

茄子高效遗传转化体系的研究

刘芳, 张俊红, 王涛涛, 李汉霞, 叶志彪*

(华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070)

茄子是一种重要的蔬菜, 营养价值丰富, 也可用作药物, 在全世界广泛栽培, 利用基因工程创造抗逆、优质的茄子新种质具有重要意义。目前茄子的转化效率明显偏低, 普遍低于同科同属的番茄以及十字花科植物; 另外, 有效的茄子遗传转化平台也是鉴定茄子重要功能基因的基础。因此, 发展和完善茄子高效、稳定的遗传转化体系具有重要意义。

试材为茄子品种‘丝竹茄’, 农杆菌菌株 GV3101, 包含 DR5::GUS 区域的植物遗传转化载体等。取茄子种子用蒸馏水浸泡 30 min, 75% 酒精消毒 30 s, 50% 84 消毒液消毒 10 min, 无菌水冲洗 3 次以上, 接种于 1/2MS 固体培养基中, 光下培养 8~9 d。将无菌苗取出, 将下胚轴去除, 子叶切成 1~2 cm 的叶块, 在预培养基上培养 1 d, 农杆菌在 MS₀ 中侵染 4 min, 然后转移到筛选培养基上, 继代两次, 约 30 d 后将伸长的茄子苗转移到生根培养基上, 20 d 后, 当根长到 5 cm 左右, 将其移植到蛭石上, 炼苗半个月, 即可以移栽到温室。

试验结果表明, 茄子木质化程度比较高, 组织培养较为困难。本试验中主要通过调节不同激素及其不同浓度配比来寻找茄子的高效遗传转化体系, 用以上方法, 茄子子叶外植体在 MS + Zt 0.2 mg·L⁻¹ 的培养基中的再生频率达到 80% 以上, 显著高于采用 6-BA 和 IAA 的培养基。卡那霉素(Kan)及头孢霉素(Cef)浓度的筛选实验表明, 浓度为 300 mg·L⁻¹ 的 Cef 为可有效地抑制农杆菌的生长, 而浓度为 150 mg·L⁻¹ 的 Kan 卡那霉素具有很好的筛选效果。由此, 确定茄子的筛选培养基为 MS + Zt 2 mg·L⁻¹ + Kan 150 mg·L⁻¹ + Cef 300 mg·L⁻¹。在生根的过程中, 通过对 IAA 浓度的调节确定生根培养基为 MS + IAA 0.2 mg·L⁻¹ + Kan 150 mg·L⁻¹ + Cef 300 mg·L⁻¹。

通过农杆菌介导的方法得到 30 株 PCR 阳性转基因茄子植株, GUS 染色结果显示 DR5 启动子能在转基因茄子植株的幼嫩叶片中表达, 表明转入基因已经整合到植物基因组中, 并能稳定表达。

关键词: 茄子; 遗传转化; GUS 染色

中图分类号: S 641.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2556-01

收稿日期: 2011-09-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30800755); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2009AA10Z104)

* 通信作者 (E-mail: zbye@mail.hzau.edu.cn; Tel: 027-87286867)