

# 禾本科植物 EMS 诱变研究进展

彭辉<sup>1,2</sup>, 穆麟<sup>1,2</sup>, 沈佳欣<sup>1,2</sup>, 张文杰<sup>1,2</sup>, 黄菁<sup>2,3</sup>, 黄雨琦<sup>2,3</sup>, 张志飞<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>湖南农业大学农学院, 长沙 410128; <sup>2</sup>湖南省草地研究中心, 长沙 410128; <sup>3</sup>湖南省国有林和种苗工作站, 长沙 410004)

**摘要:** EMS 是化学诱变中最常用的诱变剂, EMS 诱变具有单个碱基点突变率高、成本低、易操作等优点, 通过 EMS 诱变获得突变体可以为育种和基因功能研究提供有利的材料。EMS 诱变技术的关键是确定 EMS 浓度和诱变时间, 一般以达到半致死率的浓度和时间为最佳处理组合。禾本科植物中主要以种子为诱变材料, 同时花粉、愈伤组织以及依靠营养繁殖的禾本科植物的营养器官也可以作为诱变材料。不同植物材料对 EMS 的耐受性不同, 花粉最敏感, 其次是愈伤组织, 无性繁殖材料和种子的耐受性较强。突变体的筛选方式包括表型对比筛选、逆境定向筛选和正、反向遗传学筛选。本文综述了近年来 EMS 诱变技术在禾本科植物育种和基因功能研究中的应用, 介绍了 EMS 的诱变原理、诱变剂浓度、处理时间、诱变处理材料的选择及突变体的筛选, 并对未来禾本科植物中的 EMS 诱变研究进行了展望, 为今后禾本科植物的 EMS 诱变研究提供参考。

**关键词:** 禾本科; EMS; 诱变; 突变体

## Research Progress of EMS Mutagenesis in Gramineous Plants

PENG Hui<sup>1,2</sup>, MU Lin<sup>1,2</sup>, SHEN Jiaxin<sup>1,2</sup>, ZHANG Wenjie<sup>1,2</sup>, HUANG Jing<sup>2,3</sup>,  
HUANG Yuxun<sup>2,3</sup>, ZHANG Zhifei<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128; <sup>2</sup>Hunan Provincial Grassland Research Center, Changsha 410128; <sup>3</sup>State-owned Forest and Seedling Station in Hunan Province, Changsha 410004)

**Abstract:** EMS is the most commonly used mutagen in chemical mutagenesis, which has the advantages of high point mutation rate of a single base, low cost and easy operation. Obtaining mutants through EMS mutagenesis can provide favorable material for breeding and gene function studies. The key of EMS mutagenesis technology is to determine the EMS concentration and mutagenesis time. Generally, the combination of concentration and time to achieve the half lethal rate is the best. In gramineous plants, seeds are mainly used as mutagenic materials. At the same time, pollen, callus and vegetative organs of gramineous plants that rely on vegetative reproduction can be used as mutagenic materials. Different plant materials have different tolerance to EMS. Pollen is the most sensitive, followed by callus, and asexual reproduction materials and seeds have strong tolerance. The screening methods of mutants include phenotypic comparison screening, stress directional screening, and forward and reverse genetic screening. This article reviews the application of EMS mutagenesis in gramineous plants breeding and gene function research in recent years, introduces the mutagenesis principle, mutagen concentration, mutagen time, mutagenic material selection and the screening of mutants, and the future research on EMS mutagenesis in gramineous plants was prospected, this information can provide reference for EMS mutagenesis research of gramineous plants in the future.

**Key words:** Gramineae; EMS; mutagenesis; mutant

收稿日期: 2023-11-20 网络出版日期: 2024-07-12

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231120001>

第一作者研究方向为饲草学, E-mail: 2670992877@qq.com

通信作者: 张志飞, 研究方向为饲草学, E-mail: zhangzf@hunau.edu.cn

基金项目: 2023年湖南省林业生态保护修复及发展项目

Foundation project: 2023 Forestry Ecological Protection Restoration and Development Project in Hunan Province

甲基磺酸乙酯(EMS, ethyl methane sulfonate)是化学诱变中最常用的有机化合物,EMS诱变是一种非转基因的获得突变基因和突变体的途径,具有突变率高、对植物材料损伤小、成本低且易操作等优点<sup>[1-3]</sup>。通过EMS诱变获得突变体可以为品种选育和基因功能的研究提供基础材料,对现有品种的改良和新种质资源的创制具有重要作用<sup>[4]</sup>。

禾本科(Gramineae)是单子叶植物纲禾木目,其下有668个属,10000多个种<sup>[5]</sup>,包含大量与人类衣食住行有着密切联系的植物,是主要粮食、重要工业原料、饲草、草坪草、生态修复用草来源。已有研究表明多种禾本科植物的EMS诱变主要以种子为诱变材料,同时花粉、愈伤组织和无性繁殖材料如茎节也可以作为EMS诱变材料<sup>[4]</sup>。EMS诱变产生的突变性状丰富,为禾本科植物的育种奠定了丰富的物质基础。

本文综述了近年来禾本科植物EMS诱变的研究进展,简述了EMS的作用原理、诱变浓度和时间的选择、诱变材料的选择及突变体的筛选,旨在为今后继续开展禾本科植物的EMS诱变研究提供参考。

## 1 EMS作用原理

EMS为无色液体,具有致癌性<sup>[6]</sup>,在水中的溶解度约为8%,配置EMS溶液时一般使用磷酸缓冲液进行稀释以避免EMS分解产生乙醇和甲磺酸,进而对植物材料产生毒害作用,诱变结束后使用硫代硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )终止反应或者直接用大量的水冲洗去除EMS溶液。EMS含有活性烷基,可以通过烷化作用将活性烷基转移到DNA碱基上置换出氢原子,通常这个反应发生在鸟嘌呤(G)上,之后会产生两种效应:(1)发生反应后的G不再与胞嘧啶(C)配对,而是与胸腺嘧啶(T)配对,导致该位置的碱基由G变为了腺嘌呤(A),这种突变是EMS诱变中的主要类型;(2)进一步发生脱嘌呤反应,在原来G的位置形成1个空位,导致其他碱基随机进入到之前G所在的位置<sup>[7-8]</sup>。

Lethin等<sup>[9]</sup>研究发现,EMS溶液处理小麦种子产生的碱基突变中同类型的碱基替换比例占80%以上,且G转换为A和C转换为T的数量要远高于A转换为G和T转换为C;嘌呤和嘧啶间的颠换比例在20%以下,其中A与T之间的颠换数量要小于A和C、G和C以及G和T之间的颠换数量。

EMS对染色体的损伤较小,不易引起染色体的

断裂或者畸变,主要是引起碱基的突变,这个特点使得EMS诱变适合作为获得突变等位基因的途径<sup>[10]</sup>,如Xiong等<sup>[11]</sup>通过EMS诱变获得了玉米***bml***基因的两个突变等位基因***bml-E1***和***bml-E2***,这两个突变等位基因中都只包含1个核苷酸的突变,***bml-E***突变体的木质素含量极显著降低,且叶片中的对-羟基苯基木质素(Para-hydroxy-phenyl lignin)、愈疮木基木质素(Guaiacyl lignin)、紫丁香基木质素(Syringyl lignin)也极显著降低。

## 2 EMS诱变处理剂量和处理时间的选择

EMS诱变技术的关键是确定最佳的诱变剂量和诱变时间,EMS溶液浓度和诱变时间会严重影响植物材料的存活率及突变率,理论上高浓度的EMS溶液和更长的诱变时间可以提高突变率,但过高的EMS浓度和过长的诱变处理时间会导致诱变材料损伤过大,致使诱变材料存活率大幅度下降,甚至可以导致其死亡<sup>[12]</sup>,而过低的浓度和不足的诱变时间则会导致突变率低,降低诱变效果。因此突变率和存活率间需达到一个平衡,一般以达到半致死剂量的浓度和时间为最佳诱变处理组合。但也有研究采用高于半致死剂量的处理组合,如Lethin等<sup>[9]</sup>为了提高突变率,获得更多突变体,以80.00%致死率的EMS溶液对小麦种子进行诱变,获得了高耐盐性突变体,这种高致死率的剂量所需实验材料多、工作量大,适合种子和花粉的诱变,不适合无性繁殖材料的诱变。

不同植物材料对EMS的耐受性不同,花粉对EMS最敏感,如玉米花粉EMS诱变时浓度在0.10%左右,诱变时间30~45 min<sup>[11,13]</sup>。其次是愈伤组织,如甘蔗愈伤组织的EMS诱变浓度在0.10%左右,诱变时间3~5 h<sup>[14-15]</sup>。无性繁殖材料和种子的EMS耐受性较强,如甘蔗茎节的EMS诱变条件为1.50%、8 h<sup>[14]</sup>。

## 3 EMS诱变材料的选择

选择诱变材料时,首选当地优良品种,这样培育出来的品种更容易被市场接受。对于有性繁殖植物,选择基因型纯合的亲本,可以减少表型和基因型之间的不确定性。适用EMS诱变处理的材料有种子、花粉、茎尖、茎芽、愈伤组织等,可根据不同的植物特性选择<sup>[4,16]</sup>。图1是水稻、玉米EMS诱变的处理步骤,可为其他禾本科植物的EMS诱变提供

参考,如水稻种子在进行EMS诱变前先用清水浸泡,再置于合适浓度的EMS溶液中,为确保种子与

EMS接触均匀可放在摇床上,结束后用流水冲洗去除种子上残留的EMS溶液。

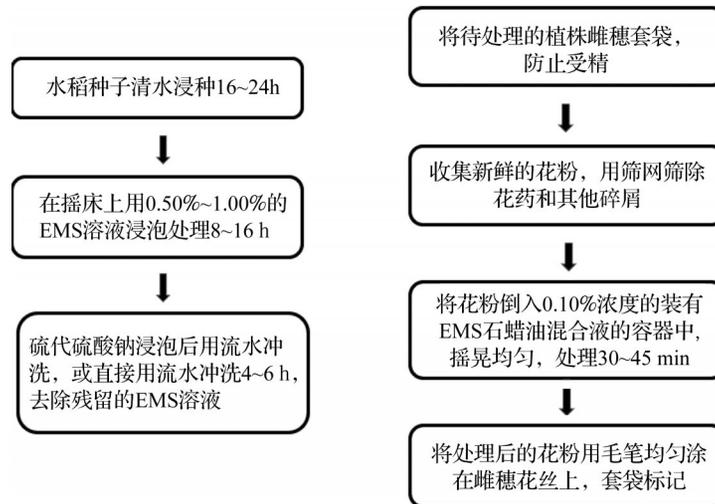


图1 水稻种子(左)和玉米花粉(右) EMS 诱变处理步骤

Fig.1 EMS mutagenic treatment steps of rice seeds (left) and corn pollen (right)

### 3.1 种子

种子通常是最佳的诱变材料,具有操作方便、突变效率高等特点<sup>[17]</sup>。在M1代收获种子后,继续种植M2至M4代,基本可以观察到所有能够遗传的突变表型。表1列出目前已报道出禾本科植物种子适宜的EMS诱变浓度、处理时间和诱变得到的突变性状。不同禾本科植物种子的最适EMS浓度和处理时间存在差异。水稻EMS诱变最适处理条件包括低浓度长时间(0.50% EMS、14~16 h)和高浓度短时间(1.00% EMS、8 h)两种<sup>[18-21]</sup>,在这两种处理

条件下,致死率都接近50.00%。小麦最适EMS诱变浓度在0.80%~1.20%,诱变时间8~12 h<sup>[22-26]</sup>;大麦最适EMS诱变浓度大约为0.40%,诱变时间16 h<sup>[27]</sup>;高粱最适诱变浓度在0.40%,诱变时间14 h<sup>[28]</sup>;燕麦最适诱变浓度大约为0.70%,诱变时间14 h左右<sup>[29]</sup>;谷子最适诱变浓度大约为1.00%,诱变时间10 h<sup>[30]</sup>;薏苡种子的最适EMS诱变浓度甚至达到了3.20%,诱变时间10 h<sup>[31]</sup>。EMS诱变种子得到的突变性状非常丰富,包括株高、叶色、叶形、分蘖、穗部、生育期等。

表1 禾本科植物种子EMS诱变研究

Table 1 EMS mutagenesis studies in seeds of gramineous plants

序号 No.	植物种类 Plant species	诱变浓度和时间 Mutagenic concentration and time	相对发芽率 或存活率 Relative germination rate or survival rate	处理 种子数 Number of seeds processed	突变性状 Mutant traits	突变率 Mutation rate	参考文献 Reference
1	水稻粳稻辽星1号	0.50%, 16 h	存活率 48.60%	0.50 kg	株高、茎秆、穗型、叶色、粒型及胚乳淀粉	M2:9.60%	[18]
2	水稻粳稻郑稻19	1.00%, 8 h	发芽率 51.30%		定向筛选抗除草剂突变体	抗除草剂甲咪唑烟酸突变体9株,抗烟嘧磺隆突变体2株	[19]
3	水稻粳稻日本晴	1.00%, 8 h	发芽率 48.00%	2000粒			[20]
4	水稻籼稻93-1	0.50%, 14 h		20 kg	定向筛选抗咪唑啉酮类除草剂突变体	M2代获得61株抗性突变体	[21]
5	小麦冀麦418	0.80%和1.20%, 10 h		6000粒	叶色、叶形、株高、芒型、分蘖、根、穗形、籽粒抗寒性、生育期、育性	M2:5.98%	[22]

表 1 (续)

序号 No.	植物种类 Plant species	诱变浓度和时间 Mutagenic concentration and time	相对发芽率 或存活率 Relative germination rate or survival rate	处理 种子数 Number of seeds processed	突变性状 Mutant traits	突变率 Mutation rate	参考文献 Reference
6	紫粒小麦 YG509	1.00%, 10 h		7000 粒	叶色、叶形、株高、分蘖、穗长、 穗密度、抽穗期、籽粒大小	M2: 33.20%	[23]
7	小麦西农 99	1.20%, 8 h		5000 粒	穗部、叶部、茎秆、株型、 生育期、育性	M1: 13.63%, M3: 7.28%	[24]
8	小麦西农 979	0.80%, 12 h		1600 粒		M1: 7.83%, M3: 6.71 %	
9	小麦西农 977	1.00%, 12 h		1000 粒		M1: 9.26%, M3: 7.18%	
10	小麦小偃 22	1.00%, 12 h		1000 粒		M1: 1.86%, M3: 8.26%	
11	大麦浙农大 3 号	0.40%, 16 h	存活率 46.70%	3000 粒	分蘖、叶片、茎秆、穗型、 生育期、育性	7.46%	[27]
12	高粱品种红缨子	0.40%, 14 h	存活率 31.90%	10000 粒	叶色、叶形、穗型、株高、 感病性、生育期	M2: 8.43%	[28]
13	燕麦花早 2 号	0.70%, 15 h	存活率 40.10%	10000 粒	叶色、叶形、分蘖、株高、穗型、 成熟期	M2: 9.80%	[29]
14	谷子晋谷 21 号	1.00%, 10 h	发芽率 49.03%	5000 粒	黄化苗、白化苗、叶色变异、 分蘖、茎秆红色、穗型		[30]
15	苕苡 Y159	3.20%, 10 h	相对发芽率 48.60%		叶型、株高	64.60%	[31]
16	羊草吉生四号	1.50%, 16 h	相对发芽率 51.68%	4000 粒	叶色、叶形、分蘖、株高	18.66%	[32]
17	糜子伊选大红糜	1.00%, 10 h	存活率为 38.90%	6000 粒	叶色、叶型、株高、穗型、种皮 颜色、生育期、育性、感病性	4.50%	[33]
18	多年生黑麦草首相	0.80%, 24 h	相对发芽率 49.88%	14400 粒	得到有较高的抗氧化酶活性, 游离脯氨酸、可溶性糖含量维 持较高水平, MDA 含量较低的 抗旱性提高的突变株	定向筛选得到 15 株 抗旱单株	[34]
18	老芒麦川草 2 号	0.80%, 16 h	发芽率 41.70%	6400 粒			[35]
20	无芒雀麦	1.20%~1.50%, 15 h	相对发芽率 33.83%~ 59.10%	2400 粒			[36]

### 3.2 花粉

花粉的诱变效果好,一旦花粉的精细胞发生突变,就可以把突变基因传递给合子<sup>[4]</sup>。Neuffer 等<sup>[37]</sup>研究发现,玉米花粉可以在石蜡油中保持数小时生命力且能够正常授精结实,使用石蜡油配制 EMS 溶

液,可实现对花粉的 EMS 诱变。花粉 EMS 诱变适合于雄雌异花的植物,不仅便于收集花粉也省去了人工去雄的步骤。在禾本科植物中,玉米的雌雄异花且雄穗含有数量极多的花粉,诱变花粉比诱变种子更高效,因此玉米一般使用花粉 EMS 诱变(表 2)<sup>[13]</sup>。

表 2 玉米花粉 EMS 诱变研究

Table 2 EMS mutagenesis studies in corn pollen

序号 No.	诱变材料 Mutagenic material	诱变浓度和时间 Mutagenic concentration and time	突变性状 Mutant traits	参考文献 Reference
1	玉米自交系 K350 玉米自交系 21-ES 玉米自交系 R-8	0.67~1.00 ml/L, 45 min 1.67 ml/L, 45 min	叶片、株高、穗位、雄穗、果穗、不育、抗性	[10]
2	玉米自交系 B73	0.10%, 30 min	籽粒皱缩、光合系统缺失、矮化、气生根颜色缺失、叶片斑点、叶片早衰、叶片数目增加、植株畸形、穗长度增加	[13]
3	玉米自交系 K22、 B73	0.50%, 45 min	矮秆、黄化、花斑叶、穗位降低、雄穗变短、抗旱性、育性	[38]
4	玉米自交系 082	-	1 个高粗蛋白、高 Lys 含量突变体和 1 个低 Lys 含量突变体, 超氧化物歧化酶活性增强、降低突变体, 过氧化酶降低突变体	[39]
5	玉米自交系 B73	-	节间缩短但节数增加	[40]
6	玉米自交系 RP125	-	叶色、叶形、病斑模拟、穗形、籽粒颜色、籽粒充实度、籽粒大小、株高、生育期	[41]
7	玉米 bm1-PI228174	-	获得 2 个新的玉米 <i>bm1</i> 突变等位基因	[11]

-表示文献中未提及;下同

-indicates not mentioned in the reference; The same as below

花粉对 EMS 比较敏感,玉米花粉的 EMS 诱变浓度一般在 0.10% 左右,处理时间在 30~45 min<sup>[10,13]</sup>。诱变后收获的种子可以观察籽粒的突变性状,在 M1 代可以观察到显性突变, M2 代中可以观察到隐性突变。EMS 诱变玉米花粉得到的突变性状丰富,包括叶片、株高、穗位、籽粒、育性、生育期、抗逆性等。李丹丹<sup>[42]</sup>将 0.01%、0.025%、0.05% 和 0.1% EMS 溶液分别注射到水稻孕穗期的幼穗中对其性细胞进行诱变,发现 0.05% 为最佳处理浓度,结实率是对照组的 55.00%,突变率为 1.25%;低浓度(0.01%、0.025%、0.05%)EMS 溶液诱变水稻幼穗得到的单核苷酸多态性位点和插入缺失突变数均远小于 1.00% EMS 溶液诱变水稻种子。

### 3.3 无性繁殖材料和愈伤组织

能够进行无性繁殖的禾本科植物可以利用其营养器官进行 EMS 诱变获得突变体,性状优良的突变株通过无性繁殖可以快速扩繁保存下来,不易出现性状分离。李毛等<sup>[43]</sup>研究发现柳枝稷品种 Alamo 的穗芽半致死剂量处理组合为 0.58% EMS、4 h,在后代中可观察到性状丰富的突变体,其中植株高度改变、分蘖数减少、茎秆直径减小的突变体占多数。许雯雯<sup>[14]</sup>用 EMS 溶液处理甘蔗无菌芽和甘蔗茎节

芽,发现甘蔗无菌芽最适宜的 EMS 诱变处理组合为 0.80% EMS、5 h,甘蔗茎节芽的最适组合为 1.50% EMS、5 h,并通过 SSR 核心引物筛选到 31 株突变体。

也有研究对禾本科植物的愈伤组织 EMS 诱变体系进行了探索(表 3)。刘莉<sup>[44]</sup>研究发现狗牙根新农一号的胚性愈伤组织的最适诱变处理组合为 0.80% EMS、2 h。陈祥韦<sup>[45]</sup>研究发现,海雀稗愈伤组织的最佳诱变处理组合为 0.80% EMS、5 h。张爱加<sup>[46]</sup>研究发现,在 0.30%EMS、3 h 的最佳处理组合下,百喜草的愈伤组织分化出芽速度快、再生苗长的快且健壮。植菊芳<sup>[15]</sup>研究发现,甘蔗愈伤组织的最适诱变处理组合为 0.10%~0.15% EMS、3~5 h,经诱变存活下来的愈伤组织发育成苗后用聚乙二醇(PEG, polyethylene glycol)处理,定向筛选出了抗旱的甘蔗突变株。

## 4 突变体筛选与鉴定

EMS 诱变会对植物材料造成损伤,导致 M1 代长势弱、植株出现畸形,这些非基因突变造成的畸变一般能在 M2 代中恢复过来。因此筛选突变体需要延续至 M2~M4 代,确保突变性状能够稳定遗传给后代。

表3 禾本科植物愈伤组织EMS诱变研究

Table 3 EMS mutagenesis studies in callus of gramineous plants

序号 No.	诱变材料 Mutagenic material	诱变浓度和时间 Mutagenic concentration and time	致死率或相对分化率 Fatality rate or relative differentiation rate	参考文献 Reference
1	狗牙根农1号	0.80%, 2 h	致死率40.56%, 相对分化率为 54.84%	[44]
2	海雀稗 Sea Spray	0.80%, 5 h	愈伤组织存活率46.70%	[45]
3	百喜草	0.30%, 3 h	致死率53.30%	[46]
4	甘蔗	0.10%, 5 h	相对分化率49.45%	[13]
5	甘蔗新台糖22号、桂糖35号、桂糖21号	0.10%~0.15%, 3~5 h	-	[15]

#### 4.1 表型对比筛选突变体

EMS诱变的性状主要包括植株株高、穗形、产量、品质、抗性、生育期等,对于植株形体发生改变的突变体可以与野生型表型进行对比筛选,在各生育期对突变体库的单株性状进行鉴定,这是直接、简单、有效的筛选方式。

江德权<sup>[47]</sup>从水稻EMS突变体库中筛选到了多穗、大穗型突变体,多穗型突变体M31 垩白粒率从野生型的30%以上下降到了7.50%,可用于优质育种;大穗型突变体M26、M76的理论亩产从野生型的500 kg分别提高到788.18 kg和924.92 kg,可用于高产育种。徐艳花等<sup>[48]</sup>在小麦EMS诱变群体中筛选到了密穗、大粒、矮秆等优良性状的突变体,可用于小麦高产育种。Sharma等<sup>[49]</sup>通过EMS对小麦种子进行诱变,获得了直链淀粉含量变异的突变体,有助于淀粉合成基因的发现和小麦营养品质的改良。Jitendra等<sup>[50]</sup>在小麦的EMS诱变群体中发现了籽粒高铁、锌含量的突变株,可用于开发功能性高品质小麦品种。周文期等<sup>[38]</sup>通过EMS诱变玉米花粉构建了玉米突变体库,得到了矮化、穗位低的株系,适合用于选育小株型、抗倒伏的品种。Zhao等<sup>[51]</sup>在玉米EMS诱变的突变体群体中获得1个节间长度减少的矮化突变体株,其*brachytic 2*基因的第二个外显子上出现了1个由G到A的替换导致了矮化,该突变体材料可用于培育耐密植的玉米品种。王炜等<sup>[52]</sup>利用EMS诱变高粱种子,创制了早熟、矮秆、高含糖量(提高了6.36%)的种质材料,其中高含糖量突变体TGI的粗蛋白、淀粉、粗脂肪含量也均高于野生型,具有开发利用潜力。丁延庆等<sup>[28]</sup>通过EMS诱变酒用糯高粱品种红缨子,获得了矮秆突变体材料,可用于改善贵州酒用糯高粱品种单一的现状。Guo等<sup>[53]</sup>通过EMS诱变大麦,获得了无叶舌的矮化突变体株,图位克隆分析表明,该突变基因位于第7

号染色体长臂的56.58 kb处,测序比对发现基因HORVU7Hr1G106960外显子的第790位出现了1个由C到T的单核苷酸替换,导致编码的第264位氨基酸由脯氨酸变为丝氨酸。但表型筛选具有一定的局限性,只能鉴定出一部分突变体,难以鉴定没有明显突变表型的突变体。

#### 4.2 逆境定向筛选突变体

对于耐性、抗性突变体如逆境耐受力提高的突变体,可以通过施加一定的逆境条件进行定向筛选。Poli等<sup>[54]</sup>通过EMS诱变水稻种子,获得了在低磷条件下具有更长的根系、更多的生物量、分蘖数、更高产量的突变体NH787,可用于开发高磷利用效率品种。Lethin等<sup>[9]</sup>用EMS诱变孟加拉国当地小麦品种BARI Gom-25的种子,通过0.2 mol/L的NaCl溶液培养,定向筛选出了70个耐盐突变体株系,可用于耐盐品种的培育。董文科等<sup>[34]</sup>用EMS处理多年生黑麦草品种首相的种子,种子发芽后用PEG-6000溶液模拟干旱胁迫进行筛选,得到了15株抗旱单株。Roux等<sup>[55]</sup>通过EMS诱变小麦种子,获得了耐旱的突变体BIG8-1,该突变体具有更多、更宽的叶片和密集的须根,在缺水条件下能够维持较高的叶绿素含量、延迟蛋白的分解、延迟衰老,对干旱胁迫的耐受能力显著增加。Sadaf等<sup>[56]</sup>通过EMS诱变获得了耐旱性改变的春小麦突变体株,在干旱胁迫下脯氨酸、可溶性糖和自由氨基酸积累量升高,叶绿素、类胡萝卜素和可溶性蛋白含量下降,这些突变体材料可用于进一步探索小麦在干旱胁迫下的基因调控回路。Wang等<sup>[57]</sup>利用EMS诱变构建了小麦品种KN9204突变体库,获得了857个突变的NAC转录因子突变株系,通过干旱和盐胁迫筛选,鉴定了13个耐旱性和耐盐性改变的突变体株,其中突变体D47在干旱和盐胁迫下失水率降低,高持水能力使其表现出耐旱耐盐性。Zheng等<sup>[58]</sup>在EMS

诱变的水稻突变体中发现了类病变突变体,通过图位克隆,发现*SDR7-6*基因(编码1个短链醇脱氢酶)存在1个G到A的突变,该突变体对白叶枯病的抗性增强,但对稻瘟病的抗性降低。Chhabra等<sup>[59]</sup>利用EMS诱变构建小麦突变体库,通过田间试验和温室试验,成功筛选到了抗镰刀菌穗枯萎病的株系。Xu等<sup>[60]</sup>通过EMS诱变小麦,获得了苗期对镰刀菌冠腐病具有稳定抗性的突变体材料。Christina等<sup>[61]</sup>通过EMS诱变获得了抗白粉病的小麦突变体。

杂草对农作物的竞争往往会造成减产,培育抗除草剂的作物品种一直是育种研究的热点。通过EMS诱变获得大规模的突变群体,使用一定量的除草剂进行定向筛选,再对筛选出的抗性株进行鉴定可有效获得除草剂抗性突变体。陈天子等<sup>[21]</sup>用EMS溶液处理水稻种子,在M2代用咪唑啉酮类除草剂百垄通进行定向筛选,得到了对甲咪唑烟酸的抗性是野生型100倍以上的突变株系,经鉴定发现突变体的*ALS*基因出现了碱基替换,导致*ALS*蛋白的第627位氨基酸由丝氨酸变为亮氨酸或天冬酰胺,从而获得了对甲咪唑烟酸的抗性。王付华等<sup>[19]</sup>通过EMS诱变得到了抗除草剂甲咪唑烟酸的水稻突变体材料9份,抗烟嘧磺隆突变体材料2份。刘美桃<sup>[62]</sup>从EMS诱变的谷子突变体库中筛选到了抗除草剂拿捕净(Nabu)的突变材料。

### 4.3 正、反向遗传学筛选突变体

通过EMS诱变构建性状丰富的突变体库,可为植物基因功能研究提供理想的实验材料,可用于分析与产量性状相关的突变基因及其等位基因的功能,提高对产量性状形成的分子机制的了解,对于高产育种具有重要意义。与野生型对比筛选出突变体材料,再将两者的基因组测序结果进行比对,寻找控制该性状的目的基因,即为正向遗传学筛选。Hu等<sup>[63]</sup>通过EMS诱变获得了水稻短粒突变体*sg5*,该突变体*SG5*基因的第一个外显子发生了1个错义突变,导致*SG5*蛋白的第197位氨基酸从亮氨酸变为脯氨酸,通过组织化学观察和基因表达分析发现*SG5*参与调控细胞扩展以及与粒形相关的基因的表达。Umakanta等<sup>[64]</sup>在EMS诱变的水稻突变群体中筛选出1个短、粗粒突变体*TEMS5032*,突变体的*SRS3*基因的第5032位碱基由C变为T,该突变影响水稻的籽粒大小。董海潇<sup>[13]</sup>通过EMS诱变玉米花粉,获得了颜色缺失、籽粒缺陷等性状的突变体,通过MutMap策略对颜色缺失突变体进行基因组测序分析,发现该突变体的查尔酮合成酶*C2*基因

(*ZmC2*)发生了错义突变,使查尔酮合成酶发生几乎完全的蛋白聚集从而丧失功能;在籽粒缺陷的突变体中发现编码腺苷酸转运蛋白的*ZmBT1*基因发生了突变,导致玉米胚乳淀粉合成的中断,最终形成缺少胚乳的表型,从外表看是皱缩的籽粒。Nie等<sup>[41]</sup>在EMS诱变获得的突变体中发现一株籽粒胚乳顶部填充缺陷、淀粉积累缺陷但铁含量增加的突变体,测序发现该突变体的*QK1*基因出现了1个从G到T的碱基突变,使其编码的第177位氨基酸从甘氨酸变为天冬氨酸,进一步研究发现*QK1*基因编码1个特异性Fe-MTP蛋白,在籽粒的铁平衡中起重要作用。EMS诱变得到的突变体材料为解析玉米种子发育的分子调控机制,辅助玉米高产育种提供了物质基础。

反向遗传学技术是鉴定目的基因突变的重要方法。随着测序技术的快速发展,定向诱导基因组局部突变(TILLING, targeting induced local lesions in genomes)技术应用到突变体的筛选中,提高了筛选效率和精确性<sup>[65-67]</sup>。提取诱变M2代的单株DNA,构建DNA混池,根据目标基因序列设计特异性引物并进行荧光标记,然后PCR扩增,通过凝胶电泳分离突变体,测序确定其基因序列,最后找到突变株和其突变表型。Jiang等<sup>[68]</sup>建立了大麦的TILLING平台,在EMS诱变群体中发现了大量的突变等位基因,并鉴定出了1个褪绿突变体的致病基因。吴建文<sup>[26]</sup>在EMS诱变小麦的突变群体中,通过TILLING检测到43个*Fhb7*基因突变体,这些突变体可用于小麦的抗赤霉病育种研究。

## 5 展望

水稻、玉米、小麦等传统大作物研究深入,基因组信息完善,可采用的育种方法多,特别是近年来迅速发展的依赖基因组信息的基因编辑技术为新品种创制提供了极大的空间。然而一些基因组信息缺乏、遗传背景复杂的禾本科植物育种如果依赖常规育种,耗时长且育种效率低,而EMS诱变几乎适用于所有禾本科植物的突变体库构建和新品种选育。EMS诱变能够以现有种质资源为基础,实现低成本、高通量的突变,之后通过突变体筛选,能够有效加快育种进程。但是值得注意的是,多倍体植物含有多套完整的遗传信息,发生的基因突变容易被其同源基因补偿而无法表现,因此在筛选突变体时需要结合田间筛选和温室筛选等方法共同进行。随着高通量测序技术的快速发展及测序成本的不

断降低,一些基因组复杂的禾本科植物基因组测序数据将不断完善,EMS 诱变技术还可为后续基因功能研究提供便捷途径。

#### 参考文献

- [1] 王艺程,张世杰,丁寒雪,蒋成娣,张浠然,张志国,刘翔. 甲基磺酸乙酯(EMS)在植物诱变育种中的应用. 分子植物育种, 2023, 21(19): 6455-6462  
Wang Y C, Zhang S J, Ding H X, Jiang C D, Zhang X R, Zhang Z G, Liu X. Application of ethyl methane sulfonate (EMS) in plant mutation breeding. *Molecular Plant Breeding*, 2023, 21(19): 6455-6462
- [2] 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: 394
- [3] Sikora P, Chawade A, Larsson M Olsson J, Olsson O. Mutagenesis as a tool in plant genetics, functional genomics, and breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 2011, 2011: 13
- [4] 臧辉,任卫波. EMS 诱变在植物育种中的研究与应用. 分子植物育种, 2018, 16(17): 5782-5788  
Zang H, Ren W B. Research and application of EMS mutation in plant breeding. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(17): 5782-5788
- [5] 刘柏成,李法云,赵琦慧,吝美霞. 禾本科植物修复多环芳烃污染土壤研究进展. 化工进展, 2023, 42(7): 3736-3748  
Liu B C, Li F Y, Zhao Q H, Lin M X. Research progress on remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by gramineae plants. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2023, 42(7): 3736-3748
- [6] Elmar G, Heinrich B, Lutz M, Pfister T. Literature review on the genotoxicity, reproductive toxicity, and carcinogenicity of ethyl methane sulfonate. *Toxicology Letters*, 2009, 190(3): 254-265
- [7] 乔雨. EMS 诱导蒙农红豆草优良突变体筛选及花色变异机理研究. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2020  
Qiao Y. Selection of EMS-mutagenized materials and mechanism of flower color mutation of mengnong sainfoin. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020
- [8] 白邦琴. 三种草坪草的 EMS 诱变及其突变体的初步筛选与鉴定. 重庆:西南大学, 2018  
Bai B Q. Three turf grasses induced by EMS and preliminary screening and identification of its mutants. Chongqing: Southwest University, 2018
- [9] Lethin J, Shakil S S M, Hassan S, Sirijovski N, Töpel M, Olsson O, Aronsson H. Development and characterization of an EMS-mutagenized wheat population and identification of salt-tolerant wheat lines. *BMC Plant Biology*, 2020, 20: 18
- [10] 陈超杰. EMS 对 3 个玉米自交系的诱变效应分析. 雅安:四川农业大学, 2014  
Chen C J. Effect of EMS-induced mutation on three maize inbred lines. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2014
- [11] Xiong W, Li Y, Wu Z, Ma L, Liu Y, Qin L, Liu J, Hu Z, Guo S, Sun J, Yang G, Chai M, Zhang C, Lu X, Fu C. Characterization of two new *brown midrib1* mutations from an EMS-mutagenic maize population for lignocellulosic biomass utilization. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 594798
- [12] Singh P K, Sadhukhan R. Ems and gamma radiation induced mutation in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *Legume Research*, 2018, 42: 300-307
- [13] 董海潇. 玉米 EMS 突变体创制及颜色缺失和籽粒缺陷突变体基因定位与功能分析. 长春:吉林大学, 2021  
Dong H X. EMS mutagenesis in maize with gene mapping and characterization for colorless mutant and kernel mutants. Changchun: Jilin University, 2021
- [14] 许雯雯. EMS 诱变甘蔗突变体库的构建及其 SSR 引物的筛选. 北京:中国农业科学院, 2018  
Xu W W. Construction of sugarcane mutant library induced by EMS and screening of SSR primers. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018
- [15] 植菊芳. 甘蔗离体培养 EMS 诱变与抗旱诱变体鉴定的研究. 南宁:广西大学, 2014  
Zhi J F. Study on the EMS mutagenesis and drought-resistance mutant identification in vitro culture of sugarcane. Nanning: Guangxi University, 2014
- [16] Serrat X, Esteban R, Guibourt N, Moysset L, Nogués S, Lalanne E. EMS mutagenesis in mature seed-derived rice calli as a new method for rapidly obtaining TILLING mutant populations. *Plant Methods*, 2014, 10(1): 5
- [17] Chen L Z, Duan L, Sun M H, Moysset L, Nogués S, Lalanne E. Current trends and insights on EMS mutagenesis application to studies on plant abiotic stress tolerance and development. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1-13
- [18] 吕军,刘军,姜秀英,李建国,沈枫. EMS 诱导水稻‘辽星 1 号’突变体的筛选与鉴定. 分子植物育种, 2022, 20(12): 4038-4043  
Lv J, Liu J, Jiang X Y, Li J G, Shen S. Screening and identification of mutants from rice variety 'Liaoxing 1' induced by EMS. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(12): 4038-4043
- [19] 王付华,李自超,王亚,付景,杨文博,尹海庆,王生轩,王越涛,白涛,张珍. 利用 EMS 诱变创制抗除草剂粳稻新种质. 河南农业科学, 2021, 50(4): 8-16  
Wang F H, Li Z C, Wang Y, Fu J, Yang W B, Yin H Q, Wang S X, Wang Y T, Bai T, Zhang Z. New herbicide-resistant Japonica rice germplasms created by EMS mutagenesis. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2021, 50(4): 8-16
- [20] 黄静. 水稻 EMS 诱变效率和品种内遗传多态性分析. 福州:福建农林大学, 2015  
Huang J. Analyses on EMS mutagenesis efficiency and intra-

- cultivar genetic polymorphisms in rice. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015
- [21] 陈天子,余月,凌溪铁,张保龙. EMS诱变水稻创制抗咪唑啉酮除草剂种质. 核农学报, 2021, 35(2): 253-261  
Chen T Z, Yu Y, Ling X T, Zhang B L. Screening of imidazolinone-resistant rice from EMS-mutated populations. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35 (2) : 253-261
- [22] 吕亮杰,陈希勇,张文英,赵爱菊,孙丽静,张颖君,刘玉平,王莉梅,李子千,李辉. EMS诱变抗旱小麦冀麦418的突变体筛选与鉴定. 华北农学报, 2020, 35(S1): 47-55  
Lv L J, Chen X Y, Zhang W Y, Zhao A J, Sun L J, Zhang Y J, Liu Y P, Wang L M, Li Z Q, Li H. Selection and identification of the EMS-induced drought-resistant wheat mutants from Jimai 418. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2020, 35(S1): 47-55
- [23] 刘丹阳. 利用EMS诱变紫粒小麦创制小麦新种质. 泰安: 山东农业大学, 2022  
Liu D Y. Creating new germplasm of purple-grain wheat induced by EMS. Taian: Shandong Agricultural University, 2022
- [24] 赵越. EMS诱导小麦突变及优良突变体筛选. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020  
Zhao Y. The mutation of wheat induced by EMS and identification and screening of excellent mutants. Yangling: Northwest A&F University, 2020
- [25] 曹冠男. EMS诱导4种小麦效应研究及突变体的筛选. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018  
Cao G N. Four kinds of wheat effect induced by EMS and screening of mutants. Yangling: Northwest A&F University, 2018
- [26] 吴建文. 小麦EMS突变群体的创建及功能基因的鉴定. 泰安: 山东农业大学, 2020  
Wu J W. Construction of wheat EMS mutant library and identification of functional genes. Taian: Shandong Agricultural University, 2020
- [27] 张晓勤,薛大伟,周伟辉,邬飞波,张国平. 用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变的大麦浙农大3号突变体的筛选和鉴定. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2011, 37(2): 169-174  
Zhang X Q, Xue D W, Zhou W H, Wu F B, Zhang G P. Screening and identification of the mutants from two-row barley cultivar ZJU3 induced by ethyl methane sulfonate (EMS). Journal of Zhejiang University: Agriculture & Life Sciences, 2011, 37(2): 169-174
- [28] 丁延庆,曹宁,周棱波,程斌,高旭,汪灿,邹桂花,张立异. 酒用糯高粱EMS突变体库构建及突变体筛选. 南方农业学报, 2020, 51(12): 2884-2891  
Ding Y Q, Cao N, Zhou L B, Chen B, Gao X, Wang C, Zou G H, Zhang L Y. Construction of EMS-induced mutant library and mutant screening in liquor-making waxy sorghum. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(12): 2884-2891
- [29] 霍朋杰. 燕麦EMS突变体库的构建及分析. 北京: 中国农业科学院, 2015  
Huo P J. Establishment and analysis of EMS mutant library in Oat (*Avena nuda* L.). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015
- [30] 李颜方,杜艳伟,王高鸿,赵根有,赵晋锋. EMS诱变对晋谷21号种子萌发的影响. 种子, 2020, 39(11): 83-87  
Li Y F, Du Y W, Wang G H, Zhao G Y, Zhao J F. Effects of EMS mutagenesis on seed germination of rice variety Jingu 21. Seed, 39(11): 83-87
- [31] 杨玲玲,刘凡值,孟庆杨,申刚. <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照和EMS对薏苡种子萌发及幼苗生长的影响. 种子, 2021, 40(7): 85-89  
Yang L L, Liu F Z, Meng Q Y, Shen G. Effects of <sup>60</sup>Co- $\gamma$  Irradiation and EMS on seed germination and seedling growth of *Coix lacryma jobi* L. Seed, 2021, 40(7): 85-89
- [32] 臧辉. 羊草种子EMS诱变效应初步研究. 北京: 中国农业科学院, 2018  
Zang H. Mutagenesis effect of *Leymus chinensis* seeds induced by EMS. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018
- [33] 张彬,王喆,陈利青,禾璐,李红英,乔治军,韩渊怀. 糜子EMS突变体库构建和突变体筛选. 植物遗传资源学报, 2019, 20(2): 370-376  
Zhang B, Wang Z, Chen L Q, He L, Li H Y, Qiao Z J, Han Y H. Construction of EMS-treated mutant library and mutant phenotypic analysis in broomcorn millet. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(2): 370-376
- [34] 董文科,路旭平,姜寒玉,马晖玲. 多年生黑麦草EMS诱变与耐旱性评价. 核农学报, 2018, 32(10): 1889-1897  
Dong W K, Lu X P, Jiang H Y, Ma H L. EMS mutagenesis and drought tolerant evaluation of *Loium perenne* L.. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(10): 1889-1897
- [35] 陈丽丽,吴婧,季晓菲,闫利军. 不同浓度EMS对老芒麦种子发芽的影响. 草学, 2018(1): 18-22  
Chen L L, Wu Q, Ji X F, Yan L J. Effect of different concentration of EMS on seed germination of *Elymus sibiricus*. Journal of Grassland and Forage Science, 2018(1): 18-22
- [36] 张玥,石凤翎,赵海霞. EMS处理对无芒雀麦种子萌发的研究. 种子, 2018, 37(12): 70-72  
Zhang Y, Shi F L, Zhao H X. Study on the seed germination of the *Bromus inermis* L. seed mutation induced by EMS. Seed, 2018, 37(12): 70-72
- [37] Neuffer M G, Chang M T. Induced mutations in biological and agronomic research. Science for Plant Breeding, 1989(16): 165-178
- [38] 周文期,连晓荣,周玉乾,王兴荣,杨彦忠,刘忠祥,王晓娟,何海军,寇思荣. EMS诱变玉米自交系种质创新应用. 玉米科学, 2020, 28(6): 31-38  
Zhou W Q, Lian X R, Zhou Y Q, Wang X R, Yang Y Z, Liu Z X, Wang X J, He H J, Kou S R. Innovative application of EMS mutagenesis germplasm of maize inbred lines. Journal of Maize Sciences, 2020, 28(6): 31-38
- [39] 刘志斋. 玉米EMS处理所得突变系的诱变效应研究. 重庆:

- 西南农业大学2005  
Liu Z Z. Analysis of mutation effect of maize (*Zea Mays*) mutants induced by ethyl methane sulfonate (EMS). Chongqing: Southwest University, 2005
- [40] Wang F, Yu Z, Zhang M, Wang M, Lu X, Liu X, Li Y, Zhang X, Tan B, Li C, Ding Z. ZmTE1 promotes plant height by regulating intercalary meristem formation and internode cell elongation in maize. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 20(3): 526-537
- [41] Nie S, Wang B, Ding H, Lin H, Zhang L, Li Q, Wang Y, Zhang B, Liang A, Zhang Z. Genome assembly of the Chinese maize elite inbred line RP125 and its EMS mutant collection provide new resources for maize genetics research and crop improvement. *The Plant Journal*, 2021, 108(1): 1-15
- [42] 李丹丹. EMS处理水稻幼穗诱发变异的方法研究. 广州: 华南农业大学, 2020  
Li D D. Study on EMS treatment of induced variation of young panicles in rice. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020
- [43] 李毛, 王勇锋, 徐开杰, 孙凤丽, 刘曙东, 奚亚军. 利用EMS诱变构建柳枝稷穗芽无性系突变体库的初步研究. *西北农业学报*, 2016, 25(2): 203-208  
Li M, Wang Y F, Xu K J, Sun F L, Liu S D, Xi Y J. Construction of mutant library by EMS induction with *Panicum virgatum* spike buds. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2016, 25(2): 203-208
- [44] 刘莉. 新农1号狗牙根再生体系优化及EMS诱变研究. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2015  
Liu L. Study on regeneration system optimization and Ethyl Methyl Sulfone mutation of *Cynodon dactylon* (L.) Pers cv. Xinnong No. 1. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2015
- [45] 陈祥韦. 利用EMS诱变技术获得海雀稗耐寒突变体. 南京: 南京农业大学, 2017  
Chen X W. Screening of mutants with enhanced cold resistance induced by EMS mutagenesis in seashore paspalum. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017
- [46] 张爱加. 百喜草高效再生体系建立及EMS诱变技术初探. 福州: 福建农林大学, 2007  
Zhang A J. Establishment of the higher efficient system for plant regeneration of *Paspalumnotatum* Flgge and preliminary study on EMS induced mutation technology. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2007
- [47] 江德权. 武育粳3号重要农艺和品质性状突变体的创制与研究. 南京: 南京农业大学, 2012  
Jiang D Q. Identification and characterization of mutants regarding major agronomic and quality traits as induced by chemical mutagen (EMS) in the premium japonica rice cultivar wuyujing3. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012
- [48] 徐艳花, 陈锋, 董中东, 崔党群. EMS诱变的普通小麦豫农201突变体库的构建与初步分析. *麦类作物学报*, 2010, 30(4): 625-629  
Xu Y H, Chen F, Dong Z D, Cui D Q. Construction and analysis of EMS induced mutant library of hexaploid wheat cultivar Yunong 201. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(4): 625-629
- [49] Sharma V, Mishra A, Sharma H, Kumar P, Roy J. Unraveling novel and rare mutations for alpha-amylase and key transcription factors in EMS-induced wheat mutants for amylose by TILLING. *Molecular Biology Reports*, 2022, 49(6): 5427-5436
- [50] Jitendra K, Ashish K, Ankita M, Vinod K M, Joy R. Genetic variation, heritability, genetic advance, micronutrients, and grain morphology trait associations in EMS induced mutant lines of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2022, 69(6): 1-18
- [51] Zhao Y, Huang Y, Gao Y, Wang H, Wu H, Zhu H, Lu X, Ma Q. An EMS-induced allele of the *brachytic2* gene can reduce plant height in maize. *Plant Cell Reports*, 2023, 42(4): 749-761
- [52] 王炜, 陈琛, 葛玉彬, 罗俊杰, 叶春雷. 甜高粱EMS诱变获得新种质的研究. *核农学报*, 2022, 36(1): 7-13  
Wang W, Chen C, Ge Y B, Luo J J, Ye C L. EMS mutagenesis of sweet sorghum to create new germplasm. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2022, 36(1): 7-13
- [53] Guo B, Qi J, Li D, Sun H, Lyu C, Wang F, Zhu J, Guo G, Xu R. Genetic analysis and gene mapping of a dwarf and liguleless mutation in barley. *The Crop Journal*, 2022, 10(4): 1094-1102
- [54] Poli Y, Nallamothu V, Hao A, Goud M D, Wang X, Desiraju S, Mangrauthia S, Jain A. NH787 EMS mutant of rice variety Nagina22 exhibits higher phosphate use efficiency. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 9156
- [55] Roux M S L L, Burger N F V, Maré Vlok, Kunert J K, Cullis C A, Botha A M. EMS derived wheat mutant BIG8-1 (*Triticum aestivum* L.)—a new drought tolerant mutant wheat line. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22: 5314
- [56] Sadaf Z, Sana Z, Momina H, Muhammad A, Tayyaba S, Mehboob-ur-Rahman. EMS-based mutants are useful for enhancing drought tolerance in spring wheat. *Cereal Research Communications*, 2021, 50(4): 1-12
- [57] Wang D, Li P, Wang H, Xu Y, Yang Y, Zhou Y, Chen Z, Zhou Y, Gui L, Guo Y, Zhou C, Tang W, Zheng S, Wang L, Guo X, Zhang, Y, Cui F, Lin X, Jiao Y, He Y, Li J, He F, Liu X, Xiao J. Boosting wheat functional genomics via an indexed EMS mutant library of KN9204. *Plant Communications*, 2023, 4(4): 100593-100593
- [58] Zheng Y, Zhu Y, Mao X, Jiang M, Wei Y, Lian L, Xu H, Chen L, Xie H, Lu G, Zhang J. SDR7-6, a short-chain alcohol dehydrogenase/reductase family protein, regulates light-dependent cell death and defence responses in rice. *Molecular Plant Pathology*, 2022, 23(1): 78-91
- [59] Chhabra B, Singh L, Wallace S, Schoen A, Dong Y, Tiwari

- V, Rawat N. Screening of an ethyl methane sulfonate mutagenized population of a wheat cultivar susceptible to Fusarium Head Blight identifies resistant variants. *Plant Disease*, 2021, 105(11):3669-3676
- [60] Xu X, Su Y, Yang J, Li J, Gao Y, Li C, Wang X, Guo L, Zheng Z, Xie C, Ma J, Ma J. A novel QTL conferring Fusarium crown rot resistance on chromosome 2A in a wheat EMS mutant. *Theoretical and Applied Genetics*, 2024, 137(2): 49
- [61] Christina I, Julio M, Finn B, Winnie F, Merethe B, Søren K, Per G. Highly effective mlo-based powdery mildew resistance in hexaploid wheat without pleiotropic effects. *Plant Science*, 2023, 335:111785
- [62] 刘美桃. 晋谷 21 EMS 突变体库的构建与特征分析. 晋中:山西农业大学, 2014  
Liu M T. Construction and characterization of EMS mutant library of Jingu 21. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2014
- [63] Hu B, Chen W, Wan L, Li T, Wang H, Wang Y, Pu Z, Tu B, Yuan H, Wang Y, Ma B, Qin P, Li S. *Short grain 5* controls grain length in rice by regulating cell expansion. *Plant Science*, 2022, 323: 111412
- [64] Umakanta N, Manoj N, Prasad D, Mithra S V A, Ramamurthy S, Singh N K, Sharma R P, Mohapatra T. An EMS-induced new sequence variant, TEMS5032, in the coding region of SRS3 gene leads to shorter grain length in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Applied Genetics*, 2018, 59(4): 13
- [65] 任永哲, 徐艳花, 马原松, 丁锦平, 张庆琛, 裴冬丽, 梁峰. TILLING 技术及其应用的研究进展. *种子*, 2011, 30(6): 56-60  
Ren Y Z, Xu Y H, Ma Y S, Ding J P, Zhang Q C, Pei D L, Liang F. Advances in TILLING technology and its applications. *Seed*, 2011, 30(6): 56-60
- [66] 周月霞, 程剑平, 阮景军. TILLING 技术及其在作物遗传改良中的应用研究进展. *分子植物育种*, 2020, 18(3):988-994  
Zhou Y X, Chen J P, Ruan J J. Advances in TILLING technology and its application in crop genetic improvement. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(3):988-994
- [67] 彭艳. 川莽 2 号高芦丁突变体的筛选及 *F3'H* 基因的 TILLING 分析. 贵阳: 贵州大学, 2022  
Peng Y. Screening of high rutin mutants in 'Chuanqiao 2' and TILLING analysis of *F3'H* gene. Guiyang: Guizhou University, 2022
- [68] Jiang C, Lei M, Guo Y, Gao G, Shi L, Jin Y, Cai Y, Himmelbach A, Zhou S, He Q, Yao X, Kan J, Haberer G, Duan F, Li L, Liu J, Zhang J, Spannagl M, Liu C, Stein N, Feng Z, Mascher M, Yang P. A reference-guided TILLING by amplicon-sequencing platform supports forward and reverse genetics in barley. *Plant Communications*, 2022, 3: 100317