

大豆化学诱变后 M₂ 代主要品质性状的遗传变异及相关性分析

裴友财¹, 杨桐珲¹, 焦苏淇¹, 张君², 刘思言¹, 关淑艳¹, 姚丹^{1*}

(1. 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118; 2. 吉林农业大学农学院, 长春 130118)

摘要: 本研究采用不同浓度(0.3%、0.5%、0.7%、0.9%)化学诱变剂 EMS(甲基磺酸乙酯)、不同诱导时间(2 h、4 h、6 h)对大豆吉农 18 进行诱变, 确定最佳诱变处理条件; 并对 M₂ 代蛋白质、脂肪等主要品质性状进行遗传变异以及相关性分析, 结果表明: 大豆吉农 18 的最佳诱变条件为 EMS 浓度 0.5%, 处理时间 6 h, 致死剂量接近 50%。从变异系数分析, M₂ 代油酸、亚麻酸、硬脂酸的变异系数比较大; M₂ 代各性状的广义遗传力以亚油酸、亚麻酸和棕榈酸较高, 脂肪和硬脂酸相对较低。主要品质性状的相关性分析结果表明, 大豆种子脂肪与蛋白质呈极显著负相关, 油酸与亚油酸、亚麻酸呈极显著负相关, 亚麻酸与亚油酸呈显著正相关。

关键词: 大豆; 甲基磺酸乙酯(EMS); 品质性状; M₂ 代; 遗传变异

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2018)03-0008-05

Genetic Variation and Correlation Analysis of Main Quality Traits in M₂ Generation of EMS Mutation of Spring Soybean

PEI Youcai¹, YANG Tonghui¹, JIAO Suqi¹, ZHANG Jun², LIU Siyan¹, GUAN Shuyan¹, YAO Dan^{1*}

(1. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: In this study, different concentrations of EMS (0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%) and different induction time (2 h, 4 h, 6 h) were used to induce soybean 'Jinong 18' mutations and determine the best mutagenic conditions. The genetic variation and correlation analysis of main quality traits were carried out in M₂ generation. Research results showed that the best mutagenic condition was 0.5% EMS and 6 h processing time, and the lethal dose was close to 50 percent. From the analysis of the variable coefficient, the variable coefficient of oleic acid, linolenic acid and stearic acid was relatively large in the M₂ generation. The generalized genetic forces of the M₂ generation were relatively high in linoleic acid, linolenic acid and plmitic, but fat and stearic acid were very low. Correlation analysis results showed that the main quality traits of fat and protein was significantly negatively related, oleic acid and palmitic acid was significantly positively related, oleic acid and linoleic acid, linolenic acid was significantly negative related, linolenic acid and linoleic acid were significantly positive related.

Key words: Soybean; Methyl sulfonic acid ethyl ester(EMS); Quality traits; M₂ generation; Genetic variation

大豆作为重要的油料作物, 其种子包含脂肪、蛋白质和脂肪酸等丰富物质。其中亚油酸、亚麻酸和油酸为不饱和脂肪酸, 亚油酸可以预防心脑

血管疾病, 但亚麻酸有高度不饱和键, 很容易发生氧化变质, 并且对大豆油的营养、加工和贮运有重要的影响。硬脂酸和棕榈酸为饱和脂肪酸, 不容易被人体消化吸收, 进而导致肥胖引发心脑血管疾病等^[1-4]。因此, 进行大豆品种改良, 培育高油酸、高亚油酸、低亚麻酸等优良品质的大豆品种具有十分重要的意义。

大豆品质改良要有较为合适的特异材料为供体, 所以研究大豆品质性状的遗传变异规律和相关性, 进一步筛选特异材料对大豆品种的选育也十分重要。

收稿日期: 2018-01-30

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20140204021NY); 吉林省科技厅自然科学基金项目(20180101266JC); 吉林省教育厅项目(JJKH20180641KJ); 吉林省教育厅项目(JJ-KH20180641KJ)

作者简介: 裴友财(1989-), 男, 在读硕士, 研究方向: 生物化学与分子生物学。

通讯作者: 姚丹, 女, 博士, 教授, E-mail: 810529668@qq.com

关于大豆品质性状分析已有相关报道,李文滨等^[5]对黑龙江大豆品种的脂肪酸组成和含量进行测定,并对其相关性进行分析,最终研究结果表明亚麻酸与亚油酸呈显著的正相关,但亚麻酸、亚油酸与油酸呈极显著的负相关。此外,苗兴芬等^[6]对东北地区大豆品种脂肪酸含量与组成进行分析,王灏^[7]对甘肃大豆品种脂肪酸组分进行分析评价,还有其他多位学者也对大豆种质资源的脂肪酸组分变化进行研究报道^[8-10]。

诱变育种技术被用于作物品种改良上,它能打破基因链锁,提高基因重组率,诱发基因突变,在DNA水平上比异源或者同源转基因发生更大的改变,进而会产生一般常规方法难以获得的或者自然界没有的新基因、新类型、新性状^[11-14]。EMS具有使用方便、成本低,并且能够产生相对较高频率的点突变的优点,是一种应用最好的化学诱变剂^[15-17]。

本研究以吉林省主推的大豆品种吉农18为诱变材料,通过不同EMS浓度及时间的处理,确定最佳诱变处理条件;通过对M₂代变异系数、遗传力及相关性分析,探讨诱变效果,为开发大豆优良种质资源及培育高产、优质大豆新品种奠定了基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本实验大豆材料吉农18由吉林农业大学生物技术中心提供;EMS购自SIGMA-ALORICH公司。

1.2 实验设计

选取无机械损伤、无病虫害并且颗粒饱满的吉农18大豆种子,利用不同浓度的EMS(0.3%、0.5%、0.7%、0.9%)在室温分别浸泡2 h,4 h,6 h缓慢摇动,用流水冲洗2 h去除残留的EMS,自然风干后播种。采用随机区组设计,两次重复,每个重复100粒种子,行间距0.75 m,行长4.5 m。

2015年5月8日种植M₁代品种,在田间采取顺序排列,并设置原品种对照,单粒点播,播种10 d后调查田间出苗率,并于10月初进行单株收获。2016年4月30日将M₁代单株收获的材料,种成M₂代株行,行长4.5 m,行距0.75 m,株距0.75 m,以原品种为对照,秋季成熟后在株系群内选单株(9月28日收获)。收获的种子考种,测定蛋白质、脂肪、油酸、亚油酸及亚麻酸等主要品质性状含量,然后计算方差、变异系数、广义遗传力等相关参数。

1.3 品质性状的测定及分析

本实验利用红外谷物分析仪(BUCHI NIR-LabN-200)对吉农18 M₂代单株的蛋白质、脂肪、硬脂酸、棕榈酸、油酸、亚油酸及亚麻酸等主要品质性状进行测定。扫描波长范围950~1 650 nm,每份样品重复扫描3次,最终以3次重复样品平均值±标准误差值作为各样品品质性状数据。

测得数据结果采用EXCEL 2010进行平均值、标准差、方差,变异系数、广义遗传力等相关参数的计算。并采用IBM SPSS STATISTICS 20对品质性状进行相关性分析。以半数致死量作为敏感性指标,确定最佳诱变条件。田间出苗率(%)=田间出苗数/播种种子数×100%,广义遗传力=遗传方差/表型方差×100%。

2 结果与分析

2.1 最佳诱变条件的确定

由表1可以看出,在诱变剂EMS浓度一定的情况下,随着诱变处理时间的延长吉农18出苗率逐渐降低。当浓度为0.3%时,处理时间2 h到6 h,出苗率由70%下降至52%,降幅为18%;当浓度为0.5%时,处理时间2 h到6 h,出苗率由66%下降至51%,降幅为15%;当浓度为0.7%时,处理时间2 h到6 h,出苗率由72%下降至40%,降幅为32%;当浓度为0.9%时,处理时间2 h到6 h,出苗率由63%下降至38%,降幅为25%。EMS浓度越高,对出苗率影响越大。

此外,由表1可以清晰地看到,12个处理条件下试验田I的出苗率均高于试验田II的出苗率,试验田I的总出苗数为746,试验田II的总出苗数仅为614,以半致死剂量作为田间筛选的临界浓度,研究最终确定EMS浓度为0.5%,诱变处理时间为6 h是大豆吉农18的最佳诱变处理条件。

2.2 M₂代主要品质性状的变异分析

从M₂代各品质性状的变异系数上看(表2),亚麻酸和油酸的变异系数较高,分别为30.11%和17.86%,说明这些性状受EMS诱变发生基因分离重组,发生的变异范围大,也具有较大的选择潜力,通过多代选择可以达到培育新种质的目标。亚油酸和棕榈酸的变异系数较低,变异范围小,较为稳定,但应该注意,脂肪和硬脂酸的环境方差与遗传方差很接近,受环境影响很大,不能以此作为依据选择。M₂代的各个品质性状遗传变异系数大小顺序为:亚麻酸>油酸>脂肪>蛋白质>硬脂酸>亚油酸>棕榈酸。

表1 不同EMS处理条件下大豆出苗率

地点	浓度(%)	处理时间(h)	播种种子数(粒)	出苗数(棵)	出苗率(%)	
试验田 I	0	0	100	73	73	
		0.3	2	100	70	70
			4	100	59	59
	6		100	52	52	
	0.5	2	100	66	66	
		4	100	57	57	
		6	100	51	51	
	0.7	2	100	72	72	
		4	100	54	54	
		6	100	40	40	
	0.9	2	100	63	63	
		4	100	51	51	
		6	100	38	38	
	总数(或平均数)			1300	746	57
	试验田 II	0	0	100	68	68
0.3			2	100	58	58
			4	100	55	55
		6	100	31	31	
0.5		2	100	55	55	
		4	100	52	52	
		6	100	49	49	
0.7		2	100	47	47	
		4	100	43	43	
		6	100	39	39	
0.9		2	100	45	45	
		4	100	37	37	
		6	100	35	35	
总数(或平均数)				1 300	614	47

表2 M₂代主要品质性状变异系数、方差及广义遗传力

		油酸	亚油酸	硬脂酸	亚麻酸	棕榈酸	蛋白质	脂肪
原品种	标准差(MS)	4.26	2.96	0.77	2.41	1.09	2.47	3.14
	平均数(Mean)	20.06	56.57	3.89	9.56	11.31	33.91	22.69
	变异系数(Cv)	20.31	5.48	6.14	23.20	9.05	7.38	13.83
诱变M ₂ 代	标准差(MS)	3.07	3.03	0.47	3.03	1.59	3.16	2.01
	平均数(Mean)	23.88	54.61	5.45	8.81	12.77	35.23	21.08
	变异系数(Cv)	17.86	5.59	6.61	30.11	4.59	9.82	11.32
	表型方差(P)	15.01	11.17	0.40	12.92	3.21	14.42	8.46
	遗传方差(G)	9.42	9.78	0.22	9.18	2.52	9.68	4.06
	环境方差(E)	5.59	1.29	0.18	3.74	0.69	4.74	3.94
	广义遗传力(%)	62.78	82.17	54.69	71.06	78.49	69.21	47.75

从M₂代各品质性状的广义遗传力来看(表2),亚油酸、棕榈酸的广义遗传力较高,分别为82.17%、78.49%,说明这两个性状受环境影响较小,遗传较为稳定;而硬脂酸和脂肪的广义遗传力相对较低,分别为54.69%和47.75%,容易受到环境的影响,蛋白质和油酸介于二者之间(平均为69.21%、62.78%)。遗传方差大则环境方差相对比例较小。因此,对于遗传方差大的性状如亚油酸等性状,可以在早代选择。相反,环境方差大的性状,遗传力小,更适合晚代选择。

2.3 M₂代主要品质性状相关性分析

M₂代主要品质性状相关性分析结果如表3所示。蛋白质、脂肪以及5种主要脂肪酸各性状间

相关性差异有的达到显著或者极显著水平,其中脂肪含量与蛋白质含量相关系数为-0.47,二者呈极显著负相关,但相关系数有较大幅度下降,降幅为0.31;硬脂酸与棕榈酸呈正相关,相关系数为0.06,但不显著,相关系数有较大幅度下降,降幅为0.13;亚麻酸与亚油酸仍呈极显著正相关,二者的相关系数为0.48,相关系数有所上升,升幅为0.24;亚油酸与油酸二者呈极显著负相关,相关系数有所降低,降幅为0.34;亚麻酸与油酸仍呈极显著负相关,但相关系数有所增加,增幅为0.26。这些结果与原品种相关系数发生了变化,说明受EMS诱变剂诱变产生较大的影响。

表3 M₂代和原品种中各品质性状相关系数

	蛋白质	脂肪	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
蛋白质	1 (1)						
脂肪	-0.47** (-0.78**)	1 (1)					
棕榈酸	0.01 (0.03)	-0.05 (0.03)	1 (1)				
硬脂酸	-0.08 (-0.09)	0.09 (0.03)	0.06 (0.19*)	1 (1)			
油酸	0.02 (0.03)	-0.06 (-0.03)	-0.02 (-0.06)	0.36** (0.25**)	1 (1)		
亚油酸	0.04 (0.01)	0.04 (0.08)	0.08 (-0.21*)	-0.21* (-0.35**)	-0.57** (-0.91**)	1 (1)	
亚麻酸	-0.07 (-0.03)	-0.18 (-0.13)	-0.05 (-0.09)	-0.33** (-0.19**)	-0.60** (-0.34**)	0.48** (0.36**)	1 (1)

注:“*”表示显著相关($P<0.05$);“**”表示极显著相关($P<0.01$);()为原品种各品质性状相关系数

3 结论与讨论

本研究发现随着EMS浓度的升高,大豆出苗率整体表现出下降趋势,并呈时间依赖性;同一浓度条件下,随着处理时间的延长,出苗率表现出明显降低的趋势,说明EMS浓度及处理时间对大豆品种的存活存在一定的影响。以半致死剂量作为田间筛选的临界浓度,以吉农18为研究材料,研究最终确定EMS浓度为0.5%,诱变处理时间为6h为最佳诱变处理条件,这一结果与张俐俐等研究结果一致^[18]。

研究还发现M₂代大豆籽粒中油酸、亚麻酸以及脂肪、蛋白质变异系数较高,说明这些性状受EMS诱变发生基因分离与重组,发生的变异范围大,也具有较大的选择潜力,通过多代选择可以

达到培育新种质的目标,更适合晚期世代进行选择,反之,棕榈酸与亚油酸的变异系数较低,更适合早期世代选择,这一结果与前人的研究结果一致^[19-20]。

M₂代各品质性状的广义遗传力中,亚油酸、棕榈酸的广义遗传力较高,受环境影响较小,遗传较为稳定,而硬脂酸和脂肪的广义遗传力相对较低,容易受到环境的影响,遗传方差大则环境方差小。因此,对于遗传方差大的性状如亚油酸等性状,可以在早代选择。相反,环境方差大的性状,遗传力小,更适合晚代选择。这一研究结果与吴秀红^[21]的研究结果一致。

M₂代蛋白质、脂肪及5种主要脂肪酸各性状间相关性差异有的达到显著或者极显著水平,各品质性状的相关系数发生改变,脂肪含量与蛋白

质含量呈极显著负相关,油酸与亚油酸、亚麻酸呈极显著负相关,亚麻酸与亚油酸呈极显著正相关。这一研究结果与年海等^[22]的研究结果一致。

虽然EMS诱变剂点突变是相对小的变化,但这些突变经多代鉴定和筛选,根据预定目标,可选育出高油酸、高蛋白、低亚麻酸的遗传稳定性材料,进一步培育出高产、优质及综合性状优良的农作物新种质。

参考文献:

- [1] 李志香,沈翠平. 不饱和脂肪酸对人体的作用[J]. 生物学通报, 1998, 33(1): 9-11.
- [2] 程浩,金杭霞,盖钧镒. 转基因技术与大豆品质改良[J]. 遗传, 2011, 33(5): 431-436.
- [3] 徐冉,张礼凤,王彩洁,等. 山东夏大豆品种的脂肪品质及其遗传改良途径分析[J]. 大豆科学, 2006, 25(4): 385-388.
- [4] 尹田夫. 大豆油脂脂肪酸改良与生化育种策略[J]. 大豆科学, 1988, 7(1): 75-79.
- [5] 李文滨,郑宇宏,韩英鹏. 大豆种质资源脂肪酸组分含量及品质性状的相关性分析[J]. 大豆科学, 2008, 27(5): 740-745.
- [6] 苗兴芬,徐文平,李灿东,等. 东北地区大豆品种脂肪酸组成与含量分析[J]. 大豆科学, 2011, 30(3): 529-531.
- [7] 王灏. 甘肃省大豆种质资源脂肪酸组成及评价[J]. 甘肃科技, 2007, 23(7): 211-212.
- [8] 齐宁,郭泰,刘忠堂. 东北春大豆品种脂肪酸组成的分析[J]. 大豆通报, 1997(5): 6-7.
- [9] 张颖君,高慧敏,蒋春志,等. 大豆种子脂肪酸含量的快速测定[J]. 大豆科学, 2008, 27(5): 859-862.
- [10] 郑永战,盖钧镒,周瑞宝. 大豆脂肪及脂肪酸组分含量的遗传分析[J]. 大豆科学, 2007, 26(6): 801-806.
- [11] 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, 2000, 8(1): 19-20.
- [12] 任海祥,南海洋,曹东,等. 大豆转基因技术研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(7): 6-12.
- [13] 韩微波,刘录祥,郭会君,等. 小麦诱变育种新技术研究进展[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(6): 125-129.
- [14] Shirley B W, Hanley S, Goodman H M. Effects of ionizing radiation on a plant genome: analysis of two Arabidopsis transparent testa mutation[J]. Plant Cell, 1992, 4(3): 333-347.
- [15] 薛守旺,周洪生. 利用花粉化学诱变创造玉米自交系的研究[J]. 作物杂志, 1998(6): 6-8.
- [16] 李清国,付晶,钮力亚,等. 化学诱变及其突变体筛选在育种中的应用[J]. 河北农业科学, 2010, 14(5): 68-72.
- [17] 石海春,谭义川,夏伟,等. 19份玉米EMS诱变系的遗传差异评价[J]. 华北农学报, 2016, 31(1): 110-116.
- [18] 张俐俐,雷勃钧,吕晓波,等. 应用化学诱变法筛选抗草甘膦大豆突变株系[J]. 大豆科学, 2009, 28(5): 938-940.
- [19] 史庆民. 三种不同类型大豆脂肪酸积累动态分析[J]. 科技创新与应用, 2012(2): 215.
- [20] 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.
- [21] 吴秀红. EMS诱发大豆不同品种M₂代与M₃代农艺性状变异比较[J]. 中国农学通报, 2012, 31(5): 858-860.
- [22] 年海,王金陵,杨庆凯,等. 大豆脂肪酸与主要农艺和品质性状的相关分析[J]. 大豆科学, 1996, 15(3): 213-216.

(责任编辑:王昱)