



2022年第32期总65期

种质资源保护与创制专题

本期导读

➤ 前沿资讯

1. 基因组所首次揭示葫芦素的转运分子机制
2. 中国农大李自超教授团队发现旱稻抗旱新基因DROT1
3. 华中农业大学油菜遗传育种团队解析甘蓝型油菜红色系花色成因

➤ 学术文献

1. 以萝卜(*Raphanus sativus L.*)根尖分生组织为材料,利用根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)介导的针孔法进行了根尖分生组织的高效转化
2. 以萝卜(*Raphanus sativus L.*)下胚轴为外植体,采用农杆菌介导的高效遗传转化方法。
3. 利用双单倍体诱导物介导的基因组编辑系统直接修饰甘蓝和甘蓝型油菜的多基因同源物
4. 根癌农杆菌介导的黄瓜转基因研究进展

➤ 相关专利

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统:<http://agri.ckcest.cn/>

1. 一种农杆菌介导的细叶百合鳞片高效遗传转化体系
2. 一种农杆菌介导的辣椒遗传转化方法
3. 一种根癌农杆菌介导的草莓高效稳定的遗传转化方法

中国农业科学院农业信息研究所
联系人：王丽娟，张玉玮，信丽媛
联系电话： 022-23678616
邮箱：agri@ckcest.cn
2022年8月12日

➤ 前沿资讯

1. 基因组所首次揭示葫芦素的转运分子机制

简介: 8月1日,基因组所联合云南师范大学等多家单位围绕葫芦素的运输机制进行了深入研究,首次揭示了葫芦科瓜类作物中一种三萜化合物——葫芦素的转运分子机制,并阐明了葫芦素调节根际菌群的互作模式提高植物抗病性的新机制。相关研究成果发表在《自然—植物 (Nature Plants)》。葫芦素是葫芦科植物特有的三萜类化合物,具有令人不悦的苦味,果实中积累葫芦素将严重影响其商品品质和经济效益。而葫芦素对于植物而言却具有很好的抗虫作用。在前期研究中,研究团队已经围绕葫芦素的生物合成、调控、驯化及结构多样性等方面开展了系统性研究。然而,对葫芦素的转运机制研究较少,相关转运蛋白也未见报道。研究从甜瓜和西瓜的葫芦素合成的部位一根部着手,发现甜瓜、西瓜可从根部向土壤中外排葫芦素B和葫芦素E。借助组学大数据,研究人员从甜瓜、西瓜基因组中鉴定到两个MATE转运蛋白基因 (CmMATE1/C1MATE1)。该基因不仅与葫芦素合成基因成簇分布,且被前期发现的葫芦素调控因子直接调控,该基因产生的蛋白可直接运输葫芦素B及葫芦素E。根际微生物组被称为植物的“第二基因组”,可影响植物根系的生长发育以及根系对生物和非生物的抗性等。因此,他们以西甜瓜外排葫芦素为研究切入点,试图解析根系分泌的次级代谢产物如何调节根际微生物组成,进而提高植物抗性的分子机制。通过分析根际微生物16S rRNA及宏基因组测序数据,并结合体外生化实验验证发现,根系分泌的葫芦素B可作为碳源诱导根际肠杆菌生长,并进一步促进拮抗细菌——芽孢杆菌富集,从而建立了甜瓜对土传病原菌——镰刀菌的有效防御机制。该研究为培育出可分泌高浓度葫芦素的优质抗病新品种提供了理论支撑,并有助于提高葫芦素在有害生物综合治理中的应用前景。该研究得到国家重点研发计划、云南省科学基金、深圳市科技计划、大鹏新区科技创新和产业发展专项资金等项目的资助。

来源: 基因组所

发布日期: 2022-08-04

全文链接:

<http://www.agis.org.cn/xwzx/kyjz/2b66123fc0b34ebba56ac824b9ec5424.htm>

2. 中国农大李自超教授团队发现旱稻抗旱新基因DROT1

简介: 7月23日,国际知名综合学术期刊《自然-通讯》(Nature Communications)在线发表了中国农业大学农学院李自超教授团队的研究论文《DROT1的自然变异赋予旱稻旱生适应性》(Natural variation of DROT1 confers drought adaptation in upland rice)。该研究利用稻种资源和水、旱稻遗传群体,通过GWAS和连锁分析等综合基因鉴定方法克隆了一个新的抗旱基因DROT1,阐明了其抗旱的分子机理和调控通路,鉴定出DROT1的抗旱优异基因型并揭示其起源与演化规律。干旱是制约农业生产的主要不良因素之一,作为我国的主粮作物,水稻种植灌溉用水占农业总用水量的70%以上,极不利于我国农业的可持续发展。实际上,稻属作物在长期演化过程中,由于地理环境的差异和生产种植方式的多样化,形成了两种不同的生态类型:水稻 (lowland rice) 和旱稻 (upland rice)。水稻种植的整个生长周期基本上需要淹水环境;而旱稻主要种植于干旱、半干旱的通透性土壤中,与水稻相比,整个生长周期可节约80%以上的灌溉用水。因此,发掘旱稻的优异抗旱基因,对于稻作抗旱分子育种具有重要意义。目前,对水、

旱稻分化的遗传基础仍然缺乏深入理解,利用旱稻这一抗旱生态资源发掘的抗旱基因还很少,限制了稻作抗旱分子育种的进程。本研究对271份水、旱稻种质资源进行大田干旱环境下的表型鉴定,并通过全基因组关联分析,定位到一系列抗旱遗传位点。进一步利用旱稻导入系群体和水、旱稻转录组数据对一个重要QTL-qDR10b进行候选基因分析,最终克隆了抗旱基因,命名为DROUGHT1 (DROT1)。通过转基因功能验证,明确了DROT1正向调控水稻抗旱性。通过细胞学和化学成分分析,明确了DROT1通过调控水稻维管组织细胞壁中纤维素的含量和晶体结构来增强抗旱性。分子生物学研究揭示了该基因受到两个转录因子ERF3和ERF71的直接调控,建立了抗旱与生长发育之间平衡的ERFs-DROT1调控机制。通过单倍型分析,鉴定到了DROT1的优异抗旱单倍型,该单倍型主要存在于旱稻中,启动子区域的关键SNP变异赋予DROT1更高表达量,进而增强抗旱性。该基因已获得国家发明专利,并被农业农村部认定为具有重大育种价值基因,通过第三方专业机构评估,其技术价值为108.01亿元。同时,该基因也已获得美国发明专利。我校农学院李自超教授为通讯作者,博士后孙兴明、熊海燕为本论文第一作者。中国农业大学农学院朱万斌教授、植物保护学院彭友良教授、工学院韩鲁佳教授、杨增玲教授,中国科学院遗传与发育研究所周奕华研究员等对研究工作进行了指导和帮助。该研究得到了科技部重点研发项目(2021YFD1200502)、国家自然科学基金(31861143007,32001521,31601278)、中国博士后科学基金(2019M650902)、三亚研究院引导资金项目(崖州湾科技城项目SYND-2022016)和海南崖州湾种子实验室揭榜挂帅项目(B21HJ0508)的资助。论文链接:
<https://www.nature.com/articles/s41467-022-31844-w>

来源:中国农业大学

发布日期:2022-07-25

全文链接:

http://news.cau.edu.cn/art/2022/7/25/art_8769_874410.html

3. 油菜花儿为什么这样红? (华中农业大学油菜遗传育种团队解析甘蓝型油菜红色系花色成因)

简介:近年来,随着各地油菜花节的召开,油菜花的观赏价值越来越受到育种工作者的重视。国内各育种单位陆续选育出粉红、玫红、杏红、深红等花色的新品种,但这些红色系花色的形成机制并不清楚。继成功解析了甘蓝型油菜白花(*New Phytologist*, 206:1513-1526)和橙花(*The Plant Journal*, 104:932-949)花色形成的分子机理之后,近日,华中农业大学油菜遗传育种团队在*Journal of Experimental Botany*在线发表了题为“Genetic and Multi-omics Analysis Reveal BnaA07.PAP2In-184-317 as the Key Gene Conferring Anthocyanin-based Color in *Brassica napus* Flowers”的研究论文,揭示了油菜红色系花色形成的分子机理。该研究以浙江农科院选育的杏红花品系为材料创制了粉红花材料,明晰了各种甘蓝型油菜花色,包括白、黄、杏红、粉红之间的显隐性关系。不同花色花瓣代谢组分析表明,杏红花色是由黄色的叶黄素和红色的花青素积累形成,而粉红花色由无色的胡萝卜素和红色花青素积累形成。花青素中矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的含量是导致花瓣中红色素积累的关键。转录组分析表明,与黄或白花相比,杏红和粉红花中花青素合成路径的结构基因和3个关键转录因子基因BnaMYBL2, BnaA07.PAP2和BnaTT8均急剧上调表达。基于BSA-seq和RNA-seq结果,图位克隆了红色系花色形成的关键基因BnaA07.PAP2。BnaA07.PAP2在黄或白花中几乎不表达,而在杏红或粉红花中高表达。转基因结果表明, BnaA07.PAP2启动子区域的两个片

更多资讯 尽在农业专业知识服务系统:<http://agri.ckcest.cn/>

段插入是导致该基因表达被激活的原因，BnaA07_PAP2的表达又激活了整个花青素路径基因的表达，促进红色花青素在花瓣中的积累，最终导致甘蓝型油菜红色系花色的形成。此外，通过对不同花色的甘蓝型油菜进行杂交和选育，该团队创制了不同深浅程度的红色系花色材料。该研究成果还得到了本领域国际著名学者、英国利物浦大学Diarmuid S. ´ Maoileidigh教授为该文撰写的特别评论“Cis-regulatory variation expands the colour palette of the Brassicaceae”，进一步解读了该研究的重要意义，高度评价了其研究成果。华中农业大学植物科学技术学院博士研究生叶沈华为论文第一作者，油菜遗传育种团队文静副教授为通讯作者，现代产业技术体系岗位科学家、浙江省农业科学院华水金博士，华中农业大学傅廷栋、沈金雄、涂金星、马朝芝、易斌、赵仑等多位教授参与了该研究。论文链接：
<https://academic.oup.com/jxb/advance-article/doi/10.1093/jxb/erac312/664702>
9#

来源：华中农业大学

发布日期：2022-07-23

全文链接：

<http://news.hzau.edu.cn/2022/0723/64053.shtml>

➤ 学术文献

1. An efficient Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of apical meristem in radish (*Raphanus sativus L.*) using a needle perforation (以萝卜(*Raphanus sativus L.*)根尖分生组织为材料，利用根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)介导的针孔法进行了根尖分生组织的高效转化)

简介：Radish (*Raphanus sativus*) is a rich source of glucosinolates (GSLs) and their hydrolytic products such as isothiocyanates (ITCs). GSLs and ITCs enhance plant defense responses to biotic and abiotic stresses and are health promoting effect in human. The branched-chain aminotransferase 4 (BCAT4) gene encode an enzyme catalyzing the deamination of methionine in the first step in the chain elongation of aliphatic GSL biosynthesis. Previously, plant transformation in radish has been successfully performed using several methods such as floral dipping, vacuum infiltration and sonic infiltration, protoplast transformation and microspore culture. However, the recalcitrant of regeneration in radish affects the transformation efficiency remain relatively low. Therefore, there is still a need to improve the transformation methods for radish. In this study, we used a simple method for the efficient transformation of radish using *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 and tested it with the radish BCAT4 (RsBCAT4) transgene. The PCR, RT-qPCR, Southern blot, GFP fluorescence, and HPLC analyses were used to confirm the transgene integration. Positive correlations between the expression of RsBCAT4 and downstream genes (i.e., CYP79F1, CYP83A1, and GRS1) were also observed in selected T2 transgenic lines. RsBCAT4 transgenic lines exhibited significantly increased levels of aliphatic GSLs compared to the levels in wild type plants, particularly glucoraphasin. This needle perforation technique is simple in plant transformation method significantly enhancing

transformation efficiency in radish, which could be utilized for molecular breeding of radish to improve its traits.

来源：Plant Cell, Tissue and Organ Culture

发布日期:2022-01-05

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3B/Csgk0YdV-a2AQMjzACMwr-x5aXw703.pdf>

2. Efficient Agrobacterium-mediated genetic transformation method using hypocotyl explants of radish (*Raphanus sativus L.*). (以萝卜(*Raphanus sativus L.*)下胚轴为外植体,采用农杆菌介导的高效遗传转化方法。)

简介：To investigate the gene function of radish (*Raphanus sativus L.*), several attempts have been made to generate genetically transformed radish. However, no efficient and relatively simple method for the genetic transformation of radish has been developed to date. In this study, we established an Agrobacterium-mediated genetic transformation method using the hypocotyl-derived explants of radish cultivar "Pirabikku". Primarily based on the *Brassica* transformation procedure, we optimized it for radish transformation. Using this system, the transformation efficiency of radish hypocotyl explants by *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 harboring pIG121-Hm was 13.3%. The copy number of transfer DNA integrated into the genome was either one or two in the four independent transgenic plants. Two of the four plants exhibited male sterility and did not produce self-pollinated seeds. Examination of the expression of the β -glucuronidase (GUS) gene in T1 plants from fertile T0 plants showed that the GUS genes were inherited. The improvement in the genetic transformation in this study might pave the way for accelerated molecular breeding and genetic analysis of radish.

来源：Plant Biotechnology

发布日期:2021-12-25

全文链接:

http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0D/Csgk0GL_SCaAUkhHAByWkE6FjoY196.pdf

3. Direct modification of multiple gene homoeologs in *Brassica oleracea* and *Brassica napus* using doubled haploid inducer-mediated genome-editing system (利用双单倍体诱导物介导的基因组编辑系统直接修饰甘蓝和甘蓝型油菜的多基因同源物)

简介：The diploid *Brassica oleracea* and allopolyploid *Brassica napus* are predominant members of commonly consumed vegetables and plant oil, respectively. *B. oleracea* vegetables mainly include Broccoli, Cauliflower, Cabbage, Brussels sprouts, and Kohlrabi. The complex genome structure and gene function redundancy are the main obstacles for gene stacking through the traditional cross-breeding approach. To solve this problem, high-efficiency CRISPR/Cas9 genome-editing technologies have been established (Li et al., 2018). However, an open question is that most of these established approaches employed agrobacterium-mediated T-DNA transformation to deliver CRISPR/Cas9

components into plant cells, which would unavoidably introduce exogenous large DNA fragments. Moreover, Agrobacterium-based strategy deeply relies on transformation efficiency of the recipient genotype, which extremely restricts rapid application of CRISPR/Cas9 in the majority of elite commercial varieties.

来源：Plant Biotechnology Journal

发布日期：2021-05-06

全文链接：

http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0D/Csgk0GL_ToaAX-9vABLntXtS2Qg624.pdf

4. 根癌农杆菌介导的黄瓜转基因研究进展

简介：黄瓜Cucumis sativus是世界性的重要蔬菜作物。农杆菌介导的转基因技术是研究植物基因功能及品种改良的重要手段。为进一步加快黄瓜的转基因研究和育种进程，文中针对农杆菌介导的黄瓜遗传转化方法，从黄瓜再生能力的影响因素、遗传转化条件和过程中各类添加物质等方面，阐述了根癌农杆菌介导的黄瓜转基因研究进展及存在的问题，并对提高黄瓜遗传转化效率和安全筛选标记的应用等前景进行了展望，以期为黄瓜抗逆育种和果实品质改良等研究提供参考。

来源：生物工程学报

发布日期：2020-04-25

全文链接：

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3B/Csgk0YdWAAWAA-04AAZJNBbPU8o710.pdf>

➤ 相关专利

1. 一种农杆菌介导的细叶百合鳞片高效遗传转化体系

简介：本发明公开了一种农杆菌介导的细叶百合鳞片高效遗传转化体系，包括以下步骤：抗生素卡那霉素适宜浓度筛选；菌液的制备；预培养；侵染；共培养；筛选培养；抗性苗获得；转基因植株的PCR检测。本发明以细叶百合无菌小鳞片为转化材料，通过对农杆菌转化过程中的主要转化条件进行优化，建立了一种农杆菌介导的细叶百合鳞片高效遗传转化体系，将绿色荧光蛋白基因GFP转入细叶百合，转化率达到16.13%。其优势在于以细叶百合鳞片为转化受体的直接再生途径，再生率高，变异率和假阳性率低，转化周期短，约3.5个月即可获得完整植株，转化率高，为百合的分子育种、种质资源创制及品种改良奠定基础。

来源：佰腾网

发布日期：2020-05-26

全文链接：

http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3B/Csgk0YdWA1iAcY-sAAbNw1_uoaU647.PDF

2. 一种农杆菌介导的辣椒遗传转化方法

简介：本发明公开了一种农杆菌介导的辣椒遗传转化方法。本发明通过培养基、培养方法等的改进降低了农杆菌侵染液的浓度，减轻了辣椒子叶的超敏反应，有利于后续的再生过程；菌体浸染液中不添加乙酰丁香酮Acetosyringone(AS)，子叶和农杆菌固体MS

共培养培养基中添加乙酰丁香酮(AS)和二硫苏糖醇Dithiothreitol(DTT)可显著促进转化效率的提高。本发明对部分基因型进行了转化验证，在大部分基因型中可显著促进转化效率的提高。表明该方法可以用于辣椒转基因和基因编辑研究中的遗传转化，进一步促进辣椒转基因植株的获得。

来源：佰腾网

发布日期:2020-04-03

全文链接:

http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0D/Csgk0GL_UYGAOZKbAAsp60bVKmE985.PDF

3. 一种根癌农杆菌介导的草莓高效稳定的遗传转化方法

简介：本发明涉及一种根癌农杆菌介导的草莓高效稳定的遗传转化方法，其包括：草莓无菌苗的预培养；农杆菌活化；侵染；共培养；延迟筛选；筛选和生根的过程。其优化了遗传转化的步骤，从而大幅度提高了草莓转基因效率，解决了传统农杆菌介导法转化效率低，易产生嵌合体，筛选困难，工作量大的问题，极大的提高了遗传转化效率，同时显著降低了再生芽的假阳性率。

来源：佰腾网

发布日期:2017-05-31

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3B/Csgk0YdWARuANGfcAA72Xc3x7HE032.PDF>