

中品 661 EMS 诱变后代高蛋白的 选择效果及新种质创制

魏中艳¹, 李忠峰², 刘章雄¹, 邱丽娟¹

(¹ 中国农业科学院作物科学研究所 / 农业部作物基因资源与遗传改良重大科学工程 / 农业部作物
基因资源与种质创制重点实验室, 北京 100081; ² 河南农业大学农学院, 郑州 450046)

摘要: 大豆是重要的植物蛋白来源, 高蛋白大豆种质创新对于我国食用大豆育种及优异基因发掘具有重要意义。为获得优异高蛋白大豆资源, 本研究利用 NIR 法测定 EMS 诱变中品 661 (Zp661) M₂~M₇ 籽粒的蛋白质含量, 系统分析连续选择对蛋白变异的影响, 旨在创制高蛋白优异种质, 为大豆品质改良育种提供优异资源。结果表明, 1971 个 M₂ 单株籽粒蛋白质含量变异幅度为 34.96%~50.16%, 平均值为 42.97%, 较野生型 (40.88%) 提高 5.11%, 其中 17.65% 的 M₂ 单株籽粒蛋白质含量高于 45%。M₂ 高蛋白含量个体经过定向连续选择, 整体呈下降趋势; 相比之下, M₂ 低蛋白含量个体定向选出的高蛋白含量种质遗传增益效果明显。在 M₇ 获得 9 个高蛋白含量稳定种质 (m1~m9), 平均蛋白质含量为 48.17%, 较野生型 (41.19%) 平均提高 16.94%, 遗传增益为 7.23%。其中 m1~m7 来自 M₂ 高蛋白含量个体 20722 (47.21%), 而 m8~m9 来自 M₂ 低蛋白含量个体 3442 (38.51%)。这些高蛋白纯合种质的农艺性状相关性分析发现, m2、m4 和 m5 的蛋白质含量分别与百粒重和单株粒重呈显著正相关, 说明通过选择可以实现蛋白质含量与产量的同时提高, 获得高产优质的优异种质。

关键词: 大豆; 蛋白质含量; 甲基磺酸乙酯; 遗传变异

The Selection Effect and Germplasm Innovation for High Protein Content on EMS Mutated Zp661 Progenies

WEI Zhong-yan¹, LI Zhong-feng², LIU Zhang-xiong¹, QIU Li-juan¹

(¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences / The National Key Facility for Crop Gene Resources
and Genetic Improvement (NFCRI) / Key Laboratory of Crop Gene Resource and Germplasm Enhancement (MOA),
Beijing 100081; ² College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046)

Abstract: Soybean is an important source of vegetable protein, and innovation of high-protein soybean germplasm becomes of importance in breeding for elite soybean varieties and exploring the underlying mechanism. In order to obtain the high-protein soybean germplasm resources, the protein content of EMS mutagenized "Zp661" M₂ population were measured following the NIR (Near-Infrared Reflectance) method, and the subsets of selected offspring lines were further investigated. The results showed that the protein content of 1971 M₂ seeds ranged from 34.96% to 50.16% with an average of 42.97%, being 5.11% higher than wild type (40.88%). The protein content in 17.65% of tested M₂ samples was higher than 45%. The mutants with high protein content showed a constant reduction in offspring lines in each of generations, whereas an increasing protein content was also observed in offspring lines of M₂ mutants with low-protein content. Notably, we identified nine high protein M₇ homozygous mutants (m1~m9) with a mean of 48.17%, which were 16.94% higher than

收稿日期: 2019-04-24 修回日期: 2019-06-10 网络出版日期: 2019-07-24

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190424005>

第一作者研究方向为植物分子生物学与基因工程, E-mail: w_zhongyan@163.com

通信作者: 邱丽娟, 研究方向为大豆基因资源发掘与利用, E-mail: qjulijuan@caas.cn

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程项目; 大豆种质资源保护与利用 (2019NWB036-05); 国家农作物资源共享平台 (NICGR2019)

Foundation project: Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Protection and Utilization of Soybean Germplasm Resources (2019NWB036-05), National Crop Resources Sharing Platform (NICGR2019)

wild type (41.19%), with an increased 7.23% genetic gain. The mutants *m1* to *m7* were derived from sergeants of the M_2 high-protein content mutant 20722 (47.21%), while *m8* and *m9* were derived from the M_2 low protein content mutant 3442 (38.51%). Furthermore, that protein content in *m2*, *m4* and *m5* was found to be significantly positively correlated with 100-seed weight and single plant seed yield. Thus, the findings implied no negative correlation between protein content and yield production in some of mutants, and these germplasm resources might become valuable in future breeding for soybean varieties with simultaneous high-yield and high-quality.

Key words: soybean; protein content; EMS; genetic variation

大豆 (*Glycine max* L.Merr.) 作为世界上最重要的经济作物之一, 为人类提供了占世界植物蛋白供应市场 70% 左右的蛋白质资源^[1], 同时也是我国植物蛋白的主要来源。如今, 随着人们饮食观念的改变, 豆制品已成为人类日常膳食的重要部分, 这也使得人们对高品质大豆的需求日益增加^[2]。我国大豆种质资源丰富, 但品质并不高, 缺少优异资源^[3]。因此, 培育高蛋白大豆一直是我国大豆品质育种的重点, 改良大豆品质具有重要的理论意义和应用价值。

蛋白质含量是受多基因控制的数量性状, 且受环境影响较大^[4]。通过常规育种方法, 很难快速准确地获得稳定遗传的高蛋白优异资源。近年来, 人工诱变筛选突变体是获得优异资源的重要途径。常见的诱变方法有 4 种^[5]: (1) 物理诱变, 如紫外线、X 射线和快中子辐射; (2) 化学诱变, 如甲基磺酸乙酯、N-乙基-N-亚硝基脲等; (3) 生物制剂诱变, 如 T-DNA 和转座子插入等^[6]; (4) 转基因技术, 如基因编辑和 RNA 干扰等^[7-8]。其中, 甲基磺酸乙酯 (EMS, ethyl methanesulfonate) 是诱变育种中使用最多的化学诱变剂, 具有高效诱发点突变、突变专一、多效等优点^[9-10]。早在 20 世纪 60 年代, 人们就已经采用 EMS 进行诱变育种^[11]。EMS 诱变不仅可以影响产量因子的遗传变异, 还可以引起蛋白质、脂肪含量的改变^[12]。于秀普等^[12]利用 0.8% EMS 处理冀豆 1 号和冀豆 6 号, 从 M_2 开始选择, 在 M_4 选出高蛋白突变体 3 个。冯悟一等^[13]利用 0.4% EMS 处理荷豆 12 号, 在 M_4 发现 40%~50% 的突变体后代的蛋白含量显著高于对照组, 获得一批高蛋白突变体材料。郭玉虹等^[14]利用有性杂交与诱变相结合的方法创制了新的高蛋白品系, 通过热中子辐照合丰 22 号 (39.3%) × PI407.788A (50.7%) 的 F_1 籽粒, 从 M_3 选出 3 个高蛋白突变系, 含量分别为 47.46%、47.02% 和 47.53%。前人报道 EMS 诱变突变体 M_2 是分离变异较大的世代^[15], 在 M_2 开始对品质性状进行连续选择, 对后代突变体的蛋白含量提高和稳定保持无疑将起到正

向的积极作用。

本试验采用 EMS 处理大豆中品 661 (Zp661) 种子, 利用近红外谷物品质分析仪对 M_2 种子进行蛋白质含量的测定。随后选择高或低蛋白含量个体从 2013 年 (M_3) 至 2017 年 (M_7) 进行连续的鉴定与筛选, 最终获得 9 个高蛋白稳定种质, 并对其遗传变异规律和主要农艺性状进行分析, 以期为大豆品质育种及遗传改良提供优异资源。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验以 1971 个 EMS 诱变 Zp661 的 M_2 突变体单株为试验材料, 于 2012-2017 年连续 6 年种植于中国农业科学院顺义基地 (40.1°N, 116.6°E)。每个单株播种成一个株行, 行长 5 m、行距 45 cm、株距 15 cm, 夏播。每 50 行设置 2 行野生型 Zp661 作为对照。

1.2 主要农艺性状调查

成熟期对突变体进行主要农艺性状调查, 每行随机取 5 株连续植株, 进行株高、有效分枝、主茎节数、百粒重和单株粒重的考种与统计。

1.3 蛋白含量测定

利用德国 Bruker 傅立叶型近红外光谱仪 (MPA) 对大豆籽粒样品进行光谱扫描, 通过软件 OPUS 以及蛋白质干基和脂肪干基模型, 对扫描光谱进行转换, 获得大豆蛋白质含量数据。每个样品独立测定 3 次, 数值用平均值表示。

1.4 数据分析

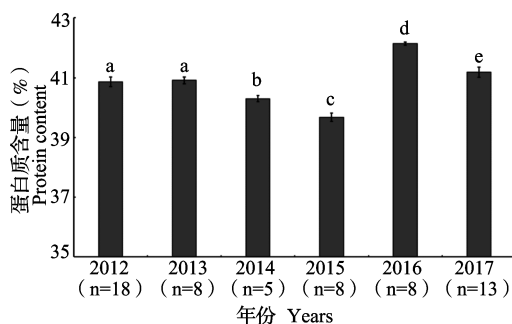
利用 SPSS 19.0 统计分析软件, 对蛋白质含量及主要农艺性状进行显著性测验与相关性分析。显著性测验采用的是 SPSS19.0 软件中比较均值模块下的单因素方差分析方法。而相关性分析采用的是相关分析模块下的双变量相关性分析。利用 R 3.2 软件中的 ggplot 包对不同世代间的所有供试突变体单株的蛋白含量进行运算, 并绘制散点分布图与箱型图。遗传增益计算方法参照吴裕等^[16]描述的方法: $\text{Genetic gain} = (V_2 - V_1) / V_1$, 其中 V_1 为原

品种平均值, V_2 表示改良后品种的平均值。

2 结果与分析

2.1 野生型大豆 Zp661 籽粒蛋白质含量分析

为了检测不同年份不同批次蛋白质含量测定的准确性, 每个世代每次测定样本时都测定了野生型 Zp661 的蛋白质含量, 以确保数据的准确可靠。如图 1 所示, 2012 年 18 个批次对照的平均蛋白质含量为 40.88%, 变异系数为 0.37%; 2013 年 8 个批次的平均蛋白质含量为 40.93%, 变异系数为 0.27%; 2014 年 5 个批次的蛋白质含量平均数为 40.34%, 变异系数为 0.25%; 2015 年 8 个批次的蛋白质含量平均数为 39.75%, 变异系数为 0.33%; 2016 年 8 个批次的蛋白质含量平均数为 42.10%, 变异系数为 0.12%; 2017 年 13 个批次的蛋白质含量平均数为 41.19%, 变异系数为 0.15%。同一年份不同批次的对照之间蛋白质含量无显著差异, 说明本试验稳定性好, 蛋白质含量数据准确可靠。方差分析显示, 不同年份间的对照之间存在差异, 其中 2012 年和 2013 年之间差异不显著, 但分别与 2014 年、2015 年、2016 年、2017 年差异显著, 这说明不同年份环境对蛋白质含量的影响很大。



n: 同一年份测定的野生型 Zp661 批次数。

不同小写字母表示差异显著水平 ($P < 0.05$), 下同

n: Number of wild type Zp661 measured in the same year. Different letters indicate significant difference at 0.05 level, the same as below

图 1 不同年份野生型 Zp661 的蛋白质含量

Fig.1 Protein content of wild type Zp661 in different years

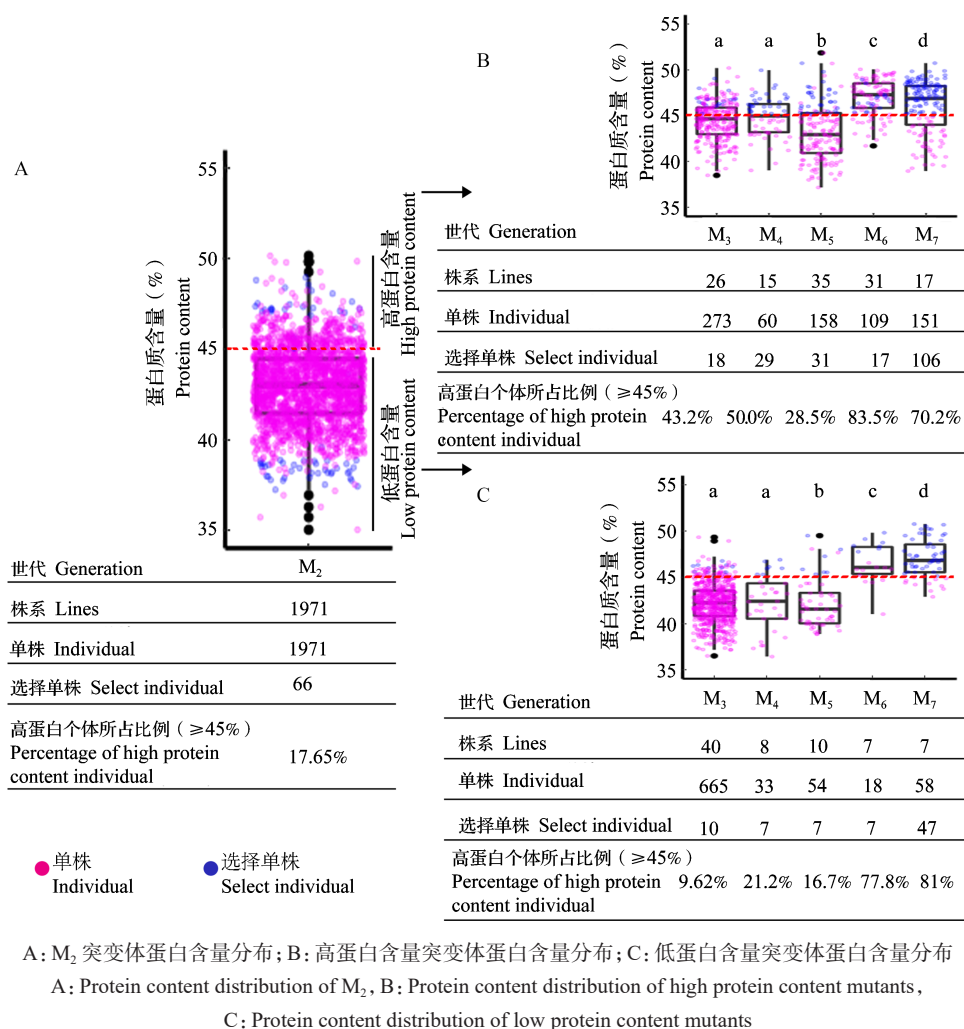
2.2 突变体不同世代籽粒蛋白质含量选择与变异

利用近红外谷物品质分析仪对 1971 个 EMS 诱变突变体 M_2 个体种子进行蛋白质含量测定。结果显示 (图 2), 蛋白质含量变异幅度为 34.96%~50.16%, 平均值为 42.97%, 变异系数为 4.97%。其中 348 个个体的蛋白质含量高于 45%, 占 17.72%。进一步选择其中高蛋白含量个体 26 株 (47.34%) 和低蛋白含量个体 40 株 (38.45%) 进行种植, 并以 45% 作为

蛋白含量筛选标准, 2013-2017 年对 M_3 ~ M_7 进行连续筛选, 发现各代突变体蛋白质含量均出现分离, 但变异范围存在差异。

来源于 26 个高蛋白含量个体的 273 个 M_3 单株蛋白质含量变异幅度为 38.48%~50.20%, 平均值 44.05%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 118 株, 占 43.2%; 选择其中 18 个单株进行种植, 衍生的 60 个 M_4 单株蛋白质含量变异幅度为 39.02%~49.96%, 平均值 44.81%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 30 株, 占 50.0%; 选择其中 29 株种植, 衍生的 158 个 M_5 单株蛋白质含量变异幅度为 37.15%~51.86%, 平均值 43.18%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 45 株, 占 28.5%; 选择其中 31 个单株种植, 衍生的 109 个 M_6 单株蛋白质含量变异幅度为 41.70%~50.06%, 平均值 47.01%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 91 株, 占 83.5%; 选择其中 17 株种植, 衍生的 151 个 M_7 单株蛋白质含量变异幅度为 38.95%~50.74%, 平均值 46.03%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 106 株, 占 70.2%。来源于 40 个低蛋白含量个体的 665 个 M_3 单株蛋白质含量变异幅度为 36.49%~49.33%, 平均值 42.18%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 64 株, 占 9.62%; 选择其中 10 个单株种植, 衍生的 33 个 M_4 单株蛋白质含量变异幅度为 36.41%~46.896%, 平均值 42.22%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 7 株, 占 21.2%; 选择其中 7 个单株种植, 衍生的 54 个 M_5 单株蛋白质含量变异幅度为 38.85%~49.50%, 平均值 42.17%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 9 株, 占 16.7%; 选择其中 7 个单株种植, 衍生的 18 个 M_6 单株蛋白质含量变异幅度为 41.01%~49.87%, 平均值 46.46%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 14 株, 占 77.8%; 选择其中 7 个单株种植, 衍生的 58 个 M_7 单株蛋白质含量变异幅度为 42.88%~50.76%, 平均值 47.00%, 其中蛋白质含量 $\geq 45\%$ 的个体为 47 株, 占 81%。 M_6 、 M_7 蛋白质含量普遍较高, 均值达到 45% 以上, 而 M_3 蛋白含量普遍较低, 这与不同年份间野生型 Zp661 蛋白质含量变化趋势一致, 是由于年份间差异造成的。相比之下, 高蛋白含量个体衍生的 M_3 ~ M_5 蛋白质含量均显著高于低蛋白含量个体的后代。无论高蛋白含量突变体还是低蛋白含量突变体, 在连续筛选过程中, 均在高世代 M_6 、 M_7 中具有较高的蛋白质含量。

24 个 M_7 株系可追溯至 3 个 M_2 单株, 分别是

图 2 M₂~M₇ 突变体蛋白质含量分布Fig.2 Distribution of M₂-M₇ protein content

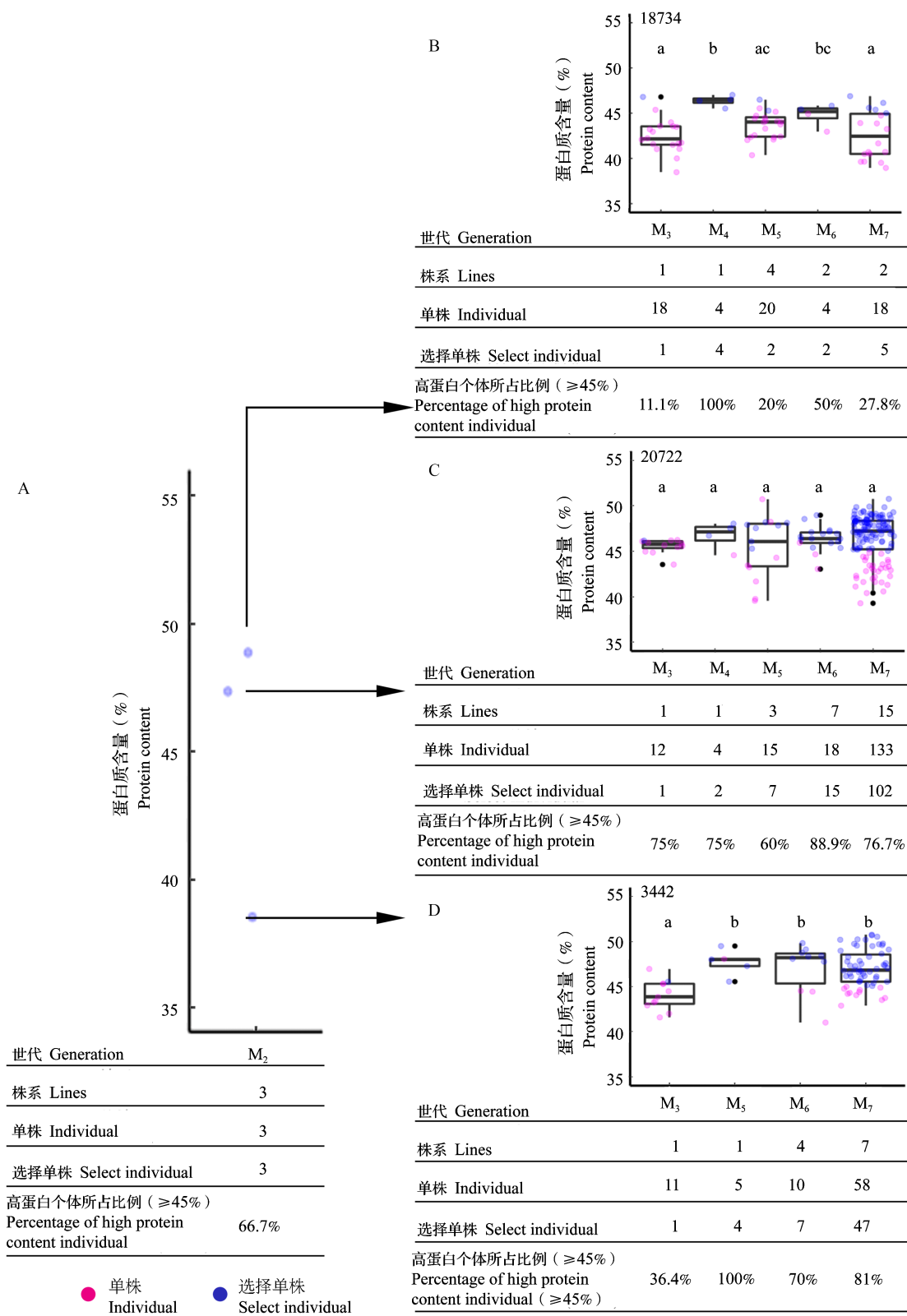
18734 (48.4%), 20722 (47.21%) 和 3442 (38.51%)。如图 3 所示, 低蛋白含量突变体 3442 在连续筛选过程中, 蛋白质含量随世代递增呈稳定上升趋势。3442 在 M₄ 因虫害收获种子较少, 无法进行蛋白含量测定。3442 在 M₇ 高于 45% 的个体数量占 M₇ 总体的 81.03%, M₇ 遗传增益高达 22.1% (表 1)。而高蛋白含量突变体 18734 和 20722 在连续选择过程中, 其蛋白含量均呈下降趋势, 在 M₇ 中高于 45% 的个体数量分别占 M₇ 总体的 27.8% 和 76.7%, M₇ 遗传增益分别为 -12% 和 -1.5%。推测这些高蛋白种质的基因型与 3442 低蛋白含量突变体衍生的高蛋白种质是不同的基因型。

2.3 高蛋白含量纯合突变体遗传增益及系谱追踪

进一步对来自 24 个 M₇ 株系的 209 个单株进行蛋白质含量分析, 高于 45% 的有 154 个。如图 4 所示, 9 个 M₇ 株系为高蛋白含量稳定种质 (m1~m9), 该

9 个株系的单株蛋白质含量均高于 45%, 而其他株系仍在分离。高蛋白含量稳定种质平均蛋白质含量为 48.17%, 较野生型 Zp661 平均提高 16.94%, 遗传增益分别为 -1%、1%、2%、0、3%、3%、1%、28% 和 28%。其中 m8 和 m9 遗传增益最高, m8 有 9 株, 蛋白质含量变异幅度 46.77%~50.53%, 平均蛋白含量为 49.22%, 较野生型 Zp661 提高 19.5%; m9 有 9 株, 变异幅度为 46.98%~50.76%, 平均蛋白含量为 47.27%, 高于其他 8 个纯合突变体, 较野生型 Zp661 提高 19.62%。

高蛋白含量稳定种质系谱追踪发现 m1~m9 分别来源于 2 个 M₂ 单株 (图 4)。其中 m1~m7 来源于高蛋白含量个体 20722 (47.21%); 而 m8~m9 来自低蛋白含量个体 3442 (38.51%), 在 M₃~M₆ 分离世代连续筛选高蛋白含量单株, 最终创制稳定高蛋白含量种质, 为挖掘控制蛋白含量基因和培育大豆高蛋白种质奠定了材料基础。



A: 3 个衍生高蛋白种质的 M₂ 株系的蛋白含量分布; B: 18734 在不同世代间的蛋白含量分布;
C: 20722 在不同世代间的蛋白含量分布; D: 3442 在不同世代间的蛋白含量分布
A: Protein content distribution of 3 derivate germplasm lines for high protein, B: Protein content distribution of 18734 in different generations,
C: Protection content distribution of 20722 in different generations, D: Protein content distribution of 3442 in different generations

图 3 3 个衍生高蛋白种质的株系在不同世代间的蛋白含量分布
Fig.3 Protein content distribution of 3 derivative germplasm lines for high protein in different generations

表 1 3 个衍生高蛋白种质的株系不同世代间蛋白含量变异及遗传增益
Table 1 Protein content variation and genetic gain of 3 derivative germplasm lines for high protein in different generations

名称 Name	不同世代突变体的蛋白质含量(%) Protein content of mutants in different generations						遗传增益(%) Genetic gain
	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇	
18734	48.40	42.46 ± 1.93	46.35 ± 0.62	43.68 ± 1.48	44.79 ± 1.27	42.59 ± 2.65	-12
20722	47.21	45.53 ± 0.78	46.69 ± 1.53	45.44 ± 3.37	46.37 ± 1.34	46.50 ± 2.47	-1.5
3442	38.51	44.05 ± 1.64	-	47.68 ± 1.44	47.03 ± 2.78	47.00 ± 2.06	22.1
Zp661 (CK)	40.88	40.93 ± 0.11	40.34 ± 0.10	39.75 ± 0.13	42.10 ± 0.05	41.19 ± 0.06	-

数值为平均值 ± SD; -: 数据缺失
Values are means ± SD, -: Missing data

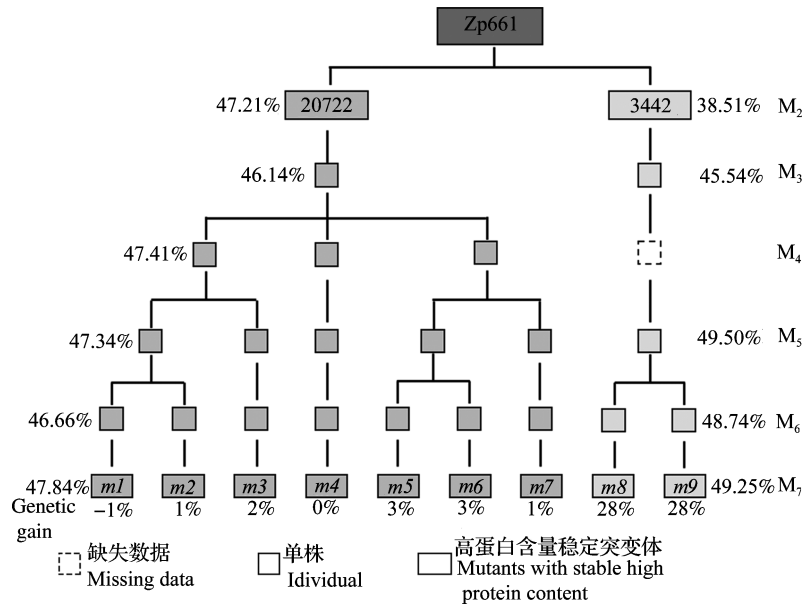


图 4 高蛋白含量突变体系谱追踪
Fig.4 Pedigree of high protein content mutants

2.4 高蛋白种质主要农艺性状相关性分析

进一步对高蛋白种质的蛋白质含量和主要农艺性状进行相关性分析(表 2),其中 *m1*、*m4*、*m6* 的蛋白质含量和脂肪含量相关性不显著,其他 6 份种质均呈显著负相关。各种质蛋白质含量与单株产量无

相关性。*m2*、*m4* 和 *m5* 的蛋白质含量与百粒重呈显著正相关,同时 *m2* 还与株高、有效分枝、主茎节数呈显著正相关。上述结果说明,通过人工选择可以打破蛋白质含量与产量之间的负相关性,将高蛋白与丰产结合起来,获得高蛋白高产优异种质。

表 2 高蛋白突变体蛋白质含量与其他农艺性状的相关性分析

突变体 Mutant	脂肪含量 Oil content	百粒重 100-grain weight	单株粒重 Seed weight per plant	株高 Plant height	有效分枝 Effective branch number	主茎节数 No.of stem node
<i>m1</i>	-0.82	0.19	0.19	-0.43	0.06	-0.29
<i>m2</i>	-0.84	0.86**	-0.13	0.92*	0.88*	0.93*
<i>m3</i>	-0.96	-0.33	0.05	-0.77	-0.79	-0.41
<i>m4</i>	-0.132	0.727*	0.276	-0.112	-0.709	0.671
<i>m5</i>	-0.95**	0.91**	0.4	0.33	0.7	0.66
<i>m6</i>	-0.13	-0.15	-0.05	0.08	0.44	-0.5
<i>m7</i>	-0.89**	-0.05	-0.17	-0.7	0.71	-0.31
<i>m8</i>	-0.83**	-0.28	-0.05	-0.43	-0.28	0
<i>m9</i>	-0.78**	-0.26	-0.22	0.57	-0.21	0.09

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$

3 讨论

3.1 突变体后代蛋白含量选择效果

EMS 诱变是大豆诱变育种的重要手段,除影响大豆产量因子以外,还可以增加大豆品质的遗传变异^[15]。前人研究表明,快中子和 EMS 诱变后代的蛋白质含量变异系数均超过对照品种,其中 EMS 诱变后的 M_2 和 M_3 之间遗传力较高,在早期世代进行蛋白含量分析,可以预测子代的蛋白质含量^[17]。 M_2 是分离较大的世代,也是选择性状的关键世代,在 M_2 选择优异突变体进行连续筛选,可以有效提高后代的蛋白质含量^[15]。郭玉虹等^[14]利用 EMS 和叠氮化钠 (NaN_3) 诱变“龙福 837”,从 M_2 开始选择,到 M_8 选出“923725”和“923738”两个稳定高蛋白突变体,蛋白含量分别为 45.38% 和 45.24%,较对照 (44.46%) 分别提高 0.92% 和 0.78%。于秀普等^[12]利用 EMS 处理冀豆 6 号,从 M_4 中获得蛋白含量高于 45% 的突变体 3 份,其含量分别为 45.85%、45.72% 和 45.44%,较对照 (42.16%) 分别提高 8.75%、8.52% 和 7.78%。尽管上述 EMS 诱变后代蛋白含量较对照品种有所提高,但含量均在 45% 左右。而本研究筛选的 9 个稳定高蛋白含量突变体 ($m1 \sim m9$) 平均值为 $48.17\% \pm 1.37\%$,较对照 (41.19%) 平均提高 16.94%。其中 $m9$ 蛋白质含量最高,为 47.27%,较对照提高 19.62%。相比之下,本研究获得的稳定突变体的蛋白含量提高率是前人报道的 2.3 倍以上,遗传增益效果明显,其中早世代为低蛋白个体的选择效果明显低于高蛋白个体的选择效果,这与选择方向是分不开的,为大豆品质育种提供了优异高蛋白亲本资源。

3.2 突变体后代蛋白含量的遗传变异

在大豆品质遗传改良过程中,传统育种方法多采用配置杂交组合来产生遗传变异,进而选择优异组合进行优良品种选育^[18-19]。选择蛋白质含量高的双亲配置组合时,有利于提高其后代的蛋白质平均含量^[20]。研究表明杂交后代的蛋白质含量变异与双亲的蛋白质含量密切相关,双亲差异大,其 F_2 遗传变异也大;双亲蛋白质含量高, F_2 蛋白质含量也相对较高^[21]。常规育种方法是通过基因组重组等遗传效应,来获得优异新种质^[22]。现代大豆品种的选育重点主要是高产等性状,这对作物的改良造成了遗传瓶颈^[23],导致品种中稀有等位基因的丢失并降低了大豆的遗传多样性^[24]。目前,可用于增加大豆基因组多样性的策略之一是引入突变^[5]。

与传统育种相比,诱变育种具有周期短、突变率高等特点^[25]。

EMS 是以点突变为主的稳定、高效的化学诱变剂,在诱变育种中使用广泛。王义谅等^[17]对辽农二号 EMS 诱变处理, M_2 和 M_3 蛋白质含量变异幅度分别为 37.9%~45.6% 和 36.6%~42.7%,对照品种蛋白质含量分别为 41.4% 和 38.4%,诱变后代蛋白质含量提高 3%~4%。本研究中 M_2 和 M_3 蛋白质含量变异幅度分别为 34.96%~49.85% 和 36.49%~49.33%,对照品种蛋白质含量分别为 40.88% 和 41.13%,较诱变亲本分别提高 5.34% 和 4.13%。相比之下,本研究突变体蛋白质含量变异幅度更加广泛。EMS 是一种高频率的点突变诱变剂,其诱变频率受诱变剂浓度和品种影响较大。随着功能基因组学研究的开展,多种作物的突变体库被相继构建。Uauy 等^[26]分别对四倍体小麦“Kronos”和六倍体小麦“UC1041+Gpc-B1/Yr36”进行 EMS 诱变,获得的两个诱变群体变异频率分别是 1/38 kb 和 1/51 kb。Cooper 等^[27]利用 40 mmol/L EMS 诱变处理大豆品种 Forrest 和 Williams82,群体变异频率分别为 1/140 kb 和 1/550 kb。Till 等^[28]利用 EMS 处理后的日本晴水稻诱变群体,变异频率为 1/300 kb。Greene 等^[29]利用 EMS 诱变拟南芥 Columbia,变异频率为 1/300 kb。相比之下,EMS 诱变小麦和大豆的变异频率高于水稻和拟南芥。然而,同一物种的不同品种或不同的处理浓度会产生不同的诱变效果。Tsuda 等^[30]对 12 个 EMS 诱变后代个体进行基于新一代测序技术 (NGS, next-generation sequencing) 的全基因组测序 (WGS, whole genome sequencing),估算变异频率平均为 1/74 kb,较其他群体提高了一倍。本实验室构建的 EMS 诱变 Zp661 突变体库是至今为止变异频率最高的大豆诱变群体,平均存在 84531 个单核苷酸 (SNP) 变异,即基因组平均每 11.8 kb 便存在一个单核苷酸变异^[31],比 Tsuda 等^[30]的研究结果还提高了 5 倍。本研究使用的诱变材料具有更多的变异位点,因此在较高世代才逐渐趋于纯合。EMS 诱变早期世代变异大,无论是低蛋白还是高蛋白含量个体多为杂合状态,为选择高蛋白个体创造了条件。在本研究中,EMS 诱变后的低蛋白个体“3442”在 M_2 为杂合状态,随着种质蛋白质含量产生分离,从中选择出高蛋白含量个体。而高蛋白含量个体“18734”和“20722”在连续选择过程中,其蛋白含量发生分离,整体呈下降趋势。推测这些高蛋白种

质的基因型与“3442”低蛋白含量个体衍生的高蛋白种质是不同的基因型。随着不同世代的连续选择,选出的高蛋白含量个体逐渐纯合,创制出稳定的高蛋白种质。本研究结果为 EMS 诱变后代定向选择提供了理论依据。

参考文献

- [1] Wilson R F. Genetics and genomics of soybean. Springer New York, 2008: 3-15
- [2] 唐黎标. 新兴豆制品加工技术. 福建农业, 2012(9): 11
Tang L B. Emerging technology of bean products. Fujian Agriculture, 2012(9): 11
- [3] 岳爱琴, 杜维俊, 赵晋忠, 李贵全, 丁起盛. 不同大豆品种品质分析. 华北农学报, 2005, 20(2): 30-32
Yue A Q, Du W J, Zhao J Z, Li G Q, Ding Q S. Quality study of soybean cultivars. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2005, 20(2): 30-32
- [4] Hwang E Y, Song Q, Jia G, Specht J E, Hyten D L, Costa J, Cregan P B. A genome-wide association study of seed protein and oil content in soybean. BMC Genomics, 2014, 15(1): 1
- [5] Espina M J, Ahmed C M S, Bernardini A, Adeleke E, Yadegari Z, Arelli P, Pantalone V, Taheri A. Development and phenotypic screening of an ethyl methane sulfonate mutant population in soybean. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: doi: 10.3389/fpls.2018.00394
- [6] Hancock C N, Zhang F, Floyd K, Richardson A O, Lafayette P, Tucker D, Wessler S R, Parrott W A. The rice miniature inverted repeat transposable element mPing is an effective insertional mutagen in soybean. Plant Physiology, 2011, 157(2): 552-562
- [7] Voytas D F, Gao C. Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. PLoS Biology, 2014, 12(6): e1001877
- [8] Lu S, Yin X, Spollen W, Zhang N, Xu D, Schoelz J. Analysis of the siRNA-mediated gene silencing process targeting three homologous genes controlling soybean seed oil quality. PLoS One, 2015, 10: 10.1371/journal.pone.0129010
- [9] Talebi A B, Talebi A B, Shahrokhifar B. Ethyl methane sulphate (ems) induced mutagenesis in malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination. American Journal of Plant Sciences, 2012, 3: 1661-1665
- [10] Chen Y L, Liang H L, Ma X L, Lou S L, Xie Y Y, Liu Z L, Chen L T, Liu Y G. An efficient rice mutagenesis system based on suspension-cultured cells. Journal of Integrative Plant Biology, 2013, 55(2): 122-130
- [11] Neuffer M G. Paraffin oil technique for treating mature corn pollen with chemical mutagens. Maydica, 1978, 23(1): 21-28
- [12] 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. 中国种业, 1995(1): 24-26
Yu X P, Du L E, Wei Y C. EMS-induced soybean mutation can screen high-protein or high-fat germplasm resources. China Seed Industry, 1995(1): 24-26
- [13] 冯悟一, 王楠, 李朔, 向凤宁. 大豆 EMS 突变体种子品质鉴定. 齐鲁工业大学学报, 2016, 30(2): 22-26
Feng W Y, Wang N, Li S, Xiang F N. Examination of seeds quality EMS mutants in soybean. Journal of Qilu University of Technology, 2016, 30(2): 22-26
- [14] 郭玉虹, 王培英, 许德春, 孟丽芬, 李铭丰, 董德建, 林蔚刚, 吴俊江, 张雷, 钟鹏, 韩凌. 诱变改良大豆蛋白质含量的研究. 大豆科技, 2005(6): 12-13
Guo Y H, Wang P Y, Xu D C, Meng L F, Li F M, Dong D J, Lin W G, Wu J J, Zhang L, Zhong P, Han L. Study on mutagenesis and improvement of soy protein content. Soybean Bulletin, 2005(6): 12-13
- [15] 魏玉昌, 于秀普, 杜连恩, 吴鸣岐. 甲基磺酸乙脂诱发大豆高蛋白突变系的遗传与选择效果. 华北农学报, 1993, 8(S1): 33-37
Wei Y C, Yu X P, Du L E, Wu M Q. Inheritance and selection effect of high-protein soybean mutant lines induced by EMS. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1993, 8(S1): 33-37
- [16] 吴裕, 毛常丽. 树木育种学中遗传力、重复力和遗传增益的概念及思考. 热带农业科技, 2012, 35(1): 47-50
Wu Y, Mao C L. Simple introduction to heritability, repeatability and genetic gain in percent in tree breeding. Tropical Agricultural Science & Technology, 2012, 35(1): 47-50
- [17] 王义谅, 袁洪伟. 人工诱变与大豆性状的遗传. 大豆科学, 1982, 1(2): 157-167
Wang Y L, Yuan H W. Artificial mutagenesis and inheritance of soybean traits. Soybean Science, 1982, 1(2): 157-167
- [18] 李盛有, 宋书宏. 不同遗传背景大豆杂交 F₂ 代脂肪含量遗传分析. 大豆科学, 2011, 30(6): 916-920
Li S Y, Song S H. Genetic analysis for fat content in F₂ generation of crosses with different genetic background soybeans. Soybean Science, 2011, 30(6): 916-920
- [19] 王曙明, 孙寰, 王跃强, 赵丽梅, 李楠, 付连舜, 李卫东, 齐宁, 邢邯, 李磊. 大豆杂种优势及其高优势组合选配的研究 I. F₁ 代子粒产量的杂种优势与高优势组合选配. 大豆科学, 2002, 21(3): 161-167
Wang S M, Sun H, Wang Y Q, Zhao L M, Li N, Fu L S, Li W D, Qi N, Xing H, Li L. Studies on heterosis and screening of highly heterotic combinations in soybean I. F₁ seed yield heterosis and screening of highly heterotic combinations. Soybean Science, 2002, 21(3): 161-167
- [20] 张金巍, 韩粉霞, 孙君明, 于福宽, 马磊, 陈明阳, 张晶莹, 闫淑荣, 杨华. 大豆蛋白质含量的遗传变异及其与主要农艺性状的相关性分析. 植物遗传资源学报, 2011, 12(4): 501-506
Zhang J W, Han F X, Sun J M, Yu F K, Ma L, Chen M Y, Zhang J Y, Yan S R, Yang H. Genetic variation of the protein content and correlation between protein content and main agronomic characters of soybean. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(4): 501-506
- [21] 王新风, 富健, 孟凡刚, 马巍. 大豆高蛋白组合杂交后代的蛋白质含量遗传研究 - 杂种 F₂ 代蛋白质含量与亲本的相关性分析. 作物研究, 2007, 21(3): 165-166
Wang X F, Fu J, Meng F G, Ma W. Genetic analysis of protein content in hybrid progeny of soybean high protein combination analysis of correlation between protein content of F₂ generation and parents. Crop Research, 2007, 21(3): 165-166
- [22] 孙玉, 姜永平, 刘军民. 我国大豆辐射诱变育种研究进展与展望. 山东农业科学, 2008(1): 14-17

- Sun Y, Jiang Y P, Liu J M. Research progress and prospect of radiation mutation breeding of soybean in China. *Shandong Agricultural Sciences*, 2008 (1): 14-17
- [23] Valliyodan B, Dan Q, Patil G, Zeng P, Huang J, Dai L, Chen C, Li Y, Joshi T, Song L, Vuong T D, Musket T A, Xu D, Shannon J G, Shifeng C, Liu X, Nguyen H T. Landscape of genomic diversity and trait discovery in soybean. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23598
- [24] Hyten D L, Song Q J, Zhu Y L, Choi I K, Nelson R L, Costa J M, Specht J E, Shoemaker R C, Cregan P B. Impacts of genetic bottle-necks on soybean genome diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103 (45): 16666-16671
- [25] 任志强, 杨慧珍, 卜华虎, 肖建红. 诱变在作物遗传育种中的应用进展. *中国农学通报*, 2016, 32 (33): 125-129
- Ren Z Q, Yang H Z, Bu H H, Xiao J H. Research progress of mutation in crop genetics breeding. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32 (33): 125-129
- [26] Uauy C, Paraiso F, Colasuonno P, Tran R, Tsai H, Berardi S, Comai L, Dubcovsky J. A modified TILLING approach to detect induced mutations in tetraploid and hexaploid wheat. *BMC Plant Biology*, 2009, 9 (1): 115
- [27] Cooper J L, Till B J, Laport R G, Darlow M C, Kleffner J M, Jamai A, El-Mellouki T, Liu S, Ritchie R, Nielsen N, Bilyeu K D, Meksem K, Comai L, Henikoff S. TILLING to detect induced mutations in soybean. *BMC Plant Biology*, 2008, 8: doi: 10.1186/1471-2229-8-9
- [28] Till B J, Cooper J, Tai T H, Colowit P, Greene E A, Henikoff S, Comai L. Discovery of chemically induced mutations in rice by TILLING. *BMC Plant Biology*, 2007, 7: 19-31
- [29] Greene E, Codomo C, Taylor N, Henikoff J, Till B, Reynolds S, Enns L, Burtner C, Johnson J, Odden A, Comai L, Henikoff S. Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in *Arabidopsis*. *Genetics*, 2003, 164 (2): 731-740
- [30] Tsuda M, Kaga A, Anai T, Shimizu T, Sayama T, Takagi K, Machita K, Watanabe S, Nishimura M, Yamada N, Mori S, Sasaki H, Kanamori H, Katayose Y, Ishimoto M. Construction of a high-density mutant library in soybean and development of a mutant retrieval method using amplicon sequencing. *BMC Genomics*, 2015, 16: doi: 10.1186/s12864-015-2079-y
- [31] Li Z F, Jiang L X, Ma Y S, Wei Z Y, Hong H L, Liu Z X, Lei J H, Liu Y, Guan R X, Guo Y, Jin L G, Zhang L J, Li Y H, Ren Y L, He W, Liu M, Myint N, Htwe P S, Liu L, Guo B F, Song J, Tan B, Liu G F, Li M Q, Zhang X L, Liu B, Shi X H, Han S N, Huan S N, Zhou F L, Yu L L, Li Y F, Wang S, Wang J, Chang R Z, Qiu L J. Development and utilization of a new chemically-induced soybean library with a high mutation density. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2017, 59 (1): 60-74

欢迎订阅 2020 年《安徽农业科学》

《安徽农业科学》是安徽省农业科学院主办的综合性农业学术期刊,创刊于 1961 年,2019 年由旬刊改为半月刊,2015 年被国家新闻出版广电总局首批认定为 A 类学术期刊。主要刊登全国范围的农、林、牧、渔业基础理论、应用研究及农业经济、农业信息技术研究等与农业有关的学术论文,追踪报道各学科的最新实用的农业科技成果。曾荣获第四届全国优秀农业期刊一等奖、第五届安徽省优秀科技期刊一等奖、第五届全国农业期刊金犁奖学术类一等奖、第四届华东地区优秀期刊、安徽省优秀期刊、“安徽省科技期刊编校质量奖”优秀奖等奖项。

栏目设置:基础科学·综述、农艺·园艺、资源·环境、动物科学·生物技术、林业科学·休闲农业、植物保护·植物营养、食品科学·药用生物、贮运加工·检测分析、农业工程·农业气象、农业经济·农业信息、农业管理·农业教育等栏目。

半月刊, A4 开本,每期定价 35.00 元,全年定价 840 元。各地邮局均可订阅,邮发代号:26-20。如错过订期,可直接与本刊编辑部联系或扫描下方二维码订阅。

地址:安徽省合肥市农科南路 40 号

邮编:230031

电话:0551-65148869, 65160973

E-mail: ahnykx@163.com

网址: www.ahnykx.com