

利用 EMS 化学诱变改造玉米自交系的研究

李海军, 池书敏, 刘志增, 陈景堂, 路 鹏, 张丽华

(河北农业大学农学院, 河北 保定 071001)

[摘 要] 选用生产上的玉米骨干自交系, 使用不同浓度的甲基磺酸乙酯(EMS)处理其成熟花粉。处理后代采用系谱法种植; 在后代群体选择早熟、晚熟和各种有利用价值的株型变异; 通过 M_1 、 M_2 代两代田间选择和 M_3 代田间鉴定, 从多个自交系中选出了已稳定的早熟、晚熟突变体和一个有利用价值的株型突变体; 并得出浓度为 0.667×10^{-3} 的 EMS-石蜡油有利于早熟突变的发生, 而大于 10^{-3} 的 EMS-石蜡油有利于晚熟突变的发生。由于所得自交系为原自交系的等基因突变体, 因此该技术在育种实践和理论上具有重要意义。

[关键词] 甲基磺酸乙酯(EMS); 化学诱变; 生育期; 株型; 突变体

[中图分类号] S 513.035.2

[文献标识码] A

Studies on Reform of Corn Inbred Line by EMS

LI Hai-jun, CHI Shu-min, LIU Zhi-zeng, CHEN Jing-tang, LU Peng, ZHANG Li-hua

(Department of Agronomy, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: The earlier matured mutant, the later matured mutant and other valuable mutant of plant type were produced by direct treating mature pollen of main inbred line of maize in field. The offspring treated were planted by pedigree method. Through M_1 and M_2 selection and M_3 evaluation in field, some mutants were stable. The results also indicated that the 0.667×10^{-3} treatment level of EMS attributed to the earlier matured mutant and the over 10^{-3} treatment level attribute to later matured mutant. The mutants were isogonic lines of original inbred because of point mutation. Thus the technique has a great meaning in breeding practice and theoretical research.

Key words: EMS; Chemical inducement; Growth period; Plant type; Mutation

农作物化学诱变育种是人为地利用化学诱变剂, 诱发作物发生突变, 再通过多世代对突变体进行选择 and 鉴定, 直接或间接地培育成生产上能利用的作物新品种^[1]。化学诱变具有成本低廉、使用方便, 诱变作用专一等特点, 是一种迅速发展的农作物育种手段。目前, 在众多的化学诱变剂中, 甲基磺酸乙酯(EMS)被认为是应用最好的诱变剂^[1-6]。早在 1978 年, Neuffer 利用 EMS-石蜡油处理玉米花粉, 获得种种突变体。并且其诱变效果远远高于电离辐射和自发突变^[7]。在国内, 薛守旺、赵永亮等分别利用该技术获得多种特用玉米新种质。并得出结论: EMS 花粉化学诱变使玉米主要胚乳基因的突变率比

自然突变率至少提高了 100~1 000 倍以上^[2,8]。而 Burn^[9]、Lebkowski^[10]等研究表明 EMS 诱导的主要是点突变; Bird^[11]报道用 EMS 处理玉米花粉, 突变率可高达 78%。

该技术在国内外已成为一种成熟的技术, 但是在玉米上大多只限于诱变效果研究, 创造特用玉米和利用特殊突变体进行生理生化等基础性研究上。而本研究利用该技术处理目前生产上配合力高骨干玉米自交系, 改造其生育期或抗性, 从而拓宽自交系的可利用区域, 达到改造玉米自交系和创新种质的目的, 为选育突破性玉米新品种作出贡献。

1 材料与方法

(1) 诱变材料: 选用稳定的自交系为材料(表 1)。

[收稿日期] 2002-03-05

[作者简介] 李海军 1973- , 男, 河北农业大学 99 级硕士生, 从事玉米育种研究。

表 1 处理材料

材 料	类型	株型	来源
农系 53	自交系	松散型	河北农大
农系 110	自交系	半紧凑型	河北农大
K12	自交系	紧凑型	长城种业
S37	自交系	平展型	四川农大
丹 340	自交系	平展型	长城种业
齐 319	自交系	半紧凑型	长城种业

(2)诱变剂:甲基磺酸乙酯(EMS)(ethyl methane sulfonate 德国产);

(3)载体剂:液体石蜡(天津);

(4)诱变材料种植:为了处理方便和工作人员安全,该处理自交系(Mo)行距加宽到 75 cm,株距按常规种植;

(5)Mo 预处理:提前根除杂株;在诱变的前一天下午,雌穗剪苞叶,雄穗去掉老花药后分别套袋。

(6)处理液制备:参照 Neuffer 的方法。在通风橱内,按照 1 mL EMS:100 mL 液体石蜡的比例配制母液,在磁力搅拌器上搅拌 1 h 混合均匀;在大田处理前,配成所需浓度。本试验采用了大多数人认同的浓度 0.667×10^{-3} 和比它低的 1×10^{-4} 以及比它高的 1×10^{-3} , 1.5×10^{-3} , 2×10^{-3} 共 5 个浓度;CK 对照,为纯石蜡油处理。

(7)田间诱变处理:在适当的时间,收集新鲜花粉,过筛除去花药后,按照 1 体积花粉:10 体积处理液的比例于棕色瓶里,在混匀器上间断的混匀,处理 45 min 后,在田间用毛笔把相应花粉授在相应的

花丝上。

(8)后代处理:M₀ 果穗成熟后收获,得到 M₁ 种子。

M₁ 种子全部按穗行单粒点播,苗期和成株期进行田间观察,并挂牌标记;将全部植株自交后得到 M₂ 代种子,并观察子粒突变。

M₂ 代种子按穗行种植,每穗种 3 行,共 60 粒,每 15 行种植 CK 2 行;抽雄时调查抽雄情况及株型和抗性变异,并进行挂牌标记。将标有变异的植株自交得 M₃ 代种子;

M₃ 自交种子种成穗行,每 5 行加一个对照;此代中,观察、记录各穗行的抽雄期及其他性状,将不同穗行同对照比较,选择整齐一致并与 CK 有明显差异的穗行即为突变纯合体,将有利用价值的突变体自交留种。

(9)生育期突变选择标准:每穗行的抽雄高峰期与 CK 的抽雄高峰期相差 6 天以上。

2 结果与分析

(1)在 M₁ 代苗期主要是表现为叶片色素的变异,如条纹叶、黄绿苗和歧形苗等等;从表 2 可以看出,M₁ 植株中早熟占 2.82%,晚熟占 49.52%,株型变异占总变异的 47.62%,说明 M₁ 中主要出现晚熟类型的变异。

表 2 M₁ 代植株的突变

材 料	早熟	晚熟	株型	变异株	总株数	变异率%
P53	0.00	11.00	7.00	18	706	2.55
BS110	0.00	6.00	21.00	27	211	12.79
K12	1.00	8.00	11.00	20	219	9.13
S37	0.00	17.00	9.00	26	271	9.59
丹 340	2.00	4.00	2.00	8	654	1.22
齐 319	0.00	6.00	0.00	6	162	3.70
合计	3.00	52.00	50.00	105	2 223	4.72
变异数/总变异数(%)	2.86	49.52	47.62			

表 3 M₂ 代植株的主要变异类型(按穗行计)

材 料	早熟	晚熟	株型	抗玉米螟	变异穗行	总穗行	变异率%
P53	11	0	7	0	18	607	2.97
BS110	0	1	3	0	4	201	1.99
K12	15	8	0	5	28	187	14.97
S37	0	0	6	0	6	103	5.83
丹 340	10	9	11	0	24	487	4.93
齐 319	0	0	1	0	0	131	0.76
变异数/总变异数(%)	45%	22.5%	35%	6.25%	80		

(2)M₂ 代中,苗期变异和子粒变异都处于变异高峰期,子粒变异主要有白胚乳、糖胚乳、穗发芽和浅黄粒,而以白胚乳,穗发芽的变异频率最高;苗期

以白化苗、黄化苗、分蘖苗的变异为主,同时出现少量单胚双生苗。由表 3 可知,在 M₂ 代,早熟突变高

于晚熟突变。但从 M_1 到 M_2 代看,晚熟突变绝大部分并不能真实遗传。

表 4 M_3 代植株的突变(生育期及株型,按穗行计)

材 料	早熟	晚熟	株型	抗虫
P53	7	0	2	0
BS110	0	1	3	0
K12	10	5	0	5
S37	0	5	6	0
丹 340	2	5	7	0
齐 319	0	0	0	0

(3) M_3 代的田间鉴定:表 4 所列数据只包括整齐的穗行。调查表明:除晚突变中部分在分离外,其余变异都已稳定。

3 结论与讨论

本试验利用 EMS-石蜡油诱导玉米成熟花粉,后代按照系谱法种植,经 M_1 、 M_2 代选择和 M_3 代田间鉴定得到了早熟、晚熟和株型等有利利用价值的突变体。证明利用该方法改造玉米自交系是可行的;且得出低浓度 EMS-石蜡油溶液(0.667×10^{-3})有利于产生早熟突变体,而高浓度 EMS-石蜡油溶液(大于 10^{-3})有利于产生晚熟突变体。

晚熟突变在 M_1 代表现,这说明晚熟性状由显性基因控制。但其绝大部分并不能真实遗传,而只有极其小部分可以遗传,这可能是由于 EMS 对其的生理伤害所致,使其代谢失常;因此,如果在 M_1 代进行晚熟选择则盲目性太大,因而不宜在 M_1 进行。早熟性状在 M_1 代选择全部无效,而在 M_2 代已纯合,这说明早熟性状由隐性基因控制。因此,在诱变后代选择生育期突变体应在 M_2 代进行。本试验中同一自交系同时出现早熟和晚熟突变体,这可能是由于生育期性状由多对主效基因控制。这与傅同良^[12](1996)的研究基本一致:其认为早熟性状的遗

传是以加性效应为主,近 50% 情况下晚熟对早熟为部分显性。

本试验中所得到的 K12 抗虫突变体是与 CK 相对而言,由于生产上的 K12 对玉米螟的抗性差,而本试验中得到的 K12 晚熟突变体对玉米螟抗性大大提高,不知是由于抗性基因突变所致还是由于逃避的原因,有待进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] 柳学余,等.农作物化学诱变育种[M].东北大学出版社,1992.
- [2] 薛守旺,利用花粉化学诱变创造玉米自交系的研究[J].作物杂志,1998(6):6-8.
- [3] Bird, R. Mck. and M. G. Neuffer. Induced mutations in maize. In: J. Janick(ed.). Plant Breeding Reviews(5)[J]. New York: Van Nostrand Reinhold, 1987, 139-180.
- [4] 张铭堂.诱变[J].科学农业,1996,44(1,2):37-52.
- [5] 祝丽英,池书敏,刘志增,等.甲烷磺酸乙酯(EMS)在创造玉米新种质中的应用[J].玉米科学,2001,9(3):14-17.
- [6] 刘泊先.玉米育种新技术[J].玉米科学,1995,3(4):12-15.
- [7] Neuffer M. G. Paraffin oil technique for treating mature corn pollen with mutagens[J]. Maydic, 1978, 22:21-28.
- [8] 赵永亮,宋同名,马惠平.利用花粉化学诱变快速创造特用玉米新种质[J].作物学报,1999,25(2):157-161.
- [9] Burns, P. A., F. L. Allen, and B. W. Glickman. DNA sequence analysis of mutagenicity and site specificity of methane sulfonate in Uvr and UvrB strains of *E. coli*[J]. Genetics, 1986, 113:811-819.
- [10] Lebkowski, J. H. Millwer, and M. P. Calos Detwemination of DNA sequence changes induced by ethyl methane sulfonate in human cells, using a shuttle vector system. Mol. cell[J]. Biol., 1986, 6:1838-1842.
- [11] Bird, R. Mck. Chemical dominants in the M1 from an EMS treatment [J]. Maize Genet. Coop. News Lett., 1983, 57:30.
- [12] 傅同良.玉米早熟性的相关和遗传研究[J].玉米科学,1996,4(1):26-28.

联系电话:0312-2091589(办) 0312-2046569(宿舍)