

科研报告

外源 DNA 导入玉米自交系获得变异新品系^{*}

祁永红 李春秋 陈喜昌 倪希文 武 博

(黑龙江省农科院玉米研究中心)

钱 华 李学湛 雷勃钧 卢翠华 李希臣

(黑龙江省农科院生物技术中心)

张代臣

(哈尔滨市南岗区跃进乡农技站)

摘要 本文报道了同种内 DNA 导入获得变异后代的试验结果,其变异率和变异性状与不同种间的导入结果相似,所不同的是后代稳定的比较快,D₃代即稳定;从细胞结构观察:变异新品系的结构既有供体的结构特征,又有受体的结构特征,但多数为供体的特征,这与田间性状表现相吻合。

关键词 外源 DNA 玉米自交系 花粉管通道

中图分类号 S513

玉米自交系选育除人工诱变的方法外,主要采取常规的方法。随着生物技术的发展,分子育种在植物育种中逐渐被尝试利用,取得很大的成效,并且在目前由于对植物遗传背景了解的局限性及植物的性状又不仅仅是单基因所控制,在目的基因的分离、转移存在很大困难的情况下,总 DNA 片段的导入,对于基因工程更深的研究及现行农业的应用研究都起着很重要的作用;自 1992年起,我们将外源总 DNA 直接导入玉米自交系的方法及后代变异情况,作了系统研究并获得了变异株系。

1 供试材料

1.1 供体 子粒颜色为紫色的玉米自交系紫玉米,株高 155cm 左右,穗位高 40cm 左右,叶片为剑叶上冲,叶色浓绿,株型收敛。

1.2 受体 黑龙江省农科院玉米中心综合技术研究室的玉米自交系抗甸 11,株高 145cm 左右,穗位高 35cm 左右,叶片宽大淡绿色,株型松散披搭。

2 试验方法

2.1 外源 DNA 的制备 黑龙江省农科院生物中心采用氯仿-异戊醇-核糖核酸酶法,对供体进行总 DNA 的提取,提取的 DNA 经岛津 UV-265 紫外检测和琼脂糖凝胶电泳进行纯度

浓度和片段大小的鉴定,符合导入条件,以 \times SSC溶液配制 DNA,浓度为 $50\mu\text{g/ml}$

2.2 导入时期和方法 选取自交授粉后 18~19 小时的受体果穗,剪去距穗轴顶部 1cm 以上的苞叶和花丝,将供体 DNA 滴在切口处,2 小时后重复滴注一次,共 2 次,1ml 穗,并用 \times SSC 溶液作相同处理为对照。

2.3 后代处理与观察 将处理的各代材料按穗行单粒点播,株行距 $30\text{cm} \times 70\text{cm}$,行长 4m,随机排列,后代均严格套袋自交,管理同大田;数据统计参考诱变育种的方法,并于 D_1 代调查成活率, D_1 和 D_2 代调查变异率及变异性状,观察变异后代稳定情况,收获后室内考种。

2.4 解剖结构观察 对紫玉米 DNA 导入玉米自交系抗甸 11 的稳定变异材料及供体、受体进行解剖结构分析研究:于始穗期对上述材料取主穗抽出的叶片 1/2 处,经 70% 酒精固定,番红固定染色,二甲苯透明,中性树脂封片,0lympus BH2 光学显微镜下观察

3 结果与分析

3.1 紫玉米 DNA 导入玉米自交系抗甸 11 后代变异情况 紫玉米 DNA 导入玉米自交系抗甸 11 处理当代获 112 粒种子, D_1 代种植 8 行,出苗率 92.85%,对照收获 126 粒种子种植 9 行内无变异株出现,而处理的 8 行内有一行出现一株变异,若变异率用变异株数与出苗数之比来计算,那么变异率为 9.7×10^{-3} , D_1 代未发现变异的行系, D_2 D_3 代均无变异株出现, D_1 代变异的穗行中 D_2 代穗轴色由 D_1 代的粉色分离为粉色和白色两个品系, D_3 代两个品系既稳定。

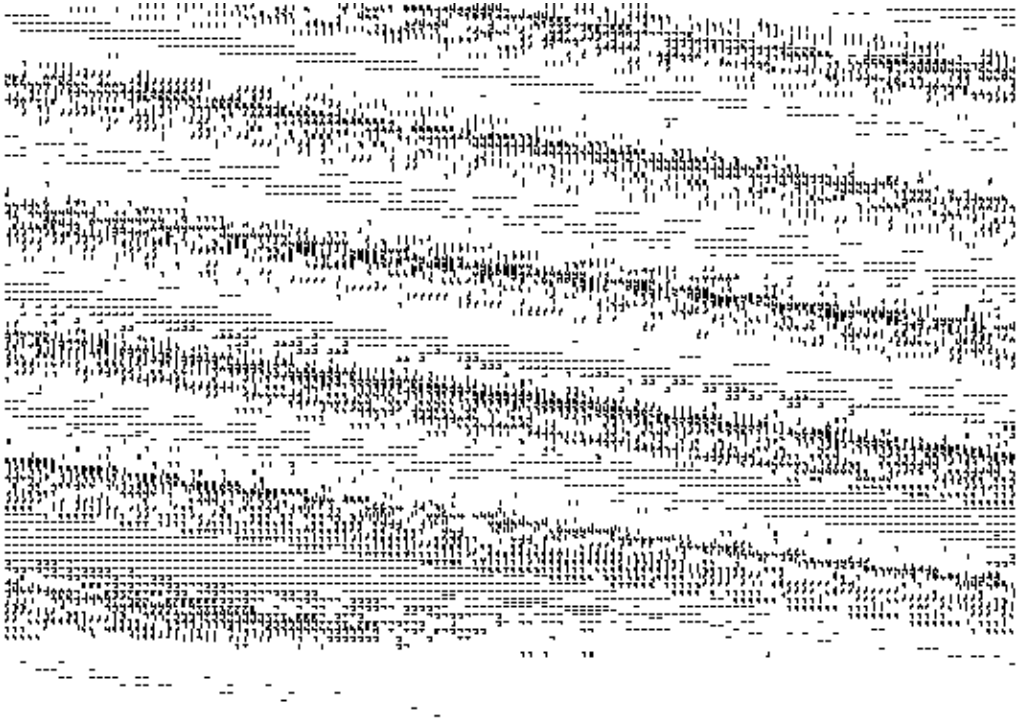


图 1 受体和后代

图 2 供体

3.2 供体、受体及变异新品系部分性状之间的关系 将叶片为剑叶、株型收敛的紫玉米的 DNA 导入到叶片为波浪形、株型松散披搭的玉米自交系抗甸 11 中所获得的两个变异新品系株型与供体、受体之间的差异见下图,其它性状的异同见表 1

从表 1 看出,所获得的两个新品系的株型基本相同且与供体相似,D₁代株型变异,D₂代株型稳定;生育期比双亲都提前,穗形、粒型、粒色等与受体相同,而穗轴色的分离一个是供体的类型,一个是受体的类型。穗粗基本上与供体相同,因穗长和粒行数供体和受体本身差别不大,所以变异新品系与双亲基本相同。

3.3 供体、受体及变异株系间解剖结构的异同 通过光学显微镜下观察,供体与受体间结构存在明显差异:供体的表皮细胞物质丰富,外侧壁加厚,叶肉细胞间隙小,排列紧密,维管束木质部导管和韧皮细胞比受体小,排列也紧密;而受体表皮细胞外侧壁未见加厚,细胞和维管束排列疏松,细胞物质少,液泡化,上下表皮细胞大小基本相等。

表 1 供体和受体及变异新品系部分性状之间的比较

| 项目 | 供体 (紫玉米) | 受体 (抗甸 11) | 变异 新品系-1 | 变异 新品系-2 | 项目 | 供体 (紫玉米) | 受体 (抗甸 11) | 变异 新品系-1 | 变异 新品系-2 |
|----------|-------------|---------------|-------------|-------------|---------|-------------|---------------|-------------|-------------|
| 株高 (cm) | 155 | 145 | 150 | 160 | 子粒类型 | 中硬 | 中硬 | 中硬 | 中硬 |
| 穗位高 (cm) | 40 | 35 | 30 | 35 | 粒色 | 紫色 | 橙色 | 橙色 | 橙色 |
| 叶片长 (cm) | 61 | 60 | 65 | 68 | 粒型 | 圆粒 | 圆粒 | 圆粒 | 圆粒 |
| 叶片宽 (cm) | 8.5 | 9.0 | 7.5 | 7.0 | 轴色 | 白 | 粉色 | 粉色 | 白色 |
| 叶片出角° | 20 | 45 | 20 | 20 | 穗长 (cm) | 15 | 15 | 12 | 17 |
| 叶片颜色 | 浓绿 | 绿 | 浓绿 | 浓绿 | 穗粗 (cm) | 4.7 | 3.3 | 3.7 | 3.1 |
| 生育期 (天) | 114 | 113 | 105 | 105 | 粒行数 | 14 | 12~14 | 18 | 12 |
| 穗形 | 圆柱 | 短锥 | 短锥 | 长锥 | | | | | |

变异后代与供体、受体在结构上既有相同之处,又存在着差异。首先,变异新品系-1有供体的表皮细胞外侧壁加厚,细胞和维管束排列紧密,表皮细胞大小一致排列整齐的特征,但又不同与供体,如:下表皮细胞变大为上表皮细胞的 2 倍,这又与受体表皮细胞的大小相似。其次,变异新品系-2有受体的下表皮细胞肥大不整齐,大小不一,上表皮细胞整齐一致的特征,但又有供体的特征,如:细胞和维管束排列紧密,细胞物质丰富等特征。

4 讨论

4.1 利用花粉管通道法将外源总 DNA 直接导入玉米自交系中,能够产生变异后代,其转化率为 9.7×10^{-3} 。且转化的性状如:株型、生育期等多是由多基因控制的数量性状,且稳定快,D₂代即稳定,是常规和诱变育种所不能比的;这可能是由于控制数量性状的微效多基因处在同一 DNA 片段中而被一起整合的结果,而这些数量性状的变异多发生在 D₁代,象轴色等的质量性状的变化则发生在 D₂代,这可能是基因分离, DNA 溶液激活或诱发基因变化的结果;从结构上看虽然供体与受体存在很大差异,但变异后代的结构特征既有与它们相同之处,又有差异,而差异亦都在供体与受体之间变化,两个变异后代结构上多表现为供体的特征,这与田间性状表现相一致。

4.2 目前由于玉米基础材料资源的贫乏,所配出的组合远不能适应当今生产的需要,为了拓宽基础材料、丰富种质资源,我们通过外源 DNA 导入的方法改良创造了优良玉米自交系。使某些数量性状遗传的性状如株型等呈质量性状遗传规律表现出来,现已稳定的两个紧凑型玉

米新品系,1995年开始测配,通过1996~1997年的田间观察和室内考种,现已有紧凑、耐密、抗病、高产苗头性组合,渴望不久的将来将正式推广,为生产服务,创造更大的经济效益和社会效益

参 考 文 献

- 1 周光宇.农业分子育种,中国农业科学,1988,21(3): 1~6
- 2 董延瑜.外源DNA导入技术在植物分子育种上的应用研究.湖南农学院学报,1994,20(6): 513~521
- 3 耿庆汉.小麦DNA导入玉米引起性状变异的研究.内蒙古农牧学院学报,1992,13(1): 14~21
- 4 雷勃钧.外源DNA直接导入大豆的研究.大豆科学,1991,10(1): 58~63

New Strains Obtained by Introducing Exogenous DNA Into Maize Inbred Line

Qi Yonghong Li Chunqiu Chen Xichang Ni Xiwen Wu Bo

(Centre of Maize Institute, Heilongjiang Academy of Agr. Sciences)

Qian Hua Li Xuezhao Lei Bojun Lu Chuihua Li Xichen

(Biotechnology Research Centre, Heilongjiang Academy of Agr. Sciences)

Zhang Daichen

(Yuejin Station of Agricultural Techniques of Nangang District of Harbin)

Abstract This paper summarized the results of studies on obtaining maize mutants by introducing exogenous DNA from the same species. Studies indicated that transformation rate and variation were similar to those of DNA introduction between different species. The distinction was that variation character stabilized rapidly. It was found that only 3 generations were needed to breed a new variety. Observed from microscopic structure, the structures of the variation strains were like donor's as well as recipient's. But most of the structures were from donors, identical to the expression in field.

Key words Exogenous DNA, Maize inbred line, Pollen tube pathway