

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201503037

石海春, 陈超杰, 夏伟, 等. EMS 对三个玉米自交系的诱变效应分析[J]. 广西植物, 2016, 36(8):906-914

SHI HC, CHEN CJ, XIA W, et al. Analysis on mutagenic effects of EMS on three maize inbred lines[J]. *Guihaia*, 2016, 36(8):906-914

# EMS 对三个玉米自交系的诱变效应分析

石海春<sup>1</sup>, 陈超杰<sup>1,3</sup>, 夏伟<sup>2</sup>, 余学杰<sup>1</sup>, 柯永培<sup>1,2\*</sup>

( 1. 四川农业大学 农学院, 成都 611130; 2. 四川农业大学 正红生物技术有限责任公司, 成都 610213; 3. 北京百迈客生物科技有限公司, 北京 101399 )

**摘要:** EMS 诱变玉米花粉是玉米化学诱变的主要技术。该研究以生产上 3 个常用的玉米自交系 K305、21-ES、R08 为材料, 对其花粉用不同浓度的 EMS 诱变处理, 探讨其 EMS 诱变的最佳浓度范围, 明确其诱变效应。结果表明: 3 个自交系经过不同浓度的 EMS 诱变后, 其结实率随着浓度的增大表现出减小的趋势, 从其半致死剂量来看, EMS 诱变花粉的适宜浓度范围自交系 K305 和 R08 均为  $0.67\sim 1.0\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ , 21-ES 在  $1.67\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$  附近。M<sub>1</sub>代不同性状其变异幅度和变异系数与对照相比主要表现出增大的趋势, 其不同性状的生物学效应在材料间表现不一致, 表明性状在不同材料间对 EMS 的敏感性不一样, 生育期表现为 21-ES>K305>R08; 主要株型性状表现为 R08>21-ES>K305; 主要雄穗性状 K305 和 21-ES 比 R08 敏感; 主要果穗性状表现为 21-ES>K305>R08。M<sub>2</sub>代整体表现为变异谱扩大, 其株高、穗位高和叶面积以及主要果穗性状的变异表现复杂, 主要雄穗性状中除 K305 的 M<sub>2</sub>株系雄穗分枝数呈双向变异外, 其余 M<sub>2</sub>株系整体偏向于雄穗变短, 雄穗分枝数减小。该研究结果为后续研究和应用打下了基础。

**关键词:** 玉米, 自交系, EMS, 诱变效应

中图分类号: Q945.49, S335.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)08-0906-09

## Analysis on mutagenic effects of EMS on three maize inbred lines

SHI Hai-Chun<sup>1</sup>, CHEN Chao-Jie<sup>1,3</sup>, XIA Wei<sup>2</sup>, YU Xue-Jie<sup>1</sup>, KE Yong-Pei<sup>1,2\*</sup>

( 1. College of Agriculture, Sichuan Agriculture University, Chengdu 611130, China; 2. Sichuan Nongda Zhengzhong Biol. Co., Ltd, Chengdu 610213, China; 3. Biomarker Technologies Co., Ltd, Beijing 101399, China )

**Abstract:** For now, as a main chemical technology EMS is applied to create the mutagenesis in higher plant. In this study, we determined the optimum concentration of EMS for creating the mutations using three inbred lines of maize K305, R08, 21-ES as the materials, by treating the maize pollens with the different concentrations of EMS. The results showed that the seed setting rate decreased with the increasing of EMS concentration, for the half lethal dose, the optimal concentrations of EMS for K305 and R08 were  $0.67\sim 1.0\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ , for 21-ES was  $1.67\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$  respectively. The analysis of biological effects in M<sub>1</sub> generation showed that the variation ranges and variation coefficients of the different traits were improved, and the biological effects of different traits had different performances in the three inbred lines, which indicated that the different traits of the different materials had variable sensitivities in the different concentrations

收稿日期: 2015-03-26 修回日期: 2015-05-10

基金项目: 四川省战略性新兴产业发展专项(SC2013510122023); 四川省科技支撑计划项目(2011FZ0119); 四川省“十二五”农作物育种攻关项目(2011-3-11); 四川省教育厅自筹项目(12ZA271)[Supported by the Special Development Fund for the Strategic Emerging Industries of Sichuan Province (SC2013510122023); Sichuan Key Technology R & D Program (2011FZ0119); “the Twelfth Five-Year” Crop Breeding Research Projects of Sichuan Province(2011-3-11); Self-financing Project of Sichuan Education Office(12ZA271)]。

作者简介: 石海春(1974-), 男, 四川宣汉人, 博士, 副教授, 主要从事玉米遗传育种研究, (E-mail) haichun169@163.com。

\* 通讯作者: 柯永培, 博士, 教授, 主要从事玉米遗传育种研究, (E-mail) keyp169@163.com。

of EMS, sensitivity of the growth period was 21-ES>K305>R08, sensitivity of the plant type traits was R08>21-ES>K305; sensitivity of tassel traits was K305>21-ES>R08, sensitivity of the main ear traits was 21-ES>K305>R08. The analysis of mutagenic effects in  $M_2$  generation showed that general mutation spectrum was expanded, variation of plant height, ear height, leaf area and the main ear characters performed widely. The main tassel traits were two-way variation except for branch number in K305  $M_2$  strains. This study provides the foundation for the further research and application.

**Key words:** maize, inbred lines, EMS, mutagenic effects

不断加强对玉米种质资源的改良、扩增和创新,可以满足对玉米杂交种产量、品质和抗逆性不断提高的要求,实现农业生产的可持续发展。诱变技术创造的突变率是自然突变的 100~1 000 倍,变异范围广,性状稳定快,是种质资源创新的重要途径之一,化学诱变育种是扩大种质基础的一种快速、高效的育种方法(周柱华和王增贵,1997,温贤芳等,2004),其中 EMS-石蜡油诱变技术简便快捷,被公认为是最有效的化学诱变技术之一(Bird & Neuffer, 1987,刘翔等,2014)。我国化学诱变育种经几十年的发展取得了令世人瞩目的成就,诱变育成的品种数量和种植面积居世界首位,大量应用的作物有水稻(王彩芬等,2011;罗文龙等,2014)、小麦(薛芳等,2010;张纪元等,2014)、玉米(刘晓丽等,2006;郑向阳等,2013)、油菜(薛元超等,2012)、大豆(姜振峰等,2006;吴秀红等,2012)和番茄(杨建华等,2014)等,创造了显著的社会经济效益。

本研究以西南区 3 个常用的优良玉米自交系为材料,用不同浓度的 EMS 诱变处理其花粉,通过对  $M_0$  结实率来探讨每个材料适宜的 EMS 诱变浓度范围;综合分析  $M_1$  代诱变系的生物学效应和  $M_2$  代的诱变效应,期望选出遗传差异大、综合性状优良的诱变系,以丰富可供玉米育种利用的种质资源,为后续研究和应用打下基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

材料为四川农大正红生物技术有限责任公司提供的玉米自交系 K305、R08 和 21-ES。诱变剂为美国西格玛奥德里奇公司生产的甲基磺酸乙酯(EMS),载体剂为成都市科龙化工试剂厂生产液体石蜡。

### 1.2 试验方法

1.2.1 自交系的处理及操作 处理液的制备参照

Neuffer(1987)的方法进行。在诱变当天上午,配成  $2 \times 10^{-3}$ 、 $1.67 \times 10^{-3}$ 、 $1.0 \times 10^{-3}$ 、 $0.67 \times 10^{-3}$ 、 $0.50 \times 10^{-3} \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  五种浓度的 EMS-石蜡油溶液各 10 mL,分别倒入小玻璃瓶中备用,纯石蜡油为对照(CK)。田间诱变处理,选择生育期相对一致的优良单株套袋,待花丝抽出 1~2 d 后,用酒精消毒后的剪刀在下午 6:00 左右对花丝进行整理,让花丝相对整齐一致;第二天中午 12:00~13:00,收集 36 h 前套袋的新鲜花粉,用筛网除掉花药以后倒入各种 EMS 处理浓度小瓶中(每瓶倒 1 g 左右的花粉),室温黑暗条件下摇晃混匀,45 min 后,用毛笔均匀涂在花丝上,套袋标记。

1.2.2 诱变后代的处理  $M_0$ ,成熟收获时统计每个浓度处理的结实率。 $M_1$ ,2012 年冬季将  $M_1$  种子种植在海南陵水,行宽 3.5 m,行距 0.8 m,每行 7 穴,每穴 3 粒,每个浓度处理各种植 6 行,另种 2 行仅用石蜡处理花粉所结的种子作为对照,分单株挂牌标记,全部单株自交,田间单株调查和单株收获,观察记录果穗变异和室内考种。 $M_2$ ,每个处理综合选择 5 个农艺性状良好、符合育种需要的  $M_2$  代株系进行田间种植,同时种植  $M_1$  代有特殊生物效应变化的株系, $M_2$  株系种植在四川双流,同时每个株系选择优良单株套袋自交,获得  $M_3$  种子,供后续研究和应用。

### 1.3 指标测定及数据处理

对  $M_1$  代和  $M_2$  代,田间考察性状主要有散粉期、吐丝期、株高、穗位高、叶长、叶宽、一级雄穗长、一级雄穗分枝数;室内考查指标主要有穗长、穗粗、穗行数、百粒重。与对照进行对比分析,比较各性状的变异幅度、变异系数和平均值差异,以上数据在 SPSS 19.0 软件上进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 $M_0$ 代的结实率分析

3 个玉米自交系经不同浓度的 EMS 处理后,其

表 1 EMS 处理对玉米自交系  $M_0$  代结实率的影响Table 1 Effects of EMS on the  $M_0$  seed setting rate of maize inbred lines

自交系 Inbred line	处理浓度 Treated concentration ( $\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ )	处理株数 Treated plant number	结实粒数 Seed number	结实率 Seed setting rate (%)
K305	0 (CK)	7	980	—
	0.5	7	828	84.49
	0.67	7	740	75.51
	1.0	7	449	45.82
	1.67	7	329	33.57
	2.0	7	318	32.45
R08	0 (CK)	4	584	—
	0.5	4	460	78.77
	0.67	4	370	63.36
	1.0	4	277	47.43
	1.67	4	202	34.59
	2.0	4	42	7.19
21-ES	0 (CK)	7	1045	—
	0.5	7	810	77.51
	0.67	7	645	61.72
	1.0	7	590	56.46
	1.67	7	537	51.39
	2.0	7	348	33.30

结实率不同,但均表现出随浓度的增加呈下降的趋势(表 1)。表 1 显示,结实率达 50% (即半致死剂量) 的 EMS 浓度范围 K305 和 R08 在  $0.67 \sim 1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  之间,21-ES 在  $1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  附近,可分别视为对 3 个自交系进行花粉 EMS 诱变的适宜诱变浓度。

## 2.2 $M_1$ 代的生物学效应分析

2.2.1 吐丝期、散粉期 3 个自交系  $M_1$  代株系的散粉期和吐丝期均有延长的趋势,且随着 EMS 浓度的增加趋势更明显(表 2)。表 2 显示,与相应对照相比,R08 诱变系吐丝、散粉期差异不显著,K305 诱变系吐丝、散粉期在低浓度下差异不显著,在  $\geq 1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著;21-ES 诱变系散粉期在  $\geq 0.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时,吐丝期在  $\geq 0.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著,说明不同材料的吐丝、散粉期对 EMS 的敏感性不同,其敏感性表现为  $21\text{-ES} > \text{K305} > \text{R08}$ 。此外,除 R08 经  $0.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  诱变后的散粉期和 21-ES 经  $0.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  诱变后的吐丝期变异系数略低

于对照外,其他的变异幅度和变异系数都比相应对照大,且随浓度的增加表现出加大的趋势。

2.2.2 株高、穗位高和叶面积 从表 3 可以看出,除 K305 经  $0.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  诱变后的株高、穗位高、叶面积比对照略有增大外,其他浓度下的诱变系均比对照小,且随着 EMS 浓度的增加减小趋势明显,其中株高、穗位高在  $\geq 2.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著;R08 诱变系的株高、穗位高、叶面积均比对照小,且随着 EMS 浓度的增加减小趋势明显,其中株高、叶面积在  $\geq 1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时,穗位高在  $\geq 0.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著;21-ES 诱变系的株高、穗位高、叶面积均比对照小,且随着 EMS 浓度的增加减小趋势明显,其中株高在  $\geq 1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时,穗位高、叶面积在  $\geq 1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著。说明不同材料的株高、穗位高和叶面积对 EMS 的敏感性不同,其敏感性表现为  $\text{R08} > 21\text{-ES} > \text{K305}$ 。此外,3 份材料  $M_1$  代株系的变异幅度和变异系数都比相应对照大,且随浓度的增加表现出加大的趋势。

2.2.3 主要雄穗性状 从表 4 可以看出,3 份材料除 R08 经  $1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  诱变后的雄穗长略大于对照外,其他的主要雄穗性状都比对照小,且随着 EMS 浓度的增加趋势更明显。与相应对照相比,K305 诱变系一级雄穗分枝数差异不显著,雄穗长在低浓度下差异不显著,在  $\geq 1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时显著下降;R08 诱变系雄穗长差异不显著,一级雄穗分枝数在低浓度下差异不显著,在  $\geq 2.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时显著下降;21-ES 诱变系雄穗长差异不显著,一级雄穗分枝数在低浓度下差异不显著,在  $\geq 1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时显著下降。说明不同材料的主要雄穗性状对 EMS 的敏感性和变异方向不同,K305 和 21-ES 比 R08 敏感,且 K305 变异偏向于雄穗长变短,R08 和 21-ES 偏向于分枝数减少。此外,3 份材料  $M_1$  代株系的变异幅度和变异系数都比对照大,且随浓度增加有加大的趋势。

2.2.4 主要果穗性状 由表 5 可知,与相应对照相比,K305 诱变系的主要果穗性状变小,其穗长、穗行、百粒重差异不显著,穗粗在低浓度下差异不显著,在  $\geq 1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著;R08 诱变系主要果穗性状变化比较复杂,但差异不显著;21-ES 诱变系的主要果穗性状都变小,其穗长、穗行差异不显著,穗粗在  $\geq 1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时、百粒重在  $\geq 1.67 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度时差异显著,说明不同材料的主要果穗性状对 EMS 的敏感性不同,其敏感性表现为  $21\text{-ES} >$

表 2 EMS 处理对玉米自交系 M<sub>1</sub>吐丝、散粉期的影响Table 2 Effects of EMS on the M<sub>1</sub> pollening and silking of maize inbred lines

自交系 Inbred line	处理浓度 Treatment concentration (mL · L <sup>-1</sup> )	散粉期 Days from sowing to pollening			吐丝期 Days from sowing to silking		
		ME (d)	RV (d)	CV (%)	ME (d)	RV (d)	CV (%)
K305	0 (CK)	51.5	47~56	5.00	50.3	46~57	6.19
	0.5	52.4	47~61	5.09	51.5	47~62	6.46
	0.67	52.7	47~62	6.99	52.0	46~64	9.61
	1.0	53.2	49~62	5.61	52.6	47~63	7.59
	1.67	54.1 *	47~62	6.15	54.9 *	46~63	8.23
	2.0	54.8 *	49~69	7.11	55.7 *	47~75	10.40
R08	0(CK)	51.8	49~58	4.87	51.0	48~57	4.74
	0.5	53.6	49~60	4.55	53.4	48~59	5.74
	0.67	52.1	47~62	5.95	52.1	47~63	7.81
	1.0	53.3	49~61	5.69	53.1	47~61	7.03
	1.67	53.1	49~59	5.44	53.1	48~61	6.00
	2.0	52.6	47~62	6.68	53.5	47~64	8.62
21-ES	0(CK)	55.0	51~59	4.34	57.5	54~64	5.53
	0.5	57.0 *	51~65	5.24	59.2	49~71	7.40
	0.67	58.4 *	53~63	4.35	60.0 *	53~70	5.44
	1.0	58.7 *	53~66	4.97	60.7 *	54~72	6.20
	1.67	59.1 *	54~67	4.83	60.6 *	54~72	6.60
	2.0	59.2 *	53~66	5.15	61.5 *	53~71	6.81

注: ME. 平均值; RV. 变异幅度; CV. 变异系数。下同。

Note: ME. Mean; RV. Range of Variation; CV. Coefficient of variation. The same below.

K305>R08。此外,3份材料 M<sub>1</sub>代株系主要果穗性状的变异幅度和变异系数除个别小于对照外,其它的都大于相应对照。

### 2.3 M<sub>2</sub>株系主要性状变异分析

2.3.1 株高、穗位高和叶面积 从平均值(表6)来看,除来源于 K305 的穗位高和来源于 R08 的叶面积与其对照差异不显著外,其余各项均显著小于相应对照。另从诱变系中株高、穗位高、叶面积平均值与对照的差异达到正、负向显著的株系数比例来看,来源于 K305 的 M<sub>2</sub>株系中分别为 12%和 56%、16%和 40%、0%和 68%;来源于 R08 的 M<sub>2</sub>株系中分别为 4%和 68%、8%和 64%、20%和 12%;来源于 21-ES 的 M<sub>2</sub>株系中分别为 0%和 60%、8%和 60%、0%和 96%,表明其 M<sub>2</sub>株系的株高、穗位高和叶面积变异表现复杂,如自交系 K305 的 M<sub>2</sub>株系其株高和穗位高主要表现为双向变异,而其叶面积却主要表现为

降低;而自交系 R08 的 M<sub>2</sub>株系 3 个性状均表现出双向变异,21-ES 的 M<sub>2</sub>株系穗位高表现为双向变异,而其株高和叶面积均表现出降低的趋势。

2.3.2 主要雄穗性状 从平均值(表7)来看,除来源于 K305 的一级雄穗分枝数和 R08 的雄穗长与对照相比差异不显著外,其余均显著减小。另外,从 M<sub>2</sub>株系中雄穗长和一级雄穗分枝数平均值与对照的差异达到正、负向显著的株系数比例来看,来源于 K305 的 M<sub>2</sub>株系中分别为 0%和 48%、28%和 28%;来源于 R08 的 M<sub>2</sub>株系中分别为 4%和 8%、0%和 84%;来源于 21-ES 的 M<sub>2</sub>株系中分别为 0%和 72%、0%和 64%,表明除 K305M<sub>2</sub>株系的一级雄穗分枝数呈双向变异外,其余 M<sub>2</sub>株系整体偏向于雄穗变短,雄穗分枝数减小,标准差变大,变异谱扩大。

2.3.3 主要果穗性状 从平均值(表8)来看,来源于 K305 的 M<sub>2</sub>株系的穗长、穗粗和百粒重显著低于

表3 EMS处理对玉米自交系M<sub>1</sub>株高、穗位高、叶面积的影响Table 3 Effects of EMS on the M<sub>1</sub> plant height, ear height and leaf area of maize inbred lines mutated

自交系 Inbred line	处理浓度 Treatment concentration (mL · L <sup>-1</sup> )	株高 Plant height			穗位高 Ear height			叶面积 Leaf area		
		ME (cm)	RV (cm)	CV (%)	ME (cm)	RV (cm)	CV (%)	ME (m <sup>2</sup> )	RV (m <sup>2</sup> )	CV (%)
K305	0(CK)	195.8	185~215	4.33	53.3	45~70	13.46	0.868	0.70~1.00	10.31
	0.5	197.4	110~220	8.30	56.2	30~80	16.19	0.903	0.37~1.16	17.11
	0.67	194.1	140~220	8.12	49.9	20~70	20.67	0.853	0.41~1.15	19.83
	1.0	192.4	145~220	7.27	50.0	30~70	18.00	0.866	0.42~1.10	16.32
	1.67	185.3	155~215	8.27	47.9	35~65	18.04	0.780	0.43~1.02	17.31
	2.0	179.8 *	115~220	13.57	43.5 *	15~65	25.13	0.806	0.30~1.13	22.95
R08	0(CK)	191.9	185~207	4.26	66.9	50~80	11.63	0.862	0.714~0.981	8.24
	0.5	188.1	160~210	5.79	60.5 *	45~80	13.67	0.837	0.651~1.012	10.73
	0.67	185.4	135~220	9.82	60.3 *	40~80	16.89	0.796	0.451~1.015	18.13
	1.0	181.5 *	120~215	7.43	53.0 *	33~65	13.33	0.766 *	0.494~0.980	15.64
	1.67	180.9 *	115~200	9.56	50.7 *	25~65	14.97	0.722 *	0.468~1.025	18.22
	2.0	174.2 *	120~210	10.47	50.8 *	30~70	17.33	0.727 *	0.417~0.971	16.93
21-ES	0(CK)	203.6	175~220	7.17	73.9	60~85	10.99	0.869	0.618~0.995	13.04
	0.5	193.8	150~225	9.56	70.9	50~90	13.47	0.817	0.549~1.035	15.42
	0.67	193.5	150~225	8.98	70.6	50~90	11.17	0.814	0.500~1.033	14.82
	1.0	188.9 *	150~225	9.66	71.3	50~95	12.11	0.806	0.539~1.043	14.58
	1.67	185.8 *	120~220	12.27	63.8 *	35~85	17.93	0.776 *	0.411~1.002	18.09
	2.0	178.2 *	125~220	14.09	65.3 *	35~90	16.44	0.757 *	0.417~1.127	19.34

K305,来源于R08的M<sub>2</sub>株系的穗行数、百粒重显著低于R08,来源于21-ES的M<sub>2</sub>株系的穗粗显著大于21-ES;另外,从诱变系中穗长、穗粗、穗行数、百粒重平均值与对照的差异达到正、负向显著的株系数比例来看,来源于K305的M<sub>2</sub>株系中分别为0%和28%、0%和56%、0%和16%、0%和96%;来源于R08的M<sub>2</sub>株系中分别为8%和4%、0%和36%、0%和76%、4%和84%;来源于21-ES的M<sub>2</sub>株系中分别为4%和0%、44%和0%、0%和28%、56%和36%。表明其M<sub>2</sub>代株系的穗长、穗粗、穗行数、百粒重变异表现复杂,如自交系K305的M<sub>2</sub>株系中4个指标均表现为显著降低或差异不明显,而自交系R08的M<sub>2</sub>株系中穗长和百粒重却表现为双向变异,自交系21-ES的M<sub>2</sub>株系中只有百粒重表现为双向变异。

2.3.4 其它特殊变异 在本研究过程中发现,R08和21-ES的M<sub>2</sub>代株系中各出现了1个雄性不育突变体,在自交系R08的M<sub>2</sub>代株系中出现了1个矮秆突变体,它们的遗传特性还需要进一步研究。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 不同玉米自交系适宜的EMS诱变浓度

赵永亮等(1999)的研究表明,低浓度下结实率虽高,可得到较多诱变材料,但诱发突变的频率较低;高浓度下虽然诱发突变的频率较高,但结实率低,不能得到足够的诱变材料。本研究表明,3个自交系经过不同浓度的EMS诱变后,其结实率随着浓度的增大表现出减小的趋势,说明EMS对玉米自交系的抑制作用随着浓度的增加而增强,这与库来宝(2007)的研究结果一致。K305和21-ES在2.0 mL · L<sup>-1</sup> EMS处理下的结实率为30%左右,而R08仅为7%,说明EMS对不同玉米自交系的影响因材料不同而不同。一般认为使M<sub>1</sub>结实率达到50%的EMS浓度诱变效果最好,可作为最佳诱变剂量(崔清志等,2013)。因此,可初步认为,K305和R08这2个自交系适宜诱变浓度在0.67~1.0 mL · L<sup>-1</sup>之间,

表 4 EMS 处理对玉米自交系 M<sub>1</sub> 主要雄穗性状的影响Table 4 Effects of EMS on the M<sub>1</sub> main tassel characters of maize inbred lines mutated

自交系 Inbred line	处理浓度 Treatment concentration (mL · L <sup>-1</sup> )	雄穗长 Branch length			一级雄穗分枝数 Branch number		
		ME (cm)	RV (cm)	CV (%)	ME	RV	CV (%)
K305	0 (CK)	38.6	34~42	5.68	7.4	4~11	31.2
	0.5	37.5	28~44	10.73	7.8	2~14	33.04
	0.67	37.2	20~42	10.04	6.7	2~12	38.38
	1	36.4	25~42	10.5	6.9	2~12	32.32
	1.67	35.3 *	27~41	9.02	6.3	2~12	41.15
	2	35.4 *	24~42	11.07	6.5	1~13	47.78
R08	0 (CK)	36.5	33~41	7.63	8.6	4~13	31.27
	0.5	35.6	27~43	10.99	7.6	3~12	34.25
	0.67	34.6	23~43	12.8	8.2	2~15	32.56
	1	35.2	24~42	11.32	7.2	2~12	32.13
	1.67	38.3	30~43	9.1	7.3	2~12	34.40
	2	35.6	23~44	9.89	6.2 *	1~12	40.35
21-ES	0 (CK)	38.7	34~45	8.62	9.9	7~14	16.34
	0.5	37.0	26~44	10.31	9.3	1~15	27.20
	0.67	38.1	28~46	9.46	9.1	2~14	24.26
	1	36.8	28~44	9.35	9.0	2~15	29.96
	1.67	36.8	26~44	9.47	8.0 *	0~15	35.56
	2	36.8	22~45	11.61	7.3 *	0~13	34.53

自交系 21-ES 的最适诱变浓度在 1.67 mL · L<sup>-1</sup> 附近。

### 3.2 EMS 诱变 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub> 株系主要性状遗传变异

前人对 M<sub>1</sub> 代生物学效应研究主要集中在出苗率、成株率、突变体的调查及主要果穗性状上,对株高、穗位高、叶面积、主要雄穗性状研究较少(李海军,2002;刘晓丽等,2006;库来宝,2007;焦杨,2007)。本研究认为,M<sub>1</sub> 代主要表现为散粉期、吐丝期延长,株高、穗位高降低,叶面积减小,一级雄穗长和一级雄穗分枝数减小,且随着 EMS 浓度的增加差异越显著,这与李海军等(2002)和库来宝(2007)认为 M<sub>1</sub> 代受到的生理损伤大、长势低于对照的研究结果一致。不同浓度的 EMS 对 M<sub>1</sub> 代的主要果穗性状影响不大,这与杨镇等(2006)和焦杨(2007)认为 M<sub>1</sub> 代果穗性状未发生明显变异的结果一致。

安学丽等(2003)和杨镇等(2006)研究认为 M<sub>2</sub>

代株高变异率高且主要变矮,而刁钰婵等(2008)认为 M<sub>2</sub> 代株高主要变高,穗位高主要变矮。本研究表明,M<sub>2</sub> 代株高、穗位高和叶面积变异表现复杂,如自交系 R08 的 M<sub>2</sub> 株系 3 个性状均表现出双向变异,K305 的 M<sub>2</sub> 株系株高和穗位高主要表现为双向变异,而其叶面积却主要表现为降低,21-ES 的 M<sub>2</sub> 株系穗位高表现为双向变异,而其株高和叶面积均表现出降低的趋势。杨镇等(2006)认为穗长和百粒重的变异系数与对照相比变化较大,穗粗和穗行与对照相比则不明显;刁钰婵等(2008)认为 M<sub>2</sub> 代主要果穗性状的变异系数与对照相比从高到低依次为百粒重、穗长、穗行和穗粗。本研究认为 M<sub>2</sub> 株系穗长、穗粗、穗行数、百粒重变异表现复杂,如自交系 K305 的 M<sub>2</sub> 株系中 4 个指标均表现为显著降低或差异不明显,而自交系 R08 的 M<sub>2</sub> 株系中穗长和百粒重却表现为双向变异,自交系 21-ES 的 M<sub>2</sub> 株系中只有百粒重表现为双向变异。另外,本研究还表明,除 K305 的 M<sub>2</sub> 株系一级雄穗分枝数呈双向变异外,其余 M<sub>2</sub> 株系整体偏向于雄穗变短,雄穗分枝数减小。

### 参考文献:

- AN XL, CAI YL, WANG JG, et al, 2003. Mutagenic effects of ems on maize inbred line [J]. *J Maize Sci*, 11(3): 74-75. [安学丽,蔡一林,王久光,等,2003. 甲基磺酸乙酯(EMS)对玉米自交系诱变效应的研究[J]. *玉米科学*, 11(3): 74-75.]
- BIRD RM, NEUFFER MG, 1987, Induced mutations in maize [M]// JANICK J (ed.). *Plant breeding reviews* (5). New York: Van Nostrand Reinhold: 139-180.
- CUI QZ, LIU XH, CHEN HM, 2013. Advances in technologic research of EMS mutagenesis [J]. *Hunan Agric Sci*, (5): 7-9, 13. [崔清志,刘晓虹,陈惠明,2013. EMS 诱变技术研究进展[J]. *湖南农业科学*, (5): 7-9, 13.]
- DIAO YC, CHEN ZB, JIAO Y, et al, 2008. The biological effects of M<sub>2</sub> generation by EMS inducing maize pollens [J]. *J Henan Agric Sci*, (3): 33-35. [刁钰婵,陈志斌,焦杨,等,2008. EMS 诱变玉米花粉 M<sub>2</sub> 代生物学效应研究[J]. *河南农业科学*, (3): 33-35.]
- JIANG ZF, 2006. M<sub>1</sub> mutagenic effect on soybean induced by NaN<sub>3</sub> [J]. *J Nucl Agric Sci*, 20(3): 208-210. [姜振峰,2006. 叠氮化钠对大豆 M<sub>1</sub> 的生物学诱变效应[J]. *核农学报*, 20(3): 208-210.]
- JIAO Y, 2007. Mutagenic effects of ems on pollen in maize inbred lines [D]. *Shenyang Agric Univ*. [焦杨,2007. 玉米自交系 EMS 花粉诱变效应研究[D]. 沈阳农业大学.]
- KU LB, 2007. EMS corn pollen mutagenesis and root mutant screening selection of mutants from EMS mutagenized pollen and roots in maize [D]. *Beijing: China Agric Univ*. [库来宝,2007. EMS 玉米花粉诱变及根系突变体筛选[D]. 北京: 中国农业大学.]
- LI HJ, ZHANG LH, CHEN JT, et al, 2004. Studies on the corn germplasm enhancement by the technology of EMS inducing ma-

表5 EMS处理对玉米自交系M<sub>1</sub>主要果穗性状的影响Table 5 Effects of EMS on the M<sub>1</sub> main ear characters of maize inbred lines mutated

自交系 Inbred line	处理浓度 Treatment concentration (mL · L <sup>-1</sup> )	穗长 Ear length			穗粗 Ear diameter			穗行 Ear row			百粒重 100-seed weight	
		ME (cm)	RV (cm)	CV (%)	ME (cm)	RV (cm)	CV (%)	ME	RV	CV (%)	ME (g)	CV (%)
K305	0 (CK)	13.3	8~16.5	12.60	4.3	3.0~4.9	10.47	16.9	14~20	8.78	22.5	11.12
	0.5	12.5	9~26.4	19.71	4.2	3.3~5.0	9.43	16.5	10~20	11.24	22.3	13.31
	0.67	12.3	6.8~17	18.80	4.1	3.2~4.9	9.09	16.7	10~20	13.17	22.2	16.28
	1	12.1	8.8~19	18.21	4.0 *	3.1~4.9	9.96	16.7	14~20	11.25	22.5	13.97
	1.67	12.1	8.0~17	19.14	4.0 *	3.4~4.9	8.01	16.2	10~20	12.14	22.3	15.95
	2	12.3	7.0~16	15.41	4.0 *	3.0~4.7	10.3	16.3	14~20	12.20	21.6	14.59
R08	0 (CK)	13.8	11.0~16	11.06	4.1	3.4~4.6	7.51	12.8	10~16	12.03	23.4	17.82
	0.5	13.8	10.5~17.2	14.49	4.1	3.5~4.7	8.51	13.0	10~16	11.69	24.5	21.65
	0.67	13.5	9~17.5	16.10	3.9	3.4~4.8	8.81	13.6	10~16	9.90	23.8	21.68
	1	13.2	8~17.3	14.65	4.1	2.5~4.8	10.13	13.5	12~16	8.96	24.1	17.85
	1.67	14.6	11.5~18	12.06	4.0	2.6~5.0	14.62	13.2	10~16	12.08	24.7	24.00
	2	13.2	7~16.8	16.81	3.9	2.6~4.8	12.05	13.3	10~16	11.39	21.7	27.34
21-ES	0 (CK)	12.2	9.6~16	14.96	4.2	3.7~4.6	6.63	14.9	14~16	6.95	24.9	25.09
	0.5	11.1	6.9~16.5	18.89	4.0	3.5~4.8	9.26	14.8	12~18	9.35	23.2	22.74
	0.67	11.3	6.5~14	14.11	4.1	3~4.7	9.92	14.9	12~18	9.80	23.2	25.81
	1	11.2	6.2~14	14.39	3.9 *	2.9~4.7	9.97	14.9	12~18	9.17	22.0	25.52
	1.67	11	5~14.4	19.67	3.9 *	2.5~4.6	12.58	14.5	12~18	9.41	21.6 *	24.88
	2	10.6	4.3~14.5	20.40	3.9 *	2.6~4.8	12.35	14.4	10~18	9.52	19.9 *	26.90

表6 EMS处理对M<sub>2</sub>株高、穗位高、叶面积的影响Table 6 Effects of EMS on the M<sub>2</sub> plant height, ear height and leaf area

材料 Material	性状 Character	对照均值 ± 标准差 Average value of CK ± SD	M <sub>2</sub> 株系均值 ± 标准差 Average value of M <sub>2</sub> lines ± SD	M <sub>2</sub> 株系变异范围 Variation range of M <sub>2</sub> lines	显著增加频率 Positive frequency significantly than CK (%)	显著减小频率 Negative frequency significantly than CK (%)
K305	株高 Plant height (cm)	187.5 ± 14.13	178.4 ± 21.46 *	76~227	12	56
	穗位高 Ear height (cm)	47.0 ± 6.67	44.3 ± 12.27	11~83	16	40
	叶面积 Leaf area (m <sup>2</sup> )	0.700 ± 0.09	0.597 ± 0.12 *	0.214~1.127	0	68
R08	株高 Plant height (cm)	195.7 ± 11.93	181.0 ± 22.53 *	97~250	4	68
	穗位高 Ear height (cm)	62.2 ± 8.85	53.6 ± 14.21 *	24~95	8	64
	叶面积 Leaf area (m <sup>2</sup> )	0.690 ± 0.11	0.734 ± 0.15	0.330~1.266	20	12
21-ES	株高 Plant height (cm)	193.3 ± 7.63	181.0 ± 18.61 *	110~222	0	60
	穗位高 Ear height (cm)	87.4 ± 6.38	79.6 ± 13.13 *	39~125	8	60
	叶面积 Leaf area (m <sup>2</sup> )	0.892 ± 0.06	0.704 ± 0.12 *	0.282~1.138	0	96

表 7 EMS 处理对 M<sub>2</sub> 主要雄穗性状的影响Table 7 Effects on the M<sub>2</sub> main tassel characters by EMS

材料 Material	性状 Character	对照均值 ± 标准差 Average value of CK ± SD	M <sub>2</sub> 株系均值 ± 标准差 Average value of M <sub>2</sub> lines ± SD	M <sub>2</sub> 株系变异范围 Variation range of M <sub>2</sub> lines	显著增加频率 Positive frequency significantly than CK (%)	显著减小频率 Negative frequency significantly than CK (%)
K305	雄穗长 Branch length (cm)	43.0 ± 4.71	40.2 ± 4.95 *	22~58	0	48
	一级雄穗分枝数 Branch number	5.2 ± 1.53	5.3 ± 2.50	1~18	28	28
R08	雄穗长 Branch length (cm)	38.5 ± 3.24	38.2 ± 6.84	16~59	4	8
	雄穗分枝数 Branch number	9.8 ± 2.70	6.9 ± 3.06 *	1~19	0	84
21-ES	雄穗长 Branch length (cm)	37.3 ± 1.99	34.4 ± 3.89 *	21~46	0	72
	一级雄穗分枝数 Branch number	9.1 ± 1.92	7.6 ± 2.04 *	1~14	0	64

表 8 EMS 处理对 M<sub>2</sub> 主要果穗性状的影响Table 8 Effects on the M<sub>2</sub> main ear characters by EMS

材料 Material	性状 Character	对照均值 ± 标准差 Average value of CK ± SD	M <sub>2</sub> 株系均值 ± 标准差 Average value of M <sub>2</sub> lines ± SD	M <sub>2</sub> 株系变异范围 Variation range of M <sub>2</sub> lines	显著增加频率 Positive frequency significantly than CK (%)	显著减小频率 Negative frequency significantly than CK (%)
K305	穗长 Ear length (cm)	11.6 ± 1.33	10.3 ± 2.53 *	5~16	0	28
	穗粗 Ear diameter (cm)	3.4 ± 0.45	3.0 ± 0.44 *	1.5~4.4	0	56
	穗行数 Ear row	14.6 ± 1.71	13.9 ± 2.23	8~20	0	16
	百粒重 100-seed weight (g)	20.2 ± 0.22	13.5 ± 3.34 *	7.93~25.2	0	96
R08	穗长 Ear length (cm)	12.3 ± 0.29	12.1 ± 2.34	3.5~18	8	4
	穗粗 Ear diameter (cm)	3.4 ± 0.26	3.1 ± 0.43	1.7~4.2	0	36
	穗行数 Ear row	14.3 ± 1.28	12.4 ± 1.64 *	8~16	0	76
	百粒重 100-seed weight (g)	15.9 ± 0.30	11.3 ± 3.43 *	4.54~19.63	4	84
21-ES	穗长 Ear length (cm)	7.7 ± 0.21	8.4 ± 1.79	4.5~13	4	0
	穗粗 Ear diameter (cm)	2.9 ± 0.12	3.4 ± 0.43 *	1.9~4.4	44	0
	穗行数 Ear row	14.0 ± 0.00	12.6 ± 1.90	8~18	0	28
	百粒重 100-seed weight (g)	17.2 ± 0.13	19.6 ± 4.74	13~31.03	56	36

ture pollens [J]. J Hebei Agric Sci, 8(1):29-33. [李海军, 张丽华, 陈景堂, 等, 2004. 利用 EMS 花粉技术创新玉米种质的研究 [J]. 河北农业科学, 8(1):29-33.]

LIU XL, YANG Z, LI G, 2006. Biological effects of M<sub>1</sub> generation by utilizing EMS mutagen on maize pollen [J]. J Shenyang Agric

Univ, 37(6): 806-810. [刘晓丽, 杨镇, 李刚, 2006. EMS 诱变玉米花粉 M<sub>1</sub> 代生物学效应研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 37(6): 806-810.]

LIU X, 2014. Progresses on EMS mutagenesis in plant breeding [J]. Acta Laser Biol Sin, 23(3):197-201. [刘翔, 2014. EMS



- 诱变技术在植物育种中的研究进展 [J]. 激光生物学报, 23(3):197-201.]
- LUO WL, CHEN LK, WANG H, et al, 2014. Biological effects and SSR analysis on  $M_1$  generation of 'Hanghui 173' (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) whose seeds carried in the "Shenzhou VIII" spacecraft [J]. Chin Agric Sci Bull, 30(15):11-16. [罗文龙, 陈立凯, 王慧, 等, 2014. "神舟八号"搭载"航恢173"种子的当代生物效应及SSR分析[J]. 中国农学通报, 30(15):11-16.]
- NEUFFER MG, 1987. Paraffin oil technique for treating mature corn pollen with mutagens [J]. Maydica, (22):21-28.
- WANG CF, AN YP, ZHANG WY, et al, 2011. Rice seed chemical mutagen EMS concentration screening study the different concentration of chemical mutagen EMS inducing and screening on rice seeds [J]. Ningxia J Agric For Sci Technol, 52(10):22-23. [王彩芬, 安永平, 张文银, 等, 2011. 水稻种子化学诱变剂 EMS 浓度筛选研究 [J]. 宁夏农林科技, 52(10):22-23.]
- WEN XF, WANG XQ, 2004. Nuclear agricultural sciences in china; current status and suggestion on future development [J]. J Nucl Agric Sci, 18(3):164-169. [温贤芳, 汪勋清, 2004. 中国核农学的现状及发展建议 [J]. 核农学报, 18(3):164-169.]
- YANG JH, CUI X, CHANG PP, et al, 2014. Identification and analysis of mutant phenotype tomato inbred line TTD302A induced with EMS [J]. Chin Veg, 4:21-28. [杨建华, 崔霞, 常培培, 等, 2014. EMS 诱变番茄自交系 TTD302A 的突变表型鉴定和分析 [J]. 中国蔬菜, 4:21-28.]
- YANG Z, LIU XL, LI G, 2006. Mutagenic effects of EMS on maize inbred lines [J]. Liaoning Agric Sci, (5):7-10. [杨镇, 刘晓丽, 李刚, 2006. EMS 诱变剂对玉米自交系改造效果的研究 [J]. 辽宁农业科学, (5):7-10.]
- WU XH, 2012. Comparison of genetic variations of agronomic characteristics of the different soybean varieties in  $M_2$  and  $M_3$  induced by EMS [J]. Chin Agric Sci Bull, 28(27):49-52. [吴秀红, 2012. EMS 诱变大豆不同品种  $M_2$  代与  $M_3$  代农艺性状变异比较 [J]. 中国农学通报, 28(27):49-52.]
- XUE F, CHU HL, HU ZW, et al, 2010. Mutation effect on resistant starch content and agronomic traits of Xinchun 11 treated by EMS [J]. J Tritic Crops, 30(3):431-434. [薛芳, 褚洪雷, 胡志伟, 等, 2010. EMS 对新春 11 小麦抗性淀粉和农艺性状的诱变效果 [J]. 麦类作物学报, 30(3):431-434.]
- XUE YC, LI JN, LIU LZ, et al, 2012. Verification and identification of waterlogging tolerance in *Brassica napus* mutated by EMS [J]. J SW Chin Norm Univ: Nat Sci Ed, 37(4):76-80. [薛远超, 李加纳, 刘列钊, 等, 2012. 甘蓝型油菜 EMS 诱变材料的耐湿性鉴定与筛选 [J]. 西南师范大学学报·自然科学版, 37(4):76-80.]
- ZHANG JY, ZHANG PP, YAO JB, et al, 2014. EMS induced HMW-GS mutants from soft wheat Ningmai 9 [J]. Acta Agron Sin, 40(9):1 579-1 584. [张纪元, 张平平, 姚金保, 等, 2014. 以 EMS 诱变创制软质小麦宁麦 9 号高分子量谷蛋白亚基突变体 [J]. 作物学报, 40(9):1 579-1 584.]
- ZHENG XY, LI JZ, WU ZG, et al, 2013. Breeding of dwarf maize inbred line 08H67-2 [J]. J Shangxi Agric Sci, 41(6):535-536, 556. [郑向阳, 栗建枝, 吴枝根, 等, 2013. 矮秆玉米自交系 08H67-2 的选育 [J]. 山西农业科学, 41(6):535-536, 556.]
- ZHAO YL, SONG TM, MA HP, 1999. The quick development of speciality corn by chemical mutagenesis of pollen [J]. Acta Agron Sin, 25(2):157-161. [赵永亮, 宋同明, 马惠平, 1999. 利用花粉化学诱变快速创造特用玉米新种质 [J]. 作物学报, 25(2):157-161.]
- ZHOU ZH, WANG ZG, 1997. Irradiation method application in maize breeding application on maize breeding through irradiation methods [J]. J Maize Sci, 5(1):11-13. [周柱华, 王增贵, 1997. 辐照方法在玉米育种中的应用 [J]. 玉米科学, 5(1):11-13.]
- search on trace minerals content in rice seed [J]. Sci Agric Sin, 39(10):1 947-1 955. [孙明茂, 洪夏铁, 李圭星, 等, 2006. 水稻籽粒微量元素含量的遗传研究进展 [J]. 中国农业科学, 39(10):1 947-1 955.]
- WANG PR, GAO JX, WAN CM, et al, 2010. Divinyl chlorophyll (ide) a can be converted to monovinyl chlorophyll (ide) a by a divinyl reductase in rice [J]. Plant Physiol, 153:994-1 003.
- WU ZM, ZHANG X, HE B, et al, 2007. A chlorophyll-deficient rice mutant with impaired chlorophyllide esterification in chlorophyll biosynthesis [J]. Plant Physiol, 145:29-40.
- YANG HL, LIU M, GUO M, et al, 2014. Genetic analysis and position cloning of a yellow green leaf 10 (*ylt10*) gene, responsible for leaf color in rice [J]. Chin J Rice Sci, 28(1):41-48. [杨海莲, 刘敏, 郭旻, 等, 2014. 一个水稻黄绿叶突变体 *ylt10* 的遗传分析和基因定位 [J]. 中国水稻科学, 28(1):41-48.]
- YANG ST, ZHANG T, ZHENG JK, 2010. Advance in rice mutant library [J]. Chin Agric Sci Bull, 26(19):27-30. [杨松涛, 张涛, 郑家奎, 2010. 水稻突变体库研究进展 [J]. 中国农学通
- 报, 26(19):27-30.]
- YOO SC, CHO SH, SUGIMOTO H, et al, 2009. Rice *virescent3* and *stripe1* encoding the large and small subunits of ribonucleotide reductase are required for chloroplast biogenesis during early leaf development [J]. Plant Physiol, 150:388-401.
- ZHANG DY, GONG ZY, YE JW, et al, 2008. Effects of *zebra leaf 1*-a new variegation mutation-on chloroplast development in rice [J]. J Mol Cell Biol, 41:417-422. [张道允, 甄子英, 叶建伟, 等, 2008. 一个新的水稻斑马叶突变 *zebra leaf 1* 对叶绿体发育的影响 [J]. 分子细胞生物学报, 41:417-422.]
- ZHANG HT, LI JJ, YOO JH, et al, 2006. Rice *Chlorina-1* and *Chlorina-9* encode Chl D and Chl I subunits of Mg-chelatase, a key enzyme for chlorophyll synthesis and chloroplast development [J]. Plant Mol Biol, 62:325-337.
- ZHANG X, HUANG B, LI Y, et al, 2012. Physiological and biochemical changes in lateral root mutant of rice [J]. Guihaia, 1:124-128. [张霞, 黄斌, 李洋, 等, 2012. 水稻无侧根突变体生理生化变化的研究 [J]. 广西植物, 1:124-128.]

( 上接第 896 页 Continue from page 896 )