

大豆下胚轴不定芽对卡那霉素和氯化钠耐性的研究

郭秋云^{1,2}, 王 萍^{1,2}, 刘兆普¹

(1. 南京农业大学 资源与环境科学学院/江苏省海洋生物学重点实验室, 江苏 南京 210095; 2. 淮海工学院 海洋学院/江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏 连云港 222005)

摘要:为探讨不同基因型大豆对卡那霉素和 NaCl 的耐性, 以大豆黑农 44、合丰 35 和淮豆 9 号的下胚轴为外植体, 分别研究了不同浓度的卡那霉素和 NaCl 对不同基因型大豆下胚轴不定芽形成的影响。结果表明: 大豆不同基因型对卡那霉素和 NaCl 的耐受性不同, 且在伸长培养 42 d 时随卡那霉素和 NaCl 浓度的增加, 不定芽诱导率、芽数和芽长均显著降低; 黑农 44、合丰 35 和淮豆 9 号卡那霉素的筛选浓度分别为 100, 150, 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NaCl 的筛选浓度分别为 100, 100, 75 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

关键词:大豆; 下胚轴; 卡那霉素; NaCl; 不定芽

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2013)02-0211-05

Kanamycin and NaCl Tolerance of Adventitious Shoot Induced from Hypocotyl in Soybean

GUO Qiu-yun^{1,2}, WANG Ping^{1,2}, LIU Zhao-pu¹

(1. Key Laboratory of Marine Biology of Jiangsu Province/College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology/School of Marine Science and Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: In order to discuss the tolerance of different genotypes of soybean varieties to kanamycin and NaCl, hypocotyl from soybean genotypes including Heinong 44, Hefeng 35 and Huaidou 9 were used as the explants to investigate the formation of adventitious shoot under stress with kanamycin and NaCl. The results showed that the tolerance to kanamycin and NaCl varied with genotypes involved. With the increasing of kanamycin and NaCl concentration, the induction rate of adventitious shoot, number of shoot and length of shoot were significantly decreased in three genotypes. The critical concentration of kanamycin for Heinong 44, Hefeng 35 and Huaidou 9 were 100, 150 and 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and that of NaCl for three genotypes were 100, 100 and 75 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

Key words: Soybean; Hypocotyl; Kanamycin; NaCl; Adventitious shoot

大豆 (*Glycine max* L.) 是重要的油料作物和粮食作物, 是世界上食用油和植物蛋白的主要来源^[1]。为了增强大豆的抗逆性、提高产量, 基因工程已成为大豆育种研究最有前景的新手段。在基因转化过程中, 转化的细胞获得筛选剂抗性能在一定浓度的选择培养基上存活, 而非转化的细胞则被抑制或杀死^[2]。目前, 转化体的筛选方式包括抗生素筛选、除草剂筛选和 β -葡萄糖苷酸酶 (*GUS*) 染色反应筛选^[3]等方法。

卡那霉素 (kanamycin) 是植物转基因中经常使用的筛选标记, 它属于氨基糖苷类抗生素, 其毒性机理是与植物细胞器叶绿体和线粒体中的核糖体 30S 亚基结合, 从而阻止翻译过程干扰蛋白质合成, 导致植物细胞死亡^[4-5]。目前, 卡那霉素以其选择效率高、副作用较小以及成本较低等优点被广泛应用。现已报道利用该选择标记基因的植物超过 50 个属, 其中包含向日葵^[6]、大豆^[7]、棉花^[8]、拟南芥^[9]等双子叶

植物, 以及玉米等极少数的单子叶植物^[10]。

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。以对人体及环境没有毒害作用的 NaCl 代替抗生素作为转化耐盐基因的筛选剂则不用产生这样的担忧, 从而提高了转基因食品的安全性。以 *BADH* 耐盐基因为选择标记基因时, 可以用 NaCl 作为筛选剂。张云月等^[11]、王萍等^[12-13]研究了大豆子叶节、胚尖不定芽诱导和大豆组培条件下对 NaCl 的耐性。现对 3 个基因型大豆下胚轴在不同浓度卡那霉素和 NaCl 筛选培养基中生长情况进行研究, 以为大豆遗传转化中的抗性筛选提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆基因型黑农 44、合丰 35 和淮豆 9 号, 分别

收稿日期: 2012-10-30

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项 (2009ZX08010-013B); 中央财政支持地方高校发展专项资金 (CXTD07)。

第一作者简介: 郭秋云 (1988-), 女, 在读硕士, 主要从事近海生物资源与生态研究。E-mail: guoqiuyun@126.com。

通讯作者: 王萍 (1957-), 女, 博士, 教授, 主要从事生物技术与植物转基因研究。E-mail: y_pwang@163.com。

由黑龙江省农业科学院大豆研究所、黑龙江省农业科学院佳木斯分院和江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所提供。

1.2 方法

选取表面光滑、饱满、无病斑的大豆成熟种子采用氯气消毒法灭菌。将消毒后种子接种到种子萌发培养基($MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA}$)中培养 6 d, 取出大豆无菌苗, 用解剖刀切去子叶、侧芽和部分根, 将 0.5 ~ 1.5 cm 的下胚轴生长点朝上插入含卡那霉素或 NaCl 的不定芽诱导培养基($MS + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$)中培养 9 d, 再将其转移到含卡那霉素或 NaCl 的不定芽伸长培养基($MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$)中进行敏感性试验。卡那霉素浓度为 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。NaCl 浓度为 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。观察各处理无菌苗下胚轴的生长情况, 不定芽伸长阶段每 14 d 记录不同浓度卡那霉素或 NaCl 处理下出现不定芽的外植体数、每个下胚轴的不定芽数及芽长, 计算不定芽诱导率、平均芽数和芽长等性状^[14]。

1.3 数据分析

采用 SPSS 17.0 软件进行方差分析与差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 卡那霉素浓度对大豆下胚轴不定芽诱导的影响

黑农 44、合丰 35 和淮豆 9 号下胚轴在含不同浓度卡那霉素不定芽伸长培养基培养 42 d, 在卡那霉素浓度为 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 下胚轴长势良好; 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理下有不定芽产生, 但不伸长; 卡那霉素浓度升至 150 ~ 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 下胚轴插入培养基部分变白, 虽然能够形成不定芽, 但不定芽基本不伸长、不长叶片。

从表 1 可知, 大豆 3 种基因型下胚轴在含不同浓度卡那霉素的伸长培养基中培养 14, 28, 42 d 时, 不定芽诱导率存在显著或极显著差异 ($F_{0.05} = 2.86$, $F_{0.01} = 4.49$), 且随培养时间的增长差异更加明显; 不同卡那霉素浓度处理的芽数除淮豆 9 号在培养 14 d 时差异不显著外, 3 个基因型在培养 14, 28 和 42 d 时在卡那霉素浓度间差异均达到显著或极显著水平; 3 个基因型在培养 14 d 时不同浓度处理芽长差异均不显著, 28 d 时除合丰 35 外, 黑农 44 和淮豆 9 号不同浓度处理差异极显著, 48 d 时 3 个基因型在不同浓度处理间差异均极显著。综合分析表明, 以下胚轴作为外植体时, 在伸长培养基中培养时间越长, 卡那霉素浓度对不定芽的影响越大。

表 1 卡那霉素处理大豆下胚轴不定芽各性状的 F 值及显著性

Table 1 F value and significance of adventitious shoot traits of soybean hypocotyls treated by kanamycin

培养时间 Culture time/d	不定芽诱导率			芽数			芽长		
	Induction rate of adventitious shoot			Number of shoot			Length of shoot		
	黑农 44 Heinong 44	合丰 35 Hefeng 35	淮豆 9 号 Huaidou 9	黑农 44 Heinong 44	合丰 35 Hefeng 35	淮豆 9 号 Huaidou 9	黑农 44 Heinong 44	合丰 35 Hefeng 35	淮豆 9 号 Huaidou 9
14	3.74 *	9.55 **	13.47 **	3.52 *	15.10 **	2.37	1.38	2.07	2.14
28	5.15 **	8.31 **	47.39 **	11.14 **	34.79 **	10.59 **	7.99 **	2.56	11.84 **
42	12.11 **	10.60 **	44.66 **	13.57 **	20.03 **	8.57 **	15.90 **	19.15 **	6.19 **

* 表示 0.05 水平上差异显著, ** 表示 0.01 水平上差异显著, 下同。

* indicates the significance at 0.05 level, ** indicates the significance at 0.01 level, the same below.

对 3 种基因型培养 42 d 的不定芽诱导率、芽数、芽长进行显著性检测(表 2)。在卡那霉素浓度为 0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 大豆 3 种基因型下胚轴的不定芽诱导率均达到 100%。随卡那霉素浓度的增加, 不定芽诱导率呈下降趋势。黑农 44 和淮豆 9 号在浓度为 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时不定芽诱导率显著低于对照; 而合丰 35 在浓度为 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时不定芽诱导率才显著低于对照。当卡那霉素浓度升至 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时淮豆 9 号的不定芽诱导率为 29.17%, 下降幅度高于黑农 44 和合丰 35, 并且黑农 44 和合丰 35 的不定芽诱导率在 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及以上各卡那霉素浓度上均高于淮豆 9 号, 说明淮豆 9 号对卡那霉素反应较

敏感。

卡那霉素对不定芽芽数和芽长的影响大于不定芽诱导率, 黑农 44 的芽数和芽长在卡那霉素浓度为 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著低于对照, 合丰 35 和淮豆 9 号芽数和芽长在卡那霉素浓度为 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著低于对照。由表 2 还可看出, 黑农 44 对照的芽长为 1.98 cm, 比合丰 35 (1.21 cm) 和淮豆 9 号 (1.00 cm) 长; 黑农 44 在添加卡那霉素后, 其不定芽芽长与对照相比显著下降, 说明黑农 44 比合丰 35 和淮豆 9 号对卡那霉素更为敏感。与对照相比, 当添加 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡那霉素时, 黑农 44 的芽数显著下降, 合丰 35 和淮豆 9 号在 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时芽数显著下降, 说

明黑农 44 在 不定芽芽数和芽长上对卡那霉素反应均较其他 2 种基因型敏感。卡那霉素浓度在 100 mg·L⁻¹时,3 种基因型大豆下胚轴的芽数低于 1.50 个,芽长不到 1.00 cm;卡那霉素浓度为 250 和 300 mg·L⁻¹时,淮豆 9 号的芽数不到 1.00 个,而 3 种基因型的芽长均小于 0.6 cm。由此,可以确定黑农 44、合丰 35 和淮豆 9 号下胚轴遗传转化的适宜卡那霉素的筛选浓度分别为 100,150,100 mg·L⁻¹。

表 2 卡那霉素对大豆下胚轴不定芽诱导影响的显著性检测

卡那霉素浓度 Concentration of kanamycin/mg·L ⁻¹	不定芽诱导率			芽数			芽长		
	Induction rate of adventitious shoot/%			Number of shoot			Length of shoot/cm		
	黑农 44	合丰 35	淮豆 9 号	黑农 44	合丰 35	淮豆 9 号	黑农 44	合丰 35	淮豆 9 号
	Heinong 44	Hefeng 35	Huaidou 9	Heinong 44	Hefeng 35	Huaidou 9	Heinong 44	Hefeng 35	Huaidou 9
0	100.00 a	100.00 a	100.00 a	3.13 a	2.67 a	2.54 a	1.98 a	1.21 a	1.00 a
50	95.83 ab	95.83 a	91.67 ab	1.98 b	2.51 a	1.85 ab	1.12 b	1.10 a	0.84 ab
100	82.74 b	88.43 ab	83.33 b	1.40 bc	1.48 b	1.48 bc	0.90 bc	0.71 b	0.62 bc
150	75.00 b	75.00 bc	29.17 c	1.30 c	1.37 b	1.28 bc	0.79 bc	0.61 b	0.54 bc
200	50.00 c	62.50 bc	20.83 cd	1.08 c	1.27 b	1.17 bc	0.67 bc	0.56 b	0.53 bc
250	41.67 c	46.30 c	8.33 de	1.22 c	1.28 b	0.67 cd	0.58 c	0.54 b	0.40 cd
300	28.24 c	41.67 c	4.17 e	1.04 c	1.17 b	0.33 d	0.54 c	0.52 b	0.17 d

同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著,下同。
Values within a column followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 level,the same below.

2.2 NaCl 浓度对大豆下胚轴不定芽诱导的影响

黑农 44、合丰 35 和淮豆 9 号下胚轴在含不同浓度 NaCl 的不定芽伸长培养基培养 42 d,浓度为 25 ~ 50 mmol·L⁻¹时,下胚轴的愈伤组织较大;75 ~ 125 mmol·L⁻¹时,下胚轴愈伤组织比低浓度时小,不

定芽的顶部变黄;大于 125 mmol·L⁻¹时,下胚轴不能形成愈伤组织,不定芽基本不长叶子、也不伸长。

分别对 3 种基因型大豆在 9 种 NaCl 浓度处理下培养 14,28,42 d 的不定芽诱导率、芽数及芽长进行方差分析(表 3)。

表 3 NaCl 处理大豆下胚轴不定芽各性状的 F 值及显著性

培养时间 Culture time/d	不定芽诱导率			芽数			芽长		
	Induction rate of adventitious shoot			Number of shoot			Length of shoot		
	黑农 44	合丰 35	淮豆 9 号	黑农 44	合丰 35	淮豆 9 号	黑农 44	合丰 35	淮豆 9 号
	Heinong 44	Hefeng 35	Huaidou 9	Heinong 44	Hefeng 35	Huaidou 9	Heinong 44	Hefeng 35	Huaidou 9
14	44.12 **	23.95 **	15.86 **	9.70 **	5.60 **	5.18 **	4.71 **	10.31 **	1.87
28	30.78 **	22.79 **	15.40 **	8.42 **	7.91 **	15.40 **	3.59 *	7.91 **	4.23 **
42	23.71 **	25.45 **	57.61 **	10.34 **	16.12 **	11.22 **	25.93 **	3.45 *	7.11 **

从表 3 可知,大豆 3 种基因型下胚轴在含不同浓度 NaCl 的伸长培养基中培养 14,28,42 d 时,不定芽诱导率和芽数在 NaCl 浓度间均存在极显著差异($F_{0.01}=3.74$)。14 d 时,淮豆 9 号不定芽芽长在 NaCl 浓度间差异未达显著水平,黑农 44 培养 28 d 和合丰 35 培养 42 d 时的不定芽芽长在 NaCl 浓度间差异达显著水平($F_{0.05}=2.52$),而黑农 44 培养 14 和 42 d、合丰 35 培养 14 和 28 d,以及淮豆 9 号培养 28 和 42 d 的不定芽芽长在 NaCl 浓度间均存在极显著差异。

对 3 种基因型培养 42 d 的不定芽诱导率、芽数、芽长进行的显著性检测。从表 4 可知,黑农 44 和合丰 35 的不定芽诱导率和芽数在浓度分别为 100 和 50 mmol·L⁻¹时显著低于对照,而 NaCl 浓度

对淮豆 9 号的影响较大,在 50 mmol·L⁻¹时不定芽诱导率显著低于对照,芽数在 75 mmol·L⁻¹时显著低于对照。NaCl 浓度对黑农 44 和淮豆 9 号不定芽芽长的影响大于不定芽诱导率和芽数,在浓度 25 mmol·L⁻¹时显著低于对照,合丰 35 的芽长在 100 mmol·L⁻¹时显著低于对照。可见,与卡那霉素相似,NaCl 对大豆不同基因型下胚轴不定芽各性状的影响存在差异。

不同基因型大豆下胚轴不定芽诱导率因 NaCl 浓度而异。NaCl 浓度在 0 ~ 25 mmol·L⁻¹时,大豆 3 种基因型的不定芽诱导率均为 100%,而浓度在 25 ~ 50 mmol·L⁻¹时,黑农 44 和合丰 35 的不定芽诱导率没有变化,但淮豆 9 号不定芽诱导率下降到 91.67%,可见在 NaCl 浓度小于 50 mmol·L⁻¹时,3

种基因型对 NaCl 耐性相似。当 NaCl 浓度高于 50 mmol·L⁻¹时,随 NaCl 浓度的增加,3 种基因型的不定芽诱导率均呈下降趋势;当浓度达 175 ~ 200 mmol·L⁻¹时,不定芽诱导率均等于或小于 50.00%。大豆 3 种基因型下胚轴的不定芽芽数对 NaCl 的耐性相似,NaCl 浓度为 0 和 25 mmol·L⁻¹时,3 种基因型的不定芽芽数变化不大,25 mmol·L⁻¹时合丰 35 芽数甚至高于对照。说明低浓度的 NaCl 有可能促进下胚轴不定芽的形成,而高浓度的 NaCl 则起抑制作用。黑农 44 对照的芽长达

到 2.33 cm,明显高于合丰 35 和淮豆 9 号的芽长。NaCl 浓度达到 75 mmol·L⁻¹时,3 种基因型的不定芽芽长均低于 1.00 cm。与不定芽诱导率趋势相似,不定芽芽数和芽长随 NaCl 浓度增加而减小。3 种基因型中,NaCl 浓度在 0 ~ 150 mmol·L⁻¹时黑农 44 和淮豆 9 号的不定芽芽长均高于合丰 35。综上,以 NaCl 为筛选剂时,黑农 44、合丰 35、淮豆 9 号大豆下胚轴遗传转化适宜的筛选浓度分别为 100, 100, 75 mmol·L⁻¹。

表 4 NaCl 对大豆下胚轴不定芽诱导影响的显著性检测

Table 4 Significance test for adventitious shoot traits of soybean hypocotyls treated by NaCl

NaCl 浓度 Concentration of NaCl/mmole·L ⁻¹	不定芽诱导率			芽数			芽长		
	Induction rate of adventitious shoot/%			Number of shoot			Length of shoot/cm		
	黑农 44 Heinong 44	合丰 35 Hefeng 35	淮豆 9 号 Huaidou 9	黑农 44 Heinong 44	合丰 35 Hefeng 35	淮豆 9 号 Huaidou 9	黑农 44 Heinong 44	合丰 35 Hefeng 35	淮豆 9 号 Huaidou 9
0	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.54 a	2.25 a	2.44 a	2.33 a	1.04 a	1.41 a
25	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2.54 a	2.42 a	2.38 a	1.55 b	1.01 a	1.08 b
50	100.00 a	100.00a	91.67 b	1.92 b	1.71 b	2.23 ab	1.09 c	0.82 ab	0.92 bc
75	91.67 ab	91.67 ab	87.50 bc	1.45 bc	1.36 bed	1.86 bc	0.83 cd	0.70 ab	0.76 bed
100	87.50 bc	85.42 bc	82.74 c	1.38 bc	1.60 bc	1.63 cd	0.69 de	0.65 b	0.74 bed
125	66.67 cd	75.00 c	75.00 c	1.43 bc	1.27 cd	1.18 de	0.60 de	0.57 b	0.69 cd
150	62.50 d	50.00 d	58.33 d	1.36 bc	1.25 cd	1.33 de	0.63 de	0.59 b	0.68 cd
175	33.33 e	50.00 d	29.16 e	1.08 c	1.33 bed	1.28 de	0.52 de	0.53 b	0.58 cd
200	20.83 e	33.33 d	12.50 f	0.94 c	1.00 d	1.00 e	0.39 e	0.50 b	0.50 d

3 讨 论

在目的基因转化过程中,如果选择携带一些针对某些作物较敏感的选择剂作为标记基因,并且选择敏感的材料和处理方法,可以在一定程度上提高基因转化效率^[15]。理论上筛选剂的浓度越高,选择效率越高,但如果浓度过高,也会导致组织细胞的生长受到一定程度的抑制。因此,在大豆下胚轴遗传转化过程中,要根据不同的基因型和外植体确定适宜的筛选压,以避免因筛选浓度影响转化体的筛选效果。

本试验研究了大豆下胚轴对卡那霉素和 NaCl 的耐性,在大豆下胚轴不定芽诱导及不定芽伸长培养基中添加不同浓度卡那霉素或 NaCl 对黑农 44、合丰 35、淮豆 9 号不定芽的形成有明显的抑制作用,并且对不同基因型抑制的程度不同。伸长培养 42 d 时,随卡那霉素或 NaCl 浓度的增加下胚轴不定芽诱导率、芽数和芽长都显著降低。综合下胚轴不定芽 3 个性状考虑,黑农 44 和淮豆 9 号下胚轴卡那霉素筛选的适宜浓度为 100 mg·L⁻¹,合丰 35 适宜浓度为 150 mg·L⁻¹;黑农 44 和合丰 35 NaCl 筛选的

适宜浓度为 100 mmol·L⁻¹,淮豆 9 号为 75 mmol·L⁻¹。王萍等^[16-18]研究表明以出愈率和体细胞胚胎发生率为指标时,子叶节不定芽和未成熟子叶体细胞胚在卡那霉素为 50 ~ 100 mg·L⁻¹时显著低于对照;而大豆胚尖在卡那霉素浓度为 200 mg·L⁻¹时,其不定芽诱导率和芽数显著低于对照。可见,下胚轴对卡那霉素的耐性与子叶节和未成熟子叶体细胞相似,但比胚尖敏感。张云月等^[11]和王萍等^[12]研究表明,大豆子叶节分化的 NaCl 筛选浓度为 175 ~ 225 mmol·L⁻¹,而 NaCl 浓度为 25 mmol·L⁻¹时就显著抑制黑农 37 胚尖不定芽的形成与生长;大豆下胚轴对 NaCl 的耐性比胚尖强,比子叶节耐性弱。说明大豆不同基因型及其外植体对各种抗生素及 NaCl 的耐性存在差异。

参考文献

- [1] 王连铮,王金陵. 大豆遗传育种学[M]. 北京:科学出版社, 1992:1-81. (Wang L Z, Wang J L. Soybean genetic breeding[M]. Beijing: Science Press, 1992:1-81.)
- [2] 王关林,方宏筠. 植物基因工程原理与技术[M]. 北京:科学出版社, 1998:168-188. (Wang G L, Fang H J. Plant genetic engineering principles and technology[M]. Beijing: Science Press,

- 1998;168-188.)
- [3] Vasil I K. Molecular improvement of cereal[J]. Plant Molecular Biology, 1994, 25: 925-937.
- [4] 张春涛,朱洪德,殷奎德. 大豆子叶节对卡那霉素的敏感性研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(23): 11584-11586. (Zhang C T, Zhu H D, Yin K D. Susceptibility of soybean cotyledonary node to kanamycin[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(23): 11584-11586.)
- [5] Bijvoet J P N J, Stiekema W J. 转基因植物中的卡那霉素抗性[J]. 生物技术通报, 1998(1): 29-31. (Bijvoet J P N J, Stiekema W J. Kanamycin resistance in transgenic plants[J]. Biotechnology Bulletin, 1998(1): 29-31.)
- [6] Tao J, Tan R F, Li L. Genetic transformation of sunflower(*Helianthus Annuus* L.) mediated by *Agrobacterium* rhizogenes[J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(5): 743-748.
- [7] 徐鹏飞,张淑珍,吴俊江,等. 利用卡那霉素对花粉管通道法转基因大豆的筛选研究[J]. 大豆科学, 2005, 24(3): 275-278. (Xu P F, Zhang S Z, Wu J J, et al. The study on the screening of transgene soybean by way of pollen-tube using kanamycin[J]. Soybean Science, 2005, 24(3): 275-278.)
- [8] Balasubramani G, Amudha J, Kumar C P A, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation in Indian cotton(*G. hirsutum*) cultivar with *cry1A(b)* gene and regeneration by direct shoot organogenesis[J]. Cotton Science, 2003, 15(1): 51-58.
- [9] 张萍,王斐,孙辉,等. 棉花 *GhACO1* 基因植物表达载体构建及拟南芥遗传转化[J]. 生物学杂志, 2011, 28(6): 19-22. (Zhang P, Wang F, Sun H, et al. Construction of plant expression vector of cotton *GhACO1* and genetic transformation of *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Biology, 2011, 28(6): 19-22.)
- [10] 李茫雪,张赫然,于晶,等. 花粉管通道法将 *Bt-CPTI* 双价抗虫基因转入玉米自交系的研究[J]. 玉米科学, 2010, 18(1): 29-33, 41. (Li M X, Zhang H R, Yu J, et al. Transferring two *Bt-CPTI* insect-insect genes into maize inbred lines by pollen tube pathway [J]. Journal of Maize Sciences, 2010, 18(1): 29-33, 41.)
- [11] 张云月,王鹏,王丕武,等. 大豆子叶节及苗期 NaCl 筛选试验研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(3): 438-441. (Zhang Y Y, Wang P, Wang P W, et al. Susceptibility of soybean cotyledonary node and seedlings to NaCl stress[J]. Soybean Science, 2011, 30(3): 438-441.)
- [12] 王萍,李文滨,张淑珍,等. 大豆胚尖不定芽对 NaCl 耐性的研究[J]. 作物杂志, 2009(6): 72-74. (Wang P, Li W B, Zhang S Z, et al. NaCl Tolerance of adventitious shoot from embryonic tip in soybean[J]. Crops, 2009(6): 72-74.)
- [13] 王萍,王罡,季静. 大豆基因型在大豆组织培养条件下对 NaCl 耐性的研究[J]. 大豆科学, 2006, 25(4): 421-424. (Wang P, Wang G, Ji J. NaCl tolerance of different genotypes in soybean under tissue culture[J]. Soybean Science, 2006, 25(4): 421-424.)
- [14] 郭秋云,王萍,刘兆普. IBA 和 6-BA 浓度对比对诱导大豆下胚轴不定芽的影响[J]. 大豆科学, 2012, 31(5): 725-730. (Guo Q Y, Wang P, Liu Z P. Effect of IBA and 6-BA ratio on adventitious shoot induction from hypocotyl in soybean[J]. Soybean Science, 2012, 31(5): 725-730.)
- [15] 袁鹰,刘德璞,王玉民,等. 卡那霉素对大豆生长的抑制及筛选试验研究[J]. 大豆科学, 2003, 22(4): 261-263. (Yuan Y, Liu D P, Wang Y M, et al. Study on critical and screen soybean grow of kanamycin[J]. Soybean Science, 2003, 22(4): 261-263.)
- [16] 王萍,王罡,吴颖,等. 抗生素对大豆未成熟子叶愈伤形成和体细胞胚胎发生的影响[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(1): 14-17. (Wang P, Wang G, Wu Y, et al. Effects of antibiotics on callus formation and somatic embryogenesis from immature cotyledons of soybean[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(1): 14-17.)
- [17] 王萍,吴颖,季静,等. 抗生素对大豆愈伤组织的诱导和生长的影响[J]. 遗传, 2001, 23(4): 321-324. (Wang P, Wu Y, Ji J, et al. Effect of antibiotics on induction of callus and callus growth in soybean[J]. Hereditas, 2001, 23(4): 321-324.)
- [18] 王萍,张淑珍,李文滨,等. 大豆不同基因型胚尖不定芽的诱导及对抗生素的敏感性[J]. 作物杂志, 2010(2): 50-53. (Wang P, Zhang S Z, Li W B, et al. Induction of adventitious shoots from embryonic tip of different soybean genotypes and their sensibility to antibiotics[J]. Crops, 2010(2): 50-53.)

产业动态

“中黄 13 的选育与应用”获得国家科技进步一等奖

孙君明

(中国农业科学院作物科学研究所)

2013 年 1 月 18 日, 2012 年度国家科学技术奖励大会在人民大会堂隆重举行。中国农业科学院作物科学研究所王连铮研究员主持完成的“广适高产优质大豆新品种中黄 13 的选育与应用”成果获国家科技进步奖一等奖。

1987 年以来, 王连铮研究员带领研究团队, 针对黄淮海地区南北跨度大、生态条件复杂、品种适应范围窄、单产低、品质差等突出问题, 开展广适、高产、优质大豆新品种选育与应用研究, 培育出中黄 13 等 20 余个大豆新品种, 并建立了“育繁推一体化”推广模式, 在全国 14 个省(市、区)大面积推广应用, 累计推广 460 多万 hm^2 , 提升了我国大豆育种的整体水平, 促进了黄淮海地区大豆生产的发展, 为保障我国食物安全和农民增收做出了重要贡献。