

高粱种子 EMS 诱变处理的研究

白鸿雁 杨 伟 武 肇

(山西省农业科学院高粱研究所, 晋中 030600)

摘要:为了探明化学诱变剂 EMS 对高粱种子的诱变处理效果,进行了不同 EMS 浓度、不同 EMS 处理时间对 R111 种子发芽率和成苗率影响的试验,并在适宜浓度和处理时间下,比较了 6 种基因型的发芽率、发芽势和成苗率。结果表明: R111 的 EMS 致死浓度为 0.5%,半致死浓度为 0.25%,适宜的处理时间为 10~15h;经处理后,不同基因型材料的发芽率、发芽势、出苗率明显不同,说明不同基因型对 EMS 的敏感性不同,半致死浓度有差异。

关键词:高粱;化学诱变;甲基磺酸乙酯(EMS)

农作物化学诱变育种是指用化学诱变剂处理作物品种材料,以诱发材料产生可以遗传的变异,然后根据育种目标,对产生的变异进行多世代的选择和鉴定,育成生产上可利用的品种或品系^[1]。由于化学诱变具有使用方便、成本低廉、点突变比例高、突变频率高等特点^[2],近年来被育种者广泛使用。在众多的化学诱变剂中,甲基磺酸乙酯(EMS, ethyl methyl sulfonate)被认为是最高效、安全的一种,其主要诱发点突变,能对作物品种的某一个性状进行改良,应用最为广泛^[3-8]。目前,国内利用 EMS 化学

诱变育种技术,在大豆、花生、大麦、春小麦、水稻等的诱变选育中获得了巨大成就^[9]。关于 EMS 化学诱变育种技术在高粱中的应用比较少,吕鑫等^[10]用 EMS 对高粱无融合生殖系 1094 和 2083 的种子进行诱变处理,得到了株高、穗长、育性及结实率等突变体材料。张会等^[11]以甜高粱品种能饲 1 号为野生型构建 EMS 化学诱变突变体库,最后筛选得到 3 份特异突变体材料: SM83、SM197、SM305。为了更有效地开展高粱 EMS 诱变育种,创造新的种质资源,选择育种上常用的 6 个高粱恢复系材料,研究了 EMS 对种子发芽率、成苗率、发芽势的影响,以探讨其对高粱的诱变效应,为进一步开展高粱化学诱变

基金项目:山西省农业科学院高粱研究所所级课题(GLS16-14)

通信作者:杨伟

- [11] 冯鹏,温定英,孙启忠. 种植密度对玉米产量及青贮品质的影响[J]. 草业科学,2011,28(12): 2203-2208
- [12] 李向拓,吴权明,毛建昌. 饲用玉米育种要求性状特征及研究进展[J]. 西北农业学报,2003,12(2): 36-40
- [13] 郭莹,覃鸿妮,蔡一林. 密度对不同株型玉米产量及主要农艺性状的影响[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2012,37(6): 57-61
- [14] 杨耿斌. 不同种植密度对早熟玉米品种克单 12 号产量及构成因素的影响[J]. 农业科技通讯,2008(12): 35-36
- [15] 李宁,翟志席,李建民,等. 密度对不同株型的玉米农艺、根系性状及产量的影响[J]. 玉米科学,2008,16(5): 98-102
- [16] 杨耿斌,谭福忠,王新江,等. 不同密度对青贮玉米产量与品质的影响[J]. 玉米科学,2006,14(5): 115-117
- [17] 薛吉全,梁宗锁,马国胜,等. 玉米不同株型耐密性的群体生理指标研究[J]. 应用生态学报,2002,13(1): 55-59
- [18] 马国胜,薛吉全,路海东,等. 不同类型饲用玉米群体光合生理特性的研究[J]. 西北植物学报,2005,25(3): 536-540
- [19] 左淑珍,王光中,汤金涛,等. 种植密度对青贮玉米主要农艺性状

- 及产量的影响[J]. 黑龙江农业科学,2013(7): 13-15
- [20] 孙贵臣,任元,马晓磊,等. 不同种植密度对青贮玉米生物产量及主要农艺性状的影响[J]. 山西农业科学,2013,41(2): 146-148
- [21] 常程,张书萍,刘晶,等. 密度对不同株型玉米产量和农艺性状的影响[J]. 辽宁农业科学,2008(2): 27-29
- [22] 曹修才,侯廷荣. 玉米空秆的成因及防止对策[J]. 玉米科学,1995,3(2): 37-38
- [23] 张新跃,李元华,张瑞珍,等. “饲用玉米——黑麦草”草地农业系统的研究——不同密度对青贮饲用玉米生产效果的影响[J]. 草业科学,2006,23(2): 54-56
- [24] 张晓艳,董树亭,王空军,等. 不同类型饲用作物营养成分的比较研究[J]. 作物学报,2005,31(10): 1344-1348
- [25] 张吉旺,胡昌浩,王空军,等. 种植密度对全株玉米饲用营养价值的影响[J]. 中国农业科学,2005,38(6): 1126-1131
- [26] 路海东,薛吉全,郝引川,等. 密度对不同类型青贮玉米饲用产量及营养价值的影响[J]. 草地学报,2014,22(4): 865-870

(收稿日期: 2017-12-20)

育种工作提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试品种为高粱恢复系三尺三、M2016、晋梁五号、R111、SP91、112097,2016年种植于山西省农业科学院高粱研究所修文试验基地,收获后保存。试验于2017年在高粱遗传与种质创新山西省重点实验室进行。

1.2 试验方法

1.2.1 不同 EMS 浓度对高粱种子的诱变试验 设置 EMS 溶液的浓度分别为 0.1%、0.2%、0.25%、0.3%、0.35%、0.4% 和 0.5%。选取子粒饱满成熟的 R111 种子,分装于小纱袋中,每袋 100 粒,分别放置于 7 个烧杯中,分别加入不同浓度的 EMS 溶液浸泡 15h,然后将 EMS 溶液倒掉,用流水冲洗 3h,除去残留的 EMS 溶液。将种子取出后放入 7 个培养皿中的无菌滤纸上进行培养,培养箱的温度为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$,7d 后分别统计发芽种子数和正常生长的苗数并计算发芽率和成苗率。以蒸馏水浸泡的 R111 种子作为对照。试验重复 3 次。

1.2.2 不同 EMS 处理时间对高粱种子的诱变试验 选取子粒饱满成熟的 R111 种子,分装于小纱袋中,每袋 100 粒,分别放置于 6 个烧杯中,加入浓度为 0.25% 的 EMS 溶液分别浸泡 1h、5h、10h、15h、20h、25h 后倒掉 EMS 溶液,无菌水冲洗 3h,将种子取出后放入 6 个培养皿中的无菌滤纸上进行培养,培养箱的温度为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$,7d 后分别统计发芽种子数和正常生长的苗数,并计算发芽率和成苗率。以不浸泡的种子作为对照,试验重复 3 次。

1.2.3 EMS 对不同基因型材料的诱变试验 挑选三尺三、M2016、晋梁五号、R111、SP91、112097 高粱恢复系饱满成熟的种子,分别装于小纱袋中,后全部放入一个大烧杯中,加入浓度为 0.25% 的 EMS 溶液浸泡 10h,倒掉 EMS 溶液后用流水不断冲洗 3h,除去残留的 EMS 溶液。取出种子分别放入 6 个培养皿中的无菌滤纸上进行培养,温度为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。以蒸馏水浸泡的种子作为对照,试验重复 3 次。3d 后统计发芽种子数并计算发芽势,7d 后统计发芽种子数和正常苗数,并计算发芽率和成苗率。

1.3 数据分析 根据高粱种子发芽数计算种子发芽率和发芽势,成苗率以直观统计为主,数据分析采用 Excel 软件。

发芽率 = (发芽种子数 / 供试种子数) $\times 100\%$

成苗率 = (7d 后正常生长的苗数 / 供试种子数) $\times 100\%$

发芽势 = (3d 内发芽的种子数 / 供试种子数) $\times 100\%$

2 结果与分析

2.1 EMS 浓度对 R111 发芽率和成苗率的影响 EMS 处理 R111 后,发现种子的发芽时间推迟,比没处理的种子推迟 2~3d,另外,发芽后苗的生长也受到抑制,苗高较矮,苗比较细小。由表 1 可知,随着 EMS 浓度的升高,发芽率和成苗率下降,在 EMS 浓度为 0.5% 时,成苗率为 0,所以高粱恢复系 R111 的 EMS 致死浓度为 0.5%,按照成苗率近似对照的一半计算,半致死 EMS 浓度为 0.25%,即为适宜的诱变浓度。

表 1 EMS 浓度对 R111 发芽率和成苗率的影响 (%)

EMS 浓度	发芽率	成苗率
0	85.3 $\pm$ 2.12	78.6 $\pm$ 3.96
0.1	82.6 $\pm$ 3.05	69.5 $\pm$ 5.98
0.2	71.0 $\pm$ 1.63	52.1 $\pm$ 3.25
0.25	54.5 $\pm$ 4.36	39.9 $\pm$ 3.54
0.3	46.4 $\pm$ 2.04	20.4 $\pm$ 2.47
0.35	36.2 $\pm$ 0.98	12.8 $\pm$ 1.20
0.4	29.1 $\pm$ 2.52	4.4 $\pm$ 0.35
0.5	3.2 $\pm$ 0.69	0

2.2 处理时间对 R111 发芽率和成苗率的影响 以浓度为 0.25% 的 EMS 溶液处理 R111 种子,考察不同处理时间对 R111 种子发芽率和成苗率的影响。如表 2 所示,随着处理时间的延长,R111 的发芽率和成苗率逐渐降低,当处理时间为 10~15h,其成苗率大约为对照的一半,所以高粱恢复系 R111 适宜的 EMS 诱变处理时间为 10~15h。

表 2 不同处理时间对 R111 发芽率和成苗率的影响

处理时间(h)	发芽率(%)	成苗率(%)
0	86.2 $\pm$ 5.36	80.1 $\pm$ 3.86
1	83.9 $\pm$ 3.54	79.3 $\pm$ 4.87
5	70.6 $\pm$ 2.58	61.9 $\pm$ 2.65
10	64.5 $\pm$ 1.24	43.9 $\pm$ 1.98
15	52.1 $\pm$ 3.69	37.7 $\pm$ 1.85
20	45.8 $\pm$ 2.36	28.9 $\pm$ 1.47
25	38.2 $\pm$ 1.05	17.5 $\pm$ 2.21

2.3 EMS 对不同基因型材料的诱变效果 以浓度为 0.25% 的 EMS 溶液处理 R111、三尺三、M2016、晋梁五号、SP91、112097 的种子 10h, 比较 EMS 对不同基因型材料的诱变效果。结果表明, 不同基因型材料的发芽率、成苗率和发芽势明显不同(表 3)。在所试验的浓度和时间下, 有些材料的成苗率接近于对照的一半, 其半致死浓度为 0.25%, 如 R111、M2016、SP91; 有些材料的成苗率低于对照的一半, 其半致死浓度小于 0.25%, 如 112097; 有些材料的成苗率高于对照的一半, 其半致死浓度大于 0.25%, 如三尺三、晋梁 5 号。说明不同基因型材料对 EMS 浓度的敏感程度不同, 不同基因型材料有不同的半致死浓度。并且还发现不同基因型材料的发芽时间、幼苗高度、幼苗健壮程度都有明显的差异, 而且还会有畸形苗出现。

表 3 EMS 对不同基因型材料的处理效应

基因型	项目(%)	对照	处理
R111	发芽率	85.3 ± 2.12	54.5 ± 4.36
	成苗率	78.6 ± 3.96	39.9 ± 3.54
	发芽势	80.4 ± 4.52	49.6 ± 3.21
三尺三	发芽率	90.1 ± 3.69	82.4 ± 4.58
	成苗率	78.6 ± 1.69	48.6 ± 2.51
	发芽势	85.1 ± 1.98	74.6 ± 3.65
M2016	发芽率	80.6 ± 1.87	56.3 ± 3.65
	成苗率	71.3 ± 5.69	38.5 ± 3.21
	发芽势	76.5 ± 3.25	48.6 ± 1.69
晋梁五号	发芽率	92.1 ± 1.85	75.3 ± 3.24
	成苗率	79.6 ± 5.63	54.1 ± 4.21
	发芽势	86.4 ± 4.23	61.5 ± 3.25
SP91	发芽率	77.5 ± 1.98	60.3 ± 3.87
	成苗率	61.3 ± 4.95	33.6 ± 4.15
	发芽势	69.5 ± 2.54	48.1 ± 4.63
112097	发芽率	88.3 ± 4.97	52.6 ± 3.65
	成苗率	75.0 ± 5.21	29.5 ± 3.14
	发芽势	80.3 ± 1.57	38.5 ± 0.99

3 讨论

诱变剂浓度和处理时间是影响诱变处理效果的重要因素^[12]。一般认为, 半致死浓度为适合的处理浓度, 浓度过高时对种子的生理损伤大, 易导致多数种子不发芽; 浓度过低时, 虽然对种子的生理损伤小, 但诱变效果也会降低。根据本研究的结果, R111 的半致死浓度为 0.25%, 因此 R111 适宜的 EMS 处理浓度为 0.25%。而其他品种经 0.25% 浓度的

EMS 溶液处理 10h 后, 成苗率或接近对照的一半, 或高于对照的一半, 或低于对照的一半, 其最适处理浓度, 需要做进一步的比较试验才能得出。适宜的处理时间为使受处理材料完全水合和被诱变剂浸透, 处理时间越长, 诱变剂在材料中的渗透程度越强, 造成材料的生理损伤越大^[13]。本研究表明, 在半致死浓度处理下, 适宜的诱变处理时间为 10~15h。EMS 诱变处理不仅会对种子的发芽率和成苗率有影响, 而且还会影响幼苗的生长状态, 试验中可以观察到, 经 EMS 诱变处理后, 种子的发芽时间延长, 幼苗纤细弱小, 有的品种会出现茎部或者叶片发白现象, 另外还观察到一些畸形苗现象, 这说明 EMS 对高粱种子的诱变效果非常明显。

4 结论

EMS 诱变处理对种子的发芽率、成苗率及幼苗的生长状态都有明显的影响, 不同基因型对 EMS 的敏感性不同, 半致死浓度有差异。R111 的 EMS 致死浓度为 0.5%, 半致死浓度为 0.25%, 适宜的处理时间为 10~15h。

参考文献

- [1] 柳学余. 农作物化学诱变育种 [M]. 南京: 东南大学出版社, 1992
- [2] 崔霞, 梁燕, 李翠, 等. 化学诱变及其在蔬菜育种中的应用 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41 (3): 205-212
- [3] 祝丽英, 池书敏, 刘志增, 等. 甲基磺酸乙酯(EMS)在创造玉米新种质中的应用 [J]. 玉米科学, 2001, 9 (3): 14-17
- [4] Becker R, Pich A, Socholz G, et al. Development of a TILLING resource in durum wheat for reverse- and forward-genetic analyses [J]. Crop Pasture Sci, 2014, 65 (1): 112-124
- [5] Xavier S, Roger E, Nathalie G, et al. EMS mutagenesis in mature seed-derived rice calli as a new method for rapidly obtaining TILLING mutant populations [J]. Plant Methods, 2014, 10: 5-18
- [6] Bradley J T, Steven H R, Clifford W, et al. Discovery of induced point mutations in maize genes by TILLING [J]. BMC Plant Biol, 2004, 4: 12-20
- [7] Aakash C, Per S, Marcus B, et al. Development and characterization of an oat TILLING-population and identification of mutations in lignin and β -glucan biosynthesis genes [J]. BMC Plant Biol, 2010, 10: 86-99
- [8] 张娜, 杨希文, 任长忠, 等. 白燕 2 号 EMS 突变体的形态鉴定与遗传变异分析 [J]. 麦类作物学报, 2011, 31 (3): 421-426
- [9] 朱保葛, 路子显, 耿玉轩, 等. 烷化剂 EMS 诱发花生性状变异的效果及高产突变系的选育 [J]. 中国农业科学, 1997, 30 (6): 87-89
- [10] 吕鑫, 张福耀, 平俊爱, 等. 利用 EMS 化学诱变高粱无融合生殖系的研究 [J]. 中国农学通报, 2010, 26 (22): 160-164
- [11] 张会, 邹维华, 张友兵, 等. 优质能源甜高粱突变体的筛选与鉴定 [J]. 华中农业大学学报, 2015, 34 (5): 1-6

(收稿日期: 2017-12-14)