

浅谈化学诱变在大豆育种上的应用

张俐俐, 雷勃钧

(黑龙江省农科院生物研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 化学诱变育种是通过化学诱变育成农作物品种的新方法。概述了化学诱变的原理及其在大豆育种上的应用进展。

关键词: 大豆; 化学诱变; 诱变剂

中图分类号: S 565. 103. 52 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002—2767(2007)02—0082—02

Elementary Discussion on the Application of Chemical Mutagenesis in Soybean Breeding

ZHANG Li-li, LEI Bo-jun

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

Abstract: Chemical mutagenesis breeding is an new method to breed crop varieties by chemical mutagenesis. The principles and its progress in soybean breeding were summerized.

Key words: soybean; chemical mutagenesis; mutagen

当今世界生物技术革命方兴未艾, 其在大豆育种上的应用, 为大豆品种改良及其高产潜力的挖掘提供了重要途径。其中利用化学诱变技术创造新种质是科学家们在大豆育种中应用较早且取得很大成效的一项生物技术。

世界化学诱变育种研究工作始于 20 世纪 50 年代, 我国近几十年来这方面的研究工作也有了较大进展。20 世纪 70 年代以来, 诱变因素从早期的单一诱变剂发展到多种化学诱变剂和生理活性物质, 诱变方法从单一处理发展到复合处理, 同时, 诱变育种与杂交育种、组织培养等密切结合, 大大提高了诱变育种的实际意义。

1 化学诱变的主要原理

化学诱变是通过采用一些分子结构不太稳定的化学诱变剂进行的, 化学诱变剂主要指某些烷化剂、碱基类似物、抗生素等化学药物, 常见的有甲基磺酸乙酯(EMS)、硫酸二乙酯(DES)、叠氮化钠(SA)和乙烯亚胺(EI)等, 这些化合物通过与核苷酸中的磷酸、嘌呤和嘧啶等分子直接反应来诱发突变, 并对某特定的基因或核酸有选择性作用^[1]。单一碱基对改变而形成的点突变是化学诱变的主要形式。

化学诱变的特点: 突变频率比自然突变高几百倍至几千倍, 且变异谱广泛; 由诱变引起的断裂与重接, 可打破优良性状与不良性状间的连锁; 能比较有效地改良个别性状, 如早熟、矮秆、抗病、优质等; 育种程序简单, 年限短; 变异的方向和性质不定; 诱发的变异较易稳定; 使用经济方便, 只需少量的药剂和简单的设备。

不同诱变剂对不同植物、组织或细胞、染色体片段、基因的诱变有一定专一性。在选择诱变剂时, 还要考虑下列标准: 诱变剂的有效性、效率和专一性, 这是解决定向突变的一条途径。

化学诱变剂在植物上的应用一般认为始于 1943 年, 当时 F·约克斯用马来糖(脲烷)诱发了月见草、百合和风铃草的染色体畸变。这些早期工作为确立诱变育种的地位奠定了基础。通过近几十年的研究, 人们对诱变原理的认识也逐步加深。我们知道, 常规杂交育种基本上是染色体的重新组合, 这种技术一般并不引起染色体发生变异, 更难以触及到基因。而利用化学诱变, 有的药剂是用其烷基置换其它分子中的氢原子, 也有的本身是核苷酸碱基的类似物, 它可以“鱼目混珠”, 造成 DNA 复制中的

收稿日期: 2007—01—08

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(ZJN04—0402)

第一作者简介: 张俐俐(1980—), 女, 黑龙江省海伦人, 在读硕士, 实习研究员, 主要从事作物基因工程与分子育种研究。Tel: 13895848910; E-mail: zll20041001@163.com。

错误,无疑这些都会使植物的基因发生突变。化学因素的诱导作用使得植物细胞的突变率比平时高出千百倍,有些变异是其它手段难以得到的。可遗传的优良性状一经获得便可育成品种或种质资源。

2 化学诱变在大豆育种上的研究与应用

2.1 化学诱变育种

化学诱变育种是通过化学诱变剂诱发生物体基因或染色体畸变,经过定向培育和选择,育成农作物品种的新方法。它是继选择育种和杂交育种之后发展起来的一项现代育种技术,其优点是突变遗传性状稳定快,可以缩短育种进程。

在化学诱变育种中,种子经诱变处理产生的诱变一代,以 M 表示。由于受诱变因素的抑制和损伤, M 的发芽率、出苗率、成株率、结实率一般较低,发育延迟,植株矮化或畸形,并出现嵌合体,但这些变化一般不能遗传给后代。诱变引起的遗传变异多数为隐性,因此 M 一般不进行选择,而以单株、单穗或以处理为单位收获。诱变二代(M_2)是变异最大的世代,也是选择的关键时期,可根据育种目标及性状遗传特点选择优良单株(穗)。诱变三代(M_3)以后,随着世代的增加,性状分离减少,有些性状一经获得即可迅速稳定。经过几个世代的选择就能获得稳定的优良突变系,再进一步试验育成新品种。具有某些突出性状的突变系,还可用作杂交亲本。

2.2 大豆育种上常用的两种诱变剂:EMS 和 NaN_3

EMS 分子式 $CH_3SO_2OC_2H_5$,中文名为甲基磺酸乙酯,无色液体,分子量 124,水中溶解度为 8%。 pH 为 7 的条件下在水中半衰期 $20^\circ C$ 时是 93 h, $30^\circ C$ 时 26 h。EMS 是烷化剂的一种。烷化剂通常带有 1 个或多个活性烷基,此基团能够转移到其它电子密度高的分子上去,使碱基许多位置上增加了烷基,从而在多方面改变氢键的能力。EMS 被证明是最为有效而且负面影响小的诱变剂。与其他烷化诱变剂类似,是通过与核苷酸中的磷酸、嘌呤和嘧啶等分子直接反应来诱发突变。EMS 诱发的突变主要通过两个步骤来完成,首先鸟嘌呤的 O6 位置被烷基化,成为一个带正电荷的季铵基团,从而发生两种遗传效应:一是烷化的鸟嘌呤与胸腺嘧啶配对,代替胞嘧啶,发生转换型的突变;二是由于鸟嘌呤的 N27 烷基活化,糖苷键断裂造成脱嘌呤,而后在 DNA 复制过程中,烷基化鸟嘌呤与胸腺嘧啶配对,导致碱基替换,即 $G:C$ 变为 $A:T$ 。当然,化学诱变存在着染色体结构和数量方面的诱导变异,但这种单一碱基对改变而形成的点突变仍是化学诱变的主要形式,这样的点突变将是品种改良和退化特性恢复的希望所在。诱变剂也可与核苷结构的磷酸反应,形成酯类而将核苷酸从磷酸与糖分子之间切断,产生染色体的缺失。这些 DNA 结构上的变化都可能促

使不表达的基因或区段被激活,而表现出被掩盖的性状。EMS 化学诱变产生点突变的频率较高,而染色体畸变相对较少,可以对作物的某一种特殊性状进行改良。与其它诱变剂相比,EMS 诱变后产生的突变频率高,且多为显性突变体,易于突变体的筛选,是目前运用最广泛也是公认最为有效的诱变剂。

叠氮化钠(NaN_3)是一种呼吸抑制剂,能引起染色体畸变和基因突变,可获得较高的突变频率。 NaN_3 等电点是 pH 为 4.18,在 pH 为 3 时 NaN_3 溶液中主要产生呈中性的分子 HN_3 ,易透过膜进入细胞内,以碱基替换方式影响 DNA 的正常合成,从而导致点突变的产生。由于 NaN_3 只作用于复制中的 DNA,所以处理种子时把种子预浸到种胚中,有利于提高处理效果。 NaN_3 具有高效、无毒、便宜及使用安全等优点。

2.3 化学诱变在大豆育种上的研究与应用

大豆方面的研究于 1957 年才开始,美国、日本、德国、前苏联等国先后开展了物理和化学诱变研究,我国于 1958 年开始大豆诱变研究。进入 20 世纪 70 年代中期,人们对大豆的要求不再仅仅是产量,而是逐渐转向蛋白质、脂肪及其组分上。Hamond 和 Fehr^[2] 研究指出,X 射线与化学诱变剂对降低亚麻酸含量有较好的效果。Wilcox^[3] 采用 EMS 处理获得了亚麻酸含量 3%~4% 的稳定突变体。为了创造崭新的大豆种质,近几年我国采用了甲烷磺酸乙酯(EMS)、叠氮化钠(NaN_3)等化学诱变剂处理,研究了不同诱变因素对大豆籽粒蛋白质、脂肪含量、大豆油脂酸组成等性状的作用,探索改良了大豆品质的可行途径。近年来应用化学诱变剂诱发大豆遗传变异的研究已有较大进展^[4,5]。

中国科学院遗传所谷爱秋等采用 EMS(甲基磺酸乙酯)、DES(硫酸二乙酯)和 EI(乙烯亚胺)等 3 种烷化剂,处理合丰 23、合丰 25 等黑龙江省大豆推广品种,育成高抗、优质、高产春大豆新品种——“宝诱 17”。河南省农科院经作所马惠平等以 0.3% EMS 处理豫豆 2 号,从 M_4 代育成科新 3 号大豆新品种,获中国科学院科技进步二等奖。中国科学院遗传与发育生物学研究所应用化学诱变剂(EMS)对抗病性强的优良种质——科系 4 号进行人工诱变处理,从诱变后代中选出抗病性强的优异种质——科系 75—16、75—30 和 335。中国科学院石家庄市农业现代化研究所大豆研究室的魏玉昌、杜连恩等科技人员先后诱变育成大豆新品种“化诱 542”、“化诱 446”、“化诱 4120”;最近又应用化学诱变剂 EMS 和 PYM 复合处理诱变大粒大豆的合子,对突变体进行多代选择鉴定,育成了化诱 5 号大豆新品种^[6]。于秀普等^[7] 应用 EMS 附加平阳霉素(PYM)后处理大豆种

(下转 100 页)

土壤肥力等多种信息。建立农业信息采集系统,达到信息获取手段的可靠性、先进性和信息的准确性和适时性。

3.2 系统建设以先进的 GIS 技术为基础,融合 RS、GPS 等技术,依托不断发展的计算机建立功能完善的农业资源信息管理系统,实现空间数据库与属性数据库的一体化。

3.3 提供强大的空间定位和分析能力,挖掘各类数据的内在联系,全面提升信息系统的应用水平和数据使用效率。

3.4 提供直观、形象、方便、图形化的统计分析工具和显示手段,使系统具备强大的可视化分析能力,统一、简洁、友好的人机交互界面。

3.5 建立科学、合理的知识和数学分析模型,通过计算机分析或模拟、人机对话等,使系统具备强大的决策支持能力。

3.6 系统具有良好的可扩展性、灵活性和健壮性。

4 结语

我国数字农业的思想已经为科技界和社会广为接受,并在实践上有一些应用。如大田生产管理、畜禽生产、农业信息管理、宏观农业经济分析等。在发达国家已进行作物生长模拟模型、栽培管理、测土配方施肥与植保专家系统应用研究与实践,进一步揭示出农田内小区作物产量和生物环境条件的明显时

空差异性,从而促使作物栽培管理实施定位、按需变量投入,或称“处方农作”发展起来的。近 20 年来,基于信息技术支持的作物科学、农艺学、土壤学、植保科学、资源环境科学和智能化农业装备与田间信息采集技术、系统优化决策支持技术等,在 GPS、GIS 空间信息科技支持下组装集成起来,形成一个新的精细农作技术体系,并开展了试验实践,而且,在示范应用中预示了良好的发展前景。随着我国农业技术和相关信息产业、工程制造业的发展,智能控制技术的广泛应用,数字农业的技术必将得到不断发展完善。

参考文献:

[1] 马蔼乃. 遥感信息模型[M] . 北京: 北京大学出版社, 1997.
[2] 张柏. 中国发展精细农业耕作的基本分析及设计[J] . 地理科学, 2000, 20(2): 35-37.
[3] 张晓东. 一种基于面特征的遥感影像与 GIS 数据配准方法[J] . 遥感学报, 2006, 10(3): 373-380
[4] 李德仁. 3S 技术与农业发展[R] . 中国测绘学会会讯, 1998.
[5] 魏清. 公路遥感多媒体数据管理系统的研制[J] . 遥感信息, 2000, 57(1): 26-28.
[6] 李德仁. 论 RS、GPS 与 GIS 集成的定义、理论与关键技术[J] . 遥感学报, 1997, 1(1): 64-68.
[7] 曹建军. 基于信息融合理论的省情信息融合研究[J] . 遥感技术与应用, 2006, 21(4): 368-371.

(上接 83 页)

子,经过累代选择培育的冀豆 8 号,已在生产上大面积推广应用。中国科学院石家庄农业现代化研究所用 EMS 处理大豆种子,并用博来霉素(BL)处理后,获得 6 个经济性状好的突变系。用硫酸二乙酯(DES)处理四粒豆及 74—4 大豆种子,选育出福诱 1 号及 2 号,比原品种增产 15%以上。姜振峰等^[8]用 0.04%的化学诱变剂叠氮化钠处理大显品种黑农 37、抗线 2 号、东农 42、东农 92—070 和东农 44, M₁ 代田间调查发现处理后的植株成活率降低,有矮化和晚熟现象, SDS—PAGE 分析表明有贮藏蛋白亚基缺失体出现。以上为近年我国在大豆诱变育种方面的主要成果。

3 结束语

随着科学技术的发展,科学家们应用这种诱变方法在大豆育种中,这将会创造出更多的突变种质资源和突变品种。当然与其它技术一样,化学诱变育种也有自身的弱点:一是诱变产生的有益突变体频率低;二是还难以有效地控制变异的方向和性质;

另外,诱发并鉴定出数量性状的微突变比较困难。因此,化学诱变育种应该与其它技术相结合,同时谋求技术上的不断完善。

参考文献:

[1] 杜连恩,罗景兰,葛察明,等. 化学诱变剂 EMS 在大豆育种上的应用[J] . 中国油料, 1987, (2): 44-46.
[2] 朱校奇. 农作物化学诱变育种研究进展[J] . 核农学通报, 1990, 11(3): 101-103.
[3] 王玫,翁秀英. 大豆诱变育种的研究进展及动向[J] . 核农学通报, 1987, 8(2): 1-4.
[4] 杜连恩. 大豆化学诱变育种及其规律的研究[J] . 华北农学报, 1989, 4(2): 39-43.
[5] 王王武. EMS 诱变大豆农艺性状的遗传变异[J] . 中国油料, 1991, (2): 9-13.
[6] 李占军,魏玉昌,杜连恩. 大豆新品种化诱 5 号的选育及栽培技术[J] . 河北农业科学, 2005, (2): 63-64.
[7] 于秀普,杜连恩,魏玉昌. 大豆新品种冀豆 8 号的选育[J] . 中国油料, 1994, 16(4): 58-59.
[8] 姜振峰. 叠氮化钠对大豆 M₁ 的生物学诱变效应[J] . 核农学报, 2006, 20(3): 208-210.