

# 玉米化学诱变研究进展

赵永亮 宋同明

( 中国农业大学植物遗传育种系, 北京 100094)

**摘 要** 简述了化学诱变的发展简史。系统介绍了玉米化学诱变的特点, 处理方法和效果, 详细分析了玉米化学诱发突变在解决某些基本生物学问题中的价值和育种领域里的可能应用等。  
**关键词** 玉米 化学诱变剂 甲基磺酸乙酯 诱发突变

玉米化学诱变是人为地利用化学药剂, 对玉米的不同部位进行处理, 使其发生突变, 并对突变体进行研究、筛选和鉴定的一门现代生物学技术。

## 1 化学诱变发展简史

化学诱变研究始于本世纪初。到了 40 年代, 化学药剂的诱变作用得到肯定。50 年代, 人们开始探讨化学诱变在作物育种上的应用。前苏联化学遗传研究所在 Rapoport 博士领导下, 自 1960 年起在世界上率先开展化学诱变育种研究。这种育种方法以后在世界各国得到推广。特别是近 20 年来, 俄、法、意、美、日及印度, 先后用这种方法育成了不少农作物新品种, 并且品种数在逐年增加, 1981 年为 21 个, 1986 年达到 49 个, 到 1990 年则为 106 个, 涉及禾谷类、豆类、园艺等 38 种作物, 其中大麦 15 个, 水稻 12 个, 小麦 9 个, 玉米 7 个。

玉米化学诱变也和其它作物一样得到重视和发展, 然而由于玉米是雌雄异花同株, 花粉量大, 授粉容易, 并且处理配子可显著提高诱变效果, 人们尝试用化学诱变剂直接处理花粉的可能性。起初采用浸泡雄穗的办法, 结果不仅工作劳累, 而且成功率小。Coe( 1966) 首先发现玉米花粉可以在石蜡油中悬浮几个小时, 而仍保持其生命力, 把它们涂在花丝上, 能正常授精结实。Neuffer( 1972) 进一步把化学诱变剂溶解或悬浮于石蜡油中, 而后与玉米花粉混合, 突破了化学药剂不能直接诱变花粉的瓶颈。然而由于药剂剂量和处理方法的不成熟, 造成使用上的困难。经过以后进一步完善和发展, 现在这项石蜡油技术已成为国外玉米诱变的主要手段之一。

## 2 化学诱变的特点

### 2.1 化学诱变率

Stadlen(1942)采用纯合显、隐性基因分别做母本和父本,对易观察的玉米胚乳性状进行研究,得出  $W_x$ 、 $Sh$ 、 $C$ 、 $Su$  四个基因的自发突变率分别为  $0.00 \times 10^{-5}$ 、 $0.12 \times 10^{-5}$ 、 $0.23 \times 10^{-5}$  和  $0.25 \times 10^{-5}$ 。Neuffer<sup>[4]</sup>采用甲基磺酸乙酯(EMS)处理玉米花粉,发现  $Su$ 、 $W_x$ 、 $Clf$ 、 $Nec3$  四个基因平均突变率为  $0.9 \times 10^{-3}$ 。大量试验表明,化学诱变率大约是自发突变率的 100 ~ 1000 倍。

## 2.2 化学诱变剂的种类

化学诱变剂的种类很多,如烷化剂、亚硝基化合物、叠氮化物、碱基类似物、抗生素、羟胺、吡啶等。当前在玉米上应用的,主要是甲基磺酸乙酯、 $N$ -甲基- $N$ -硝基- $N$ -亚硝基胍(MNNG 或 NG)、叠氮化钠( $NaN_3$ )、硫酸二乙酯(DES)和 MNUA 等。其中 EMS 是目前在玉米上使用最广和使用效果最好的化学诱变剂。EMS 诱导的突变体绝大多数是点突变,通过二个步骤来完成:首先鸟嘌呤的  $O^6$  位置被烷基化,大部分这些烷基化的碱基以后被修复;第二,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  $G \rightarrow C$  变为  $A \rightarrow T$ 。

## 2.3 与辐射诱变的比较

以  $\gamma$  射线和 X 射线为代表的电离辐射,由于穿透能力强,易被染色体组吸收,对染色体结构具有很大破坏性。用它们处理玉米种子和花粉,主要产生染色体畸变,包括易位、倒位、缺失和重复等。Neuffer(1957)用玉米 Ash 作材料,分析 X 射线和紫外光是否可引起基因突变,结果发现二者均能诱发染色体缺失,很少诱发基因突变。

与电离辐射相比,很多化学诱变剂产生了高比例的点突变,低比例的染色体畸变,并且诱变范围广。俄国学者  $303^{[2]}$  对植物化学诱变和辐射诱变的作用进行了比较,结果发现化学药剂诱发的变异是电离辐射诱发的 3 ~ 5 倍,如果禾谷类作物辐射诱变平均产生 5% ~ 10% 突变,那么 EI(乙烯亚胺)引起 30% ~ 40% 突变,EMS 引起 50% ~ 70% 突变,DES 引起 30% ~ 60% 突变。

# 3 突变的诱发

## 3.1 种子

直接把种子浸泡在含有化学药剂的溶液中,可以诱发各类体细胞突变。一般来说,玉米种子处理效果较差,因为成熟的玉米籽粒胚中具有分开的、已定型的雄花和雌穗原基细胞,并且在突变发生过程中容易产生细胞间的竞争,使突变细胞受到抑制和消亡,被排除在生殖过程之外;另一方面,隐性突变到  $M_3$  代才能观察到。在一些情况下,若需要筛选籽粒或苗期显性突变,或采取小样本群体筛选技术筛选隐性突变,可采用种子处理方法。

## 3.2 花粉

采取花粉处理,每一个  $M_1$  强胞含有一套处理的和一套未处理的染色体组。显性突变在  $M_1$  代表现,隐性突变在  $M_2$  代表现。如果  $M_1$  是一个杂交种( $F_1$ ),母本是隐性纯合体,而被处理的父本具相应纯合显性等位基因,则  $M_1$  即表现出隐性突变。花粉处理的其它优点是:在播种时不需要特别的安全保护措施,在  $M_1$  代处理花粉只需要很少一部分化学诱变剂,并且  $M_1$  种子的收获同一般试验一样,因为在田间光照条件下,授粉后 30 天,化学药剂已完全从雌穗花丝上消失,果穗和籽粒完全无毒。

用含有化学药剂的石蜡油处理玉米花粉是目前已知最有效的方法<sup>[5]</sup>。以 EMS 为例,具体处理方法步骤如下:首先,用 EMS 与轻质石蜡油混合,制备成浓度为 0.1% ~ 0.2% EMS 处理液;然后,在适当时间,收集玉米新鲜花粉,在一个带盖的瓶中,把花粉与 EMS 处理液混合;最后,用一把小号毛刷,把被处理花粉涂到选好的雌穗花丝上。

### 3.2 其它

化学药剂也可通过其它器官或组织进行诱变,比如通过幼苗根伤口和植株叶片接触吸收,或采取对植株茎和雄穗分枝进行注射,也可用棉纱包住即将抽雄的雄穗,在药剂溶液中浸泡等。Hibberd 和 Green(1982)用  $\text{NaN}_3$  处理玉米愈伤组织,获得了一个可在 1 ~ 8mM 赖氨酸和苏氨酸存在下生长的反馈突变体。

## 4 诱变的作用

### 4.1 在植物育种中的作用

4.1.1 自交系改良 在常规育种中,为了克服某个优良玉米自交系的缺点,常采用回交的方法,结果不仅时间长,而且很难完全排除供体系的残余种质。采用化学诱变剂,诱发特定位点上有用的突变,可以有针对性地克服某个优良自交系的个别缺陷。比如去掉白玉玉米的红穗轴(Pwr),在常规自交系中诱发特用玉米变异类型,象 y(白玉玉米),Su(甜玉米),Sh<sub>2</sub>(超甜玉米),O<sub>2</sub>(高赖氨酸玉米),Wx(糯玉米)。又如为了把一个自交系改造成为 Sh<sub>2</sub> 和 Su<sub>1</sub> 的双突变体,只需要寻找 Sh<sub>2</sub> 和 Su<sub>1</sub> 的独立突变体,令其杂交,并根据后代表型进行选择即可得到。这样不仅节约很多时间,而且没有任何外来种质渗入。

4.1.2 抗性突变体筛选 采用化学诱变不仅可诱发已有抗性基因的等位基因,而且还可诱发新的抗性基因类型,育种家只需创造相应的筛选环境,如进行病菌接种、喷除草剂等,就有可能获得具有针对已知恶劣环境的抗性个体。例如,张铭堂<sup>[1]</sup>于 1986 年采用 EMS 石蜡油处理玉米花粉的方法,处理美国高士德种子公司的自交系,获得 9 株抗除草剂 Pursuit 植株,其中反应最佳的植株可以忍受 10 倍除草剂的致死剂量。此一抗除草剂基因证实为单一碱基对改变。1991 年该公司首次推出抗除草剂杂交种,市场反应良好,所有种子售完,销售额达 250 万美元,1992 年突破 1000 万美元。又如,Cornu1977 年用 EMS 处理感染小斑病的法国自交系种子,而后把 M<sub>3</sub> 代正在发芽的种子放在小斑病菌液上生长,或用小斑病菌液喷洒幼苗,二个处理均筛选出了抗性个体。

4.1.3 对数量性状变异的选择 由于突变几乎影响玉米形态的每一个方面,因此必然也会诱发大量数量性状突变,这些数量性状突变在育种上比质量性状有更重要的利用价值。比如早熟性、矮生性、茎秆直立性以及蛋白质和脂肪含量等。Olejniczak<sup>[6]</sup>用 MNUA 和  $\text{NaN}_3$  处理玉米种子,发现与 O<sub>2</sub> 系(蛋白质含量为 11.65%)相比, M<sub>2</sub> 代突变体的蛋白质总含量提高 2.3% ~ 4.6%,最高的达到 16.30%; M<sub>7</sub> 代突变系与测验种相比,大部分表现出高的一般配合力。

### 4.2 生物学上有用的突变

自然选择和人工栽培使一些对植物生长有害和人类不需要的突变性状遭到淘汰,而采用化学诱变可使这些突变得以重演,使我们有机会重新评价这些突变体的生物学价值,从而有助于加快对植物生物学规律的理解。

- 4.2.1 光合作用突变体 Mile(1982) 采用紫外光下叶绿素荧光的方法, 从 EMS 诱导的突变体中, 筛选出在光合反应过程中影响电子传递的突变体(hcf) 133 个。研究表明, 这些突变发生在叶绿体内膜上的不同光反应步骤。从而使人们对光反应过程的理解大大向前迈了一步。
- 4.2.2 缺陷胚乳突变体 Sheridan 和 Neuffer(1982) 从 EMS 诱导的后代中, 得到 207 个发生在 19 个遗传位点上的缺陷胚乳和胚致死突变体。他们采取胚培养和其它遗传操作手段, 使这些突变得以存活。结果得到 5 个脯氨酸营养缺陷型突变体, 20 个胚发育突变体, 这些突变体在胚发育的不同阶段受到阻碍。缺陷胚乳突变体的研究加深了人们对玉米籽粒的发育、发育中胚和胚乳的互作, 以及控制这些过程的遗传机制的理解。
- 4.2.3 植株生长调节突变体 Bird 和 Neuffer(1985) 从 EMS 诱导后代得到显性叶毛基因(Hs), 显性叶耳和叶舌着生基因(Hsf), 叶脉组织增生基因(Kn), 雄穗和雌穗花组成成分基因(Bif) 等突变体。这些突变体推动了对植株发育的遗传控制步骤的研究。
- 4.2.4 病斑突变体 通常在病菌浸入细胞之后, 植物产生抗体, 杀死病菌, 产生病斑。然而, 这类突变体使玉米在不受病原菌浸染条件下, 出现病斑, 它们似乎是将控制抗体产生的遗传机制打开, 导致基因开始作用。试验证明, 病斑是由单一显性或隐性基因控制, 并且病斑特征随植株遗传组合不同而明显不同, 正反交有差异, 因此这些材料在研究基因与基因作用和功能方面意义重大。

### 3 结束语

利用含有化学诱变剂和石蜡油处理玉米花粉, 是近年来兴起的一项现代生物学技术, 也是目前在玉米上最成功的诱变方法。首先, 该技术在诱变源上优于电离辐射, 在诱变材料上优于种子处理, 不仅突变率高、突变范围广, 而且产生的突变体绝大多数为点突变。大量试验证明, EMS 处理玉米花粉平均每个位点上配子的隐性和显性突变率分别为  $1 \times 10^{-3}$  和  $2 \times 10^{-5}$ , 这样一套 3000 ~ 5000M<sub>2</sub> 家系应该包括所有隐性基因突变。其次, 这个方法在玉米上容易应用, 因为玉米花粉量大, 在 7 天开花期的高峰时, 每株每天能散发多达  $10^7$  粒花粉, 并且诱变后, 授粉也很简单; 若一个果穗能产生 250 粒种子, 那么在一天的时间内即可获得多于 1 万粒 M<sub>1</sub> 后代种子。最后, 玉米上已有一套完善的确定突变基因所在染色体臂的遗传手段和材料, 比如三体测验, B—A 相互易位系测验, A—A 相互易拉系测验等。Neuffer(1995) 采用 EMS 花粉诱变方法, 获得大量突变体, 仅经过仔细研究并进行基因定位的就达 760 多个。1991 年美国玉米遗传年会<sup>[7]</sup> 提出玉米基因综合作图计划作为玉米协会本世纪末的主要任务, 决心在 2000 年使确认的基因位点数累计达到 2 万个, 而产生新突变基因的主要诱变方法则是用含有 EMS 的石蜡油处理玉米花粉。由于化学诱变可诱发每一个基因位点发生突变, 这样不仅可创造出新的突变种质资源, 用于自交系改良创新, 而且有可能对玉米进化过程中曾经出现过的遗传变异进行全面检索和研究, 为玉米生长发育等基础性研究提供一些合适的素材。

中国科学院遗传研究所于 70 年代也曾在我国开展了一些化学诱变育种及研究工作, 但主要限于组织培养和诱发孤雌生殖。在化学药剂处理玉米种子, 处理玉米花粉, 以及诱变后代遗传变异规律和突变体筛选等方面, 还没有见到研究报道。因此在我国开展玉米化学诱变研究, 将有效地促进玉米育种水平进一步提高, 对改善我国玉米基因工程研究中基础材料贫乏的现

状,具有重要的现实意义和学术价值。

## 参 考 文 献

- 1 柳学宇. 农作物化学诱变育种. 南京: 东南大学出版社, 1992
- 2 Bird R and Neuffer MG. Induced mutations in maize. In: J a nick J(ed.) Plant Breeding Reviews(5). New York: Van Nostrand Reinhold, 1987, 139—180
- 3 Neuffer MG. Induction of genetic variability. In: Walden DB(ed). Maize Breeding and Genetics. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1978, 579—600
- 4 Neuffer M G. Mutagenesis. In: Freeling M & Walbot V(eds). The Maize Handbook. New York: Springer-Verlag, Inc, 1994, 212—219
- 5 Olejniczak J. Genetic variability induced through mutations in maize. In: Bajaj YPS(ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Maize. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 1994, 25: 355—365
- 6 Walbot V. Maize mutants for the 21st century. The Plant Cell, 1991, 3: 851—856

# dvances in Induced Mutations in Maize by Chemical Mutagens

Zhao Yongliang Song Tongming

( Department of Plant Genetics and Breeding, China Agricultural University, Beijing 100094)

**Abstract** The review outlines the developmental history of chemical mutagenesis, and gives a detailed introduction to chemical mutagenesis characteristics, treatment methods and treatment effects in maize. It is also briefly introduced that mutants induced by chemical mutagens have some potential value in solving some basic biological problems and possible application in plant breeding.

**Key words:** Maize(corn); Chemical mutagens; EMS; Mutation induction