

文章编号:1000-5471(2012)04-0076-05

甘蓝型油菜 EMS 诱变材料的耐湿性鉴定与筛选^①

薛远超, 李加纳, 刘列钊, 徐新福

西南大学 南方山地农业教育部工程研究中心, 重庆市油菜工程技术研究中心, 重庆 400716

摘要: 该研究以 1 132 份来自甘蓝型油菜中双 9 号和 GH18 的 EMS 诱变处理自交 3 代种子为材料, 对芽期耐湿性进行综合评价. 实验数据表明, EMS 诱变后代的耐湿性存在广泛变异. 以湿害处理的成苗率为指标进行初筛, 有 26% 以上的材料成苗率高于 50%. 其中所选材料的 5 个耐湿性指标平均值均高于未诱变对照, 各指标变异系数在 0.106 6~0.485 3 之间, 变异丰富. 用相对活力指数对其进行耐湿性分级, 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, 这 16 份材料可以作为甘蓝型油菜耐湿性育种的优异资源.

关键词: 甘蓝型油菜; EMS 诱变; 耐湿性; 发芽期

中图分类号: S634.3

文献标志码: A

甘蓝型油菜是我国最重要的油料作物之一, 主要种植地域在长江流域. 由于长江流域秋、冬、春季湿润多雨, 加上油菜与水稻的轮作制度导致油菜易受湿害^[1-2]. 研究表明湿害是限制我国冬油菜产量的重要因素之一, 常年发生面积一般达到 144 万 hm^2 (主要分布于四川、重庆、湖北、湖南、安徽、江苏等地), 占油菜种植总面积 20% 以上^[3]. 甘蓝型油菜遭受湿害时, 由于土壤中的空隙被水充满, 氧气成份减少, 根部气体交换受阻, 使根系的生长和干物质积累大幅度下降, 根部活力减弱, 枯萎变色, 初生根上侧根和根毛减少并逐步发黑死亡^[4-7]. 油菜根系对水分和矿质营养的吸收能力显著下降, 可供植物地上部分使用的水分和矿质营养急速减少, 植株整体变矮, 叶片由下到上逐渐黄化, 绿叶面积减少, 生长减慢, 生育期延缓, 光合作用减弱, 光合产物减少, 最终导致油菜产量下降甚至死亡^[8-13]. 近年来, 随着油菜轻简化栽培技术的大力推广, 选育耐湿性强的直播油菜品种成为一个重要的育种目标. 关于油菜耐湿性研究, 过去主要集中在缺氧对单个品种的影响、耐湿材料的发芽种子筛选鉴定以及不同遗传背景的甘蓝型油菜受田间湿害使产量和品质变化的遗传差异等方面^[14-20], 而通过 EMS 等化学诱变增加种质筛选率的研究方法未见报道. 本文采用 EMS 诱变处理甘蓝型油菜 GH18 和中双 9 号, 经过 3 代自交使稳定变异被遗留下来, 再结合前人的筛选方法^[14,17-18], 人工筛选出诱变产生的耐湿害种质, 为耐湿育种提供新材料.

1 材料和方法

1.1 材料

本研究采用的试验材料为 GH18 和中双 9 号经 EMS 半致死剂量诱变处理后的自交 3 代群体, 分别包括 GH18 诱变种子 800 份, 中双 9 号诱变种子 330 份和相应未诱变原种子, 共 1 132 份.

1.2 试验方法

参照 Burgos 等^[18]的方法, 每份材料选取 100 粒饱满种子, 称干物质质量后, 置于预先铺好 4 层湿润滤纸的培养皿中, 在室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 下萌发 60 h. 然后选取 50 粒正常发芽的种子(胚根长约 2~5 mm)于 10 mL 离心管中进行密闭水淹缺氧处理 12 h, 用 DDS-11Ar 数字电导仪测定浸泡液的电导率, 重复 2 次. 再将水淹的

① 收稿日期: 2011-01-25

基金项目: 重庆市科技攻关资助项目(2011GGC018).

作者简介: 薛远超(1983-), 男, 山东巨野人, 硕士研究生, 主要从事油菜遗传育种研究.

通信作者: 徐新福, 副研究员.

种子取出,用蒸馏水冲洗2次置于培养皿中,用1 cm左右厚湿润珍珠岩作发芽床,保持湿润于25℃下继续培养6 d.相同条件下培养未经水淹处理的露白种子作对照.6 d后统计对照组和处理组成苗率,筛选湿害处理组成苗率在50%以上的种子样本作进一步分析.对选中材料的处理和对照每组随机选取10株幼苗,用EPSON PERFECTI ONTM V700 PHOTO根系扫描仪测量其根长、茎长和鲜物质量.试验重复3次.

1.3 数据处理

按照如下公式计算相对根长、相对茎长、相对鲜物质量、相对成苗率和相对活力指数.

单位电导率 $\text{mS}/(\text{g} \cdot \text{cm}) = \text{处理电导率}/\text{对应种子质量}$;

相对茎长 $= (\text{处理幼苗茎长}/\text{对照茎长}) \times 100\%$

相对根长 $= (\text{处理幼苗根长}/\text{对照根长}) \times 100\%$

相对鲜物质量 $= (\text{处理幼苗鲜物质量}/\text{对照鲜物质量}) \times 100\%$

相对成苗率 $= (\text{处理成苗率}/\text{对照成苗率}) \times 100\%$

相对活力指数 $= (\text{处理成苗率} \times \text{处理幼苗茎长}) / (\text{对照成苗率} \times \text{对照幼苗茎长})$.

根据相对活力指数大小确定种质的耐湿害水平^[21]:

强(相对活力指数 ≥ 0.7)

中($0.3 \leq$ 相对活力指数 < 0.7)

弱(相对活力指数 < 0.3)

后期所有数据采用唐启义等^[22]的DPS数据处理系统和Excel 2003进行处理.

2 结果与分析

1 132份诱变种子样本中种子成功发芽的GH18诱变系有750份,中双9号诱变系有302份.成苗培养6 d后,经初步筛选,湿害处理组相对成苗率在50%以上的材料GH18诱变系有201份(26.8%),中双9号诱变系有79份(26.16%).处理组成苗率是油菜耐湿性的重要指标,也是影响相对活力指数的重要因子.在以前的研究及我们的前期预试验中,对照组的成苗率极高,接近于1,对相对活力指数影响小.相对茎长与处理组成苗率成显著正相关,当处理组成苗率低于50%时,相对茎长小于60%,相对活力指数均小于0.3,也就是说当油菜处理组成苗率低于50%时,其耐湿性均弱,进一步的分析意义不大,因此在研究中以处理组成苗率大于50%为初步筛选的指标.

2.1 诱变材料耐湿性初步筛选结果分析

对筛选材料的多种耐湿性指标进一步调查分析见表1.各耐湿指标都存在一定变异,变异系数在0.1066~0.4853之间,单位电导率变异性最大,而相对成苗率和相对鲜物质量变异性较小.两个诱变群体之间,GH18诱变系考查指标的变异系数均比中双9号诱变系大,说明GH18诱变系的变异更加丰富,可能更容易获得综合耐湿能力较强的变异种质资源.

表1 甘蓝型油菜GH18和中双9号耐湿性指标分析

材 料	耐湿害指标	观测数	平均数	标准差	变幅	变异系数	原未诱变材料
GH18	相对成苗率/%	201	81.603 9	12.671 9	50—100	0.155 3	73.00
	单位电导率 $[\text{mS} \cdot (\text{g} \cdot \text{cm})^{-1}]$	201	1.766 0	0.857 0	0.508—3.853	0.485 3	1.29
	相对茎长/%	201	61.969 3	12.463 8	30—95	0.201 1	46.00
	相对鲜物质量/%	201	71.825 7	11.136 9	44.9—99.4	0.155 1	49.00
	相对活力指数	201	0.506 7	0.139 5	0.15—0.9	0.275 3	0.335
中双9号	相对成苗率/%	79	83.450 0	8.898 7	50—100	0.106 6	50.00
	单位电导率 $[\text{mS} \cdot (\text{g} \cdot \text{cm})^{-1}]$	79	1.388 3	0.398 0	0.712—2.574	0.286 7	2.25
	相对茎长/%	79	59.200 0	9.436 5	39—84	0.159 4	48.00
	相对鲜物质量/%	79	68.607 5	9.851 2	45.5—94	0.143 6	82.60
	相对活力指数	79	0.498 1	0.103 1	0.27—0.74	0.207 0	0.31

与未诱变原种质相比,初筛后GH18诱变系相对成苗率高出11.78%,单位电导率高出36.89%,相对茎长高出34.72%,相对鲜物质量高出46.58%,相对活力指数高出51.25%,GH18诱变系种质中有175个综合耐湿能力强于GH18未诱变原种质.初筛后中双9号诱变系与未诱变原种质相比,相对成苗率高出66.9%,单位电导率低38.29%,相对茎长高出23.33%,相对鲜物质量低16.94%,相对活力指数高出

60.68%，中双 9 号诱变种质中有 78 个综合耐湿能力强于中双 9 号未诱变原种质。以上数据表明，以相对成苗率作为初筛指标是有效的，能够提高相对成苗率、相对茎长和相对活力指数等耐湿指标。

2.2 甘蓝型油菜耐湿害极端种质资源筛选

以相对活力指数为评价标准，对初步筛选的材料的耐湿性进一步分级，GH18 诱变系中强耐湿(相对活力指数 ≥ 0.7)材料有 14 个，占 6.97%；中等耐湿($0.3 \leq$ 相对活力指数 < 0.7)材料有 173 个，占 86.07%；湿害敏感(相对活力指数 < 0.3)材料有 14 个，占 6.97%。中双 9 号诱变系中强耐湿材料有 2 个，占 2.53%；中等耐湿材料有 76 个，占 96.2%；湿害敏感材料有 1 个，占 1.27%。

2.3 甘蓝型油菜耐湿害极端种质资源筛选结果分析

诱变的 GH18 及中双 9 号种质中强耐湿材料各耐湿性指数分析见表 2。由表 2 可知，GH18 诱变系种质中有 14 个强耐湿种质。GH18 强耐湿材料各项平均数与 GH18 未诱变原种质相比，相对成苗率高出 27.98%，单位电导率高出 74.16%，相对茎长高出 79.5%，相对鲜重高出 74.42%，相对活力指数高出 129.16%。而中双 9 号诱变种质中只有 2 个强耐湿种质。中双 9 号强耐湿材料各项平均数与中双 9 号未诱变原种质相比，相对成苗率高出 80%，单位电导率低 40.93%，相对茎长高出 32.29%，相对鲜物质量低 19.98%，相对活力指数高出 133.87%。综上数据表明，与未诱变处理的原 GH18 和中双 9 号相比，经过 EMS 诱变处理且经过筛选的强耐湿性材料，相比未诱变原材料，经过筛选的强耐湿性材料有极强的耐湿能力。

表 2 甘蓝型油菜耐湿害极端种质指标分析

材料	耐湿害指标	观测数	平均数	标准差	变幅	变异系数	原未诱变材料
GH18	相对成苗率/%	14	93.425 6	4.987 9	90—100	0.053 4	73.00
	单位电导率 [$\text{mS} \cdot (\text{g} \cdot \text{cm})^{-1}$]	14	2.246 7	0.796 6	0.837—3.811	0.354 6	1.29
	相对茎长/%	14	82.571 4	6.913 9	72—95	0.083 7	46.00
	相对鲜物质量/%	14	85.464 3	5.996 6	77.6—95.8	0.070 2	49.00
	相对活力指数	14	0.767 7	0.052 7	0.71—0.9	0.068 5	0.335
中双 9 号	相对成苗率/%	2	90.000	3.553 7	84—96	0.042 5	50.00
	单位电导率 [$\text{mS} \cdot (\text{g} \cdot \text{cm})^{-1}$]	2	1.329	0.574 6	0.917—1.742	0.158 2	2.25
	相对茎长/%	2	63.5	5.136 3	50—77	0.068 9	48.00
	相对鲜物质量/%	2	66.1	3.858 6	63.1—69.1	0.042 8	82.60
	相对活力指数	2	0.725	0.037 8	0.71—0.74	0.043 6	0.31

GH18 的 14 个强耐湿种质中，最耐湿的是 L2120-1，其单位电导率为 2.983，相对成苗率为 98.0%，相对茎长为 92.0%，相对鲜物质量为 89.4%，相对活力指数为 0.9(图 1)。中双 9 号的 2 个强耐湿种质中，最耐湿的是 L2243-3，其单位电导率为 0.917，相对成苗率为 96%，相对茎长为 77%，相对鲜物质量为 69.1%，相对活力指数为 0.74(图 2)。L2120-1 的单位电导率、相对成苗率、相对茎长、相对鲜物质量和相对活力指数均较 L2243-3 高得多。另一方面，GH18 中强耐湿种质所占比例 6.97% 远高于中双 9 号的 2.53%。因此可以得出以下结论，GH18 在耐湿害变异性上获得了更好的变异表现，用本实验选用的 GH18 种质做 EMS 诱变育种原材料更容易培育出具有强耐湿能力的新品种。

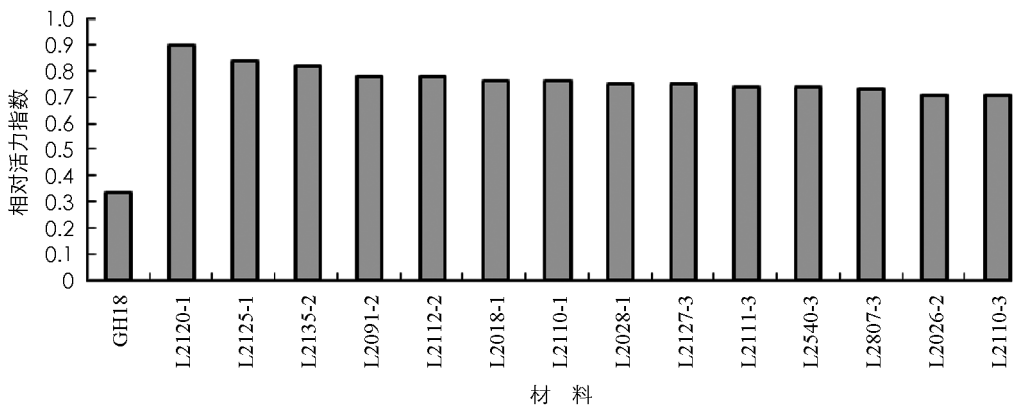


图 1 GH18 强耐湿种质的相对活力指标对比

3 讨 论

甘蓝型油菜水淹模拟湿害实验的本质,是种子在低氧胁迫下发芽和幼苗生长,所以通过测定水淹条件下种子发芽和幼苗的生长指标,已经成为最重要的种质耐湿害筛选方法之一.卢长明等^[17]直接用冷开水浸泡干燥的种子,以发芽系数的高低来鉴定种质耐湿性的强弱,但是此方法不能消除种子休眠和种皮差异的影响,而且仅以发芽率作为评价指标也不能真实评价耐湿性. Burgos 等^[18]首次使用了对长出胚根的发芽小麦种子水淹缺氧处理一定时间,然后继续发芽,以活力指数鉴定小麦耐湿性的方法,这样可以直接鉴定小麦种子生长中胚根的耐湿能力.范其新等^[13]则综合前人的方法,将刚发芽的油菜露白种子放入蒸馏水中水淹处理后继续在滤纸床进行发芽,直接检测胚根等生长点的耐缺氧能力.但是,该方法一方面由于根在缺氧胁迫下受到损伤,油菜子叶较重,造成幼苗根系在滤纸发芽床上不能固定而生长不正常;另一方面由于滤纸床保水能力不足且易生霉菌,会造成较大的误差.陈洁等^[14]将刚萌发的露白种子密闭水淹 12 h,并用细砂床代替滤纸床培养 6 d,这样可以较好地固定油菜幼根,有效防止因子叶较重不能固定而倒伏的现象.但是,该方法一方面保水能力不足且后期部分种子还是会生霉菌;另一方面由于根在缺氧胁迫下受到损伤,测定时拔出幼苗容易伤及根部,造成一定的误差.

本实验综合几位前人的方法,在实验设计方面,做了一定的改进.首先将刚萌发的露白种子密闭水淹 12 h 后,继续使其在珍珠岩作为床基中恢复生长 6~7 d,再测定数据.一方面可以有效地支撑幼苗根系;另一方面相比细沙和单纯用滤纸能更好地保水、透气及抑制幼苗腐烂和生霉菌现象的发生^[13-18].

本实验处理的缺氧露白种子,恢复生长时,长势弱,幼苗的幼根主根全部坏死,一部分产生少量不定根,且不定根极不规则.样本间处理组根长差异不显著.因此,在甘蓝型油菜耐湿性性状分析中,不采用根长值和相对根长作为评定指标.同时参考前人的研究结果^[14-18],得出缺氧胁迫下耐湿性强的品系相对成苗率、相对茎长、相对鲜物质量和相对活力指数都较高,耐湿性低的甘蓝型油菜则相反.相对活力指数最能显示不同种质的耐湿害性,与之相关的相对成苗率和相对茎长次之,单位电导率和相对鲜物质量较前者差,所以本实验的油菜耐湿害能力主要采用相对活力指数,辅以相对成苗率和相对茎长来评定.

EMS 是一种在植物育种中常用的化学诱变剂,可以用来处理作物种子产生大量基因点插入突变,但是会产生大量的有害变异,且已经产生的变异由于多种因素的共同作用,经常会出现子代恢复现象,所以初期要先筛选能正常生长、繁殖的材料,并稳定性生长多代,然后采用一定筛选方法筛选出优质突变种质.本实验结合 EMS 诱变育种和甘蓝型油菜耐湿性筛选方法,快速高效地选育出甘蓝型油菜 GH18 和中双 9 号中强耐湿性变异种质.本实验是苗期的筛选过程,筛选结果还可能有逃逸现象发生,所以下一步还会针对第一次筛选的种质进行苗期农艺性状和生理生化指标的进一步筛选和核实工作.

参考文献:

- [1] LEVITT J. Responds of Plants to Environmental Stress [M]. New York: Academic Press, 1980: 213-228.
- [2] 李真,蒲圆圆,高长斌,等.甘蓝型油菜 DH 群体苗期耐湿性的评价 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(2): 286-292.
- [3] 李翠金. 中国暴雨洪涝灾害的统计分析 [J]. 灾害学, 1996, 11(1): 59-63.
- [4] 丛野,程勇,邹崇顺,等.甘蓝型油菜发芽种子耐湿性的主基因+多基因遗传分析 [J]. 作物学报, 2009, 35(8): 1462-1467.
- [5] 程勇,顾敏,丛野,等.淹水胁迫条件下甘蓝型油菜发芽期耐湿性的配合力分析 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(7): 1339-1345.
- [6] 齐晓花,陈嵘峰,陈学好. 黄瓜种质资源耐涝性鉴定 [J]. 园艺学报, 2009, 36(增刊): 1994.
- [7] 胡官庆,吴应元,宋周元,等.油菜湿害表现及生理机制与预防 [J]. 安徽农业科学, 2000, 28(2): 171.
- [8] 汤章城. 植物对水分胁迫的反应和适应性及抗逆性的一般概念和植物的抗涝性 [J]. 植物生理学通讯, 1983, 19(3): 24-26.

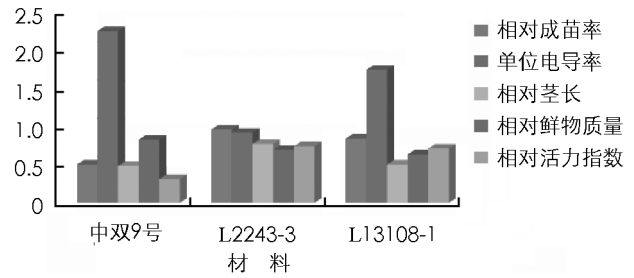


图2 中双9号强耐湿种质耐湿指标对比

- [9] 刘友良. 植物水分逆境生理 [M]. 北京: 农业出版社, 1992: 144—188.
- [10] 张文英, 朱建强, 郭显平, 等. 花果期持续受渍对油菜生长、产量和含油量的影响 [J]. 长江流域资源与环境, 2003, 12(2): 194—197.
- [11] 时明芝, 周保松. 植物耐涝和耐涝机理研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(2): 209—210.
- [12] 钟雪花, 杨万年, 吕应堂. 淹水胁迫下对烟草油菜某些生理指标的比较研究 [J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(5): 395—398.
- [13] 范其新, 张学昆, 谌利, 等. 缺氧对甘蓝型黄籽与黑籽油菜发芽的影响 [J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(3): 84—87.
- [14] 陈洁, 张学昆, 谌利, 等. 甘蓝型油菜耐湿种质资源的快速评价与筛选 [J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(2): 138—143.
- [15] 张学昆, 范其新, 陈洁, 等. 不同耐湿基因型甘蓝型油菜苗期对缺氧胁迫的生理差异响应 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(3): 485—491.
- [16] 张学昆, 陈洁, 王汉中, 等. 甘蓝型油菜耐湿性的遗传差异鉴定 [J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(2): 98—102.
- [17] 卢长明, 龚学明. 缺氧条件下种子发芽特性的遗传参数研究 [J]. 江西农业大学学报, 1989, 11(4): 23—26.
- [18] Burgos M S, Messmer M M, Stamp P, et al. Flooding Tolerance of Speltz (*Triticum Spelta* L.) Compared to Wheat (*Triticum Aestivum* L.)—A Physiological and Genetic Approach [J]. *Euphytica*, 2001, 122(2): 287—295.
- [19] 梁建秋, 梁颖. 几种生长物质对油菜幼苗抗湿性的影响 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2009, 34(1): 58—62.
- [20] 何立人, 李正玮, 钟代彬, 等. 大麦小麦抗湿遗传特性研究 [J]. 西南农业大学学报, 1994, 16(4): 131—135.
- [21] 伍晓明, 陈碧云, 陆光远, 等. 油菜种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 80.
- [22] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统 [M]. 北京: 科学出版社, 2002.

Verification and Identification of Waterlogging Tolerance in *Brassica napus* Mutated by EMS

XUE Yuan-chao, LI Jia-na, LIU Lie-zhao, XU Xin-fu

Engineering Research Center of South Upland Agriculture, Ministry of Education,

Chongqing Engineering Research Center for Rapeseed, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: 1132 M3 generation rape seeds which are mutated by EMS including Zhongshuang 9 and GH18, are used in this research and their waterlogging tolerance are comprehensively estimated. The experiment results showed that EMS mutations cause wide variation. Selected by the seedling rate of the materials treated by waterlogging, there are 26 percent of mutations with the seedling rate higher than 50% and of these selected mutations, all the 5 humidity indexes are higher than the contrast index, with coefficient of variation between 0.1066 and 0.4853, thus it is confirmed rich in variation. Graded for the waterlogging tolerance of these treated materials by their relative activity index, 14 and 2 materials with strong high waterlogging tolerance were selected from the EMS mutations GH18 and 2 from Zhongshuang 9 respectively and these 16 *Brassica* materials would be used as excellent resources in waterlogging tolerance breeding.

Key words: *Brassica napus*; EMS mutagenesis; waterlogging tolerance; germination period

责任编辑 夏娟