

根癌农杆菌转化棉花花粉的研究

李 晓, 王学德*

(浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310029)

摘要:用根癌农杆菌感染棉花花粉获得的含有外源基因的花粉可与卵细胞自然结合,产生的转化细胞体不存在转化细胞与非转化细胞间的嵌合现象等问题,且转化方法简单,易操作。由于这种感染发生在花粉培养液中,为保证感染过程中花粉不破裂并具有生活力,以及使农杆菌有较高的感染力,必须有适宜的培养液,包括适宜的营养元素和渗透压。研究表明,在含有 0.1% H_3BO_3 、0.3% $Ca(NO_3)_2$ 、0.2% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.1% KNO_3 以及 45%蔗糖的培养液中培养的花粉,能够保证有 95% 以上的花粉不破损且有生活力,且其萌发率平均可达 58.5%。转化后的花粉经瞬时 GUS 检测和转化后花粉破损率表明,在附加有 1% 体积比的 Tween-20 的含有农杆菌的花粉培养液中进行抽真空处理的方法是较有效的转化方法。所获得的种子萌发后经卡那霉素筛选、GUS 稳定表达检测以及 Northern 杂交验证,获得 4 棵转基因植株。

关键词:真空渗透;棉花;花粉;生活力

中图分类号:S562.35.3 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2004)06-0323-05