

不同菜用大豆品种的胚胎发生与再生^{*}

王 萍¹ 王 罡² 季 静²

(1. 淮海工学院海洋学院, 连云港 222005; 2. 天津大学农业与生物工程学院, 天津 300072)

摘要 以 8 个菜用大豆品种的未成熟子叶为外植体, 在 MS(附加高浓度 2, 4-D)培养基诱导愈伤组织形成、体细胞胚胎发生与再生植株。结果表明: 八个菜用大豆品种的未成熟子叶均可诱导产生愈伤组织与体细胞胚胎发生, 出愈率为 14.71%~100%。体细胞胚胎发生率变化在 0~36.76%之间, 绿子叶菜用大豆没有形成体细胞胚。体细胞胚可正常萌发产生小植株, 移栽成活结实。菜用大豆的出愈率和体细胞胚胎发生率与基因型有关。

关键词 菜用大豆; 未成熟子叶; 胚胎发生; 再生植株

中图分类号 S 565.103.53 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2005)04-0314-03

菜用大豆, 又称毛豆或青毛豆, 属大豆科, 大豆属, 栽培大豆(*Glycine max* (L.) Merr.), 为一种营养丰富、经济效益高的蔬菜。中国是世界上最大的菜用大豆生产国和出口国, 栽培面积在 $10 \times 10^4 - 15 \times 10^4 \text{hm}^2$ 之间^[1]。我国南方的长江中下游和东南沿海一带人们有吃菜用大豆的饮食习惯, 是世界上菜用大豆的主要生产和消费地区之一, 菜用大豆已成为该地区重要的出口农产品。

进入 20 世纪 90 年代以来, 菜用大豆在美国和世界其它地区也受到消费者的青睐, 需求量增多, 而目前现有优质高产抗病品种较少, 2000 年, 浙江省菜用大豆普遍发病, 造成大幅度减产^[2]。利用基因工程方法, 将外源抗病(逆)基因转入菜用大豆中, 可能是改良现在品种的有效途径之一。我们在多年对大豆组织培养的基础上, 对菜用大豆未成熟子叶进行组织培养, 以期建立一个良好的菜用大豆遗传转化受体体系, 为进一步用基因工程方法改良菜用大豆品种奠定基础。

1 材料和方法

供试材料为八个菜用大豆品种(绿子叶菜豆、黄子叶菜豆, 381-382、383-384、385-386、389-90、395-396 和 397-98), 由东北农业大学大豆研究所

杨庆凯教授馈赠。各大豆品种春播于实验田中, 开花 16-20 天摘取幼荚, 用 75%乙醇消毒后, 0.1% HgCl₂ 处理 10~15min, 无菌水冲洗 3~5 遍后, 剥出未成熟子叶, 切去胚轴接种在 MS(附加 2, 4-D 20-40mg/L)培养基上, 每个品种接 200~350 个外植体, 于 25℃条件下暗培养。调查出愈形成数与体细胞胚胎发生数, 计算出愈率[(出愈外植体数/接种外植体数)×100]和胚胎发生率(胚胎发生外植体数/接种外植体数)×100], 对出愈率和胚胎发生率做反正弦转换后进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同菜用大豆品种未成熟子叶的愈伤组织形成

八个菜用大豆品种的未成熟子叶在含高浓度 2, 4-D 的 MS 培养基中培养, 不同品种在培养 4~7d 开始形成愈伤组织, 愈伤组织形成的占有率变化在 14.71%~100%之间(图 1), 其中 397-98、黄子叶菜豆、383-384 和 395-396 四个品种の出愈率达 100%, 绿子叶菜豆和 385-386 的出愈率较低, 仅为 34.8%和 14.71%。

方差分析结果表明, 出愈率在品种间差异达极显著水平, 绿子叶菜豆和 385-386 两个品种の出愈

* 收稿日期: 2005-04-18

基金项目: 国家植物转基因中试及产业化基地专项基金(项目编号 J99-B-001)

作者简介: 王萍(1957-), 女, 教授, 博士, 主要从事生物技术与植物转基因的研究。E-mail: y-pwang@yahoo.com.cn

率极显著地低于其它六个品种。菜用大豆的出愈率对基因型的依赖性与我们在非菜用大豆基因型对组

织培养的反应的研究结果是一致的^[3,4]。

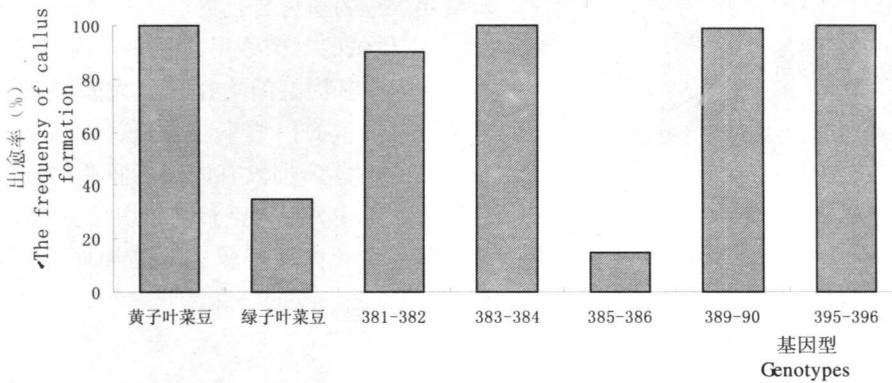


图1 菜用大豆品种的叫愈率

Fig. 1 The frequency of callus fomation of genotypes in vegetable soybean

2.2 不同菜用大豆品种未成熟子叶的体细胞胚胎发生

生率对基因型的依赖性, 这与以往的研究结果相似^[5,6]。

菜用大豆在含高浓度 2,4-D 的 MS 培养基中诱导 15~20d 开始体细胞胚胎发生(图 2), 品种不同对未成熟子叶体细胞胚胎发生频率的影响也较大, 八个品种体细胞胚胎发生率为 0~36.76%(图 3)。黄子叶菜豆、383-384、389-390 三个品种的体细胞胚胎发生频率较高, 为 36.76%、32.35%和 28.92%, 与非菜用大豆未成熟子叶体细胞胚胎发生诱导时的中等诱导率相似, 高于其它五个品种的体细胞胚胎发生率(在 10% 以下)。对八个品种的体细胞胚胎发生率进行了方差分析, 结果差异达显著水平, 说明菜用大豆未成熟子叶的体细胞胚胎发生率在基因型间存在显著差异, 表现出体细胞胚胎发

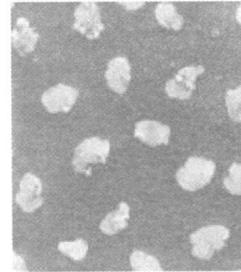


图2 菜用大豆未成熟子叶的体细胞胚胎发生

Fig 2 Somatic embryogenesis of vegetable soybean from immature cotyledon

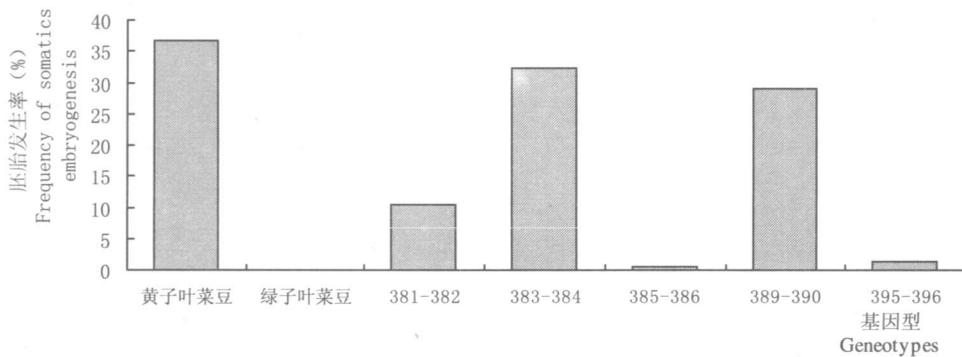


图3 菜用大豆基因型的胚胎发生率

Fig 3 The frequency of soybean embryogenesis of genotypes in vegetable soybean

2.3 不同菜用大豆品种未成熟子叶的植株再生

成熟萌发(图 4), 转入 MS 培养基中培养再生小植株(图 5)。经练苗、移栽在花盆中可正常生长, 并得到结实植株。

将七个品种所产生的体细胞胚及时转入萌发培养基中诱导体细胞胚萌发, 约 1~2 个月后体细胞胚

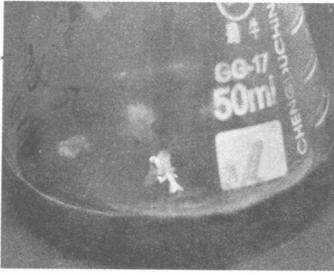


图4 体细胞胚萌发

Fig 4 Germination of somatic embryos



图5 体细胞胚再生植株

Fig 5 The regenerated plantlets from somatic embryo

3 讨论

3.1 本研究以含高浓度 2, 4-D 的 MS 培养基诱导菜用大豆的未成熟子叶愈伤组织形成和体细胞胚

胎发生, 首次将大豆组织培养的培养基用于菜用大豆并均获成功, 尽管体细胞胚胎发生率还不是很, 证明菜用大豆与大豆相似, 可进行组织培养, 为进一步菜用大豆的遗传转化奠定了基础。

3.2 在供试的八个菜用大豆中, 出愈率与体细胞胚胎发生率在基因型间均存在较大差异, 尤其是绿子叶菜豆基因型的出愈率较低, 仅为 34.8%, 体细胞胚胎发生率为 0, 即没有体细胞胚胎的发生, 是否具有绿子叶的菜用大豆内某种与组织培养有关的化学成分与黄色子叶大豆有较大的差异而导致此试验结果, 有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 韩天富, 盖钧铭. 世界菜用大豆生产、贸易和研究的进展[J]. 大豆科学, 2002, 21(4): 278-284
- 2 韩天富. 中国菜用大豆的种植制度的品种类型[J]. 大豆科学, 2002, 21(2): 83-87.
- 3 王萍, 王罡, 季静, 等. 大豆体细胞胚胎发生与农杆菌介导的遗传转化[J]. 遗传, 2004, 26(5): 695-700
- 4 Wang Ping, Wang Gang, Ji Jing, et al. A novel system for Proliferation, maintenance and plantlet Germination from somatic embryo of soybean[J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(2): 154-158
- 5 Parrott WA, William EG, Hildebrand DF, et al. Effect of genotype on somatic embryogenesis from immature cotyledons of soybean[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1989, 16: 15-21.
- 6 周思君, 尹光初. 从大豆幼胚诱导胚胎发生再生植株[J]. 大豆科学, 1989, 8(1): 39-45.

EMBRYOGENESIS AND REGENERATION FROM DIFFERENT OF VEGETABLE SOYBEAN

Wang Ping¹ Wang Gang² Ji Jing²

(1. Huaihai Institute of Technology, Marine School, Lianyungang 222005;
2. Tianjin University, Agriculture & Bioengineering College, Tianjin 300072)

Abstract Callus formation, somatic embryogenesis and plant regeneration were induced by MS medium including higher concentrations of 2, 4-D with immature cotyledon of eight genotypes in vegetable soybean. The results showed that callus formation and somatic embryogenesis of eight genotypes of vegetable soybean with immature cotyledon were induced successfully. Frequencies of callus formation varied from 14.7% to 100% and frequencies of somatic embryogenesis changed 0~36.76%. Somatic embryo has not been induced from variety Luziyecaidou with green cotyledon. Somatic embryos could germinate, regenerate plantlets and seed. The frequencies of callus and somatic embryogenesis were associated with genotypes in vegetable soybean.

Key words Vegetable soybean; Immature cotyledon; Embryogenesis; Regenerated plantlet