子育种也具有重要的指导意义。本研究通过对 *E1~E4* 不同等位变异的基因型鉴定,发现 *E1*、*E3* 位点与大豆全生育期紧密相关,对始花期、生育期的影响较大,因此主要根据 *E1*、*E3* 的不同等位基因型将 250 份大豆材料划分为 10 组,分别为 *e1-*

nle2e4、*e1-nle2E3e4*、*e1-nle2E4*、*e1-nle2E4*、*e1-asE2E4*、*e2e3e4*、*e1-ase2E4*、*E1e2E4*、*E1E2e3e4*、*E1E2E4*。从分组结果可以看出,*E1~E4* 位点中的显性位点越多,大豆材料的开花越延迟,生育期越长,而含有的隐性位点越多,开花越提前,生育期越短,这一结果与 Li 等^[22]的研究结果一致。在 10 个分组中,*E1e2E4* 组材料最多,共 92 份,占总材料数的 36.8%,其中 *E1+e2+e3-tr+E4* 的基因型最多,共 37 份,吉林省、辽宁省的材料居多。*e1-ase2E4*、*e1-nle2E4* 组材料的数量紧随其后,分别为 51 份、48 份,而这 2 组中的多数资源来源于黑龙江省、吉林省。由研究结果可以大致看出,含有隐性基因型 *e1-as*、*e1-nl*、*e3-tr* 的大豆材料生育期较短,适合高纬度地区,也就是大豆生育期偏早的地区;含有 *E1*、*E3* 基因型的大豆材料生育期较长,适合低纬度地区,也就是大豆生育期偏晚的地区。上述结果与 Yerzhebayeva 等^[27]的研究结果一致。本研究结果表明,*E1* 对开花期的影响较大,而 *E3* 对开花后期的影响较大,通过二者不同功能的等位变异,可构建生育期分子预测模型,用于指导育种者定向培育不同适应性的大豆品种。

参考文献:

- [1] 杨如萍,宋雯雯,韦 瑛,等. 甘肃省大豆品种生育期组的划分及地理分布研究[J]. 植物遗传资源学报,2021,22(2):349-360.
- [2] LIN X Y, LIU B H, WELLER J L, et al. Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2021,63(6):981-994.
- [3] WU T T, LU S J, CAI Y P, et al. Molecular breeding for improvement of photothermal adaptability in soybean[J]. Molecular Breeding,2023,43(8):60.
- [4] XIA Z J, 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 of the United States of America,2012,109(32):E2155-E2164.
- [5] WATANABE S, HIDESHIMA R, XIA Z J, et al. Map-based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus *E3*[J]. Genetics,2009,182(4):1251-1262.
- [6] WATANABE S, XIA Z J, 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.
- [7] LIU B H, 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.
- [8] DISSANAYAKA A, RODRIGUEZ T O, DI S K, et al. Quantitative trait locus mapping of soybean maturity gene *E5*[J]. Breeding Science,2016,66(3):407-415.
- [9] NISSAN N, COBER E R, SADOWSKI M, et al. Identifying new variation at the *J* locus, previously identified as *e6*, in long juvenile 'Paranagoiana' soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics,2021,134(4):1007-1014.
- [10] COBER E R, VOLDENG H D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to *E1* and *T*[J]. Crop Science,2001,41(3):698-701.
- [11] COBER E R, MOLNAR S J, CHARETTE M, et al. A new locus for early maturity in soybean[J]. Crop Science,2010,50(2):524-527.
- [12] KONG F J, NAN H Y, CAO D, et al. A new dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean[J]. Crop Science,2014,54(6):2529-2535.
- [13] SAMANFAR B, MOLNAR S J, CHARETTE M, et al. 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.
- [14] WANG F F, NAN H Y, CHEN L Y, et al. A new dominant locus, *E11*, controls early flowering time and maturity in soybean[J]. Molecular Breeding,2019,39(5):70.
- [15] LU S J, ZHAO X H, HU Y L, et al. Natural variation at the soybean *J* locus improves adaptation to the tropics and enhances yield[J]. Nature Genetics,2017,49:773-779.
- [16] TANG Y, LU S J, FANG C, et al. Diverse flowering responses subjecting to ambient high temperature in soybean under short-day conditions[J]. Plant Biotechnology Journal,2023,21(4):782-791.
- [17] WANG L S, LI H Y, HE M L, et al. *GIGANTEA* orthologs, *E2* members, redundantly determine photoperiodic flowering and yield in soybean[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2023,65(1):188-202.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] TARDIVEL A, SONAH H, BELZILE F, et al. Rapid identification of alleles at the soybean maturity gene *E3* using genotyping by sequencing and a haplotype-based approach[J]. The Plant Genome,2014,7(2):1-9.
- [21] ZHAI H, LYU 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):e97636.
- [22] LI J C, WANG X B, SONG W W, et al. Genetic variation of ma-

- turity groups and four *E* genes in the Chinese soybean mini core collection[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172106.
- [23] JIANG B J, NAN H Y, GAO Y F, 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.
- [24] KURASCH A K, HAHN V, LEISER W L, et al. 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.
- [25] ABUGALIEVA S, DIDORENKO S, ANUARBEK S, et al. Assessment of soybean flowering and seed maturation time in different latitude regions of Kazakhstan[J]. PLoS One, 2016, 11(12): e0166894.
- [26] LANGEWISCH T, LENIS J, JIANG G L, et al. The development and use of a molecular model for soybean maturity groups[J]. BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 91.
- [27] YERZHEBAYEVA R, DIDORENKO S, AMANGELDIYEVA A, et al. Marker-assisted selection for early maturing *E* loci in soybean yielded prospective breeding lines for high latitudes of northern Kazakhstan[J]. Biomolecules, 2023, 13(7): 1146.
- [28] 刘月, 齐广勋, 桑永生, 等. 山东省 3 个野生大豆居群生育期基因遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(3): 560-567.

(责任编辑:徐 艳)