

文章编号: 1003-8701(2001)02-0007-03

大豆无菌苗的获得

邢少辰¹, 林秀峰², 庄炳昌²

(1. 邯郸农业高等专科学校, 河北 邯郸 057150;

2. 吉林省农科院农业生物技术重点开放实验室, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 采用升汞和次氯酸钠两种消毒剂对野生大豆和栽培大豆进行处理, 获得大豆的无菌苗。结果表明: ①野生大豆对消毒剂的抵抗能力明显高于栽培大豆; ②用水浸泡的栽培大豆再用升汞和次氯酸钠处理时, 都不能发芽或极少发芽, 说明消毒剂对浸泡的栽培大豆伤害十分严重; ③种子放置在固体培养基的表面生长较快。

关键词: 大豆; 无菌苗; 培养基

中图分类号: S 565.103.53

文献标识码: A

在进行分子生物学的研究当中, 有时需要培养大豆的无菌苗, 例如在提取高质量的 RNA 时, 最好用无菌苗来提取, 以避免微生物的污染, 另外还可用无菌苗作为外植体, 进一步获得愈伤组织^[1]。一般栽培大豆 (*Glycine·max*) 做的比较多, 而野生大豆 (*G·soja*) 则比较少。如何获得生长健壮的无菌苗, 并非十分容易。我们在失败了几次之后, 摸索出了一个比较切实可行的方法, 供大家参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

栽培大豆 BJ12 和野生大豆 ZYD2213。

1.2 试验方法

利用上年收获的栽培大豆和野生大豆进行了两种处理: 浸泡 5~6 h 和未浸泡。种子的消毒剂用 5% 次氯酸钠和 0.1% 的升汞。处理后的材料用无菌水冲洗 4~5 次, 立即种植在高压灭菌的 MS 固体培养基上, 放置在 26℃ 的温室中, 调查种子的发芽和生长情况。

MS 培养基的配方(每升): 盐与维生素混合物 4.42 g、蔗糖 30 g 和琼脂粉 4 g。培养基的灭菌和常规方法相同。

2 试验结果

2.1 用升汞作为消毒剂

用水将野生大豆和栽培大豆浸泡 5~6 h, 以大豆吸涨为宜, 在经过灭菌的三角瓶中加入 0.1% 的升汞处理材料 8 min, 其间摇动几次, 种植到培养基上后, 放置在 26℃ 的温室中进行

收稿日期: 2000-09-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39730330)

作者简介: 邢少辰(1964-), 男, 邯郸农业高等专科学校副教授, 博士, 主要从事植物分子生物学研究。

培养。3天以后调查发芽情况,发现野生大豆发芽正常,发芽率在85%以上(表1),生长良好。与此不同的是,栽培大豆发芽率极低,绝大多数不能发芽,在种植的145粒中,只有3粒发芽,其中的2粒生长明显受到抑制,而且时间长了会增加污染的机会。

表1 升汞处理大豆的发芽情况

大豆	浸泡时间(h)	处理时间(min)	种子数量(粒)	发芽种子(粒)	发芽率(%)
野生	5~6	8	53	46	86.8
栽培	5~6	8	145	3	2.1

2.2 用次氯酸钠作为消毒剂

和升汞相比较而言,次氯酸钠的消毒效果稍微差一些,但同时种子的伤害也小一些,为了进行比较,我们用5%的次氯酸钠溶液对栽培大豆进行了不同的处理,每种处理有2个重复,每个重复种植5粒种子。种子的发芽生长情况见表2。

表2 次氯酸钠处理栽培大豆后的发芽和生长情况

种子处理	处理时间(min)					
	1	3	5	7	10	15
浸泡	未发芽 污染	未发芽 污染	未发芽 未污染	未发芽 未污染	未发芽 未污染	未发芽 未污染
未浸泡	发芽正常 污染	发芽正常 未污染	发芽正常 未污染	发芽正常 未污染	发芽较慢 未污染	发芽明显滞后 未污染

从表2看出,凡是浸泡过的种子均没有发芽,相反,未浸泡的种子均可以发芽;从消毒的效果上看,处理3min即可达到不再污染的要求,但要低于10min,10min以上时虽然可以发芽,但是发芽的速度明显受到了抑制。

3 讨论

3.1 种子发芽前的处理方式

大豆种子在消毒之前用水浸泡数小时,让种子充分吸涨,以利于种子的发芽,这似乎是我们一般的思维方式,这也是造成我们几次失败的原因。实验证明,浸泡的种子不论用升汞还是用次氯酸钠处理后,均会对发芽造成严重的伤害,这里所指的伤害是对栽培大豆的伤害,而不包括野生大豆。因为我们在野生大豆的处理上,既浸泡了种子,也用了0.1%的升汞对浸泡过的种子消毒了8min,尽管升汞对种子伤害比较大,但野生大豆还是发芽率正常,生长良好,足以说明野生大豆的抵抗力非常强,这也符合野生大豆的生物学特征^[2]。

3.2 消毒剂处理的合适时间

从这个试验我们知道,要兼顾两个方面,既要确保种子的发芽,又不能使培养基污染。因此,我们认为对于栽培大豆无菌苗的培养来说,用5%的次氯酸钠处理7min比较适宜。对于野生大豆,我们没有用次氯酸钠进行处理,缺少具体的试验数据,但是根据用0.1%升汞进行的试验来看,野生大豆对消毒剂的耐受力要明显高于栽培大豆,所以,用5%的次氯酸钠处理野生大豆应该可以时间更长一些,而不会使种子发芽受到影响。

3.3 种子在培养基中的位置

通过这个试验,我们还发现种子在培养基中的位置对发芽的影响也很大。如果用镊子把大豆的脐向下整粒或者半粒种子埋在培养基中,虽然发芽没有问题,但其发芽速度比整个种子放置在培养基的表面要慢,要推迟2~3d的时间。估计可能是因为种子埋在培养基中

的通透性比较差,使种子的呼吸受到影响而生长缓慢。

参考文献:

- [1] 赵桂兰,刘艳芝·豆科牧草组织培养与原生质体培养[C]·吉林省农业科学院农业生物技术重点开放实验室论文集,1997.
- [2] 庄炳昌·中国野生大豆生物学研究[M]·北京:科学出版社,1999.

Suggestion of Obtaining Aseptic Soybean Seedlings

XING Shao-chen¹, LIN Xiu-feng², ZHUANG Bing-chang²

(1. Handan Agriculture College, Handan 057150, China; 2. Key Open Lab. on Agri-Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Science, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: To obtain aseptic soybean seedlings, wide soybean and cultivated soybean were asepti- cized using HgCl₂ and NaClO. The results showed that the wide soybean performed much higher resis- tance to antiseptic than cultivated soybean. Secondly, the soaked seeds of cultivated soybean which were treated by antiseptic can't germinate or very few seeds able to germinate, that means the antiseptic hurted the seeds seriously. Thirdly, the seeds grow faster on the surface of solid MS medium than that the seeds in other positions.

Key words: Soybean; Aseptic seedlings; Medium

(上接第 6 页)

Studies on Heredity of Main Characteristics between Indica and Japonica Rice

JIANG Jian, et al.

(1. Rice Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: In this study, the combining ability and heritability of 10 main characteristics in hy- bridization between Indica and Japonica were analyzed. The results indicated that there were very sig- nificantly differences of general combining ability and specific combining ability between different soci- eties. The broad heritability from big to small were date of heading, plant height, weight of 1000 grain of big panicle, fertility of big panicle, panicle length, total grains per panicle, grain weight per plant of big panicle, big fibrovascular bundles, areas of flag leaf and effective tillering. The characteristics of high narrow heritability were plant height, weight of 1000 grain of big panicle and fertility of big panicle.

Key words: Rice; Production characters; Genetic rule; Hybridization between indica and japonica