

大豆“冀黄 13”突变体筛选及突变体库的建立

张力伟¹, 樊颖伦^{2,3}, 牛腾飞¹, 张文会¹, 赵玉洁¹, 刘立科^{1,3}

(1. 聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059; 2. 聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059; 3. 聊城大学 农作物育种研究所, 山东 聊城 252059)

摘要: 利用甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulfonate, EMS)、叠氮化钠(sodium azide, NaN₃)和 N 离子束分别诱变处理大豆品种“冀黄 13”的种子。经 M₂ 选择, M₃、M₄ 代验证, 共筛选出茎器官突变体 15 份, 叶器官突变体 19 份, 花器官突变体 31 份, 种子器官突变体 3 份以及成熟期突变体 18 份, 其中有 9 份突变体属于复合性状的突变, 最终获得 77 份稳定遗传的突变体。通过 F₂ 群体的表型分析, 确定 1 份雄性不育突变体和 1 份黑种皮色突变体的表型均由单隐性基因控制。本研究所获得的突变体和所构建突变体库将为大豆功能基因组研究和遗传改良奠定基础。

关键词: 大豆; 理化诱变; 冀黄 13

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2013)01-0033-05

Screening of Mutants and Construction of Mutant Population for Soybean Cultivar “Jihuang13”

ZHANG Li-wei¹, FAN Ying-lun^{2,3}, NIU Teng-fei¹, ZHANG Wen-hui¹, ZHAO Yu-jie¹, LIU Li-ke^{1,3}

(1. School of Life Science, Liaocheng University; 2. School of Agricultural Science, Liaocheng University; 3. Institute of Crop Breeding, Liaocheng University, Liaocheng 252059, Shandong, China)

Abstract: Mutants and mutant population are the foundation for gene function analysis and crop genetic improvement. Seed of soybean cultivar “Jihuang 13” were treated with ethyl methane sulfonate (EMS), sodium azide (NaN₃) and nitrogen ion beam implantation respectively for screening mutants and constructing mutant population. Fifteen stem related mutants, 19 leaf related mutants, 31 floral related mutants, 3 seed related mutants, and 18 maturity related mutants were obtained after selected in M₂ generation, and validated in M₃ and M₄ generation. Because there were 9 mutants possessing composite phenotypes, 77 genetically stable mutants were finally screened out. Further genetic analyses for a male sterile mutant and a black seed color mutant were made in F₂ segregating population respectively. The results showed that the phenotypes of these two mutants were both controlled by a single recessive gene. The mutants and mutant population obtained would lay a foundation for functional genomics analyses and genetic improvement of soybean.

Key words: Soybean; Physical and chemical mutagenesis; Jihuang13

大豆是人类最主要的油脂和蛋白质来源之一, 大豆基因功能分析将为大豆的功能基因组学和大豆品种遗传改良研究奠定基础。在多种基因功能的鉴定方法中, 最直接和有效的方法是利用突变体进行鉴定。

目前, 许多学者采用多种理化诱变方法对大豆进行诱变并构建了不同品种的突变体库。烷化剂甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulfonate, EMS)可以造成单碱基的突变(G/C 向 A/T 的转换), 是目前应用最为广泛的化学诱变剂之一。20 世纪 90 年代, EMS 多用于品种改良, 如郭玉虹等^[1]采用 EMS 处理大豆种子, 发现 EMS 对大豆品质和产量性状有较好的诱变效果。王培英等^[2]和于秀普等^[3]利用 EMS 诱变, 分别获得了低亚麻酸、高油酸和高蛋白质含量以及高油含量的优良种质。近年来, 韩锁义等^[4]利用 EMS 诱变大豆“南农 86-4”, 获得了大豆

油分和蛋白质含量有关突变体材料, 并构建了“南农 86-4”的突变体库。

叠氮化钠(sodium azide, NaN₃)是另外一种优良的化学诱变剂, 也被广泛应用于大豆诱变处理。如 Hajdich 等^[5]和郭玉虹等^[6]利用 NaN₃ 诱变, 均获得高蛋白质含量的突变体。郝再彬等^[7]利用 NaN₃ 诱变, 获得了矮秆突变体。魏松红等^[8]和张俐俐等^[9]分别利用 NaN₃ 诱变, 筛选出抗草甘膦除草剂的突变体。韩锁义等^[10]利用 NaN₃、⁶⁰Co γ 射线对“南农 94-16”大豆种子进行了复合诱变, 构建了“南农 94-16”的突变体库。

离子束诱变是由我国研究人员独立发展起来的诱变技术, 目前已经广泛地应用到各种生物诱变^[11]。在大豆上, 郭建秋等^[12]对航天搭载和低能 N 离子束对大豆的诱变效果进行了比较, 发现二者差异不明显, 表明 N 离子束诱变是进行大豆诱变的

收稿日期: 2012-10-29

基金项目: 国家自然科学基金(31071436)。

第一作者简介: 张力伟(1989-), 男, 在读硕士, 研究方向为生物催化和生物转化研究。E-mail: zlw99688@163.com。

通讯作者: 刘立科(1974-), 男, 博士, 副教授, 从事植物分子遗传学研究。E-mail: liulike@lcu.edu.cn。

一种有效途径。宾郁泉等^[13]采用 N 离子束诱变,获得了大豆高产品系。彭琳等^[14]用 N 离子束处理,获得了高蛋白质含量的大豆种质。

本研究采用化学诱变剂 EMS、NaN₃ 和物理诱变剂 N 离子束分别处理大豆种子,自 M₂ 代开始,对突变材料单株收获,单粒播种。经 M₃、M₄ 代验证,获得一些重要性状的突变体。这些突变体为大豆基因功能分析和遗传改良奠定了一定的基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

“冀黄 13”大豆种子,购自河北省农林科学院粮油作物所。

1.2 诱变处理方法

1.2.1 N 离子束诱变 2008 年 5 月,在郑州大学物理工程学院河南省离子束生物工程重点实验室用 N 离子束(诱变剂量为 $4 \times 10^7 \text{ N}^+ \cdot \text{cm}^{-2}$,以下简称离子束)处理种子约 1 000 粒。

1.2.2 EMS 诱变 2008 年 6 月,在聊城大学生命科学学院植物分子育种实验室用 0.5% 浓度的 EMS 处理种子 0.5 kg(约 2 500 粒)4.5 h,随后用自来水反复冲洗 2 h。通风橱内晾干后,第 2 天播种。

1.2.3 NaN₃ 诱变 2008 年 6 月,在聊城大学生命科学学院植物分子育种实验室用 0.07% 浓度的 NaN₃ 溶液处理种子 1.6 kg(约 8 000 粒)12 h,随后用自来水反复冲洗 2 h。通风橱内晾干后,第 2 天播种。

1.3 田间试验

2008 年 6 月,将诱变的 M₁ 代种子播种于聊城大学试验田,株距 6 cm,行长 2.5 m,行距 50 cm,同年 10 月单株收获 M₂ 代种子。2009 年 6 月,将 M₂ 种子按株行进行种植,株距 6 cm,行长 1.5 m,行距 50 cm,每行至少种植 16 株,并在整个生育期进行农艺性状的调查。同年 10 月,收获有突变性状的株行内的所有单株。2010 年 6 月,将同一株行收获的 M₃ 代单株种子按照顺序种植株行,考察突变性状的可重复性。同年 10 月对于突变性状稳定的材料,有性状分离的株行继续按单株进行收获,突变纯合株按株行收获。2011 年 6 月,同样,将同一株行收获的 M₄ 代单株种子按照顺序种植株行,株距 6 cm,行长 2.5 m,行距 50 cm,进一步考察突变性状的稳定性并初步进行遗传分析,10 月份仅收获突变稳定株系。

1.4 表型性状的调查

对理化诱变获得的 M₂、M₃ 及 M₄ 代材料,全生育期每 2~3 d 田间调查 1 次,观察记载叶形、叶色、株

型、结荚情况等性状。

突变频率(%) = M₂ 发生突变的株行数/M₂ 种植的总株行数 × 100。

2 结果与分析

2.1 三种不同处理方式诱变效应的初步分析

2008 年 6 月,将经过 EMS、NaN₃ 和 N 离子束诱变的“冀黄 13”种子正常播种,在 M₁ 代均有生长不正常的植株出现,如贪青、晚熟、长势细弱、结荚少等。2008 年秋季成功收获 EMS 处理材料 540 份,占处理种子数的 21.6%;收获 NaN₃ 处理材料 2 200 份,占处理种子数的 27.5%;收获离子束处理材料 280 份,占处理种子数的 28.0%。

M₂ 代是突变显现最多的世代。经 EMS 诱变处理,“冀黄 13”产生大量表型变异突变体(表 1),共有 264 个株行突变,其中包括 91 个株行属于复合性状突变,如半不育的突变株大部分都表现为晚熟,因而,实际突变株行数是 173, M₂ 代的突变频率为 32.0%。在所有突变类型中,育性突变最多,共有 96 个株行,占总突变的 55.5%。经 M₃ 代验证,有 129 个株行的突变表型能够重现。另外,在 M₃ 代又发现一个叶柄开张角度的突变体。经 M₄ 代进一步验证,最终获得 50 份表型稳定的突变体。

经 NaN₃ 诱变的材料,在 M₂ 代仅有 68 个株行发生突变,其中复合性状突变体有 6 个株行,实际突变株行仅为 62 个,突变频率为 2.8%。经 M₃、M₄ 验证,能稳定遗传的突变株行仅有 17 份(表 1)。

在 M₂ 代,从离子束诱变的材料中筛选了 29 个突变株行,其中复合性状突变仅有 1 个株行,突变频率为 10.0%。经 M₃、M₄ 验证总共 10 份突变体能够稳定遗传(表 1)。

从诱变效果来看,EMS 诱变涉及 11 种突变类型,突变频率为 32.0%;NaN₃ 诱变涉及 8 种突变类型,突变频率为 2.8%;离子束诱变涉及 5 种突变类型,突变频率为 10.0%。在最终获得的 77 株突变体中,有 50 份来自于 EMS 诱变处理,17 份来自于 NaN₃ 处理,10 份来自于离子束处理。因此,无论从诱变的变异幅度效果还是诱变效率来讲,EMS 都是良好的大豆诱变剂。

2.2 部分突变性状分析

2.2.1 茎器官突变 矮秆突变体是改善作物株型和培育抗倒、高产新品种的基础,也是研究植物矮化基因及其调控机理的重要材料。在本研究中共筛选出 14 份矮秆突变体,占总突变体数的 18.2%。部分矮秆突变体表现为节间数目减少,顶端分生组织较早的由营养生长转化为生殖生长(图 1A)。还

表 1 三种不同诱变方式的突变体数量比较

Table 1 Comparison of mutation frequency of EMS, NaN₃ and ion beam implantation

性状 Trait	变异性状 Variation	EMS			NaN ₃			离子束 Ion beam		
		M ₂	M ₃	M ₄	M ₂	M ₃	M ₄	M ₂	M ₃	M ₄
茎部性状 Stem trait	矮秆 Dwarf plant	32	15	10	13	4	2	13	8	2
	高秆 Higher plant	16	0	0	7	0	0	0	0	0
	无主茎 No main stem	1	1	1	0	0	0	0	0	0
叶部性状 Leaf trait	叶黄化 Etiolated leaf	15	10	10	0	0	0	0	0	0
	短叶柄 Short petiole	13	9	3	0	0	0	10	8	4
	叶柄开张角度 Large leaf angle	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	皱缩叶 Wrinkly leaf	1	1	1	0	0	0	0	0	0
花部性状 Flower trait	花色 Petal color	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	完全不育 Complete sterility	23	22	6	17	15	13	2	2	2
	部分不育 Partial sterility	73	41	8	5	1	0	5	3	1
种子 Seed trait	黑种皮 Black episperm	1	1	1	1	1	1	0	0	0
	小籽粒 Small seed	0	0	0	0	0	0	1	1	1
成熟期 Mature Period	晚熟 Late maturity	88	73	17	10	2	1	0	0	0
	早熟 Early maturity	0	0	0	6	1	0	0	0	0
其他性状 Other trait	顶端螺旋化 Top coiling	0	0	0	9	6	0			
合计 Total		264	175	59	68	30	17	29	20	10
复合性状突变 Pleiotropic mutant		91	46	9	6	0	0	1	0	0
实际突变株 Actual number of mutant		173	129	50	62	30	17	28	20	10

有一部分矮秆突变体的节间数目没有发生变化,但长度减少,同时叶柄和叶片也相应地变小,这种类型的突变可能是由于细胞伸长受限所致。

在 M₂代,分别从 EMS 和 NaN₃处理的材料中筛选出 16 份和 7 份株高高于野生型的材料,但在 M₃、M₄代,这些材料的株高并未显著高于野生型。

2.2.2 叶器官突变 共筛选到 19 份叶器官有关突变体,其中的叶片黄化突变体 10 份,短叶柄突变体 7 份,叶片皱缩突变体 1 份,叶柄开张角度 1 份。

植物叶色突变是比较常见的突变^[15]。共获得 10 份有关叶色的突变,均来自于 EMS 处理。一部分叶色突变体其叶色在整个生育期一直表现为浅绿(图 1B),另外一些叶色突变体则是在苗期为浅绿,到后期又逐渐变为正常绿色。

叶柄是连接茎和叶片的器官,在决定叶片角度、植株冠层结构以及光合产物的运输和贮藏等方面具有重要作用。在本研究中共筛选到 7 份短叶柄突变体,3 份来自于 EMS 处理,4 份来自于离子束处理。其中部分短叶柄突变体不仅叶柄明显缩短,而且叶片变小,株高降低,属于复合性状突变(图 1C)。

在 EMS 处理的材料中,发现 1 个叶柄开张角度

增大的突变体。野生型的叶柄开张角度基本上小于 45°,但突变体的叶柄开张角度近似直角(图 1D)。这些叶柄相关性状突变体的获得将为解析控制大豆理想株型的遗传机理及株型育种奠定基础。

另外,EMS 处理的材料中,在 M₂代发现 1 个叶片皱缩的突变体,其结实率也比较低(图 1E)。该突变体经 M₃、M₄代验证,能够稳定遗传。

2.2.3 花器官突变 获得育性突变体 30 份,其中完全不育突变体 21 份,其中 EMS 处理 6 份,NaN₃处理 13 份,离子束处理 2 份;部分不育突变体 9 份,8 份来自于 EMS 处理,1 份来自于离子束处理。育性突变体占总突变体数的 39.0%,这可能与育性突变本身就是比较容易突变的类型有关^[16]。这些育性突变体均属于隐性遗传,靠杂合基因型保留种质。I₂-KI 溶液花粉染色结果表明,3 个完全不育突变材料的成熟花粉染色浅,花粉形态不规则,表明花粉是败育的;同时,授以其他正常花粉仍不能正常结实,说明雌性器官也可能是不育的,属于雌雄均完全不育的突变类型(图 1F)。另外,对一个来自于离子束处理的不育突变体,授以其他两个种质的正常花粉,能够正常结实,表明该突变体是雄性不育,雌性可育。这 2 个 F₂群体的正常可育株与不育

株的比例分别为 151:44 ($\chi^2 = 0.62$) 和 87:26 ($\chi^2 = 0.24$), 均符合单基因质量性状的分离规律。

在花器官突变中, 还发现了 1 株花色的突变。野生型的冀黄 13 是白色花瓣, 在 EMS 处理的 M_2 代中出现了 1 株紫色花瓣的突变体, 经 M_3 、 M_4 代验证, 该突变性状能够稳定遗传。

2.2.4 种子器官突变 种皮颜色是大豆的一个重要形态标记, 同时也与大豆的营养价值紧密相关。共筛选到了 2 个黑色种皮的突变体, 分别来自于 EMS 和 NaN_3 处理。2010 年, 配制 EMS 诱变黑种皮

突变体与“中黄 13”的杂交组合, 2012 年的 F_2 群体黑种皮单株占总群体的 1/4 (23/105, $\chi^2 = 1.49$), 表明该突变性状受单隐性基因控制。

百粒重是影响产量性状的重要指标。在离子束处理的材料中, 发现 1 个百粒重降低的突变体, 百粒重在 13 g 左右, 而野生型为 18 g 左右。经 M_3 、 M_4 代验证, 该突变体在株高、叶形等其他性状上同野生型没有差异。



A:矮秆;B:叶片黄化;C:短叶柄;D:大叶柄夹角;E:皱缩叶;F:完全不育

A:Dwarf;B:Etiolated leaf;C:Short petiole;D:Large leaf angle;E:Wrinkly leaf;F:Complete sterility

图 1 部分突变体表型

Fig. 1 Phenotypes of partial mutants

3 讨论

理化诱变能在较短时间内构建诱变群体, 在农作物新品种选育中发挥着极其重要的作用, 是人工诱变首选的方法。同时, 随着功能基因组学的发展及其对相关突变基因研究的深入, 构建理化诱变的突变体库已越来越重要^[17]。

传统的正向遗传学方法通过突变体或品种表型变异确定基因的功能^[18]。目前, 构建的拟南芥^[19]、水稻等^[20]突变体库已在该类植物基因功能的研究中起到了举足轻重的作用。本研究通过理化诱变大豆品种“冀黄 13”, 获得了在开花期、叶柄、分枝数、株型、主茎等表型性状突变的突变体。这些突变体的表型性状均可稳定遗传, 为进一步研究大豆基因功能提供了良好的材料。

不同诱变剂的诱变机理不同, 其产生的诱变效果和诱变谱也就存在差异。拟南芥的研究表明, EMS 处理主要导致碱基 G/C 到 A/T 的改变^[21]。EMS 处理大豆种子可产生株高、生育期、花色、高蛋白和高油等突变^[3,22]。韩锁义等^[4]和 Carroll 等^[23]研究表明 EMS 诱变容易产生叶色突变体, 而在本研究中, 有关叶色的 10 个突变体均来自于 EMS 处理, 也证明了这一点。另外, 在本研究中, EMS 诱发的

突变体涉及到 11 个性状, 数量占到突变体总数的 64.9%, 因此无论从突变谱的广度还是从突变频率来讲, EMS 都是创建大豆突变体库的优良诱变剂。

NaN_3 是一种点突变诱变剂, 可诱导碱基 A/T 到 G/C 的转换或颠换^[24]。 NaN_3 处理的适宜时期是 DNA 合成期间, pH3.0 时效果较好^[25]。不同物种对于 NaN_3 的敏感性不同, NaN_3 处理大麦的效果较好, 但对于果蝇和拟南芥来的诱变效果一般^[26]。对水稻而言, 不同品种间利用 NaN_3 诱变的效率也有差异^[27]。Carroll 等^[23]比较了 EMS 和 NaN_3 对大豆的诱变效果, 发现 NaN_3 的诱变效果不理想。在本研究中, NaN_3 诱变效率也比较低, 这有可能是因为 NaN_3 本身不是大豆的良好诱变剂, 也有可能是由于诱变处理条件不理想, 或者是种质材料的原因。

在突变体的创建和筛选过程中, 表型鉴定的工作量巨大。目前国内突变体的创建所涉及的表型仍然以形态性状为主, 如育性、株高、成熟期、短叶柄、叶色等, 而涉及生化代谢过程的突变体很少。随着表型组学的发展, 高通量表型鉴定技术的建立, 从目前已经建立的突变体库中筛选各种表型的突变体将成为可能。本文所获得的突变体和建立的突变体库, 将为高通量筛选大豆突变体和解析大豆基因功能奠定基础。

致谢:本试验的 N 离子束处理工作在郑州大学物理工程学院河南省离子束生物工程重点实验室完成,感谢该实验室秦广雍教授提供的帮助。在突变体库的构建过程中,从种植到收获得到了聊城大学生命科学学院团委和很多同学的帮助,在此一并表示感谢!

参考文献

- [1] 郭玉虹,王连英,张军政. EMS 对大豆的诱变效应[J]. 核农学报,1994,15(4):162-164. (Guo Y H, Wang P Y, Zhang J Z. Mutagenic effect of EMS on soybean[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,1994,15(4):162-164.)
- [2] 王培英,王连铮,朴德万. EMS 诱发大豆脂肪酸组成优良突变的研究[J]. 核农学报,1993,7(2):81-87. (Wang P Y, Wang L Z, Pu D W. Induction of genetic variation of oil composition in soybean by EMS[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,1993,7(2):81-87.)
- [3] 于秀普,杜连恩,魏玉昌. EMS 诱发大豆突变可筛选高蛋白或高脂肪含量的种质资源[J]. 作物品种资源,1995(1):24-26. (Yu X P, Du L E, Wei Y C. High protein or high oil content germplasm resources of soybean induced by EMS[J]. China Seeds,1995(1):24-26.)
- [4] 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. (Han S Y, Zhang H Y, Yang M L, et al. Screening of mutants and construction of mutant population in soybean ‘Nannong86-4’[J]. Acta Agronomica Sinica,2007,33(12):2059-2062.)
- [5] Hajdúch M, Debre F, Böhmová, et al. Two soybean mutants with increased total and sulphur amino acid content induced by sodium azide[J]. Journal of Genetics & Breeding,2000,54(2):83-87.
- [6] 郭玉虹,王培英,许德春,等. 诱变改良大豆蛋白质含量的研究[J]. 大豆通报,2005(6):12-13. (Guo Y H, Wang P Y, Xu D C, et al. Improvement of soybean protein content by artificial mutation[J]. Soybean Bulletin,2005(6):12-13.)
- [7] 郝再彬,吴东岚. 矮秆大豆突变体的获得[J]. 核农学报,2004,18(3):204-206. (Hao Z B, Wu D L. Obtaining of soybean dwarf mutant[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2004,18(3):204-206.)
- [8] 魏松红,纪明山,谷祖敏,等. 理化诱变筛选抗草甘膦大豆植株[J]. 江苏农业科学,2007(5):56-57. (Wei S H, Ji M S, Gu Z M, et al. Physical and chemical mutagenesis screening resistance to glyphosate soybean plant[J]. Journal of Jiangsu Agricultural Sciences,2007(5):56-57.)
- [9] 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. (Zhang L L, Gu W, Lei B J, et al. Glyphosate resistant mutant strain of soybean filtered by chemomorphosis[J]. Soybean Science,2009,28(5):938-940.)
- [10] 韩锁义,杨玛丽,陈远东,等. 大豆“南农 94-16”突变体库的构建及部分性状分析[J]. 核农学报,2008,22(2):131-135. (Han S Y, Yang M L, Chen Y D, et al. Construction of mutant library for soybean “Nannong96-16” and analysis of some characters[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2008,22(2):131-135.)
- [11] 陈恒雷,吕杰,曾宪贤. 离子束诱变育种研究及应用进展[J]. 种子,2005(6):505-506. (Chen H L, Lv J, Zeng X X. Advances in induced mutation breeding for ion beam implantation[J]. Seed,2005(6):505-506.)
- [12] 郭建秋,吴存祥,冷建田,等. 航天搭载和离子束注入对大豆诱变效应的初步研究[J]. 核农学报,2009,23(3):395-399. (Guo J Q, Wu C X, Leng J T, et al. Preliminary study on mutagenic effects of space flight and ion beam implantation on soybean[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2009,23(3):395-399.)
- [13] 宾郁泉,胡建成,刘世强,等. 离子束生物效应的研究 I. 氮离子注入对大豆生育及产量性状的影响[J]. 辽宁农业科学,1993(5):9-13. (Bin Y Q, Hu J C, Liu S Q, et al. Ion beam biological effect research I. Effect of nitrogen ion beam implantation on soybean propagation and yield[J]. Liaoning Agricultural Sciences,1993(5):9-13.)
- [14] 彭琳,季良. 氮离子束注入和钴 60 伽玛辐射对大豆生物学效应研究初报[J]. 安徽农业科学,2009,37(14):6399-6402. (Peng L, Ji L. Preliminary study on biological effect of soybean by nitrogen ion beam implantation and ⁶⁰Co-γ radiation[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2009,37(14):6399-6402.)
- [15] 何冰,刘玲珑,张文伟,等. 植物叶色突变体[J]. 植物生理学通讯,2006(1):1-9. (He B, Liu L L, Zhang W W, et al. Plant leaf color mutants[J]. Plant Physiology Communications,2006(1):1-9.)
- [16] 赵团结,盖钧镒. 大豆不育性自然变异的发现与鉴定[J]. 中国农业科学,2006,39(9):1756-1764. (Zhao T J, Gai J Y. Detection and identification of soybean natural variation of sterility[J]. Scientia Agricultura Sinica,2006,39(9):1756-1764.)
- [17] 叶俊,吴建国,杜婧,等. 水稻“9311”突变体筛选和突变体库构建[J]. 作物学报,2006,32(10):1525-1529. (Ye J, Wu J G, Du J, et al. The screening of mutants and construction of mutant population for cultivar “9311” in rice[J]. Acta Agronomica Sinica,2006,32(10):1525-1529.)
- [18] 江树业. 水稻突变群体的构建及功能基因组学[J]. 分子植物育种,2003,1(2):137-150. (Jiang S Y. Rice mutant population and its applications on functional genomics[J]. Molecular Plant Breeding,2003,1(2):137-150.)
- [19] Parinov S, Sundaresan V. Functional genomics in *Arabidopsis*: large-scale insertional mutagenesis complements the genome sequencing project[J]. Current Opinion in Biotechnology,2000,11(2):157-161.
- [20] 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(1):7-11. (Gu J Q, Zhang Z Q, Zhou Y, et al. Screening and identification of mutants induced from rice Zhonghua 11 (*Oryza sativa* L. subsp. Japonica) by EMS[J]. Acta Agricultural Shanghai,2005(1):7-11.)
- [21] Greene E A, Codomo C A, Taylor N E, et al. Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in *Arabidopsis*[J]. Genetics,2003,164(2):731-740.
- [22] 王丕武,刘宗昭. EMS 诱发大豆农艺性状的遗传变异[J]. 中国油料,1991(2):9-13. (Wang P W, Liu Z Z. Induced genetic variation in soybean agronomic characters by EMS[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences,1991(2):9-13.)