

## 研究报告

### A Letter

## 百脉根‘Miyakojima’ MG-20: 一个适合于室内试验的早花品系

翻译: 罗汝叶; 校译: 吴神怡; 译校者单位: 海南省农作物分子育种重点实验室

本文首次发表在 J. Plant Res. 开放取阅期刊上。本文是依据《Creative Commons Attribution License》协议, 该研究内容首次用英文在 Journal of Plant Research 上发表。翻译者用中文翻译并再次传播, 如果读者对中文含义有歧义的话, 请以英文原文为准。如果任何人要引用本研究内容, 我们建议您用以下格式引用:

Kawaguchi M., 2000, *Lotus japonicus* ‘Miyakojima’ MG-20: An early-flowering accession suitable for indoor handling, J. Plant Res., 113: 507-509

豆科基因组学与遗传学, 2011年, 第2卷, 第4篇 DOI: 10.5376/lgg.cn.2011.02.0004

收稿日期: 2011年04月12日

接受日期: 2010年06月09日

发表日期: 2010年06月13日

## *Lotus japonicus* ‘Miyakojima’ MG-20: An Early-Flowering Accession Suitable for Indoor Handling

Masayoshi Kawaguchi

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo, 153-8902 Japan; PRESTO, Japan Science and Technology Corporation

This paper was first published in Journal of Plant Research, which redistributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#).

**摘要** 作为一种长日照植物, 百脉根(*Lotus japonicus* (Regel) Larsen)需要足够强的光照来持续花期, 所以该植物的遗传分析通常在配备了额外光源的温室内进行。为了能像拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)那样在室内进行遗传学分析, 我们一直在日本寻找适合于室内操作的百脉根早花品系。最终, 我们在日本群岛最南端的宫古岛上收集了一株具有此特征的野生植物作为早花品系并将其命名为 Miyakojima MG-20。在防虫生物人工气候室内对该植株进行7次自花授粉杂交后建立了 Miyakojima MG-20-S7 种质。然后利用该品系进行相关的大规模表达序列标签分析、离子束诱变和高分辨率绘图等基础性的工作。

**关键词** 早花植物; 种质资源; 百脉根; ‘Miyakojima’ MG-20

### 研究背景

自从百脉根被作为分子遗传学研究的模式植物以来(Handberg and Stougaard, 1992), ‘Gifu’ B-129品系就在全球被广泛使用。该品系最初是由Kyoto大学的Isawo Hirayosh教授在日本本州岛中部Gifu市的一河边采集到的。由于百脉根需要高强度的光照(如 $246 \mu\text{Esec}^{-1}\text{m}^{-2}$ )以保持花期, 所以该品系的突变体筛选和遗传分析主要在安装了额外光源设备的温室内进行。如果获得1株早花且适合室内操作的品系, 就可以更加有效地开展百脉根分析的系统工作。同时, 如果在百脉根植株长成丛生状之前就已经开花, 将为遗传分析节省出宝贵的空间。为了实现和拟南芥一样的室内遗传学分析, 我们开始在日本全境寻找花期最早的百脉根。

### 寻找花期最早的百脉根

百脉根生长于亚洲的温带, 从日本到巴基斯坦都有分布(Grant and Small, 1996)。在日本, 冲绳岛和北海道分别为其分布的南北界限。我们在这两地之间

采集了部分种子, 其余的一些种子是相关研究人员以礼物的形式赠送给我们的。我们将这些种子播种于生物人工气候室LH-300 (Nippon Medical and Chemical Instruments, Japan)内的肥沃土壤(Kanto Hiryo Kogyo, Japan)里。植物生长的条件为: 昼/夜周期为18 h/6 h, 光照强度为 $150 \mu\text{Esec}^{-1}\text{m}^{-2}$ , 温度为 $25^\circ\text{C}$ , 湿度为70%~90%。结果发现, 生长于岐阜( $35^\circ24'\text{N}$ )以北地区(如Tohoku地区的Tono ( $39^\circ19'\text{N}$ )和Towa ( $39^\circ18'\text{N}$ ))的百脉根植株表现出较晚的花期, 北海道地区的Taiki ( $42^\circ30'\text{N}$ )、以及Tohoku地区的Aomori ( $40^\circ48'\text{N}$ )和Oga ( $39^\circ54'\text{N}$ )等地的植株在相同条件下甚至并未开花。相反, 在岐阜南部(如Shikoku的Ashizuri地区( $32^\circ42'\text{N}$ )和九州的Kaseda地区( $31^\circ24'\text{N}$ )), 花期都要比岐阜地区早。基于百脉根在不同地区的开花期数据, 我们推测其最早的开花植株位于生长界限内的最南端。从冲绳岛的宫古群岛采集的植株印证了此推测(图1)。在百脉根的所有品系中siblings开花最早。植株的采集地点位于岛

上Gusukube地区的Cape Agari-henna (24°43'N)的一片草地上。图1为1998年1月拍摄的该植物照片。虽然百脉根是一种长日照植物, 但该品系的植株在短日照条件下(白昼约11 h)也能结出大量的花和荚果, 这是该品系植株的主要特征。这个品系被命名为‘Miyakojima’ MG-20。

### 纬度与花期早晚的关系

使用在生物人工气候室里培养时能开花的9个良好品系(‘Tono’, ‘Totsuka’, ‘Ninomiya’, ‘Arasaki’, ‘Gifu’, ‘Kameoka’, ‘Ashizuri’, ‘Kaseda’和‘Miyakojima’), 在上面所描述的条件, 我们评估了纬度与开花时间(4棵植株第1次开花的平均时间)的关系(图2)。发现开花时间与纬度密切相关( $p < 0.001$ ), 这之前所评估的百脉根的各个品系的开花时间相吻合(Suginobu et al., 1988)。百脉根是一种多年生植物, 生长在纬度较高地区的植株理应在达到一定温度时才会开花。百脉根的‘Miyakojima’品系中, 一些晚花基因可能会发生突变。‘Gifu’和‘Miyakojim’的杂交F<sub>1</sub>代植株的实际开花时间与‘Gifu’植株相似, 表明了‘Miyakojima’植株的早花是一个隐性性状。要鉴定引起花期自然变异的位点, 需要在百脉根的品系中做数量性状位点(QTL)分析。

在日光灯照射下‘Miyakojima’植株能够顺利地开花结荚。如图2所示, ‘Miyakojima’植株在150  $\mu\text{Esec}^{-1}\text{m}^{-2}$ 的光照强度下, 第1次开花的平均时间是35 d。在相同条件下, ‘Miyakojima’植株的换代时间(从



图1 Miyakojima岛上Cape Agari-henna一田间生长的百脉根  
注: 图片于1998年1月25日拍摄  
Figure 1 *Lotus japonicus* growing in a field at Cape Agari-henna on Miyakojima island  
Note: Photograph taken on January 25, 1998

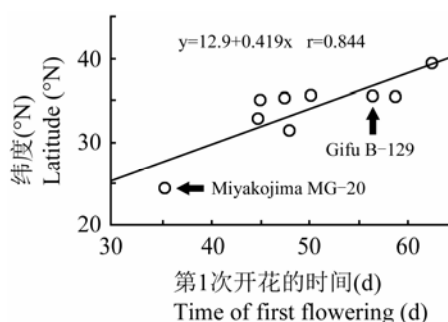


图2不同品系所处地区(纬度)与花期(从播种到4棵植株第1次开花的平均时间)早晚间的关系

注: 该图标示了来自于日本15个百脉根品系中的9个品系(‘Tono’, ‘Tatsuka’, ‘Ninomiya’, ‘Arasaki’, ‘Gifu’, ‘Kameoka’, ‘Ashizuri’, ‘Kaseda’和‘Miyakojima’) 在生物人工气候室中开花时间的数据; 数据与方程式相符,  $r$ 为相关系数; 箭头表示地区和‘Miyakojima’ MG-20和‘Gifu’ B-129的第1次开花

Figure 2 Relationship between the locality of the accessions (north latitude) and flowering time (average days from sowing to first flowering in 4 plants)

Note: Among 15 Japanese accessions of *Lotus japonicus*, data from the 9 accessions (‘Tono’, ‘Tatsuka’, ‘Ninomiya’, ‘Arasaki’, ‘Gifu’, ‘Kameoka’, ‘Ashizuri’, ‘Kaseda’ and ‘Miyakojima’) that flowered in a biotron were plotted; The data fit the indicated equation where  $r$  is the correlation coefficient; Arrows indicate location and first flowering of ‘Miyakojima’ MG-20 and ‘Gifu’ B-129

种子到种子)是 58 d。即使在较弱的光照强度(57  $\mu\text{Esec}^{-1}\text{m}^{-2}$ )下, 植株也能在育种 52 d 后第 1 次开花, 3 个月后结出荚果。种子采集 10 d 后即可播种。以上特征表明‘Miyakojima’ MG-20 适合于室内试验。

### ‘Miyakojima’ MG-20 的其它特征

除了开花时间缩短了之外, ‘Miyakojima’ MG-20 植株和‘Gifu’植株还存在着表型上的不同。与‘Gifu’植株相比, ‘Miyakojima’的茎秆呈绿色, 萼筒周围和茎秆上都附着有少量的茸毛; 种子更黑更大; 小叶和子叶更宽阔, 茎秆也更厚实; 胚轴和花梗更长。以上表型性状中, 茎秆颜色和茸毛的数量由单一的基因控制(Kawaguchi et al., 数据未发表)。根据 Imaizumi-Anraku 等(1997)的方法来计算根瘤形成的效率。根瘤通过百脉根根瘤菌(如 MAFF 30-3099 和 TONO)感染进行有效的发育。‘Miyakojima’植株的结瘤数略低于‘Gifu’植株(数据未发表)。

### 百脉根种质‘Miyakojima’ MG-20-S7

为了规范遗传背景, 我们根据 Stougaard 和 Beuse-

linck (1996)的方法建立了 Miyakojima' MG-20 的自交系, 到 S3 代, 4 棵植株获得了最大量的种子。从 S4 代到 S7 代, 我们进行单粒传法; 接着在防虫生物人工气候室里进行植株的自花授粉; 最终, 我们建立了'Miyakojima' MG-20-S7 种质。1999 年 8 月, 我们获得了可供试验用的早花种子。

### 'Miyakojima' MG-20 的发展现状

最近, 已经有人利用'Miyakojima' MG-20 进行百脉根基因组学和遗传学方面的基础研究。位于 Chiba 的 Kazusa DNA 研究所的工作人员对百脉根两周龄幼苗和荚果进行了大规模 EST 分析(Asamizu et al., 2000a, b), 并构建了 1 个插入片段平均大小约为 100 kb 的 TAC 文库。用'Miyakojima' MG-20 进行农杆菌介导的离子束诱变和转化是可行的(数据未发表)。扩增片段长度多态性(AFLP)分析表明, 在日本的这些品系中, 'Miyakojima'与'Gifu'植株特征差异最明显(Kawaguchi et al., 数据未发表)。根据以上数据, 利用'Gifu'×'Miyakojima 杂交得到的 F<sub>2</sub> 代群体的高密度图谱正在绘制中。基于这些基础工作以及'Miyakojima' MG-20 品系良好的可操作性, 我们认为'Miyakojima' MG-20-S7 将促进百脉根分子遗传学的发展。

### 参考文献

- Asamizu E., Nakamura Y., Sato S., and Tabata S., 2000a, Generation of 7137 non-redundant expressed sequence tags from a legume, *Lotus japonicus*, DNA Res., 7: 127-130 doi:10.1093/dnares/7.2.127\_PMid:10819328
- Asamizu E., Watanabe M., and Tabata S., 2000b, Large scale structural analysis of cDNA in the model legume, *Lotus japonicus*, J. Plant Res., 113: 451-455 doi:10.1007/PL00013955
- Grant W.F., and Small E., 1996, The origin of the *Lotus corniculatus* (Fabaceae) complex: A synthesis of diverse evidence, Canad. J. Bot., 74: 975-989 doi:10.1139/b96-122
- Handberg K. and Stougaard J., 1992, *Lotus japonicus*, diploid legume species for classical and molecular genetics, Plant J., 2: 487-496 doi:10.1111/j.1365-313X.1992.00487.x
- Imaizumi-Anraku H., Kawaguchi M., Koiwa H., Akao S., and Syono K., 1997, Two ineffective-nodulating mutants of *Lotus japonicus*. Different phenotypes caused by the blockage of endocytotic bacterial release and nodule maturation, Plant Cell Physiol., 38: 871-881

- Kawasaki S., and Murakami Y., 2000, Genome analysis of *Lotus japonicus*, J. Plant Res., 113: 497-506 doi:10.1007/PL00013960
- Sougaard J., and Beuselinck P.R. 1996, Registration of GIFU B-129-S9 *Lotus japonicus* germplasm, Crop Sci., 36: 476 doi:10.2135/cropsci1996.0011183X003600020059x
- Suginobu K., Suzuki S., and Komatsu T., 1988, Evaluation of the characteristics in miyakogusa (*Lotus corniculatus* L. var. *japonicus* Regel) 3. Characteristics of local strains collected from different regions in Japan. J. Jap. SOC. Grassland Sci., 34: 1-6 (in Japanese)



BioPublisher是一个致力于发表生物科学研究论文、开放取阅的出版平台

在BioPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://chinese.sophiapublisher.com>