

A281菌系对大豆属致瘤 效果的初步研究*

雷勃钧 王连铮 尹光初 卢翠华 钱 华

王树林 周思君 张开旺 王 岚

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

邵启全 李安生 蒋兴邨

(中国科学院遗传研究所)

摘 要

近两年我们采用一个经过改造, 致癌能力增强的农杆菌新菌系 A281, 对原来连续几年实验的易结瘤和不易结瘤的大豆基因型^[1]进行了致癌能力和效果的实验。用 A281, C58, T37 三个菌系对易结瘤的 20 份大豆基因型进行了致癌能力的比较; 用 A281 菌系对不易结瘤的 88 份大豆基因型进行了致癌效果的观察, 使 67 份不易结瘤的基因型也可结瘤。而对照组只有 3 份基因型可结瘤。实验证明: 农杆菌新菌系 A281 对易结瘤大豆基因型不但和 C58, T37 具有相同的致癌率, 并且比其具有更强的致癌能力。对不易结瘤的大豆基因型, 产生了致癌效果。这使一些不能结瘤的优良大豆类型, 通过 Ti 质粒进行遗传改良成为可能。

关键词 根瘤农杆菌; 质粒; 大豆; 载体; 受体

目前在植物基因工程的研究中, 实现基因转移的技术关键之一是找到合适的载体和受体。由于 Ti Ri 等质粒的发现, 已给植物基因工程的研究带来了突破性进展。已经证明: Ti 质粒上的 FDNA 可整合到受体细胞的基因组中并能通过无性或有性过程传给后代。Ti 质粒可使多数双子叶植物和少数单子叶植物致瘤, 而且筛选实验技术和检测技术都比较成熟。

* 本院育种研究所大豆品种资源室提供部分材料, 在此致谢。

本文于 1988 年 12 月 1 日收到。

This paper was received on Dec. 1, 1988.

几年来,我们利用这一技术,采用三个致瘤效果较好的菌系(C58, T37, B3/73)对大豆属进行了广泛的致瘤筛选,完成了载体受体系统的建立^[2]。然而,仍有相当一部分大豆基因型不能结瘤,这将使我国丰富的大豆品种资源在基因工程中的利用受到一定的限制。为此,我们采用经过改造的新菌系 A281,对经几年筛选而不能致瘤的部分大豆基因型进行致瘤筛选实验,并和致瘤能力较强的C58、T57 菌系进行了致瘤能力比较实验。本文报导这一实验结果。

材 料 和 方 法

供试载体材料为致瘤农杆菌 A281 菌系,对照菌系为 C58、T57。

供试受体材料为易结瘤材料大豆属20个基因型。不易结瘤材料大豆属88个基因型。

致瘤农杆菌的培养采用牛肉汁(YEB)培养基。

接种方法与时期:采用注射或划痕的方法,在大豆幼苗期选择茎的幼嫩部分注入菌液。于接种后 30 天、60 天分别进行结瘤调查。

为了便于控制条件,整个实验在盆栽条件下进行。

结 果 与 讨 论

20 份易结瘤大豆基因型是在用 15 个致瘤农杆菌筛选的基础上,又用其中致瘤能力较强的农杆菌菌系 C58, T37 经过 5 年连续进一步筛选而得到的材料。用此材料来进行 A 281 和 C58、T37 的致瘤能力比较实验,其结果见表 1 和图版。

从表 1 和图中可看出 A 281 与 C58、T37 具有同等的致瘤率,但在结瘤大小上却有明显差异。在同一材料同一基因型中,经 A281 感染所结的瘤比经 C58、T37 感染所结的瘤要大 5 倍左右,这一效果,在以往的致瘤筛选中菌系间的这种差异还未曾发现过。

另外 88 份不易结瘤大豆基因型,也是经过了 15 个致瘤农杆菌筛选,但不曾有任何结瘤反应,

特别是对于致瘤力较强的 C58, T37, 也未曾有结瘤发生。而 A281 菌系对其却产生了致

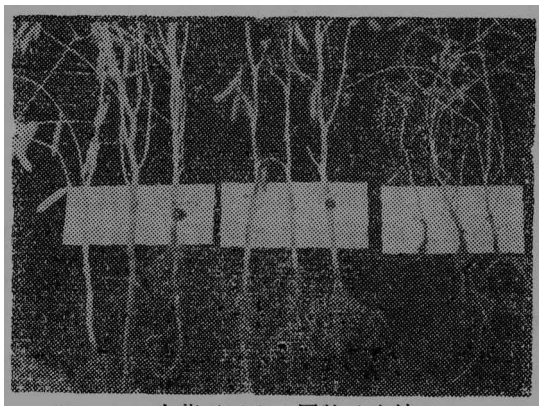


图 1 三个菌系对大豆属的致瘤效果
Fig. 1 Tumor-iuducing effect of three strains on soybeans

注:从右至左为野生大豆、半野生大豆、栽培大豆。每三株为同一基因型分别用 A281、T37、C58 菌系致瘤

Note: From right to left, *G. soja*, *G. gracillis* and *G. max* are arranged successively; three plants a genotype. Among every 3 plants, you can see the tumors induced separately by A281, T37 and C58

表 1 三种菌系对易结瘤大豆致瘤效果统计
Table 1 Statistics of tumor-inducing effect of three strains
on tumor-forming-easily soybean

菌系 Strains	大豆类型 Soybean types		栽培大豆	半野生大豆	野生大豆	基因型合计
	项目 Items		<i>G. max</i>	<i>G. gracillis</i>	<i>G. soja</i>	Total genotypes
C58	接种基因型数	Inoculated genotype No.	10	8	2	20
	致瘤基因型数	Tumor formation genotype No.	9	8	2	19
		%	90	100	100	95
	接种株数	Inoculated plant No.	217	173	36	
	致瘤株数	Tumor formation plant No.	55	48	3	
		%	25.3	27.8	8.3	
T37	接种基因型数	Inoculated genotype No.	10	8	2	20
	致瘤基因型数	Tumor formation genotype No.	9	8	1	18
		%	90	100	50	90
	接种株数	Inoculated plant No.	205	162	39	
	致瘤株数	Tumor formation plant No.	51	57	2	
		%	24.9	35.2	5.1	
A281	接种基因型数	Inoculated genotype No.	10	8	2	20
	致瘤基因型数	Tumor formation genotype No.	9	8	2	19
		%	90	100	100	95
	接种株数	Inoculated plant No.	193	168	37	
	致瘤株数	Tumor formation plant No.	45	77	2	
		%	23.3	45.8	5.4	
株数合计 Total	接种株数	Inoculated plant No.	615	503	112	
	致瘤株数	Tumor formation plant No.	151	182	7	
		%	24.6	36.2	6.3	

瘤效果。其结果见表 2。用C58、T37 作为对照。

从表 2 可看出，A 281 菌系对半野生、野生大豆基因型的致瘤率达 95% 以上，栽培大豆基因型达 50% 以上。而 CK 菌系对栽培和半野生大豆基因型致瘤率均为 0，即使是对致瘤农杆菌反应比较敏感的半野生大豆基因型，A281 菌系对其可达 100% 致瘤的情况下，而 C58、T37 菌系的致瘤却仍为 0 只有在野生大豆基因型中，个别出现结瘤。总体看，A281 菌系对大豆属基因型的致瘤率可达 76%，而 CK 菌系只有 3.4%。说明 A281 菌系的致瘤效果是很明显的。

表2 A281 菌系对不易结瘤大豆的致瘤效果统计
Table 2 Tumor-inducing effect of A281 on tumor-forming-uneasily soybeans

菌系 Strains	大豆类型 Soybean 项目 Items type		栽培大豆 <i>G. max</i>	半野生大豆 <i>G. gracillis</i>	野生大豆 <i>G. soja</i>	基因型合计 Total genotypes
A281	接种基因型数	Inoculated genotype No.	41	24	23	88
	致瘤基因型数	Tumor formation genotype No.	21	24	22	67
	%		51	100	96	76
	接种株数	Inoculated plant No.	626	72	264	
	致瘤株数	Tumor formation plant No.	34	40	63	
	%		5.4	56	23.9	
CK	接种基因型数	Inoculated genotype	41	24	23	88
	致瘤基因型数	Tumor formation genotype	0	0	3	3
	%		0	0	1.3	3.4
	接种株数	Inoculated plant No.	616	70	259	
	致瘤株数	Tumor formation plant No.	0	0	3	
	%		0	0	1.2	

以上结果可以说明，A281 菌系具有此 C58、T37 菌系更强的致瘤能力与效果。所以，为了扩大大豆种质资源的利用范围一方面可进行对受体材料的广泛筛选，另一方面通过改造现有农杆菌菌系，提高致瘤农杆菌的致瘤作用，也是行之有效的良好途径。

参 考 文 献

[1] 王连铮等, 对1553个野生、半野生、栽培大豆基因型致瘤及基因转移研究, 大豆科学, 1983, 2卷3期
[2] 王连铮等, 《大豆基因工程的受体系统》黑龙江科技出版社, 1987,

INITIAL STUDY ON TUMOR-INDUCING EFFECT OF A 281 STRAIN ON SOYBEAN

Lei Bojun Wang Lianzheng Yin Guangchu

Lu Cuihua Qian Hua Wang Shulin

Zhou Sijun Zhang Kaiwang Wan Lan

(*Soybean Institute, Heilongjiang Academy of Agr. Sci.*)

Shao Qiquan Li Ansheng Jiang Xingcun

(*Institute of Genetics, Academia Sinica*)

Abstract

In last two years, we tested the tumor-inducing ability and effect of a improved, new strain of *Agrobacterium tumefaciens* with high tumor-inducing ability, A281, on tumor-forming-easily soybean genotypes and tumor-forming-uneasily ones tested for years. Tumor-inducing abilities of three strains, A281 C58, and T37 were compared on 20 tumor-forming-easily genotypes. Tumor-inducing test of A281 was undertaken on 88 tumor-forming-uneasily genotypes, and 67 tumor-formation genotypes were obtained. However, there were only 3 tumor-formation genotypes in the check group. The results showed that the new strain A281, not only has the same tumor-inducing frequency as C58 and T37, but also has more higher tumor-inducing ability on tumor-forming-easily genotypes. Tumor-inducing effect on tumor-forming-unesily genotypes means that it is possible to improve some tumor-forming-uneasily but good soybean genotypes by using Ti-plasmid.

Key word *Agrobacterium tumefaciens*; Vector; Receptor; Ti-plasmid; Soybean