

DOI:10.11937/bfyy.201524050

# 农作物 EMS 诱变研究进展

黄冬福, 付文婷, 韩世玉, 何建文

(贵州省农业科学院 辣椒研究所, 贵州 贵阳 550006)

**摘 要:**EMS 是一种操作简单、突变频率高、特异性强的典型化学诱变剂。EMS 诱变获得的突变体对作物育种和功能基因组学研究具有非常重要的作用。该文综述了 EMS 化学诱变的原理、诱变效果的影响因素、突变体的筛选与鉴定以及 EMS 在部分农作物中的育种成就等方面的研究进展,同时对未来值得重点关注的研究方向进行了探讨。

**关键词:**甲基磺酸乙酯(EMS);诱变;突变体

**中图分类号:**S 603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)24-0188-07

农作物是中国乃至世界上最重要的基本食物来源之一。表现突出的种质资源是作物育种的关键。育种和生产水平的提高,给农作物的种质创新带来机遇的同时也带来了挑战,单纯对地方品种进行提纯复壮、引进品种和简单杂交很难再获得突破性的种质。通过人工诱变分离一些具有利用价值的变异材料成为作物新品

种选育的有效途径。根据突变体的产生方式,人工诱导可分为 DNA 插入突变和物理化学诱变。插入突变需要进行组织培养和农杆菌转化,工作量大、周期长,此外,还存在突变热点,很多突变表型是组培过程引起等缺点;而理化诱变因其技术简单、突变率高,能在短时间内产生大量突变体,可以在一定程度上克服这些缺点<sup>[1]</sup>。甲基磺酸乙酯(EMS)作为最有效和常用的化学诱变剂,被广泛应用于水稻、小麦、大豆和油菜等作物中。

无论是种子,还是愈伤组织、花粉、花药作为诱变对象,EMS 诱发的点突变或染色体缺失均能稳定地遗传给子代<sup>[2]</sup>,产生丰富的变异表型,但诱变种子容易出现嵌合体的缺陷以及植物组织培养技术的日趋完善大力推

**第一作者简介:**黄冬福(1988-),女,福建三明人,硕士研究生,助理研究员,研究方向为作物遗传育种。E-mail:dfh\_881104@126.com

**基金项目:**贵州省农科院专项基金资助项目(黔农科院专项(2014)018);贵州省创新能力建设资助项目(黔科合院所创新(2012)4003)。

**收稿日期:**2015-07-27

[52] 戴斯迪,马克明,宝乐,等.北京城区公园及其邻近道路国槐叶面尘分布与重金属污染特征[J].环境科学学报,2013(1):154-162.

[53] 赵松婷,李新宇,李延明.园林植物滞留不同粒径大气颗粒物的特征

及规律[J].生态环境学报,2014(2):271-276.

[54] 余曼,汪正祥,雷耘,等.武汉市主要绿化树种滞尘效应研究[J].环境工程学报,2009(7):1333-1339.

## Research Progress of Landscape Plants Reducing Atmospheric Particulate Matter

SUN Xiaodan<sup>1</sup>, LI Haimei<sup>1</sup>, ZHOU Chunling<sup>1</sup>, WANG Xiaozhu<sup>2</sup>

(1. College of Landscape Architecture and Forestry, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109; 2. Jinan Ehe-century Landscaping Co. Ltd., Jinan, Shandong 250100)

**Abstract:** With the rapid development of cities, air pollution is more and more serious. Especially the fog and haze appear frequently in several cities in recent years, people pay more and more attention on smaller atmospheric particulate matter as PM<sub>2.5</sub>. Planting garden plants that is one of effective ways to block dust, reduce atmospheric particulate matter, improve air quality and residents' living standard. The pollution characteristics, spatial and temporal dynamic and the influence factors of atmospheric particulate matter were introduced firstly, then the abilities of different plant individuals and different plant configurations to reduce atmospheric particulate matter were analyzed. The problems existing in the research of garden plant to reduce atmospheric particulate matter and the developing trends were put forward finally. It was intended to provide reference for people to do relevant studies and use plants to improve the air quality in cities in the future.

**Keywords:** landscape plants; dust-retention effect; atmospheric particulate matter

动了愈伤组织、花粉、花药的 EMS 诱变研究。对诱变后代的筛选与鉴定逐渐从表型到功能的正向遗传学向高通量、低成本的反向遗传学 TILLING 技术发展<sup>[3]</sup>。EMS 诱变既是对种质资源的创新,又是挖掘新基因的强有力工具,加速育种进程的同时也推动功能基因组学的发展。近年来,EMS 诱变效果的影响因素、后代的筛选与鉴定及其在农作物新品种选育等方面的研究取得了较大进展。该文综述了 EMS 化学诱变在农作物上研究的现状,并对未来值得重点关注的研究方向进行了探讨。

## 1 EMS 诱变育种的原理

EMS 是一种单功能烷化剂,在体内可以转变成缺电子的活泼中间产物,容易与碱基上的 N 原子和磷酸基团发生亲核取代反应,使 DNA 结构改变,最终通过 2 条主要途径引起基因突变<sup>[2]</sup>。第一,碱基的烷基化效应。鸟嘌呤(G)的 N7 位最容易被烷基化,成为带正电的季铵基团,产生 2 种可遗传的效应:(1)促进 N1 上的 H 解离,使 G 与 T 配对,导致 G:C 转换成 A:T(图 1);(2)削弱了 N9 位的糖苷键,发生脱嘌呤作用,如果脱嘌呤位点在 DNA 复制之前未被修复,则该位点在复制时将随机插入任何一个碱基,经过一轮复制后,可能发生 G:C 到 A:T 的转换,也可能发生 G:C 到 C:G 或 T:A 的颠换(图 2)。第二,磷酸基团的烷基化效应。磷酸基上的 O 原子被烷基化后,形成不稳定的磷酸酯,容易发生水解,使核苷酸从磷酸与五碳糖间切断,导致 DNA 断裂,产生染色体缺失(图 3)<sup>[4]</sup>。

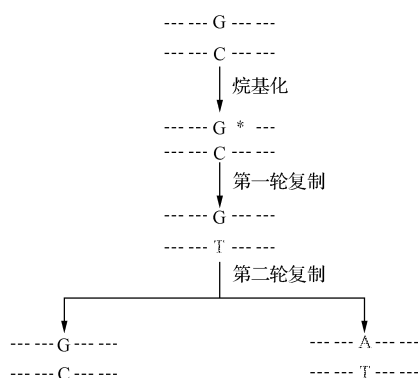


图 1 鸟嘌呤 N7 烷基化促进 N1 上的 H 解离,导致 G:C 转换成 A:T

## 2 EMS 诱变效果的影响因素

### 2.1 诱变材料

由表 1 可知,植物的各个部位的组织、器官都可用 EMS 处理,但不同材料的诱变效果有很大差异。种子,特别是萌动的种子,是最常见的诱变材料,但种子是多细胞组织,突变细胞可能因细胞间的竞争而被抑制,导致突变体具有嵌合性状,阻碍突变性状的稳定遗传<sup>[5]</sup>。近年来,植物再生体系日趋成熟,使愈伤组织、悬浮培养

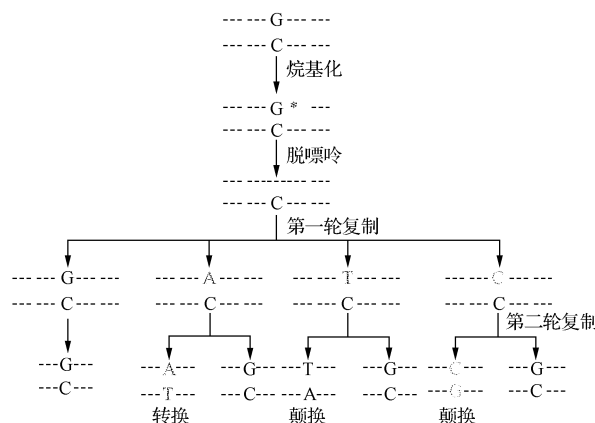


图 2 鸟嘌呤 N7 烷基化通过脱嘌呤导致转换和颠换

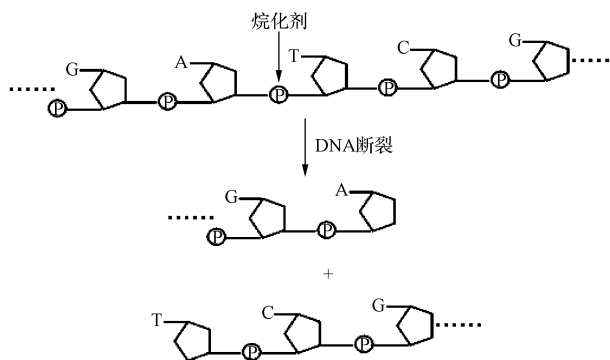


图 3 磷酸的烷基化导致染色体缺失

细胞、原生质体、花药、花粉发育成完整植株的成功率大大提高,这些材料往往是发自少数几个细胞甚至是单个细胞,植株分化同质性较高,将它们应用到 EMS 诱变上来,可以克服嵌合体的形成,较快获得稳定、纯合的突变系<sup>[6]</sup>,尤其是花药与花粉,属于单倍体的配子,经过离体培养,显性或隐性突变明显,染色体加倍后可快速获得稳定、纯合的目标性状<sup>[7]</sup>。

表 1 各种应用于 EMS 诱变的材料

材料类型	诱变部位
生殖器官	种子(干种子、萌动种子)、花药、花粉、雄配子及合子
营养器官	块茎、鳞茎、球茎、根尖、茎尖、叶片、芽
营养组织	愈伤组织、胚状体
营养细胞	悬浮培养细胞、原生质体

### 2.2 诱变处理的剂量

适宜的诱变剂剂量是产生良好诱变效果的基本前提。剂量=处理液浓度×处理时间,因此,诱变效果主要受处理浓度和时间的影<sup>[8]</sup>。EMS 具有诱发突变和损伤材料的双重作用,即在一定范围内,随着处理浓度和处理时间的提高,突变效率增加,但生理损伤同时加大,存活率降低。当其为育种服务时,应该以既能达到较多变异,又不致过大损伤诱变材料为原则,通常把诱变处理后 50%植株存活的剂量即半致死剂量作为选择依据<sup>[9]</sup>,但对于愈伤组织,除了考虑愈伤组织的存活率

外,还应注意愈伤组织再生不定芽的比率,当存活率接近 50%时,再生率通常很低,这样势必影响突变体的数量,降低选择的机会,所以可以适当选择存活率大于 50%的浓度作为处理剂量<sup>[10-11]</sup>。不同作物以及相同作

物的不同品种对 EMS 的敏感性不同,其半致死剂量也存在较大的差异,大部分作物的 EMS 诱变的半致死剂量在 1.0%以内(表 2),但也存在超出此范围的作物,如花生、木薯。

表 2 不同剂量对 EMS 诱变效果的影响

植物	品种	诱变材料	作用浓度/%	处理时间/h	处理方式	诱变效果	
						存活率/%	出苗率/%
草莓 <sup>[11]</sup>	“全明星”	花药愈伤组织	0.2	1	浸泡	69.80	—
草莓 <sup>[11]</sup>	“全明星”	离体叶片	0.2	2	浸泡	82.59	—
越橘 <sup>[12]</sup>	“北高丛蓝丰”、“达柔”	组培苗茎尖	0.3	4	浸泡	51.60	—
马铃薯 <sup>[13]</sup>	“甘农薯 2 号”	试管苗茎尖	0.9	4	浸泡	51.40	—
马铃薯 <sup>[13]</sup>	“青薯 2 号”	试管苗茎尖	0.9	4	浸泡	48.40	—
木薯 <sup>[14]</sup>	“华南 8 号”	无菌苗的带芽茎段	1.1	2	浸泡	50.00	—
木薯 <sup>[14]</sup>	“华南 124 号”	无菌苗的带芽茎段	0.8	2	浸泡	48.67	—
油菜 <sup>[15]</sup>	“植 89 甲-1”	离体茎尖	0.2	1	浸泡	63.90	—
大豆 <sup>[16]</sup>	“南农 86-4”	萌动种子	0.4	8	浸泡	—	27.40
大豆 <sup>[17]</sup>	“南农 94-16”	萌动种子	0.2	4	浸泡	—	57.10
大豆 <sup>[17]</sup>	“南农 94-16”	萌动种子	0.4	8	浸泡	—	28.20
大豆 <sup>[18]</sup>	“绥农 14”	萌动种子	0.4	8	浸泡	—	40.00
山豆 <sup>[19]</sup>	—	萌动种子	0.3	2	浸泡	—	58.00
大麦 <sup>[20]</sup>	“浙农大 3 号”	种子	0.4	16	浸泡	—	46.70
小麦 <sup>[21]</sup>	“豫农 201”	干种子	0.8	12	浸泡	—	19.30
油菜 <sup>[22]</sup>	“川油 20”	萌动种子	1.0	6	浸泡	—	52.00
油菜 <sup>[22]</sup>	“渝黄 1 号”	萌动种子	1.0	6	浸泡	—	47.00
玉米 <sup>[23]</sup>	“自交系 082”	萌动种子	0.4	8	浸泡	—	53.12

## 2.3 方法

EMS 诱变方法有不同的划分方式。根据处理对象的不同,可分为活体诱导和离体诱导;根据处理方法的不同,可分为浸渍、涂抹、注射和滴液等;根据使用诱变剂的种类,可分为单一因素诱变和复合诱变。

在处理对象上,国内绝大部分的 EMS 化学诱变育种采用离体诱导,而活体诱导仅开展了包括花生、菊花在内的少数研究,并发现用 EMS 注射花生开放花朵的龙骨瓣,可获得增产、粗脂肪含量提高、耐旱的优良突变系<sup>[24]</sup>;将 EMS 滴在菊花茎尖的棉团上,获得包括株高、叶片、开花期、花序、花瓣等在内的 6.31%的表型变异<sup>[25]</sup>。在处理方法上,浸渍最常见,且多用于种子、愈伤组织的离体诱导,而涂抹、注射、滴液则用于活体诱导。

对于所使用的诱变剂种类而言,单纯用 EMS 诱变剂,能引起某些性状突变,但诱变范围较窄,而采用理化因素复合处理,射线照射产生的过量活性氧自由基使膜脂发生过氧化,改变细胞膜的通透性<sup>[19]</sup>,促进 EMS 的吸收,由此产生的累加效果能在一定程度上拓宽诱变范围<sup>[7]</sup>,最常见的复合处理方式是  $\gamma$  射线+EMS,并用于草莓、山豆、小麦、烟草等作物的研究中。处理草莓叶片时发现,复合处理降低了叶片的成活率和再生率,但提高了植株对盐渍环境的抗性<sup>[26]</sup>;山豆种子诱变的成活率与之相似,但复合处理更大程度降低了毒素 ODAP 的含量,为选育低毒或无毒的山豆提供了有效途径<sup>[19]</sup>;复合处理小麦种子,获得了叶锈病抗感变化的最好结果<sup>[27]</sup>。另外,在研究烟草种子的诱变效应时发现,

复合处理中  $\gamma$  射线的损伤效应大于 EMS<sup>[28]</sup>,程志锋等<sup>[27]</sup>同样指出复合诱变中<sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线是小麦致死的主导因素,这是否是一种普遍的现象,引起该现象的机理是什么,这些问题都有待进一步研究。

## 3 EMS 诱变突变体的筛选与鉴定

### 3.1 形态性状分析

通过形态分析筛选突变体,虽然工作量大、周期长,但这种常规方法直观,并且经过几个世代的筛选能够获得稳定遗传的突变体。目前,已利用形态分析构建了包括大豆、花生、菊花、大麦、水稻、油菜等在内的众多植物的突变体库,其中的正向突变体作为种质资源,将加快植物遗传育种的进程,筛选负向突变体作为功能基因组学的材料,则有利于植物的分子育种。

韩锁义等<sup>[16]</sup>用 EMS 处理大豆“南农 86-4”获得了蛋白质高于对照 9.12 个百分点、油含量高于对照 3.04 个百分点、蛋白质和油含量均高于对照 7.96 个百分点的超亲突变;使用同样的材料,陈远东等<sup>[29]</sup>除了筛选出高蛋白突变体,还获得了百粒重含量超过对照达极显著水平的突变体;大豆“绥农 14”的 EMS 诱变则获得了矮秆、密荚突变体<sup>[18]</sup>;花生“鲁花 11”的活体 EMS 诱导出现了子仁大、荚果大、百仁重、百果重的高产突变株系,“花育 16 号”出现了单粒播种时子仁产量比野生型高 5.42%的突变株系<sup>[24]</sup>;菊花“神马”的诱变结果包含少见的提早开花和花器官的突变体,为选育观赏性强的新品种提供了理想的基础材料<sup>[25]</sup>;大麦“浙农大 3 号”的诱变产生了具有长穗、半矮秆、少分蘖等优良性状的突变体<sup>[20]</sup>;油菜“川



油 20" 诱变后代中的有效分枝、单株有效角果、角果粒数、角果长度显著高于对照的高产变异株系。这些突变材料可作为品种遗传改良的切入点,为植物育种提供了新的种质资源。

而大豆诱变后代中的叶、茎、花、种子、荚果、子叶及生理性状中的不利突变<sup>[16,18,29-30]</sup>,大麦中的类病斑突变体<sup>[20]</sup>;水稻“中花 11”<sup>[31-32]</sup>、“93-11”<sup>[33-36]</sup>、“日本晴”<sup>[37]</sup>地上部分和地下部分的负向突变,地上部分包括叶部、茎部、穗部及子粒、生理、抗旱、抗除草剂、耐盐性状,地下部分为根系,均可作为正向遗传学的研究材料。这些极端的突变材料,一方面可以检测同一突变性状不同个体的等位变异,为阐明基因功能、探明突变的遗传机制奠定基础。小麦易位系“YW642”的 EMS 诱变产生了 18 个感黄矮病的突变体,这些突变体的 *Bd2* 抗病区域就发生了不同程度的变异<sup>[38]</sup>;油菜“NJ7982”<sup>[39]</sup>、甘蓝型油菜“湘油 15 号”<sup>[40]</sup>EMS 诱变产生的高油酸突变体,其油酸脱氢酶 *FAD2* 基因在蛋白的保守功能区发生突变。另一方面,这些突变体是构建作图群体不可或缺的资源,便于有效地进行基因定位,在禾谷类作物水稻上表现得尤为突出,表 3 列举了部分利用 EMS 处理产生的突变体在水稻基因定位上的应用。

表 3 EMS 突变体在

水稻功能基因组学研究中的应用

年份	作者	突变体类型	定位的基因	染色体	范围/kb
2012	丁沃娜等	短根毛 <sup>[41]</sup>	<i>KSRH1</i>	1	67
2012	张大鹏	茎白突变体 <sup>[1]</sup>	<i>fla6</i>	1	500
2013	王晓雯等	穗劲极度缩短 <sup>[42]</sup>	<i>sui(t)</i>	1	382
2013	程欣等	叶片灰白转黄 <sup>[43]</sup>	<i>PYR1</i>	1	92
2011	王增等	颖壳和浆片异常 <sup>[44]</sup>	<i>AHL</i>	2	226
2013	桑贤春等	矮秆脆性 <sup>[45]</sup>	<i>DBC1</i>	2	197
2013	解志伟等	内卷叶 <sup>[46]</sup>	<i>sl-145</i>	2	90
2011	王德仲等	细卷叶突变体 <sup>[47]</sup>	<i>NRL2(t)</i>	3	114
2011	孙小秋等	黄绿叶 <sup>[48]</sup>	<i>yg198</i>	3	44.2
2012	徐芳芳等	早衰 <sup>[49]</sup>	<i>Est2</i>	4	244
2009	高振宇等	多蘖矮秆突变体 <sup>[50]</sup>	<i>TDDL(T)</i>	4	85.51
2010	宁永强等	短根突变体 <sup>[51]</sup>	<i>KSR1</i>	4	155
2011	杨密龙等	早衰叶 <sup>[52]</sup>	<i>ES-t</i>	5	42.1
2013	苗润隆等	早衰 <sup>[53]</sup>	<i>ESL3</i>	5	91
2013	陈红霖等	类病变 <sup>[54]</sup>	<i>c5</i>	5	102
2010	桑贤春等	条斑花叶突变体 <sup>[55]</sup>	<i>St(t)</i>	6	345
2012	段远霖等	矮秆多分蘖 <sup>[56]</sup>	<i>DET1</i>	6	68
2012	奉保华等	淡褐斑叶 <sup>[57]</sup>	<i>lbs1(t)</i>	6	130
2013	王平荣等	白华转绿 <sup>[58]</sup>	<i>gra75</i>	6	120
2013	朱小燕等	叶脉白化 <sup>[59]</sup>	<i>WPSM</i>	6	56
2009	施勇峰	卷叶突变体 <sup>[60]</sup>	<i>r11(t)</i>	7	52
2012	倪大虎等	闭花授粉 <sup>[61]</sup>	<i>cl7(t)</i>	7	160
2012	王峰等	窄叶白化 <sup>[62]</sup>	<i>Nu1I</i>	7	75
2012	罗丽丽	短根突变体 <sup>[63]</sup>	<i>OsKSR2</i>	8	101
2012	邓晓梅等	黄绿叶 <sup>[64]</sup>	<i>yg1(1)</i>	11	82
2013	施勇峰等	淡绿叶 <sup>[65]</sup>	<i>pgl<sup>HM14</sup></i>	11	299
2010	鞠培娜等	叶形突变体 <sup>[66]</sup>	<i>TLL1</i>	12	94.3
2013	代高猛等	类病斑 <sup>[67]</sup>	<i>sp131</i>	12	383

### 3.2 生理生化分析

随着植物组织培养技术的不断深入,应用离体材料进行 EMS 化学诱变的研究越来越多,尤其是对愈伤组

织的诱变,并较多的用于筛选抗旱、耐盐突变材料上,涉及的生理生化指标主要包括抗氧化酶因子(SOD、CAT、POD)的酶活性、过氧化产物(MDA)的含量、氧化酶因子(PPO)的酶活性、氧化酶作用底物(酚)的含量、渗透调节因子(脯氨酸、可溶性糖)的含量。

逆境胁迫下,植物体内产生活性氧的能力大于清除能力,活性氧使膜脂发生过氧化或脱脂作用,破坏膜结构。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)能够清除活性氧,降低生物膜过氧化和膜系统受伤害的指标,即丙二醛(MDA)含量,保护膜结构,提高抗逆性;而多酚氧化酶(PPO)可催化酚类物质氧化为醌,使酚含量减少,导致组织褐变,通过测定 PPO 活性和总酚含量有助于确定采取抗氧化反应措施的时间;可溶性糖、脯氨酸作为植物体内重要的渗透调节物质,在水分胁迫下,通过它们含量的增加,降低渗透势,提高压力势,保持植物体内的水分,提高抗旱能力。

检测不同诱变浓度下再生苗的生理生化指标,一方面,可结合愈伤组织的成活率和分化率,更准确地确定愈伤组织的适宜诱变剂量,为利用 EMS 离体化学诱变选育提供技术参考。用 EMS 处理“幸香”草莓,根据愈伤组织的死亡率,初步确定 EMS 的处理剂量为 0.1%~0.4%,处理时间 1 h,进一步测定各生理指标发现,当 EMS 浓度小于 0.2%时,CAT 和 SOD 活性较高,PPO 活性虽增幅较大,但总酚含量保持相对稳定,MDA 含量变化幅度不大,且为 0.1%时,含量最低;当处理时间 1.0~1.5 h 时,MDA 含量稳定增长,但增幅不大,且在 1 h 处,PPO 含量最低,总酚含量最高。因此,确定了 EMS 的处理剂量为 0.1%~0.2%,处理时间为 1.0~1.5 h<sup>[68]</sup>。EMS 诱变处理越橘“南高丛 V5”时,浓度为 0.4%时,SOD 活性较高、MDA 含量较低、可溶性糖及脯氨酸含量最高,根据这些生理指标,最终确定了 0.4%的诱变浓度<sup>[69]</sup>。

另一方面,生理指标可作为不同胁迫条件下再生植株的抗逆指标,通过建立生理指标与抗逆性状的相关性,能够在早期就筛选出具有有利诱变性状的再生苗,从而大幅度减少突变体筛选的工作量,并为植物的抗逆育种提供基础研究数据。刘艳萌等<sup>[10]</sup>利用生理指标对 EMS 诱变的草莓再生苗进行了耐盐筛选,结果表明在不同胁迫时间下,“全明星”和“新明星”2 个品种诱变后代的 SOD、POD 活性、脯氨酸含量均明显高于对照,但 MDA 含量却始终低于对照;以生理指标筛选越橘“V3”和“3#”的 EMS 诱变后代时,发现诱变处理的再生苗体内 MDA 的变化幅度减缓,而 CAT、SOD、POD 活性提高,植株的抗旱能力增强<sup>[70]</sup>;这 2 项研究均证明了用生理指标筛选耐盐或抗旱植株的可行性,且 SOD、POD、CAT 活性和脯氨酸含量与抗逆性正相关,而 MDA 含量

与抗逆性负相关;而杨乾等<sup>[13]</sup>对确定产生了耐盐突变的马铃薯用生理指标进行验证,发现在盐胁迫过程中,突变体的 SOD 活性、游离脯氨酸含量均高于各自的对照,进一步证实了用生理指标分析抗逆突变体的可靠性。

### 3.3 分子生物学检测

近几年来,飞速发展的测序技术带动了分子标记的大规模开发,分子标记因稳定、高效、准确的检测结果,已大量地应用到突变体的检测与筛选上,尤其是 SSR 标记。选取分布在不同连锁群上的分子标记,可对突变体进行全基因组遗传背景扫描。突变可以表现为条带的有无或片段大小的不同。

突变体与对照间存在差异,说明突变真实存在,且差异的标记越多,突变越复杂,表明有多个基因位点与突变性状的表现有关。大豆“绥农 14”的 EMS 诱变后代中的 5 个突变体与对照有超过 9 个标记的差异<sup>[18]</sup>;小麦“河农 822”EMS 处理产生的棒状穗突变体,分子标记检测到的突变率高达 25.17%<sup>[71]</sup>;EMS 处理小麦“烟农 15”产生的大粒、高秆突变体“8008”与对照间存在 13 个标记的差异<sup>[72]</sup>;在这些研究中,突变体与对照存在差异的标记,表明分子水平的突变真实存在,二者有差异的标记多,则说明突变属于数量性状的可能性大,多个基因同时突变共同决定突变表型,即所谓的多因一效。

突变体与对照间存在差异的标记越少,差异位点越单一,突变越简单,可用于寻找标记附近的基因或挖掘新基因,并进一步探索基因功能。花生“花育 16 号”EMS 诱变后获得了高产突变体,用 6 个有差异的标记检测突变体与对照,每个标记的差异位点为 1~3 个<sup>[24]</sup>;菊花“神马”EMS 诱变后获得了极早花突变体与对照在 2 个标记处均有 1 处差异,黄绿色花蕾突变体与对照在 1 个 SSR 标记有 1 个条带差异<sup>[25]</sup>,在这 2 项研究中,突变相对简单,可利用有差异的分子标记开展基因定位。

如果多个相同类型的突变体与对照在同一个分子标记有差异,则说明突变性状相关的基因位于该标记附近的可能性大。大豆“南农 94-16”的 EMS 诱变后代产生了 14 株耐涝突变体,其中 9 株与对照在同一个分子标记有差异,说明耐涝相关基因可能位于该标记附近<sup>[17]</sup>。

## 4 EMS 化学诱变在部分农作物上的育种成就

### 4.1 EMS 化学诱变在部分农作物上育成的品系

育种能够满足人类需求的品种是 EMS 化学诱变的最终目标之一,而从诱变群体中筛选出具有优异性状、符合育种目标的突变品系则是选育品种的先决条件。近年来,国内开展了大量利用 EMS 创新种质的研究,并筛选出了具有特殊性状的突变系。朱保葛等<sup>[73]</sup>从 5 个花生品种的 EMS 诱变的 M4 代筛选出 2 个产量显著高于亲本的稳定突变系;薛芳等<sup>[74]</sup>对小麦“新春 11”进行 EMS 诱变获得了 7 个抗性淀粉含量高且综合性状优良

的突变家系;黄永娟等<sup>[39]</sup>选用 EMS 诱变油菜“NJ7982”,并检测到 1 个 M1 代油酸含量 76.15%,M3 代为 75%能稳定遗传的高油酸突变系;陈忠明等<sup>[75]</sup>通过 EMS 诱变籼稻“9311”,筛选到了大粒突变体“M316”和长穗劲突变体“9311eR”,M316 的粒长和千粒重均显著提高,虽然粒密度变低导致单株减产,但因配合力明显提升使得所配组合的单株产量不同程度地提高,对三系配套选育杂交品种有重要应用价值,“9311eR”植株高度显著增加,极大地改善了父本的授粉态势,制种时父本无需喷施 920,且垩白率显著下降,不仅可以降低制种成本,而且还能改善米质;郑向阳等<sup>[76]</sup>对“郑 58”和“长 A37”的 F<sub>4</sub>代进行 EMS 处理,筛选出适合做母本的矮秆玉米自交系“08H67-2”,用其配置的组合比区试对照显著增产。

### 4.2 EMS 化学诱变在部分农作物上育成的品种

目前,科技工作者已利用 EMS 化学诱变在农作物领域开展了大量育种工作,并育成了一大批具有优良性状的新品种。顾佳清等<sup>[32]</sup>从“中花 11”的 EMS 诱变群体中,筛选到一个丰产性高的突变体,后代纯合后育成了中熟晚粳新品种“申化一号”;于秀普等<sup>[77]</sup>利用 EMS 和平阳霉素 PYM 对大豆“早熟 10 号”进行复合诱变,育成了生育期缩短,产量显著高于对照的“冀豆 8 号”;以区试品种“冀豆 7 号”为对照,复合诱变处理大豆合子选育出的“化诱 5 号”<sup>[78]</sup>、EMS 单一诱变处理大豆“8903”产生的“4120”<sup>[79]</sup>具有显著的高产优势;全妙华等<sup>[80]</sup>用 EMS 和 NaN<sub>3</sub> 对四棱豆“中翼 1 号”进行诱变,获得了抗病性相差不大,比野生型增产,且品质改善,嫩荚不易老化的新品种“湘棱豆 3 号”;李安东等<sup>[81]</sup>将“以伏花生”和“新成早”的杂交一代用 EMS 处理,筛选到产量显著高于区试对照“白沙 1016”且品质得到改良的花生新品“鲁花 12 号”;王安虎等<sup>[82]</sup>对“早苦荞”进行辐射和 EMS 的复合诱变,获得了中壳薄、制米易、品质佳的苦荞新品种“米荞一号”;田纪春等<sup>[83]</sup>对小麦的杂交 F<sub>4</sub> 代进行 EMS 诱变,选育出高产优质的新品种“PH85-16”。

## 5 展望

EMS 化学诱变在作物育种和功能基因组研究中扮演着非常重要的角色。一方面,EMS 化学诱变能够产生具有有利等位变异的种质资源,是选育作物新品种的有力武器;另一方面,EMS 化学诱变也能创制各种负向突变,为重要农艺性状基因的获得创造条件,为源源不断地获得具有自主知识产权的辣椒基因奠定基础。对作物 EMS 化学诱变及其应用领域研究极大加快了育种进程和对基因功能的解析。

关于 EMS 化学诱变的研究已取得了较大进展,但由于诱变频率和方向的不确定性,往往使有益突变率较小,不能保证诱变后代中一定会出现具有目标性状突变

体,张俐俐等<sup>[84]</sup>对大豆干种子 EMS 处理的 M3 代进行草甘膦抗性鉴定,并没有筛选出具有除草剂抗性的植株;郑文娟等<sup>[12]</sup>对越橘“蓝丰”和“达柔”进行 EMS 诱变,但发现处理植株的耐旱性弱于对照。因此,为了提高有利突变的频率,获得理想的变异个体,第一,可以扩大诱变群体,增加诱变次数,以加大选择机会;第二,随着离体培养技术的日趋完善,应用离体材料进行诱变,可以减少嵌合体的形成,有利于获得理想的突变系,且能加速突变体的稳定。

另一方面,这种诱变的随机性决定了诱变群体中会出现大量不同类别或同一类别不同表型的突变体,导致对突变体的鉴定工作量大。筛选与鉴定突变体的传统方法应用的是从表型到功能的正向遗传学,工作量极大,而从序列到表型的反向遗传学 TILLING 技术为 EMS 诱变育种提供了一种强大的工具,它能高通量、低成本地鉴定 EMS 诱变后代中的等位变异,可极大地加速育种进程。

过去对 EMS 诱变的较多研究主要集中在对突变体的筛选与鉴定上,育成的品种相对较少,将之与其它化学诱变育种、辐射育种以及常规育种结合,相互配合、取长补短,有望更有效、更快速地培育出农作物新品种。

### 参考文献

- [1] 张大鹏. 稻米品质突变体库的构建及粉质胚乳蛋白突变体(*fla6*)的基因定位[D]. 杭州:浙江大学,2012.
- [2] 徐冠仁. 植物诱变育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
- [3] 李春寿,阮关海,张琳琳,等. TILLING 技术的原理、特点及其在点突变筛选中的应用[J]. 核农学报,2005,19(4):317-321.
- [4] 张今. 核酸的化学修饰,烷基化[J]. 生命的化学,1986,6(3):20-22.
- [5] 姜昱,李毅丹,刘相国,等. EMS 诱变技术在我国玉米育种中的应用[J]. 吉林农业科学,2012,37(6):21-24.
- [6] 杜秀达. 植物细胞突变体的选择和应用[J]. 植物生理学通讯,1979(3):76-82.
- [7] 王长泉,刘峰,李雅志. 果树诱变育种的研究进展[J]. 核农学报,2000,14(1):61-64.
- [8] 崔霞,梁燕,李翠,等. 化学诱变及其在蔬菜育种中的应用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2013,41(3):205-212.
- [9] 降云峰,刘永忠,李万星,等. EMS 在大豆育种上的应用[J]. 园艺与种苗,2012(6):12-15.
- [10] 刘艳萌,张学英,葛会波,等. EMS 处理对草莓离体叶片再生植株耐盐性的影响[J]. 河北农业大学学报,2006,29(6):25-28.
- [11] 刘艳萌,张学英,葛会波. EMS 诱发草莓不同组培材料的耐盐性变异[J]. 核农学报,2008,22(6):798-802.
- [12] 郑文娟,石佳,任广练,等. EMS 诱变越橘的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,37(2):102-108.
- [13] 杨乾,张峰,王蒂,等. EMS 诱变筛选马铃薯茎离体耐盐变异体[J]. 核农学报,2011,25(4):673-678.
- [14] 陆柳英,朱文丽,莫饶,等. 化学诱变筛选木薯抗寒突变体的初步研究[J]. 广西农业科学,2007,38(5):499-503.
- [15] 陈薇,李名扬,李宣源. 离体茎尖诱变筛选油菜耐草酸变异体[J]. 西南农业学报,2001,14(2):31-33.
- [16] 韩锁义,张恒友,杨玛丽,等. 大豆“南农 86-4”突变体筛选及突变体库的构建[J]. 作物学报,2007,33(12):2059-2062.
- [17] 韩锁义,杨玛丽,陈远东,等. 大豆“南农 96-14”突变体库的构建及部分性状分析[J]. 核农学报,2008,22(2):131-135.
- [18] 谢圣男,王宏光,杨振,等. 大豆绥农 14 突变体库构建及株高性状分析[J]. 核农学报,2013,27(3):307-313.
- [19] 覃新程,王飞,王晓娟,等. <sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线与 EMS 复合处理对山豆抗过氧化酶活力及 ODAP 含量的影响[J]. 应用生态学报,2000,11(6):957-958.
- [20] 张晓勤,薛大伟,周伟辉,等. 用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变的大麦浙农大 3 号突变体的筛选与鉴定[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2011,37(2):169-174.
- [21] 徐艳花,陈锋,董中东,等. EMS 诱变的普通小麦豫农 201 突变体库的构建与初步分析[J]. 麦类作物学报,2010,30(4):625-629.
- [22] 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):245-249.
- [23] 安学丽,蔡一林,王久光,等. 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,2003,11(3):74-75.
- [24] 王传堂,王秀贞,唐月昇,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.
- [25] 蔡海燕,温立柱,郑成淑,等. EMS 诱发菊花突变类型及重要性状的分子鉴定[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2013,44(2):171-175.
- [26] 刘艳萌,张学英,葛会波,等. 草莓离体诱变及耐盐筛选技术初探[J]. 河北农业大学学报,2008,31(6):27-29.
- [27] 程志锋,杨文香,刘大群,等. <sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线与 EMS 对小麦近等基因系 TcLr10 的复合诱变[J]. 华北农学报(增刊),2008(23):92-95.
- [28] 史跃伟,任学良,王轶,等.  $\gamma$ 射线与 EMS 单一及复合处理对烤烟种子活力的诱变效应[J]. 贵州农业科学,2009,37(12):62-65.
- [29] 陈远东,喻德跃. EMS 诱发大豆“南农 94-16”突变体库的扩建及部分突变体的 SSR 分析[J]. 大豆科学,2009,28(4):574-577.
- [30] 张力伟,樊颖伦,牛腾飞,等. 大豆“冀黄 13”突变体筛选及突变体库的建立[J]. 大豆科学,2013,32(1):33-37.
- [31] 郑雷英. 理化诱变水稻突变体库的构建及水稻簇生穗突变体-*cl* 的形态和定位分析[D]. 上海:中国科学院,2002.
- [32] 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.
- [33] 陈忠明. 水稻 93-11 EMS 诱导突变体的分离与鉴定[J]. 分子植物育种,2004,2(3):331-335.
- [34] 孙连军. EMS 诱变籼稻 93-11 突变体库的创建及抗旱突变体的遗传学分析[D]. 北京:中国农业大学,2006.
- [35] 叶俊. 水稻“9311”突变体的筛选和突变体库的构建[D]. 杭州:浙江大学,2006.
- [36] 孙洁. CELI 的分离及水稻 TILLING 突变库的创建[D]. 杭州:浙江大学,2007.
- [37] 阮伯胜. 梗稻“日本晴”突变体库的创建和部分重要性状的遗传分析[D]. 杭州:浙江大学,2008.
- [38] 陈洋,高兰英,邵艳军,等. EMS 诱导小麦易位系 YW642 突变体的鉴定与分子标记分析[J]. 核农学报,2011,25(4):617-621.
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] 丁沃娜,吴晶,罗丽丽,等. 水稻短根毛突变体 *ksrh1* 的遗传分析和基因定位[J]. 中国水稻科学,2012,26(1):1-4.
- [42] 王晓雯,苗润隆,蒋钰东,等. 水稻穗粒极度缩短突变体 *sui(t)* 的遗传分析与基因定位[J]. 西南大学学报(自然科学版),2013,35(5):1-6.
- [43] 程欣,任德勇,马娇,等. 水稻叶片灰白转黄突变体 *pyr1* 的鉴定与基



- 因定位[J]. 作物学报, 2013, 39(6): 992-998.
- [44] 王增, 李云峰, 马娇, 等. 水稻颖壳和浆片异常突变体 *ahl* 的基因定位[J]. 作物学报, 2011, 37(4): 629-634.
- [45] 桑贤春, 杜川, 王晓雯, 等. 水稻矮秆脆性突变体 *dbc1* 的鉴定与基因定位[J]. 作物学报, 2013, 39(4): 626-631.
- [46] 解志伟, 孙伟, 尹亮, 等. 一个新的水稻内卷叶突变体的表型和遗传分析[J]. 作物学报, 2013, 39(11): 1970-1975.
- [47] 王德仲. 水稻细卷叶突变体 *nr12(t)* 的遗传分析和基因定位[J]. 作物学报, 2011, 37(7): 1159-1166.
- [48] 孙小秋, 王兵, 肖云华, 等. 水稻 *yg198* 黄绿叶突变基因的精细定位与遗传分析[J]. 作物学报, 2011, 37(6): 991-997.
- [49] 徐芳芳, 桑贤春, 任德勇, 等. 水稻早衰突变体 *esl2* 的遗传分析及基因定位[J]. 作物学报, 2012, 38(8): 1347-1353.
- [50] 高振宇, 刘晓辉, 郭龙彪, 等. 一个新的水稻多蘖矮秆突变体 *tdcl(t)* 的分离及基因的精细定位[J]. 科学通报, 2009, 54(9): 1238-1243.
- [51] 宁永强. 水稻短根突变体 *ksr1* 的遗传分析和基因定位[J]. 中国水稻科学, 2010, 26(4): 652-654.
- [52] 杨密龙, 饶玉春, 刘慧娟, 等. 水稻早衰叶突变体 *es-t* 的遗传分析与精细定位[J]. 科学通报, 2011, 56(19): 1539-1545.
- [53] 苗润隆, 蒋钰东, 廖红香, 等. 水稻早衰突变体 *esl3* 的鉴定与基因定位[J]. 作物学报, 2013, 39(5): 862-867.
- [54] 陈红霖, 向阳海, 赵红莹, 等. 水稻类病斑突变体 *c5* 的遗传分析与目标基因的精细定位[J]. 作物学报, 2013, 39(7): 1148-1154.
- [55] 桑贤春, 徐芳芳, 凌英华, 等. 水稻条斑花叶突变体 *st(t)* 的鉴定与遗传定位[J]. 作物学报, 2010, 36(2): 211-216.
- [56] 段远霖, 李生平, 吴为人. 水稻矮秆多分蘖突变体 *det1* 的遗传分析和基因定位[J]. 基因组学与应用生物学, 2012, 31(6): 538-543.
- [57] 奉保华, 杨杨, 施勇峰, 等. 水稻淡褐斑叶突变体 *lbsl1* 的遗传分析与基因定位[J]. 中国水稻科学, 2012, 26(3): 297-301.
- [58] 王平荣, 王兵, 孙小秋, 等. 水稻白化转绿基因 *gra75* 的精细定位和生理特性分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(2): 225-232.
- [59] 朱小燕, 徐芳芳, 桑贤春, 等. 水稻叶脉白化突变体 *wpsm* 的遗传分析与基因定位[J]. 作物学报, 2013, 39(8): 1409-1415.
- [60] 施勇峰. 一个新的水稻卷叶突变体的遗传分析与基因定位[J]. 中国科学(C辑), 2009, 39(4): 407-412.
- [61] 倪大虎, 杨亚春, 宋丰顺, 等. 水稻闭花授粉基因 *cl7(t)* 的遗传分析与基因定位[J]. 中国农业科学, 2012, 45(13): 2561-2567.
- [62] 王峰, 唐彦强, 苗润隆, 等. 水稻窄叶白化突变体 *mul1* 的鉴定与基因定位[J]. 科学通报, 2012, 57(22): 2066-2071.
- [63] 罗丽丽. 水稻短根相关基因 *OskSR2* 的定位[J]. 作物学报, 2012, 38(3): 429-435.
- [64] 邓晓梅, 叶胜海, 修芬连, 等. 一个新的水稻黄绿叶突变性状的遗传分析及基因定位[J]. 核农学报, 2012, 26(2): 203-209.
- [65] 施勇峰, 魏彦林, 奉保华, 等. 水稻淡绿叶突变体 *HMI4* 的遗传分析与基因定位[J]. 中国水稻科学, 2013, 27(6): 585-590.
- [66] 鞠培娜, 方云霞, 邹国兴, 等. 一个新的水稻叶形突变体 (*all1*) 的遗传分析与精细定位[J]. 植物学报, 2010, 45(6): 654-661.
- [67] 代高猛, 朱小燕, 李云峰, 等. 水稻类病斑突变体 *spl31* 的遗传分析与精细定位[J]. 作物学报, 2013, 39(7): 1223-1230.
- [68] 周厚成, 罗静, 赵霞, 等. 甲基磺酸乙酯对草莓愈伤组织的生理效应[J]. 华北农学报, 2008, 23(3): 138-142.
- [69] 张敏, 杨艳, 康兆茹, 等. EMS 诱变南高丛越橘及抗旱突变体的筛选[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2011, 36(3): 132-137.
- [70] 陈凌, 张文玲, 张敏, 等. 化学诱变剂 EMS 筛选越橘茎尖抗旱突变体的初步研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2010, 35(3): 99-102.
- [71] 闫炯, 付晶, 刘桂茹, 等. EMS 诱变小麦河农 822 的 SSR 及 SDS-PAGE 鉴定[J]. 河北农业大学学报, 2008, 31(1): 1-5.
- [72] 李云峰, 蒋方山, 郭莹, 等. EMS 诱导小麦品种烟农 15 突变体的鉴定和 EST-SSR 分析[J]. 核农学报, 2008, 22(4): 410-414.
- [73] 朱保葛, 路子显, 耿玉轩, 等. 烷化剂 EMS 诱发生性性状变异的效果及高产突变系的选育[J]. 中国农业科学, 1997, 30(6): 87-89.
- [74] 薛芳, 褚洪雷, 胡志伟, 等. 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, 2010, 30(3): 431-434.
- [75] 陈忠明, 王秀娥. 水稻强优势恢复系 9311 粒重的诱变改良[J]. 分子植物育种, 2005, 3(3): 353-356.
- [76] 郑向阳, 栗建枝, 吴枝根, 等. 矮秆玉米自交系 08H67-2 的选育[J]. 山西农业科学, 2013, 41(6): 535-536.
- [77] 于秀普, 杜连恩, 魏玉昌, 等. 大豆新品种冀豆 8 号的选育[J]. 中国油料, 1994, 16(2): 58-59.
- [78] 李占军, 魏玉昌, 杜连恩. 大豆新品种化诱 5 号的选育及栽培技术[J]. 河北农业科学, 2005, 9(2): 63-64.
- [79] 王志国, 魏玉昌, 杜连恩, 等. 大豆新品种化诱 4120 的特征特性及配套技术[J]. 山东农业科学, 2003(6): 24-25.
- [80] 全妙华, 陈东明, 蒋向辉. 四棱豆新品种湘棱豆 3 号的选育[J]. 中国蔬菜, 2011(16): 112-114.
- [81] 李安东, 姜天新. 鲁花 12 号的特征特性及栽培技术[J]. 山东农业科学, 1995(1): 12-13.
- [82] 王安虎, 蔡光泽, 赵钢, 等. 制米苦荞品种米荞一号及其栽培技术[J]. 种子, 2010, 29(2): 104-106.
- [83] 田纪春, 王延训. 紧凑型高产优质冬小麦 PH85-16 及其栽培技术[J]. 麦类作物, 1997, 17(3): 56-57.
- [84] 张俐俐, 谷维, 雷勃钧, 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.

## Research Progress on EMS Mutagenesis of Crops

HUANG Dongfu, FU Wenting, HAN Shiyu, HE Jianwen

(Institute of Pepper, Guizhou Academy of Agricultural Science, Guiyang, Guizhou 550006)

**Abstract:** EMS is a type of chemical mutagen, which can be simple to operate, has high mutation frequency and specificity. The mutants mutagenized by EMS have very important roles on crop breeding and research of functional genomics. In this article, we reviewed the literature on the research progress of mutation principle of EMS, the factors affecting mutation effect, the screening and identification of mutants and the breeding achievements of partial crops. We further discussed several important future directions in researches on EMS mutagenesis.

**Keywords:** ethyl methane sulfonate(EMS); mutagenesis; mutant