

大豆子叶节组培耐盐突变体筛选

刘艳芝 庄炳昌 赵桂兰

(吉林省农科院大豆所, 公主岭 136100)

提 要 本研究以合丰 25 大豆子叶节为外植体, 在不同浓度 NaCl 培养基上长期培养, 最后在 1% NaCl 水平培养基上获得再分化芽。

关键词 大豆; 外植体; 组培; 耐盐突变体

植物的耐盐能力差别很大, 有的盐生植物能在盐度范围为 1.5%~2% 的条件下生长, 如碱蓬等。绝大多数作物属于非盐生植物, 耐盐能力低。因此, 培育耐盐作物品种是利用盐碱地的一条经济而有效的途径。利用传统方法至今尚未培育出真正的耐盐品种, 生物技术的日臻完善, 为培育高效耐盐植物带来了希望。

组织培养能获得丰富的遗传变异^[1,2], 因此, 利用培养的植物细胞或愈伤组织, 在采用或不采用诱变剂的情况下, 通过胁迫的影响, 可有目的地选择可期望的抗逆特性^[3]。有关筛选耐盐细胞系与突变体已有很多报道, 研究的植物种类已近 40 种^[4]。大豆因其具有生物固氮能力, 因而培育耐盐品种, 对盐碱地的利用和改良更具实际意义。我们研究在培养基中附加一定浓度的 NaCl, 对培养物进行耐盐突变体筛选, 获得了 1% NaCl 水平的再生芽突变体。

1 试验设置

1.1 试验材料

选用组织培养再生能力强, 推广范围大的早熟品种合丰 25 为主要试验材料。

1.2 培养基

种子萌发、诱导、继代均用 M_{4-1} 固体培养基, 附加 TDZ 0.01 mg/L, 其中无机氮源用有机物代替, 附加 0.5%、0.8%、1% 的 NaCl; 恢复生长培养基用 M_s 附加 IBA 0.1 mg/L、 GA_3 0.2 mg/L。

1.3 研究方法

将种子用 0.1% 升汞浸泡 10 min, 然后用无菌水冲洗 4 次, 再用无菌水浸泡 18 h, 使其处于萌动状态, 接种于 M_{4-1} 固体培养基上。生长 30 d 后切取子叶节, 再接种于附加不同 NaCl 浓度的 M_{4-1} 上, 不同时间继代, 统计其存活率。选择外植体保持绿色, 并分化出芽的培养物继代培养一定时间后, 将培养物转至恢复培养基上生长。

1.4 继代培养物

培养物按培养基中 NaCl 浓度 0.5%→0.8% 和 0.8%→1% 两种方式进行梯度继代培养, 继代时间也不相同。经过较长时间筛选, 耐盐培养物存活下来, 并可能产生突变, 不耐盐的培养物死亡淘汰。

2 实验结果

2.1 基因型选择及不同 NaCl 水平确定

接种吉林小粒1号、长农4号、吉林20、黑农26、吉林26、吉林29和合丰25共7个组织培养再生能力强的大豆品种。NaCl浓度设0.5%、1%、1.5%、2%4个水平。初步统计结果以合丰25、吉林29两个基因型的耐盐能力较强。在含盐培养基上外植体存活率为:0.5%NaCl水平存活率为80%,1%NaCl水平存活率为50%,1.5%NaCl水平极少存活,2%NaCl水平全部死亡。因此2%NaCl水平为大豆逆境临界值;0.5%~1%为最适筛选浓度范围;1.5%NaCl水平虽然选择压大易产生突变体,但也会改变原品种的一些优良性状。

2.2 培养物诱导及继代筛选

将子叶节接种于含NaCl 0.5%的 M_{4-1} 上,再转至含NaCl 0.8%的 M_{4-1} 上,每28d在原培养基上继代1次。两次重复实验,不同梯度NaCl培养时间不同,结果存活率也有明显差异。将子叶节接种于含NaCl 0.8%的 M_{4-1} 上,再转至含NaCl 1%的 M_{4-1} 上,实验过程同上(表1)。

表1 合丰25子叶节诱导及继代培养

接种外植体 (块)	时间 (d)	培养基含盐 (%)	存活外植体 (块)	存活率 (%)
50	180	0.5→0.8	32	64.0
100	100	0.5→0.8	75	75.0
60	70	0.8→1.0	25	35.7
50	30	0.8→1.0	40	80.0

从表1中可以看出,同一处理中培养时间长,存活率降低,因此培养时间直接影响培养物的存活率。而NaCl的起始浓度不是影响存活率的关键因素。

2.3 耐盐培养物的形态

子叶节在含盐培养基上主要表现出两种形态:一种是外植体一直保持绿色,不褐变,其分化出的芽多数为子叶节原基上直接分化出的侧芽,在两种形态芽中,以这种芽的比例高。这一类型芽虽然在含盐培养基上仍能继续生长,也可能产生突变体,但产生嵌合体的可能性也很大。另一种形态是子叶节部分或全部褐化,而从其边缘分化出绿点,继而分化成芽,这是再分化芽,来源于结构、功能相似的细胞团。由于其母体不耐盐褐变,而分化出的芽却表现出很强的耐性,因而是细胞水平的突变可能性很大。诱导培养基中NaCl的含量对两种形态培养物形成比例有较大影响,0.8%NaCl诱导培养基上第二种形态培养物较0.5%NaCl诱导培养基上比例大。目前已将两种形态芽转至恢复培养基,长势良好。

3 结 论

大豆子叶节组培再生频率较其它外植体高,合丰25再生频率高达60%,用于无性系变异及突变体筛选育种具有实际意义。

利用逐渐增加盐浓度的方法,长时间继代,可获得耐1%NaCl水平的再分化芽。

本研究仍在进行,如能获得耐盐突变体植株,将极有可能运用于育种及生产实践。

参 考 文 献

- 1 罗士韦,何卓培.高等植物突变细胞系的研究.细胞生物学杂志,1982,4(2):1
- 2 Larkin P J, Scowcraft W R. Theor Appl Genet, 1981, 60:197
- 3 周荣仁等.利用组织培养研究植物耐盐机理与筛选耐盐突变体的进展.植物生理学通讯,1989,(5):11~19
- 4 周荣仁.植物组织培养在选择培育耐盐植物方面的研究概况.曲阜师范学院报(植物抗盐生理专刊),1984,63~83

(责任编辑:任 禾)