*GmLUX2*基因的发现开辟“北豆南移”新路径

韩天富*, 蒋炳军

中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081

* 联系人, E-mail: hantianfu@caas.cn

收稿日期: 2021-01-18; 接受日期: 2021-01-27; 网络版发表日期: 2021-02-09

大豆是第二次世界大战后发展最为迅速的主要农作物, 特别是近50年来, 巴西等热带国家大豆生产异军突起, 成为新的世界大豆生产区和出口区, 深刻改变了世界大豆产业的格局. 目前, 大豆是国际贸易额最大的农产品, 其供给状况直接影响人类的营养健康和地缘政治, 对人多地少的我国来说, 更是关系食物供给和国民经济安全的重大问题.

大豆是光周期反应敏感的短日作物, 当高纬度地区(长日照)大豆品种引入低纬度的热带、亚热带地区(短日照)后, 会出现开花期显著提前、生育期明显缩短、产量大幅度下降等“水土不服”现象. 20世纪60~70年代, 巴西从美国引入在短日高温条件下营养生长期(又称“童期”)长、干物质积累量大的种质资源, 经过持续改良, 形成了具有“长童期”特性(long juvenality)的热带大豆(Tropical soybean)品种^[1], 助力巴西迅速发展成为大豆主产国和出口国. 科学家们对长童期的遗传规律开展大量研究工作, 发现控制该性状的主要为隐性基因*j*, 但其分子性质长期未能得到诠释.

20余年前, 在华南农业大学大豆研究团队创建之初, 严小龙教授、年海教授等即广泛收集国内外大豆种质资源, 挖掘优异亲本^[2-6]. 期间发现从巴西引进的“长童期”品种巴西13, 在华南地区表现晚花、高产. 该团队将巴西13与本地品种杂交, 经过多年选育, 培育出

华夏3号等适应泛珠三角地区种植的高产品种(图1). 后来, 又与中国农业科学院作物科学研究所合作, 率先克隆了育种家们寻觅半个世纪的长童期基因*j*(*GmEL-F3a*的单碱基缺失突变)^[7]. 此后不久, 中国科学院东北地理与农业生态研究所与中国科学院遗传与发育生物学研究所等单位合作, 利用独立的遗传群体, 进一步确认该基因, 并揭示其作用机制^[8]. 上述两项工作破解了大豆长童期性状形成的分子遗传机制. 最近, 曾在华南农业大学求学和工作、现任职于复旦大学的王应祥教授与华南农业大学杨存义教授、年海教授等合作, 发现了1个与*J*互作的新基因*GmLUX2*, 深化了对大豆长童期基因分子作用机制的认识^[9].

研究团队以华夏3号(*j*突变体)为材料, 通过EMS化学诱变, 筛选到比华夏3号更加晚花的突变体, 命名为*enhancer of j 57 (eoj57)*(图1). 该突变体无论在长日照还是短日照下都表现出更加晚花的表型. 通过图位克隆并结合基因组重测序, 定位到编码生物钟组分的MYB转录因子*GmLUX2*. 在*eoj57*突变体中, *GmLUX2*在DNA结合结构域MYB上发生点突变(被命名为*Lux2-1*). 研究者推测, *GmLux2-1*点突变可能影响了其与DNA的结合能力, 进而影响了调控晚花相关基因的表达.

为了进一步确认*GmLux2-1*突变与*eoj57*晚花表型的关系, 研究者在*eoj57*突变体中表达野生型*GmLUX2*,

引用格式: 韩天富, 蒋炳军. *GmLUX2*基因的发现开辟“北豆南移”新路径. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 472-475

Han T F, Jiang B J. Identification of *GmLUX2* paves the way for north-to-south adaption of soybeans (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 472-475, doi: 10.1360/SSV-2021-0014

图 1 大豆适应热带和亚热带地区遗传资源的创制(网络版彩图)

Figure 1 Development of soybean germplasm in adaption to tropical and subtropical regions (color online)

发现其能够完全互补 *ej57* 的表型, 开花时间类似于华夏3号. 同时, 又以拟南芥 *Atlux* 突变体为材料, 发现 *GmLUX2* 可互补该突变体的早花表型, 而 *GmLux2-1* 则不能, 这一结果不仅有力证明了 *GmLUX2* 突变是造成 *ej57* 晚花的原因, 而且表明 *LUX2* 在大豆和拟南芥中的功能相对保守. 此外, 通过筛选南方大豆种质资源, 从来自广东省乳源县的野生大豆材料 Z4 中发现 1 个新的 *GmLUX2* 自然变异类型, 命名为 *GmLux2-2*. 该变异类型在 C 端发生 12 bp 插入和 27 bp 缺失. 研究者发现, 在 Z4 与桂夏豆 2 号 (华夏3号的姊妹系) 的杂交后代中, 携带 *GmLux2-2* 的株系具有与 *GmLux2-1* 突变体相似的晚花表型. 此外, *GmLux2-2* 也和 *GmLux2-1* 一样, 不能互补拟南芥 *Atlux* 突变体的早花表型. 上述结果充分证明, *GmLUX2* 就是导致 *ej57* 发生突变的关键基因.

AtLUX, *AtELF3* 和 *AtELF4* 是拟南芥 EC 复合物 (evening complex) 的 3 个成员. 大豆经历过两次基因组重复事件, EC 复合物倍增到 7 个成员: *GmLUX1/2*, *GmELF3a*, *GmELF3b-1/2* 和 *GmELF4a/4b*, 但目前尚不清楚这些成员之间的互作情况. 研究者利用酵母双杂交系统检验了它们之间的两两互作关系, 发现 *GmLUX1/2* 确实能够与 *GmELF3a*, *GmELF3b-1* 和 *GmELF3b-2* 形成同源和异源二聚体, 但不能与 *GmELF4a* 或 *GmELF4b* 互作, 表明 *GmELF3* 可能也是大豆 EC 复合体的骨架蛋白. 研究者还利用双分子荧光互补实验和体外 Pull down 实验, 进一步验证了 *GmELF3a* 与 *GmLUX2* 的互作. 进而, 通过分析截短片段的互作情

况, 发现 *GmLUX2* 通过 C 端 MYB 结构域与 *GmELF3a* 的 C 端相互作用. 值得注意的是, *GmLux2-1* 和 *GmLux2-2* 两种突变形式不仅不能形成同源二聚体, 而且与 *GmELF3a* 的相互作用能力也显著降低.

在拟南芥中, *LUX* 蛋白通过结合顺式调节元件 *LUX binding site (LBS)* 抑制 *AtPRR9* 等基因的表达^[10]. 本研究通过凝胶迁移分析 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 实验发现, 大豆中 *GmLUX2* 能够与 LBS 元件结合. 由于 *GmLux2-1* 的点突变位于 MYB 结构域, 而 *GmLux2-2* 的 C 端缺失也靠近 MYB 结构域, 推测两种突变可能都影响了其与 DNA 的结合能力. EMSA 实验结果表明, *GmLux2-1* 和 *GmLux2-2* 在低浓度下不能与 LBS 元件结合, 仅在高浓度下具有较弱的结合能力. 由于 *GmLUX2* 的 MYB 结构域同时介导蛋白质互作和 DNA 结合, 研究者推测, *GmELF3a* 可能通过与 *GmLUX2* 竞争性互作, 从而降低后者结合 DNA 的能力. EMSA 实验和烟草叶片瞬时表达分析的结果都表明, 随着 *GmELF3a* 浓度的增加, *GmLUX2* 与 LBS 结合的能力逐渐变弱.

已有研究报道, 大豆的开花抑制因子 *E1* 可能是 *GmELF3a* 的下游目标基因^[8]. 研究者们发现, *E1* 在以下 4 个基因型中的表达水平高低顺序为: WT < *Gmlux2* < *Gmelf3a* < *Gmlux2 Gmelf3a*. 而受到 *E1* 直接抑制的开花关键基因 *GmFT2a* 和 *GmFT5a*, 其表达水平在上述 4 个基因型中呈现与 *E1* 相反的趋势, 表明 *GmLUX2* 突变体的晚花表型至少部分依赖于 *GmFT2a*

和*GmFT5a*表达量的下调。该结果也与利用基因编辑技术敲除*GmFT2a*能够导致大豆晚花、增加大豆低纬度地区适应能力的结果相吻合^[11]。为了进一步验证*GmLUX2*是否能够直接调控*E1*的表达,研究者利用ChIP-qPCR(chromatin immunoprecipitation quantitative real-time PCR)技术证明*GmLUX2*可富集在*E1*的启动子区域。

*GmLUX2*和*J/GmELF3a*均为生物钟EC复合物的组分。由于大豆EC复合体的成员数目(7个)比拟南芥(3个)更多,它们可通过多种形式组成EC复合体。再加上不同成员可能出现的新功能或亚功能化,大豆EC复合

体的功能和作用方式将更加多样化,从而对下游基因进行更加灵活和精准的调控。综上所述,本研究在前期获得*J/GmELF3a*基因突变导致长童期性状这一重要发现的基础上^[7,8],进一步鉴定到另外一个与大豆低纬度适应性相关的关键作用因子*GmLUX2*^[9],结合其他团队通过*GmFT*家族基因编辑创造新型长童期材料的成功探索^[11],使人们对大豆短日适应性遗传改良途径的认识更加清晰,为通过分子生物学手段将我国丰富多彩的北方大豆种质资源改造成可在热带、亚热带地区育种应用的新材料,从而为实现规模化“北豆南移”铺平了道路。

参考文献

- 1 Hartwig E E, Kihl R A S. Identification and utilization of a delayed flowering character in soybeans for short-day conditions. *Field Crops Res*, 1979, 2: 145–151
- 2 Nian H, Huang H, Yan X L, et al. Studies on adaptability of soybeans to acidic and aluminum toxicity. I. Study on the screening and identification for acidic and aluminum-resistance soybeans (in Chinese). *Soybean Sci*, 1999, 3: 191–197 [年海, 黄鹤, 严小龙, 等. 大豆对酸铝土壤的适应性研究. I. 大豆耐酸铝毒性材料的鉴定研究. 大豆科学, 1999, 3: 191–197]
- 3 Nian H, Huang H, Yan X L, et al. Studies on adaptability of soybeans to acidic and aluminum toxicity. II. Preliminary study on nature of soybeans tolerant to acid and acid and aluminum toxicity (in Chinese). *Soybean Sci*, 1999, 4: 322–326 [年海, 黄鹤, 严小龙, 等. 大豆对酸铝土壤的适应性研究. II. 大豆耐酸铝毒的机理初探. 大豆科学, 1999, 4: 322–326]
- 4 Zhao J, Fu J B, Liao H, et al. Characterization of root architecture in an applied core collection for phosphorus efficiency of soybean germplasm (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2004, 49: 1249–1257 [赵静, 付家兵, 廖红, 等. 大豆磷效率应用核心种质的根构型性状评价. 科学通报, 2004, 49: 1249–1257]
- 5 Nian H, Ahn S J, Yang Z M, et al. Effect of phosphorus deficiency on aluminium-induced citrate exudation in soybean (*Glycine max*). *Physiol Plant*, 2003, 117: 229–236
- 6 Nian H, Yang Z, Huang H, et al. Citrate secretion induced by aluminum stress may not be a key mechanism responsible for differential aluminum tolerance of some soybean genotypes. *J Plant Nutr*, 2004, 27: 2047–2066
- 7 Yue Y, Liu N, Jiang B, et al. A single nucleotide deletion in *J* encoding *GmELF3* confers long juvenility and is associated with adaption of tropic soybean. *Mol Plant*, 2017, 10: 656–658
- 8 Lu S, Zhao X, Hu Y, et al. Natural variation at the soybean *J* locus improves adaptation to the tropics and enhances yield. *Nat Genet*, 2017, 49: 773–779
- 9 Fang X, Han Y, Liu M, et al. Modulation of evening complex activity enables north-to-south adaptation of soybean. *Sci China Life Sci*, 2020, doi: 10.1007/s11427-020-1832-2
- 10 Helfer A, Nusinow D A, Chow B Y, et al. *LUX ARRHYTHMO* encodes a nighttime repressor of circadian gene expression in the *Arabidopsis* core clock. *Curr Biol*, 2011, 21: 126–133
- 11 Cai Y, Chen L, Liu X, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of *GmFT2a* delays flowering time in soya bean. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16: 176–185

Identification of *GmLUX2* paves the way for north-to-south adaption of soybeans

HAN TianFu & JIANG BingJun

Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

doi: [10.1360/SSV-2021-0014](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0014)