

24. 甲植物细胞核基因具有耐盐碱效应,乙植物细胞质基因具有高产效应。某研究小组用甲、乙两种植物细胞进行体细胞杂交相关研究,基本过程包括获取原生质体、诱导原生质体融合、筛选融合细胞、杂种植株再生和鉴定,最终获得高产耐盐碱再生植株。回答下列问题:

(1) 根据研究目标,在甲、乙两种植物细胞进行体细胞杂交前,应检验两种植物的原生质体是否具备_____的能力。为了便于观察细胞融合的状况,通常用不同颜色的原生质体进行融合,若甲植物原生质体采用幼苗的根为外植体,则乙植物可用幼苗的_____为外植体。

(2) 植物细胞壁的主要成分为_____和果胶,在获取原生质体时,常采用相应的酶进行去壁处理。在原生质体融合前,需对原生质体进行处理,分别使甲原生质体和乙原生质体的_____失活。对处理后的原生质体在显微镜下用_____计数,确定原生质体密度。两种原生质体 1:1 混合后,通过添加适宜浓度的 PEG 进行融合;一定时间后,加入过量的培养基进行稀释,稀释的目的是_____。

(3) 将融合原生质体悬浮液和液态的琼脂糖混合,在凝固前倒入培养皿,融合原生质体分散固定在平板中,并独立生长、分裂形成愈伤组织。同一块愈伤组织所有细胞源于_____。下列各项中能说明这些愈伤组织只能来自于杂种细胞的理由是哪几项? _____

- A. 甲、乙原生质体经处理后失活,无法正常生长、分裂
- B. 同种融合的原生质体因甲或乙原生质体失活而不能生长、分裂
- C. 培养基含有抑制物质,只有杂种细胞才能正常生长、分裂
- D. 杂种细胞由于结构和功能完整可以生长、分裂

(4) 愈伤组织经_____可形成胚状体或芽。胚状体能长出_____,直接发育形成再生植株。

(5) 用 PCR 技术鉴定再生植株。已知甲植物细胞核具有特异性 DNA 序列 a,乙植物细胞质具有特异性 DNA 序列 b; M₁、M₂ 为序列 a 的特异性引物, N₁、N₂ 为序列 b 的特异性引物。完善实验思路:

- I. 提取纯化再生植株的总 DNA, 作为 PCR 扩增的_____。
- II. 将 DNA 提取物加入 PCR 反应体系, _____为特异性引物, 扩增序列 a; 用同样的方法扩增序列 b。
- III. 得到的 2 个 PCR 扩增产物经_____后, 若每个 PCR 扩增产物在凝胶中均出现了预期的_____个条带, 则可初步确定再生植株来自于杂种细胞。