

# 外源 DNA 导入大豆变异后代的 SOD 同工酶分析\*

刘德璞 袁 鹰 庄炳昌

(吉林省农业科学院大豆研究所)

## 摘 要

以花粉管通道途径向大豆导入外源 DNA, 变异后代已达 D<sub>4</sub>代。

受体为栽培品种吉林20号、吉林16号; 供体是野生豆、半野生豆和栽培豆。从439个 D<sub>1</sub>植株中得12株变异株, 变异率为3%。变异性状明显表现供体特征, 并且是可遗传的。超氧化物歧化酶(SOD)同工酶电泳鉴定, 在有的变异株中检测到供体具有的亚基谱带 b<sub>1</sub>、b<sub>2</sub>。结果表明, 外源 DNA 导入技术在大豆育种上是可以利用的。

**关键词** 分子育种; 大豆; 花粉管通道; 外源 DNA 导入; SOD 同工酶

周光宇(1974)在调查了远缘杂交广泛实践的基础上, 提出染色体水平以下的 DNA 片段杂交假说<sup>[1]</sup>, 并由此设计了授粉后通过花粉管通道将外源 DNA 导入植物的技术, 经过黄骏麒等在棉花和段晓岚等在水稻上的发展和应用, 培育了一批抗病、优质或高产的新品种和种质资源<sup>[2-5]</sup>, 展示了此技术在农作物育种上的广阔前景。

大豆是很重要的粮油兼用作物。常规育种技术虽然还继续发挥着它的重要作用, 但在效率和进程上显现出局限性。通过外源 DNA 导入技术实施分子育种, 不仅可以作为一种新途径加快育种速度, 而且也可为大豆基因工程育种提供基础。雷勃钧等<sup>[6]</sup>已报道了栽培大豆导入野生大豆 DNA D<sub>1</sub>代出现较广泛的野生性变异。我们于1986年开始在大豆上实施此技术, 以确定其在大豆育种上的可用性。结果也获得较广泛的变异, 已达 D<sub>4</sub>代, 明显带有供体特征。为进一步从生化上观其变异, 分析了它们的超氧化物歧化酶(Superoxide dismu-

\* 本文于1990年8月30日收到。

This paper was received on Aug. 30, 1990.

本文承蒙周光宇先生、卫志明先生阅改, 谨此致谢。

tase)组成,本文就此做一报告。

## 材料和方法

### (一)试验材料

受体是栽培大豆品种吉林16号、吉林20号;供体是野生豆、茶秣食豆(半野生豆)、里外青(栽培豆)。组合是:

	I	II	III	IV
受体 Receptor	吉林20 Jilin20	吉林20 Jilin20	吉林20 Jilin20	吉林16Jilin16
供体 Donor	里外青 Liwaiqing	野生豆 Wild	茶秣食豆 Chameshidou	茶秣食豆 Chameshidou

材料皆为本所资源室和育种室提供。

### (二)生化鉴定方法

按罗广华等<sup>[7]</sup>的方法,提取超氧化物歧化酶(SOD),电泳分析其谱带组成。

## 结果和讨论

外源 DNA 导入后,农艺性状变异总的表现在生育期、结荚习性、生长习性、花色、花序、叶形、荚色、茸毛色、籽粒形状及脐色,但各个组合和各个变异株表现不一样。有的组合变异不甚明显,有的组合变异明显,有的组合变异较窄,只有少数性状变异;有的组合变异较广,多个性状得以转移。同组合的不同变异株也是这样(表1、表2)。

表1 不同组合的变异范围

Table 1 The range of variation in different combinations

组 合 Combinations	变 异 表 现 Variations
I	生育期延长,株高增加,无限或亚有限结荚习性,有白花也有紫花,叶增大。 Growth period increased, plant height increased, both determinate and indeterminate, both white and purple flowers
II	不甚明显、稍见分枝增加。 Little distinct variation but more branches
III	生育期延长,株高增加,无限结荚习性。 Growth period increased, plant height increased, stem terminal changed to indeterminate
IV	生育期延长,株高增加,有的后期超蔓生,茸毛色、荚色如供体为棕色,籽粒稍扁脐圆,脐色褐,白花或紫花 Growth period increased, plant height increased, brown pubescence and pod as donor, oval or flat seeds, brown hilum, white or purple flowers

表2 组合IV不同变异株的变异性状范围

Table 2 The variation range of different variants in IV

性状 Characters	变异株数及变异范围 The number of variants and the range of variation						
	2	1	1	0	0	2	4
茎秆 Stem	+	+	+	+	+	+	+
分枝 Branches	-	+	+	+	+	+	+
叶 Leaf	-	+	+	+	+	+	+
茸毛色 Pubescence color	-	-	-	+	+	+	+
荚色 Pod color	-	-	-	-	+	+	+
脐色 Hilum color	-	-	-	-	-	+	+
花色 Flower color	-	-	-	-	-	-	△
株高 Plant height	+	-	+	-	-	+	+
生长习性 Growht habit	-	-	-	-	-	-	+
结荚习性 Terminal type	-	-	-	-	-	-	-
注:变异出现的世代 Note: generation of variant occurring	D <sub>1</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>2</sub>			D <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>

注: ---表示吉16(受体)特征, +表示茶秣食豆(供体)特征 △—即不像供体, 也不像受体。

Note: ---The character of the receptor, +—The character of the donor. △—Not look like donor or receptor.

从表1、表2可以反映出变异的幅度, 不仅如此, 还可看出, 有的性状是可以单独转移的, 如脐色、茸毛色等。育种和遗传工作者已用经典遗传学研究确认它们是单基因所控制, 这与DNA导入技术本身所适宜的基因片段大小相符合(即单基因较容易导入)。为进一步研究其生物化学方面的差异和基因转移情况, 分析了这四个组合的变异株及其后代的超氧化物歧化酶(SOD)的组成。图版I展示的是组合I、III、IV的变异株的农艺性状差异(组合I只展示了D8701-1和D8701-2, D8701-3的表型与D8701-2一样)。图1是这些变异株的电泳检测结果, 只列了两个组合(I、IV)的情况, 另两个组合未检测出差异。可见组合I的与受体差异较大的变异株D8701-2、D8701-3和组合IV变异株D8704-4(白花)的D<sub>3</sub>、D<sub>4</sub>以及D<sub>2</sub>代出现的紫花株都分别增加了供体里外青或茶秣食豆的b<sub>1</sub>、b<sub>2</sub>两条带。这几株在生长势上都比受体强, 不知是否与这两条带有关。

超氧化物歧化酶(SOD)与作物的抗逆性有关, 如抗旱、抗盐、抗SO<sub>2</sub>、抗O<sub>3</sub>等。近年来有些学者对栽培大豆、野生大豆的SOD进行了研究<sup>[8]</sup>, 发现在我国的大豆资源中(包括野

生、半野生、栽培),SOD 的酶谱是有差异的。他们的工作还表明,SOD 同工酶电泳谱比较稳定,不受生理时期和取材部位影响,因此能反映基因背景。本实验中有的变异株增加了  $b_1$ 、 $b_2$  两条带,根据 J. D,Griffin 等的工作<sup>[9]</sup>,这两条带由 *Sod1* 和 *sod1* 一对基因控制,有 *Sod1* 存在,便有这两条带。由此看来,这些变异有可能是由于供体 DNA 片段(含此基因)重组至受体大豆基因组中而得以表达的结果。

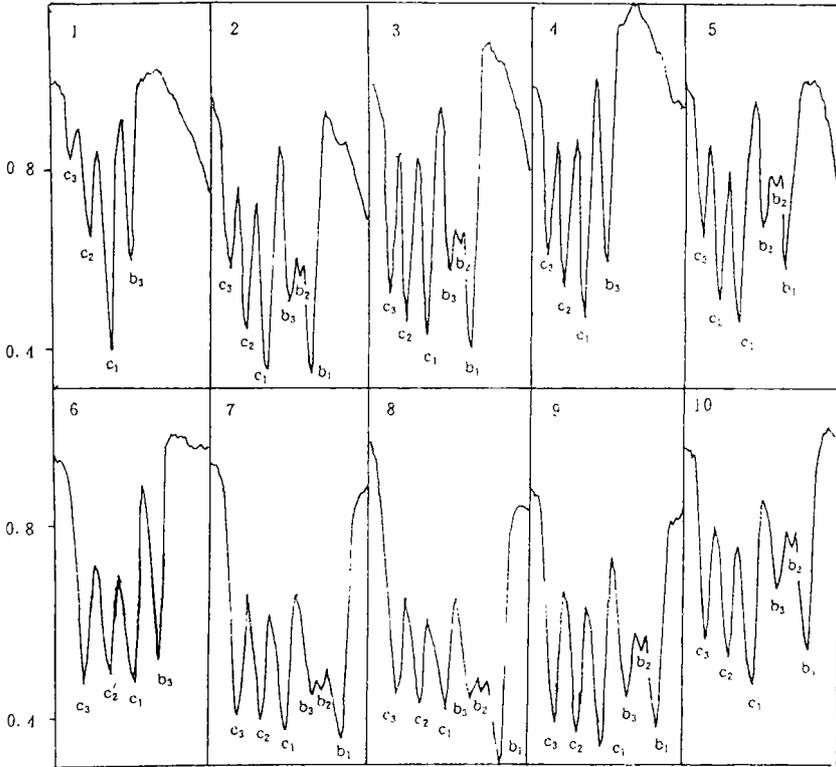


图1 变异株与对照株 SOD 电泳扫描图

Fig 1 The scanning profile of gel electrophoresis of variants SOD

1. 吉20(受体) Jilin20 (Receptor) 2. D8701-1 3. D8701-2 4. D8701-3
5. 里外青(供体)Liwaiqing (Donor) 6. 吉16(受体) Jilin16(Receptor) 7. D8704-4(D<sub>3</sub>)
8. D8704-4(D<sub>4</sub>) 9. D8704D<sub>2</sub>-1(D<sub>2</sub>代紫花变异株, D<sub>2</sub>Purple flower Variant)
10. 茶株食豆(供体)。Chameshidou (Donor)

从几个组合的变异情况看,与育种有关的性状如植株高度、节数、荚数、生育期、结荚习性以及蛋白质含量等性状都可能通过这种技术得以转移。SOD 同工酶谱也显示了明显的差异。所以,我们认为,通过外源 DNA 导入技术,除进行抗病、抗虫等抗性育种外,进行产量性状方向的育种也是可能的。外源 DNA 导入技术,可能成为比较经济、比较快的大豆育种途径之一。

## 参 考 文 献

- [1] 周光宇:1978,从生物化学角度探讨远缘杂交的理论,《中国农业科学》(2):16~20
- [2] 黄骏麒等:1981,外源海岛棉 DNA 导致陆地棉性状变异,《遗传学报》,8(1):56-62
- [3] 黄骏麒等:1986,外源抗枯萎病棉 DNA 导入感病棉的抗性转移,《中国农业科学》,(3):32-26
- [4] 段晓岚、陈善葆:1985,外源 DNA 导入水稻引起性状变异,《中国农业科学》,(3):6-10
- [5] 周光宇等:1988,农业分子育种,《中国农业科学》,21(3):1~6
- [6] 雷勃钧等:1989,外源野生大豆 DNA 导入栽培大豆引起的变异,《中国油料》,(3):11~13
- [7] 罗广华等:1983,《植物生理学通讯》,(6):44~45
- [8] B. Xu, B. C. Zhuang, Q. H. Lu, and J. L. Lu, 1989, Comparative study on superoxide in different species seeds of subgenus soja, programme and abstracts of IV WSRC: 59
- [9] J. D. Griffin and R. G. Palmer, 1989, Genetic studies with two superoxide dismutase loci in soybean, *Crop Science*, 29(4) 968~971

## 图 版 说 明

## 图版 I 变异株的变异特征

图1:组合 I。从左至右,吉20,D8701-1,D8701-2,里外青。

图2:组合 III。从左至右,吉20,D8703-1,D8703D<sub>2-1</sub>,茶秣食豆。

图3:组合 IV。从左至右,吉16,D8704D<sub>2-1</sub>(紫花)D8704-4D<sub>3</sub>(白花),D8704-4D<sub>4</sub>(白花)。

1.组合 IV 变异株的花序。A 茶秣食豆,B 吉16,C 变异株。

图5:组合 IV 变异株的荚。A 吉16,B 茶秣食豆,C 变异株。

图6:组合 IV 变异株的籽粒。A 吉16,B 茶秣食豆,C 变异株。

## Explanation of plate

## Plate I The variation character of the variants

Fig. 1 Combination I, from left to right Jilin20, D8701-1, D8701-2, Liwaiqing

Fig. 2 Combination III, from left to right, Jilin20, D8703-1, D8703D<sub>2-1</sub>, Chameshidou

Fig. 3 Combination IV, from left to right, Jilin16, D8704D<sub>2-1</sub>(purple flowers), D8704-4D<sub>3</sub>(white flowers), D8704-4D<sub>4</sub>(white flowers), Chameshidou

Fig. 4 Floral buds of the variants from IV, A Chameshidou, B. Jilin16, C. Variants

Fig. 5 The pods of the variants from IV, A. Jilin16, B. Chameshidou C. Variants

Fig. 6 The grains of the variants from IV, A. Jilin16, B. Chameshidou, C Variants

STUDY ON THE SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) FROM  
THE VARIANTS INDUCED BY EXOGENOUS DNA  
INTRODUCTION INTO SOYBEAN (*GLYCINE MAX.*)

Liu Depu Yuan Ying Zhuang Bingchang

(*Soybean Institute Jilin Academy of Agricultural Sciences*)

Abstract

DNA of the wild, semi-wild and cultivated soybean was introduced into soybean cultivars Jilin 20, Jilin16, through pollen tube pathway after soybean self-fertilizing. The results of superoxide dismutase (SOD) electrophoresis showed that some receptors and their offsprings increased two bands  $b_1$ ,  $b_2$ , which were present in the donors but were absent in receptors. These variations were observed in offsprings from  $D_1$  to  $D_4$  generations. The results showed that exogenous DNA segments can insert into receptor's soybean genome and express. This technique may be used for soybean breeding.

**Key words** Soybean; Pollen tube pathway; Exogenous DNA introduction; SOD isozymes