

文章编号:1000-8551(2013)03-0307-07

大豆绥农 14 突变体库构建及株高性状分析

谢圣男¹ 王宏光² 杨 振² 刘春燕² 蒋洪蔚²
辛大伟¹ 胡国华^{2,3} 陈庆山^{1,3}

(¹东北农业大学,黑龙江 哈尔滨 150030;²黑龙江省农垦科研育种中心,黑龙江 哈尔滨 150090;

³国家大豆工程技术研究中心,黑龙江 哈尔滨 150050)

摘要:应用甲基磺酸乙酯(EMS)对绥农 14 大豆种子进行诱变,并构建大豆突变体库。结果在 M₂ 分别获得 120 份茎、叶、花、种子等性状变异的材料,其中 38 份是株高突变体。用 100 个 SSR 分子标记分别对 120 株突变体进行遗传背景鉴定。结果表明:120 份突变体中有 5 株与对照绥农 14 有超过 9 个标记的差异,10 株与对照有少于 3 个标记的差异;另外利用前人定位的与株高相关的 46 个标记对其中 38 份株高突变体进行鉴定,发现只有高突变体 E790 在 Sat_168 位点有差异。本研究获得的突变体可以作为新的种质资源,同时构建的突变体库也有助于大豆功能基因组研究的发展。

关键词:大豆;EMS 诱变;突变体;绥农 14

Construction of SuiNong14 Mutant Library and Analysis of Soybean Height Mutant

XIE Sheng-nan¹ WANG Hong-guang¹ YANG Zhen² LIU Chun-yan²
JIANG Hong-wei² XIN Da-wei¹ HU Guo-hua^{2,3} CHEN Qingshan¹

(¹ Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; ² The Crop Research and Breeding Center of Land-Reclamation, Harbin, Heilongjiang 150090; ³ The National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin, Heilongjiang 150050)

Abstract: A primary soybean mutant library was constructed by treating the seeds of cultivar ‘SuiNong 14’ with EMS. In M₂ generation, 120 mutants with phenotypes of stems, leaves, flowers, and seeds were obtained, including 38 plant height mutants. All mutants were identified by 100 SSR markers. The results showed that among 120 mutants, there were 5 mutants with more than 9 polymorphic markers and 10 mutants with less than 3 markers. In addition, for the 38 height mutants were identified by 46 SSR markers related to soybean plant height trait. Only mutant E790 showed difference from wild type ‘SuiNong14’ on Sat_168 marker. These mutants could be used as new breeding resource and will be helpful for the further research on soybean functional genomics.

Key words: Soybean; EMS; Mutant; SuiNong 14

遗传学发展史上最重要的突破之一人工诱发突变。突变对于生命科学研究有重要的意义,在科学发展的历史中,许多重大的发现和突破都是从获得突变

体开始的。辐射和化学诱变可引起基因产生高频率的突变,这样可以研究仅凭自发突变难以出现的表型。同时以突变体为材料进行基因功能的研究,可以快速

收稿日期:2012-07-06 接受日期:2013-01-16

基金项目:农业部转基因专项(2011ZX08004-001),十二五国家科技支撑计划(2011BAD35B06-1),黑龙江普通高等学校新世纪优秀人才培养计划(1252-NCET-004)

作者简介:谢圣男(1989-),男,黑龙江佳木斯人,硕士研究生,研究方向为大豆遗传育种。Tel:0451-55191945;E-mail:xieshengnan409@126.com

通讯作者:陈庆山(1973-),男,黑龙江林甸人,教授,博导,研究方向为大豆生物技术,E-mail:qshchen@126.com

准确的了解基因的功能。

目前主要诱变方法可以分为物理诱变,化学诱变和生物诱变。物理诱变主要包括:⁶⁰Co γ 射线^[1]、航天诱变、激光诱变、热中子诱变和快中子轰击诱变^[2];化学诱变主要包括:叠氮化钠和烷化类诱变剂诱变^[3];生物诱变主要包括:T-DNA 插入诱变^[4]和转座子介导诱变。

烷化类诱变剂 EMS(甲基磺酸乙酯)诱发产生的点突变,其突变频率高,育种实用性强。EMS 是一种常用的高效烷化类诱变剂,它可以通过碱基烷基化,转氨基,脱氨基作用使碱基发生改变,这样基因组上便出现错配的碱基,诱发产生点突变。其中主要是 G/C→A/T 的转变^[5],EMS 诱变的优势就是不需进行遗传转化,容易形成点突变,而又不容易对染色体造成畸变,造成基因失活或部分失活,另外 EMS 诱发后代产生的突变多为显性性状^[6],突变体易于筛选,因而被广泛地利用于突变体库的构建。

EMS 所诱发点突变频率因不同的植物而异,据报道六倍体小麦发生突变频率最高^[7],其他依次为四倍体小麦、拟南芥^[8]、玉米^[9]和大麦。目前已经在拟南芥、玉米、小麦等植物中利用 EMS 诱变技术构建了突变体库。Kuraparthi 等^[10]构建了二倍体栽培一粒小麦 (*Triticum monococcum* subsp. *monococcum*) EMS 突变体库,从中筛选到单分蘖突变体,并成功地将控制分蘖的基因 *tin3* 定位在染色体上。Slade 等^[11]利用 EMS 诱变六倍体小麦,创造了 *Waxy* 基因的不同变异类型,并将这些不同变异重组获得了糯性小麦。Till 等^[9]利用 EMS 诱变玉米,构建了基于点突变的 TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes) 平台。Greene 等^[8]利用 TILLING 技术对 EMS 诱发拟南芥基因突变进行了系统的研究,在 192 个基因中发现了约 1900 个突变位点。

大豆是古四倍体植物,诱变成功并且在后代中同时出现表型差异很困难,韩锁义等^[3]利用 EMS 诱变大豆品种南农 86-4 获得一系列除叶、茎、花、种子、子叶、蛋白含量等常见性状变异材料以外,还发现了花器官变异、3 片子叶、子叶折叠和匍匐生长等自然变异很难出现的表型变异材料。李葳等^[12]利用 EMS 诱变大豆,获得了矮秆和半矮秆的突变体,并用 GA₃ 处理两种突变体,发现 GA₃ 对矮秆和半矮秆作用存在差异。本研究通过 EMS 诱变大豆品种绥农 14 获得大量表型变异突变体,并对这些突变体进行初步分析,不仅为育种研究提供了新的种质资源,也为大豆基因功能分析提供了重要材料。

1 材料与方法

1.1 供试材料

黑龙江省主栽品种绥农 14,由黑龙江省农科院绥化分院提供。

1.2 诱变处理方式

1.2.1 诱变浓度筛选用 0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8% 5 种不同浓度的 EMS 分别处理 50 粒绥农 14 种子 8h,处理后种于发芽盒中,同一浓度设 2 次重复,并观察出苗情况,确定半致死剂量。

1.2.2 诱变处理 2010 年 4 月 30 日,在黑龙江省农垦科研育种中心用纯水浸种 1h,然后用半致死浓度为 0.4% 的 EMS 处理约 10 万粒种子 8 h。流水冲洗浸泡过的种子,阴干 12h,阴干后第 2 天播种。

1.3 播种与收获

2010 年 5 月 2 日于黑龙江省农垦科研育种中心实验实习基地播种,处理过的约 10 万粒种子播种在 5 米行长的小区共 400 行,每行 200 株,其余种在保护行,10 月收获单株。

2011 年 5 月 1 日从 M₂ 种子中取出 5000 株,每株取 20 粒种成 1 米株行,株距 5cm,共 5000 行。从 6 月出苗起就开始田间调查,找出与绥农 14 表型差异较大的候选突变体,10 月份单株收获突变株种子。

1.4 表型性状调查及筛选

1.4.1 表型性状调查 2011 年对 EMS 处理获得的 M₂ 植株,自 5 月 10 日出苗开始,全生育期每 3~5d 田间调查一次,以标准绥农 14 为参照,观察记载叶形、叶色、株高、花色、种子颜色、莢颜色、熟期等性状^[13]。

1.4.2 M₂ 候选突变体筛选标准 M₂ 植株以标准绥农 14 为参照,表型与绥农 14 差异大的为候选突变体。如标准绥农 14 为长叶紫花,圆叶和白花就是候选突变体。在同一生育期甚至全生育期株高低于标准绥农 14 一半的为矮化候选株高突变体。另外在成熟期方面,当标准绥农 14 已经达到成熟颜色籽粒饱满的 R8 期,而 M₂ 植株中出现表形仍为绿莢并且推迟 7d 以上成熟的,认为是晚熟的候选熟期突变体。

1.5 SSR 分析

参照大豆数据库 (<http://soybase.ncgr.org/>),均匀选取分布于大豆整个基因组的 100 个 SSR 位点,对田间调查的表型突变体进行遗传背景检测。

根据孙亚男等^[14]元分析结果中定位的 12 个与株高相关的位点(表 1),找出 46 个标记对 38 份株高突变体进行鉴定。

表 1 株高相关 12 个区间中的标记
Table 1 Markers in 12 section related to soybean plant height

连锁群	SSR 标记
Item	SSR marker
GM11 (B1)	Satt426, Sat_411, Satt509, Sat_261, Sat_156
GM11 (B1)	Sat_149, Satt519, Satt298
GM11 (B1)	Sat_095, Satt583, Sat_364, Satt444, Satt665
GM04 (C1)	Satt365
GM01 (D1a)	Satt342, Sat_359
GM13 (F)	Sat_197, Satt554, Satt218
GM18 (G)	Sat_168, Satt309, Sat_141, Sat_163, Satt356, Satt688, Satt570, Satt217
GM09 (K)	Satt137, Satt178
GM09 (K)	Satt178, Satt349, Satt055, Satt555
GM09 (K)	Satt441, Satt264, Satt417, Satt552
GM07 (M)	Satt590, Satt636, Satt201, Satt150, Sat_316, Satt567
GM07 (M)	Satt540, Satt435, Sat_244

2 结果与分析

2.1 诱变效应

2.1.1 浓度筛选 自处理后播种,每天调查发芽情况,由图 1 可以看出经过 2 周的调查,发现 0.4% 浓度 EMS 处理的 2 盒种子出苗情况为 18/50 和 22/50,出苗率为 40%,接近半致死。经 0.5%、0.6%、0.7%、0.8% 不同浓度 EMS 处理的种子出苗率分别为 27%、16%、23%、8%。

2.1.2 田间调查 2010 年调查出苗及生长状况,有断垄情况出现,随机抽查 5 垄,发现出苗情况为

80/200、113/200、136/200、58/200 和 96/200,统计出苗率为 48.3%,产生大量致死突变。处理的 M_1 都表现为表型无明显变化,但结荚少。由于半致死剂量的 EMS 诱变和田间生长死亡,2010 年秋季只收获了 25000 份单株。

2.2 表型性状分析

2011 年在播种的 M_2 群体中,对全生育期展开不同性状的调查,发现 120 株表型变异株(表 2),其中包括叶、茎、花、种子、荚和生育期共 6 大类突变。

2.2.1 叶突变 在诱变群体中有大量叶性状突变体出现。其中白化苗在苗期全部死亡,黄化苗部分死亡,存活 18 株。还有 6 株由绥农 14 的长叶突变为圆叶(图 2-5),EMS 处理获得的 M_2 植株中有叶片变皱的突变体。叶突变在所有表型突变中占有很大比例。

2.2.2 茎突变 在诱变群体中有很多茎突变出现。由 EMS 诱变获得的 M_2 植株中,主要包括 37 株矮化株(图 2-1)、1 株高突变株和 1 株匍匐株。矮秆突变株与野生型对照相比明显偏矮,同时叶片和茎秆与对照相比偏小。其中有些矮秆突变体的节数减少,部分节间缩短,其主花序也明显短于对照,表现为密花性状。另外,还发现 6 株在茎根部有 4~5 个分枝的表型变异(图 2-7)。

2.2.3 花突变 在诱变群体中有少量花突变出现。主要是花色的变异,其中包括 2 株由紫花变为白花。另外,在花型方面,标准绥农 14 花型为两个龙骨瓣对称生长(图 2-4),而在后代群体中发现 3 株有两朵花为 3 个龙骨瓣的花器官变异株(图 2-3),3 个龙骨瓣呈三角形排列。

2.2.4 种子突变 在诱变群体中,出现 1 株种皮颜色

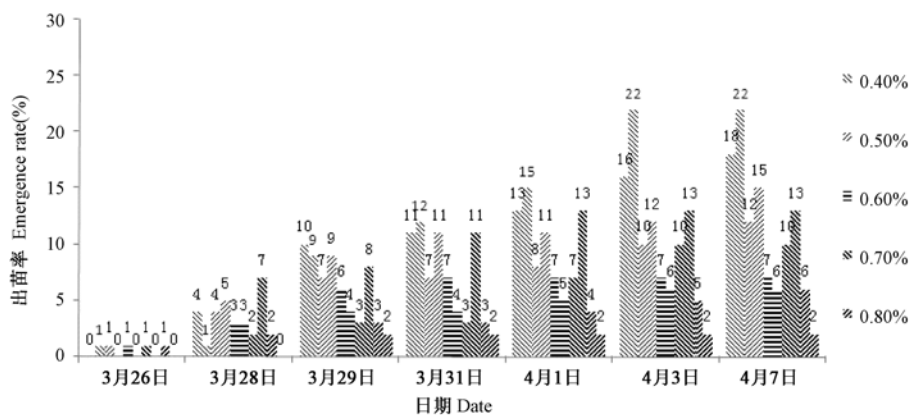


图 1 不同 EMS 浓度分别处理 50 粒绥农 14 种子的出苗率

Fig. 1 Emergence rate of 50 SuiNong14 seeds, treated by different EMS concentration

由黄色突变为褐色的表型变异突变体。

2.2.5 荚突变 标准绥农 14 结荚习性是亚有限结荚习性,在诱变群体中,出现 2 株结荚习性为无限结荚的突变株。另外还出现 2 株结荚数目明显增多的高产突变株。

2.2.6 生育期突变 在诱变群体中有较多生育期改变的突变体,主要表现早花、早熟或晚熟。其中 19 株比对照早开花 2d,2 株比对照提前 15d 达到全株成熟颜色,20 株比对照推迟成熟 7d。

表 2 0.4%EMS 诱变获得突变体性状初步分类
Table 2 Basic character category of 0.4% EMS treated mutants

器官 Apparatus	绥农 14 标准表型 Criterion phenotype of SuiNong14	突变表型 Mutant phenotype	突变株数(M ₂) Mutant number
叶 Leaf	绿色 Green color	黄化苗 Etiolated seedling	18
	长叶 Long leaf	圆叶 Round leaf	6
茎 Stem	2 分枝 Two branching	矮秆植株 Dwarf	37
		高秆 Higher	1
		多分枝 Multiple branching	6
		匍匐茎 Sprawl	1
花 Flower	紫花 Purple color flower	白色花 White color flower	2
	两枚对称龙骨瓣 Two-tropis	三枚龙骨瓣 Three-tropis	3
种子 Seed	种皮黄色 Yellow seed	暗色种皮 Dark seed	1
荚 Pod	亚有限结荚习性 Sub-definite podding habit	无限结荚习性 Indefinite podding habit	2
	单株荚数 46 The number of pods (46)	密荚 Tight(单株荚数 80 以上)	2
生育期 Growing time	9.18 日完全成熟	早熟 Premature(8 月 30 日左右成熟)	2
		早花 Early flowering time	19
		晚熟 Later mature(9 月 25 日左右成熟)	20

2.3 SSR 分析

2.3.1 全基因组扫描对 田间调查选出的突变体进行标记多态性分析,结果表明部分突变单株与绥农 14 在 SSR 标记上存在差异,个别株系还在很多标记存在差异,如 E790 和 E3296 都与绥农 14 有超过 9 个标记的差异,其中 E790 为株高突变体,株高在 123cm 左右,而当年即 2011 年的绥农 14 平均株高在 81.5cm,差别明显。E3296 为叶形熟期突变体,由绥农 14 的长叶突变为圆叶,熟期延长 10d,且与对照差异很大。所以 E790 与 E3296 都可以作为突变材料进行下一步的分析。表 3 中还有一些突变体与对照绥农 14 相比仅有少于 3 个标记的差异。

2.3.2 株高相关位点扫描 通过田间调查,一共发现 37 株矮秆突变体和 1 株高秆突变体,通过与株高相关的 46 个标记对 38 株株高突变体与对照做多态性分析。发现多数突变体在这 46 个标记上没有差异,只有高突变体 E790 在标记 Sat₁₆₈ 有差异,而其它矮秆突变体与标准绥农 14 比较无多态性差异。

3 讨论

3.1 诱变效果

当今基因功能研究主要有两个有效的方法,DNA 插入诱导和基于 RNA 的基因沉默^[5],而这两种技术均依赖转基因方法引入外源 DNA。对拟南芥这种模式植物来说,基因的导入已不是限制因素,而对于其他大多数植物来说(如大豆)依然不能满足需要,而且再生过程会遇到很多困难。本试验中由于致死突变株已经死亡,所以利用 EMS 构建突变体库,可以对可能涉及到亚致死基因的表达分析起到一定的帮助。

石从广等^[15]利用高浓度 EMS(2.0%)处理油菜与 CK 萌发时间相差达到 25d,表明高剂量 EMS 对油菜的萌发和生长具有强烈抑制作用,而且对单粒种子抑制效果不一致导致了萌发的整齐度很差。张凤启等^[16]利用 4 种浓度 EMS 处理甘蓝型油菜 NJ7982 种子,发现 0.4% 浓度 EMS 诱变效果显著。本试验用不同浓度 EMS(0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%)处理



图 2 突变体表型

Fig. 2 The phenotypes of mutants

1:矮化突变表型;2:同时期对照绥农 14 株高;3:三枚龙骨瓣的花型变异;4:对照绥农 14 花型;5:圆叶突变体;
6:对照绥农 14 为长叶表型;7:多分枝变异表型;8:晚熟突变表型;9:对照绥农 14 标准株型;10:高突变表型
1:Dwarf; 2:Height of wild type; 3:Three tropis; 4:Flower of wild type; 5:Round leaf; 6: Leaf of wild type; 7:Multiple branches;
8:Late mature; 9:Maturity of wild type; 10: Higher plant

表 3 突变体 SSR 标记鉴定

Table 3 SSR identification for mutant

突变体 Mutant	多态性引物数量 Polymorphic primer number	有差异的 SSR 标记 SSR marker
E270	2	Sat_231, Satt172
E790	9	Satt285, Satt345, Satt534, Satt664, Satt713, Satt716, Satt726
E813	1	Satt358
E1245	3	Satt289, Satt366, Satt396
E1304	9	Sat_268, Sat_283, Satt242, Satt285, Satt317, Satt396, Satt511, Satt622
E1706	9	Sat_149, Sat_167, Sat_231, Sat_270, Sat_283, Sat_288, Sat_296, Sat_306, Sat_334
E1708	1	Satt396
E1851	1	Satt396
E1980	5	Sat_149, Satt285, Satt534, Satt622, Satt726
E2019	6	Satt534, Satt632, Satt664, Satt674, Satt713, Satt727
E2110	2	Satt242, Sat_283
E2132	3	Sat_149, Sat_163, Sat_310
E3296	10	Sat_149, Sat_167, Sat_268, Sat_270, Sat_283, Sat_293, Sat_296, Sat_389, Satt251, Satt278
E3300	1	Sat_279
E3833	7	Sat_231, Sat_270, Sat_334, Sat_381, Satt227, Satt632, Satt713
E4513	3	Satt726, Satt632
E4577	1	Sat_389
E4860	10	Sat_163, Sat_351, Sat_365, Sat_389, Sat227, Satt228, Satt242, Satt259, Satt285, Satt289

大豆种子,发现0.4%浓度的EMS诱变接近半致死,而随着浓度的升高,剂量的加大,死亡率也逐渐升高,说明剂量越大,成活率越低。无论是选择育种材料还是进行基因功能研究都需要存活的植物,浓度过大诱变后代群体过低,不利于后代筛选。

3.2 诱变表型鉴定

丰富的种质资源是植物遗传育种和功能基因组学研究的重要基础,育种进程在很大程度上依赖于可利用的植物材料资源中遗传变异的有效使用。韩锁义等^[1]利用EMS诱变大豆获得了47份蛋白质含量比对照高5个百分点以上的材料,5份蛋白质和油分总含量比对照高5个百分点以上的材料,这些突变体可以作为新的种质资源或中间资源,为新品种的选育打下基础。矮秆、粗壮、叶片挺直、叶色深绿、长花序等是大豆育种可以利用的性状。本试验所选用的品种绥农14具有产量高、农艺性状好等优点,在此基础上通过诱变技术获得的一些突变体在株高、叶色、花色、花型、熟期等性状方面表现特殊,在大豆改良育种中可以加以应用。由于时间所限,本试验EMS诱变的大豆种质资源只验证到M₂植株,但M₂的种子已得到保存,通过进一步的世代筛选和鉴定,并结合分子标记辅助选择,以期选育获得长势好、农艺性状好的大豆新品系。

3.3 突变体分子标记鉴定

韩锁义等^[3]利用EMS诱变大豆94-16获得了8株叶色浅绿突变体,并通过644个标记对叶色浅绿突变体进行鉴定,结果表明叶色浅绿突变体与常绿对照有39个标记的差异,且分布于多个连锁群,也表明该材料除了叶色位点发生变异外,其他位点也发生了变异。本试验大豆20条连锁群上平均找到的分子标记,对120份突变体进行全基因组遗传背景扫描,发现有2株与对照有超过10个标记的差异,其余植株分别有1~7个标记的差异。差异在10个标记以上并且各标记不在同一条连锁群上,可以认为突变很剧烈,也可以说发生生物学混杂,这些都有待于M₃进行表型验证。另外差异在3个标记以下的突变体,差异位点单一,可用于寻找位点附近的基因或挖掘新基因,并继续探索基因功能。通过株高相关的46个标记对株高突变体进行鉴定,发现除高突变体有一个位点有差异外,其它株高突变体均无差异,有可能是标记还不够,还需在区间内增加标记,标记Sat₁₆₈是通过元分析定位的一系列标记中的一个标记,此标记附近Sat₃₀₉, Sat₁₄₁, Sat₁₆₃和Sat₅₇₀等标记均无报到过与株高相关^[14]。最后可以根据前述的连锁群位点设计引物,扩增出特异片段利用HRM法或CEL I酶法检测出突变碱基位

置。

4 结论

本研究确定的EMS诱变大豆半致死浓度与前人结果一致,并利用这一浓度构建了黑龙江省主栽品种绥农14的EMS突变体库。该突变体库包括丰富的形态变异类型,特别是一些自然变异中不常见的变异类型如株高只有20~30cm的突变体和3枚龙骨瓣的花型突变体等,在突变体库中发现的重要农艺性状突变体—矮秆、密荚等将成为大豆高产、高品质要素很好的切入点。绥农14突变体库的构建将为中国大豆的育种研究提供理想的试验材料。另外,通过大豆全基因组标记筛选,选出与绥农14有少于3个标记的突变体,筛到这些位点很可能是突变剧烈位点,可以在这些位点挖掘有利基因并作基因功能的分析。

参考文献:

- [1] 韩锁义,杨玛丽,陈远东,于静静,赵团结,盖均益,喻德跃. 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(12): 131-135
- [2] Bolon Y T, Haun W J, Xu W W, Grant D, Stacey M G, Nelson R T, Gerhardt D J, Jeddeloh J A, Stacey G, Muehlbauer G J, Orf J H, Narve S L, Stupar R M, Vance C P. Phenotypic and Genomic Analyses of a Fast Neutron Mutant Population Resource in Soybean [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156: 240-253
- [3] 韩锁义,张恒友,杨玛丽,赵团结,盖钧镒,喻德跃. 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
- [4] 张建,徐金相,孔英珍,级振动,王兴春,安丰英,李超,孙加强,张素芝,杨晓辉,牟金叶,刘新仿,李家洋,薛勇彪,左建儒. 化学诱导激活型拟南芥突变体库的构建及分析[J]. 遗传学报, 2005, 32(10): 1082-1088
- [5] 孙洁,崔海瑞. TILLING技术及其应用[J]. 细胞生物学报, 2007(29): 41-46
- [6] 陈洋,高兰英,邵艳军,张增艳. 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
- [7] 赵天翔,孔秀英,周荣华,高双成,贾继增. EMS诱变六倍体小麦偃展4110的形态突变体鉴定与分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(3): 755-764
- [8] Greene E A, Codomo C A, Taylor N E, Henikoff J G, Till B J, Reynolds S H, Enns L C, Burtner C, Johnson J E, Odden A R, Comai L, Henikoff S. Spectrum of Chemically Induced Mutations From a Large-Scale Reverse-Genetic Screen in Arabidopsis [J]. *Genetics*, 2003, 164: 731-740
- [9] Till B J, Reynolds S H, Wei C, Springer N, Bulter C, Young K, Bowers E, Codomo CA, Enns L C, Odden A R, Greene E A, Comail, Henikoff S. Discovery of induced point mutations in maize

- genes by TILLING[J]. BMC Plant Biology, 2004,4:12-18
- [10] Kuruparth V, Sood S, Dhaliwal H S, Chhuneja P, Gill B S. Identification and mapping of a tiller inhibition gene(tin3) in wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007,114:285-294
- [11] Slade A J, Fuerstenberg S I, Loeffler D, Steine M N, Facciotti D. A reverse genetic, nontransgenic approach to wheat crop improvement by TILLING[J]. Nature Biotechnology,2005,23,75-81
- [12] 李 葳,朱保葛,徐民新,张利明,陈修文,马文平,智艳阳. 矮秆和半矮秆大豆突变体植株生长对外源 GA_3 的相应[J]. 作物学报, 2008,34(7):1240-1246
- [13] 天佩占,王曙光,孙 寰. 中国大豆图志[M]. 长春:吉林科学技术出版社, 2010
- [14] 孙亚男,齐照明,单大鹏,刘春燕,胡国华,陈庆山. 大豆株高 QTL 的定位与整合分析[J]. 分子植物育种,2010,8,(4):687-693
- [15] 石从广,孟华兵,姜宇晓,朱亚娜,陈明训,郭万里,蒋立希. 甘蓝型油菜 EMS 诱变二代农艺与籽粒品质性状的变异与 TILLING 库的构建[J]. 核农学报,2010,24(6):1132-1140
- [16] 张凤启,黄永娟,杨甜甜等. EMS 诱变甘蓝型油菜 M_2 代群体的表型突变研究[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(6):760-765