

半野生大豆 DNA 导入栽培大豆 其后代过氧化物酶酶谱分析*

卢翠华 雷勃钧 李希臣 钱 华 吕云波

(黑龙江省农科院生物中心)

摘要 本文采用聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法,对利用花粉管通道途径,导入外源 DNA 所获大豆变异后代,进行过氧化物酶酶谱分析。结果表明:变异后代与亲本的谱带间有明显差异,后代含有供体的谱带,这说明了外源 DNA 片段已整合到受体基因组中,并在后代中得到了表达。因此,我们认为可以用同工酶酶谱分析的结果作为鉴定外源 DNA 导入大豆的生化指标之一。

关键词 大豆 外源 DNA 导入 过氧化物酶酶谱

中图分类号 S565.1

酶是蛋白质、基因的直接产物。随着对同工酶的结构功能、基因表达、染色体基因定位等研究的深入开展,同工酶在植物遗传育种中的应用也越来越引起人们的关注。因此,利用同工酶分析技术,鉴定外源 DNA 直接导入大豆的变异后代,试图从遗传学角度验证供体的基因是否已整合到受体基因组中,为大豆的分子育种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料 供试材料为 D9008 组合,共 6 份材料(见表 1)。

表 1 供试材料

编号	组合	材料
1	受体,栽培大豆	黑农 35
2	供体,半野生大豆	龙 79-4204-4
3	后代 D9008	94-526
4	后代 D9008	94-527
5	后代 D9008	94-536
6	后代 D9008	94-538

1.2 样品制备 将种子发芽,芽长 1 厘米时剪下,称芽 1.5 克,加样品提取液(0.3M 蔗糖—0.01M 氯化钾—0.05M 磷酸缓冲液)4 毫升,冰浴下研磨成匀浆,以 4 000 转/分离心 10 分钟,取上清液,置冰箱内冷冻。

1.3 电泳 采用薄层垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳法,浓缩胶浓度为 2.8%,分离胶浓度为 7.5%,电极缓冲液为 Tris—甘氨酸,每板 12 个样,每穴加样 70 微升,电流程度为 2 毫安,

在 4℃ 冰箱内电泳 6~7 小时。

1.4 染色 电泳结束后,取下胶板,用清水冲洗,用醋酸联苯胺—过氧化氢染色液进行染色,待谱带由兰色变为棕褐色时,停止染色,清水洗净,置于 7% 醋酸溶液中固定。

2 结果与讨论

2.1 从表 2 中看到,D9008 组合的受体,供体及后代的谱带迁移率是从 0.18~0.67,从图中

看到,按各谱带的集中程度,将谱带分为 A、B、C 三个区。

2.2 所有材料分别在 A 区和 C 区都有两条共同的谱带 A_1A_2 和 C_1C_2 , 共性带反映了大豆种的专一性和同源性。

2.3 受体与供体的谱带有差异,受体含有 A_3A_4 , 供体不含; 供体含有 B_2B_3 , 而受体不含。

表 2 大豆受体和供体及后代过氧化物酶 R_F 值

样品	A 区				B 区			C 区	
	$A_1(0.18)$	$A_2(0.28)$	$A_3(0.30)$	$A_4(0.34)$	$B_1(0.44)$	$B_2(0.47)$	$B_3(0.51)$	$C_1(0.64)$	$C_2(0.87)$
黑农 35	+	++	+	+	+	0	0	+	+
龙 79-4204-10	++	++	0	0	++	++	++	+	+
D94-526	++	++	0	0	+	0	0	+	+
D94-527	++	++	0	0	+	0	+	+	+
D94-536	++	++	+	+	+	0	+	+	+
D94-538	++	++	+	+	+	0	+	+	+

2.4 导入的后代材料中,有的材料含有供体所具有而受体所没有的 B_3 带,如 4、5、6 号材料,有的为受体或供体的部分谱带,有的基本为供体的谱带,这说明后代的基因组成发生了变化,外源 DNA 已整合到受体基因组中并得到了表达。

综上所述,外源半野生大豆的 DNA 导入栽培大豆所获的变异后代,其过氧化物酶同工酶酶谱变化明显,这与其表型的农艺性状株型的变化是相一致。这说明受体导入了外源 DNA 后,同工酶系统发生了质和量的变化。因此,用同工酶分析技术鉴定外源 DNA 导入后代,可以从遗传学水平上来反映变异的存在与

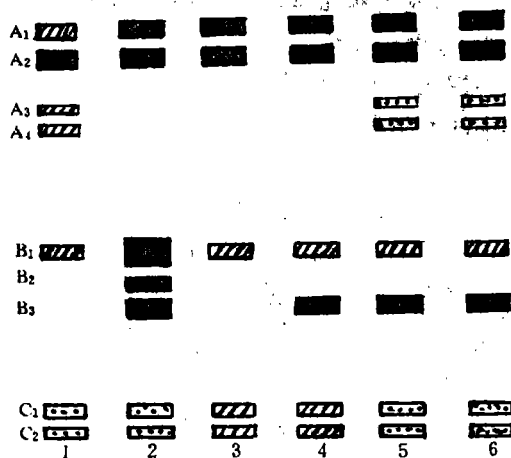


图 大豆过氧化物酶酶谱示意图

否及差异大小,进一步为植物外源 DNA 导入技术在作物育种上的应用提供理论依据。

An Analysis of Isozyme Patterns in Soybean Received Foreign DNA of *G. Gracilis*

Lu Cuihua Lei Buojun Li Xichen Qian Hua Lu Yunbo

(Biotechnology Research Center, Heilongjiang Academy of Agri. Sci.)

Abstract With the method of polyacrylamide gel electrophoresis analysis of the peroxidase patterns in variant progenies of soybean obtained by introduction of DNA through pollen tube. The result showed that there were differences between parents and their progenies. The progenies contained the bands of their donors. This indicate that the segments of foreign DNA have inserted into the genome of the receptor and expressed in progenies. Therefore, we think that isozyme can be used as a biochemical indicator for evaluating soybean having received foreign DNA.

Key words Soybean, Foreign DNA, Introduce, Peroxidase enzyme pattern