

# 卡那霉素浸种筛选转基因棉花的初步研究

## The kanamycin Immerses the Seed And Selects the Revolution

### Preliminary Research of Gene Cotton

转基因技术已经被广泛应用于作物的抗虫、抗病及高品质等的改良育种,而且转基因植株的鉴定方法也有多种,其中带有NPT II标记基因的转基因后代材料的大田筛选,主要是在苗期,利用卡那霉素溶液(Kanamycin)点涂植株幼叶,以幼叶的变黄与否来确定。为防止漏点漏涂,出现假阳性植株,须在花铃期以前对材料点涂2~3次,因此从大量的转基因材料中筛选转基因植株,工作量相当大。本研究的目的是试图筛选出适当的卡那霉素浓度,通过浸种以快速地鉴定出转基因植株。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

转基因抗虫棉新棉33B、非抗虫棉豫棉11号和转基因棉中间材料南40。

### 1.2 试验方法

将卡那霉素用附加0.2%吐温80的去离子水分别配成浓度为0, 2 500, 5 000, 7 500, 10 000 mg/L的卡那霉素溶液,冰箱保存。每处理每材料30粒种子,重复3次,试验前分别吸取不同浓度的卡那霉素溶液浸种8~10 h,6月7日播种,随机区组排列。

## 2 结果与分析

### 2.1 转基因材料对卡那霉素浸种的反应

转基因抗虫棉新棉33B,在浓度为0, 2 500, 5 000, 7 500 mg/L的卡那霉素溶液处理中,棉花能正常出苗、正常生长;在10 000 mg/L的卡那霉素处理中,棉花出苗受到了极大影响,出苗数明显减少,棉株生长受抑,所以高浓度的卡那霉素溶液对转基因棉花的生长发育有影响,卡那霉素筛选转基因后代的浓度不是越高越好。

### 2.2 非转基因材料对卡那霉素溶液浸种的反应

非转基因抗虫棉豫棉11号,在浓度为0, 2 500 mg/L卡那霉素处理中,棉花能正常出苗、正常生长;在5 000, 7 500 mg/L卡那霉素处理中,棉花出苗受到了极大影响,出苗数显著减少,棉株生长明显受抑,子叶变厚,叶色变深,生长几乎停滞或子叶出

现黄斑,影响了棉株的光合作用;在10 000 mg/L的卡那霉素溶液处理中,棉花的生长发育被完全抑制,不能出苗。因此在5 000~7 500 mg/L浓度范围内,非抗虫棉能够很容易地被筛出。

### 2.3 转基因中间材料对卡那霉素溶液浸种的反应

南40是冀棉20与转基因抗虫棉的杂交后代材料,该材料在0, 2 500 mg/L卡那霉素溶液处理中,能正常出苗、正常生长;在5 000, 7 500 mg/L处理中,抗虫植株能正常出苗、正常生长;非抗虫植株出苗受抑,生长缓慢,有的表现为子叶加厚叶色变深,生长几乎停滞,不出真叶,而有的则表现为叶绿素不能正常合成,子叶出现黄色斑块;在10 000 mg/L卡那霉素溶液处理中,抗虫植株生长发育受抑,非抗虫植株不出苗。说明5 000~7 500 mg/L卡那霉素浓度是筛选转基因后代较合适的浓度范围。

## 3 讨论

用5 000~7 500 mg/L浓度的卡那霉素溶液浸泡带有卡那霉素标记基因的转基因后代种子,能够快速剔除非转基因植株,从而筛选出转基因植株。这是因为种子在吸水过程中,生理活动增强,代谢加快,卡那霉素能够随着种子吸水进入种子,参与或阻碍了种子的代谢,致使子叶加厚,叶色变深或子叶出现黄色斑块,从而能筛选出转基因植株。子叶加厚叶色变深的植株,生长几乎停滞,植株无生机,象小老苗;而子叶变黄的植株,仍可继续生长,卡那对非转基因植株的这些作用机理以及对转基因植株生长发育影响的机理还有待于进一步研究,而且对转基因植株影响机理的研究更有意义。

高浓度的卡那霉素,不仅影响非转基因植株的生长发育,而且也影响转基因植株的生长发育,因此筛选转基因植株,特别是对珍贵材料的筛选必须在合适的卡那霉素浓度范围内,建议用5 000 mg/L的卡那霉素溶液浸种,通过子叶筛选后,再进行1~2次卡那那点涂幼叶筛选,这是筛选转基因植株的最佳方案。

崔淑芳, 李俊兰, 葛朝红, 张寒霜  
(河北省农林科学院棉花研究所)