

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.08.001

胡明瑜, 郝培媛, 白文钦, 等. 大豆 DELLA 基因家族的泛基因组比较和功能分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(8): 2-11.

大豆 DELLA 基因家族的泛基因组 比较和功能分析

胡明瑜^{1,2}, 郝培媛^{1,3}, 白文钦^{1,2},
王忠伟^{1,2}, 张继君^{1,2}, 杜成章^{1,2}

- 重庆市农业科学院, 重庆 401329;
- 农业农村部西南山地特色作物种质资源评价与利用重点实验室(部省共建), 重庆 401329;
- 云南大学 农学院, 昆明 650504

摘要: DELLA 基因与绿色革命密切相关, 在提高作物单产上发挥了重要作用. 我国大豆单产偏低, 对大豆 DELLA 基因深入研究, 创制耐密植的大豆品种, 有望大幅提高大豆单产. 本研究利用 29 个大豆种质资源的基因组数据, 通过泛基因组分析鉴定了 232 个大豆 DELLA 基因, 其中 19 个基因发生移码突变, 不能编码有 DELLA 蛋白特征的产物. 分析结果显示, 每个种质资源有 8 个 DELLA 基因, 分别位于不同的染色体上, *GmGAI1s* 和 *GmGAI2s* 编码的蛋白具有典型的 DELLA 结构域; *GmRGL2s* 和 10 号染色体上 *GmRGL1* 编码的蛋白在 DELLA, LEXLE 和 TVHYNP 保守序列上与 *GmGAI1s* 和 *GmGAI2s* 蛋白不一致; 而来源于 20 号染色体的 *GmRGL1* 蛋白缺失 DELLA 结构域. 表达模式分析显示, *GmGAI1s* 在植物不同组织器官中表达水平较高, 可能发挥主要作用; *GmGAI2s*, *GmRGL1s* 和 *GmRGL2s* 分别在花、果荚、籽粒等的发育过程中优势表达, 可能参与了这些组织器官的发育调控. 此外, 对大豆 DELLA 蛋白进行互作分析, 提出 DELLA 蛋白调控下游基因表达可能的作用机制. 这些结果为进一步明确大豆 DELLA 基因的生物学功能、创制耐密植大豆种质提供参考.

关键词: 大豆; DELLA 基因; 泛基因组分析

中图分类号: S565.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2024)08-0002-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Pan-genomic Comparison and Functional Analysis of DELLA Genes in Soybean

HU Mingyu^{1,2}, HAO Peiyuan^{1,3}, BAI Wenqin^{1,2},
WANG Zhongwei^{1,2}, ZHANG Jijun^{1,2}, DU Chengzhang^{1,2}

收稿日期: 2024-05-19

基金项目: 重庆市市级财政专项资金(cqaas2023sjczhx007).

作者简介: 胡明瑜, 博士, 副研究员, 主要从事大豆遗传育种研究.

共同第一作者: 郝培媛, 硕士研究生, 主要从事作物功能基因研究.

通信作者: 杜成章, 研究员.

1. Chongqing Academy of Agricultural sciences, Chongqing 401329, China;
2. Key Laboratory of Evaluation and Utilization for Special Crops Germplasm Resource in the Southwest Mountains, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (Co-construction by the Ministry and Province), Chongqing 401329, China;
3. School of Agriculture, Yunnan University, Kunming 650504, China

Abstract: The DELLA mutants improved crop yield by planting at high density, playing critical roles in “Green Revolution”. Study on DELLA genes of soybean is expected to create varieties that are adapt to dense planting to improve the yield of soybean. In this study, 232 DELLA genes are identified by pan-genomic analysis from 29 soybean germplasm resources, 19 of which appeared frameshift mutations and cannot encode products with DELLA protein signatures. The results show that each germplasm resource contains 8 DELLA genes, which are located on different chromosomes. The proteins of *GmGAI1s* and *GmGAI2s* have typical DELLA domains. While, the *GmRGL2* proteins and *GmRGL1* proteins from chromosome 10 were inconsistent with the DELLA, LEXLE and TVHYNP motif of *GmGAI1s* and *GmGAI2s*. The *GmRGL1* proteins from chromosome 20 was defective in DELLA domain. The expression patterns show that *GmGAI1s* were expressed at a higher level in plant tissues and organs, may play a major role. The preferential expression of *GmGAI2s*, *GmRGL1s* and *GmRGL2s* in developmental flowers, pods and seeds, respectively, suggests that the DELLA genes function on the development of these tissues and organs. In addition, the interacting protein of soybean DELLAs was predicted, which provides a target on the downstream genes. Generally, these results are available for further clarifying the biological function of DELLA genes in soybean.

Key words: soybean; DELLA genes; pan-genomic analysis

大豆(*Glycine max*)是豆科大豆属一年生草本植物,其籽粒是植物蛋白和油脂的重要来源。我国是大豆原产国,具有丰富的种质资源,但大豆消费严重依赖进口。提高种质资源利用效率,增加大豆产量,对于促进大豆相关产业可持续发展有重要意义。在“绿色革命”中,利用水稻和小麦矮生资源选育半矮化品种,提高种植密度,使作物产量急剧增加^[1]。其中,水稻矮生资源 *sd1* 是赤霉素(Gibberellins, GAs)合成酶基因 *GA20ox* 的缺失突变体^[2];小麦矮生资源 *rht1* 是 DELLA 基因功能获得性突变体^[1],这两种突变体均促进了 DELLA 蛋白的累积,使株高降低。因此,DELLA 基因家族有重要的应用价值。

DELLA 蛋白是 GAs 信号传导途径中的一类负调控因子,其 N 端具有 DELLA 结构域,包含 DELLA, LEXLE, TVHYNP 3 段保守序列,是 GAs 受体蛋白 *GID1*(Gibberelin Insensitive Dwarf1)的识别位点^[3-4]; C 端具有 GRAS 蛋白家族的特征,包含 LR1, NLS, VHIID, LR2, SH2-like, PFYRE, RVER 和 SAW 等保守区,主要与顺式调控元件结合和其他调控因子互作。在 GAs 的信号传导途径中,当 GAs 与 *GID1* 结合后,*GID1* 的构象改变,进入细胞核作用于 DELLA 蛋白^[3, 5-6]。GAs-*GID1*-DELLA 复合物与 SCF E3 泛素连接酶作用,使 DELLA 蛋白通过泛素化途径降解,启动下游基因表达^[7]。当 GAs 浓度很低时,DELLA 蛋白在细胞中累积,植物表现出矮化等性状^[8]。

在拟南芥中发现了 5 个 DELLA 基因,即 *GAI*, *RGA* 和 *RGL1/2/3*^[8-11],其中 *GAI* 和 *RGA* 的获得性突变体极度矮化;水稻 DELLA 基因缺失突变体 *slr1* (*slender1*)表现出细长的表型^[12];玉米 *d8*, *d9* 突变体极度矮化^[13];小麦 *RHT1* 基因获得一系列突变体(如 *rht-B1d*, *rht-B1b*, *rht-D1b*, *rht-D1d*, *rht-B1e* 和 *rht-B1c* 等)表现出高矮不一的表型^[13]。除了对株高的调控外,DELLA 基因还参与植物多方面的生长发育调控。葡萄 *L1* 基因编码的 DELLA 序列突变为 DELHA,使葡萄蔓藤上的蔓须变成了花序^[14];在拟南芥中的研究也认为 *RGA*, *RGL1* 和 *RGL2* 基因参与花器官发育调控^[15],转录因子 WRKY75 和 *GAI*, *RGA* 蛋白互作调控植株开花^[16]; *RGL1* 和 *RGL2* 参与调控种子萌发^[17]。这些研究报道表明 DELLA 基因与株高等多种重要性状相关。

最近,在大豆中报道了 4 个 DELLA 基因,即 *GmRGAa/b* 和 *GmRGLa/b*。其中,*GmRGAs* 能够正调控转录因子 *GmSTF1/2* 的蛋白水平,而 *GmSTF1/2* 通过激活赤霉素代谢基因 *GmGA2ox-7b* 的表达使大豆株高降低^[18]。为了进一步了解大豆 DELLA 基因的遗传变异,本文利用 29 个大豆种质资源的基因组数据,用生物信息学的方法鉴定了 232 个大豆 DELLA 基因家族成员,并分析了其生物学功能。

1 材料与方法

1.1 大豆种质资源基因组数据

在大豆 SoyOmics^[19] 数据库下载 28 个大豆种质资源的基因组数据,资源名称分别是 Xu Dou No. 1, Tie Feng No. 18, Ju Xuan No. 23, Wan Dou No. 28, Amsoy, Yu Dou No. 22, Jin Dou No. 23, Qi Huang No. 34, Han Dou No. 5, PI 548362, Ji Dou No. 17, Dong Nong No. 50, Hei He No. 43, Ke Shan No. 1, Zhutwinning2, Zi Hua No. 4, Tong Shan Tian E Dan, 58-161, PI 398296, Zhang Chun Man Cang Jin, Feng Di Huang, Tie Jia Si Li Huang, Shi Sheng Chang Ye, PI 562565, PI 549046, PI 578357, W05, Zhonghuang 13, 对应编号为 SoyC01, SoyC02, SoyC03, SoyC04, SoyC05, SoyC06, SoyC07, SoyC08, SoyC09, SoyC10, SoyC11, SoyC12, SoyC13, SoyC14, SoyL01, SoyL02, SoyL03, SoyL04, SoyL05, SoyL06, SoyL07, SoyL08, SoyL09, SoyW01, SoyW02, SoyW03, W05, ZH13。其中, SoyC 表示栽培种, SoyL 表示地方种, SoyW01, SoyW02, SoyW03, W05 为野生大豆(*Glycine soja* Sieb. and Zucc.)。在 Phytozome 数据库中下载大豆 Williams82 (Wm82)的基因组数据。

1.2 大豆 DELLA 基因的鉴定

拟南芥 DELLA 蛋白 GAI, RGA, RGL1, RGL2 和 RGL3 的蛋白序列从拟南芥 TAIR 数据库中下载。分别用这 5 个 DELLA 蛋白序列在 Phytozome 数据库中检索 Wm82 的基因组,筛选比对长度接近蛋白全长,编码蛋白序列一致性在 45% 以上的基因。候选的大豆 DELLA 基因编码的蛋白序列在 SMART 蛋白质数据库中进一步分析,鉴定是否属于 DELLA 蛋白家族成员。

1.3 大豆 DELLA 基因的泛基因组分析

在大豆 SoyOmics 数据库中,用 Wm82 的 DELLA 基因分别检索 28 个种质资源的基因组数据,筛选覆盖度在 85% 以上, E 值为 0 的基因,作为各大豆种质资源的 DELLA 基因。用 MegAlign 软件分别对所有 DELLA 基因的 DNA 和蛋白质序列进行多序列比对和进化树分析。

1.4 大豆 DELLA 蛋白质结构分析

用 MegAlign 软件对 Wm82 的 DELLA 蛋白序列进行比对,参照文献报道^[20]对 DELLA 蛋白的保守结构域进行比较。

1.5 大豆 DELLA 基因表达模式分析

从 SoyOmics 数据库中查询 Zhonghuang 13(ZH13)的转录组数据,根据 FPKM 值在图云平台(<http://cloudtutu.com.cn/>)绘制基因表达热图。

1.6 蛋白互作网络分析

用 Wm82 的 DELLA 蛋白序列在 STRING^[21] 数据库中搜索存在互作关系的大豆蛋白,最低交互得分设定为 0.400。

2 结果与分析

2.1 大豆种质资源 DELLA 基因家族成员的鉴定和系统发生树分析

以拟南芥的 5 个 DELLA 蛋白序列在 Phytozome 数据库中搜索,从大豆 Wm82 的基因组中找到 8 个 DELLA 基因。这 8 个 DELLA 基因分别位于 11, 18, 5, 8, 10, 20, 4 和 6 号染色体,基因 ID 号为 Glyma.11G216500, Glyma.18G040000, Glyma.05G140400, Glyma.08G095800, Glyma.10G190200, Glyma.20G200500, Glyma.04G150500 和 Glyma.06G213100, 命名为 *GmGAI1* (Wm82. Chr11), *GmGAI1* (Wm82. Chr18), *GmGAI2* (Wm82. Chr05), *GmGAI2* (Wm82. Chr08), *GmRGL1* (Wm82. Chr10), *GmRGL1* (Wm82. Chr20), *GmRGL2* (Wm82. Chr04)和 *GmRGL2* (Wm82. Chr06)。序列分析表明, *GmGAI1*

(Wm82. Chr11), *GmGAI1* (Wm82. Chr18), *GmGAI2* (Wm82. Chr05)和 *GmGAI2* (Wm82. Chr08) 与拟南芥 GAI 和 RGA 的同源性较高, 编码蛋白质序列的一致性为 55.8% ~ 64.9%. *GmRGL1* (Wm82. Chr10), *GmRGL1* (Wm82. Chr20), *GmRGL2* (Wm82. Chr04)和 *GmRGL2* (Wm82. Chr06)的编码蛋白与拟南芥 RGL1/2/3 蛋白的一致性在 37.1% ~ 43.8%. 用 Wm82 的 8 个 DELLA 基因在数据库 SoyOmics 中查询, 从 4 个野生大豆、9 个地方品种和 15 个栽培种中, 分别找到 32, 72 和 120 个大豆 DELLA 基因.

对 232 个大豆 DELLA 基因进行系统发生树分析(图 1), 发现 *GmGAI1* 基因可分为两个亚组, 来源于 18 号染色体的 *GmGAI1* 组成一个亚组, 在这一亚组中野生大豆 SoyW01, SoyW02, SoyW03 和 W05 的 *GmGAI1* 在进化树末端; 来源于 27 个种质资源 11 号染色体的 *GmGAI1* 基因和来源于 2 个野生大豆 SoyW02, W05 的 13 号染色体的 *GmGAI1* 基因组成另一个亚组, 这 2 个野生大豆的 *GmGAI1* 基因和其他种质资源 *GmGAI1* 基因的遗传距离相对较远. 同样的, 来源于 5 号和 8 号染色体的 *GmGAI2* 基因分别组成 2 个亚组, 4 个野生大豆的 *GmGAI2* 基因处于靠近进化树末端的位置. 来源于 4 号、6 号、10 号和 20 号染色体的 *GmRGL1* 和 *GmRGL2* 基因分别组成 4 个亚组, 每个亚组再分 2~3 个小亚组, 整体上野生大豆的 *GmRGL1* 和 *GmRGL2* 基因与地方种和栽培种的 *GmRGL1* 和 *GmRGL2* 基因遗传距离相对较远. 这一结果初步表明大豆野生种驯化为地方种和栽培种的过程中, DELLA 基因受到了选择; 地方种和栽培种 11 号染色体上的 *GmGAI1* 基因可能由野生大豆 SoyW02 和 W05 的 13 号染色体上的 *GmGAI1* 基因发生交换而来.

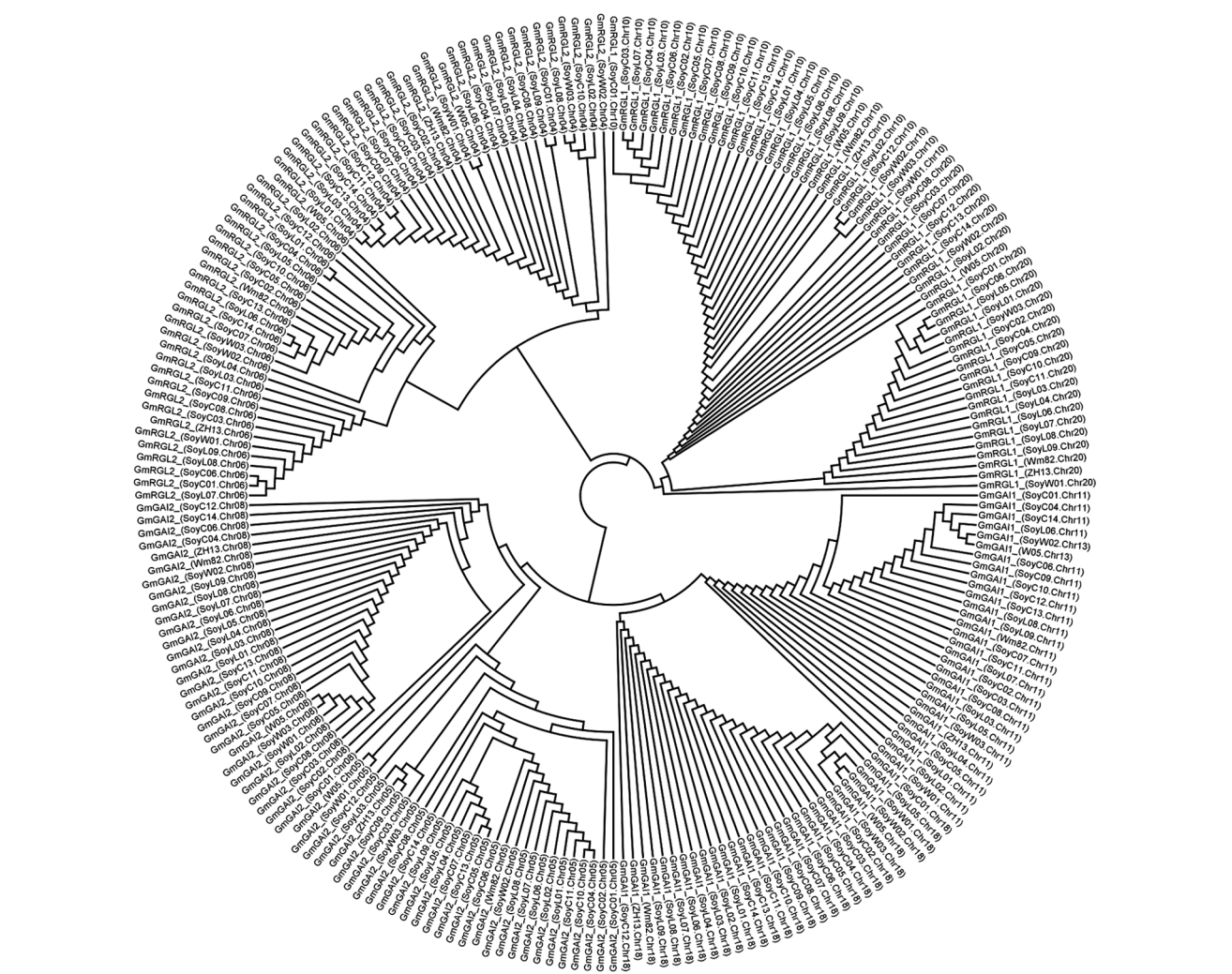


图 1 大豆种质资源 232 个 DELLA 基因的系统发生树分析

2.2 大豆种质资源的 DELLA 基因结构和蛋白序列分析

比较 232 个大豆 DELLA 基因的开放阅读框(Open Reading Frames, ORFs), 发现都只有一个外显子, 其中有 19 个 DELLA 基因发生了移码突变, 其中 13 个基因不能编码有 DELLA 蛋白特征的产物, 分别为 *GmGAI1* (SoyL06. Chr11), *GmGAI2* (SoyC08. Chr08), *GmGAI2* (SoyC01. Chr08), *GmGAI2* (SoyL02. Chr08), *GmRGL1* (SoyL05. Chr20), *GmRGL1* (SoyC06. Chr20), *GmRGL1* (SoyW03. Chr20), *GmRGL1* (SoyL01. Chr20), *GmRGL1* (SoyL02. Chr20), *GmRGL1* (SoyC08. Chr20), *GmRGL1* (SoyC08. Chr04), *GmRGL2* (SoyC13. Chr06)和 *GmRGL2* (SoyC06. Chr06); 有 6 个基因编码的 DELLA 蛋白在 C 端提前终止, 分别为 *GmGAI1* (SoyL01. Chr11), *GmGAI2* (SoyC02. Chr05), *GmGAI2* (SoyC12. Chr08), *GmRGL1* (SoyL07. Chr10), *GmRGL2* (SoyC14. Chr06)和 *GmRGL2* (SoyL06. Chr06).

根据 ORFs 预测了 219 个 DELLA 基因的蛋白序列, 通过同源性分析大豆 DELLA 蛋白可分成 8 个亚组, 整体上源于相同染色体的 DELLA 蛋白属于一个亚组, 其中 *GmGAI1s* 和 *GmGAI2s* 的同源性更近, *GmRGL1s* 和 *GmRGL2s* 的同源性更近. 在 *GmGAI1s* 蛋白亚组中, 源于野生大豆 SoyW02 和 W05 的 13 号染色体和其他种质资源 11 号染色体的 *GmGAI1* 蛋白在一个亚组. 除了在 C 端提前终止的 DELLA 蛋白外, 每个亚组中 DELLA 蛋白的序列一致性在 98.8%~100%. 4 个野生大豆中源于 4 号染色体的 *GmRGL2* 蛋白与亚组中其他种质的 *GmRGL2* 蛋白序列高度一致, 而野生种源于其他染色体的 DELLA 蛋白与同组蛋白的序列一致性相对更远.

由于每个亚组的大豆 DELLA 蛋白序列高度一致, 选取 Wm82 的 8 个 DELLA 蛋白进行分析, 比较不同亚组间 DELLA 蛋白的序列差异(图 2). 比对结果显示, *GmGAI1* (Wm82. Chr11) 和 *GmGAI1* (Wm82. Chr18), *GmGAI2* (Wm82. Chr05) 和 *GmGAI2* (Wm82. Chr08), *GmRGL1* (Wm82. Chr10) 和 *GmRGL1* (Wm82. Chr20), *GmRGL2* (Wm82. Chr04) 和 *GmRGL2* (Wm82. Chr06) 间的序列一致性分别为 95.4%, 93.6%, 91.0% 和 94.6%. 蛋白结构分析表明, *GmGAI1* (Wm82. Chr11), *GmGAI1* (Wm82. Chr18), *GmGAI2* (Wm82. Chr05) 和 *GmGAI2* (Wm82. Chr08) 的 DELLA 结构域有完整的 DELLA, LEXLE 和 TVHYNP 保守序列; 而 *GmRGL1* (Wm82. Chr10), *GmRGL2* (Wm82. Chr04) 和 *GmRGL2* (Wm82. Chr06) 的 DELLA, LEXLE 和 TVHYNP 保守序列与 *GmGAI1s* 和 *GmGAI2s* 的不一致. 值得注意的是, *GmRGL1* (Wm82. Chr20) 的 DELLA 结构域发生缺失. 这些结果暗示大豆的 8 个 DELLA 基因在生物学功能上有差异, 与拟南芥 GAI 蛋白同源性高的 4 个 *GmGAI1s* 和 *GmGAI2s* 蛋白在功能上可能冗余.

2.3 大豆 DELLA 基因在不同组织部位的表达和上游顺式调控元件分析

在大豆数据库 SoyOmics 中, 通过转录组测序, 获得了 ZH13 不同发育时期植物组织的基因表达数据. 以此为基础, 绘制大豆 DELLA 基因在根、茎、叶、花、果等不同组织部位的表达模式热图(图 3), 根据基因表达强弱预测 DELLA 基因在大豆生长发育不同阶段的生物学功能. 从分析情况来看, *GmGAI1* (ZH13. Chr11) 在大豆不同发育阶段的组织器官中均高表达; *GmGAI1* (ZH13. Chr18) 在大豆不同发育阶段的籽粒中优势表达; *GmGAI2* (ZH13. Chr05) 在花中优势表达; *GmGAI2* (ZH13. Chr08) 在成熟的茎、叶、腋芽等部位表达, 但在早期发育的籽粒表达水平较低; *GmRGL1* (ZH13. Chr10) 和 *GmRGL2* (ZH13. Chr06) 分别在不同发育时期的籽粒和果荚中表达, 在其他植物组织中表达水平较低; *GmRGL2* (ZH13. Chr04) 在所有植物组织中表达水平均较低. 而 *GmRGL1* (ZH13. Chr20) 没有基因表达数据. 这些结果表明大豆 DELLA 基因表达模式存在差异, 可能在植物组织器官发育过程中发挥不同的功能.

为了解上游调控序列差异对基因表达情况的影响, 分别对 *GmGAI1* (ZH13. Chr11) 和 *GmGAI1* (ZH13. Chr11Chr18), *GmGAI2* (ZH13. Chr05) 和 *GmGAI2* (ZH13. Chr08), *GmRGL2* (ZH13. Chr06) 和 *GmRGL2* (ZH13. Chr04) 这 3 对基因的起始密码子上游 1500bp 的序列进行了分析和比较, 两两间基因上游调控序列的一致性分别为 79.0%, 77.2% 和 70.1%. 在 New PLACE 数据库分析, 显示 *GmGAI1* (ZH13. Chr11), *GmGAI1* (ZH13. Chr11Chr18), *GmGAI2* (ZH13. Chr05), *GmGAI2* (ZH13. Chr08), *GmRGL2* (ZH13. Chr06) 和 *GmRGL2* (ZH13. Chr04) 的上游调控序列分别有 83, 77, 83, 84, 79 和 81 种不

同的顺式调控元件, 其中 6 者共同有的顺式调控元件有 37 种. 同一亚组的 DELLA 基因上游调控序列中顺式元件种类的差异如表 1 所示. 从表中所示的差异调控元件来看, 同一亚组的两个 DELLA 基因在转录水平可能受到不同的调控, 如 *GmGAI1* (ZH13. Chr11) 的上游调控序列中 MYB2CONSENSUSAT 元件与干旱应答和 ABA 信号有关, MYBPLANT 元件与花发育调控有关; *GmGAI1* (ZH13. Chr18) 的上游调控序列中 AMYBOX1 元件与淀粉酶基因表达有关. 这些数据暗示大豆 DELLA 基因在适应环境和组织器官发育调控过程中发挥了不同的功能.

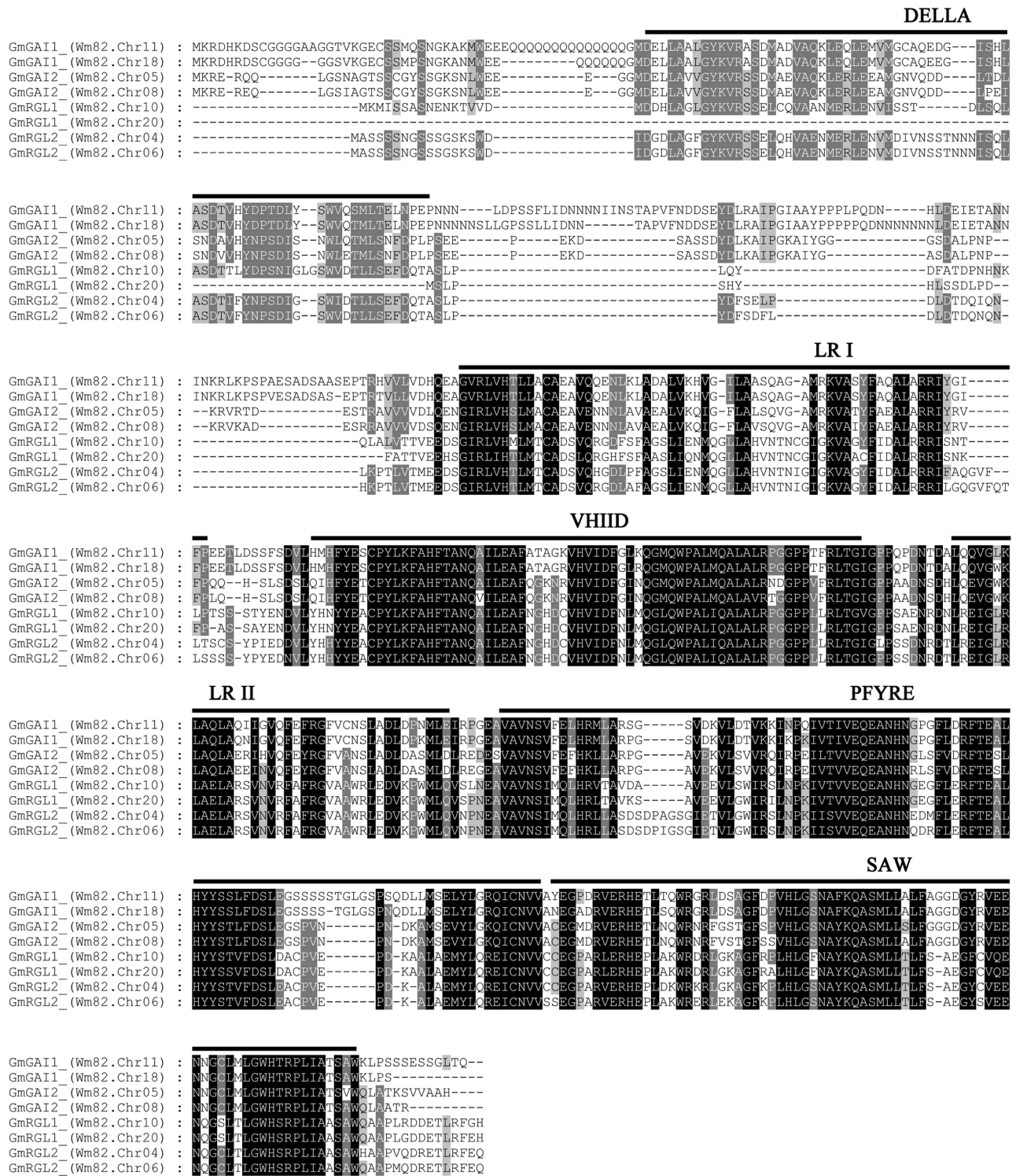


图 2 大豆 DELLA 蛋白的结构分析

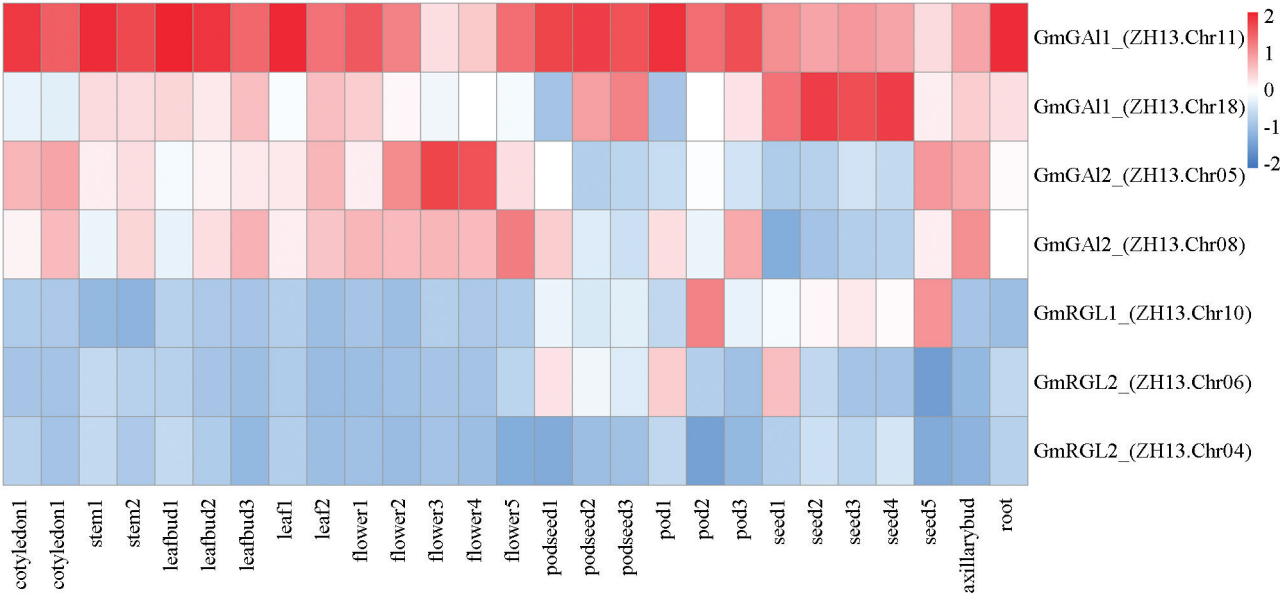


图 3 大豆 DELLA 基因的表达模式分析

2.4 大豆 DELLA 蛋白互作网络分析

在 STRING 数据库中，用 *GmGAI1* (Wm82. Chr11)，*GmGAI1* (Wm82. Chr18)，*GmGAI2* (Wm82. Chr05)，*GmGAI2* (Wm82. Chr08)，*GmRGL1* (Wm82. Chr10)，*GmRGL1* (Wm82. Chr20)，*GmRGL2* (Wm82. Chr04)和 *GmRGL2* (Wm82. Chr06)的蛋白序列搜索在大豆中能发生互作的蛋白。如图 4 所示，大豆 DELLA 蛋白能与 5 个含水解酶结构域 3 的蛋白(Abhydrolase_3 domain-containing protein, AB-HD3)互作，也能与核因子 NF-YA1(nuclear factor Y-A1)蛋白互作。而核因子 NF-YA1 能够与其他核因子家族成员 NF-YB、NF-YC 以及转录因子 LEC1-A/B 等互作，激活或者抑制下游基因表达。这些互作蛋白涉及到多种生物学过程，包括赤霉素信号传导、花器官形态建成、氧自由基信号响应、干旱应答、脂质代谢应答、棉子糖家族低聚糖生物合成等。分析结果与报道的 DELLA 蛋白是赤霉素信号传导负调控因子相符合，并进一步预测是通过与核因子 NF-YA1 互作来调控下游基因表达。

表 1 大豆 DELLA 基因上游顺式调控元件分析

亚组	DELLA 基因	上游调控区顺式调控元件的差异	数量
<i>GmGAI1s</i>	<i>GmGAI1</i> (Z13. Chr11)	MYB2CONSENSUSAT, MYBPLANT, ACGTOSGLUB1, GT1CORE, SURECOREATSULTR11, MYBPZM, REALPHAL-GLHCB21, CAREOSREP1, GAGA8HVBKN3, MARABOX1, BOXLCOREDPCAL, SEF3MOTIFGM, RBCSCONSENSUS, POLASIG2, INTRONLOWER	15
	<i>GmGAI1</i> (Z13. Chr18)	RYREPEATLEGUMINBOX, AMYBOX1, MYBGAHV, RYRE-PEATBNNAPA, GAREAT, SURE2STPAT21, MYB1LEPR, NAPINMOTIFBN, ROLAMINBOXOSGLUB1	9
<i>GmGAI2s</i>	<i>GmGAI2</i> (Z13. Chr05)	CACGTGMOTIF, CEREGLUBOX2PSLEGA, HEXMOTIF-TAH3H4, ELRECOREPCRPI, SORLIP1AT, TGACGTV-MAMY, ERELEE4, MYB2AT, CARGCW8GAT, IRO2OS, AG-MOTIFNTMYB2, SP8BFIBSP8AIB, WBBOXPCWRKY1, PYRI-MIDINEBOXHVEPB1, CARGNCAT, AT1BOX, PREAT-PRODH, PYRIMIDINEBOXOSRAMY	18

续表 1

亚组	DELLA 基因	上游调控区顺式调控元件的差异	数量
	<i>GmGAI2</i> (ZH13. Chr08)	LTRECOREATCOR15, CANBNNAPA, AACACOREOSGLUB1, GT1CORE, T/GBOXATPIN2, TGTCACACMCUCUMISIN, CTRMCAMV35S, MYBPZM, CAREOSREP1, TATABOXOSPAL, BOXIINTPATPB, UPRMOTIFIAT, CDA1ATCAB2, SURE1STPAT21, 2SSEEDPROTBANAPA, SEF3MOTIFGM, MYB1LEPR, SEF1MOTIF, QELEMENTZMZM13	19
<i>GmRGL2s</i>	<i>GmRGL2</i> (ZH13. Chr06)	ABRERATCAL, LEAFYATAG, CPBCSPOR, WUSATAg, REBETALGLHCB21, SREATMSD, DRECRTCOREAT, MYBST1, T/GBOXATPIN2, ELRECOREPCR1, WBOXHVIS01, CIACADIANLELHC, MYBCOREATCYCB1, ERELEE4, ANAERO2CONSENSUS, MYB2CONSENSUSAT, CBFHV, ABRELATERD1, ANAERO3CONSENSUS, RHERPATEXPA7, PREATPRODH, ACGTATERD1, TATCCAOSAMY, DRE2COREZMRAB17	24
	<i>GmRGL2</i> (ZH13. Chr04)	S1FSORPL21, CANBNNAPA, CCA1ATLHCB1, AACACOREOSGLUB1, L1BOXATPDF1, AMYBOX1, SEF1MOTIF, WBOXNTCHN48, MYBGHV, S1FBOXSORPS1L21, RAV1BAT, TATABOX2, TATABOX3, 2SSEEDPROTBANAPA, TBOXATGAPB, GAREAT, ASF1MOTIFCAMV, RBCSCONSENSUS, NTBBF1ARROLB, NAPINMOTIFBN, GARE1OSREP1, TATAPVTRNALEU	22

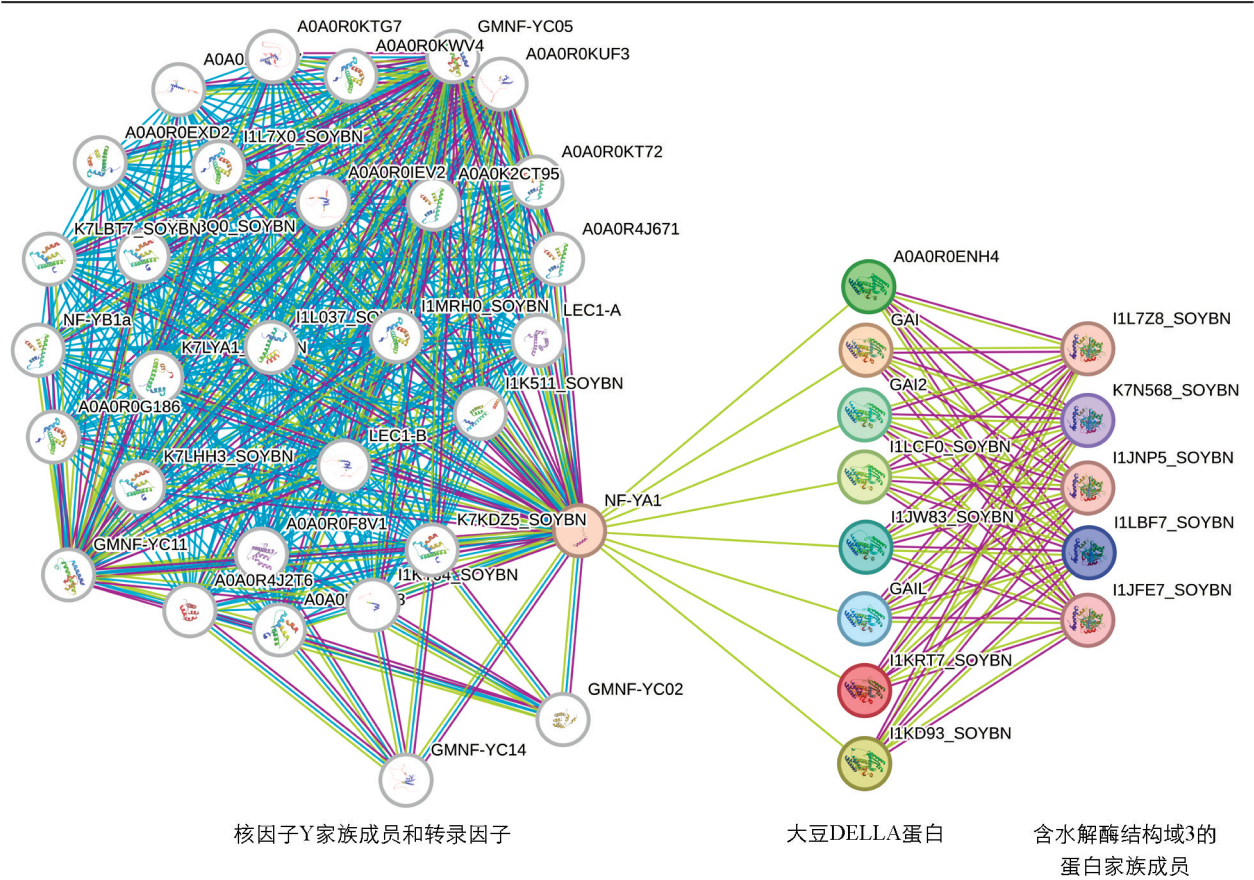


图 4 大豆 DELLA 蛋白的互作分析

3 讨论与结论

我国大豆单产偏低,增加种植密度提升单产,是当前提高大豆产量的一个重要途径。DELLA 基因是赤霉素信号的负调控因子,参与了调控植物的株高和避荫性反应。在绿色革命中,小麦 *RHT1* 基因不同类型的突变体出现一系列高矮不一的表型^[1, 13],利用这些种质资源选育耐密植品种,增加种植密度,大幅提升了小麦产量。因此,对大豆 DELLA 基因开展深入研究,创制耐密植的大豆种质资源,具有重要的意义。

本研究利用 29 个大豆种质资源的基因组数据,分析比较大豆种质资源间 DELLA 基因的亲缘关系和遗传变异情况,发现 4 个野生大豆在 4 号染色体上的 *GmRGLs* 基因编码的蛋白序列一致性较高,暗示这个基因在功能上可能比较保守。而野生大豆中其他的 DELLA 基因和地方种、栽培种的相比遗传距离相对较远,表明这些基因在驯化过程中受到了选择。DELLA 基因的这些遗传变异是否与野生大豆从藤状生长形态转变为直立生长形态有关,还需要深入研究。同时,部分种质资源的 DELLA 基因发生了无义突变和翻译提前终止的移码突变,这些突变是否与种质资源株高、结实性等性状的变异相关,也需要进一步探索。

赤霉素调控了植物株高、开花、结实、根伸长等生长发育过程,而 DELLA 蛋白是赤霉素信号传递途径中的核心因子,大豆 DELLA 基因的表达模式与赤霉素调控生长发育的作用相符合。对大豆 DELLA 基因的表达情况分析表明,位于 11 号染色体上的 *GmGAI1* 基因在所有植物组织中均高表达,可能发挥了主要作用,而 11 号染色体上的 *GmGAI1* 基因表达量稍弱,可能发挥次要作用,这与最近报道的 *GmRGA_b* 对株高的调控作用要强于 *GmRGA_a* 的结论一致^[18]。*GmRGL1* (ZH13. Chr10)和 *GmRGL2* (ZH13. Chr06) 分别在发育中的籽粒和果荚中优势表达,这两个基因在籽粒和果荚发育中的功能还有待深入鉴定。同时,通过蛋白互作分析,发现大豆 DELLA 蛋白能够与 ABHD3 和 NF-Y 等蛋白家族互作,这里面部分蛋白已被证明与花器官发育、逆境应答等途径相关,筛选的这些互作蛋白有利于进一步揭示 DELLA 蛋白的作用机理。

综合而言,本研究利用 29 个大豆种质资源的基因组数据信息,对大豆 DELLA 基因进行泛基因组分析,初步明确 DELLA 基因的遗传变异和进化关系;利用转录组数据对大豆 DELLA 基因在不同植物组织器官的表达情况进行了分析比较,推测大豆 DELLA 基因在植物生长发育的各阶段发挥不同的生物学功能;通过蛋白互作分析,为揭示 DELLA 蛋白的作用机制提供了新的候选因子。这为明确大豆 DELLA 蛋白的生物学功能以及创制耐密植大豆种质提供了参考。

参考文献:

- [1] PENG J, RICHARDS D E, HARTLEY N M, et al. 'Green Revolution' Genes Encode Mutant Gibberellin Response Modulators [J]. *Nature*, 1999, 400(6741): 256-261.
- [2] SASAKI A, ASHIKARI M, UEGUCHI-TANAKA M, et al. A Mutant *Gibberellin-Synthesis* Gene in Rice [J]. *Nature*, 2002, 416: 701-702.
- [3] MURASE K, HIRANO Y, SUN T P, et al. Gibberellin-Induced DELLA Recognition by the Gibberellin Receptor GID1 [J]. *Nature*, 2008, 456(7221): 459-463.
- [4] WILLIGE B C, GHOSH S, NILL C, et al. The DELLA Domain of GA INSENSITIVE Mediates the Interaction with the GA INSENSITIVE DWARF1A Gibberellin Receptor of Arabidopsis [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(4): 1209-1220.
- [5] UEGUCHI-TANAKA M, ASHIKARI M, NAKAJIMA M, et al. GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 Encodes a Soluble Receptor for Gibberellin [J]. *Nature*, 2005, 437(7059): 693-698.
- [6] UEGUCHI-TANAKA M, NAKAJIMA M, KATOH E, et al. Molecular Interactions of a Soluble Gibberellin Receptor, GID1, with a Rice DELLA Protein, SLR1, and Gibberellin [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(7): 2140-2155.
- [7] ARIIZUMI T, MURASE K, SUN T P, et al. Proteolysis-Independent Downregulation of DELLA Repression in Arabidopsis by the Gibberellin Receptor GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 [J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(9): 2140-2155.

2447-2459.

[8] DILL A, JUNG H S, SUN T P. The DELLA Motif is Essential for Gibberellin-Induced Degradation of RGA [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(24): 14162-14167.

[9] WEN C K, CHANG C R. Arabidopsis RGL1 Encodes a Negative Regulator of Gibberellin Responses [J]. The Plant Cell, 2002, 14(1): 87-100.

[10] PENG J, CAROL P, RICHARDS D E, et al. The Arabidopsis GAI Gene Defines a Signaling Pathway that Negatively Regulates Gibberellin Responses [J]. Genes & Development, 1997, 11(23): 3194-3205.

[11] TYLER L, THOMAS S G, HU J H, et al. Della Proteins and Gibberellin-Regulated Seed Germination and Floral Development in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2004, 135(2): 1008-1019.

[12] IKEDA A, UEGUCHI-TANAKA M, SONODA Y, et al. Slender Rice, a Constitutive Gibberellin Response Mutant, is Caused by a Null Mutation of the SLR1 Gene, an Ortholog of the Height-Regulating Gene GAI/RGA/RHT/D8 [J]. The Plant Cell, 2001, 13(5): 999-1010.

[13] PEARCE S, SAVILLE R, VAUGHAN S P, et al. Molecular Characterization of *RHT-1* Dwarfing Genes in Hexaploid Wheat [J]. Plant Physiology, 2011, 157(4): 1820-1831.

[14] BOSS P K, THOMAS M R. Association of Dwarfism and Floral Induction with a Grape ‘Green Revolution’ Mutation [J]. Nature, 2002, 416(6883): 847-850.

[15] CHENG H, QIN L J, LEE S, et al. Gibberellin Regulates Arabidopsis Floral Development via Suppression of DELLA Protein Function [J]. Development, 2004, 131(5): 1055-1064.

[16] ZHANG L P, CHEN L G, YU D Q. Transcription Factor WRKY75 Interacts with DELLA Proteins to Affect Flowering [J]. Plant Physiology, 2018, 176(1): 790-803.

[17] CAO D N, CHENG H, WU W, et al. Gibberellin Mobilizes Distinct DELLA-Dependent Transcriptomes to Regulate Seed Germination and Floral Development in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2006, 142(2): 509-525.

[18] LI Z, TU Q C, LYU X G, et al. GmSTF Accumulation Mediated by DELLA Protein GmRGAs Contributes to Coordinating Light and Gibberellin Signaling to Reduce Plant Height in Soybean [J]. The Crop Journal, 2024, 12(2): 432-442.

[19] LIU Y C, ZHANG Y, LIU X N, et al. SoyOmics: a Deeply Integrated Database on Soybean Multi-Omics [J]. Molecular Plant, 2023, 16(5): 794-797.

[20] PYSH L D, WYSOCKA-DILLER J W, CAMILLERI C, et al. The GRAS Gene Family in Arabidopsis: Sequence Characterization and Basic Expression Analysis of the SCARECROW-LIKE Genes [J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 1999, 18(1): 111-119.

[21] SZKLARCZYK D, KIRSCH R, KOUTROULI M, et al. The STRING Database in 2023: Protein-Protein Association Networks and Functional Enrichment Analyses for any Sequenced Genome of Interest [J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D638-D646.

责任编辑 王新娟