

# 理化诱变亚麻 $M_1$ 农艺性状的初步分析

于莹, 黄文功, 姜卫东, 康庆华, 赵东升, 吴广文, 关凤芝

(黑龙江省农业科学院 经济作物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为了给亚麻种质创新和品种遗传改良提供优质种质资源, 利用 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线(200 Gy、350 Gy 和 500 Gy)和甲基磺酸乙酯(EMS)(0.2%处理 30 h 和 0.3%处理 24 h)分别对亚麻黑亚 19 种子进行诱变处理, 处理后在田间进行  $M_1$  农艺性状的观察和分析。结果表明:经过理化诱变的亚麻在  $M_1$  即可得到叶色、叶形、株高、分枝、茎粗、花色、花形和不育等多种性状变异的突变体, 为亚麻突变体库的构建奠定了良好的基础。研究还发现, 理化诱变对亚麻  $M_1$  成苗率和种子产量的影响有所不同。高剂量 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线诱变的亚麻成苗率较低, 但种子产量不低; 高浓度 EMS 诱变的亚麻成苗率较高, 但大多数是不育植株, 导致种子产量较低。

**关键词:**亚麻; 诱变;  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线; 甲基磺酸乙酯(EMS)

**中图分类号:** S563.203.52

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2013)11-0005-04

丰富的种质资源是植物新品种选育的材料基础。种质资源创新有很多途径, 理化诱变是最常用的方法之一, 已被广泛应用于植物遗传育种和功能基因组学研究中<sup>[1]</sup>。亚麻是世界上重要的纤维作物和油料作物之一, 然而我国亚麻品种间亲缘关系较近, 遗传背景狭窄, 因此将诱变育种与分子育种相结合, 筛选有益性状的突变体, 是培育高产、优质和抗逆性强亚麻新品种的主要方法之一。我国亚麻诱变育种相关研究始于 20 世纪 60 年代, 主要以辐射诱变为主, 虽然培育出了一些优良的品种(如黑亚 4 号、黑亚 6 号和黑亚 7 号等)<sup>[2]</sup>, 但是近年来的相关报道相对较少, 有关利用化学诱变技术对亚麻进行诱变育种的研究国内尚未见报道。

随着基因组研究的深入开展, 理化诱变不仅可以用于创造新的种质资源, 还可以为基因功能研究提供重要的试验材料<sup>[3]</sup>。目前, 番茄<sup>[4]</sup>、水稻<sup>[5]</sup>和拟南芥<sup>[6]</sup>等植物饱和突变体库已经构建完成, 由于亚麻遗传及基因分析研究起步较晚, 迄今仍未见构建大量突变体的相关报道。该文利用 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线和甲基磺酸乙酯(EMS)处理亚麻黑亚 19 种子,  $M_1$  在叶、茎、花等性状方面都获得了突

变体, 为亚麻突变体库的构建奠定了良好的基础。研究还发现理化诱变对亚麻  $M_1$  的影响有所不同。高剂量 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线诱变的亚麻成苗率较低, 但种子产量不低; 高浓度 EMS 诱变的亚麻成苗率较高, 但大多数是不育植株, 导致种子产量较低, 该研究为亚麻种质创新和品种遗传改良提供了重要的种质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以 2009 年黑龙江省审定的纤维亚麻品种黑亚 19 种子为诱变材料, 该品种原茎、长麻、全麻和种子产量分别为 5 239.0、853.3、1 270.3 和 570.0  $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , 分别比对照黑亚 11 增产 12.0%、20.8%、18.9% 和 14.7%。长麻率 19.9%, 比对照高 1.5 个百分点; 全麻率 29.7%, 比对照高 1.8 个百分点。

### 1.2 方法

**1.2.1 诱变处理** 利用黑龙江省农业科学院玉米研究所辐照场进行物理诱变, 分别用 200、350 和 500 Gy 剂量的 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照亚麻种子。利用 0.2% EMS 处理 30 h 和 0.3% EMS 处理 24 h 2 种方式分别对亚麻种子进行化学诱变, 处理后流水冲洗 15 min, 晾干备用。通过前期的预实验确定物理诱变的剂量和化学诱变的浓度及时间, 试验中最低的发芽率在 50%(500 Gy 和 EMS 诱变处理的亚麻种子)。

**1.2.2 种植及田间观察** 诱变后亚麻种子播种于黑龙江省农业科学院民主试验地, 5 种处理的种子分别种植成不同的小区, 行长 1 m, 行距 0.2 m, 每

收稿日期: 2013-06-05

**基金项目:** 国家麻类产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-19); 哈尔滨市科技局优秀学术带头人资助项目(2012 RFXYN028); 国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2013 BAD01B03)

**第一作者简介:** 于莹(1981-), 女, 黑龙江省哈尔滨市呼兰区人, 博士, 助理研究员, 从事亚麻抗逆遗传育种研究。E-mail: yuying\_1981\_0451@163.com。

**通讯作者:** 关凤芝(1955-), 女, 黑龙江省哈尔滨市呼兰区人, 研究员, 从事亚麻育种研究。E-mail: kj-gfz@163.com。

小区 10 行,有效播种粒数为  $2\,000\text{ 粒}\cdot\text{m}^{-2}$ (按照发芽率计算实际播种量)。观察  $M_1$  出苗情况,记录成苗率、变异类型和种子产量,成熟后按小区全部收获。具体观察时期和指标有苗期(子叶数目、形状和颜色等),营养生长期(叶色、叶形态和茎形态等),花期(花瓣颜色、花瓣形状、花瓣数目、花生长形态和育性等)及收获期(株型和株高等)。出苗率( $\%$ )=出苗数/播种数 $\times 100$ ;成苗率( $\%$ )=收获株数/播种数 $\times 100$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 $M_1$ 出苗率、成苗率和种子产量

诱变处理后的亚麻种子发芽较慢,田间出苗比正常种子晚 2~4 d。理化诱变对亚麻  $M_1$  成苗率和种子产量的影响有所不同。由表 1 看出,500 Gy 处理的种子成苗率最低(3.68%),但是种子产量最低的却是 0.3% EMS 诱变 24 h 后的材料(小区产量 1.87 g)。结果表明,高剂量的 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐射诱变会导致亚麻种子的成苗率降低,但对种子产量影响较小;高浓度的 EMS 化学诱变会产生很多不育的亚麻植株,导致种子产量降低。因此,适宜剂量的选择对于亚麻理化诱变育种非常重要。

表 1 亚麻理化诱变  $M_1$  出苗率、成苗率及种子产量分析

Table 1  $M_1$  germination rate, seedling rate and seed production of flax induced by physical and chemical agents

处理 Treatments	出苗率/% Germination rate	成苗率/% Seedling rate	小区种子 产量/g Seed production
200 Gy	84	71.17	44.87
350 Gy	78	29.74	42.45
500 Gy	48	3.68	32.83
0.2% EMS 30 h	52	21.63	19.35
0.3% EMS 24 h	45	22.16	1.87

### 2.2 $M_1$ 田间农艺性状的变异情况

通过田间观察,在  $M_1$  群体中获得了许多叶、茎、花等性状的变异植株,其中少量突变株具有 2 个以上同时发生突变的性状。

2.2.1 叶性状变异 叶性状变异包括子叶变异、叶色变异和叶形变异等类型(见图 1)。子叶变异包括子叶数目、形态和颜色的变异,如三片子叶、窄子叶、黄化子叶和皱缩子叶等;叶色变异包括白化苗、黄化苗和条纹叶等;叶形的变异包括粘合叶和

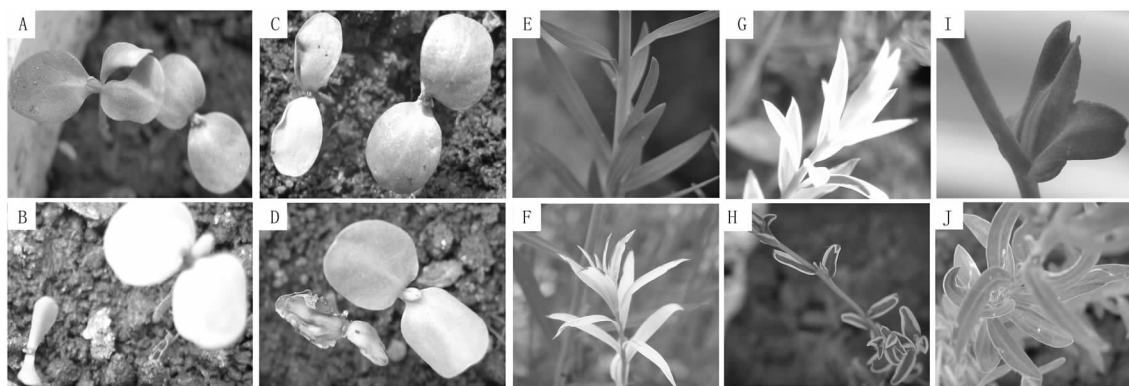


图 1 叶性状变异

A. 三片子叶(左)和野生型;B. 窄子叶(左)和野生型;C. 黄化子叶(左)和野生型;D. 皱缩子叶(左)和野生型;E. 野生型叶片;F. 白化苗;G. 黄化苗;H. 条纹叶;I. 粘合叶;J. 畸形叶。

Fig. 1 Mutants of leaf traits

A. Three cotyledons(left)and wild type;B. Narrow cotyledon(left)and wild type;C. Etiolated cotyledon(left)and wild type;D. Wrinkly cotyledon(left)and wild type;E. Wild type;F. Albinoleaves;G. Etiolated leaves;H. Striped leaves;I. Adhesive leaves;J. Abnormal leaves.

畸形叶等。部分白化、黄化突变体由于不能进行光合作用,通常表现为植株矮小且育性降低等特点。

2.2.2 茎性状变异 茎性状变异包括茎形态变异和植株形态变异(见图 2)。茎形态变异包括粘合茎、卷曲茎、粗茎和匍匐茎等;植株形态变异包括多侧枝、伞形、矮秆和高秆等;这些茎性状变异

大多不影响育性,可正常结实。

2.2.3 花性状变异 花性状变异包括花色、花瓣数、花瓣形态、花生长形态和不育等类型的变异(见图 3)。花色变异包括浅粉、蓝紫色和白瓣蓝条纹等;花瓣数变异包括六瓣和七瓣等;花瓣形态变异包括重叠瓣、窄瓣、大花瓣、边缘锯齿和畸

形等;花生长形态变异包括侧生、无花柄、对生和簇生(3朵花)等;不育变异包括无花粉和花瓣闭合

等。有些花性状变异与茎性状变异是相伴存在的,如簇生花植株的茎一般是粘合茎。

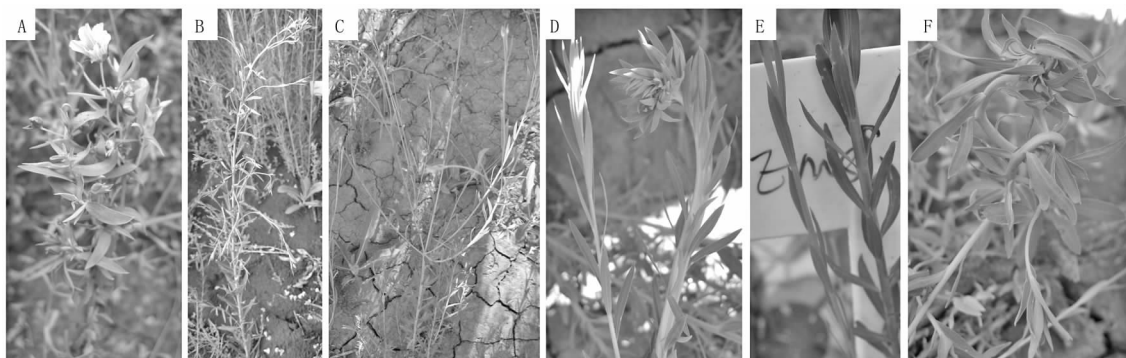


图2 茎性状变异

A. 矮秆;B. 多分枝;C. 伞形;D. 粘合茎(右)和野生型;E. 粗茎(右)和野生型;F. 卷曲茎。

Fig. 2 Mutants of stalk traits

A. Dwarf; B. Excessive branches; C. Umbrella; D. Adhesive stalks (right) and wild type; E. Thick stalks (right) and wild type; F. Curly stalk.



图3 花性状变异

A. 不育;B. 花瓣边缘锯齿;C. 花瓣畸形;D. 花簇生(3朵花);E. 花侧生;F. 白花;G. 窄瓣粉花;H. 窄瓣蓝花;I. 野生型花。

Fig. 3 Mutants of flower traits

A. Sterility; B. Jagged edge petal; C. Abnormal petal; D. Cluster flowers (three flowers); E. Lateral flower; F. White flower; G. Narrow petal pink flower; H. Narrow petal blue flower; I. wild type.

### 3 结论与讨论

农作物的育种进程很大程度上依赖于植物资源中遗传变异的有效利用。理化诱变可以在短时间内创建大量的突变体,具有操作简便、变异率高等特点,在农作物新品种选育中发挥着重要的作用<sup>[7]</sup>。 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线属于电离辐射,能量高、穿透力强,可导致易位、倒位和缺失等染色体结构畸变。种子经过 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射后基本能正常发芽,但在生长过程中抑制作用会逐渐显现,最后导致幼苗死亡<sup>[8]</sup>。该试验中 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线诱变后的亚麻种子能够正常出苗,但是成苗率非常低,说明 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线导致的诱变损伤是在亚麻生长过程中逐渐表

现的,这与韩贵清等人的研究非常相似<sup>[9]</sup>。EMS化学诱变通常诱发C/G到T/A转换的点突变,其诱变效果远高于电离辐射和自发诱变<sup>[10]</sup>。EMS诱变产生的突变多为显性突变,染色体畸变相对较少,可导致无义突变、错义突变和沉默突变<sup>[11]</sup>。该文中EMS诱变后亚麻 $M_1$ 产生了大量的不育植株,这可能是点突变导致基因功能发生变化所致。理化诱变产生的不同结果表明,适合的诱变条件的选择对于亚麻的诱变育种非常重要。

一般情况下对理化诱变的 $M_1$ 植株不进行选择,一方面是因为诱变带来的生理损伤会导致

M<sub>1</sub>的部分表型变化不能遗传,另一方面是因为有些突变类型为杂合体,隐性突变不易被观察和鉴定。但是,有些显性突变在 M<sub>1</sub>是可以被观察到的,这些性状一般是由主效基因控制,目前在许多作物上均有关于 M<sub>1</sub>突变体研究的相关报道<sup>[12-13]</sup>。该文对理化诱变亚麻 M<sub>1</sub>突变体田间农艺性状进行了调查和分析,发现亚麻经理化诱变后,M<sub>1</sub>在叶、茎、花等性状方面都发生了不同程度的畸变,分析这些突变性状可能由少数主效基因控制,为后续研究控制这些性状的关键基因奠定了基础,突变体的获得为亚麻种质创新和品种遗传改良提供了重要的种质资源。

#### 参考文献:

- [1] 郝爱平,詹亚光,尚洁. 诱变技术在植物育种中的研究新进展[J]. 生物技术通报,2004(6):30-34.
- [2] 路颖. 中国亚麻种质资源研究的回顾与展望[J]. 中国麻作, 2000(1):121-123.
- [3] 赵心爱,薛庆中. 利用番茄突变体进行功能基因组学研究[J]. 生命科学,2003,15(4):228-232.
- [4] Menda N, Semel Y, Peled D, et al. *In silico* screening of a saturated mutation library of tomato[J]. Plant Journal, 2004,38:861-872.
- [5] Miyao A, Iwasaki Y, Kitano H, et al. A large-scale collection of phenotypic data describing an insertional mutant population to facilitate functional analysis of rice genes[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 63:625-635.
- [6] Rhee S Y, Beavis W, Berardini T Z, et al. The *Arabidopsis* information resource (TAIR): A model organism database providing a centralized, curated gateway to *Arabidopsis* biology, research materials and community[J]. Nucleic Acids Research, 2003, 31:224-228.
- [7] 夏英武. 作物诱变育种[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 24-30.
- [8] Lee D, Kim T, Lee S, et al. Mutations induced by 1,3-butadiene metabolites, butadiene diepoxide and 1,2,3,4-dipoxybutane at the Hprt Locus in CHO-K1 cells[J]. Molecular Cells, 2002, 31:411-419.
- [9] 韩贵清, 韩微波, 张月学, 等. <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线诱发谷稗和御谷的辐射生物学效应研究[J]. 草业科学, 2009, 26(8):97-100.
- [10] Rao G. Efficiency and effectiveness of gamma rays and EMS in rice[J]. Cytologia, 1977, 42:443-450.
- [11] Greene E A, Codomo C A, Taylor N E, et al. Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in *Arabidopsis*[J]. Genetics, 2003, 164(2): 731-740.
- [12] 王军, 杨慧卿, 袁峰, 等. EMS 诱变谷子长农 35M<sub>1</sub>代成熟期株型突变体的鉴定与分析[J]. 中国农学通报, 2011, 27(18):84-89.
- [13] 殷冬梅, 杨秋云, 杨海棠, 等. 花生突变体的 EMS 诱变及分子检测[J]. 中国农学通报, 2009, 25(5):53-56.

## Preliminary Analysis of Agronomic Traits on M<sub>1</sub> Flax Induced by Physical and Chemical Agents

YU Ying, HUANG Wen-gong, JIANG Wei-dong, KANG Qing-hua, ZHAO Dong-sheng, WU Guang-wen, GUAN Feng-zhi

(Institute of Industrial Crops, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** In order to provide high quality germplasm resources for germplasm innovation and the improvement of variety genetic for flax, through <sup>60</sup>Co- $\gamma$  ray (200 Gy, 350 Gy and 500 Gy) and Ethyl Methan Sulfonate (0.2% EMS for 30 h and 0.3% EMS for 24 h), the seeds of flax (*Linum usitatissimum* L.) from variety Heiya19 were treated, and the agronomic traits in M<sub>1</sub> were observed and analyzed in the field. The results showed that the mutants with mutative traits including the mutation of leaf color, leaf shape, plant height, number of branches, diameter of main stalk, color of flower, petal shape and sterility were found in M<sub>1</sub> progenies which laid a good foundation for constructing flax mutant library. It was also found that the effects of seedling rate and seed production in M<sub>1</sub> flax were different induced by physical and chemical agents. The <sup>60</sup>Co- $\gamma$  ray with high doses caused low seedling rate but low production, while the EMS with high concentration caused high seedling rate, but most were sterile plants which lead lower seed production.

**Key words:** flax; mutagenesis;  $\gamma$ -rays; Ethyl Methan Sulfonate (EMS)

(该文作者还有宋喜霞, 袁红梅, 刘岩, 程莉莉, 吴建忠, 姚玉波, 单位同第一作者)