

大豆基因型在组织培养条件下对 NaCl 耐性的研究^{*}

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 3 个大豆基因型为材料, 以固体培养基中大豆出苗率、苗高和下胚轴长度为指标, 研究大豆对 NaCl 的耐受性。结果表明, 大豆不同基因型对 NaCl 的耐受性不同, 东农 46 对 NaCl 的耐受性较差。在 3 个苗期性状中, 以苗高和下胚轴长度对 NaCl 的耐受性较差, 当在培养基中加入 35 ~ 65 mmol/L NaCl 时大豆的苗高和下胚轴长度的增加受到明显地抑制。

关键词 大豆; 基因型; NaCl 耐性

中图分类号 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2006)04-0421-04

大豆(*Glycine max* L)是重要的油料作物, 尽管当今农业技术已经有了较大的发展, 干旱和土壤盐渍化仍然是制约作物生产最严重的因素之一。据报道, 世界上存在着约占陆地面积 1/10 的盐渍土壤, 并且多达一半的灌溉土地或多或少受到次生盐渍化和碱化的影响, 严重地影响着现代农业的发展^[1]。随着分子生物学与基因工程技术的发展, 把抗逆基因转入大豆中将是提高品种抗逆性的有效途径之一。目前, 在进行作物抗逆基因的遗传转化对转化后代进行筛选时, 常在构建载体时带有一个抗性选择基因, 对转化体用抗生素进行筛选。由于转化细胞对抗生素的解毒作用导致的交叉保护, 高频率的未转化植株和嵌合体也通过了抗生素筛选, 可能带来转基因逃逸^[2]。同时, 随着人们对转基因产品安全性的关注越来越多, 在进行遗传转化时无抗生素筛选体系的利用显得越来越重要^[3]。柯玉琴等(2001)^[4]在组织培养条件下研究了水稻苗期对 NaCl 的耐性。本研究选用大豆 3 个基因型, 探讨在组织培养条件下大豆出苗率、苗高和下胚轴长度等性状对 NaCl 耐受性, 以期为大豆抗逆(耐盐)基因遗传转化的直接选择提供依据。

1 材料与方法

供试大豆基因型为东农 46、黑农 35 和黑农 41,

实验为完全随机设计, 3 ~ 4 次重复。NaCl 设 6 个浓度, 0、30、65、100、135 和 170 mmol/L, 其中 0 mmol/L NaCl 为对照。大豆种子经 HgCl₂ 消毒后接种于含有不同浓度 NaCl 的 1/2MS 培养基中, 二周后调查出苗数、苗高和下胚轴长度, 计算出苗率, 所有实验数据用 SPSS 软件进行方差分析(发芽率分析前数据做反正弦转换)。

2 结果与分析

2.1 大豆苗期各性状对 NaCl 的耐受性及方差分析

大豆不同基因型出苗率、苗高和下胚轴长度对 NaCl 的耐受性分别见图 1、图 2 和图 3。

由图 1 可见大豆出苗率对 NaCl 的耐受性因基因型的不同表现出差异。东农 46 对 NaCl 的耐受性较差, 出苗率较低, 并随着 NaCl 浓度的升高, 大豆出苗率有明显下降的趋势; 而另外两个基因型黑农 35 和黑农 41 对 NaCl 的耐受性较好, 在 NaCl 浓度为 0 ~ 170 mmol/L 时, 出苗率变化不大, 均在 90% 以上。从图 2 和图 3 可知大豆苗高和下胚轴长度对 NaCl 的耐性较差, 随着 NaCl 浓度的升高, 3 个基因型大豆的苗高和下胚轴长度均呈明显下降, 尤其在 NaCl 浓度为 35 ~ 135 mmol/L 时下降的幅度较大, 近于直线下降。同时发现, 当 NaCl 的浓度高

* 收稿日期: 2006-07-31

基金项目: 大豆生物学教育部重点实验室基金项目(SB06A07)、国家转基因植物研究与产业化开发专项(JY03-B-17)

作者简介: 王萍(1957-), 女, 博士, 教授, 主要从事生物技术与植物转基因的研究。

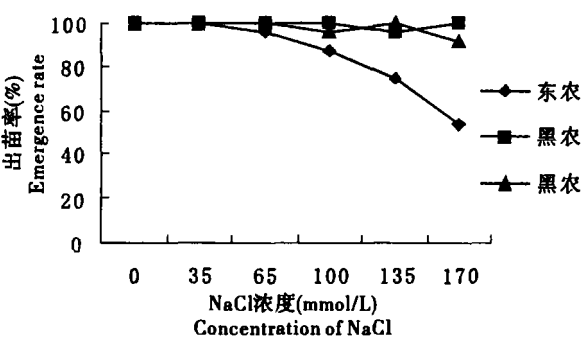


图1 大豆不同基因型出苗率对 NaCl 的耐受性
Fig. 1 NaCl tolerance of soybean genotypes with different emergence rates

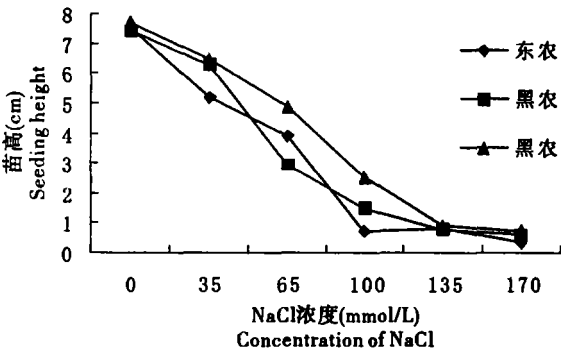


图2 大豆不同基因型苗高对 NaCl 的耐受性
Fig. 2 NaCl tolerance of soybean genotypes with different seedling height

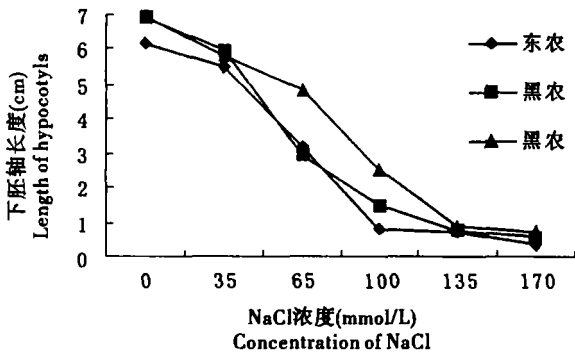


图3 大豆不同基因型下胚轴长度对 NaCl 的耐受性
Fig. 3 NaCl tolerance of soybean genotypes with different length of hypocotyls

达 100 mmol/L 时, 3 个基因型的下胚轴长度与苗高几乎相同, 说明在 NaCl 浓度较高时抑制了上胚轴的生长。

对大豆不同基因型加入 NaCl 后的出苗率、苗高和下胚轴长度的方差分析结果列于表 1。

从表 1 结果可知, 3 个基因型大豆培养在加入不同浓度的 NaCl 的培养基中时, 出苗率只有东农 46 达极显著差异, 而黑农 35 和黑农 41 在不同浓度 NaCl 处理时的出苗率间皆未达显著差异。3 个基

因型大豆的苗高与下胚轴长度两个性状在不同 NaCl 浓度间均达极显著的差异。可见, 在培养基中加入 NaCl 后, 大豆苗高与下胚轴长度对 NaCl 的耐受性较差, 而出苗率对 NaCl 的有一定的耐性。并且, 因大豆基因型的不同对 NaCl 的耐性存在差异。

表 1 大豆基因型在不同浓度 NaCl 下各性状的方差分析
Table 1 Variance analysis of main agricultural traits among genotypes of soybean under different concentrations of NaCl

基因型 Genotypes	F 值 F value		
	出苗率 Emergence rate	苗高 Seedling height	下胚轴长度 Length of hypocotyl
东农 46	6.69 **	34.99 **	61.20 **
黑农 35	2.76	42.54 **	39.01 **
黑农 41	1.80	33.99 **	36.53 **

** 在 0.01 水平达极显著差异

2.2 大豆苗期各性状对不同浓度 NaCl 的反应
对大豆 3 个基因型的出苗率、苗高和下胚轴长度方差分析达显著水平的性状进行差异显著性测验, 结果列于表 2、表 3 和表 4。

从表 2 可知, 随着在培养基中加入 NaCl 浓度的提高, 东农 46 出苗率呈下降的趋势, 35 ~ 100mmol/L 时与对照差异未达显著水平, 当增加到 135mmol/L 以上时, 则出苗率下降到 75% 以下, 并显著地低于对照。

表 2 不同浓度 NaCl 下东农 46 出苗率的差异显著性测验
Table 2 Significance test for emergence rate of Dongnong46 under different concentrations of NaCl

NaCl 浓度 Concentration of NaCl (mmol/L)	出苗率 Emergence rate (%)	差异显著性 Significance	
0	100.00	a	A
35	100.00	a	A
65	95.83	ab	A
100	87.50	ab	A
135	75.00	bc	AB
170	54.17	c	B

表 3 中大豆苗高的差异显著性测验结果表明, 东农 46 对 NaCl 的反应较敏感, 当在培养基中加入 35mmol/L 时, 苗高显著地低于对照, 而黑农 35 和黑农 41 在 65mmol/L 时才与对照存在显著差异。

表 4 结果表明, 大豆下胚轴长度对 NaCl 的耐受性也较差, NaCl 浓度为 65mmol/L 时对 3 个基因型大豆的下胚轴长度的增加有显著的抑制作用。

表 3 不同浓度 NaCl 下大豆苗高的差异显著性测验

Table 3 Significance test for seeding height of soybean under different concentrations of NaCl

NaCl 浓度	东农 46 Dongnong46			黑农 35 Heinong35			黑农 41 Heinong41		
Concentration of NaCl (mmol/L)	苗高 Seeding height (cm)	差异显著性 Significance		苗高 Seeding height (cm)	差异显著性 Significance		苗高 Seeding height (cm)	差异显著性 Significance	
		5%	1%		5%	1%		5%	1%
0	7.52	a	A	7.72	a	A	7.41	a	A
35	5.16	b	B	6.42	a	AB	6.26	a	A
65	3.90	c	C	4.88	b	B	2.94	b	B
100	0.73	d	D	2.53	c	C	1.49	bc	BC
135	0.85	d	D	0.88	d	C	0.78	c	BC
170	0.35	e	D	0.72	d	C	0.59	c	C

表 4 不同浓度 NaCl 下大豆下胚轴长度的差异显著性测验

Table 4 Significance test for length of hypocotyls of soybean under different concentrations of NaCl

NaCl 浓度	东农 46 Dongnong46			黑农 35 Heinong35			黑农 41 Heinong41		
Concentration of NaCl (mmol/L)	苗高 Seeding height (cm)	差异显著性 Significance		苗高 Seeding height (cm)	差异显著性 Significance		苗高 Seeding height (cm)	差异显著性 Significance	
		5%	1%		5%	1%		5%	1%
0	6.18	a	A	6.94	a	A	6.89	a	A
35	5.48	a	A	5.79	ab	AB	5.96	a	A
65	3.19	b	B	4.84	b	B	2.94	b	B
100	0.85	c	C	2.53	c	C	1.49	c	BC
135	0.74	c	C	0.88	d	C	0.78	c	C
170	0.35	c	C	0.72	d	C	0.59	c	C

3 讨论

3.1 大豆不同基因型对 NaCl 耐受性

本研究中 3 个大豆基因型对 NaCl 的耐受性是不同的,以东农 46 的耐受性较差。当在培养基中加入 NaCl 时,对大豆出苗率、苗高和下胚轴长度等 3 个苗期性状上均有显著地抑制作用。而黑农 35 和黑农 41 在加入 170mmol/L 的 NaCl 时出苗率没有降低,与对照间差异未达显著水平。此外,在苗高性状上,当东农 46 加入 35mmol/L NaCl 时就显著地降低了苗高,而黑农 35 和黑农 41 则在 NaCl 浓度增加到 65mmol/L 时苗高才与对照有显著地差异。大豆不同基因型对 NaCl 的耐受性是不同的,这与水稻对 NaCl 耐受性的研究结果是一致的^[5]。因此,在大豆耐盐遗传转化筛选时应注意到这一点。

3.2 大豆苗期主要性状对 NaCl 的耐受性

大豆 3 个苗期主要性状对 NaCl 的耐受性也是不同的,以出苗率的耐受性较强。黑农 35 和黑农 41 在 NaCl 浓度达 170mmol/L 时出苗率与对照间差异未在显著水平,而东农 46 在 NaCl 浓度为 0~100mmol/L 时出苗率间无显著差异,只有 NaCl 浓

度在 135mmol/L 以上时,出苗率显著地低于对照。大豆的苗高和下胚轴长度对 NaCl 的耐受性较差,在 NaCl 浓度为 35~65mmol/L 时,3 个大豆基因型的苗高和下胚轴长度均显著地低于对照。同时发现在 NaCl 浓度为 65~100mmol/L 时苗高与下胚轴长度几乎相同,即在此浓度时上胚轴基本不生长,说明增加 NaCl 浓度时使苗高降低,主要是因为 NaCl 抑制了上胚轴的生长,可参考以上胚轴长度作为耐盐遗传转化的筛选指标。

参 考 文 献

1 Redouane C, Clive V, Atef H. Halophytes and biosaline agricul tur[M]. New York: Marcel Dekkes Inc., 1995.

2 陈士云. 反馈抑制不敏感邻氨基苯甲酸合成酶基因作为筛选标记 基因用于大豆遗传转化研究[J]. 生物工程学报, 2004, 20(5): 646 - 651.

3 于恒秀, 刘巧泉, 王玲, 等. 无抗性选择标记转 AP₁ 基因抗病水稻 新品种的选育[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2373 - 2379.

4 柯玉琴, 潘廷国. 鉴定水稻发芽种子成苗过程中耐盐性的 NaCl 琼脂固定法[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(5): 432 - 434.

5 于泉林. NaCl 对水稻不同品种发芽和幼苗生长的影响[J]. 种子, 2003, (3): 41 - 42.

NaCl TOLERANCE OF DIFFERENT GENOTYPES IN SOYBEAN UNDER TISSUE CULTURE

Wang Ping¹ Wang Gang² Ji Jing²

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

Abstract NaCl tolerance was researched by observing emergence rate, seedling height and length of hypocotyl under solid medium with three genotypes in soybean. The results showed that there was a difference in NaCl tolerance among the different genotypes of soybean. Dongnong 46 was weak for NaCl tolerance. Among three characters of seedling stage, seedling height and length of hypocotyl showed to be more sensitive to NaCl. The increase of seedling height and length of hypocotyl was inhibited when the medium was added with 35~65 mmol/L NaCl.

Key words Soybean; Genotype; NaCl tolerance

(上接 420 页)

STUDY ON ANALYSIS OF SOYBEAN QUALITY BY NEAR INFRARED TRANSMITTANCE SPECTROSCOPY

Yao Xinmiao Zhang Ruiying Li Xiaohui Cheng Aihua Zhang Xiaobo Gao Chunxia

(*Inspection and Testing Center For Quality of Cereals and Their Products,*
Ministry of Agriculture, Harbin 150086)

Abstract To study the rapid analysis method for soybean quality, 572 soybean variety samples were collected from four provinces in Northeast China. Soybean protein and oil content were analyzed by near infrared transmittance spectroscopy without destroying. Calibration model were established with data from chemical analysis and absorbed spectrum of calibration samples to improve the accuracy of prediction results. Satisfied r^2 0.9757 (protein), 0.9549 (oil) and SEP 2.18 (protein), 0.88 (oil) were achieved. Results showed that near infrared transmittance spectrum techniques could be applied in soybean quality determination, generation selection in soybean breeding program and soybean quality classification. Abundant samples and varieties applied in this research made the prediction model more practicable.

Key words Soybean; Near infrared transmittance spectroscopy; Calibration; Prediction