



2022年第33期总66期

## 种质资源保护与创制专题

### 本期导读

#### ▶ 前沿资讯

1. 华中农业大学在纳米载体用于植物基因沉默研究上取得进展
2. 王海洋教授团队联合中国农业科学院研究团队揭示现代玉米杂种优势群遗传改良与分化的基因组学基础
3. 普渡大学、南京农业大学等单位联合揭示蕨类配子体分生组织发育的细胞机制

#### ▶ 学术文献

1. 发根农杆菌诱导大豆毛状根中碳状态的改变。
2. 挥发性有机化合物对农杆菌生物膜及泳动性的影响。
3. 通过在葫芦科植物中优化的遗传转化程序，利用CRISPR/Cas9基因编辑有针对性地创建具有紧凑植物结构的新突变体。
4. 根癌农杆菌介导转化产革兰霉素内生真菌——克氏木霉EL000614的条件优化

## ➤ 相关专利

1. 一种与黄瓜成株期耐热相关的SNP标记、引物组、试剂盒及应用
2. 一种农杆菌介导甘蔗生长点遗传转化的方法
3. 一种农杆菌介导桃遗传转化方法

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](mailto:agri@ckcest.cn)  
2022年8月19日

## ▶ 前沿资讯

### 1. 华中农业大学在纳米载体用于植物基因沉默研究上取得进展

**简介:** 近日, 我校农业微生物国家重点实验室韩鹤友教授课题组在国际学术期刊 ANGEWANDTE CHEMIE-INTERNATIONAL EDITION上发表题为“Efficient Gene Silencing in Intact Plant Cells Using siRNA Delivered By Functional Graphene Oxide Nanoparticles”的研究论文。该研究设计开发了一种氧化石墨烯纳米颗粒介导的siRNA递送系统, 实现在完整植物细胞中高效、瞬时的基因沉默。RNA干扰 (RNAi) 技术的发展为植物基因功能、信号通路和作物育种等研究领域提供了有力的工具。目前小干扰RNA (siRNA) 在完整植物细胞中的递送主要依赖于农杆菌转化法和病毒递送手段, 但这些递送方式通常会产生随机的基因组整合, 导致siRNA的不可控表达, 从而难以精准控制基因沉默周期。同时, 由于完整植物细胞致密坚韧而又多层的细胞壁阻碍了大尺寸物质的细胞内转运, 导致外源生物分子难以被传统方法以外的手段有效递送。因而需要发展新型递送手段来实现高效、瞬时的基因沉默。针对这些问题, 我校韩鹤友教授课题组将RNAi与纳米技术相结合, 设计开发了一种氧化石墨烯纳米颗粒介导的siRNA递送系统, 在无外力作用下实现在成熟植物组织中高效, 瞬时的基因沉默 (图1)。此前尚未有概念认为氧化石墨烯可以作为生物分子的递送载体用于植物系统, 这主要是由于未经处理的氧化石墨烯为微米级的大尺寸二维结构, 难以在植物组织内传递并穿透细胞壁内化。韩鹤友教授团队采用功能性高分子修饰, 机械破碎分离的技术手段, 制备出100nm左右的氧化石墨烯纳米颗粒 (GONs)。如图2所示, 研究发现GONs能够高效搭载siRNA并进一步缩小为20-30nm左右的小尺寸球状纳米复合物 (GONs-siRNA), 同时该GONs载体具有使用简单, 稳定性好, 保护siRNA等优点。团队使用了一种转基因烟草 (*N. benthamiana* 16C), 其能够在细胞质稳定表达内源绿色荧光蛋白 (GFP)。如图3所示, 在激光共聚焦显微镜 (CLSM) 的观察下, GONs-siRNA能够将Cy3标记的siRNA有效递送进烟草细胞质内。通过透射电子显微镜 (TEM) 与CLSM观察, GONs-siRNA展现出与植物细胞壁强烈的亲和, 大部分颗粒附着于细胞壁表面, 部分GONs-siRNA直接跨越细胞壁内化进植物细胞。如图4所示, 团队使用该方式递送靶向内源性GFP的siRNA, 在24 h实现了mRNA水平97%左右的高效基因沉默, 同时在48 h出现蛋白表达的显著下降。重要的是, GONs介导的基因沉默具有明显的瞬时性, 靶标mRNA在72 h恢复到正常水平的66%左右, 在120 h完全恢复到正常水平。靶标基因的蛋白表达也在72 h后开始恢复, 120 h完全恢复到正常水平。同样的, 对烟草内源基因NbPDS与NbSGS3的基因沉默也产生明显的抑制与快速恢复。值得一提的是, 这种GONs载体具有良好的生物相容性, 在整个研究过程中未发现对植物细胞的损伤。该成果首次证明了氧化石墨烯能够作为siRNA递送载体应用于植物系统。这种瞬时高效的新策略将促进纳米材料作为植物基因工程工具的应用。本文的第一作者为生命科学技术学院博士研究生李烁钧, 通讯作者为我校韩鹤友教授。该研究得到了“国家自然科学基金 (21778020, 21807036) 等项目的资助。

**来源:** 华中农业大学

**发布日期:** 2022-08-10

**全文链接:**

<http://news.hzau.edu.cn/2022/0810/64185.shtml>

### 2. 王海洋教授团队联合中国农业科学院研究团队揭示现代玉米杂种

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

## 优势群遗传改良与分化的基因组学基础

**简介:** 7月18日晚, 我校生命科学学院、亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室和岭南现代农业科学与技术广东省实验室王海洋教授团队联合中国农业科学院作物科学研究所玉米优异种质资源发掘与创新利用团队和中国农业科学院生物技术研究所玉米功能基因组创新团队等在《自然-植物 (Nature Plants) 》(影响因子17.352) 在线发表了题目为“Genomic Insights into Historical Improvement of Heterotic Groups during Modern Hybrid Maize Breeding”的研究论文, 文章揭示了玉米父、母本杂种优势群趋同与趋异选择的遗传规律, 解析了玉米基因组分化特征及其对杂种优势的贡献, 通过总结过去, 将玉米育种实践经验理论化, 为新时期玉米自交系创制和杂种优势利用提供理论指导。针对此项工作, 在同期配发了德国慕尼黑工业大学专家的新闻评论, 给予了高度的评价。玉米是世界, 也是我国的第一大作物, 在保障全球和我国粮食安全方面具有不可替代的作用。玉米杂交种(单交种)与其父母本相比, 具有很强的杂种优势。玉米单交种自从20世纪60年代开始在生产上大面积推广, 迄今其利用率已达到近100%。玉米单交种是由分别来自母本杂种优势群和父本杂种优势群的自交系杂交组配而成, 而杂优模式是指特定的母本群和父本群中个体杂交后具有强杂种优势的配组方式。长期以来, 国外(美国为主)形成了SS系、NSS系和Iodent系三个主要杂种优势群, 而我国除了引进国外的SS、NSS、Iodent种质资源外, 还形成了我国独特的SPT, PA和PB等新种的杂种优势群。生产上SS和PA系常用做母本, 而NSS、Iodent、SPT和PB系常用做父本。国内外半个多世纪的育种史表明, 玉米单产水平的提升(3倍以上)主要取决于父、母本杂种优势群的持续改良和杂优模式的优化。然而, 现代育种过程中父、母本杂种优势群的遗传改良规律及其基因组学基础尚不清楚, 导致父、母本自交系选育和杂交组配效率低、盲目性大、可预见性差, 制约着突破性玉米新品种的培育。为了揭示现代玉米育种过程中父、母本杂种优势群育种选择的遗传规律及其基因组分化特征, 该研究收集整理了1604份国内外不同育种时期、不同杂种优势群的代表性玉米自交系, 针对21个农艺性状开展了多环境、多角度的表型精准鉴定和基于重测序的基因型精准鉴定, 通过对超过305万个表型数据点和2.2亿个遗传变异位点的分析, 发现本研究材料覆盖了全球主要玉米主产区育种应用的父本群和母本群, 二者经历了“和而不同”育种改良, 即农艺性状改良既存在趋同选择也存在趋异选择。趋同选择性状(父母本群均向花期更早熟、散粉-吐丝间隔期更短、穗位更低、雄穗分枝数更少、产量更高、行粒数更多、出籽率更高、籽粒更大、粒重更重方向改良)多与耐密高产育种目标相关, 而趋异选择性状(穗粗、穗行数、轴重性状在母本群中降低, 而在父本群中增加)可能与母本及其杂交种的熟期和籽粒脱水速率相关。在此基础上, 采取全基因组扫描和关联分析策略, 挖掘出一批与父、母本杂优群性状趋同和趋异选择的重要基因和等位基因, 且发现父、母本杂优群中有利等位基因积累的多少与趋同和趋异性状改良呈高度相关。进一步研究发现, 现代育种过程中父、母本杂优群之间一些基因组区域的遗传分化不断增强, 并且这些基因组区段或基因的持续分化是决定玉米杂种优势的重要遗传学基础。此外, 利用基因编辑技术和转基因技术验证了两个现代育种过程中趋同选择基因ZmEMF1L1和ZmKW10和一个分化基因ZmKOB1在调控玉米开花期、籽粒大小和杂种优势方面的作用。本研究为玉米杂交种父、母本杂优群的遗传改良、强优势杂交种的选育及全基因组选择育种技术的开发提供了坚实的理论基础与基因资源。中国农业科学院作物科学研究所李春辉副研究员为第一作者, 作科所关红辉博士、诺禾致源荆鑫、华南农业大学李耀耀博士、中国农业科学院生物技术研究所王宝宝研究员为并列第一作者; 华南农业大学王海洋教授、中国农业科学院作物科学研究所王天宇研究员、黎裕研究员, 加州大学戴维斯分校

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

Jeffrey Ross-Ibarra教授、诺禾致源焦成智为共同通讯作者。该研究得到了国家重点研发计划、国家自然科学基金、中国农业科学院科技创新工程等项目的资助。文章链接：<https://www.nature.com/articles/s41477-022-01190-2>

来源：华南农业大学生命科学学院

发布日期:2022-07-21

全文链接:

<https://www.scau.edu.cn/2022/0722/c11310a321242/page.htm>

### 3. 普渡大学、南京农业大学等单位联合揭示蕨类配子体分生组织发育的细胞机制

**简介:** 2022年7月,普渡大学、南京农业大学等单位的研究成果“Cell growth dynamics in two types of apical meristems in fern gametophytes”作为封面论文发表在《The Plant Journal》。陆地植物的世代交替发生在孢子体和配子体阶段之间。种子植物孢子体发育出自我维持的多细胞分生组织,这些分生组织决定了其组织结构。而种子植物配子体缺乏分生组织不能独立存活。相比之下,包括蕨类植物在内的无种子维管植物配子体和孢子体相互独立存活,均通过形成分生组织维持其生长和增殖。与种子植物孢子体中分生组织报道相比,研究者对蕨类配子体中分生组织发育的细胞机制了解甚少。作者通过自己建立的无创延时共聚焦成像和二维成像分析系统定量确定了蕨类*Woodsia obtusa*配子体中两种不同类型的顶端分生组织的细胞生长动态——顶端初始中心分生组织和多细胞顶端分生组织。同时明确了维持或终止顶端初始细胞分裂和生长的独特模式以及顶端初始中心分生组织如何转变为多细胞顶端分生组织,并推动蕨类植物顶端分生组织的增殖。定量结果表明小细胞与蕨类配子体中活跃的细胞分裂相关。蕨类配子体多细胞顶端分生组织的外层细胞经历垂周分裂和平周分裂,进而增加细胞数量和细胞层数。此外,在2021年10月,作者通过类似的定量活体成像方法捕捉蕨类*Pteris vittata* (蜈蚣凤尾蕨)配子体生长动态,并与模式植物*Ceratopteris richardii*进行了比较。结果显示顶端初始中心分生组织和多细胞侧分生组织维持的时间决定了*Pteris vittata*配子体形态多样性,这与*Ceratopteris richardii*配子体的经典心形形状不同。该成果“Timing of meristem initiation and maintenance determines the morphology of fern gametophytes”以封面论文发表在《Journal of Experimental Botany》。所有这些发现为无种子维管植物配子体中分生组织的功能和调控提供了见解,表明了陆地植物分生组织细胞增殖的保守和多样化机制,并为未来更广泛地研究不同分生组织和配子体形态的细胞机制提供了一个新的定量平台。南京农业大学和普渡大学联合培养博士研究生吴潇为论文的第一作者,普渡大学Yun Zhou教授和南京农业大学张绍铃教授为论文的共同通讯作者。加州理工大学An Yan博士、普渡大学Jo Ann Banks教授、Scott A M McAdam教授、Xi Yang博士研究生参与了部分研究。

来源:南京农业大学园艺学院

发布日期:2022-07-20

全文链接:

<http://newsadmin.njau.edu.cn/s5/2022/0719/c160a119633/page.psp>

## ➤ 学术文献

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

## 1. Altered carbon status in *Glycine max* hairy roots induced by *Agrobacterium rhizogenes*. (发根农杆菌诱导大豆毛状根中碳状态的改变。)

简介: Plants fix CO<sub>2</sub> into carbohydrates through photosynthesis, and various organisms interact with plants to obtain carbohydrates. *Agrobacterium rhizogenes* is a soil bacterium known as a plant pathogen that induces hairy root disease. Through *A. rhizogenes*-plant interactions, transfer-DNA (T-DNA) of the Ri plasmid is inserted into the host plant genome, leading to excessive formation of hairy roots and the synthesis of opines that are carbon and nitrogen sources for *A. rhizogenes*. In this study, we analyzed the carbohydrate contents in soybean (*Glycine max*) hairy roots. We found that the starch content was strongly increased in hairy roots, whereas the glucose was significantly decreased. On the other hand, no significant differences were observed in sucrose levels between the main roots and hairy roots of *A. rhizogenes*-inoculated plants. This result suggests that *A. rhizogenes* infection caused a change in primary carbon metabolism in the host plant cells.

来源: Plant Signaling & Behavior

发布日期: 2022-07-29

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/0E/Csgk0GMERtSAD5XgABWc1C6Z7DM989.pdf>

## 2. Effects of Volatile Organic Compounds on Biofilms and Swimming Motility of *Agrobacterium tumefaciens*. (挥发性有机化合物对农杆菌生物膜及泳动性的影响。)

简介: Volatile organic compounds (VOCs) emitted by bacteria play an important role in the interaction between microorganisms and other organisms. They can inhibit the growth of phytopathogenic microorganisms, modulate plant growth, and serve as infochemicals. Here, we investigated the effects of ketones, alcohols, and terpenes on the colony biofilms of plant pathogenic *Agrobacterium tumefaciens* strains and swimming motility, which can play an important role in the formation of biofilms. It was shown that 2-octanone had the greatest inhibitory effect on biofilm formation, acting in a small amount (38.7 g/m<sup>3</sup>). Ketone 2-butanone and unsaturated ketone  $\beta$ -ionone reduced the formation of biofilms at higher doses (145.2-580.6 and 387.1-1548.3 g/m<sup>3</sup>, respectively, up to 2.5-5 times). Isoamyl alcohol and 2-phenylethanol decreased the formation of biofilms at doses of 88.7 and 122.9 g/m<sup>3</sup> by 1.7 and 5 times, respectively, with an increased effect at 177.4 and 245.9 g/m<sup>3</sup>, respectively. The agrobacteria cells in mature biofilms were more resistant to the action of ketones and alcohols. These VOCs also suppressed the swimming motility of agrobacteria; the radius of swimming zones decreased ~from 2 to 5 times. Terpenes (-)-limonene and (+)- $\alpha$ -pinene had no significant influence on the colony biofilms and swimming motility at the doses used. The results obtained represent new information about the effect of VOCs on biofilms and the motility of bacteria.

来源: Microorganisms

发布日期: 2022-07-26

全文链接:

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

[http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3C/Csgk0Yda-DSA0y92ADvDn-9o\\_w4727.pdf](http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3C/Csgk0Yda-DSA0y92ADvDn-9o_w4727.pdf)

### **3. Targeted creation of new mutants with compact plant architecture using CRISPR/Cas9 genome editing by an optimized genetic transformation procedure in cucurbit plants (通过在葫芦科植物中优化的遗传转化程序，利用CRISPR/Cas9基因编辑有针对性地创建具有紧凑植物结构的新突变体。)**

**简介:** Fruits and vegetables in the Cucurbitaceae family contribute greatly to the human diet, for example, cucumber, melon, watermelon and squash. The widespread use of genome editing technologies has greatly accelerated the functional characterization of genes as well as crop improvement. However, most economically important cucurbit plants, including melon and squash, remain recalcitrant to standard *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation, which limits the effective use of genome editing technology. In this study, we describe the "optimal infiltration intensity" strategy to establish an efficient genetic transformation system for melon and squash. We harnessed the power of this method to target homologs of the ERECTA family of receptor kinase genes and created alleles resulting in a compact plant architecture with shorter internodes in melon, squash and cucumber. The optimized transformation method presented here allows stable CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis and will lay a solid foundation for functional gene manipulation in cucurbit crops.

**来源:** Horticulture Research

**发布日期:** 2022-01-20

**全文链接:**

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3C/Csgk0Yda9zaAFrA0ABwL6UhVr3Y079.pdf>

### **4. Optimization of *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated Transformation of *Xylaria grammica* EL000614, an Endolichenic Fungus Producing Grammicin (根癌农杆菌介导转化产革兰霉素内生真菌——克氏木霉 EL000614的条件优化)**

**简介:** An endolichenic fungus *Xylaria grammica* EL000614 produces grammicin, a potent nematicidal pyrone derivative that can serve as a new control option for root-knot nematodes. We optimized an *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation (ATMT) protocol for *X. grammica* to support genetic studies. Transformants were successfully generated after co-cultivation of homogenized young mycelia of *X. grammica* with *A. tumefaciens* strain AGL-1 carrying a binary vector that contains the bacterial hygromycin B phosphotransferase (hph) gene and the eGFP gene in T-DNA. The resulting transformants were mitotically stable, and PCR analysis showed the integration of both genes in the genome of transformants. Expression of eGFP was confirmed via fluorescence microscopy. Southern analysis showed that 131 (78.9%) out of 166 transformants contained a single T-DNA insertion. Crucial factors for producing predominantly single T-DNA transformants include 48 h of co-cultivation, pretreatment of *A. tumefaciens* cells with acetosyringone before

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

co-cultivation, and using freshly prepared mycelia. The established ATMT protocol offers an efficient tool for random insertional mutagenesis and gene transfer in studying the biology and ecology of *X. grammica*.

来源: Mycobiology

发布日期: 2021-07-21

全文链接:

[http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/OE/Csgk0GMRbmAYjlcABzmQ0Fn\\_24158.pdf](http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/OE/Csgk0GMRbmAYjlcABzmQ0Fn_24158.pdf)

## ➤ 相关专利

### 1. 一种与黄瓜成株期耐热相关的SNP标记、引物组、试剂盒及应用

**简介:** 本发明提供了一种与黄瓜成株期耐热相关的SNP标记、引物组、试剂盒及应用,属于分子生物学辅助育种技术领域。与黄瓜成株期耐热相关的SNP标记的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,所述SEQ ID NO:1的第190位存在T/C多态性;当所述SNP标记的190位碱基为T时,黄瓜材料的成株期耐热性好;当所述SNP标记的190位碱基为C时,黄瓜材料的成株期耐热性差。本发明不仅为黄瓜成株期耐热性的精细定位和分子克隆奠定了基础,同时也为利用分子标记辅助选育耐热的黄瓜新品种提供了高效的途径。

来源: 佰腾网

发布日期: 2022-01-18

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3C/Csgk0YdbOmGAb9rgAAX6v6ZYNxU549.PDF>

### 2. 一种农杆菌介导甘蔗生长点遗传转化的方法

**简介:** 本发明公开了一种农杆菌介导甘蔗生长点遗传转化的方法,属于甘蔗培育技术领域,所述方法包括选定遗传转化的甘蔗材料、菌种和质粒,配制愈伤组织诱导培养基M1、分化培养基M2、生根培养基M3、转化培养基MR和共培养基M4,对甘蔗愈伤组织的诱导及分化,制备农杆菌工程菌液,使用农杆菌介导对甘蔗生长点进行遗传转化,对转基因植株进行检测。本发明缩短了甘蔗获得转化植株的时间、提高了转化效率,通过农杆菌介导转化技术,把pCAMBIA3301植物表达载体导入GT35无菌幼苗中,经过筛选培养基筛选共得到353株抗性植株,对抗性植株进行PCR检测,333株成阳性,阳性率达94.33%,表明外源基因成功导入甘蔗中。

来源: 佰腾网

发布日期: 2021-08-24

全文链接:

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/10/OE/Csgk0GMEgyOALzbJAA6SEsSq2xA647.PDF>

### 3. 一种农杆菌介导桃遗传转化方法

**简介:** 本发明涉及园艺作物基因工程领域,提供了一种农杆菌介导桃遗传转化方法,包括如下步骤:遗传转化受体建立,农杆菌的培养与侵染液的配置,侵染与共培养,除菌与筛选培养,抗性愈伤组织GUS染色鉴定。本发明以愈伤组织为受体,以GUS基因为报告基因,通过农杆菌GV3101介导的方法进行桃的遗传转化,获得抗性愈伤组织,历经数次

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

继代，经GUS染色确定为阳性愈伤组织。本发明方法可以显著提升农杆菌介导转化的成功率，同时此方法可以在桃基因工程、细胞工程、代谢工程以及桃遗传转化体系的建立中得到广泛应用。

**来源：**佰腾网

**发布日期：**2021-04-23

**全文链接：**

<http://agri.ckcest.cn/file1/M00/03/3C/Csgk0YdbNL2AevQ0AArVM-5Ir5Q512.PDF>