

EMS 诱变对北方白菜型冬油菜农艺性状与品质的影响

杨建胜¹, 孙万仓^{1,2}, 刘自刚^{1,2}, 刘海卿¹, 杨刚¹, 张树娟¹,
张晶¹, 方彦^{1,2}, 武军艳^{1,2}, 李学才^{1,2}

(1. 甘肃省干旱生境作物重点实验室, 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃 兰州 730070;
2. 甘肃省油菜工程技术研究中心, 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为探讨甲基磺酸乙酯(EMS)处理对北方白菜型冬油菜农艺性状和品质的影响, 丰富白菜型冬油菜的种质资源, 利用不同浓度(0、0.3%、0.6%、0.9%、1.2%)EMS 溶液对白菜型冬油菜陇油 7 号种子进行处理, 对 M₁ 形态学特征和农艺性状、M₂ 籽粒品质变化进行分析。结果表明: EMS 处理使白菜型冬油菜产生较大变异, 叶片出现嵌合性白化、花瓣白化、雌雄蕊畸形, 除分枝数增加外, 株高、主花序有效长度、主花序有效角果数、全株有效角果数、角果长度、角果粒数、千粒重等均显著降低, 脂肪酸含量发生较大变化; 在 M₂ 中筛选到 3 株芥酸含量较低的植株和 1 株低硫苷含量植株, 3 株芥酸含量较低植株的油酸含量分别为 48.56%、47.57%、45.08%, 平均比对照高出 15 个百分点, 芥酸含量分别为 17.89%、19.03%、19.37%, 平均比对照低 10 个百分点; 低硫苷植株硫苷含量为 21.97 μmol·g⁻¹。产生有利变异的 EMS 处理浓度为 0.3%~0.6%, 处理时间为 6 h。

关键词: 白菜型油菜; 冬油菜; EMS 诱变; 农艺性状; 品质

中图分类号: S565.4 **文献标志码:** A

Effect of ethyl methane sulphonate on agronomic traits and quality of winter rapeseed in North China

YANG Jian-sheng¹, SUN Wan-cang^{1,2}, LIU Zi-gang^{1,2}, LIU Hai-qing¹, YANG Gang¹, ZHANG Shu-juan¹,
ZHANG Jing¹, FANG Yan^{1,2}, WU Jun-yan^{1,2}, LI Xue-cai^{1,2}

(1. Gansu Key Laboratory of Crop Improvement and Germplasm Enhancement/Key Laboratory of Arid Land Crop Science in Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Rapeseed Engineering Research Center of Gansu Province, College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: In order to explore ethyl methane sulphonate (EMS) mutagenesis on agronomic traits and qualities in winter rapeseed (*Brassica rapa* L.), and to enrich germplasm of winter rapeseed in north China, Longyou 7 was treated with ethyl methane sulfonate (EMS) at different concentrations (0, 0.3%, 0.6%, 0.9%, 1.2%). Morphological characteristics in M₁ and influence of agronomic traits and qualities of M₂ were measured. The result showed that EMS mutagenesis on winter rapeseed produced abundant variation, which included leaves appear chimerism bleaching, petals albino, the female and stamens deformity. The height, length of main inflorescence, pods of main inflorescence, the pods per plant, pod length, seeds per pod, 1000-seed weight, all of these decreased significantly except the number of branches. In addition large variation produced in fatty acid content. Screening resulted in three plants with higher oleic acid content and low erucic acid content in M₂, and one mutant with low glucosinolates content (21.97 μmol·g⁻¹). Proper EMS concentration is suggested as being 0.3%~0.6%, and the treating time is 6 h.

Keywords: *Brassica rapa* L.; winter rapeseed; EMS mutagenesis; agronomic traits; quality

收稿日期: 2016-12-14 修回日期: 2016-12-22
基金项目: 国家自然科学基金项目(31460356); 农业部产业技术体系建设资金项目(CARS-13); 国家“973”计划(2015CB150206)
作者简介: 杨建胜(1989—), 男, 甘肃秦安人, 硕士研究生, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: 1025857628@qq.com。
通信作者: 孙万仓(1957—), 男, 甘肃会宁人, 博士生导师, 教授, 主要从事油菜育种及十字花科种质资源研究。E-mail: 1134137111@qq.com。

化学诱变具有操作简单、突变性状稳定等优点,是创制植物新种质的有效途径,化学诱变剂甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulphonate, EMS)具有点突变频率高且多为显性突变体以及突变体易于筛选等优点^[1]。关于 EMS 诱变产生突变体的研究已有大量报道,王英培等^[2]用 EMS 处理大豆,筛选出一批高蛋白(45%~50%)、高亚油酸(60%以上)、低亚麻酸的优良突变系;曲高等^[3]用 EMS 处理甘蓝型油菜中双 9 号干种子,从 M_2 突变体库中筛选到 3 株苯磺隆抗性突变体,创建了包括子叶、叶片、花器、株型、角果等多器官变异类型的突变体库;廖晓英等^[4]利用 EMS 处理甘蓝型油菜玻里马胞质雄性不育系(polcms)的保持系 2B 种子,从田间 M_2 诱变群体中筛选获得多分枝和长角果等占 M_2 诱变群体 7.4% 的 1 495 个变异株;薛远超等^[5]分别从 GH18 和中双 9 号的 EMS 诱变后代中筛选得到 14 个和 2 个强耐湿性材料;陈洁等^[6]也通过 EMS 诱变甘蓝型油菜获得了耐湿种质资源。此外,EMS 处理对油料作物脂肪酸品质改良具有重要作用,是一种安全有效的育种方法。黄永娟等^[7]用 0.4% EMS 诱变甘蓝型油菜 NJ7982 种子,从 M_2 筛选得到 1 个油酸含量为 76.15% 的突变株;张宏军等^[8]采用浓度 1.5% EMS 处理甘蓝型油菜后发现其对油酸含量有一定的影响,同时发现高油酸材料 FAD2A 中第 205 位残基天冬氨酸变成甘氨酸, FAD2B 中第 241 位残基酪氨酸变成苯丙氨酸,并且二者都发生在油酸减饱和酶催化中心,从而影响蛋白质的空间结构,导致油酸含量提高;德国学者 Hans-Joachim Harloff 等^[9]发现 EMS 能使甘蓝型油菜品质性状发生改变,通过诱变得到了低芥酸的突变体。北方地区冬季严寒、干旱,自然条件严酷,强冬性白菜型冬油菜抗寒性优异,是我国北方早寒区唯一能够越冬的冬油菜,近年来生产发展十分迅速,正在成为该区重要油料作物和生态作物,但北方强冬性白菜型冬油菜品种品质不好,芥酸与硫苷含量高,缺乏优质种质资源,同时株型不适应现代种植业发展要求,农艺性状等也不尽理想。因此,创制白菜型冬油菜优质种质资源、改良北方白菜型冬油菜的品质和农艺性状是北方强冬性白菜型冬油菜育种研究的重要内容,本试验以白菜型冬油菜陇油 7 号为材料,用不同浓度 EMS 溶液进行诱变处理,以期明确 EMS 诱变对北方强冬性白菜型冬油菜的品质和农艺性状的影响,为白菜型油菜的品质改良提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

白菜型冬油菜超强抗寒品种陇油 7 号种子,由甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室提供,化学诱变剂为甲基磺酸乙酯(EMS),购自美国 Sigma 公司,原液浓度为 $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

2013 年 9 月在甘肃农业大学试验农田进行大田试验,试验地肥力中等,播前翻耕整地,清除杂草,将用 5 种不同浓度 EMS 溶液处理后的种子于 2013 年 9 月 8 日播种,试验设 3 次重复,完全随机区组设计,开沟条播,播深 4 cm 左右,深浅一致,行距 20 cm,株距 7 cm 左右,播后及时沿播种沟镇压保墒,此后常规管理。室内试验在甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室进行。

1.3 试验方法

1.3.1 EMS 处理方法 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 值 7.0 的磷酸缓冲液配制不同浓度(0、0.3%、0.6%、0.9%、1.2%)的 EMS 溶液,分别标记为 CK、T1、T2、T3、T4。选取大小均匀,形状饱满的陇油 7 号种子 4 500 粒,置于 15 个 10 mL 的离心管中(每 300 粒装 1 个离心管),先用蒸馏水浸泡种子 10 h,随后倒掉蒸馏水,倒置离心管于滤纸上吸干种子表面水分,再向离心管中加入不同浓度的 EMS 溶液,在恒温(22°C)下处理 6 h,处理完后用无菌水冲洗种子 10 次,流水冲洗过夜。种子晾干后于大田播种,每处理重复 3 次,按常规方法管理。

1.3.2 M_1 的田间观察方法 播种 1 周后调查统计成苗率,于苗期观测植株的形态特征(子叶形状、心叶色、基叶叶型等),蕾薹期观察植株的株型、叶形、叶色、现蕾情况等,花期调查花器颜色、形态和育性等,成熟期各处理每重复随机选取 15 株对株高、分枝部位、有效分枝数、主花序有效长度、主花序有效角果数、全株有效角果数、角果长度、角粒数、千粒重等性状进行考种以及生育期的调查,单株编号收获进行品质测定。

1.3.3 M_2 种子的品质分析方法 2015 年 6 月收获 M_2 种子,单株编号收获,种子脱粒晾干后用近红外分析光谱仪器(上海费尔伯恩精密仪器有限公司, BOEN-SUP-2700)^[10]测定软酯酸、硬酯酸、芥酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、二十碳烯酸、含油量(CE)、硫苷(GSL)、水分及粗蛋白(GP),重复 3 次。

1.4 数据分析

数据处理和分析均采用 Excel 和 SPSS 16.0 软件。

2 结果与分析

2.1 EMS 处理对冬油菜 M₁ 成苗率的影响

用 EMS 处理的种子播种 1 周后田间成苗率的调查结果表明,EMS 对成苗率有抑制作用,且随着浓度的增加抑制作用增强,苗致死率增高。经 0.6% 浓度处理后种子的成苗率为 52%,说明此浓度下苗致死率接近 50%,从发芽时间来看,与 CK 相比,所有 EMS 处理后种子出苗较慢且不均匀,经高浓度 EMS(T₄)处理后,种子发芽后子叶黄化而迅速死亡,导致成苗率只有 37%(表 1)。

表 1 不同浓度 EMS 处理后种子成苗率/%

Table 1 Seeding rate after treatment with different concentrations of EMS

播种时间/d Planting time	处理 Treatment				
	CK	T1	T2	T3	T4
14	97 ± 3A	64 ± 2B	52 ± 2C	47 ± 3C	37 ± 1D

注:成苗率指观察当天田间的植株数占种子总数的百分比;不同字母表示在 0.01 水平有显著差异($P < 0.01$)。

Note: seeding rate refers to the percentage of the number of plants observed in the field to the total number of seeds; different letter indicated significant difference at the 0.01 level($P < 0.01$).

2.2 EMS 处理对 M₁ 植株的影响

2.2.1 对苗期植株的影响 EMS 对苗期植株的影响主要表现在植株的生长量上,即植株的形态大小。



图 1 不同浓度 EMS 处理后油菜的田间表现

Fig.1 Rapeseed field performance of different EMS treatments

2.2.3 植株花器官产生的变异性状 白菜型油菜陇油 7 号的花序为总状无限花序,正常花有 4 个花瓣,呈十字对称分布,颜色为黄色(图 3 - A),但在诱变后代中出现了不正常花,在花瓣数目上出现了 2 个花瓣的植株,另外 2 个花瓣萎缩而不发育(图 3 - B、C);3 个花瓣的植株,1 个花瓣萎缩(图 3 - D);5 个花瓣的植株,在正常花瓣的下面又叠生出 1 个花瓣来(图 3 - E);6 个花瓣的植株,也是在正常花瓣的下面叠生出 1 个花瓣,且有 3 个花瓣连生在一起(图 3 - F)。在花瓣形态上出现了花瓣卷曲、花瓣皱缩变小的变异株(图 3 - G、H),也有花瓣大小不一且不对

由图 1 和表 2 可知,经 EMS 处理的油菜生长普遍较 CK 弱,表现为 CK > T₁ > T₂ > T₃ > T₄,同一浓度下植株的长势差异不明显,说明 EMS 对油菜的生长发育有一定的抑制作用,且抑制作用与浓度呈正相关,且在高浓度 EMS 处理下,出现叶片黄化的现象(图 1 - D、E),这将影响植株后期的生长发育。

表 2 冬油菜五叶期植株的干鲜重/g

Table 2 Fresh and dry weight of plants at five-leaf stage

项目 Item	处理 Treatment				
	CK	T1	T2	T3	T4
鲜重 Fresh weight	17.80	11.88	8.36	4.48	3.64
ΔCK/%	0	-33.3	-53.0	-74.8	-79.6
干重 Dry weight	1.98	1.47	0.80	0.47	0.38
ΔCK/%	0	-25.8	-59.6	-76.3	-97.9

2.2.2 植株叶片产生的变异性状 不同浓度 EMS 处理陇油 7 号种子,各浓度下,蕾薹期植株田间表现有叶片卷曲、皱缩、畸形、黄化等变异性状。CK 的叶片厚而叶色深(图 2 - A),而在 M₁ 植株中出现了叶片边缘下卷,叶片变小(图 2 - B)、叶片皱缩(图 2 - C)、叶尖畸形(图 2 - D)、整个叶片畸形(图 2 - E)、一半白叶一半绿叶(图 2 - F、G)、黄斑叶(图 2 - H、I)、叶边缘黄化以及黄化叶(图 2 - J、K、L)等变异植株。在这些变异性状上,后期一些植株慢慢死亡或死薹而不能收获种子。

称的不正常花(图 3 - I、J)。在花瓣颜色方面出现了黄白相间花的植株(图 3 - I、J)及白花植株(图 3 - K),白花植株的花瓣较小而整个花瓣全是白色。此外,还出现了多柱头而无雄蕊和花瓣的畸形变异花(图 3 - L)。

2.2.4 对成熟期植株的影响 在成熟期各处理随机选取 15 株进行考种,由表 3 可知,EMS 对株高的影响是随着 EMS 浓度的增加,株高逐渐降低,各浓度下株高与 CK 的差异达到显著或极显著水平。随 EMS 浓度的增加有效分枝数增多,这主要表现为植株的丛生现象,与 CK 相比,分枝数多但株型矮小、

叶片较小、茎秆纤细、长势较弱,矮化丛生是这一时期典型的变异特征。EMS 对其它性状的影响都是随着 EMS 浓度的增加各性状发育受到抑制,T4 中,除有效分枝数和角果长度外,其它性状与 CK 的差异均达到显著或极显著水平,说明 EMS 浓度越高,

其对各性状的发育抑制程度越高。此外,EMS 对株高、主花序有效角果数和全株有效角果数的影响最大,株高变小,有效角果数变少,这也是其影响单株产量的主要原因。



图 2 冬油菜 EMS 诱变后代在叶片性状上的变异表现
Fig.2 Leaf morphological traits of the mutants induced by EMS

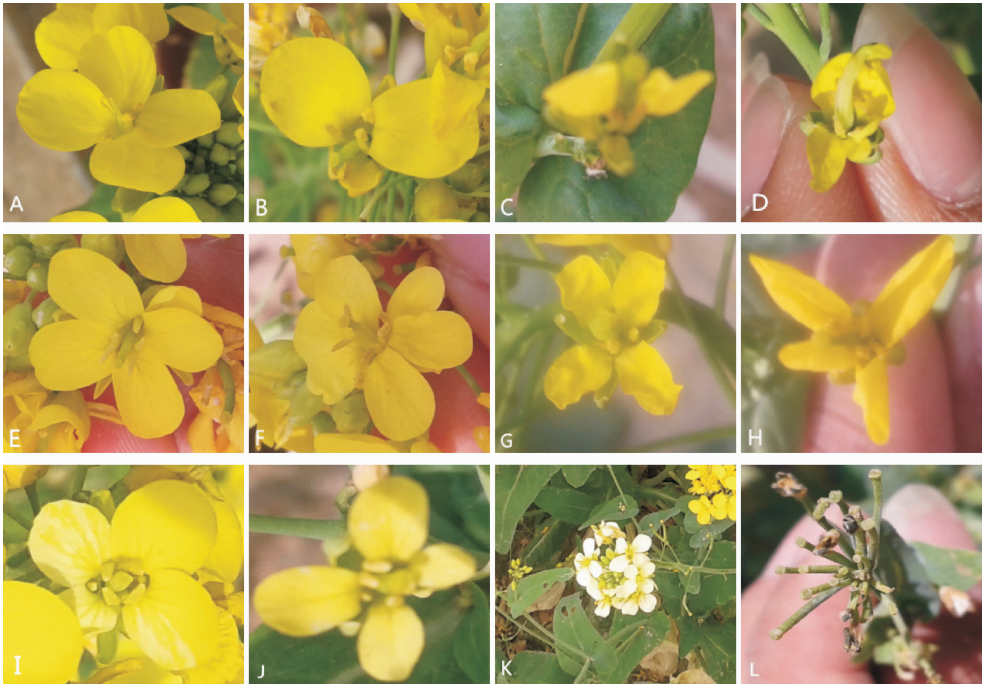


图 3 冬油菜 EMS 诱变后代在花器上的变异表现
Fig.3 Morphological traits of floral organ of the mutants induced by EMS

表 3 不同浓度 EMS 处理后油菜成熟期植株的田间表现

Table 3 Agronomic traits of plants at maturity after treatment with different concentration EMS

处理 Treatment	株高 Height /cm	分枝部位 Branch site /cm	有效分枝数 Effective branches	主花序有效长度 Main inflorescence length/cm	主花序有效角果 Main inflorescence pod	全株有效角果数 Pods of per plant	果长度 Pod length /cm	果粒数 Seeds per /(Pod·粒 ⁻¹)	千粒重 1000 seed weight/g
CK	115.5	17.6	11	39.5	40	295	5.2	21	2.90
T1	108.6 *	14.3	12	35.3	36	235	4.6	18	2.56
T2	99.8 * *	13.8	12	30.5	31	232	4.5	16	2.32
T3	89.3 * *	12.1	13	24.0 *	24 * *	196 *	4.1	16	2.16
T4	76.5 * *	10.5 *	14	17.6 * *	14 * *	109 * *	3.7	15 *	1.50 * *

注: * 和 * * 分别表示与 CK 相比在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。Note: *, * * significant difference at $P < 0.05$ and 0.01 levels, respectively.

经调查,各浓度处理下植株的生育期随着 EMS 浓度的增加而延长,CK 的生育期为 288 d 左右,T2 的生育期为 295 d,较 CK 延长 1 周左右,而 T4 的生育期较 CK 推迟 2 周左右,这可能是 EMS 对其植株在各个生育期的生长发育都有一定的抑制作用所致,从 M₁ 植株的各个生育期来看,苗期植株的变异不大,变异主要反映在抽薹期和花期。

2.3 冬油菜 M₁ 种子各主要脂肪酸间以及与含油量的相关与回归分析

由表 4 可知,软酯酸与油酸,亚油酸与亚麻酸,

芥酸与硬脂酸、亚麻酸在 $P = 0.05$ 水平上相关性不显著,其它脂肪酸间均存在显著或极显著相关关系,油酸除与亚油酸呈极显著正相关($r = 0.374$)外,与硬脂酸、亚麻酸、二十碳烯酸、芥酸间均呈极显著负相关,相关系数 r 依次为 -0.706 、 -0.744 、 -0.962 、 -0.615 。在白菜型油菜品质改良育种中,获得双低(低硫苷、低芥酸)油菜新品种以及油酸含量高芥酸含量低的突变体材料是育种工作者的理想目标,油酸与芥酸间的负相关性,体现出获得理想突变体材料的可能性,为白菜型油菜品质改良育种提

表 4 油菜诱变后代种子各主要脂肪酸的相关性及其对应的线性回归方程

Table 4 The correlation and linear regression equation of the main fatty acids in the seeds of mutagenesis progeny

指标 Index	软脂酸 Palmitic acid	硬脂酸 Stearic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid	二十碳烯酸 Eicosenoic acid	芥酸 Erucic acid	含油量 Oil content
软脂酸 Palmitic acid	1($Y = X$)							
硬脂酸 Stearic acid	0.708 * * ($Y = 0.8262X - 1.4854$)	1($Y = X$)						
油酸 Oleic acid	-0.091 ($Y = -0.927X + 33.185$)	-0.706 * * ($Y = -6.1669X + 40.424$)	1($Y = X$)					
亚油酸 Linoleic acid	0.762 * * ($Y = 2.4549X + 9.4374$)	0.219 * ($Y = 0.6048X + 18.029$)	0.374 * * ($Y = 0.1183X + 15.601$)	1($Y = X$)				
亚麻酸 Linolenic acid	0.664 * * ($Y = 3.0841X + 1.0533$)	0.971 * * ($Y = 3.8673X + 6.3614$)	-0.744 * * ($Y = -0.3391X + 23.204$)	0.121 ($Y = 0.1719X + 9.8823$)	1($Y = X$)			
二十碳烯酸 Eicosenoic acid	0.207 * ($Y = 0.7928X + 5.4025$)	0.774 * * ($Y = 2.5364X + 4.0442$)	-0.962 * * ($Y = -0.3607X + 19.177$)	-0.324 * * ($Y = -0.3842X + 15.858$)	0.813 * * ($Y = 0.6695X - 0.3073$)	1($Y = X$)		
芥酸 Erucic acid	-0.717 * * ($Y = -5.7032X + 48.096$)	-0.078 ($Y = -0.5308X + 26.593$)	-0.615 * * ($Y = -0.4798X + 39.827$)	-0.866 * * ($Y = -2.1377X + 66.479$)	-0.018 ($Y = -0.0302X + 26.054$)	0.501 * * ($Y = 1.0426X + 16.77$)	1($Y = X$)	
含油量 Oil content	-0.776 * * ($Y = -4.1514X + 46.383$)	0.374 * * ($Y = -1.7153X + 33.076$)	-0.301 * * ($Y = -0.1581X + 34.718$)	-0.875 * * ($Y = -1.4525X + 57.787$)	-0.269 * * ($Y = -0.3099X + 34.135$)	0.216 * ($Y = 0.3014X + 27.48$)	0.836 * * ($Y = 0.5627X + 15.613$)	1($Y = X$)

注:表中数据为相关系数,括号中为对应的回归方程; * 和 * * 分别表示在 0.05 和 0.01 水平下相关性显著。

Note: the table date is correlation coefficients, and that within brackets is regression equation; * and * * mean significant correlation at level of 0.05 and 0.01, respectively.

供理论依据,且油酸和芥酸的回归系数为 -0.4798 ,即芥酸含量每下降 1% ,油酸含量可增加 0.48% 。芥酸与油酸、亚油酸间均呈极显著的负相关关系,相关系数 r 依次为 -0.717 、 -0.615 、 -0.866 ,而二十碳烯酸与油酸和亚油酸间也呈极显著的负相关关系(r 为 -0.962 、 -0.324),且芥酸与二十碳烯酸间呈极显著的正相关关系($r=0.501$)。

含油量与软脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸间均呈极显著的负相关关系,相关系数 r 依次为 -0.776 、 -0.301 、 -0.875 、 -0.269 ,与硬脂酸、芥酸间呈极显著的正相关关系(r 为 0.374 、 0.836),而与二十碳烯酸间呈显著正相关关系($r=0.216$)。

2.4 冬油菜 M₁ 籽粒品质性状分析

通过对各处理 M₁ 主要脂肪酸含量分析发现,在各浓度处理后,油酸含量高于 CK(33.24%)的植株占总植株数的 41.9% ,油酸含量大于 40.0% 的植株占总植株数的 13.97% ,在 T1 中出现了 1 株油酸

含量为 44.02% 的植株,在 T2 中出现了 2 株油酸含量较高的植株,油酸含量分别为 44.04% 、 44.18% ,比 CK 高 11 个百分点左右。芥酸含量低于 CK(24.70%)的植株占总植株数的 50.7% ,芥酸含量较低(低于 15.0%)的植株占总植株数的 11.0% ,在 T1、T2 中分别出现了 2 株芥酸含量较低的植株,芥酸含量分别为 7.49% 、 8.93% 、 9.51% 和 8.50% ,比 CK 低 17 个百分点左右。硫苷含量低于 CK(93.10%)的植株占总植株数的 63.97% ,硫苷含量较低(低于 40.0%)的植株占总植株数的 9.56% ,在 T1、T2 中分别出现了 1 株硫苷含量较低的植株,硫苷含量分别为 $5.44\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $15.32\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在这些突变株中出现了 4 株芥酸和硫苷含量均较低的突变株,其芥酸和硫苷含量分别为 7.49% 和 $26.21\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 10.94% 和 $5.44\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 8.93% 和 $28.94\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 9.51% 和 $34.22\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (表 5)。

表 5 EMS 处理对油菜主要脂肪酸含量的影响/%
Table 5 Effects of EMS treatment on major fatty acid contents of mutants

处理 Treat ment	株数/株 Total No. of plants	软脂酸 Palmitic acid		油酸 Oleic acid		亚油酸 Linoleic acid oleic acid		亚麻酸 Linolenic acid		二十碳烯酸 Eicosenoic acid		芥酸 Erucic acid		含油量 Oil content	
		变幅	平均	变幅	平均	变幅	平均	变幅	平均	变幅	平均	变幅	平均	变幅	平均
		Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average
CK	900	3.07 ~ 4.43	3.71	29.62 ~ 39.00	33.24	17.78 ~ 23.23	20.26	9.94 ~ 11.89	10.94	5.61 ~ 8.07	6.78	16.28 ~ 27.79	24.70	23.97 ~ 32.77	29.43
T1	576	3.10 ~ 8.00	4.46	4.69 ~ 44.02	30.29	16.06 ~ 24.98	20.77	9.22 ~ 28.73	14.12	4.51 ~ 17.22	8.70	7.49 ~ 33.36	22.10	20.27 ~ 35.46	28.49
T2	468	2.97 ~ 6.74	4.25	6.16 ~ 44.18	34.36	15.77 ~ 24.66	20.90	9.92 ~ 26.75	12.58	2.77 ~ 18.66	6.77	8.50 ~ 32.49	20.99	19.28 ~ 35.10	26.73
T3	423	2.23 ~ 3.25	2.68	20.04 ~ 27.94	24.98	12.84 ~ 18.16	14.52	11.04 ~ 11.50	11.24	9.93 ~ 12.50	10.66	34.64 ~ 39.83	36.27	34.25 ~ 38.12	35.63
T4	333	2.34 ~ 3.01	2.70	26.14 ~ 31.61	28.21	14.06 ~ 15.38	14.65	10.77 ~ 10.91	10.83	7.95 ~ 9.80	8.94	31.69 ~ 35.28	33.10	35.97 ~ 37.08	36.69

2.5 冬油菜 M₂ 获得的优质突变体及其主要品质性状

在 M₂ 中检测到 4 株有利突变体,分别为 3 株油酸含量较高(比 CK 高 15 个百分点左右)且芥酸含量较低(比 CK 低 10 个百分点左右)的突变株,1 株低硫苷含量突变体(表 6),这些突变株的出现进一步说明了 EMS 诱导北方白菜型冬油菜产生优质突变体的有效性。

3 讨 论

3.1 EMS 诱变可使北方白菜型冬油菜产生较大变异

诱变可以产生丰富的突变体,已广泛应用于植物遗传育种和生物学研究^[1]。EMS 作为一种有效的诱导植物基因发生点突变的手段,在小麦^[11]、大

豆^[12]、玉米^[13]、水稻^[14]等作物上取得了较好效果,中国科学院石家庄现代化研究所利用 EMS 处理冬小麦,获得了比原品种蛋白质含量高 $3\% \sim 40\%$ 的突变体,其中 M₂ 变异率达到 15.7% 以上,获得 9 个早熟、矮秆突变系,比原品种增产 $2.8\% \sim 20.5\%$ ^[15];将浓度为 $0.1\% \sim 0.5\%$ 的化学诱变剂 EMS 注入花生品种花育 16 号和鲁花 11 号的花器,获得了单株结果数、单株仁重、饱果率比野生型明显提高的突变体,同时对花生的品质和农艺性状也产生了明显影响^[16-18]。本研究结果表明,EMS 对白菜型冬油菜 M₁ 植株蕾薹期和花期形态特征和农艺性状影响较大,在蕾薹期出现了叶片白化、卷曲、皱缩、畸形、黄化、花器畸形植株,尤其在花期出现了 2

花瓣花、3 花瓣花、5 花瓣花、花瓣皱缩卷曲、黄白相间花、白花以及多柱头花等变异性状,这与前人在甘

蓝型油菜上的研究结果类似^[19-20]。

表 6 突变体的主要品质性状
Table 6 Quality traits of the resulting mutant

突变体 Mutant	M ₂ 编号 M ₂ plant code	软脂酸 Palmitic acid/%	硬脂酸 Stearic acid/%	油酸 Oleic acid/%	亚油酸 Linoleic acid/%	亚麻酸 Linolenic acid/%	二十碳烯酸 Eicosenoic acid/%	芥酸 Erucic acid/%	含油量 Oil conten/%	硫苷含量 Glucosinolates /($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)
CK Comparison		2.83	1.31	33.40	15.29	10.50	8.98	29.28	42.32	91.62
油酸含量较高且芥酸 含量较低的突变株	M ₂ - 646 - 07	3.47	1.43	48.56	16.19	8.42	5.04	17.89	31.69	100.65
High oleic acid content and low erucic acid mutant	M ₂ - 646 - 11	3.72	1.13	47.57	20.41	8.89	2.60	19.03	29.03	96.62
	M ₂ - 710 - 03	3.17	1.56	45.08	15.84	9.74	5.73	19.37	31.61	92.14
硫苷含量较低的突变株										
Lower glucosinolate content of the mutant	M ₂ - 812 - 79	4.25	2.28	27.34	16.18	16.52	11.64	25.29	34.04	21.97

3.2 变异的产生与 EMS 处理的浓度和时间有关

研究表明,EMS 诱变无论产生有利或有害变异,均与诱变剂的浓度和处理时间有关,且不同的植物材料诱变效果也不同^[21-25]。李伟等^[26]发现谷子豫谷 1 号的适宜诱变条件为清水浸种过夜、1% EMS 处理 8 h;水稻上发现用 0.5% EMS 溶液处理的水稻种子,再经 0.5% 和 0.7% EMS 溶液复合处理,发生突变的频率为 12.4%,复合处理的诱变效果优于一次性处理,在 M₃ 筛选到一个生产上能推广使用的水稻突变新品系^[27]。本研究结果表明,适宜的 EMS 浓度是提高诱变效率的关键,成苗率随 EMS 浓度的增加而减小,EMS 浓度为 0.6% 时,田间种子的成苗率为 52%,接近半致死浓度,而 0.3% 处理后籽粒品质产生的变异幅度也较大,综合这 2 个指标,确定其诱变最适浓度为 0.3% ~ 0.6%,此浓度范围可作为白菜型油菜 EMS 诱变的参考浓度。本研究中变异性状的出现,证明 EMS 在白菜型油菜上的应用是有效的,成熟期的考种结果表明,EMS 对株高、分枝部位、主花序有效长度等性状的发育有一定的抑制作用,且抑制作用与浓度成正相关。

3.3 EMS 诱变可成为北方白菜型油菜产生优良突变体的有效途径

近年来人们越来越关注油菜的品质,通过理化因素诱变已成为创建新型优质种质资源的一种有效手段^[1]。本试验在 M₂ 中筛选到了 3 株油酸含量较高且芥酸含量较低的植株(编号分别为 M₂ - 646 - 07、M₂ - 646 - 11、M₂ - 710 - 03),油酸含量分别为 48.56%、47.57%、45.08%,比对照高 15 个百分点;芥酸含量分别为 17.89%、19.03%、19.37%,比对照低 10 个百分点,同时还得到了 1 株硫苷含量较低

(21.97 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)的突变株(编号为 M₂ - 812 - 79),前人研究表明,EMS 处理甘蓝型油菜种子产生高油酸突变体,其原因可能是:高油酸突变体中, *Bn-FAD2I* 基因有 63 个碱基发生变异,进而导致蛋白质翻译出现终止; *BnFAD2II - 1* 基因有 41 处碱基发生突变,导致 15 个氨基酸变异,其中处于跨膜区域的 + 82 氨基酸由丝氨酸突变成脯氨酸, + 157 的苯丙氨酸变成亮氨酸,位于疏水区中,还有 9 处发生突变的氨基酸残基位于 α - 螺旋区,这些突变位点都发生在油酸脱饱和酶催化中心,进而影响该酶的活性,导致突变体的油酸含量升高^[7],而对于 EMS 处理对油菜芥酸和硫苷含量的影响还有待进一步研究。

4 结 论

本研究表明,甲基磺酸乙酯(EMS)处理可诱导北方白菜型冬油菜产生丰富的变异,在 M₁ 代中出现叶片、花器官、农艺性状及品质性状的变异;在 M₂ 中筛选到了 3 株油酸含量较高且芥酸含量较低的突变体(油酸含量 45.08% ~ 48.56%、芥酸含量 17.89% ~ 19.37%)和 1 株低硫苷突变体(硫苷含量 21.97 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$);能使白菜型冬油菜产生有利变异的 EMS 处理浓度为 0.3% ~ 0.6%,处理时间为 6 h。

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] 王培英,许德春,郭玉虹,等.人工诱变改良大豆品质的研究[J].核农学报,2000,14(1):21-23.
[3] 曲高平,孙妍妍,庞红喜,等.甘蓝型油菜 EMS 突变体库构建及抗除草剂突变体筛选[J].中国油料作物学报,2014,36(1):025-031.
[4] 廖晓英,阎晋东,钟 鸣,等.甘蓝型油菜 EMS 诱变及多分枝和

- [1] 长角突变体分析[J]. 生命科学研究, 2016, 20(5): 435-441.
- [5] 薛远超, 李加纳, 刘列钊, 等. 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), 2012, 37(4): 76-80.
- [6] 陈洁, 张学昆, 湛利, 等. 甘蓝型油菜耐湿种质资源的快速筛选[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(2): 138-143.
- [7] 黄永娟, 张凤启, 杨甜甜, 等. EMS 诱变甘蓝型油菜获得高油酸突变体[J]. 分子植物育种, 2011, 9(5): 611-616.
- [8] 张宏军, 肖钢, 谭太龙, 等. EMS 处理甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 获得高油酸材料[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4016-4022.
- [9] Hans - Joachim Harloff, Susanne Lemcke, Juliane Mittasch, et al. A mutation screening platform for rapeseed (*Brassica napus* L.) and the detection of sinapine biosynthesis mutants[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124(5): 957-969.
- [10] 吴建国, 石春海, 张海珍, 等. 应用近红外反射光谱法整粒测定小样品油菜籽含量的研究[J]. 作物学报, 2002, 28(3): 421-425.
- [11] 倪永静, 朱培培, 刘红杰, 等. EMS 诱导国麦 301 小麦突变体库的建立与鉴定[J]. 河南农业科学, 2015, 44(4): 42-45.
- [12] 吴秀红. EMS 对不同大豆品种 M₂ 代农艺性状的影响[J]. 农学报, 2012, 2(5): 29-31.
- [13] 李海军, 池书敏, 刘志增, 等. 利用 EMS 化学诱变改造玉米自交系的研究[J]. 玉米科学, 2002, 10(3): 36-37.
- [14] 王峰, 徐飏, 杨正林, 等. EMS 诱变水稻矮生资源的鉴定评价[J]. 核农学报, 2011, 25(2): 0197-0201.
- [15] 杜连恩, 于秀普, 魏玉昌. EMS 处理小麦合子诱变筛选高蛋白突变体[J]. 河北农业大学学报, 1990, 13(4): 94-96.
- [16] 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.
- [17] 王传堂, 王秀贞, 唐月异, 等. EMS 直接注入花生花器创制高产突变体[J]. 核农学报, 2010, 24(2): 239-242.
- [18] 唐月异, 王秀贞, 吴琪, 等. EMS 诱变选育花生新品种 - 花育 40 号[J]. 核农学报, 2014, 28(6): 0967-0969.
- [19] 和江明, 王敏乔, 陈薇, 等. 用 EMS 诱变和小孢子快速获得甘蓝型油菜高油酸种质材料的研究[J]. 西南农业学报, 2003, 16(2): 34-36.
- [20] 李浩杰, 蒲晓斌, 张锦芳, 等. 甘蓝型油菜 EMS 诱变后代农艺性状观察及分子检测[J]. 核农学报, 2012, 26(2): 0245-0249.
- [21] 杜园园, 刘永忠, 李万星, 等. 大豆 EMS 化学诱变处理条件分析[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(35): 16995-16996.
- [22] 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.
- [23] 陈邵江, 宋同明. EMS 花粉诱变获得高油玉米突变体[J]. 中国农业大学学报, 2002, 7(3): 12-13.
- [24] 王军, 杨慧卿, 袁峰, 等. EMS 诱变谷子“长农 35 号”M₁ 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.
- [25] 张纪元, 张平平, 姚金保, 等. 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, 2014, 40(9): 1579-1584.
- [26] 李伟, 智慧, 王永芳, 等. 谷子 EMS 诱变的处理条件分析[J]. 河北农业科学, 2010, 14(11): 77-79.
- [27] 顾佳清, 张智奇, 周音, 等. EMS 诱导水稻“中花 11”突变体的筛选和鉴定[J]. 上海农业学报, 2005, 21(1): 7-11.

(上接第 139 页)

- [10] 魏江生,山本太平,董智,等.在干旱区农业开发中对人工沸石作用的探讨[J].干旱区资源与环境,2005,19(3):151-152.
- [11] 曹晓燕.天然沸石在土地整理中的应用[J].国土资源,2002,(6):35.
- [12] Xiubin H, Zhanbin H. Zeolite application for enhancing infiltration and retention in loess soil[J]. Resource, Conservation and Recycling, 2001,34(3):45-52.
- [13] Zahedi H, H. R. Tohidi Moghadam. Effect of drought stress on antioxidant enzymes activities with zeolite and selenium application in canola cultivars[J]. Research on Crops, 2011,12(2):388-392.
- [14] Majid Gholamhoseini, Amir Ghalavand, Aydin Khodaei - Joghani. Zeolite - a mended cattle manure effects on sunfloweryield, seed quality, water use efficiency and nutrient leaching[J]. Soil & Tillage Research, 2013,(126):193-202.
- [15] He Z L. Clinoptilolite zeolite and cellulose amendments to reduce ammonia volatilization in a calcareous sandy soil[J]. Plant and Soil, 2002,247(6):253-260.
- [16] 陈涛涛,吴奇,郑俊林,等.基于斜发沸石的水氮耦合效应对水稻产量影响研究[J].灌溉排水学报,2014,(Z1):71-76.
- [17] 周宝库.天然沸石农业利用研究[J].黑龙江农业科学,1998,(2):6-7.
- [18] Kavousi M. Effects of zeolite application on rice yield, nitrogen recovery, and nitrogen use efficiency[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2007,38(2):69-76.
- [19] Hsiao T C, Steduto P, Fereres E. Gas exchange rates at different vapor pressure deficits and water relations of 'Pera' sweet orange plants with citrus variegated chlorosis (CVC)[J]. Horticulture, 2003,98,233-245.
- [20] Andronikashvili T G, Urushadze T F, Eprikashvili L G, et al. Use of natural zeolite in plant growing - Transition to Biological Agriculture[J]. Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences, 2007,175(4):112-117.