

农杆菌介导的油菜遗传转化研究进展

韩德俊^a,袁本威^a,胡 甘^a,陈耀锋^a,李振岐^b

(西北农林科技大学 a. 农学院; b. 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 综述了农杆菌介导的油菜等芸薹属植物高效转化体系建立的影响因素,总结了基因工程在改良油菜等芸薹属植物性状中的最新研究进展,评述了植物 *in planta* 转化法在油菜中的应用。

[关键词] 油菜;农杆菌介导;*in planta* 转化

[中图分类号] S634.303.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)11-0018-05

油菜是世界四大油料作物之一,属十字花科(Cruciferae)芸薹属(*Brassica*),主要包括甘蓝型油菜(*B. napus*)、芥菜型油菜(*B. juncea*)和白菜型油菜(*B. rapa*)3个栽培种。随着生物技术的发展,将目标基因直接导入油菜以改良其生物性状已成为当前油菜育种研究的热点。芸薹属植物遗传转化的主要方法有农杆菌介导法、电激法、基因枪法、激光微束穿刺法等,由于对农杆菌的敏感性,农杆菌介导法已成为油菜等芸薹属植物基因转化中最常用的方法。迄今为止,已先后在甘蓝型油菜、白菜型油菜、芥菜、花椰菜、芜菁等作物上,实现了报告基因、抗除草剂基因、抗虫基因、抗病基因、雄性不育基因、改良油脂成分和蛋白组分基因等的遗传转化。本文就农杆菌介导的油菜等芸薹属植物遗传转化的有关问题,以及其在改良应用中所取得的研究进展作一综述。

1 高效转化体系建立的影响因素

在农杆菌介导的油菜遗传转化过程中,外植体、农杆菌、培养条件和选择方法等因素对转化效果具有重要影响。

外植体的再生能力,特别是被农杆菌侵染后的分化和再生能力对转化效率具有重要影响。油菜转化效率具有极强的基因型依赖性^[1~4],且同一基因型不同外植体类型也有一定差异。研究发现,不同基因型间不仅再生能力有很大差异,而且农杆菌的敏感性以及对选择剂的抗性都存在差异。目前,油菜的转化多是在甘蓝型油菜中进行的,这与甘蓝型油菜的组培特性和再生能力优于其他类型油菜有关。在

甘蓝型油菜转化体系研究中,春油菜品种较易获得转化植株,已转化成功的油菜都集中在少数几个基因型中^[4~7]。

芸薹属植物的下胚轴、子叶、真叶、子叶柄、花药、茎段等外植体均可再生。在油菜转化中,最常采用的外植体为下胚轴和子叶(带1 mm柄)。Moloney等^[4]研究发现,甘蓝型油菜子叶柄末端切口处的薄壁细胞不但再生能力强,而且容易被农杆菌感染和转化。笔者在甘蓝型油菜转化中发现,下胚轴比子叶柄更容易被农杆菌侵染致死(未发表)。这可能与二者对农杆菌的敏感性差异有关,也可能与两种外植体的培养方式有关。子叶被农杆菌侵染后,一般是将子叶柄切口端向下插入培养基中,由于外植体创伤面是在抗生素(羧苄青霉素或头孢霉素)保护下,农杆菌很难在外植体上继续增殖,外植体上转化细胞有机会实现再生;而以下胚轴切段(具有两个创伤面)为外植体时,由于侵染后下胚轴切段平放于培养基上,或一端插入培养基中,外植体总有部分创伤面得不到抗生素的保护,这为农杆菌继续增殖提供了条件,最终整个外植体被农杆菌包围、覆盖而死亡。因此,在有些基因型中,虽然下胚轴比子叶具有高的再生频率,但其转化效率并不高。

外植体所处的发育时期及生理状态对转化效果的影响很大。苗龄是影响外植体生理状态的重要因素,石淑稳等^[3]研究表明,甘蓝型油菜4 d苗龄的子叶于含0.5~1.2 mg/L 2,4-D和0.2 mg/L 6-BA的培养基上预培养2 d后,再转到分化培养基上培养,不定芽再生率可提高34%~46%。甘蓝型油菜

[收稿日期] 2005-03-18

[基金项目] 杨凌农业科技开发基金项目(2003JA01);西北农林科技大学科研专项(04ZR007)

[作者简介] 韩德俊(1966—),男,北京市人,副教授,在读博士,主要从事植物基因工程抗病育种研究。

子叶和下胚轴外植体在含有 2,4-D 的培养基中预培养 20~40 h,可使切口处细胞处于分裂活跃状态,有利于外源 DNA 的整合^[4,8]。研究表明^[1,3,5~8],对不同基因型和外植体种类,诱导其达到最佳转化生理状态所需的培养条件有一定差异。

Gong 等^[6]研究认为,植物离体组织再生能力受多基因控制,离体组织可以通过改变培养条件来提高其器官发生或胚胎发生能力。基因型和外植体类型的差异要求必需优化与之匹配的培养条件,这主要包括最佳的激素配比和使用适当浓度的硝酸银。研究表明^[6],植物离体组织培养 3~10 d 可产生大量乙烯。乙烯大量积累,一方面抑制生长素的运输,使外植体组织和细胞发育畸形,抑制植物离体组织不定芽器官发生和体胚发生无法正常分化,甚至坏死^[7];另一方面可加速农杆菌繁殖^[9]。应用乙烯作用抑制剂 AgNO₃ 可明显促进器官发生和胚胎发生,促进芽原基的产生和伸长,提高外植体不定芽分化频率^[1,2,12]。特别是在农杆菌转化过程中,AgNO₃ 可以减轻外植体在农杆菌侵染后的腐烂与褐化^[6,7]。Gong 等^[6]还研究了 AgNO₃ 对芥菜叶盘外植体再生过程中基因表达的影响,结果表明,外植体在含有 AgNO₃ 的培养基上生长 6 d 时,与未加 AgNO₃ 的对照相比基因表达有较大差异。在分离的优先表达的 87 个 cDNA 中,1/3 是与乙烯或其他胁迫响应有关的基因,其中有 6 个基因在有或无 AgNO₃ 诱导的离体组织中的表达不同。表明 AgNO₃ 诱导了芥菜离体细胞中与再生有关基因的表达。

2 农杆菌介导的芸薹属植物 *in planta* 转化

建立在组织培养技术基础上的农杆菌介导转化法,虽然在多种植物转基因研究中取得了一定进展,但仍存在较多问题:转化体的再生能力和转化效率有较强的基因型依赖性;可再生细胞和转化感受态细胞部位不一致而产生“逃逸体”、“嵌合体”;外植体被农杆菌侵染后产生过敏性反应,导致感染部位褐化和坏死等;外植体细胞脱分化和再分化中产生的体细胞变异,以及转基因植株的育性降低或丧失等。因此,寻求不依赖于组织培养的、经济可行的转化方法,是许多从事基因工程研究人员共同追求的目标。

Bechtold 等^[10]发明了 *in planta* 转化法(整体转化或原位转化),即在活体上(*in vivo*)转化外源基因。其方法是,将拟南芥生成的初生花序打掉以促进次生花序发生,用根癌农杆菌通过真空渗入拟南芥

花萼,几天后重新用农杆菌在真空下浸泡,使之后的花正常发育结实。每枝经过处理的植株可以获得 0.4% 的转基因种子。Clough 等^[11]简化了浸染方法,用表面活性物质(SilwetL77)使转化效率略有提高(0.5%)。Clough 等^[11]用农杆菌液浸染拟南芥花序代替了真空浸染,获得了与真空浸染 *in planta* 方法相当的转化效率。由于 *in planta* 方法避开了植物组织培养,简化了转化程序,减少了再生过程中细胞的突变,同时降低了对宿主植物的依赖性,因而被广泛应用于拟南芥研究中。油菜等芸薹属植物与拟南芥同属十字花科,因此人们期望用 *in planta* 方法进行油菜等芸薹属植物的转化。Liu 等^[12]在白菜(*B. campestris*),金万梅等^[13]在芥菜(*B. juncea*),Wang 等^[14]在甘蓝型油菜中分别应用 *in planta* 方法均获得了转基因后代,徐光硕等^[15]应用 *in planta* 方法分别将含有 *ipt*, *gu-gal* 和 *prl6* 基因的质粒 pSG529、pHTT613 和 ApSCO 导入不同甘蓝型油菜品种中,平均转化效率达 0.1% 左右,各甘蓝型油菜品种间的转化效率无明显差异。因此,*in planta* 方法以其方便、快速且无须组织培养等显著特点,在油菜转基因研究中正在受到关注,并已经初步应用。

3 应用基因工程改良油菜等芸薹属植物的性状

自 1985 年 Ooms 等首次利用农杆菌介导法获得转基因油菜以来,油菜转基因研究与开发已在油菜多个性状改良上取得了突破性进展(表 1)。抗除草剂和雄性不育转基因油菜已有多个品种大规模投入商业生产,且已选育出抗虫和品质改良转基因油菜品种。由于抗病、抗盐机制的复杂性和多基因控制,油菜抗病原真菌和细菌病害及抗盐转基因研究仍处于探索阶段。

4 存在问题及展望

农杆菌介导法是油菜等芸薹属作物基因转化的主要方式,其转化体系虽渐成熟,但转化效率仍然不高,且具有强烈的基因型依赖性。特别是对当前生产上应用的主栽品种,尚未建立稳定高效的遗传转化程序。利用组织化学和分子生物学等多种手段探索农杆菌与植物细胞互作,以及植物转化细胞再生的分子机制,研究农杆菌侵染和转化具有较强再生能力的植物细胞,或转化细胞实现再生,以便从根本上提高油菜的转化效率。目前,油菜转化主要以器官发生方式产生不定芽而实现再生。由于转化细胞与再

生细胞有可能不一致,因而容易产生嵌合体的转化植株,自交几代后,外源基因可能消失。如何使转化细胞以体胚发生再生方式实现再生,对油菜高效转化体系的建立也是非常重要的。不依赖于植物组织培养技术的 *in planta* 转化方法已经被广泛应用于拟南芥植物,但该方法若要应用于油菜转化,还有许多技术问题需要解决,如,筛选对油菜花序敏感的农杆菌菌株,确定油菜花序整体转化的最佳发育时期和侵染方法,优化转化籽粒的筛选方法以及转化体大田移栽等。如果 *in planta* 转化法能够有效地应用于油菜,必将使油菜转基因的方法得到简化,从而加速基因工程技术在油菜改良中应用的进程。

表 1 应用基因工程改良芸薹属植物性状的研究概况
Table 1 Summary of the improved *Brassica* by gene engineering

物种 Species	改良性状 Modified trait	目标基因 Goal genes	转化方法 Trans- formed methods	外植体 Explant	文献来源 Reference
<i>B. oleracea</i>	抗草甘膦 resistant PPT	<i>bar</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[2]
<i>B. napus</i>	抗草甘膦 resistant PPT	<i>Pat</i>	<i>A. t</i>		
<i>B. napus</i>	抗草甘膦 resistant glyphosate	<i>aroA</i>	<i>A. t</i>		
<i>B. napus</i>	抗磷酸脲 Acetohydroxy acid	<i>cod-1</i>	<i>A. t</i>		
<i>B. napus</i>	抗臭苯腈 resistant bromoxynil	<i>Ban</i>	<i>A. t</i>	Coty	[16]
<i>B. napus</i>	抗虫 Resistant insect	<i>oxylA</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[17]
<i>B. napus</i>		<i>oxylAa</i>	PB	Coty	[18]
<i>B. campestris</i>		<i>oxylAb+Ac</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[19]
<i>B. rapa</i>		<i>oxylAc</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[20]
<i>B. napus</i>		白花莲凝集素(<i>gna</i>)	<i>A. t</i>	Hypo	[21]
<i>B. oleracea</i>		胰蛋白酶抑制剂 Trypsin inhibitor gene	<i>A. t</i>	Hypo	[22,23]
<i>B. napus</i>	抗病毒 resistant viruses	<i>CaMV-AT</i>	<i>A. t</i>	Stes	[24]
<i>B. oleracea</i>		CP	LMP	Micr	[25]
<i>B. napus</i>		<i>pap</i>	<i>A. t</i> -LMP	Coty	[26]
<i>B. napus</i>		<i>Rz</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[27]
<i>B. napus</i>	抗真菌 resistant fungal	几丁质酶基因 Chitinase gene	<i>A. t</i> <i>A. t</i>	Hypo Coty	[28] [29]
<i>B. napus</i>		β -1,3-葡聚糖酶基因 β -1,3-glucanase gene	<i>A. t</i>	Coty/Hypo	[30]
	抗盐 Salt tolerant	<i>AtNHX1</i>	<i>A. t</i>	Coty	[31]
<i>B. juncea</i>		<i>codA</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[32,33]
<i>B. oleracea</i>		<i>betA</i>	<i>A. t</i>	Hypo	[34]
<i>B. napus</i>	提高含油量 Increased fatty acid	反义 PEP Antisense PEP	<i>A. t</i>	Hypo	[35]
<i>B. napus</i>	增加油酸含量 Increased oleic acid	反义油酸脱饱和酶 Antisense Fad2	<i>A. t</i>	Coty	[36]
<i>B. napus</i>	提高芥酸的含量 Erucic acid content	脂肪酸延伸酶 (FAE1) <i>sn-2</i> 酰基转移酶 (SLC1-1)	<i>A. t</i>	Coty	[37]
<i>B. napus</i>	提高月桂酸 Laurate accumulation	12:0 酰基-载体-硫脂酶 12:0 acyl carrier thioester(BTE)	<i>A. t</i>	Hypo	[38]
<i>B. napus</i>	饱和脂肪酸 Increased saturated fatty acid content	反义硬脂酰脱饱和酶基因 Stearoyl-acyl carrier protein desaturase antisense	<i>A. t</i>	Hypo	[39]
<i>B. leracea</i>	延迟后熟 Delay mature	反义 ACC 氧化酶基因 Antisense ACC oxidase	<i>A. r</i>	Coty	[40]
<i>B. napus</i>	雄性不育 Male sterility	TA29-barnase	<i>A. t</i>	Hypo/Coty	[41,42]
<i>B. napus</i>		TA29-barstar	<i>A. t</i>	Hypo/Coty	[43,44]
<i>B. napus</i>	可降解塑料 Biodegradable plastic	PHB 合成相关基因 <i>PhbA</i> , <i>phbB</i> , <i>phbC</i>	<i>A. t</i>	Coty	[45]

注: *A. t*. 根癌农杆菌介导法; *A. r*. 根毛农杆菌介导法; PB. 基因枪法; LMP. 激光穿刺法; Hypo. 下胚轴; Coty. 子叶柄; Stes. 茎段; Micr. 小孢子

Note: *A. t*. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation; *A. r*. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation; PB. particle bombardment; LMP. laser microbeam puncture; Hypo. hypocotyls; Coty. cotyledonary petioles; Stes. stem segments; Micr. microspores.

[参考文献]

[1] Tony W. Petri S. Lidia T. et al. *Agrobacterium*-mediated transformation and stable expression of the green fluorescent protein in *Brassica rapa*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2003, 41: 773—778.

- [2] De Block, De Brouwer, Tenning P. Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* using *Agrobacterium tumefaciens* and the expression of the bar and neo genes in the transgenic plants[J]. *Plant Physiology*, 1989, 91: 694—701.
- [3] 石淑稳, 周永明, 孙学成, 等. 甘蓝型油菜遗传转化体系的研究[J]. *华中农业大学学报*, 1998, 17(3): 205—210.
- [4] Moloney M M, Walker J M, Sharma K K. High efficiency transformation of *Brassica napus* using *Agrobacterium* vectors[J]. *Plant Cell Rep*, 1989, 8: 238—242.
- [5] Pua E C, Deng X, Koha T C. Genotype variability of de novo shoot morphogenesis of *Brassica oleracea* *in vitro* in response to ethylene inhibitors and putrescine[J]. *J Plant Physiol*, 1999, 155: 598—605.
- [6] Gong H, Pua E C. Identification and expression of genes associated with shoot regeneration from leaf disc explants of mustard (*Brassica juncea*) *in vitro*[J]. *Plant Science*, 2004, 167: 1191—1201.
- [7] Ove D, Lars H J, Ole S R. *Agrobacterium tumefaciens*—mediated transformation of *Brassica napus* winter cultivars[J]. *Transgenic Research*, 1997, 6: 279—288.
- [8] Pua E C, Mehra Palta A, Nagy F, et al. Transgenic plants of *Brassica napus* L. [J]. *Biotechnology*, 1987, 5: 815—817.
- [9] Wächter R, Fischer K, Gäbler R, et al. Ethylene production and ACC-accumulation in *Agrobacterium tumefaciens* induced plant tumours and their impact on tumour and host stem structure and function[J]. *Plant, Cell & Environment*, 1999, 22(10): 1263—1273.
- [10] Bechtold N, Jaudeau B, Jolivet S, et al. The maternal chromosome set is the target of the T-DNA in the *in planta* transformation of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genetics*, 2000, 155: 1875—1887.
- [11] Clough S, Bent A. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant J*, 1998, 16: 735—743.
- [12] Liu F, Cao M Q, Yao L, et al. *In planta* transformation of Pakchoi (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinesis*) by infiltration of adult plants with *Agrobacterium*[J]. *Acta Horti*, 1998, 467: 187—193.
- [13] 金万梅, 巩振辉, 宋正旭, 等. 通过植株原位真空渗入遗传转化获得转基因芥菜[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2003, 31(5): 39—42.
- [14] Wang W C, Menon G, Hansen G. Development of a novel *Agrobacterium*-mediated transformation method to recover transgenic *Brassica napus* plants[J]. *Plant Cell Reports*, 2003, 22: 274—281.
- [15] 徐光硕, 饶勇强, 陈雁, 等. 用 *in planta* 方法转化甘蓝型油菜[J]. *作物学报*, 2004, 30(1): 1—5.
- [16] 钟蓉, 朱峰. 油菜的遗传转化及抗溴苯腈转基因油菜的获得[J]. *植物学报*, 1997, 39(1): 22—27.
- [17] 李学宝, 郑世学, 董五犁, 等. 甘蓝型油菜抗虫转基因植株及其抗性分析[J]. *遗传学报*, 1999, 26(3): 262—268.
- [18] 侯丙凯, 胡赞民, 党本元, 等. 定点整合抗虫基因到油菜叶绿体基因组并获得转基因植株[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2002, 28(3): 187—192.
- [19] Xiang Y, Wong W K R, Ma M C, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brassica campestris* ssp. *parachinensis* with synthetic *Bacillus thuringiensis* *cry1Ab* and *cry1Ac* genes[J]. *Plant Cell Reports*, 2000, 19: 251—256.
- [20] Cho H S, Cao J, Ren J P, et al. Control of *Lepidopteran* insect pests in transgenic Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) transformed with a synthetic *Bacillus thuringiensis* *cry1C* gene[J]. *Plant Cell Reports*, 2001, 20: 1—7.
- [21] 唐克轩, 徐亚男, 李旭峰, 等. 表达雪花莲外源凝集素基因的油菜转基因植株的获得[J]. *复旦学报(自然科学版)*, 2001, 40(6): 683—687.
- [22] Ding L C, Hu C Y, Yeh K W, et al. Development of insect-resistant transgenic cauliflower plants expressing the trypsin inhibitor gene isolated from local sweet potato[J]. *Plant Cell Reports*, 1998, 17: 854—860.
- [23] 徐淑平, 卫志明, 黄健秋. 根癌农杆菌介导 *B. t.* 基因和 *CpTI* 基因对花椰菜的转化[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2002, 28(3): 193—199.
- [24] Eugenie P, Camille K. Transformation of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) by transfer of cauliflower mosaic virus genes through combined cocultivation with virulent and avirulent strains of *Agrobacterium*[J]. *Plant Science*, 1996, 113: 79—89.
- [25] 陈军, 王兰岚, 刘澄清, 等. 用激光微束穿孔法转化甘蓝型油菜小孢子的研究[J]. *激光生物学报*, 1998, 7(2): 103—107.
- [26] 张海燕, 田颖川, 周奕华, 等. 将商陆抗病毒蛋白(PAP)cDNA导入油菜获得抗病毒转基因植株[J]. *科学通报*, 1998, 43(23): 2534—2537.
- [27] 王苏燕, 叶寅, 赵淑珍, 等. 转基因油菜中核酶介导对花椰菜花叶病毒的高度抗病性[J]. *中国科学(C辑)*, 1997, 27(5): 426—431.
- [28] Grison R, Greezes-beset B, Schneider M, et al. Field tolerance to fungal pathogens of *Brassica napus* constitutively expressing a chimaeric chitinase gene[J]. *Nature Biotech*, 1996, 14: 643—646.
- [29] 张丽华, 党本元. 抗菌核病转基因油菜植株的获得[J]. *高技术通讯*, 1999, (12): 41—46.
- [30] 蓝海燕, 王长海, 张丽华, 等. 导入 β -1, 3-葡聚糖酶基因及几丁质酶基因的转基因可育油菜及其抗菌核病的研究[J]. *生物工程学报*, 2000, 16(2): 142—146.
- [31] Zhang H X, Hodson J N, Williams J P, et al. Engineering salt-tolerant *Brassica* plants; characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation[J]. *PNAS*, 2001, 98(22): 12832—12836.
- [32] Prasad K V S K, Sharmila P, Paridha S P. Enhanced tolerance of transgenic *Brassica juncea* to choline confirms successful expression of

- the bacterial *codA* gene[J]. Plant Science, 2000, 159: 233–242.
- [33] Prasad K V S K, Pardha S. Enhanced tolerance to photoinhibition in transgenic plants through targeting of glycinebetaine biosynthesis into the chloroplasts[J]. Plant Science, 2004, 166: 1197–1212.
- [34] Bhattacharya R C, Maheswari M, Dineshkumar V, et al. Transformation of *Brassica oleracea* var. *capitata* with bacterial *betA* gene enhances tolerance to salt stress[J]. Scientia Horticulturae, 2004, 100: 215–227.
- [35] 陈锦清, 郎春秀. 反义 PEP 基因调控油菜籽粒蛋白质油脂含量比率的研究[J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(4): 316–320.
- [36] 石东乔, 周奕华, 张丽华, 等. 农杆菌介导的油菜脂肪酸调控基因工程研究[J]. 高技术通讯, 2001, (2): 1–7.
- [37] Vesna K, Winnie F, Dennis L B, et al. Improving erucic acid content in rape seed through biotechnology, what can the *Arabidopsis FAE1* and the yeast *SIC1-1* genes contribute[J]. Crop Science, 2001, 41: 739–747.
- [38] Voelker T A, Worrell A C, Anderson L, et al. Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oilseed plants[J]. Science, 1992, 257: 72–74.
- [39] Knutzon D S, Thompson G A, Radke S E, et al. Modification of seed oil by antisense expression of a stearyl-acy carrier protein desaturase gene[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 2624–2628.
- [40] Henzi M X, Christey M C, McNeil, et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of broccoli (*B. oleracea* L.) with an antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase gene[J]. Plant Science, 1999, 143: 55–62.
- [41] Mariani C, Beuckeleer M D, Truettner J, et al. Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene[J]. Nature, 1990, 347(25): 737–741.
- [42] 何业华, 熊兴华, 官春云, 等. 根癌农杆菌介导 TA29-Barnase 基因转化甘蓝型油菜的研究[J]. 作物学报, 2003, 29(4): 615–620.
- [43] Mariani C, Goicoa M A, Mariani A, et al. Achimaeric ribonuclease in hibitor gene restore fertility to male sterile plant[J]. Nature, 1992, 357(4): 384–387.
- [44] 彭仁旺, 周雪荣, 王峻岭, 等. 表达 *barstar* 基因及 *bar* 基因的转基因油菜的研究[J]. 遗传学报, 1998, 25(1): 74–79.
- [45] 叶 梁, 李 枫, 宋艳茹. 双价、三价种子特异性表达、载体的构建及表达 PHB 合成相关基因油菜的获得[J]. 科学通报, 2000, 45(5): 516–521.

Agrobacterium-mediated transformation of oilseed *Brassicas*

HAN De-jun^a, YUAN Ben-wei^a, HU Gan^a, CHEN Yao-feng^a, LI Zheng-qi^b

(^a. College of Agronomy; ^b. College of Plant Protect., Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: This paper reviewed the factors affecting the efficiency of *Agrobacterium*-mediated transformation of oilseed *Brassicas*, summarized the recent proceeding of gene engineering in oilseed *Brassicas*, and introduced *in planta* method to produce transgenic *Brassica napus* plants.

Key words: oilseeds; *Agrobacterium*-mediated; *in planta* transformation