

辐照外源 DNA 导入大豆的研究初报^{*}

卢翠华, 韩玉琴, 李希臣, 周思君, 刘昭军, 雷勃钧, 钱 华

(黑龙江省农科院生物技术研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 本研究采用软 X 射线和⁶⁰Co γ 射线照射外源 DNA, 通过花粉管通道将外源 DNA 直接导入大豆。结果表明: 不同的射线、不同的剂量照射使 DNA 的紫外吸收值发生变化, 并影响导入后代的出苗率, 使后代在第一代发生变异。

关键词: 辐照; 外源 DNA; 大豆

中图分类号: S565.103.5 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2000)02-0017-02

A Preliminary Study on Irradiation and Introduction of Foreign DNA into Soybean

Lu Cuihua, Han Yuqin, Li Xichen, Zhou Sijun, Liu Zhaojun, Lei Bojun, Qian Hua

(Biotechnology Research Center, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Foreign DNA was irradiated with soft X-ray and ⁶⁰Co γ -ray and was introduced into soybean through pollen tube channel. The result showed that the change of kind of ray and its dosage made the ultraviolet absorption of the DNA and the rate of emergence of D₁ seeds changed. The variation occurred in D₁ generation.

Key words: Irradiation; Foreign DNA; Soybean

众所周知, 辐射可以使染色体断裂, 诱导染色体易位, 选育易位系。而外源 DNA 直接导入技术可以打破物种界限、缩短育种年限。我们将辐射技术与生物技术结合起来, 试图扩大变异幅度, 提高有益变异率, 拓宽遗传基础, 为改良大豆品种提供一个新的方法和途径。

1 试验材料和方法

1.1 供试材料

选择优质、高产、抗病的农作物品种(系)为供体材料, 提取其总 DNA。

供体材料为虎林绿草豆(绿色种皮)、半野生大豆龙 79-3433-1(高蛋白、抗逆性强)、双高大豆品系(高蛋白、高脂肪)、玉米黑 301(产量高)、青瓢黑豆(黑色种皮、抗病)和垦农 7 号(高产、抗病), 受体材料选择我省主栽大豆品种及优良品系。

1.2 试验方法

1.2.1 提取供体总 DNA 采用氯仿-异戊醇-苯酚-核糖核酸酶法, 提取供体总 DNA, 经过岛津 UV-265 紫外检测和琼脂糖凝胶电泳检测, 均符合标准。

1.2.2 辐照总 DNA 软 X 射线照射: 将半野生大豆龙 79-3433-1、虎林绿草豆、双高大豆的总 DNA 进行软 X 射线照射, 剂量分别是 2Gy、20Gy、200Gy; ⁶⁰Co γ 射线照射: 将玉米黑 301、青瓢黑豆、垦农 7 号、半野生大豆龙 79-3433-1 的总 DNA 进行 ⁶⁰Co γ 射线照射, 剂量分别是 1Gy、3Gy、5Gy; 以未照射的 DNA 为对照; 以 λ DNA + HindIII 为标准长度 DNA 进行琼脂糖凝胶电泳, 观察 DNA 降解效果。以未照射的为对照进行紫外检测, 观察紫外吸收值的变化。

1.2.3 辐照外源 DNA 的导入 在受体材料大豆盛花期, 选择其自花受粉 632h 的花, 切去柱头, 用微量注射器将总 DNA 滴于柱头, 利用其花粉管通道使总 DNA 进入子房。

* 收稿日期: 1999-12-28

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目。

作者简介: 卢翠华(1957-), 女, 副研究员, 从事生物技术研究。

2 结果与分析

2.1 组合的配制及当代种子的获得

共得到 53 个组合。其中射线处理的 40 个组合, 导入 3 077 朵花, 结 133 个荚, 得到 319 粒种子, 结荚率4. 3%, 结实率 10. 5%; 对照 13 个组合, 导入 364 朵花, 成活 74 个荚, 169 粒种子, 结荚率 20. 3%, 结实率46. 4%。

表 1 受 X 照射 DNA 的紫外吸收值变化

波长 (nm)	龙 79— 3433— 1				双高大豆				虎林绿草豆			
	CK	2Gy	20Gy	200Gy	CK	2Gy	20Gy	200Gy	CK	2Gy	20Gy	200Gy
230	0. 114	0. 102	0. 087	0. 089	0. 119	0. 094	0. 107	0. 081	0. 070	0. 110	0. 107	0. 094
260	0. 302	0. 118	0. 105	0. 112	0. 315	0. 119	0. 126	0. 104	0. 192	0. 108	0. 121	0. 110
280	0. 169	0. 062	0. 056	0. 059	0. 173	0. 063	0. 070	0. 051	0. 109	0. 062	0. 066	0. 058

表 2 受⁶⁰Co γ 照射 DNA 的紫外吸收值变化

波长 (nm)	龙 79— 3433— 1				青瓢黑豆				垦农 7 号				玉米黑 301			
	CK	1Gy	3Gy	5Gy	CK	1Gy	3Gy	5Gy	CK	1Gy	3Gy	5Gy	CK	1Gy	3Gy	5Gy
230	0. 114	0. 054	0. 064	0. 137	0. 010	0. 064	0. 036	0. 051	0. 111	0. 014	0. 022	0. 044	0. 162	0. 048	0. 042	0. 048
260	0. 302	0. 117	0. 123	0. 225	0. 083	0. 151	0. 096	0. 120	0. 214	0. 094	0. 106	0. 126	0. 492	0. 137	0. 116	0. 139
280	0. 169	0. 069	0. 074	0. 129	0. 043	0. 083	0. 055	0. 067	0. 121	0. 043	0. 048	0. 065	0. 242	0. 077	0. 067	0. 075

从表 1 和表 2 可以看出, 所列的材料经射线处理的紫外吸收值比对照下降, 而且随着剂量的增加, 吸收值下降幅度大, 说明电离射线引起供体总 DNA 溶液吸收光值(OD)降低。

2.3 辐照外源 DNA 对 D₁ 代出苗率的影响

53 个组合(含对照组合), 共播种 856 粒种子, 出苗 451 株, 出苗率为 52. 6%, 不同的剂量对出苗率影响不同(见表 3)。经软 X 射线处理的材料出苗率为 48. 0%, 而未处理的对照为 65. 6%; 经⁶⁰Co γ 射线处理的出苗率为 45. 0%, 而对照为 64. 4%。说明射线照射引起出苗率下降。

表 3 不同剂量的 X 和⁶⁰Co γ 射线对 D₁ 代成苗率的影响

射线	处理	粒数	株数	百分比 (%)	百分比 (%)
软 X 射线	CK	96	55	65. 6	65. 6
	2Gy	156	73	46. 8	48. 0
	20Gy	116	61	52. 6	(软 X 射线处 理的平均值)
	200Gy	120	55	45. 8	
⁶⁰ Co γ 射线	CK	73	47	64. 4	64. 4
	1Gy	139	57	41. 0	45. 0
	3Gy	56	31	55. 4	(⁶⁰ Co γ 射线处 理的平均值)
	5Gy	108	72	66. 7	

2.4 辐照外源 DNA 对 D₁ 代变异的影响

与有性杂交不同, 外源 DNA 直接导入技术, 在

2.2 辐射对 DNA 紫外吸收值的影响

软 X 射线照射半野生大豆龙 79— 3433— 1、双高大豆、虎林绿草豆的 DNA, 不同的照射剂量, DNA 紫外吸收值不同(见表 1)。

⁶⁰Co γ 射线照射半野生大豆龙 79— 3433— 1、青瓢黑豆、垦农 7 号、玉米黑 301 的 DNA, 不同的剂量, DNA 紫外吸收值(见表 2)。

D₁ 代就有变异发生。以后在其它代数也有变异发生。本试验经田间观察及室内考种, 有的组合及植株发生变异。如组合黑农 35+ 龙 79— 3433— 1、黑农 35+ 虎林绿草豆、垦农 4 号+ 双高大豆单株的分枝数增多, 植株繁茂, 而组合绥农 14+ 双高大豆, 后代植株叶型变圆, 同供体。另外有的植株熟期变晚。其他变异性状有待进一步观察。

3 讨论

本试验结果表明: DNA 经射线照射后, 引起了供体 DNA 溶液吸光值降低, 说明辐射引起了 DNA 链断裂和碱基对破坏。导入大豆后, 影响结实率和出苗率, 经照射的结实率是 10. 5%, 对照是 46. 4%; 经 X 射线照射的植株出苗率为 48%, 经⁶⁰Co γ 射线照射的出苗率为 45%, 对照的出苗率为 65. 0%; 而且第一代发生变异株的频率高于对照。经射线处理的 DNA 与对照相比其结实率与出苗率的差异, 可能操作中的误差造成的。

参 考 文 献

[1] 周光宇. 植物分子育种. 中国农业科学, 1978, (2): 120
[2] 李忠杰等. 辐照外源 DNA 导入小麦诱变效果初探. 核农学报, 1995, 16(1): 14