

IBA 和 6-BA 浓度对比对诱导大豆下胚轴不定芽的影响

郭秋云^{1,2}, 王 萍^{1,2}, 刘兆普²

(1. 淮海工学院 海洋学院, 江苏 连云港 222005; 2. 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)

摘 要:以大豆黑农 44 下胚轴为外植体, 研究不定芽诱导培养基中 IBA 和 6-BA 浓度及对比对不定芽诱导与伸长的影响。结果表明, 以 MS 基本培养基 + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA 为大豆无菌苗培养基, 在诱导培养基中不添加 6-BA 时有利于下胚轴不定芽的诱导, 添加 0.1 mg·L⁻¹ IBA 时, 培养 14 d 不定芽诱导率可达 96.69%, 每个下胚轴形成 2.31 个芽(芽长 ≥ 0.5 cm); 不定芽诱导培养基中添加高浓度 6-BA 和 IBA 组合不利于大豆下胚轴不定芽的诱导与伸长。

关键词:大豆; 下胚轴; 不定芽; IBA; 6-BA

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)05-0725-06

Effect of IBA and 6-BA Ratio on Adventitious Shoot Induction from Hypocotyl in Soybean

GUO Qiu-yun^{1,2}, WANG Ping^{1,2}, LIU Zhao-pu²

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

Abstract: Hypocotyl from soybean Heinong 44 was used as the explants to investigate the effects of IBA and 6-BA and the concentration ratio on the adventitious shoot induction and elongation. The higher induction rate of adventitious shoots from hypocotyls was observed in the induction MS medium without 6-BA while the seeds germinated on MS medium + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA. Induction rate and number of adventitious shoots reached 96.69% and 2.31 (shoot length ≥ 0.5 cm) respectively cultured for 14 days on induction MS medium with addition of 0.1 mg·L⁻¹ IBA. Shoot induction medium with higher concentration of 6-BA and IBA significantly reduced the induction and elongation of adventitious shoots from hypocotyl of soybean.

Key words: Soybean; Hypocotyl; Adventitious shoot; IBA; 6-BA

大豆 (*Glycine max* L.) 是重要的油料作物和植物蛋白来源^[1], 利用生物技术方法改良某些遗传特性已成为培育大豆优良品种的有效方法。但是, 与其它植物相比, 大豆再生植株较困难, 遗传转化研究进展缓慢, 而建立良好大豆组织培养再生系统是大豆遗传转化的前提。大豆组织培养的器官发生途径主要是以子叶节、胚尖为外植体, 以下胚轴作为外植体的研究较少。1988 年, Dan 和 Reichert^[2]建立了以下胚轴为外植体经过器官发生途径的高效大豆再生体系。这一体系已被用于农杆菌介导的遗传转化, 与以大豆子叶节为外植体的遗传转化体系相比, 利用大豆下胚轴为受体建立大豆遗传转化体系的方法, 操作简单, 可在较短时间内快速高效产生不定芽。因此, 完善以下胚轴为受体建立的大豆遗传转化体系, 对通过基因工程手段加速大豆品种改良具有重要的现实意义^[3-6]。

本文研究了 6-BA 与 IBA 不同浓度及对比对大豆下胚轴外植体不定芽诱导与伸长的影响, 以期筛选适宜的大豆下胚轴不定芽诱导培养基, 优化大豆

下胚轴器官发生再生体系, 为进一步的大豆转基因研究奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆品种黑农 44, 由黑龙江省农业科学院大豆研究所提供。

1.2 方法

取表面光滑无病斑的大豆成熟种子, 放入含 NaClO/HCl (10:3) 的干燥器中灭菌 8 h, 接种到 MS 基本培养基^[7] + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA 的无菌苗培养基 (附加 3% 蔗糖, 0.7% 琼脂) 中。6 d 时取出大豆无菌苗, 切去子叶、侧芽和部分根, 将 0.5 ~ 1.5 cm 的下胚轴生长点向上插入添加有 6-BA 与 IBA 不同浓度及对比的不定芽诱导培养基中, 在 25 ± 1℃、光周期 16 h/8 h 条件下培养诱导不定芽的产生。诱导培养 7 d, 将下胚轴接种于添加 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA 和 0.2 mg·L⁻¹ IBA 的伸长培养基中, 每 14 d 转接 1 次, 记录各种激素浓度下出现不定芽的外植体数、

收稿日期: 2012-04-17

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资助 (CXTD07)。

第一作者简介: 郭秋云 (1988-), 女, 在读硕士, 研究方向为近海生物资源与生态。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。

每个下胚轴的不定芽数、芽长,计算不定芽诱导率、平均芽数、芽长等性状。

不定芽诱导率(%) = 出芽外植体数/接种外植体数 × 100;

芽数(个) = 不定芽数(芽高 ≥ 0.5 cm)/出芽外植体数;

芽长(cm) = 不定芽长(芽高 ≥ 0.5 cm)/不定芽数。

1.3 数据分析

采用 Excel 2007 作图,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 6-BA 浓度对下胚轴不定芽诱导的影响

以黑农 44 为材料,在 MS 培养基中分别添加 7 个 6-BA 浓度(0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg · L⁻¹),诱导下胚轴不定芽产生,诱导培养 14、28 和 42 d 时调查不定芽诱导率、平均芽数、平均芽长等。

由图 1 可见,诱导培养 14 d 时,下胚轴的不定芽诱导率随 6-BA 浓度增大呈下降趋势,6-BA 浓度为 0 时不定芽诱导率最高,为 71.71%。诱导培养 28 d 时,各 6-BA 浓度下不定芽诱导率均较 14 d 时有较大增加,变幅为 47.04% ~ 92.50%,6-BA 浓度间的不定芽诱导率差异较 14 d 时有所减小。诱导培

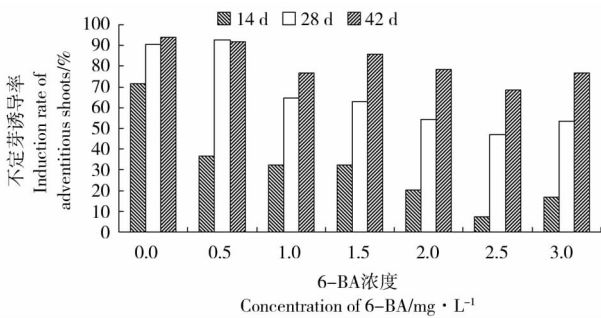


图 1 6-BA 浓度对黑农 44 下胚轴不定芽诱导率的影响

Fig.1 Effect of different 6-BA concentration on induction rate of adventitious shoots of Heinong44 hypocotyls

表 1 不同 6-BA 浓度处理黑农 44 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 Heinong44 hypocotyls under different concentration of 6-BA

培养时间 Culture time/d	不定芽诱导率 Induction rate of adventitious shoot	芽数 Number of shoots	芽长 Length of shoots
14	1.94	1.60	1.52
28	2.61	4.57**	0.49
42	0.74	2.81	0.06

** 0.01 水平上差异显著,下同。

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

养 42 d 时,各 6-BA 浓度的不定芽诱导率均在 70% 以上。并且 6-BA 浓度在 14 d 时对不定芽诱导的影响大于 28 和 42 d。

不同浓度 6-BA 处理下的不定芽芽数、芽长与不定芽诱导率变化趋势相似。在培养 14 d 时,诱导培养基中不添加 6-BA 时芽数最多,为 1.74 个;6-BA 在 3.0 mg · L⁻¹ 时最少,为 0.67 个,芽数随 6-BA 浓度增大而减少(图 2)。诱导培养 42 d 时,不同 6-BA 浓度处理下不定芽芽长差别较小,变幅为 1.59 ~ 1.96 cm(图 3)。

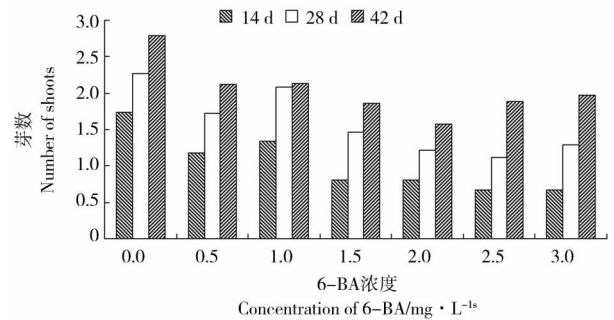


图 2 6-BA 浓度对黑农 44 下胚轴不定芽芽数的影响

Fig.2 Effect of different 6-BA concentration on number of adventitious shoots of Heinong44 hypocotyls

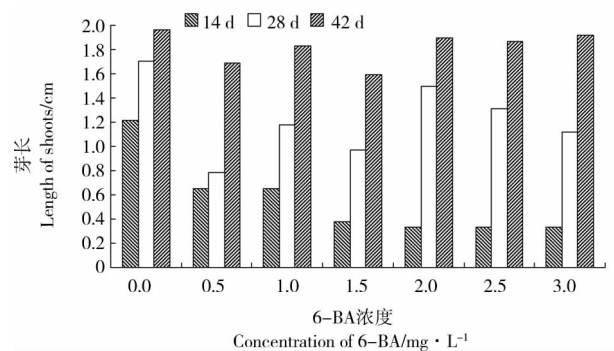


图 3 6-BA 浓度对黑农 44 下胚轴不定芽芽长的影响

Fig.3 Effect of different 6-BA concentration on length of adventitious shoots of Heinong44 hypocotyls

对不同 6-BA 浓度处理下黑农 44 下胚轴诱导培养 14、28 和 42 d 的不定芽诱导率、芽数及芽长进行方差分析,结果见表 1。

从表 1 可以看出,培养 14 d 的不定芽诱导率、芽数及芽长均无显著性差异,培养 28、42 d 的不定芽诱导率、芽长在不同 6-BA 浓度间无显著性差异,而 28 d 时不同 6-BA 浓度间的不定芽芽数存在极显著差异 $F=4.57(F_{0.01}=4.46)$ 。差异显著性测验结果表明,6-BA 浓度 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的不定芽芽数最多(2.27个),与 $0.5、1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 差异不显著,显著高于 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、极显著高于 6-BA 浓度为 $2.0、2.5、$

$3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的不定芽芽数。

2.2 6-BA 及 IBA 浓度对下胚轴不定芽诱导的影响

以黑农 44 下胚轴为试验材料,设计了 6-BA 的浓度为 $0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 IBA 的浓度为 $0、0.1、0.2、0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的激素浓度组合,培养 42 d 的不定芽诱导率、芽数、芽长的平均数及标准误差见表 2。

表 2 黑农 44 下胚轴不定芽诱导各性状的平均值

Table 2 Average value of adventitious shoot traits of Heinong44 hypocotyls

IBA 浓度 IBA concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	6-BA 浓度 6-BA concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	不定芽诱导率 Induction rate of adventitious shoot/%	芽数 Number of shoots	芽长 Length of shoots/cm
0	0	93.92 \pm 3.251	2.79 \pm 0.116	1.96 \pm 0.363
	0.5	91.67 \pm 4.167	2.12 \pm 0.351	1.69 \pm 0.419
	1.0	76.67 \pm 12.019	2.13 \pm 0.361	1.83 \pm 0.279
	1.5	85.61 \pm 1.894	1.87 \pm 0.143	1.59 \pm 0.324
	2.0	78.52 \pm 12.851	1.57 \pm 0.201	1.90 \pm 0.737
	2.5	68.52 \pm 15.822	1.89 \pm 0.111	1.87 \pm 0.833
	3.0	76.67 \pm 8.819	1.97 \pm 0.121	1.92 \pm 0.685
0.1	0	100.00 \pm 0.000	2.53 \pm 0.135	2.61 \pm 0.210
	0.5	100.00 \pm 0.000	1.97 \pm 0.189	1.75 \pm 0.502
	1.0	96.67 \pm 3.333	2.44 \pm 0.357	1.55 \pm 0.510
	1.5	88.89 \pm 11.111	2.24 \pm 0.381	2.38 \pm 0.134
	2.0	65.74 \pm 10.678	1.68 \pm 0.193	3.14 \pm 1.184
	2.5	79.17 \pm 20.833	1.91 \pm 0.176	2.90 \pm 0.673
	3.0	82.22 \pm 7.778	1.89 \pm 0.222	3.32 \pm 0.838
0.2	0	96.67 \pm 3.333	2.50 \pm 0.118	2.22 \pm 0.248
	0.5	92.50 \pm 3.819	2.34 \pm 0.116	2.26 \pm 0.270
	1.0	92.59 \pm 7.407	1.98 \pm 0.273	2.67 \pm 1.083
	1.5	82.79 \pm 8.852	1.98 \pm 0.066	1.71 \pm 0.477
	2.0	69.82 \pm 11.395	1.59 \pm 0.096	2.01 \pm 0.965
	2.5	76.38 \pm 5.039	1.54 \pm 0.063	3.25 \pm 0.526
	3.0	78.61 \pm 11.142	1.79 \pm 0.242	2.59 \pm 0.963
0.3	0	100.00 \pm 0.000	2.75 \pm 0.085	1.99 \pm 0.538
	0.5	92.59 \pm 7.407	2.24 \pm 0.300	1.97 \pm 0.698
	1.0	85.71 \pm 8.248	2.34 \pm 0.029	2.46 \pm 0.139
	1.5	87.96 \pm 7.232	2.13 \pm 0.350	2.77 \pm 1.783
	2.0	81.97 \pm 13.738	1.51 \pm 0.107	2.73 \pm 0.651
	2.5	71.85 \pm 8.148	1.74 \pm 0.443	2.17 \pm 0.943
	3.0	82.22 \pm 9.686	1.51 \pm 0.250	2.38 \pm 0.343

从表 2 可以看出,28 个激素浓度组合的不定芽诱导率变幅为 65.74% ~ 100%,其中,6-BA 浓度为 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与各 IBA 浓度组合时,不定芽诱导率较其他组合高,均在 90% 以上;当 6-BA 浓度为 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,外植体的不定芽诱导率均在 90% 以

下,6-BA 浓度为 $2.0、3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,不定芽诱导率均低于 85%。不同激素浓度组合的芽数和芽长也表现出差异,在诱导培养基中只添加 $0、0.1、0.2、0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA,不添加 6-BA 时,不定芽芽数均高于添加 6-BA 浓度时的芽数。

在 28 个 IBA 和 6-BA 浓度组合中按 2 种激素的比例或倍数关系选取 10 个 IBA + 6-BA 组合: 0 + 0、0.1 + 0、0.1 + 0.5、0.2 + 1.0、0.3 + 1.5、0.1 + 1.0、0.2 + 2.0、0.3 + 3.0、0.1 + 1.5、0.2 + 3.0。对 10 个激素浓度组合间黑农 44 下胚轴不定芽诱导率、芽数和芽长进行方差分析, 结果见表 3。

从表 3 可以看出, 黑农 44 下胚轴的不定芽诱导

率和芽长在 14 d 时为 $F = 3.75$ 和 $F = 3.57$ ($F_{0.01} = 3.46$), 在激素浓度组合间均存在极显著的差异; 芽数在 28 d 和 42 d 时存在极显著或显著性差异 ($F_{0.05} = 2.39$), 说明诱导培养基中 IBA 与 6-BA 不同浓度对比对黑农 44 下胚轴不定芽的形成有较大的影响。10 个浓度组合对诱导黑农 44 下胚轴不定芽的影响见图 4、5。

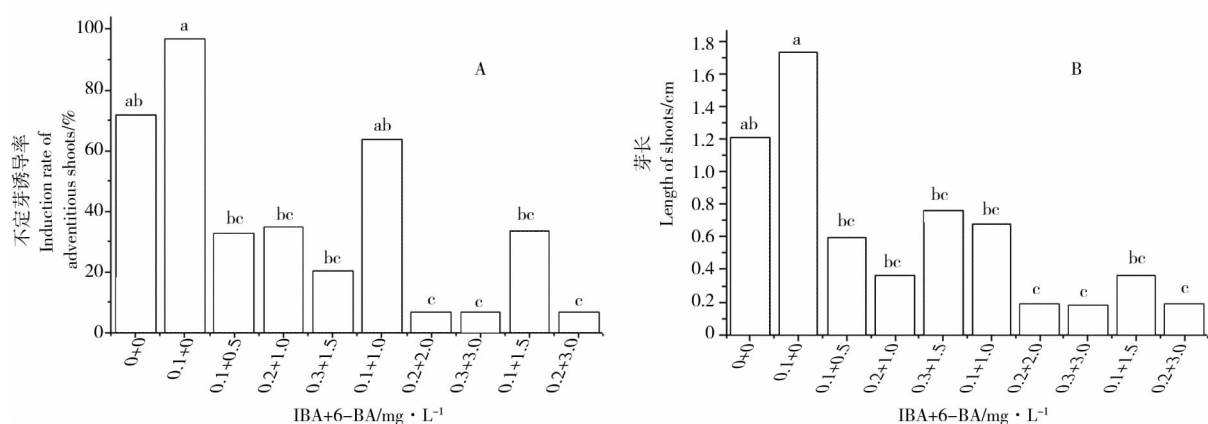
表 3 黑农 44 下胚轴不定芽各性状在 IBA 与 6-BA 浓度配比间的 F 值及显著性

Table 3 F value and significance of adventitious shoot traits of Heinong44 hypocotyls among different concentration ratio of IBA and 6-BA

培养时间 Culture time/d	不定芽诱导率 Induction rate of adventitious shoot	芽数 Number of shoots	芽长 Length of shoots
14	3.75 **	2.04	3.57 **
28	1.58	3.82 **	0.16
42	1.55	2.55 *	0.25

* 和 ** 分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异显著。

* and ** indicate significance at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.



不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著。下同。

Different small letter indicates the significance at 0.05 level. The same as below.

图 4 激素对比对黑农 44 下胚轴诱导 14d 时不定芽诱导率 (A) 和芽长 (B) 的影响

Fig. 4 Effect of phytohormone combination on induction rate (A) and length of adventitious shoots (B) of Heinong44 hypocotyls at 14 d

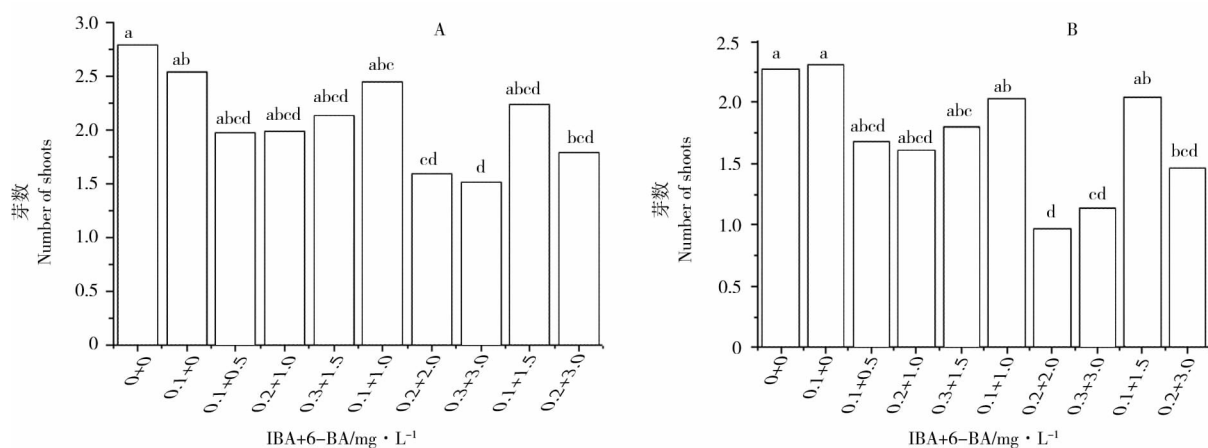


图 5 激素对比对黑农 44 下胚轴诱导 42 d (A) 和 28 d (B) 时不定芽芽数的影响

Fig. 5 Effect of phytohormone combination on number of adventitious shoots of Heinong44 hypocotyls at 42 d (A) and 28 d (B)

由图 4 可知,诱导培养 14 d 时,不定芽诱导率及芽长(芽长 ≥ 0.5 cm)在不同激素浓度组合之间差别很大,不定芽诱导率变幅为 6.67%~96.69%,以 0.1 IBA+0 6-BA 组合表现较好,不定芽诱导率为 96.69%,显著高于 0+0 和 0.1+1.0 外的其他 7 个浓度组合;芽长为 1.74 cm,显著高于除 0+0 外的其他 8 个浓度组合。由图 5 可知,培养 28 d 时不定芽数 0.1+0 组合最高,为 2.27 个,显著高于 0.2+2.0、0.3+3.0 和 0.2+3.0 浓度组合;由图 5B 可知,42 d 时其芽数均已大于 1.51 个,不添加激素及添加 0.1 IBA+0 6-BA 时,不定芽的芽数已大于 2.5 个,0.1+0 组合显著高于 0.2+2.0 和 0.3+3.0 浓度组合。对 IBA 和 6-BA 浓度比值为 1:5、1:10、1:15 的不同倍数组合进行方差分析,14 d 时 1:5 和 1:15 的不定芽诱导率组合差异不显著,1:10 组合中 0.1+1.0 的不定芽诱导率显著高于 0.2+2.0 和 0.3+3.0 浓度组合,而 28 和 42 d 的相同比例,不同倍数组合间的不定芽诱导率均无显著性差异;14 d 时的芽数差异不显著,28 d 时芽数的显著性结果与 14 d 时不同倍数组合间的芽数差异不显著,而 42 d 的 1:5 和 1:15 浓度组合之间差异不显著,1:10 组合中 0.1+1.0 显著高于 0.3+3.0 浓度组合,与 0.2+2.0 差异不显著;芽长在 14、28、42 d 时相同比例,不同倍数组合之间均不存在显著性差异。

综合图 4 和图 5 得出,10 个浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)组合中,0.1 IBA+0 6-BA 组合的不定芽诱导率最高,达 96.69%,其次是诱导培养基中不加激素或者加 0.1 IBA+1.0 6-BA。综合芽诱导率、芽数及芽长 3 个性状考虑,在无菌苗诱导培养基中添加 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 的条件下,诱导培养基中不添加 6-BA,IBA 为 0.1 或 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 适于黑农 44 下胚轴不定芽的诱导。

3 讨 论

3.1 生长素与细胞分裂素对大豆下胚轴不定芽诱导的作用

众多研究表明:细胞在脱分化形成分生组织过程中需要较高水平内源细胞分裂素和生长素的激发诱导,并且较高水平的细胞分裂素对维持分生组织的发育也是必须的^[8]。6-BA 能诱导不定芽的产生,促进侧芽生长,促进细胞分裂;IBA 能促进细胞分裂与细胞再生,诱导形成不定根。6-BA 和 IBA 的比值决定培养芽与根的发生方向,二者的比值高时,易于不定芽发生;比值低时,易于根的发生,因此,二者浓度的适宜配比直接关系到大豆下胚轴不定芽的诱导和生根。闫帆等^[9]研究不同浓度 6-BA

对大豆胚尖丛生芽诱导率和平均芽数的影响,确定了最适于诱导吉林 35 胚尖不定芽的 6-BA 浓度为 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。龚学臣等^[10]研究了不同大豆品种诱导子叶节丛生芽的最适 6-BA 浓度为 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在这些报道中,多只讨论 6-BA 单一因素对不定芽诱导的影响。

本实验研究了 28 个激素浓度组合对不定芽诱导率、芽数及芽长的影响,并对选择 10 个激素浓度组合的不定芽诱导率、芽数及芽长进行了差异显著性分析,其中,IBA 和 6-BA 浓度比值为 1:5、1:10、1:15 的不定芽诱导率不存在显著性差异,IBA 浓度为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、6-BA 浓度为 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的激素组合最适于黑农 44 下胚轴不定芽的诱导。当 6-BA 浓度为 2.0 和 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,外植体的不定芽诱导率、芽数及芽长(芽长 ≥ 0.5 cm)均较差,即高浓度的 6-BA 与 IBA 组合不适于下胚轴外植体不定芽的诱导。且只有 1:10 比例下的不同倍数组合间存在显著性差异,比例相同时,IBA 与 6-BA 浓度的增加不利于下胚轴不定芽的形成,而 1:5 和 1:15 比例下,不同倍数组合间的不定芽诱导率、芽数、芽长在 14、28、42 d 均差异不显著,说明大豆下胚轴不定芽诱导过程中,激素的倍数比激素比例有更大的作用。

3.2 大豆无菌苗培养基中添加 6-BA 对诱导不定芽的影响

前人的研究中,讨论了在子叶节的无菌苗萌发培养基中添加一定浓度的 6-BA 对大豆子叶节不定芽的诱导有影响^[10-12]。本研究中,在种子萌发阶段无菌苗培养基中添加 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA,在诱导培养基中不添加 6-BA 时不定芽诱导率最高,芽长和芽数也较加 6-BA 的其他 6 个浓度好,说明在萌发培养基中添加的 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 在外植体中积累,使诱导阶段不添加 6-BA 可诱导出不定芽;若诱导阶段添加 6-BA 反而影响不定芽的诱导与伸长。

参考文献

- [1] 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):17-19. (Wang P,Zhang Y J,Guan J J,et al. Induction of adventitious buds from embryonic tip in soybean[J]. Crops,2011(1):17-19.)
- [2] Dan Y H,Reichert N A. Organogenic regeneration of soybean from hypocotyl explants[J]. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant,1998,34:14-21.
- [3] 汲逢源,王戈亮,许亦农.抗氧化剂对农杆菌介导的大豆下胚轴 GUS 基因瞬时表达的影响[J].植物生态学报,2006,30(2):330-334. (Ji F Y,Wang G L,Xu Y N. The effects of antioxidants on the transient expression of GUS gene in soybean hypocotyls mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Journal of Plant E-

- cology, 2006, 30(2): 330-334.)
- [4] Wang G L, Xu Y N. Hypocotyl-based *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean (*Glycine max*) and application for RNA interference[J]. Plant Cell Reports, 2008, 25: 535-539.
- [5] 段莹莹, 赵琳, 陈李森, 等. 农杆菌介导的大豆子叶节和下胚轴转化方法的比较及优化[J]. 大豆科学, 2010, 29(4): 590-593. (Duan Y Y, Zhao L, Chen L M, et al. Comparison and optimization of the *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean by using cotyledonary node and hypocotyl explants[J]. Soybean Science, 2010, 29(4): 590-593.)
- [6] 许亦农, 吴韩英, 王戈亮, 等. 一种大豆遗传转化方法: 中国, CN102002512A[P]. 2010-04-06. (Xu Y N, Wu H Y, Wang G L, et al. A method of soybean transformation: China, CN102002512A [P]. 2010-04-06.)
- [7] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. Physiologia Plantarum, 1962, 15: 473-497.
- [8] 孔凡江. 大豆遗传转化系统的建立与农杆菌介导 *Bt* 基因转移的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2000: 34-37. (Kong F J. Establishment of soybean genetic transformation system and study on *Bt* gene transfer with *Agrobacterium*-mediated method[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2000: 34-37.)
- [9] 闫帆, 孙昕, 翟莹, 等. 6-BA 浓度及基因型对大豆胚尖诱导丛生芽的影响[J]. 大豆科学, 2011, 30(1): 29-32. (Yan F, Sun Xin, Zhai Y, et al. Effect of different 6-BA concentration and genotypes on shoots induced from embryonic tips[J]. Soybean Science, 2011, 30(1): 29-32.)
- [10] 龚学臣, 季静, 王萍, 等. 苗龄与 6-BA 浓度对大豆子叶节丛生芽的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(2): 128-130. (Gong X C, Ji J, Wang P, et al. Effect of aseptic seeding age and 6-BA concentration on overgrowing shoots of soybean cotyledonary node[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2005, 27(2): 128-130.)
- [11] 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, 2005, 23(2): 138-142. (Lin S Z, Cao Y P, Wei Z M, et al. Studies on shoots induced by 6-BA from cotyledonary nodes and embryonic tips of soybean[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2005, 23(2): 138-142.)
- [12] 武小霞, 李静, 姜成涛, 等. 大豆子叶节再生中植物生长调节剂浓度及基因型筛选[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2): 123-129. (Wu X X, Li J, Jiang C T, et al. Optimization of regeneration system from soybean cotyledonary node[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(2): 123-129.)

我国在大豆光周期调控开花研究领域取得重大突破

生育期长度是决定大豆产量的重要因素之一, 并与种植纬度、种植季节密切相关。生育期是光周期反应的重要指标, 亦是育种主要选择目标性状。

大豆是敏感型高温短日作物, 适应于高纬度环境的大豆栽培种对光周期必须具有光周期不敏感性。经典遗传学研究表明: 4 个主要遗传位点 E1、E3、E4 和 E7 被证明参与控制这种不敏感性。其中, E1 位点是 Bernard 于 1971 年正式命名, 但由于该基因位于第六号染色体 (LG C2) 中心粒着丝点附近, 遗传重组率极低, 致使人们一直未能揭开 E1 基因的神秘面纱。中国科学院东北地理与农业生态研究所大豆分子育种创新团队与日本研究者合作继图位克隆了 E4 (Genetics, 2008)、E3 (Genetics, 2009) 及 E2 基因 (Genetics, 2011) 后, 夏正俊研究员与日本科学家一道经过近十年的潜心研究, 利用最为经典的图位克隆法一步一步准确地将 E1 基因克隆。进一步研究表明: 该基因含有一个核定位信号, C 端含有与植物转录因子 B3 远缘相近的结构域, 是一类新型的豆科作物特有的转录因子; 研究结果揭示了大豆具有独特光周期调控开花网络; 为大豆光周期调控开花的分子机理研究和超早熟新品种的分子设计奠定了坚实的理论基础。鉴于 E1 基因对大豆品种的生育期与光周期反应起决定性作用, 可以说 E1 基因的成功破译我国科学家自 1920 年大豆光周期现象发现以来对该领域最重要的贡献。同时, 进一步强化了我国在大豆光周期研究领域的国际领先地位。主要研究结果于 2012 年 5 月发表在美国科学院院刊 (Proc Natl Acad Sci USA 109(32): E2155 – E2164; doi/10.1073/pnas.1117982109) 上。

本刊编辑 孙明明