

# 导入外源总 DNA 选育大豆新品种的后代 处理方法初探<sup>\*</sup>

吴秀红<sup>1</sup> 李希臣<sup>2</sup> 郭 泰<sup>1</sup> 雷勃钧<sup>2</sup> 齐 宁<sup>1</sup>  
刘昭军<sup>2</sup> 张荣昌<sup>1</sup> 胡喜平<sup>1</sup> 王志新<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农科院合江农科所, 佳木斯 154007; 2 黑龙江省农科院生物技术中心)

**摘要** 本文报导了在利用花粉管通道技术导入外源总 DNA 选育大豆新品种的过程中, 两种后代处理方法的对比产生了不同的选种效果, 结果指出, 同一组合内, D<sub>0</sub> 代以荚为单位收获、脱粒; D<sub>1</sub> 代按荚种植, 荚间设置隔离; D<sub>2</sub> 代以后形成荚系的系统方法, 即按荚种, 更便于选种。

**关键词** 外源总 DNA; 选育; 大豆新品种; 后代处理方法

中图分类号 S565.1 S336 文献标识码 A 文章编号 1000—9841(2001)02—0098—04

## 0 前言

利用开花植物授粉后形成的花粉管通道, 直接导入外源 DNA 来转化受体的尚不具备正常细胞壁的卵、合子或早期胚胎细胞, 进而实现某些目的性状或基因转移技术, 自 70 年代由我国学者周光宇先生提出后, 相继在多种作物上取得了成功的转化效果, 使我国农业分子育种率先进入了应用阶段<sup>[1—4]</sup>。据报导, 在棉花<sup>[2]</sup>、水稻<sup>[3]</sup>、小麦<sup>[5]</sup>、高粱<sup>[6]</sup>等作物中已得到基因表达。黑龙江省农科院生物技术研究中心, 利用该技术获得了一系列大豆新品系, 并育成转化的大豆品种黑生 101, 黑龙江省农科院合江农科所和省内几家大豆育种单位与该中心协作, 也开展了此项工作, 进展较慢, 其中原因是多方面的, 但主要是育种技术不够成熟。本文

针对 DNA 导入后代的种植方法和选择方法进行了研究, 旨在完善该项育种技术。外源 DNA 导入后代的种植与选择是该育种技术的重要环节, 以往报导 DNA 导入后代的处理均是把 D<sub>0</sub> 代种子全部按组合混收、混脱, 混种, 结果易造成种植与选择的群体逐年增大, 不利于田间观察与选择, 容易使变异材料丢失, 而未转化的材料不能去除, 育种效果不好, 为了改进此问题, 我所于 1997 ~ 1999 年对此进行了研究, 本文即报导该结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 受体: 选用丰产性好、综合性状优良的大豆品种或品系合丰 25、合丰 35; 垦农 4 号、垦农 7 号、

表 1 供试组合表  
Table 1 Testing combination

世代 Generation	组合号 No. of combination									
D <sub>1</sub>	D9801	D9802	D9803	D9804	D9805	D9806	D9807	D9808	D9809	D9810
D <sub>2</sub>	D97206	D97207	D97208							
D <sub>3</sub>	D96191	D96192	D96193	D96194	D96195					

收稿日期: 1999—12—27  
基金项目: 本研究属黑龙江省科委“九五”重大项目“外源 DNA 直接导入技术在农作物育种上的应用”的专题资助部分。所用 DNA 由主持单位黑龙江省农科院生物技术研究中心提供。  
作者简介: 吴秀红(1972—), 女, 研实, 研究方向大豆育种。

绥农 10 号; 合交 93—1538 做受体。

供体: 选用多花荚材料合交 87U—65、远缘荚粒数多的红小豆; 抗灰斑病材料合丰 34 号、合丰 29 号、东农 975、垦农 7 号、绥农 10 号。

1. 1. 2 D<sub>1</sub> 代 10 个组合; D<sub>2</sub> 代 3 个组合; D<sub>3</sub> 代 5 个组合 (见表 1)

1. 2 方法

1. 2. 1 按组合混种: D<sub>0</sub> 代种子按组合混收、混脱, 以后世代按育种目标进行选择, 以组合为单位混种、混收。

1. 2. 2 以荚为单位种植: D<sub>0</sub> 代每个组合以荚为单位收获、脱粒; D<sub>1</sub> 代按组合以荚为单位单粒点播, 荚

与荚之间设置隔离, 组合前种植供体与受体。秋季, 来自同一个荚的不同单株单收。以后世代按育种目标进行选择, 同一组合内按荚系为单位种植株系或株系群。

2 结果与分析

2. 1 两种后代处理方法产生了不同的选种效果

2. 1. 1 按荚种, D<sub>1</sub> 代荚与荚之间设置隔离, 把要观察的大群体划分为若干小块, D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub> 代形成荚系, 这就相当于把混种群体按遗传基础归类, 大大降低田间选择的强度, 使田间调查更准确无误。

表 2 1999 年 D<sub>1</sub> 代田间种植与选择情况

Table 2 D<sub>1</sub> generation being planted and selected in 1999

组合号 No. of combination	受体+供体 Recipient + Donor	导入目的 Aim of introduction	种植方法 Planting method	荚数 Number of pods	变异情况 Mutation
D9801	合交 93—1538+ 垦农 7 Hejiao93—1538+Kernong7	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	6	无 No
D9802	合交 93—1538+ 绥农 10 Hejiao93—1538+Suinong10	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	7	无 No
D9803	合交 93—1538+ 东农 975 Hejiao93—1538+Dongnong975	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	13	无 No
D9804	合交 93—1538+ 红小豆 Hejiao93—1538+Hongxiaodou	丰产 High—yield	按荚种 Pod by pod	9	无 No
D9805	垦农 7+ 红小豆 Kennong7+ Hongxiaodou	丰产 抗灰斑 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	6	有变异 Yes
D9806	绥农 10+ 红小豆 Suinong10+ Hongxiaodou	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	19	有变异 Yes
D9807	东农 975+ 红小豆 Dongnong975+ Hongxiaodou	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	10	无 No
D9808	合丰 25+ 垦农 7 Hefeng25+ Kennong7	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	3	无 No
D9809	垦农 4+ 绥农 10 Kennong4+ Suinong10	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	16	无 No
D9810	合丰 35+ 东农 975 Hefeng35+ Dongnong975	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora sojina</i>	按荚种 Pod by pod	4	无 No

选种圃 D<sub>1</sub> 代中, 组合 D9805 与 D9806 发生的变异即是在该种处理方法下, 清晰地被观察到。组合 D9805 (垦农 7+ 红小豆) 受体结荚习性为无限型, 其中, D9805—6 是一个两粒荚, 来自该荚的两植株均

为亚有限、分枝带帽结构, 丰产性很好且抗灰斑病的变异株; D9806—18 (绥农 10+ 红小豆, 绥农 10 为无限型, 荚皮色为草黄色) 是一个一粒荚, 产生的植株为亚有限、分枝带帽且荚皮色为深褐色与供体类似

的变异株, 该株抗灰斑病(见表 2)。

2.1.2 由于 1998 年 D<sub>1</sub> 代的群体过大且没观察到变异, 只能全部摘荚混收 D<sub>2</sub> 代仍未观察到变异, 为不丢失材料, 秋季逐株摘荚混收, D<sub>3</sub> 代的选择群体将会更大, D<sub>3</sub> 代若仍无变异发生, 则只能淘汰组合(见表 3)。

2.1.3 组合 D96191 ~ D96195 在 D<sub>3</sub> 代仍无变异, 则淘汰(见表 4)。

2.1.4 D<sub>3</sub> 代的情况

自表 3 与表 4 结果可看出, 导入未于 D<sub>2</sub> 与 D<sub>3</sub> 代产生变异。也可能变异微小, 难以鉴定分离, 而将材料淘汰。

表 3 1999 年 D<sub>2</sub> 代田间种植与选择情况

Table 3 D<sub>2</sub> generation being planted and selected in 1999

组合号 No. of combination	受体+供体 Recipient + Donor	导入目的 Aim of introduction	种植方法 Planting method	垄数 Number of rows	变异情况 Mutation
D97206	合丰 25+ 红小豆 Hefeng25+ Hongxiaodou	丰产 High—yield	混种 Mixing pod	20	无 No
D97207	合丰 25+ 合丰 29 Hefeng25+ Hefeng29	丰产 抗灰斑 High—yield and resisting to <i>Cercospora soja</i> na	混种 Mixing pod	18	无 No
D97208	合丰 35+ 红小豆 Hefeng35+ Hongxiaodou	丰产 High—yield	混种 Mixing pod	19	无 No

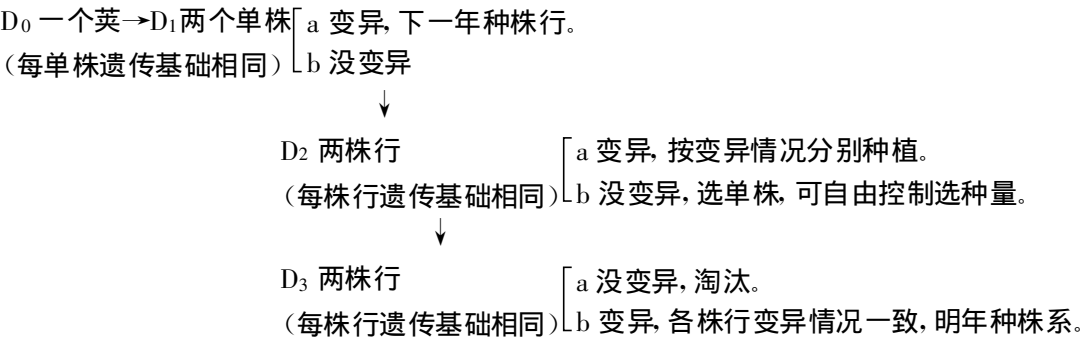
表 4 1999 年 D<sub>3</sub> 代田间种植与选择情况

Table 4 D<sub>3</sub> generation being planted and selected in 1999

组合号 No. of combination	受体+供体 Recipient + Donor	导入目的 Aim of introduction	种植方法 Planting M ethod	垄数 Number of rows	变异情况 Mutation
D96191	合丰 25+ 合丰 34 Hefeng25+ Hefeng34	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora soja</i> na	混种 Mixing pod	5	无 No
D96192	合丰 25+ 绥农 10 Hefeng25+ Suinong10	丰产 抗灰斑病 High—yield and rresisting to <i>Cercospora soja</i> na	混种 Mixing pod	5	无 No
D96193	合丰 25+ 合丰 29 Hefeng25+ Hefeng29	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora soja</i> na	混种 Mixing pod	5	无 No
D96194	垦农 4 + 合丰 29 Kennong4+ Hefeng29	丰产 抗灰斑病 High—yield and resisting to <i>Cercospora soja</i> na	混种 Mixing pod	5	无 No
D96195	合丰 25+ 合 87U—65 Hefeng25+ He87U—65	丰产 High—yield	混种 Mixing pod	10	无 No

2.1 由上述结果分析得两种后代处理方法图谱:

2.1 按英种:



2.2 混种:

$D_0$  一个组合数十个荚  $\rightarrow D_1$  近百个单株

a 有变异

i 选变异株, 下一年种株行。

ii 剩下摘荚混收。

b 没变异, 从这近百个单株中观察有无变异, 非常困难, 为不丢失材料, 只能全部混收, 无法区别哪几个遗传基础, 无法控制选种量。

b + ii 混种 ( $D_2$  代数以万计个单株的大群体, 在这样大的群体中观察变异, 难上加难, 造成材料丢失。)

a 变异

j 选变异株, 下一年

jj 剩下的大群体

b + jj 大群体内选单株, 剩下的淘汰, 则将丢失发生在  $D_3$  代的变异, 由于分子育种一个很大的作用在于, 它能打破物种的界限, 促进远缘基因的交流以解决以往远缘杂交上遇到的难题。因此, 远缘基因在受体中的表达, 目前还不十分清楚, 所以更不能在早代轻意丢弃材料。

代不宜轻易丢失材料。

3.3 混种, 易造成变异材料丢失, 从而丢失组合。

3 结论

3.1 由此说明,  $D_0$  代种子按组合单荚收获、脱粒;  $D_1$  代按荚种植、荚间设置隔离, 以后世代形成遗传基础完全一致的荚系, 这一新的后代处理方法更适合利用花粉管通道技术导入外源总 DNA 选育大豆新品种。荚系法便于观察和做遗传分析。

3.2 导入转化率在同一世代, 对混种的同一组合, 群体内遗传组成不相同, 变异表达情况不同,  $D_2$ 、 $D_3$

参 考 文 献

- 1 周光宇, 翁坚, 龚蓁蓁, 等 [J]. 中国农业科学, 1988, 21(3), 1~6
- 2 黄骏麒, 钱思颖, 刘桂玲 [J]. 中国农业科学, 1986, 19(3), 32~36
- 3 段晓岚, 陈善葆 [J]. 中国农业科学, 1985, 18(3), 6~10
- 4 雷勃钧, 尹光初, 卢翠华, 等 [J]. 大豆科学, 1991, 10(1), 58~62
- 5 王亚馥, 陈光明, 焦成瑾, 等 [J]. 作物学报, 1995, 21(4): 404~411
- 6 王黎明, 阴秀卿, 焦少杰 [J]. 黑龙江农业科学, 1994, (3): 17~20

PRELIMINARY STUDY ON METHOD OF SELECTING NEW SOYBEAN VARIETY THROUGH FOREIGN TOTAL DNA INDUCTION

Wu Xiuhong<sup>1</sup> Li Xichen<sup>2</sup> Guo Tai<sup>1</sup> Lei Bojun<sup>2</sup> Qi Ning<sup>1</sup>  
Liu Zhaojun<sup>2</sup> Zhong Rongchong<sup>1</sup> Hu Xiping<sup>1</sup> Wang Zhixin<sup>1</sup>

(1. Hejiang Agricultural Institute of Helongjiang Academy of Agricultural Science 154007;  
2. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, 150086)

**Abstract** In the course of selecting new soybean variety through foreign total DNA induction , two selecting progeny methods and their selecting effect were compared. Come up with : in same combination , harvest each pod at  $D_0$  generation , sow each pod and isolate it at  $D_1$  generation , sow population of each pod after  $D_1$  generation . This method is suit to select on of new soybean variety through foreign total DNA induction.

**Key words** Foreign total DNA ; Select; New soybean variety; Method of selecting progeny