

## 研究报告

### Research Report

## *rolC* 基因植物表达载体构建及其对野生蕉的转化

胡春华<sup>✉</sup>, 魏岳荣<sup>✉</sup>, 刘凯<sup>✉</sup>, 邵秀红<sup>✉</sup>, 黄永红<sup>✉</sup>, 易干军<sup>✉</sup>

广东省农业科学院果树研究所香蕉研究中心, 广州 510640

✉ 通讯作者及电子邮件: yiganjun@vip.163.com; ✉ 作者

分子植物育种, 2010 年, 第 8 卷, 第 11 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2010.08.0011

收稿日期: 2010 年 09 月 21 日

接受日期: 2010 年 10 月 27 日

发表日期: 2010 年 11 月 06 日

这是一篇开放获取的论文, 其论文发布和传播接受《Creative Commons Attribution License》所有条款。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许和同意第三方无条件的使用、传播以及任何媒介的复制或再制作。

建议最佳引用格式:

胡春华等, 2010, *rolC* 基因植物表达载体构建及其对野生蕉的转化, 分子植物育种 Vol.8 No.11 (doi: 10.5376/mpb.cn.2010.08.0011)

**摘要** 本研究利用 *Hind* III 和 *Eco*R I 从植物表达载体 pBI121 中将“35S-GUS-NOST”片段切下并克隆到植物表达载体 pCAMBIA1301 上, 构建成植物表达载体 pCB121。在此基础上, 根据 GenBank 公布的 *rolC* 序列设计引物, 采用 PCR 方法从 Ri 质粒中克隆获得 *rolC* 基因并将其插入到植物表达载体 pCB121 的 *Xba* I 和 *Sac* I 位点。利用根癌农杆菌介导, 将 *rolC* 基因转化野生蕉(*Musa itinerans* Cheesm.)胚性细胞悬浮系。通过 GUS 组织染色检测、PCR 和 RT-PCR 方法对再生苗鉴定, 结果表明 *rolC* 基因已经成功转入到野生蕉中并获得表达, 转 *rolC* 基因生根能力有所提高。试验结果为下一步将该基因转化香蕉其它栽培品种提供了技术参考。

**关键词** 野生蕉; *rolC* 基因; 植物表达载体构建; 遗传转化

## Construction of plant expression vector of *rolC* gene and its genetic transformation of wild Banana (*Musa itinerans* Cheesm.)

Hu Chunhua<sup>✉</sup>, Wei Yuerong<sup>✉</sup>, Liu Kai<sup>✉</sup>, Shao Xiuhong<sup>✉</sup>, Huang Yonghong<sup>✉</sup>, Yi Ganjun<sup>✉</sup>

Fruit Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou, 510640

✉ Corresponding author, yiganjun@vip.163.com; ✉ Authors

**Abstract** In this research, we excised the fragments containing “35S-GUS-NOST” from the plant expression vector pBI121 by using restriction endonucleases *Hind* III and *Eco*R I, and then directionally linked it to the plant expression vector pCAMBIA1301 in the same endonucleases digestion sites. Then we named the recombinated binary plasmids as pCB121. Using PCR approach, the *rolC* gene was cloned from Ri plasmid by a pair of primers designed according to the sequence of *rolC* gene released on the GenBank, and then it was inserted into the site between *Xba* I and *Sac* I of plasmid vector pCB121. The *rolC* gene was transformed into the embryogenic cell suspensions of the wild banana via *Agrobacterium*-mediated transformation. The results of selection and germination procedure, obtaining of regenerated plantlets, histochemical GUS assay, PCR and RT-PCR suggested that the *rolC* gene was successfully transferred into wild banana. The transgenic plantlets showed higher rooting ability than the non-transgenic plantlet, which indicated that the *rolC* gene was also expressed in the plantlets. The research would be lay a good foundation for the genetic transformation of *rolC* gene into a main cultivar of banana and select new germ plasms with dwarf plants and powerful root system.

**Keywords** Wild Banana(*Musa itinerans* Cheesm.), *rolC* gene, Construction of plant expression vector, Genetic transformation

## 研究背景

香蕉(*Musa* spp.)属大型草本果树, 是一种重要的热带水果和粮食作物。香蕉根系着生浅, 叶柄、

假茎无木质化, 叶大易折、果穗长重, 很易遭受强风、台风的危害。我国香蕉产区主要分布在沿海地

区, 台风频繁且又主要集中在香蕉迅速生长发育期, 风害威胁着我国的香蕉产业的发展。因此, 选育出矮秆抗风, 根系发达的香蕉新品系是香蕉的育种目标之一。由于大多数香蕉栽培品种不育性和多倍性, 难以通过常规育种方式进行种质改良, 基因工程技术为香蕉育种提供了新的途径。

诱根质粒(Root inducing plasmid, Ri)来源于发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*), 其中农杆菌型 Ri 质粒的 TL-DNA 上至少含有 4 个与毛根诱导有关的基因位点即 *rol* (root loci)A、B、C 和 D(White et al., 1985)。其中 *rolC* 基因是改良植物性状的重要基因, 在园艺植物品种改良中有很大的应用价值。该基因转化烟草(章镇等, 2001)、猕猴桃(Rugini et al., 1991)、苹果(丛郁等, 2006)、枳橙(胡春华等, 2006)中, 转基因植株均表现顶端优势减弱、分枝增多, 节间缩短, 树冠矮化紧凑, 同时, 转基因植株生根能力大大提高, 根系活力增强。

本试验拟将 Ri 质粒上决定植物毛根形成并影响植株形态的 *rolC* 基因进行克隆并将其转入到野生蕉胚性细胞悬浮系 (embryogenic cell suspensions, ECS) 中, 通过对转基因香蕉的分子鉴定和外源基因表达分析以及形态学等方面的观测, 探求 *rolC* 基因对野生蕉生物学特性的影响, 以期为下一阶段利用该基因转化香蕉栽培品种, 为筛选出矮化、根系发达的香蕉新种质提供技术参考。

## 1 结果与分析

### 1.1 植物表达载体 pCB121 的构建

将植物表达载体 pBI121 用 *Hind* III 和 *Eco*R I 双酶切回收后的小片段(35S-GUS-NOST)与经过相同双酶切的 pCAMBIA1301 大片段进行连接, 转化大肠杆菌感受态 DH5 $\alpha$ , 在附加 50 mg/L 卡那霉素的 LB 琼脂平板上长出了阳性菌落, 挑单菌落摇菌, 少量提取重组质粒并用 *Hind* III 和 *Eco*R I 双酶切, 可以切下约 3 kb 的与预期大小相符的片段(图 1), 表明植物表达载体 pBI121 上的双酶切小片段(35S-GUS-NOST)成功插入到 pCAMBIA1301 的预期位点。重组植物表达载体命名为 pCB121。

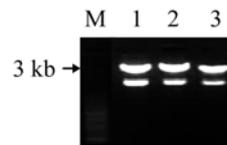


图 1 pCB121 质粒双酶切鉴定

注: 1-3: pCB121 质粒 *Hind* III 和 *Eco*R I 双酶切 M: 100 bp DNA Marker

Figure 1 Identification of recombinant plasmid pCB121 with digestion

Note: 1-3: pCB121 plasmid restricted by *Hind* III and *Eco*R I ; M: 100 bp DNA Marker

### 1.2 *rolC* 基因的克隆及植物表达载体构建

以 Ri 质粒为模板, 以 *rolC* 特异引物进行 PCR 扩增, PCR 扩增产物经电泳获得 1 条约 550 bp 的条带(图 2), 与预期大小一致。回收并将其克隆到 pGEM-T 载体中获得重组质粒 pGEM-*rolC*。测序结果表明, 获得了 *rolC* 基因包含起始密码子和终止密码子在内的完整的编码区, 序列与 GenBank 公布的 *rolC* 基因(GenBank accession No. X64255)序列完全一致。

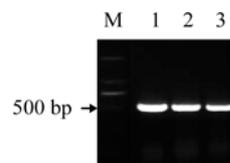


图 2 *rolC* 基因 PCR 扩增图

注: M: 100 bp DNA 分子量标记; 1~3: *rolC* 基因 PCR 产物

Figure 2 PCR amplification of the *rolC* gene

Note: M: 100 bp DNA marker; 1-3: PCR products of *rolC*

将 *rolC* 基因用 *Xba* I 和 *Sac* I 双酶切从 pGEM-*rolC* 质粒中切下, 与经过相同双酶切的植物表达载体 pCB121 连接, 转化大肠杆菌感受态 DH5 $\alpha$ , 挑阳性菌落摇菌提取质粒, 用 *Xba* I 和 *Sac* I 双酶切, 可以释放出 1 条约 550 bp 的条带(图 3), 结果表明, 该重组质粒即为所需阳性克隆, 并将其命名为 pCB121-*rolC*。

### 1.3 *rolC* 基因对野生蕉 ECS 的转化与再生芽生根

采用农杆菌介导法进行 *rolC* 基因转化野生蕉。野生蕉悬浮系与含 *rolC* 基因的农杆菌共培 4 d 后, 经过 GUS 基因检测即可检测到 GUS 基因的表达。

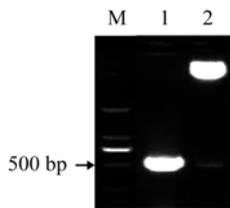


图 3 重组质粒 pCB121-*rolC* 双酶切鉴定  
 注: M: 100 bp DNA 分子量标记; 1: *rolC* PCR; 2: 质粒 pCB121-*rolC* *Xba* I 和 *Sac* I 双酶切  
 Figure 3 Identification of pCB121-*rolC* plasmid with digestion  
 Note: M: 100 bp DNA marker; 1: PCR products of *rolC* 2: pCB121-*rolC* plasmid restricted by *Xba* I and *Sac* I

将共培后的 ECS 转接到的液体筛选培养基(含有潮霉素 5 mg/L)进行抗性筛选, 每 10 d 继代 1 次, 经过 3 代筛选后的培养物用 GUS 组织染色。结果表明, 获得的潮霉素抗性悬浮系几乎均能染上蓝色(图 4-A), 即经过抗性筛选获得了野生蕉转 *rolC* 基因的胚性细胞悬浮系。将转化胚性细胞悬浮系转入到胚诱导培养基上, 诱导培养约 60 d 获得成熟体细胞胚(图 4-B)。体胚经萌发, 1 个月后获得了生长正常的再生芽。

取健壮的再生潮霉素抗性芽及对照芽转接到不含激素的 MS 基本培养基进行生根培养, 期间观测其生根情况。30 d 后将苗小心从瓶中取出, 彻底洗净根上培养基, 移栽至人工气候箱继续生长。

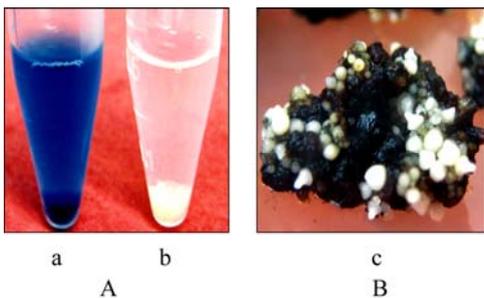


图 4 转 *rolC* 基因 ECS GUS 染色及抗性胚诱导  
 注: a: 液体筛选第 3 代的 ECS GUS 染色; b: 对照; c 成熟胚  
 Figure 4 Transient GUS expression of the ECS with *rolC* gene and induction of embryos  
 a: Transient GUS expression of third-generation sub-cultured ECS; b: Non-transformed ECS; c: Somatic embryos

#### 1.4 转 *rolC* 基因野生蕉 PCR 分子鉴定、GUS 和 *rolC* 基因表达分析

取再生转化苗的根部和叶片进行 GUS 基因表达分析, GUS 基因在转 *rolC* 基因再生苗的根和叶片部位均能检测到 GUS 基因的表达(图 5), 说明 GUS 基因已经整合到野生蕉的基因组中并能够成功表达。同时, 以具有 GUS 活性的转化野蕉总 DNA 为模板, 以未经转化的材料和质粒 pCB121-*rolC* 作为对照, 用 *rolC* 基因特异引物进行了 PCR 分子检测, 从 PCR 扩增产物电泳结果可知(图 6), 转化野蕉总 DNA 均可获得大小约为 550bp 的特异性条带, 而对照则无, 说明 *rolC* 基因已整合到野生蕉基因组中。

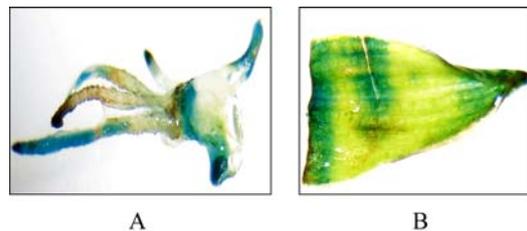


图 5 转 *rolC* 基因再生苗 GUS 染色  
 注: A 野生蕉根 GUS 染色; B: 野生蕉叶片 GUS 染色  
 Figure 5 Transient GUS expression of the wild banana with *rolC* gene  
 Note: A: Transient GUS expression in the root of the wild banana; B: Transient GUS expression in the leaf of the wild banana

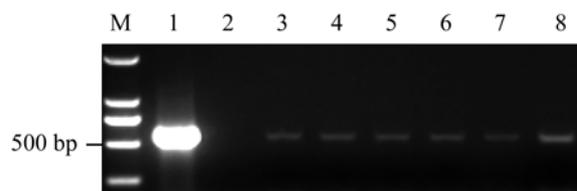


图 6 转 *rolC* 基因再生苗 PCR 检测  
 注: M: 100 bp DNA 分子量标记; 1: 阳性对照(pCB121-*rolC*); 2: 未转化植株对照; 3-8: 转基因植株  
 Figure 6 Detection of regenerated plants by PCR  
 Note: M: 100 bp DNA marker; 1: pCB121-*rolC* as positive control; 2: Non-transformed plant; 3-8: PCR product of transgenic clones

剪取 6 株 GUS 基因检测和 PCR 检测为阳性的转基因及 1 株对照野生蕉的新鲜叶片, 提取总 RNA, RT-PCR 检测 *rolC* 的表达情况, 发现 6 株 GUS 基因阳性植株均能获得 550 bp 的特异性条带(图 7), 与预期结果相符, 进一步证明外源基因 *rolC* 已经整合到野生蕉的基因组中, 并可以在转基因野生蕉中正常表达。

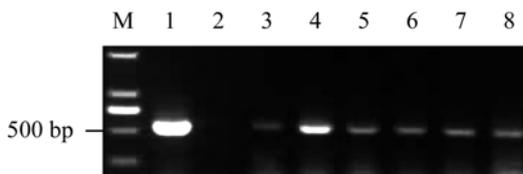


图 7 转 *rolC* 基因再生苗 RT-PCR 检测  
 注: M: 100 bp DNA 分子量标记; 1: 阳性对照(pCB121-*rolC*); 2: 未转化植株对照; 3-8: 转基因植株  
 Figure 7 RT-PCR analysis of the transgenic banana  
 Note: M: 100 bp DNA marker; 1: pCB121-*rolC* as positive control; 2: Non-transformed plant; 3-8 Transgenic wild banana clones

### 1.5 转 *rolC* 基因野生蕉根系与野生型植株根系的生根能力的比较

再生潮霉素抗性芽及对照芽转入到无激素生根培养基 7-10 d 左右, 即可见到有根产生, 转基因与对照根的出现时间差不多, 但是, 转 *rolC* 基因野生蕉在无激素的生根培养基中, 根生长非常迅速, 每株发根数在 6-8 条, 色白, 根长达到 12 cm 以上; 而对照野生蕉根系生长缓慢, 颜色由白变褐, 每株根数在 3-4 条左右, 最长根长不超过 5 cm (图 8)。该试验结果表明, 转 *rolC* 基因野生蕉在无激素培养

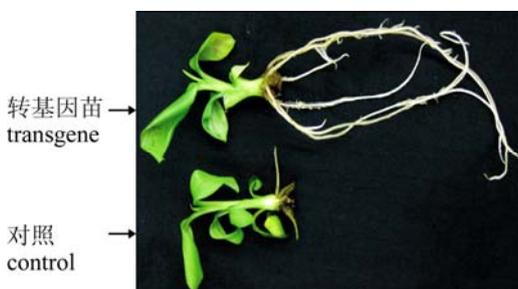


图 8 转 *rolC* 基因再生苗与对照根系比较  
 Figure 8 Root system of the *rolC* transgenic wild banana comparison with wild type

基上与对照相比, 具有较强的发根能力。30 d 将再生苗移栽至人工气候箱, 目前, 已有 20 株转 *rolC* 基因野生蕉移栽成活, 长势正常, 拟作进一步的形态学观测和分子检测。

## 2 讨论

成功的香蕉遗传转化体系依赖于高效的筛选体系, 已有的试验表明, 潮霉素最适合于用来做香蕉遗传转化的筛选抗生素(Sreeramanan et al., 2006), 本试验将植物表达载体 pBI121 用 *Hind* III 和 *Eco*R I 双酶切得到的小片段(35S-GUS-NOS<sub>t</sub>)插入到植物表达载体 pCAMBIA1301, 改造构建了植物表达载体 pCB121, 该载体不仅利用了原载体 pCAMBIA1301 的潮霉素抗性基因, 而且也利用了原载体 pBI121 的多克隆位点, 可以方便地插入目的基因。同时, pCB121 质粒含有两个 GUS 基因, 该报告基因能够利用方便的 GUS 组织染色法进行检测转化植物的效果。但是, 原 pCAMBIA1301 中的 GUS 基因含有两个 exon, 而原 pBI121 中 GUS 基因不含 exon, 由于后者能够在农杆菌中表达, 在对转基因材料 GUS 染色时, 会产生假阳性。因此, 在插入目的基因的时候, 一般把后者切去。本试验将 *rolC* 基因克隆到 pCB121 的 *Xba* I 和 *Sac* I 位点构建成植物表达载体 pCB121-*rolC*, 该载体具有潮霉素抗性基因和 GUS 基因, 可以非常方便的用来对香蕉的遗传转化。

本试验在前期建立的香蕉遗传转化体系的基础上(胡春华等, 2010a), 构建了 *rolC* 基因并将其转到了野生蕉中, 通过对转基因野生蕉的 GUS 基因表达检测和 *rolC* 基因表达检测, 证明 *rolC* 基因已经整合到野生蕉的基因中并能成功表达, 同时也证明 pCB121-*rolC* 载体构建的正确性。前人对 *rolC* 基因导致植株生根能力提高的作用, 在本试验的转基因野生蕉中也得到进一步的验证。下一步工作我们将继续对转 *rolC* 基因植株进行观测和评价, 为将 *rolC* 基因转化香蕉栽培品种, 筛选出矮化、根系发达的香蕉新种质提供参考。

## 3 材料与方法

### 3.1 供试材料与试剂

本实验中使用的植物表达载体 pBI121 和

pCAMBIA1301, 根癌农杆菌菌株 EHA105, 大肠杆菌菌株 DH5 $\alpha$  及 Ri 质粒等均为本实验室保存。植物材料野生蕉(*Musa itinerans* Cheesm.)胚性细胞悬浮系根据魏岳荣等(2006)利用未成熟合子胚诱导获得。

RNA 提取试剂 Trizol Reagent 购自 Invitrogen 公司, pGEM-T 载体购自 Promega 公司, T4 DNA 连接酶、限制性内切酶以及反转录酶 AMVRTase 均购自 TaKaRa 公司, 琼脂糖 DNA 回收试剂盒购自天根生化公司, 其它化学试剂均为国产分析纯。

### 3.2 引物设计

根据 GenBank 公布的 *rolC* 基因(GenBank accession No. X64255)序列, 设计一对特异性引物: 5'-gactctagaatgctgaagacgacctgtgt-3'; 5'-cggagctcgccgatgcaacttgactc-3', 其中, 上游引物和下游引物分别引入 *Xba* I 和 *Sac* I 内切酶位点并加保护性碱基, 引物由上海生工生物工程技术公司合成。

### 3.3 植物表达载体 pCB121 的构建

植物表达载体 pBI121 用 *Hind* III 和 *Eco*R I 完全双酶切, 电泳回收 pBI121 双酶切约 3kb 的小片段(35S-GUS-NOST), 并将其克隆到经过相同酶切的 pCAMBIA1301 上, 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态, 提取质粒, 对重组质粒进行酶切鉴定, 将经过鉴定的重组子命名为 pCB121。

### 3.4 *rolC* 基因的克隆及植物表达载体构建

以 Ri 质粒为模板进行特异引物的 PCR 扩增。PCR 扩增产物利用 DNA 回收试剂盒(购自天根生化公司)回收。将回收目的片段与 pGEM-T 载体(购自 Promega 公司)连接, 连接产物转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞, 蓝白斑筛选获得阳性克隆, 取阳性克隆送上海生工生物工程技术公司测序。测序结果经 BLAST 检索序列数据库, 确定所克隆的序列为 *rolC* 基因编码序列。之后用 *Xba* I 和 *Sac* I 双酶切将 *rolC* 基因从 T 载体中切下, 回收酶切目的基因片段, 将其克隆到植物表达载体 pCB121 的 *Xba* I 和 *Sac* I 位点, 用特异引物对重组质粒进行 PCR 鉴定和 *Xba* I 和 *Sac* I 双酶切鉴定, 鉴定正确的阳性质粒重命名为 pCB121-*rolC*, 质粒 pCB121-*rolC* 用冻融法转化

根癌农杆菌菌株 EHA105。

### 3.5 *rolC* 基因转化野生蕉胚性细胞悬浮系

以继代保持在 M2 液体培养基中野生蕉胚性细胞悬浮系为转化受体, 利用农杆菌介导法将 *rolC* 基因转到野生蕉中。遗传转化及植株再生参照胡春华等(2010b)的方法进行。

### 3.6 GUS 基因的检测

取与农杆菌共培养 4 d 之后的 ECS、液体筛选培养的代抗性 ECS、再生抗性胚以及再生苗的叶和根进行 GUS 组织染色鉴定, 以相应的未经转化的材料做对照。GUS 基因瞬时表达检测参照 Jefferson (1987)的组织化学染色法方法进行。

### 3.7 PCR 分子鉴定

取经过 GUS 基因检测为阳性的再生香蕉叶片及对照叶片, 采用改良 CTAB 方法(胡春华等, 2006)提取 DNA, 用 *rolC* 基因特异引物进行 PCR 扩增。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像系统照相, 检测 PCR 结果。

### 3.8 RT-PCR 检测 *rolC* 基因表达

取 GUS 染色和 PCR 鉴定均为阳性的转化再生苗及对照苗的新鲜叶片, 用 Trizol Reagent 试剂(购自 invitrogen 公司)提取总 RNA, 以 oligo (dT)为引物合成 cDNA 第一链, 再按照如下的 PCR 反应体系和程序进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 25  $\mu$ L: 其中 4 $\mu$ L dNTPs (1mmol/l), 10 $\times$ PCR Buffer 2.5  $\mu$ L, 上、下游特异引物(10  $\mu$ mol/ $\mu$ L)各 1.5  $\mu$ L, 反转录合成的 cDNA 1  $\mu$ L, Taq DNA 聚合酶 0.3  $\mu$ L (3U/ $\mu$ L), ddH<sub>2</sub>O 14.2  $\mu$ L。PCR 反应程序为: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 然后 94  $^{\circ}$ C 变性 30 sec, 55  $^{\circ}$ C 退火 30 sec, 72  $^{\circ}$ C 延伸 60 sec, 35 个循环, 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 扩增产物于 1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测。

### 作者贡献

胡春华, 邵秀红, 刘凯是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 魏岳荣是试验植物材料的提供者; 胡春华完成数据分析, 论文初稿的写作; 黄永红参与实验设计, 试验结果分析; 胡春华, 易干军是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

## 致谢

本研究由国家自然科学基金(31000903)、广东省自然科学基金(10451064001006326)和广东省农业科学院院长基金(20090104)共同资助。

## 参考文献

- Cong Y., Sun A.J., Yao Q.H., Zhang Z., 2006, Study on the biology characteristics of *rolC*-transgenic *Malus robusta* Rehd. *in vitro*. *Scientia Agricultura Sinica*, 39(12): 2563-2569 (丛郁, 孙爱君, 姚泉洪, 章镇. 转 *rolC* 基因八棱海棠组培苗生物学特性的研究. *中国农业科学*, 2006, 39(12): 2563-2569)
- Hu C.H., Wei Y.R., Liu K., Yi G.J., Huang B.Z., Huang Y.H., 2010, Cloning of chitinase gene and its genetic transformation of wild banana (*Musa itinerans* Cheesm.), *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 8(4): 719-724 (胡春华, 魏岳荣, 刘凯, 易干军, 黄秉智, 黄永红, 2010, 几丁质酶基因克隆及其野生蕉转化, *分子植物育种*, 8(4): 719-724)
- Hu C.H., Wei Y.R., Yi G.J., Huang B.Z., Huang Y.H., 2010, Establishment of a high efficient *agrobacterium*-mediated transformation system for banana, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 8(1): 172-178 (胡春华, 魏岳荣, 易干军, 黄秉智, 黄永红, 2010, 根癌农杆菌介导的香蕉高效遗传转化系统的建立, *分子植物育种*, 8(1): 172-178)
- Hu C.H., Xie Y.M., Huang X.C., Guo C., Jiao L., Wu X.R., Deng Z. N., 2006, *In vitro* propagation of *rol A, B, C* transgenic citrange. *Guoshu xuebao (Journal of Fruit Science)*, 23(1): 142-144 (胡春华, 谢玉明, 黄训才, 郭琛, 邓子牛, 2006, 转 *rolA, B, C* 基因枳橙快繁技术, *果树学报*, 23(1): 142-144)
- Hu C.H., Deng Z.N., Gentile A., Xu Y., Xiong X.Y., 2006, Molecular Analysis, morphological and physiological evaluation of the transgenic citrange plants with *rolA, rolB, rolC* genes. *Yuanyi xuebao (Acta Horticulture Scinica)*, 33(1): 130-133 (胡春华, 邓子牛, Gentile A., 徐艳, 熊兴耀. 2006, 转 *rol* 基因枳橙分子鉴定及部分生物学的观测, *园艺学报*, 33 (1): 130-133)
- Jefferson R.A., 1987, Assaying Chimeric genes in Plants: The GUS gene fusion System, *Plant Molecular Biology Reporter*, 5(4): 387-40
- Rugini E., Pellegrineschi A., Mencuccini M., Mariotti D. Increase of rooting ability in the woody species kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) by transformation with *Agrobacterium rhizogenes rol* genes, *Plant cell report*, 1991, 10: 291-295
- Sreeramanan S., Mazial M., Abadullah M. P., Rosli N. M., Xavier R., 2006, Potential selectable marker for genetic transformation in banana, *Biotechnology*, 5(2): 189-197
- Wang L.R., Miao L.P., Zhang X.J., Yang M.S., 2010, Comparison of related traits among the transgenic poplar 741 with different *rol* gene. *Journal of Plant Genetic Resources*, 11(4): 451-456 (王连荣, 缪丽萍, 张晓军, 杨敏, 2010, 转不同 *rol* 基因741 杨株系相关性状比较分析, *植物遗传资源学报*, 11(4): 451-456)
- Wei Y.R., Huang X.L., Huang B.Z., Yang H., Qiu J.S., Xu L.B., 2006, Establishment of embryogenic cell suspensions and regeneration of *Musa itinerans* from immature seeds, *Guoshu xuebao (Journal of Fruit Science)*, 23(1): 41-45 (魏岳荣, 黄学林, 黄秉智, 杨护, 邱继水, 许林兵, 2006, 利用未成熟种子建立野生阿宽蕉胚性细胞悬浮系和植株再生的研究, *果树学报*, 23(1): 41-45)
- White F. F., Taylor B. H., Huffman G.A., Gordon M. P., Nester E.W., 1985, Molecular and genetic analysis of the transferred DNA regions of the root-inducing plasmid of *Agrobacterium rhizogenes*. *J Bacterio*, 164(1): 33-44
- Zhang Z., Sun A.J., Fang J.G., Shang B.C., 2001, Study on *Agrobacterium* mediated transformation of tobacco plant with *rolC* gene, *Journal of Nanjing Agricultural University*, 24(1): 25-29 (章镇, 孙爱君, 房经贵, 盛炳成, 2001, 农杆菌介导 *rolC* 基因转化烟草植株的研究, *南京农业大学学报*, 24(1): 25-29)



《分子植物育种》是一份为转基因育种、分子标记辅助育种及常规育种服务的科学杂志, 也是中国唯一的一份以育种为名的科学杂志。于2003年创刊, 创刊伊始即被美国化学文摘(CA), 中国科学引文数据库、中国科技期刊全文数据库、中国引文数据库, 中国科技期刊数据库、中文科技期刊数据库, 中国核心期刊(遴选)数据库, 中国生物学文摘和中国生物学数据库等多家中外文献数据库收录。

在线投稿: <http://mpb.chinese.sophiapublisher.com>

CROSS  
CHECK

