

甜瓜高效遗传转化体系的研究

刘丽锋^{1,2}, 张俊红¹, 古勤生², 李汉霞¹, 叶志彪^{1,*}

(¹ 华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070; ² 中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

目前转基因技术手段已经成功运用于模式植物, 在甜瓜上虽然也有报道, 但转化体系仍不成熟, 转化效率低。本研究中主要利用含 *GUS* 报告基因的植物表达载体进行甜瓜遗传转化技术体系的探讨, 针对基本培养基、子叶切割方式、侵染时间、共培养时间、移栽方法等进行研究, 以建立高效、稳定的甜瓜遗传转化体系, 为利用转基因技术改良甜瓜品质和抗性提供参考。

材料为甜瓜常规品种‘白玉堂’, 由郑州市蔬菜研究所提供; 农杆菌菌株 GV3101 等由本实验室保存。将甜瓜种子去皮, 75% 酒精消毒 1 min, 0.1% HgCl_2 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 3 ~ 4 d。将子叶取出, 一分为二, 切下距离下胚轴 1 ~ 2 mm 处的子叶块, 在 $\text{MS} + \text{BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上预培养 3 d, 与农杆菌在 MS_0 中侵染 15 min, 然后转移到 $\text{MS} + \text{BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Kan } 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Cef } 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 筛选培养基上, 继代两次, 约 30 d 后, 转移到伸长培养基 $\text{MS} + \text{BA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Kan } 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Cef } 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 15 d 后, 将伸长的甜瓜苗转移到生根培养基 1/2MS + IBA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上, 当根长到 1 cm 左右, 将其移植到蛭石上, 炼苗半个月, 即可以移栽到温室。

由于甜瓜组培苗容易发生黄化及玻璃化, 难以长时间继代繁殖, 通过改良 MS 培养基中的铁盐以及微量元素, 解决了黄化问题; 将组培室的培养架进行适当改装, 组培瓶壁上水汽消除, 有效地缓解了玻璃化问题; 用以上方法切割的子叶块, 不定芽诱导率达到 90% 以上; 通过对以上几个方面的改良, 转化效率能达到 2%; 利用 PCR 和 *GUS* 检测表明, *GUS* 报告基因已经整合进入甜瓜基因组中, 并能稳定表达。

关键词: 甜瓜; 遗传转化; *GUS* 染色

中图分类号: S 652

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2612-01

收稿日期: 2011-09-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30800755, 30871712); 国家‘863’计划项目 (2009AA10Z104)

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