

大豆外源 DNA 直接导入技术及育种应用^{*}

刘昭军

(黑龙江省农业科学院生物技术研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要 外源 DNA 直接导入技术是创造变异、改良作物的有效方法。本文概述了该技术在大豆育种上的应用进展, 并对该技术的使用方法、应用效果、导入后代的选择以及导入后代验证、导入机理加以分析。

关键词 大豆; 外源 DNA; 导入技术

中图分类号 S 565.1 S 336 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2004)04-0301-06

外源 DNA 直接导入技术(Direct Introduction Exogenous DNA, 简称 DIED)在本文中特指的是利用授粉操作后形成的花粉管通道外源 DNA(包括异源生物的总 DNA, 带有目的基因的质粒 DNA 等)导入尚未形成正常细胞壁的卵、合子或早期胚胎细胞, 使受体基因组发生变化, 而实现受体遗传性状的目的性改变, 选育新品种的技术。该技术的优点就是对常规育种中不亲和的异源物种在受体中得到新的组合, 扩大了育种材料的性状变化范围, 可以提高育种效率。目前已有 40 多个研究单位分别对 16 种不同作物进行了这方面的工作, 目前已经在 5 种作物上育成 14 个品种^[2-11]。该技术的应用已经获得很好的效果。本文就外源 DNA 在大豆育种上的应用进展、外源 DNA 导入、导入后代变异及处理方法、后代验证和外源 DNA 作用原理等方面进行探讨。

1 外源 DNA 直接导入技术的提出及其在大豆育种上的应用

我国学者周光宇先生于 20 世纪 70 年代对作物远缘杂交产生染色体水平以下的整合情况作了调查, 提出 DNA 片段杂交假说, 于 1974 年首先提出采用花粉管通道方法转移外源 DNA 进行作物遗传改良的设想^[1]。此项技术最先应用于棉花和水稻^[2,3], 中科院上海生化所, 中国农科院和江苏农科院在这方面都取得了一定的成就。随后扩大到多种

农作物、蔬菜和果树上。利用花粉管通道法, 成功地进行了棉花的抗虫/抗病的基因工程, 获得了多种实用化的抗虫/抗病转基因棉花新品种(系), 并进入了大面积生产。应用该技术在其它作物上也育成了一些品种, 如大豆“黑生 101”^[9]、烟草“金烟 6 号”^[4]、水稻“HK7”、“HK119”^[6]等。这都表明采用花粉管通道方法转移外源 DNA 进行作物遗传改良的方法切实有效。

采用花粉管通道方法进行外源 DNA 在大豆上的研究始于 80 年代。黑龙江省农科院由雷勃钧最先利用花粉管通道技术进行大豆育种新途径、新方法的研究, 对外源 DNA 直接导入大豆的适宜时期、方法及分子育种的应用进行了研究。通过导入具有高蛋白性状的野生、半野生大豆(PC 含量>50%)、早熟血缘供体大豆、高光效的玉米、耐盐碱的海滩豆、大粒的菜豆和高油的向日葵、花生(油分含量>50%)DNA, 分别获得了高蛋白^[9,11,12]、早熟^[18]、耐盐碱^[14,15]、大粒和高油的大豆品系, 其中半野生大豆 DNA 导入品系 D89-9822 的蛋白质含量 7 年平均为 45.44%, 最高达 47.58%, 比受体提高近 2 个百分点, 且 11S 球蛋白所占比例达 72.90%, 是大豆栽培种中罕见的。1997 年该品系作为我国第一个分子育种技术获得的大豆品种命名为“黑生 101”, 累计推广面积达 20 万 hm²。另外还获得百粒重达 30g 高蛋白的大粒豆品系以及油分含量高达 23.5% 的高油种质。该课题组还通过导入重组质粒 DNA

• 收稿日期: 2004-04-07

作者简介: 刘昭军(1974-), 男, 在职博士研究生, 研究方向, 作物基因工程与分子育种。

将抗除草剂、抗病虫基因导入受体大豆获得转基因品系,虽然基因表达较差但却为下一步的遗传转化工作打下基础。值得一提的是在 D9704 黑农 40+BT 基因、D9708 绥农 14+CH 基因的组合后代中出现了一些早熟、株高降低、白化致死等现象。目前课题组正对导入后代群体做分子标记及基因筛选工

作。另外,吉林省农科院生物中心^[16,17]、新疆农科院^[18]、东北农业大学^[19]、吉林农业大学^[25]等单位在此方面的研究也取得较好的成果,分别育成了抗食心虫、抗蚜虫、不育、高产、高油等大豆新品系。

表 1 列出了我国科技工作者近些年在大豆育种上应用外源 DNA 导入技术的情况以及效果。

表 1 大豆外源 DNA 导入技术的应用研究及效果
Table 1 Application of introducing exogenous DNA through pollen tube in soybean

报道人 Reporter	报道时间 Year	大豆受体 Receptor	外源 DNA 供体 Donor	同受体相比导入后代的变异性状 Variation of progenies introduced
雷勃钧	1994	黑农 26	龙 79-4204-10	种皮颜色变为黄色+不同程度的褐纹 蛋白质含量增加、秆软
	1995	黑农 35	龙 79-3433-1	蛋白质含量增加,球蛋白高于受体 20 个百分点
		虎林绿草豆	龙 79-4204-4	表型疯狂分离、蛋白质+脂肪含量>66%
张军	1997	长农 5	小牛胸腺 DNA	株高变矮、早熟
		长农 5	花生	D ₁ 代叶型变为圆形,D ₂ -D ₄ 代 圆叶、尖叶分离
王丕武	1997	长农 4	花生	D ₄ 代蛋白质含量平均 45.4%均存在超亲现象、脂肪含量低于双亲、百粒重增加
刘德瑛	1997	吉林 21	FD5114	抗 SMV、多花多荚、根瘤多
		吉林 25	皂角	根系发达、耐旱、黑种脐、荚硬
		吉林 20	鹰咀豆	叶片厚度增加、蜡质增强、株型收敛、耐蚜性强
	2002	吉林 25	皂角	荚皮黑、硬、粗糙,抗食心虫、蚜虫
		吉林 27	国育	荚无绒毛、抗蚜性
钱华	1998	黑农 35	玉米 MO17	株高增加、秆粗百粒重增加、叶色深绿、叶绿素增加
苗保河	1998	荷 84-5	杨树	根系发达、根密度增加、抗逆性提高
韩玉琴	2001	黑农 35	⁶⁰ Co γ 辐射的玉米 DNA	晚熟、植株繁茂
		黑农 35	⁶⁰ Co γ 辐射的龙 79-3433-1	花色由白变紫、粒变小,蛋白质增加
		绥农 14	⁶⁰ Co γ 辐射的双高大豆	粒型增大、百粒重>30g
王文静	2001	合丰 25	甘草	株高分离、蔓生、根瘤减少、叶肥大、厚、近圆形
周延清	2002	周 86①-1-1	玉米、花生、草决明	叶深绿、株高增加、抗病、节间缩短
		周 S03-1、89②-6-3		抗倒伏、抗病力增强、脐色由褐变白
田中艳	2003	抗线 2 号	海神豆	粒大、抗 3 号大豆胞囊线虫小种、耐盐碱
杨庆凯	2002	东农 90035、东农 85-593	BT 基因	分子验证导入成功,部分植株具抗虫性
陶波	2001	89-05-3	89-13	抗草甘膦能力增强
周恩军	2001	绥农 14、合丰 35	含 BT、CH 基因质粒	弱抗虫性、株高降低、早熟、部分株白化致死
刘昭军	未报道	黑农 37、东农 42	向日葵	熟期、株高疯狂分离,部分单株含油量达 23.5%
		黑农 35	玉米	株高增加、秆粗结荚性改变、粒小、高产

2 大豆外源 DNA 导入的技术

2.1 导入组合的配置

针对育种目标,恰当选择受体品种以及外源 DNA 的供体。如针对高蛋白育种目标,受体品种应选择蛋白质含量在 40%以上的品种,而且该品种的种植适应性要强、一般为生产上推广的品种。导入

的外源 DNA 的供体应选择具有高蛋白性状(PC 含量>50%),如野生、半野生大豆。若以高油为育种目标,则选择向日葵、花生和油菜等高油作物作为外源 DNA 的供体。如提高大豆抗性(抗病虫、抗除草剂),可以本物种中的抗源材料为供体,提取其总 DNA 或具抗性基因的重组 DNA 进行导入。近些年在大豆上报道的外源 DNA 来源物种有:野生、半野生大豆(高蛋白性状),海南豆、碱蓬(耐盐碱性状),

向日葵、花生(高脂肪性状),玉米(高光合效率),菜豆、芸豆(大粒),鹰嘴豆、皂角(抗食心虫、抗蚜虫)。还可以导入重组的抗病虫、抗除草剂质粒 DNA,转移目的性状。

2.2 导入时间

一般报道在大豆开花 6—32 小时内导入最佳^[1,26]。不同研究报道的具体导入时间有所不同^[14,22,23,30]。但笔者认为选择导入具体时间应考虑导入的品种开花特性、当年导入时期的气象因素,如空气湿度、土壤墒情以及阳光的照度及不同的地区等选择不同的导入时间。笔者所在的课题组选择导入时间为早晨 6:00 至上午 11:00。

2.3 具体操作

选择健壮植株主茎中上部花朵,花冠高出花萼 0.5—1.0mm、花蕾颜色鲜艳。选择除去其它的花、幼荚,然后用镊子分开花瓣轻轻夹掉,用刀片切除 1/3—1/2 柱头。标签上注明供体名称及导入的花数、节数和时间,将标签挂在导入花蕾的下一节位上。最后将约 5 微升 DNA 提取液滴于柱头上,若空气湿度小则待干后再重复一次滴入。

2.4 去除伪杂种、适时收获

在导入后 3—14 天内应不断检查导入花的结实情况,及时除去未结实花处的标签及已结实导入幼荚两侧的新生花蕾及幼荚,防止伪杂种的产生。观察导入荚的成熟情况及时收获。收获时应以荚为单位防止混杂。

2.5 导入大豆后代的选择

对导入获得的大豆后代的选择应有别于常规的杂交育种。一般采取的种植方法:按导入的外源 DNA 种类先分类,同种 DNA 的组合种在同一区,便于观察。同一组合内的 D0 代种子种植方法可以分为两种:混合法、荚系法。混合法即将收获的 D0 代种子按组合单荚收获、脱粒,D1 代混合种植,D2、D3 代按单株种植,根据变异情况以及化学分析或分子鉴定等结果入选有希望的品系进入育种程序。荚系法则是将收获的 D0 代种子按组合单荚收获,按荚种植,以后世代形成遗传基础完全一致的荚系。两种方法各有利弊,混合法种植方便,但后代群体大,变异不宜观察,但适宜于重组 DNA 的导入后代处理;荚系法则使后代系谱清晰,便于观察和遗传分析,更适合导入外源总 DNA 选育大豆新品种^[24,25]。

导入大豆后代的选择应根据育种目标,结合形态学观察、生化分析结果和田间生长、产量状况,首先确定入选组合,然后对单株进行选择。因为外源

DNA 导入后代中变异株相对较常规远缘杂交稳定地快,在 D3 或 D4 代则可以决定组合的取舍。对于转移重组 DNA 的导入后代,则针对其抗性(抗病虫、抗除草剂)进行抗性鉴别决定后代的人选^[19,26,27]。值得注意的是入选的含有目标性状的变异株系若同时引进了供体的不利性状,就需要自交或回交来定向选育。如果有可能,可以建立近等基因系的办法来选育,同时辅以分子标记技术来提高选择效率。

3 外源 DNA 导入大豆的证据

表 2 列举了一些近年来对外源 DNA 导入大豆后代的验证结果。对外源 DNA 整合的验证一般采用形态学观察、生化分析(包括蛋白质、脂肪含量测定、同工酶谱带活性分析等)以及 RAPD(对总 DNA 导入)和 PCR 检测等。但这些方法只能证明外源 DNA 确实已经整合到受体基因组,至于具体的表达机理尚未了解。从表中可以得出一定的结论:外源 DNA 导入大豆可以产生性状变异、远缘物种的优异性状可以转移至大豆、远缘物种基因组对大豆产生较大影响,后代变异规律性差。尽管有很多证据表明外源 DNA 导入技术切实可行,对其具体的基因水平如何发生变化以及该变化同性状之间的联系如何现在不清楚。

现在对于外源 DNA 导入的验证研究基本上对变异株与供体、受体三个材料来进行。如果从形态学角度出发,受体出现该物种不应有的表型、且可以多代遗传,则可以初步认定导入的外源 DNA 已经影响受体基因组发生变化。进一步的验证可以通过生化分析、抗性鉴定和分子标记手段。如果能够在变异株(品系)找到来自供体的特异性状,可以用含供体特异性状的变异品系建立分离群体;利用 RAPD, AFLP, SSR 等分子标记,用 BSA 方法筛选特异性状多态性标记,利用分子标记对分离群体的单株及供、受体进行多态性标记鉴定,用计算机程序进行连锁分析与基因定位等。这样做就不单是证明有供体特异 DNA 片段整合到了受体变异株系中,而且能证明是与什么性状相关的一段被整合了,以及被整合在受体基因组的什么位置。这一步工作尚未开展,这可能正是迄今尚未将某一供体特异性状与分子验证挂上钩的原因之一。但如果可能的话,通过此方法结合外源 DNA 导入技术将为新基因发现和利用提供一个有价值的技术路线。

表 2 外源 DNA 导入大豆后代的验证
Table 2 Verification of soybean progenies introduced with exogenous DNA

报道人 Reporter	报道时间 Year	供体 Donor	受体 Receptor	验证方法 Methods	结果 Result
雷勃钧	1994	龙 79—4204—10	黑农 26	RAPD	供体特异带出现在后代、后代出现供、受体未有的带、供、受体共有带在后代消失
王丕武	1997	花生	长农 4	蛋白质、脂肪分析、 POD、AMY SOD 同工酶鉴定	蛋白质含量增加、脂肪含量降低活性及酶谱带类同于受体
刘德璞	1997	FD5114、秣食豆	吉林 21	SMV 接种	受体抗 SMV 能力增强,多数抗Ⅲ号小种
		皂角	吉林 25、吉林 27		
	2002	鹰咀豆	吉林 20	食心虫、蚜虫鉴定	虫食率降低,蚜虫危害指数减少 50%
		皂角	吉林 27		产量下降小
刘昭军	1999	虎林绿豆、海豆	合丰 25	过氧化物酶	后代同时具有供体和受体的特征带
李希臣	1999	龙 79—3433—1	黑农 35	RAPD	后代扩增出与供体相同而与受体不同的片段
卢翠华	2000	芸豆、玉米	黑农 35	过氧化物酶 多酚氧化酶	后代存在供体特征带,供体和受体同时具有的带则颜色加深、活性增加
王文静	2001	甘草	合丰 25	形态学、细胞学	疯狂分离、花粉母细胞出现空壳、皱缩或缺,不能进行正常的减数分裂,有单价体、多价体及落后染色体产生
周思军	2001	BT、CH 基因质粒	绥农 14、合丰 35	PCR、Southern	BT7 株阳性、CH4 株阳性
周延清	2002	玉米、花生周 草决明	86①—1—1 周 S03—1、89②—6—3	SOD 同工酶 不同年份重复导入	变异株均多一条供体的谱带或谱带强弱有变化 变异结果可以重复
杨庆凯	2002	BT 基因	东农 90035、85—593	PCR	检测到阳性株

4 外源 DNA 导入的机理

4.1 外源 DNA 进入胚囊的可能性

根据申家恒^[21]、崔岩^[22]、周思军^[27]、赵炳然^[28]、翁坚^[29]等对大豆开花时不同时间花粉管生长情况的观察以及通过 P32 标记导入 DNA，证实外源 DNA 可以通过花粉管通道或者花粉管外壁组织间隙进入胚囊，然后进入无壁或壁不完整的“种胚细胞”，从而外源 DNA 有机会与受体基因组整合，产生性状变异。植物细胞为了适应其各种生理功能，营养生长与生殖生长过程中确实存在壁不完整或不积累胼胝质的状态与时期。“花粉管通道法”原理上利用的就是花粉管的通道与卵细胞合点端膜裸露的特性。这可能是“分子育种”的基础。也有人认为细胞核原生质穿壁运动现象的存在，即比细胞核小的外源 DNA 片段很可能穿壁进入受体细胞，借助受体细胞中 DNA 连接酶整合(插入)到受体细胞中。这也不失为一种外源 DNA 进入受体的一种理论解释。

4.2 外源 DNA 的作用

外源 DNA 进入胚囊后可能产生两种作用：一是

将自身携带基因进行转移、另外就是诱变功能^[28,30,31]。这在所观察后代变异现象可以得到解释。导入后代的变化基础是外源 DNA 片段。它的基本特点是：总 DNA 含有多套供体细胞基因组、主要含有核遗传信息，由于提取时的外力以及基因组自身结构特点，片段不一定是单个基因，因而理论上“分子育种”变异的类型就不只是供体性状的表达，实践也正是如此。例如供体所具有的高蛋白、抗逆、抗虫等性状在导入后代中有所体现，这就是供体基因转移的结果。另外导入重组 DNA 后代产生的结荚习性、株高、熟期及花色改变的现象就可能是 DNA 诱变所产生。总 DNA 的特性决定了“分子育种”特点，变异产生的基础是外源总 DNA，不同总 DNA 将引起受体产生不同变异。外源 DNA 片断作为一种新型诱变因素，由于本身就是遗传物质，它能参与基因突变，成为突变基因的组成部分。它不会像物理诱变和化学诱变那样发生大的有害性。这种生物诱变具有一种“引发作用”或“再启动”作用，把在系统发育中曾经“潜在”下来的性状又引发出来，表现出来。这用传统的育种及遗传学观点是很难解释的。

当然,目前对导入后的外源 DNA 的行为认识只是来自于形态学、细胞学和遗传学方面,对于外源 DNA 的作用,包括实际的整合片段、整合位置、外源片段插入对受体基因组表达结构的影响和外源 DNA 对受体基因组的诱变等机理研究仍需要更加详尽、确凿的分子生物学方面的证据。

4.3 导入后代性状变异的必然性和偶然性

经过多年的育种实践,笔者与很多的从事外源 DNA 导入的科研工作者都观察到外源 DNA 导入的后代会出现两种变异现象:一是变异是导入后代出现供体性状而自身变异较小,很容易选育新品系(品种);另一种变异则是导入后代性状变异无规律可寻,出现疯狂分离现象,育种实践中较难应用。笔者课题组在将向日葵 DNA 导入大豆品种黑农 37 的组合中同时发现了这两种现象,同一组合内不同荚系后代变异结果差异较大。部分导入后代在 D_2 代则出现叶大、叶圆近似向日葵的叶型、脂肪含量提高,而另一部分导入后代在 D_1 代起则出现极早熟至不能成熟、有限结荚习性与无限结荚习性、尖叶与圆叶、株高从 0.5m 至 2.4m 及百粒重从 10.2g 至 23.6g 等不同性状的差异较大的分离,并且在高世代(D_7 代)仍未稳定。笔者认为这就反映了外源 DNA 导入的必然性与偶然性的问题。对于必然性,可以认为是外源 DNA 片段同受体基因组局部片段分子杂交的结果,完整整合了供体片段的受体基因组表达了供体性状。对于偶然性,认为外源 DNA 片段插入可能造成受体基因组产生可移动的作用单元或启动现在仍未可知的某种分子机制,这在遗传机制类似于转座子效应。另外王玉元^[31]认为外源 DNA 插入或诱导作用可能对受体 B 染色体(决定细胞质性状)的稳定性及结构产生影响,从而影响后代基因表达。但这也可以认为是供体 DNA 与受体 DNA 分子同源的亲和性而产生片段杂交的必然结果。

参 考 文 献

- 1 周光宇.从生物学角度探讨远缘杂交的理论[J].中国农业科学,1978,11(2):16—20
- 2 黄骏麒.外源抗枯萎病 DNA 导入感病棉的抗性转移[J].中国农业科学,1986,(3):32—36
- 3 段晓岚,陈善葆.外源 DNA 导入水稻引起的性状变异[J].中国农业科学,1985,(3):6—10
- 4 江豪,陈璋,魏晓文.应用外源 DNA 直接导入法选育烤烟新品系金烟 6 号[J].福建农业大学学报,1999,28(2):147—151
- 5 王子平,何登骥,詹庆才,等.利用分子育种技术改良水稻稻瘟病抗性[J].作物研究 1999,4:4—6
- 6 詹庆才,曾曙珍,熊伏星.利用外源 DNA 导入培育水稻品种研究新进展[J].作物研究,2002(2):100—101
- 7 柏峰,刘植义,沈银柱,等.玉米核 DNA 导入小麦获得矮秆优质和早熟二个新品系[J].作物学报 1999,2:260—264
- 8 李远新,王关林,葛晓光,等.黄瓜授粉后外源基因直接导入技术研究[J].华北农学报 2000,(15)2:89—94
- 9 雷勃钧,钱华,李希臣,等.通过直接引入外源 DNA 育成高产、优质、高蛋白大豆新品种黑生 101[J].作物学报,2000,26(6):725—730
- 10 严成其,王光清,葛应麟等.外源 DNA 通过花粉管通道法导入水稻的研究[J].中国农业科学,1997,30(1):945
- 11 雷勃钧,卢翠华,钱华,等.导入外源总 DNA 获得优质高蛋白和双大大豆新品系[J].大豆科学,1995 14(3):203—207
- 12 张君,王丕武,邹信康.外源 DNA 导入大豆性状遗传变异的初步研究[J].大豆通报,1997,(5):4—5
- 13 雷勃钧,卢翠华,钱华,等.导入外源总 DNA 获得大豆早熟新品系[J].作物学报,1996,22(2):173—177
- 14 田中艳.利用外源 DNA 直接导入方法进行大豆抗线育种研究[J].黑龙江农业科学,2003,(5):27—29
- 15 周延清,路淑霞,姬晓明,等.大豆遗传转化研究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2002,(2):116—119
- 16 刘德璞,外源 DNA 导入大豆变异后代的抗虫性鉴定与筛选[J].大豆科学 2002,21(4):245—249
- 17 赵丽梅,刘德璞,孙寰,等.外源 DNA 导入大豆获得一不育材料[J].大豆科学,1995,14(1):83—87
- 18 王文静,汪林昌,战勇.新疆甘草 DNA 导入大豆性状变异的研究初报[J].新疆农业科技,2001,1:14—15
- 19 杨庆凯,曹越平,崔岩,等.利用花粉管通道技术将抗虫基因导入大豆的研究[J].中国油料作物学报,2002,(9):18—21
- 20 王丕武,张晓珍,张军.花生 DNA 导入大豆后代几种生化性状的变异分析[J].吉林农业大学学报,1997,19(4):1—6
- 21 申家恒,严国忠.大豆自花受粉时花蕾形态特征的观察[J].中国油料,1981(3):16—20
- 22 崔岩,杨庆凯,周思军,等.提高大豆花粉管通道技术转化率研究[J].大豆科学,2003,22(1):75—76
- 23 王志新.影响大豆 DNA 导入受体幼荚成活率因素初探[J].黑龙江农业科学,2000,(4):10—11
- 24 吴秀红,李希臣,郭泰,等.导入外源总 DNA 选育大豆新品种的后代处理方法初探[J].大豆科学,2001,20(2):98—101
- 25 苗保河.外源 DNA 直接导入大豆遗传变异的研究[J].中国种业,1998,2:21—23
- 26 陶波,秦智伟,向文胜,等.外源抗草甘膦 DNA 导入菜豆及其抗性表达[J].北方园艺,2001,5:37—38
- 27 周思军.农杆菌介导的大豆遗传转化[D].2000,博士论文,东北农业大学
- 28 赵炳然.外源 DNA 直接导入植物后的整合与分子验证[J].作物研究,1998,4:1—3
- 29 翁坚,沈慰芳,王自芬,等.外源 DNA 导入棉花的分子验证[J].生物化学与生物物理学报,1984,16(3):325—327
- 30 万文学,邹冬生,彭克勤.论生物诱变—外源 DNA 导入的双重作用[J].湖南农学院学报,1992,18(4):886—891
- 31 王玉元.染色体遗传中的一个不解之谜—B 染色体[J].武汉植物

- 学研究,1997,15(1),73-79
- 32 雷勃钧,李希臣,卢翠华,等. 外源野生大豆 DNA 导入栽培大豆及 RAPD 分子验证[J]. 中国科学(B辑),1994,24(6)596-600
- 33 钱华,雷勃钧,卢翠华,等. 玉米 DNA 导入的大豆导致后代性状变异的研究[J]. 黑龙江农业科学,1998,2,18-20
- 34 李希臣,雷勃钧,卢翠华,等. 外源 DNA 导入的大豆品种“黑生 101”的 RAPD 初探[J]. 大豆科学,1999,3,230-235
- 35 刘昭军,雷勃钧,卢翠华,等. 导入大豆的外源 DNA 同工酶鉴定 [J]. 黑龙江农业科学,1999,5,19-21
- 36 雷勃钧,尹光初,卢翠华,等. 外源 DNA 导入大豆适宜时期与相应方法 [J]. 中国油料,1991(1),88-89
- 37 刘昭军,李希臣. 同工酶技术在大豆育种中的应用 [J]. 黑龙江农业科学,2001,6,35-37
- 38 卢翠华,雷勃钧,韩玉琴等. 芸豆和玉米总 DNA 导入大豆及后代同工酶谱分析 [J]. 大豆科学 2000,2,172-174

THE TECHNIQUE ON EXOGENOUS DNA INTRODUCED DIRECTLY INTO SOYBEAN AND ITS APPLICATION IN SOYBEAN BREEDING

Liu Zhaojun

(Biotechnology Research Centre, Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin 150086)

Abstract Exogenous DNA direct introduction is an effective way to creat variation and to improve crops. In order to strengthen the application of this technique in soybean, the research progress on this technique is summerized, including the characteristics,introduction way ,effect, progenies selection,verification and mechanism of integration.

Key words Soybean; Exogenous DNA ; Introduction

欢迎订阅 2005 年《种子世界》

《种子世界》杂志是由中国种子协会、中国种子贸易协会、黑龙江省种子协会主办,我国种业界多具有强大实力的种子集团(公司)协办的集政策、学术、技术、信息为一体的种子专业指导(综合)类月刊。

《种子世界》杂志大 16 开本,内文 80 页,每月 5 日出版,每期定价 10 元,全年 120 元。

邮发代号:14-109 邮编:150008 地址:哈尔滨市文昌街 99 号

电话:0451-82624517 传真:0451-82631124

E-mail:zzsj@mail.hl.cn http://www.zzs.com.cn