

6-BA 和 IBA 浓度对不同基因型大豆胚尖诱导丛生芽的影响

许 诺, 张 君, 王丕武

(吉林农业大学 生物技术中心, 吉林 长春 130118)

摘 要:以吉林 17, 吉林 27, 吉林 28 和吉林 29 共 4 种大豆基因型胚尖为外植体诱导丛生芽, 研究了不同浓度的六苄基嘌呤(6-BA)和吲哚丁酸(IBA)对胚尖再生率的影响。结果表明:不同基因型大豆在不同激素浓度配比下再生率存在明显差异。吉林 28 和吉林 29 更适合大豆胚尖再生系统, 其最佳激素配比均为 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, 再生率为分别达 78.17% 和 80.04%。

关键词:大豆; 六苄基腺嘌呤(6-BA); 吲哚丁酸(IBA); 胚尖; 丛生芽诱导

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)04-0678-02

Effect of 6-BA and IBA Concentration on Shoots Induction from Embryonic Tips of Four Soybean Genotypes

XU Nuo, ZHANG Jun, WANG Pi-wu

(Biotechnology Center, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China)

Abstract: The embryonic tips of four soybean genotypes, including Jilin17, Jilin27, Jilin 28 and Jilin 29, were used as explants to study the effect of different 6-BA and IBA concentration on regeneration rates of embryonic tips. Results showed that generation rate obviously different among four genotypes, Jilin 28 and Jilin 29 were appropriate for embryonic tips system. The best proportion of 6-BA/IBA for Jilin 28 and Jilin 29 was both $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, and the regeneration rate reached 78.17% and 80.04%, respectively.

Key words: Soybean; N6-Benzylaminopurine(6-BA); Indole-3-Butyric acid(IBA); Embryonic tips; Shoots induction

大豆遗传转化方法主要包括农杆菌介导法、基因枪法和花粉管通道法等。农杆菌介导法具有操作简单、成本低、可靠性高、转化效率相对较高的特点,而且可以转化较大的外源基因片段,不易产生基因重排现象,且符合孟德尔遗传规律^[1],因而备受科研工作者的重视^[2]。因转化受体的不同,可将大豆遗传转化分为胚尖转化法和子叶节转化法,胚尖转化法又以取材方便、操作简单、周期短^[3]而受到广泛关注。基因型和转化过程中的激素浓度对大豆的胚尖转化效率产生较大影响。2004 年刘海坤等^[4]首次报道了以胚尖为外植体的遗传转化,在该实验中胚尖的再生效率高达 87.7%,远高于下胚轴(56.4%)和子叶节(40.3%)的再生率。王萍等^[5-6]研究了大豆基因型、浸种时间对胚尖不定芽再生的影响,结果不同基因型的再生率差异较大,且不同基因型大豆胚尖诱导时所需的激素浓度不同,诱导时间也不相同。研究发现 6-BA 可刺激大豆外植体中内源分裂素的产生,促使分生组织分裂并打破顶端优势,促使不定芽的形成,对子叶节再生体系和胚尖再生体系中丛生芽诱导和伸长有影响^[7-8]。因此筛选出再生能力强的基因型并确定适宜的激素浓

度对大豆胚尖遗传转化有着重要的意义。该试验采用农杆菌介导的转化方法,以 4 种大豆基因型的胚尖为受体材料,比较不同 6-BA 和 IBA 浓度下的胚尖再生率,为建立高效大豆再生体系奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆品种吉林 17、吉林 27、吉林 28 和吉林 29,由吉林农业大学生物技术中心提供。

1.2 方法

选取种皮完整无病斑、无虫害、无霉菌的成熟的大豆种子,用氯气消毒后浸泡在无菌水中。20 ~ 24 h 后取出萌动的种子,无菌条件下去掉种皮和 2 片子叶,切去 2 片原叶和胚根部分^[8],将得到的胚尖接种到不定芽诱导培养基(MS 培养基的无机盐 + B5 培养基的有机部分,附加 $0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ MES、 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂, pH 5.8)。置于培养室中培养,培养温度 25°C ,光照周期为 16 h 光照 / 8 h 黑暗,光照强度 2000 Lx。10 d 转接 1 次,20 d 后统计伸长芽数,调查胚尖再生率情况。在诱导培养基中分别加入不同浓度 6-BA 和 IBA(表 1),研究大豆

收稿日期:2012-04-25

第一作者简介:许诺(1985-),男,在读硕士,研究方向为作物遗传育种。E-mail:seer.sino@hotmail.com。

通讯作者:王丕武(1958-),男,博士,教授,主要从事作物遗传育种研究。E-mail:peiwuw@yahoo.com.cn。

胚尖对 2 种激素的敏感性。

表 1 诱导培养基中 6-BA 和 IBA 激素浓度配比

Table 1 Concentrations of 6-BA and IBA in induction medium (mg·L ⁻¹)					
编号 No.	6-BA	IBA	编号 No.	6-BA	IBA
1	0.5	0.10	10	1.5	0.10
2	0.5	0.15	11	1.5	0.15
3	0.5	0.20	12	1.5	0.20
4	0.7	0.10	13	2.0	0.10
5	0.7	0.15	14	2.0	0.15
6	0.7	0.20	15	2.0	0.20
7	1.0	0.10	16	2.5	0.10
8	1.0	0.15	17	2.5	0.15
9	1.0	0.20	18	2.5	0.20

1.3 数据统计

采用 Excel 2003 进行数据整理分析。

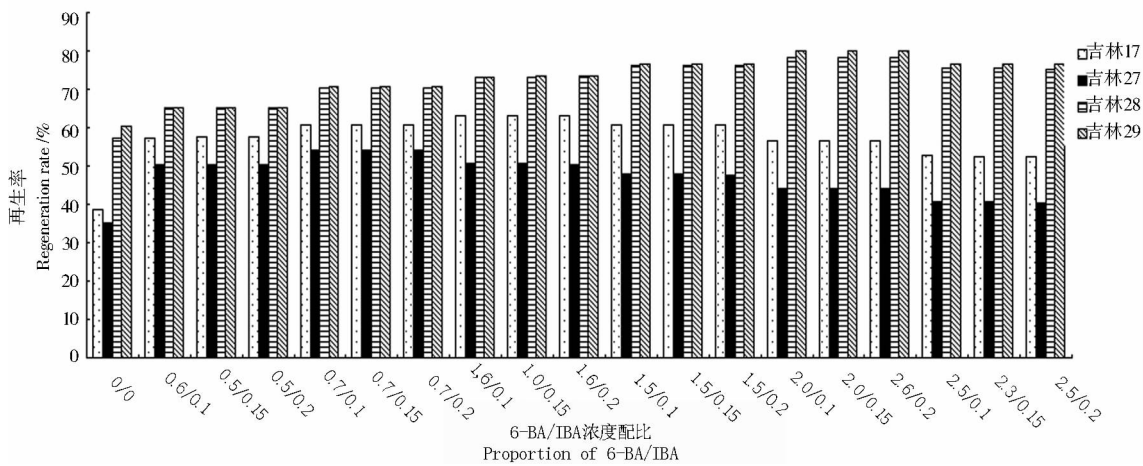


图 1 6-BA 和 IBA 对 4 种大豆基因型胚尖再生率的影响

Fig.1 Effect of 6-BA and IBA on regeneration rate of 4 genotypes

3 讨 论

丛生芽的诱导是大豆转化再生系统的基础环节,其数量和质量直接影响着整个再生系统的优劣,6-BA 被认为可刺激子叶节内源分裂素的产生,促使分生组织分裂并打破顶端优势,促使子叶节膨大及不定芽的形成,添加适量的 IBA 可促进丛生芽的诱导。本研究结果表明,向培养基中添加 6-BA 和 IBA 可以显著提高胚尖的再生率,不同基因型间存在显著差异。说明基因型和激素浓度是影响大豆再生率的重要因素。这与卜云萍等^[9]和王岚等^[10]的结果一致。从实验结果看出,吉林 28 和吉林 29 更适合作为遗传转化的受体,而且不同基因型对激素的敏感程度也不同,吉林 17 和吉林 27 对激素较吉林 28 和吉林 29 更为敏感,添加过低或过高的激素都不利于丛生芽的产生,这与王萍等^[11]的研究结果相似。因此选择合适的受体与适当的激素配比,才能大幅度提高再生频率。

2 结果与分析

如图 1 所示,各大豆基因型添加激素后的再生率比未添加激素显著提高,且不同基因型对 6-BA 和 IBA 敏感度不同,吉林 28 和吉林 29 胚尖再生率显著高于吉林 17 和吉林 27,吉林 27 的胚尖再生率显著低于其它 3 个基因型。吉林 17 和吉林 27 最适 6-BA 浓度主要集中在 0.5 ~ 1.0 mg·L⁻¹,吉林 28 和吉林 29 浓度主要集中在 1.5 ~ 2.0 mg·L⁻¹,4 个基因型最适 IBA 浓度都集中在 0.15 ~ 0.2 mg·L⁻¹。可见 6-BA 对诱导芽的再生产生较大的影响。吉林 28 和吉林 29 更适合大豆胚尖再生系统,其最佳激素配比均为 2.0 mg·L⁻¹6-BA + 0.2 mg·L⁻¹IBA,再生率为分别达 78.17% 和 80.04%。

参考文献

[1] Hiei Y, Komari T, Ishida Y, et al. Development of *Agrobacterium*-mediated transformation method for monocotyledonous plants[J]. Research Journal of Food and Agriculture, 2002, 25(2): 14-17.

[2] 党尉, 卫志明. 根瘤农杆菌介导的高效大豆遗传转化体系的建立[J]. 分子细胞生物学, 2007, 40(3): 185-195. (Dang W, Wei Z M. Construction of soybean genetic transformation by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation[J]. Journal of Molecular Cell Biology 2007, 40(3): 185-195.)

[3] 刘海坤, 卫志明. 大豆遗传转化研究进展[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(2): 126-134. (Liu H K, Wei Z M. Development of soybean genetic transformation [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2005, 31(2): 126-134.)

[4] 刘海坤, 卫志明. 利用根瘤农杆菌介导转化大豆成熟种子胚尖获得转基因植株[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(6): 631-636. (Liu H K, Wei Z M. Transgenic soybean obtained with *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of embryonic tip of soybean mature seeds[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30(6): 631-636.)

参考文献

- [1] 徐俊锋,孙彩霞,陈笑芸.转基因食品现状及贸易措施分析[J].中国农学通报,2009,25(22):42-46. (Xu J F, Sun C X, Chen X Y. Status of genetically modified food and analysis of trade measures[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(22):42-46.)
- [2] 张洪瑞,朱其松,宋克勤,等.转基因食品的安全性评价与检测技术[J].河北农业科学,2008,12(9):101-105. (Zhang H R, Zhu Q S, Song K Q, et al. Study on the safety evaluation and detection techniques of transgenic foods[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2008, 12(9):101-105.)
- [3] 李云河,李香菊,彭于发.转基因耐除草剂作物的全球开发与利用及在我国的发展前景和策略[J].植物保护,2012,37(6):32-37. (Li Y H, Li X J, Peng Y F. Global development of herbicide tolerant transgenic crops and a strategic prospect for China[J]. Plant Protection, 2012, 37(6):32-37.)
- [4] 蒋亦武,黄明,王保战,等.转基因大豆及其制品中转基因成分检测技术研究进展[J].江苏农业科学,2011(1):345-348. (Jiang Y W, Huang M, Wang B Z, et al. Progress on detection technology of transgenic soybean and its products[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2011(1):345-348.)
- [5] 李建平,肖琴,周振亚,等.转基因作物产业化现状及我国的发展策略[J].农业经济问题,2012(1):23-29. (Li J P, Xiao Q, Zhou Z Y, et al. The industrialization status of GM crops and the development strategy of China[J]. Issues in Agricultural Economy, 2012(1):23-29.)
- [6] 庾晋.进口大豆对国内市场影响[J].西部粮油科技,2003,28(6):3-4. (Yu J. Influence of importing soybean on domestic market[J]. China Western Cereals & Oils Technology, 2003, 28(6):3-4.)
- [7] 张兴敏,于洪敏,魏健,等.转基因食品中外源DNA降解和代谢的研究进展[J].中国农业科技导报,2008(10):52-57. (Zhang X M, Yu H M, Wei J, et al. research progress on degradation and metabolism of foreign dna in genetically modified food (GMF)[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2008(10):52-57.)
- [8] GB/T19495.3-2004,转基因产品检测-基因芯片检测方法[S].北京,2004. (GB/T19495.3-2004, Detection of genetically modified organisms and derived products nucleic acid extraction[S]. Beijing, 2004.)
- [9] 谭涛,陈超.我国转基因农产品生产、加工与经营环节安全监管:政策影响与战略取向[J].南京农业大学学报(社会科学版),2011,11(3):132-137. (Tan T, Chen C. Safety supervision of genetically modified agricultural production, processing and management: Policy implications and strategic orientation[J]. Journal of Nanjing Agricultural University (Social Science), 2011, 11(3):132-137.)
- [10] Zhou X, Liu W, Lian J, et al. Monitoring of Roundup (TM) Ready Soybean in Guangdong province in China[J]. Food Control, 2007: 1219-1222.
- [11] 吴宏中,高东微,董洁,等. PCR-GeneScan 法检测转基因产品[J].生物技术,2001,11(5):1-4. (Wu H Z, Gao D W, Dong J, et al. Detection of genetically modified soya and maize by PCR-GeneScan[J]. Biotechnology, 2001, 11(5):1-4.)
-
- (上接第 679 页)
- [5] 王萍,吴颖,季静,等.大豆组织培养的研究进展[J].大豆科学,2003,22(2):142-145. (Wang P, Wu Y, Ji J, et al. Current progress on tissue culture of soybean[J]. Soybean Science, 2003, 22(2):142-145.)
- [6] 王萍,张艳君,管娟娟,等.大豆胚尖不定芽诱导影响因子的研究[J].作物杂志,2011(1):17-20. (Wang P, Zhang Y J, Guan J J, et al. Induction of adventitious buds from embryonic tip in soybean[J]. Crops, 2011(1):17-20.)
- [7] 邱承祥,武天龙.6-BA 对大豆茎尖诱导再生植株的研究[J].大豆科学,2003,22(1):32-35. (Qiu C X, Wu T L. Study on 6-BA to the regeneration of tip shoot of soybean[J]. Soybean Science, 2003, 22(1):32-35.)
- [8] 林树柱,曹越平,卫志明,等.6-BA 诱导大豆子叶节和茎尖出芽的研究[J].上海交通大学学报(农业科学版),2005,23(2):138-142. (Lin S Z, Cao Y P, Wei Z P, et al. Studies on shoots induced by 6-BA from cotyledonary nodes and embryonic tips of soybean[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Agriculture Science) 2005, 23(2):138-142.)
- [9] 卜云萍,李明春,胡国武,等.大豆子叶节组培再生系统与农杆菌介导的基因转化系统的比较研究[J].南开大学学报(自然科学版),2003,36(1):103-108. (Bu Y P, Li C M, Hu G W, et al. The study of comparing the transformation system of *Agrobacterium*-mediated and regeneration system of cotyledon node of soybean culture[J]. Journal of Nankai University (Nature Science Edition), 2003, 36(1):103-108.)
- [10] 王岚, Clemente T, 王连铮,等.大豆品种的再生性能及对 EHA101 农杆菌的敏感性[J].作物学报,2003,29(5):664-669. (Wang L, Clemente T, Wang L J, et al. Regeneration study of soybean cultivars and their susceptibility to *Agrobacterium tumefaciens* EHA101 [J]. Acta Agronomica Sinica, 2003, 29(5):664-669.)
- [11] 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 genotype and their sensibility to antibiotics[J]. Crops, 2010(2):50-53.)