

新型禾本科模式植物——二穗短柄草

陈军营, 李香妞, 赵一丹, 陈新建*

河南农业大学农学院, 郑州 450002

A New Model Plant in Gramineae——*Brachypodium distachyon* L.

CHEN Jun-Ying, LI Xiang-Niu, ZHAO Yi-Dan, CHEN Xin-Jian*

College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

摘要: 文章介绍二穗短柄草这一种新型的禾本科模式植物的分类地位、生物学特性和基因组学等方面的研究进展。

关键词: 禾本科; 二穗短柄草; 新型模式植物

模式植物拟南芥和水稻已在植物学的各个研究领域内广泛采用。但作为双子叶的拟南芥在某种程度上并不具有禾谷类作物的生物学特性和相关的农艺性状(如分蘖、穗分化等),且在进化上与单子叶植物距离较远(Keller和Feuillet 2000),因此,将拟南芥中研究的结果直接应用于单子叶植物不完全能得到好的效果;水稻是热带植物,与温带作物如小麦等亲缘关系相差较远,且具有个体大、半水生、生活周期长、生长要求高等局限性(Draper等2001)。因此,需要一个新的模式植物来研究与禾本科植物相关的一些问题。

二穗短柄草(*Brachypodium distachyon* L.)是一年生温带禾本科植物,起源于中东、北非、亚洲和欧洲,分布较广。它具有植株矮小、生活期短(一般为70 d左右)、自花授粉、繁殖力强、要求的生长条件简单且易转化、基因组小、遗传资源丰富、与禾谷类作物血缘关系密切等特点,所以有望成为更有研究前途的禾谷类模式植物(Catalan和Olmstead 2000; Kellogg 2001; Caetano-Anolle 2005)。本文就二穗短柄草生物学特性、组织培养、遗传转化、基因组学和分子生物学应用中的研究进展作简要介绍。

1 二穗短柄草的生物学特性、基因组大小和分类地位

二穗短柄草植株矮小,成熟后植株高度为15~20 cm;生活期短,在室内长日照条件下,生活周期一般为8~11周;通常在第7片叶长出时开始开花,每小花有1枚雌蕊和3枚雄蕊,自花授粉;节间多毛,穗子纺锤型;颖果长而狭窄;分枝较多,每株能收获多达800粒种子(Catalan等1995; Draper等

2001; 王宏归等2007)。二穗短柄草有二倍体($2n=10$)四倍体($2n=20$)和六倍体($2n=30$)品种等丰富的多倍体资源可供研究利用,其多倍体基因组模式和小麦等作物极其相似(Shi等1993)。其中常见的是具5对染色体和二倍体的二穗短柄草($2n=2x=10$),其生态型多达50种(Khan和Stace 1999; Draper等2001; Vogel等2006a)。二穗短柄草的基因组(164 Mbp)介于拟南芥的基因组(157 Mbp)和水稻的基因组(490 Mbp)之间,约是面包小麦(16 979 Mbp)的1/10,硬粒小麦(12 030 Mbp)的1/7以及大麦(5 439 Mbp)的1/3(Bennett和Leitch 2004; Catalan等1995)。DNA重复序列不到15%,低于拟南芥(16%)和水稻(20%)。约35 000个基因,在染色体上高密度分布,平均每8~10 kb涵盖1个基因(Draper等2001)。

二穗短柄草属于早熟禾亚科,与小麦、大麦、燕麦和水稻等粮食作物以及玉米、高粱、柳枝稷等作物关系密切(Catalan和Olmstead 2000; Kellogg 2001; Caetano-Anolle 2005)。Foote等(2004)用小颖短柄草(*Brachypodium sylvaticum*)的371 kb的DNA测序片段与小麦、水稻中直系同源区域做比较的结果显示,二穗短柄草与小麦存在较高的微共线性(microcolinearity),而且比以往报道的小麦和水稻间的微共线性好,这说明二穗短柄草和小麦的基因组在进化中有一定程度的保守性(Bossolini等2007)。Vogel等(2006b)通过来源于二穗短柄草叶

收稿 2008-04-09 修订 2008-07-04

资助 国家转基因植物研究与产业化专项基金(JY03-B-19-2)和河南省杰出人才创新基金(022100090)。

* 通讯作者(E-mail: xinjian@371.net; Tel: 0371-63554960)。

片、茎、根、愈伤组织和发育中的籽粒的5个差异表达的cDNA文库中获得20 440条EST (expressed sequence tags)序列, 并对部分ESTs的

系统发生分析的结果表明, 二穗短柄草与小麦和大麦之间的关系密切。总之, 二穗短柄草与麦类作物的亲缘关系比其与水稻之间的关系密切(图1)。

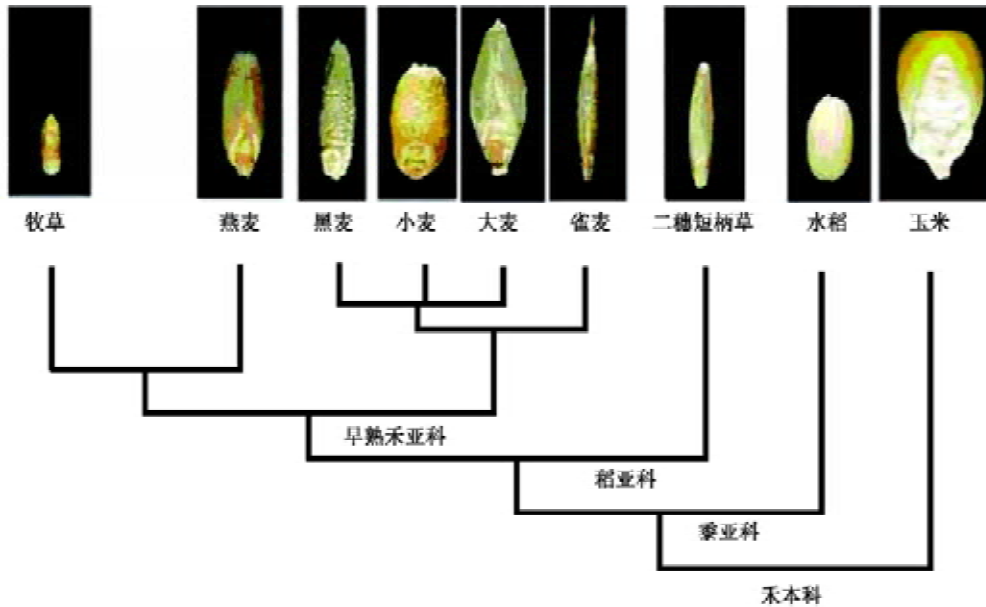


图1 二穗短柄草与几种禾本科作物的亲缘关系(Opeanowicz等2008)

2 二穗短柄草的组织培养、遗传转化和生化诱变

Bablak等(1995)将二穗短柄草3个基因型B200、B373和B377的成熟胚分别放在MS和N6培养基上诱导出的愈伤组织再放在MSO或N6O培养基上继续分化培养的结果表明, 60%以上的种子接种在所有的培养基上10~12 d后都可以产生愈伤组织, 加有 $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D的MS和N6培养基最适合于二穗短柄草胚性愈伤组织的诱导。Christiansen等(2005)将二穗短柄草二倍体和四倍体基因型的幼胚放在LS培养基上培养的结果显示, BDR017 (4n)和BDR030 (4n)胚性愈伤组织诱导率分别为67%和91%, 高于二倍体基因型BDR001 (51%)和BDR018 (46%)。所有基因型都可以获得再生植株, 3~6周的BDR017、BDR030、BDR001和BDR018愈伤组织的再生率为90%~100%。

Christiansen等(2005)用基因枪转化法对BDR001、BDR017、BDR018和BDR030这4种基因型的二穗短柄草幼胚的胚性愈伤组织进行转化的结果表明, 4个基因型的平均转化率分别为0、3.8%、5.3%和4.1%, BDR017、BDR018和BDR030最高转化率分别为11%、9%和14%。Vain等

(2008)和Pacurar等(2007)用农杆菌转化法对来源于二穗短柄草Bd21和BDR018幼胚愈伤组织进行转化的结果表明, Bd21的效率在6%~17%之间, BDR018农杆菌转化的效率则高达55%, 说明基因型不同的二穗短柄草的转化效率不同。

化学诱变方法和T-DNA插入突变方法都已在二穗短柄草中得到应用。Engvild(2005)用不同浓度叠氮化钠和甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulphonate, EMS)诱导二穗短柄草BDR018、BDR001和BDR037 (2n)种子突变的结果表明, 叠氮化钠诱变率比EMS的诱变率高。10 mmol·L⁻¹叠氮化钠诱变不同基因型的诱变率有较大差异, BDR037 M₁代的叶绿素诱变效率可高达45%, M₂代的叶片产生白化、黄化、浅绿和条纹4种叶绿素突变型; BDR018 M₁和M₂代的叶绿素基本上没有突变; BDR001 M₁和M₂代全部表现为白化突变体。Vain等(2008)以双元表达载体pVec8-GFP T-DNA插入方法构建二穗短柄草突变体库时获得到2500个Bd21的T-DNA插入突变系, 这些突变系的部分突变体的侧翼序列(flanking sequence)测序正在进行中。

3 二穗短柄草的分子生物学和基因组学

Allwood等(2006)以二穗短柄草对水稻稻瘟病敏感的ABR1(易感)和ABR5(抗性)基因型为材料,用傅立叶红外光谱仪(FT-IR)和电喷雾电离质谱(ESI-MS)检测二穗短柄草与病原交互作用中的一些关键代谢物变化的结果表明,在感病过程中,ABR5体内的磷脂酸(生物膜的组成成分)增加而ABR1体内则减少;ABR1中的磷脂酰甘油合成受抑制,说明二穗短柄草抗(或感)稻瘟病的机制中膜成分(磷脂酸)的合成有增加或受抑制,这些结果对水稻的抗性研究提供了有价值的参考。Olsen等(2006)用基因枪转化方法将受泛素启动子Ubi(ubiquitin)控制下的拟南芥和多年生黑麦草开花负调控基因*TFIL*和*LpTFIL*分别转入2个二穗短柄草基因型BDR017(不需要春化处理也能够抽穗开花)和BDR018中过量表达的结果表明,转*LpTFIL*和*TFIL*的BDR017植株抽穗比非转基因植株分别延迟20和23 d,转*LpTFIL*的BDR018的植株抽穗则推迟67 d,说明源于其他植物中的开花负调控基因在二穗短柄草中也起作用。迄今,二穗短柄草的研究还在起步阶段,以之研究与穗分化和分蘖等有关的农艺性状的结果尚未见报道。

国际短柄草协会(International Brachypodium Initiative, IBI)正在构建二穗短柄草 Bd21 的遗传连锁图(<http://www.brachypodium.org>)。Luo等(2007)曾构建了2个二穗短柄草(BD21)的BAC文库,每个文库的覆盖度是基因组的10倍,BD-21指纹图谱的绘制也已初步完成,其中26 967个为*HindIII*酶解的BAC(bacterial artificial chromosome)以得到克隆,其指纹图谱(fingerprint)占75%;包括1 987个非重叠群(singletons)和705个重叠群(contigs),重叠群平均大小为0.47 Mbp (<http://www.brachypodium.org>)。人们试图将这些图谱与水稻、小麦和一些作物的基因组联系起来。加州大学先后构建了3个高覆盖度的二穗短柄草BAC文库,总覆盖度为基因组的19.3倍,包含73 728个克隆,平均插入片段为100~105 kb,获得的约6万个BAC末端序列(BAC end sequences, BES)中有约10%的BES与数据库中已知的DNA重复序列具有同源性,约有40%的BES与EST库中的序列有关,尤其是与小麦和玉米的EST有关(Huo等2006, 2008; Vogel等2006b)。二穗短柄草的基因组序列草图已

经完成,全部序列的注释有望在2008年完成(<http://www.brachypodium.org/node/8>) (Bevan等2007)。

4 结语

二穗短柄草不但生长周期短、基因组小、繁殖力强、要求的生长条件简单、容易转化,而且具有拟南芥和水稻所不具备的生物学特性。二穗短柄草有3~4周就能完成整个生长周期的品种,有需春化(如Bd21)和不需春化的品种;二穗短柄草个体虽小,但籽粒较大,适合于研究籽粒的灌浆和成熟过程;二穗短柄草中有些品种的种子有休眠现象(如Bd21),可用于研究禾本科植物的相关问题;二穗短柄草对多种农作物病原菌敏感(如白粉病、大麦和小麦的叶锈病和条锈病、水稻的稻瘟病等),是研究农作物抗病机制的良好材料;二穗短柄草的细胞壁结构和组成与黍属植物(*Panicum virgatum*)和荻属植物巨芒(*Miscanthus giganteus*)等能源植物很相似,可用于研究这些能源植物特性的分子机制和品质改良(Draper等2001; Vogel等2006a; Olsen等2006)。二穗短柄草全基因组功能注释将很快完成,这将更有利于解决拟南芥和水稻模式植物所不能解决的禾本科植物中的一些问题。总之,作为一种新型的禾本科模式植物的二穗短柄草,将在研究与农业生产关系密切的禾本科植物各种生物学问题方面发挥作用。

参考文献

- 王宏归, 王保莉, 林辰涛, 傅永福(2007). 二穗短柄草 Bd21 的形态学观察. 西北农业学报, 16 (6): 296~300
- Allwood JW, Ellis DI, Heald JK, Goodacre R, Mur LAJ (2006). Metabolomic approaches reveal that phosphatidic and phosphatidyl glycerol phospholipids are major discriminatory non-polar metabolites in responses by *Brachypodium distachyon* to challenge by *Magnaporthe grisea*. Plant J, 46 (3): 351~368
- Bablak P, Draper J, Davey MR, Lynch PT (1995). Plant regeneration and micropropagation of *Brachypodium distachyon*. Plant Cell Tiss Org Cult, 42 (1): 97~107
- Bossolini E, Wicker T, Knobel PA, Keller B (2007). Comparison of orthologous loci from small grass genomes *Brachypodium* and rice: implications for wheat genomics and grass genome annotation. Plant J, 49 (4): 704~717
- Bennett MD, Leitch IJ (2004). Plant DNA C-values database (release 3.0, Dec. 2004). <http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>
- Bevan M, McKenzie N, Trick M, Snape J, Mockler T, Vogel J, Garvin D (2007). Developing a genetic map of *Brachypodium distachyon* Bd21. In: Plant & Animal Genomes XV Confer-

- ence (ed). San Diego, CA: Town & Country Convention Center
- Caetano-Anolles G (2005). Evolution of genome size in the grasses. *Crop Sci*, 45: 1809~1816
- Catalan P, Olmstead RG (2000). Phylogenetic reconstruction of the genus *Brachypodium* P. Beauv. (Poaceae) from combined sequences of chloroplast *ndhF* gene and nuclear ITS. *Plant System Evolution*, 220 (1~2): 1~19
- Catalan P, Shi Y, Armstrong L, Draper J, Stace CA (1995). Molecular phylogeny of the grass genus *Brachypodium* P. Beauv. based on RFLP and RAPD analysis. *Bot J Lin Soc*, 117 (4): 263~280
- Christiansen P, Andersen CH, Didion T, Folling M, Nielsen KK (2005). A rapid and efficient transformation protocol for the grass *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell*, 23 (10~11): 751~758
- Draper J, Mur LAJ, Jenkins G, Ghosh-Biswas GC, Bablak P, Hasterok R, Routledge A (2001). *Brachypodium distachyon*. A new model system for functional genomics in grasses. *Plant Physiol*, 127 (4): 1539~1555
- Engvild KC (2005). Mutagenesis of the model grass *Brachypodium distachyon* with sodium azide. Risoe-R-1510(EN) Report. Denmark: Risoe National Laboratory
- Footo TN, Griffiths S, Allouis S, Moore (2004). Construction and analysis of a BAC library in the grass *Brachypodium sylvaticum*: its use as a tool to bridge the gap between rice and wheat in elucidating gene content. *Funct Integr Genomics*, 4 (1): 26~33
- Huo N, Gu Y, Lazo G, Vogel J P, Coleman-Derr D, Luo MC, Thilmony R, Garvin D, Anderson O (2006). Construction and characterization of two BAC libraries from *Brachypodium distachyon*, a new model for grass genomics. *Genome*, 49: 1099~1108
- Huo N, Lazo G, Vogel JP, You F, Ma Y, Hayden D, Coleman-Derr D, Hill T, Dvorak J, Anderson O (2008). The nuclear genome of *Brachypodium distachyon*: analysis of BAC end sequences. *Funct Integr Genomics*, 8: 135~147
- Keller B, Feuillet C (2000). Colinearity and gene density in grass genomes. *Trends Plant Sci*, 5 (6): 246~251
- Kellogg EA (2001). Evolutionary history of the grasses. *Plant Physiol*, 125 (3): 1198~1205
- Khan MA, Stace CA (1999). Breeding relationships in the genus *Brachypodium* (Poaceae: Pooideae). *Nord J Bot*, 19 (3): 257~269
- Luo MC, Ma Y, Huo N, Vogel JP, Lazo GR, Hill T, Coleman-Derr D, Hayden D, Dvorak J, Anderson O (2007). Construction of physical map for *Brachypodium distachyon*. In: *Plant & Animal Genomes XV Conference* (ed). San Diego, CA: Town & Country Convention Center
- Olsen P, Lenk I, Jensen CS (2006). Analysis of two heterologous flowering genes in *Brachypodium distachyon* demonstrates its potential as a grass model plant. *Plant Sci*, 170 (5): 1020~1025
- Opanowicz M, Vain P, Draper J, Parker D, Doonan JH (2008). *Brachypodium distachyon*: making hay with a wild grass. *Trends Plant Sci*, 13 (4): 172~177
- Pacurar DI, Thordal-Christensen H, Nielsen KK, Lenk I (2007). A high-throughput *Agrobacterium*-mediated transformation system for the grass model species *Brachypodium distachyon* L. *Transgenic Res*, online first. doi: 10.1007/s11248-007-9159-y
- Shi Y, Draper J, Stace C (1993). Ribosomal DNA variation and its phylogenetic implication in the genus *Bachypodium* (Poaceae). *Plant System Evol*, 188: 125~138
- Vain P, Worland B, Thole V, McKenzie N, Alves SC, Opanowicz M, Fish LJ, Bevan MW, Snape JW (2008). *Agrobacterium*-mediated transformation of the temperate grass *Brachypodium distachyon* (genotype Bd21) for T-DNA insertional mutagenesis. *Plant Biotechnol J*, 6: 236~245
- Vogel JP, Garvin DF, Leong OM, Hayden DM (2006a). *Agrobacterium*-mediated transformation and inbred line development in the model grass *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 84 (2): 199~211
- Vogel JP, Gu YQ, Twigg P, Lazo GR, Chingcuanco DL, Hayden DM, Donze TJ, Vivian LA, Stamova B, Derr DC (2006b). EST sequencing and phylogenetic analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Theor Appl Genet*, 13: 186~195