

标记基因 *npt* 在转基因苹果嫁接砧穗间无相互传导

周瑞金 杜国强* 师校欣

(河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001)

摘要: 以携带外源新霉素磷酸转移酶基因 (*npt* 基因) 苹果品种嘎拉、未进行基因转化的普通型嘎拉和苹果砧木 M_{26} 组培苗为试材, 通过试管微嫁接方法, 对其体内所含外源 *npt* 基因在砧穗中的传导性进行了研究。结果表明, 外源 *npt* 基因只在转化植株体内表达, 不通过嫁接在接穗和砧木间进行传导。

关键词: 苹果; 转基因; 微嫁接; 传导

中图分类号: S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 06-1329-02

Non-conducting of Report Gene in Transgenic Apple by Micro-grafting in Vitro

Zhou Ruijin, Du Guoqiang*, and Shi Xiaoxin

(College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: The conducting effect of the report gene (Neomycin phosphotransferase, *npt*) between the rootstocks and scions was studied by using micro-grafting of the transgenic lines of *Malus domestica* 'Gala', wild type Gala, and apple rootstock of M_{26} in vitro. The results showed that the exogenous *npt* gene was only expressed in transgenic explants and it did not conduct between the scions and rootstocks by micro-grafting.

Key words: Apple; Transgenic; Micro-grafting; Conduction

1 目的、材料与方法

标记基因用于帮助在植物遗传转化中筛选和鉴定转化的植株, 其中使用最多的是抗生素抗性标记基因^[1], 如新霉素磷酸转移酶基因 (*npt*)。虽然标记基因仅在植物筛选的早期阶段发挥作用, 但会存留在成熟的转基因植物中。由于抗生素抗性基因编码产生的蛋白质可以改变抗生素的分子结构, 致使抗生素失效^[2], 因此, 公众担心食用此类转基因植物会产生抗生素抗药性, 这在很大程度上制约了带有抗生素标记基因的转基因产品的推广运用。

本试验旨在通过试管微嫁接, 获得苹果转基因嫁接苗, 探讨外源 *npt* 基因在砧穗间的基因传导性, 从而为在生产上应用和推广以 *npt* 为标记基因的转基因果树砧木提供参考。

以继代培养 30 ~ 35 d 的苹果品种嘎拉、携带外源 *npt* 基因的嘎拉和砧木 M_{26} 的组培苗为试材。培养基选用 MS + BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。无菌条件下采用劈接法进行微嫁接^[3], 接口用铝箔固定。

处理 1 以长约 2 cm 的转基因组培苗茎段为砧木, 嫁接同样长度带有顶芽的嘎拉茎段; 处理 2 以长约 2 cm 左右的 M_{26} 茎段为砧木, 以同样长度带有顶芽的转基因嘎拉茎段为接穗进行嫁接。将嫁接成活的株系转至含 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡那霉素的继代培养基上, 每处理 6 棵, 重复 5 次。分别于转入 15 和 30 d 后观察统计砧木或接穗叶片白化情况。

收稿日期: 2006 - 08 - 01; 修回日期: 2006 - 11 - 21

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (C2004000368)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: gdu@hebau.edu.cn)

2 结果分析与讨论

2.1 转基因砧木对接穗的影响

将以转基因嘎拉组培苗为砧木、普通嘎拉组培苗为接穗嫁接成活的株系转入含有 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡那霉素的继代培养基 ($\text{MS} + \text{BA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 中进行卡那霉素抗性鉴定。经过连续 3 代的筛选, 接穗嘎拉全部表现黄化或白化, 而砧木转基因嘎拉萌蘖生长正常, 未出现白化现象 (图版, 1)。说明外源 *npt* 基因只在砧木中正常表达, 未通过嫁接而影响接穗。

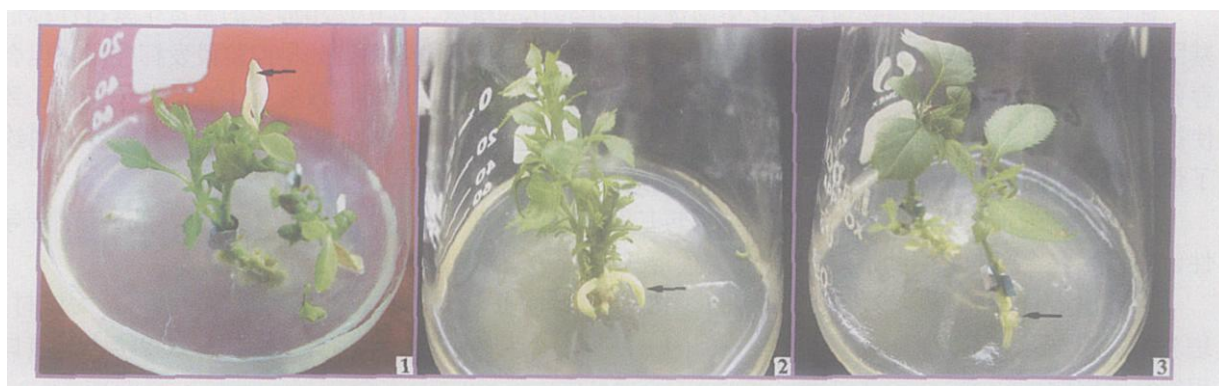
2.2 转基因接穗对砧木的影响

以 M_{26} 为砧木嫁接转基因嘎拉, 将嫁接成活的株系转入含有 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡那霉素的继代培养基中进行卡那霉素抗性鉴定。转入 15 d 后, 砧木 M_{26} 上的幼叶首先出现白化, 表现对卡那霉素不具有抗性, 而接穗转基因嘎拉未受影响, 仍可正常生长 (图版, 2); 转入 30 d 后, 砧木茎段亦表现白化 (图版, 3)。在连续两代筛选后, 植物死亡。说明外源 *npt* 基因只在接穗中表达, 并未通过嫁接而对砧木产生基因效应。

本试验通过对标记基因 *npt* 在嫁接植株中的基因传导性研究认为, 抗生素标记基因在砧穗间无相互的基因传导影响, 其在砧木中应用对于果实的食用是安全可行的。

参考文献:

- 1 贾士荣. 转基因植物食品中标记基因的安全性评价. 中国农业科学, 1997, 30 (2): 1~15
Jia S R. Safety evaluation of marker genes in transgenic food plants. Scientia Agricultura Sinica, 1997, 30 (2): 1~15 (in Chinese)
- 2 杨丽琛, 杨晓光. 转基因食品中标记基因的生物安全性研究进展及对策. 卫生研究, 2003, 32 (3): 239~245
Yang L C, Yang X G. Progress on biosafety assessment of marker genes in genetically modified foods. Journal of Hygiene Research, 2003, 32 (3): 239~245 (in Chinese)
- 3 程玉琴, 韩振海, 许雪峰, 王文晔. 试管微嫁接早期鉴定小金海棠与苹果品种的亲和性. 农业生物技术学报, 2003, 11 (5): 472~476
Cheng Y Q, Han Z H, Xu X F, Wang W J. Early testing of grafting compatibilities between *Malus xiaojinensis* and two apple cultivars by micrografting in vitro. Journal of Agricultural Biotechnology, 2003, 11 (5): 472~476 (in Chinese)



图版说明: 1. 砧木正常, 接穗白化; 2. 砧木上幼叶白化, 接穗正常; 3. 砧木茎段白化。

Explanation of plates: 1. Stock was normal, and scion was etiolated; 2. Leaves from rootstock were etiolated, and scion was normal; 3. Stem of rootstock was etiolated