

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.02.004

王耀琴, 李俊霖, 张强, 等. 山药零余子化学诱变体系探索及突变体库构建 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(2): 41-50.

# 山药零余子化学诱变体系探索及突变体库构建

王耀琴<sup>1</sup>, 李俊霖<sup>2</sup>, 张强<sup>1</sup>, 韩鹏远<sup>3</sup>, 王小兵<sup>1</sup>, 张丽君<sup>4</sup>

1. 山西农业大学 经济作物研究所, 山西 汾阳 032200; 2. 山西医科大学 药学院, 太原 030001;

3. 山西农业大学 科研管理部, 太原 030801; 4. 山西农业大学 农业基因研究中心, 太原 030801

**摘要:** 开展山药零余子甲基磺酸乙酯(EMS)化学诱变技术研究, 不仅可以获得丰富的突变体材料, 而且对丰富山药育种技术和方法具有重要意义。以白玉、晋山药 1 号、汾阳冀村山药、平遥岳壁山药、山东细毛山药的零余子为材料, 采用 0(CK)、0.6%、0.8%、1.0%、1.2% 浓度的 EMS 处理, 研究 EMS 对不同材料的敏感性, 筛选 EMS 最敏感材料; 选用对 EMS 最敏感的山药进行处理, 调查诱变处理后表型的变异情况, 并构建该材料的突变体库。结果表明: 随着 EMS 浓度的增加, 5 种山药的出苗数和成活数均受到不同程度的抑制; 山药零余子对 EMS 的敏感性存在差异, 诱变适宜浓度为 0.81%~1.20%, 平遥岳壁山药为诱变最敏感材料; 平遥岳壁山药突变体库中, 总变异率为 9.36%。代表型变异以主茎变异率最高, 为 3.86%, 占总变异率的 41.24%; 以叶形变异最为丰富, 有 12 个变异类型, 变异率为 3.46%, 占总变异率的 36.97%。由此可知, 诱变浓度在 0.81%~1.20%, 零余子可以产生丰富的表型变异。

**关键词:** 山药; 零余子; 甲基磺酸乙酯(EMS)诱变; 突变体库

**中图分类号:** S632.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2025)02-0041-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Exploration of Chemical Mutagenesis System and Construction of Mutant Library for Chinese Yam Bulbil

WANG Yaoqin<sup>1</sup>, LI Junlin<sup>2</sup>, ZHANG Qiang<sup>1</sup>,  
HAN Pengyuan<sup>3</sup>, WANG Xiaobing<sup>1</sup>, ZHANG Lijun<sup>4</sup>

1. Industrial Crop Institute, Shanxi Agricultural University, Fenyang Shanxi 032200, China;

2. School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

3. Office of Research Administration, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China;

4. Center for Agricultural Genetic Resources Research, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China

**Abstract:** Study of ethyl methanesulfonate (EMS) chemical mutagenesis of Chinese yam bulbil can not only obtain abundant mutant materials and provide a good material basis for subsequent gene function

收稿日期: 2024-03-12

基金项目: 国家中药材产业技术体系浑源综合试验站项目(CARS-21); 山西省现代农业产业技术体系建设专项(2021-11); 山西农业大学校育种工程项目(YZGC055)。

作者简介: 王耀琴, 硕士, 副研究员, 主要从事山药品种选育、栽培技术及资源综合利用研究。

analysis and new variety selection, but also is of great significance for enriching yam breeding techniques and methods. In this study, the sensitivity of EMS to different materials was investigated by using 0(CK), 0.6%, 0.8%, 1.0%, and 1.2% concentrations of EMS to treat the bulbils of Baiyu, Jin yam 1, Fenyang Jicun yam, Pingyao Yuebi yam, and Shandong Ximao yam Zero Yu Zi to screen the most sensitive materials for EMS. Pingyao Yuebi yam, the most sensitive to EMS, was selected for further treatment to investigate the phenotypic variation after mutagenesis treatment and to construct a mutant library of this material. The post-representative variation rate of the main stem was the highest, with a variable rate of 3.86%, accounting for 41.24% of the total variable rate. The variation of leaf shape was the most abundant, with 12 variation types and a variation rate of 3.46%, accounting for 36.97% of the total variation rate. EMS at concentrations ranging from 0.81% to 1.20% effectively induced a wide array of phenotypic variations in yam bulbils. This study provides valuable mutant materials for yam germplasm innovation and the development of new yam varieties.

**Key words:** Chinese yam; bulbil; EMS mutagenesis; mutant library

山药(*Dioscorea opposita* Thunb.)是薯蓣科(Dioscoreaceae)薯蓣属(*Dioscorea* L.) 1年生或多年生的单子叶缠绕蔓性藤本植物<sup>[1]</sup>。全球已记录的山药约有 600 种,且广泛分布于亚热带和热带区域,其中中国是山药的起源和驯化中心之一,种质资源极为丰富,共有 65 种,在许多地区都有种植<sup>[2-3]</sup>。山药也是全球 10 大重要的可食用块茎和根茎植物之一,仅次于马铃薯、木薯和甘薯<sup>[4]</sup>。山药是最具代表性的药食同源植物,其重要性在《神农本草经》和《本草纲目》中均有记载<sup>[5]</sup>。山药不仅富含抗性淀粉、蛋白质、氨基酸、可溶性糖等人体所需的营养成分,还含有胆碱、尿囊素、皂甙等药用成分<sup>[6]</sup>。现代医学对山药多种成分进行药理分析后发现,山药具有抗氧化、延缓衰老、抗肿瘤突变、降血糖血脂、调节免疫力等疗效<sup>[7]</sup>。

植物的繁殖分为有性繁殖和无性繁殖<sup>[8]</sup>。有性繁殖主要是以种子或者果实的形式进行种群繁衍和扩张<sup>[9]</sup>,是通过种子作为载体来传递遗传物质,克服了米勒棘齿效应,提供了遗传变异和进化潜能,往往更能适应不同环境<sup>[10]</sup>。无性繁殖是通过匍匐茎、根状茎等营养器官将母本全部基因传递给后代<sup>[11]</sup>。与有性繁殖相比,无性繁殖成功率更高、性状更稳定、种群优势更明显,但是存在变异性低、适应性差等缺陷<sup>[12-13]</sup>。山药一般是采用多种营养器官进行无性繁殖,所以在山药新品种选育过程中存在变异性差、基因池多样性下降、周期太长等问题。

化学诱变剂已被广泛用于诱导动植物的功能性变异,其中 EMS 是常用的诱变剂之一<sup>[14]</sup>。EMS 能够通过碱基序列中核苷酸碱基对的替换实现点突变,产生错义或无义突变,在植物全基因组中引起随机突变,从而引起一系列的功能变化<sup>[15-16]</sup>。EMS 诱变已经在水稻(*Oryza sativa* L.)、苦荞(*Fagopyrum tataricum*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)等植物中构建了突变体库<sup>[17-18]</sup>。

近年来,山药独特的营养价值和药用价值日渐受到人们的喜爱和重视,进而对山药优良品种的需求也日益增加<sup>[19]</sup>,但山药的育种研究进展缓慢,尤其在优良品种选育、良种繁育以及功能基因挖掘利用等方面基础薄弱<sup>[20]</sup>。目前,山药主要育种方法有引种、选择育种和诱变育种<sup>[21]</sup>。为了获得高产优质的山药品种,研究者通过物理(60 Co- $\gamma$ 射线)和化学诱变(EMS)的育种方法获得山药突变体,比如铁棍 1 号、晋山药 1 号、苏蕻 3 号等<sup>[22-25]</sup>。与传统的系统选育相比,诱变育种突变频率高、范围广、操作简单,克服了山药无法杂交的难题<sup>[26-27]</sup>。本研究比较不同浓度 EMS 诱变处理下,对 5 种山药种质资源零余子致死率的影响,通过回归分析,确定 EMS 诱变的适宜浓度<sup>[28-29]</sup>,选择最敏感材料进行 EMS 批量处理,观察并鉴定诱变群体的表型变异,旨在为创造新种质、培育新品种奠定理论基础,同时提供育种的基础材料。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

试验材料均来自于山西农业大学经济作物研究所山药种质资源圃(表 1)。

表 1 试验材料的来源信息

编号	材料名称	材料来源
1	白玉	山东省聊城市莘县王奉镇
2	晋山药 1 号	山西农业大学经济作物研究所审定品种
3	汾阳冀村山药	山西省汾阳市冀村镇
4	平遥岳壁山药	山西省平遥县岳壁乡长山药小镇岳北村
5	山东细毛山药	山东省桓台县新城镇

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 EMS 诱变剂处理

0.1 mol/L pH 值为 7 的磷酸缓冲液配置 EMS 溶液, 浓度梯度为 0(CK)、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%。选取完整的零余子(直径 1~2 cm), 清洗干净后, 蒸馏水浸泡 8 h, 吸干水分, 用湿毛巾将其包裹装入塑料袋, 置于人工气候箱中, 每 2 d 喷 1 次雾状水(以打湿毛巾为准)。零余子表面 80% 以上呈现白色点状凸起时, 转入不同浓度的 EMS 溶液中, 置于 25 °C, 150 r/min 摇床震荡 30 h, 用自来水冲洗 6 h, 每个处理 100 个零余子, 重复 3 次。

选取半致死剂量最低的材料作为最敏感材料, 最佳浓度的 EMS 处理其零余子 3 000 粒, 收获的子代记为  $M_0$ 。2020 和 2021 年分别调查  $M_1$ 、 $M_2$  代植株的变异情况。

### 1.2.2 诱变后零余子播种方法

诱变处理后的零余子种植于 10 m × 2.4 m 的试验田中(山西农业大学经济作物研究所), 种植规格: 株距 20 cm、行距 60 cm, 按常规方法进行田间种植和管理。

## 1.3 指标测定

$$R_{\text{出苗}} = T_{35} / N_{\text{供试}} \times 100\% \quad (1)$$

$$R_{\text{成苗}} = T_{50} / N_{\text{供试}} \times 100\% \quad (2)$$

$$R'_{\text{出苗}} = R_{\text{处理}} / R_{\text{对照}} \times 100\% \quad (3)$$

$$R'_{\text{成苗}} = R'_{\text{处理}} / R'_{\text{对照}} \times 100\% \quad (4)$$

$$V = N_{\text{突变}} / N_{\text{总}} \times 100\% \quad (5)$$

式中,  $R_{\text{出苗}}$  为出苗率;  $T_{35}$  为第 35 d 出苗总数;  $N_{\text{供试}}$  为供试种子数;  $R_{\text{成苗}}$  为成苗率;  $T_{50}$  为第 50 d 成活苗总数;  $R'_{\text{出苗}}$  为相对出苗率;  $R_{\text{处理}}$  为处理的出苗率;  $R_{\text{对照}}$  为对照的出苗率;  $R'_{\text{成苗}}$  为相对成苗率;  $R'_{\text{处理}}$  为处理的成苗率;  $R'_{\text{对照}}$  为对照的成苗率;  $V$  为变异率;  $N_{\text{突变}}$  为突变株数;  $N_{\text{总}}$  为群体株数。

## 1.4 突变体表型性状调查

2018 年, 调查 5 种山药的出苗率和成活率。2020—2021 年, 调查平遥岳壁山药  $M_1$  和  $M_2$  代植株的变异情况。调查内容包括节间长、叶形、叶序、分枝数、主茎形状等(表 2), 其中叶形、叶序、主茎形状变异的调查时期为山药茎叶生长期至块茎迅速膨大前期, 节间长和分枝数变异的调查时期是在山药进入成熟期, 统计每个表型突变个数及变异率。

表 2 山药资源诱变处理后表型评价的描述

编号	表型	调查内容
1	节间长	茎蔓中部最长节间长度
2	叶形	植株上部叶片的形状
3	叶尖	植株茎蔓中部叶片的叶尖形状
4	叶色	植株中部叶片正面的颜色
5	叶基	叶基部的形态
6	叶序	叶在茎枝上排列的次序
7	分枝数	每株丛抽生的分枝总数
8	主茎形状	植株主茎的形状

## 1.5 数据处理

采用 SPSS 19.0 进行统计分析, Excel 2013 进行数据记录整理和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 EMS 浓度处理山药零余子

不同浓度的 EMS 溶液处理同一山药材料的零余子后, 各材料的出苗数和成活数均有明显的下降(表 3)。不同材料间对 EMS 的敏感性存在差异, EMS 浓度在 0.6% 和 0.8% 时, 5 种材料的出苗数和成活数保持一致; EMS 浓度为 1.0% 时, 2 种材料(汾阳冀村山药和平遥岳壁山药)的出苗数和成活数存在较大差异; EMS 浓度为 1.2% 时, 只有晋山药 1 号的出苗数和成活数保持一致, 白玉出苗后有 2.9% 死亡, 山东细毛山药出苗后有 25.8% 死亡, 汾阳冀村山药出苗后有 26.8% 死亡, 平遥岳壁山药出苗后有 59.2% 死亡(图 1)。

表 3 不同 EMS 浓度下 5 个山药品种的出苗数、成活数、成活率

编号	材料名称	EMS 浓度/%	出苗数/株	成活数/株	成活率/%
1	白玉	0	100	100	100
		0.6	73.0±2.6	73.0±2.6	73.0
		0.8	62.7±3.1	62.7±3.1	62.7
		1.0	50.0±2.6	50.0±2.6	50.0
		1.2	35.0±4.0	34.0±4.6	34.0
2	晋山药 1 号	0	100	100	100
		0.6	76.0±4.6	76.0±4.6	76.0
		0.8	65.7±4.2	65.7±4.2	65.7
		1.0	57.3±4.0	57.3±4.0	57.3
		1.2	46.0±1.7	46.0±1.7	46.0
3	汾阳冀村山药	0	100	100	100
		0.6	77.0±3.0	77.0±3.0	77.0
		0.8	61.7±3.5	61.7±3.5	61.7
		1.0	42.0±3.0	40.3±2.1	40.3
		1.2	31.0±3.0	22.7±2.1	22.7
4	平遥岳壁山药	0	100	100	100
		0.6	69.7±3.1	69.7±3.1	69.7
		0.8	52.3±2.1	52.3±2.1	52.3
		1.0	35.0±4.6	31.3±2.5	31.3
		1.2	27.7±2.5	11.3±1.5	11.3
5	山东细毛山药	0	100	100	100
		0.6	88.0±1.7	88.0±1.7	88.0
		0.8	69.0±3.6	69.0±3.6	69.0
		1.0	58.0±2.6	58.0±2.6	58.0
		1.2	33.7±5.0	25.0±3.6	25.0

EMS 不同浓度处理后对不同品种山药零余子的成活率进行回归趋势分析, 结果显示 5 个不同山药品种零余子 EMS 诱变的半致死剂量分别为: 白玉 0.98%、晋山药 1 号 1.20%、汾阳冀村山药 0.90%、平遥岳壁山药 0.81%、山东细毛山药 1.00%(图 2)。不同来源种质的山药零余子对 EMS 的敏感性不同, 半致死

剂量存在差异性, 为 0.81%~1.20%, 敏感程度由高到低依次为: 平遥岳壁山药、汾阳冀村山药、白玉、山东细毛山药、晋山药 1 号。

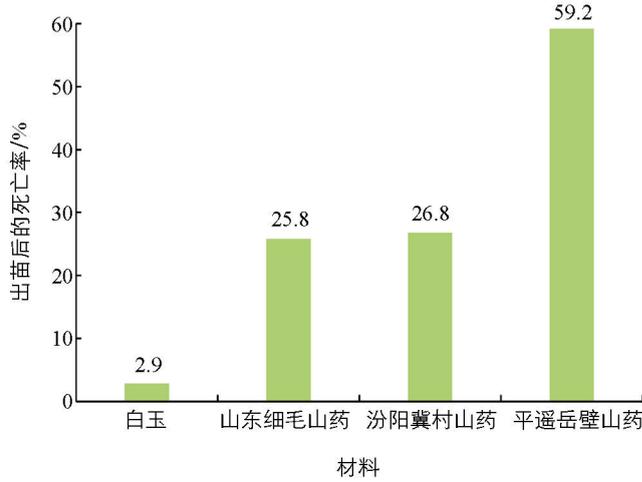


图 1 EMS 浓度在 1.2% 时各材料的死亡情况

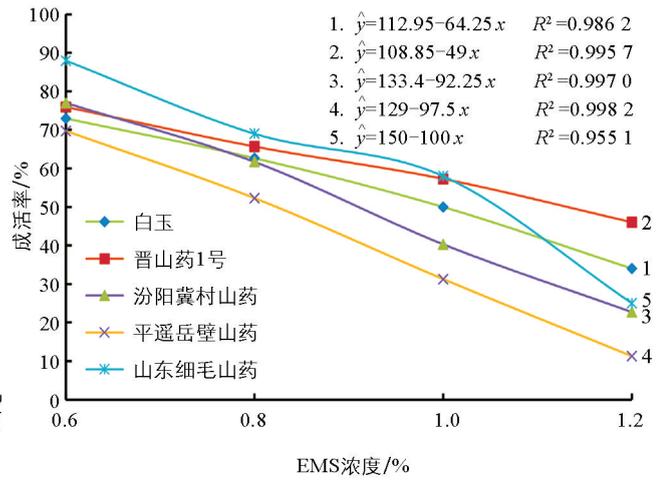


图 2 EMS 不同浓度对不同品种山药零余子成活率的回归趋势线

## 2.2 平遥岳壁山药突变体库的构建

### 2.2.1 田间表型调查情况

选择敏感程度最高的平遥岳壁山药构建突变体库, 选用浓度 0.8% 的 EMS 处理 3 000 粒零余子, 成活 1 453 株。2020 和 2021 年分别调查  $M_1$ 、 $M_2$  代植株的变异情况,  $M_1$  到  $M_2$  代的变异株由 376 株变为 301 株, 变异率由 25.88% 变为 20.72%, 其中能稳定遗传的有 136 株(表 4)。

平遥岳壁山药总变异率为 9.36%, 代表型变异以主茎变异率最高, 为 3.86%, 占总变异率的 41.24%; 以叶形变异最为丰富, 有 12 个变异类型, 变异率为 3.46%, 占总变异率的 36.97%, 其中 50 株是由  $M_1$  代遗传的; 叶尖变异次之, 变异率为 1.25%, 占总变异率的 13.35%, 其中 18 株是由  $M_1$  代遗传的; 叶基和叶色变异居第 3 位, 变异率为 0.41%, 占总变异率的 4.38%, 其中 6 株是由  $M_1$  代遗传的(表 4)。

表 4 平遥岳壁山药诱变群体  $M_1$ 、 $M_2$  表型变异性状描述

表型	变异类型	$M_1$		$M_2$		$M_1 \cdot M_2$	
		株数	频率/%	株数	频率/%	株数	频率/%
叶形	三角形	8	0.55	3	0.21	1	0.07
	圆心形	6	0.41	11	0.76	4	0.28
	长心形	9	0.62	1	0.07	1	0.07
	机翼形	11	0.76	10	0.69	7	0.48
	圆卵形	14	0.96	2	0.14	2	0.14
	蝴蝶形	26	1.79	18	1.24	11	0.76
	复叶	6	0.41	13	0.89	4	0.28
	非对称叶	17	1.17	26	1.79	7	0.48
	内卷	4	0.28	6	0.34	4	0.28
	叶片皱缩	77	5.30	23	1.58	0	0
	叶面中心凸起	17	1.17	5	0.34	0	0
	原叶裂一侧下方出现新叶裂	23	1.58	17	1.17	9	0.62

续表 4

表型	变异类型	M <sub>1</sub>		M <sub>2</sub>		M <sub>1</sub> · M <sub>2</sub>	
		株数	频率/%	株数	频率/%	株数	频率/%
叶尖	短尖	12	0.83	13	0.89	6	0.41
	弯曲向一侧	4	0.28	3	0.21	3	0.21
	圆盾	3	0.21	3	0.21	3	0.21
	二裂	3	0.21	3	0.21	3	0.21
	平截	2	0.14	2	0.14	2	0.14
	弯月	1	0.07	1	0.07	1	0.07
叶基	直线形	8	0.55	3	0.21	1	0.07
	抱茎	11	0.76	17	1.17	5	0.34
叶色	叶缘深紫色	13	0.89	7	0.48	0	0
	全叶浅绿	9	0.62	14	0.96	6	0.41
主茎	形状扁平	15	1.03	28	1.93	4	0.28
	分枝变多	29	2.00	37	2.55	21	1.45
	无分枝	22	1.51	17	1.17	13	0.89
	节间变长	26	1.79	18	1.24	18	1.24
突变体总数	—	376	25.88	301	20.72	136	9.36
未突变株数	—	1 077	74.12	1 152	79.28	—	—
总植株数	1 453	1 453	—	1 453	—	1 453	—

### 2.2.2 叶片形态变异情况描述

平遥岳壁山药叶形为戟形,叶尖细长、渐尖,中下部具 2 个较深叶裂,叶面平展,叶色和叶缘色均为绿色(图 3-CK)。诱变处理后,叶形变异包括三角形(图 3-1)、圆心形有叶裂(图 3-2)、圆心形无叶裂(图 3-3)、长心形(图 3-4)、机翼形(图 3-5~6)、圆卵形(图 3-7)、蝴蝶形(图 3-8)、复叶(图 3-9)、非对称叶左右叶耳大小不等(图 3-10~11)、非对称叶叶片一部分缺失(图 3-12~13)、内卷(图 3-14~15)、叶片皱缩(图 3-16~17)、叶面中心凸起(图 3-18)、原叶裂一侧下方出现新叶裂(图 3-19~20);叶尖变异类型有短尖(图 3-21)、弯曲向一侧(图 3-22)、圆盾(图 3-23)、二裂(图 3-24)、平截(图 3-25)、弯月(图 3-26);叶基变异类型有直线形(图 3-27)、抱茎(图 3-28~29);叶色变异叶缘为深紫色(图 3-30)、全叶颜色浅绿色(图 3-31)。

### 2.2.3 主茎形状、叶序变异

平遥岳壁山药主茎为圆柱形,茎上叶序为对生;突变体植株主茎变为偏平状,叶序混乱,且叶稍也较粗,叶序呈 3 叶互生、4 叶轮生等不规则、无规律排列(图 4,图 5),该类型变异率为 0.28%,占总变异率的 2.99%,其中 4 株是由 M<sub>1</sub> 代遗传的(表 4)。

### 2.2.4 分枝数和节间变异

平遥岳壁山药正常植株主茎分枝数 5~7 条,节间平均长度为 5 cm,诱变群体出现无分枝植株(图 6a),或主茎分枝数变多,为 15~17 条(图 6b)和主茎节间变长,为 10~13 cm(图 6c)。主茎分枝数变多类型变异率最高,为 1.45%,占总变异率的 15.49%,21 株是由 M<sub>1</sub> 代遗传的;主茎节间变长类型变异率次之,为 1.24%,占总变异率的 13.25%,18 株是由 M<sub>1</sub> 代遗传的;无分枝类型变异率最低,为 0.89%,占总变异率的 9.51%,13 株是由 M<sub>1</sub> 代遗传的(表 4)。

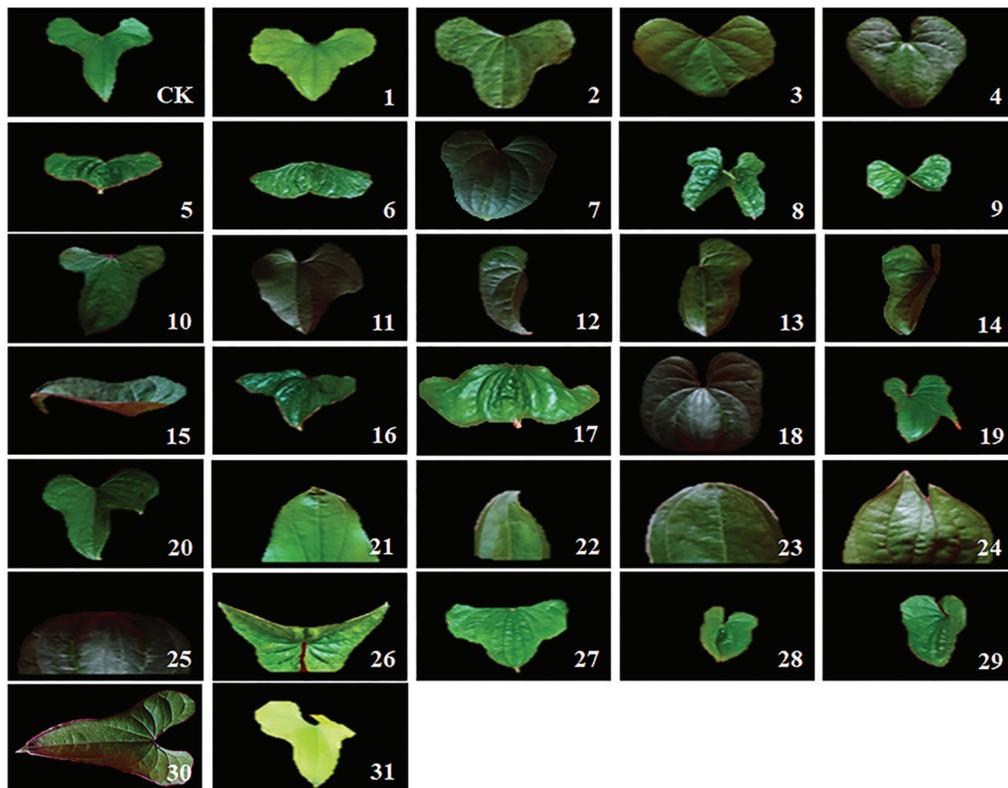


图 3 EMS 诱变处理后平遥岳壁山药 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub> 代叶片形态变异情况



图 4 平遥岳壁山药诱变处理前后主茎的变异情况



图 5 平遥岳壁山药诱变处理前后叶序变异情况

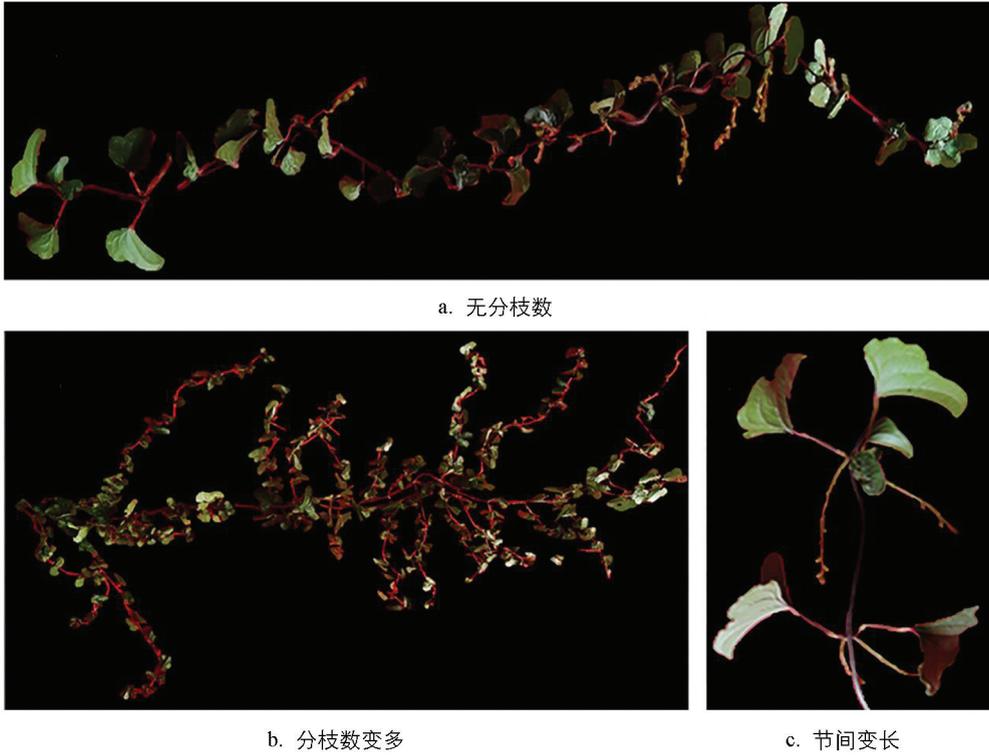


图 6 平遥岳壁山药诱变处理后分枝数和节间变异情况

### 3 讨论与结论

#### 3.1 讨论

自然或人工产生的突变体被认为是在确定的种质基因池中开发具有新期望性状非常有用的方法<sup>[26-27]</sup>。山药的开花习性和繁殖方式较为特殊,传统杂交方法难以产生遗传重组和变异。甲基磺酸乙酯(EMS)是一种烷基化化学诱变剂,其处理已经成功帮助种子和营养繁殖植物中新品种的开发<sup>[28]</sup>。这种诱变剂很容易使用,没有技术壁垒和高精设备的要求,可以提供一个非常高的随机点突变频率<sup>[29]</sup>。化学诱变产生的突变体是分子育种中基因挖掘和新品种繁殖不可或缺的一部分<sup>[30-31]</sup>。通过 EMS 诱变培育新品种的案例已有许多报道,比如耐旱马铃薯植株的选育、甘薯耐盐品种的选育和甘薯贮藏根储存含量的选育等<sup>[32-34]</sup>,但山药在这方面的报道较少。

EMS 的浓度、处理时间和方法、营养器官的选择等都是影响 EMS 化学诱变效果的因素<sup>[35]</sup>。通常以诱变处理后植株成活率在 1/2 时(半致死剂量)来确定 EMS 的浓度和处理时间<sup>[36]</sup>。本研究利用不同浓度梯度的 EMS(0、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%)诱变处理 5 个不同山药材料的零余子(白玉、晋山药 1 号、汾阳冀村山药、平遥岳壁山药、山东细毛山药),通过对其成活率进行回归趋势分析得出:5 种山药材料的 EMS 适宜浓度为 0.98%、1.20%、0.90%、0.81%、1.00%;3 份来源于山西的山药适宜浓度区别较大,相差 0.33%;2 份来源于山东的山药适宜浓度区别较小,相差 0.02%;对 EMS 的诱变敏感程度顺序由高到低依次为平遥岳壁山药、汾阳冀村山药、白玉、山东细毛山药、晋山药 1 号。这一现象可能是由于其材料内部全基因组序列的差异所导致,需要进行后期研究加以论证。

本研究选用敏感性强的平遥岳壁山药来构建突变体库,并产生了丰富的突变类型。突变体有表现出前期生长缓慢、长势弱、后期与野生型生长一致的现象;叶形有戟形变为圆心形,或形成复叶、非对称叶等类型;主茎宽而扁平,叶序混乱,这一现象在拟南芥中有过报道<sup>[37]</sup>。我们计划在 DNA 水平上解析突变体的变异机理,以了解这些变化表型内部的分子机制。利用该突变体库,对山药叶形的变异、主茎形状和叶片颜色等突变性状进行基因挖掘和克隆。

突变体库是研究功能基因组学的重要工具,可以在许多植物物种中进行构建<sup>[38-40]</sup>。由于并非所有 EMS 突变都表现出视觉变化,因此仍然需要对这些突变体进行额外的筛选,例如靶向诱导的基因组局部病变 (TILING) 等<sup>[41-42]</sup>。除了田间性状调查,在未来的测试中,还有必要结合山药的抗病性和品质等其他性状进行筛选。

### 3.2 结论

用 EMS 诱变零余子对山药进行种质创新和新品种培育,选择适宜的诱变浓度和敏感材料最为关键。本研究通过对 5 个不同山药品种零余子进行不同 EMS 浓度的处理,筛选出了 5 个品种的 EMS 适宜浓度,为 0.81%~1.20%,对 EMS 的诱变敏感程度顺序由高到低依次为平遥岳壁山药、汾阳冀村山药、白玉、山东细毛山药、晋山药 1 号。对最敏感材料采用最适浓度进行批量处理后,总变异率为 9.36%。代表型变异以主茎变异率最高,为 3.86%,占总变异率的 41.24%;以叶形变异最为丰富,有 12 个变异类型,变异率为 3.46%,占总变异率的 36.97%。

### 参考文献:

- [1] 中国农业科学院蔬菜花卉研究所. 中国蔬菜品种志 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2001.
- [2] 李月仙, 黄东益, 黄小龙, 等. 山药的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(9): 91-96.
- [3] 刘鹏, 郭水良, 吕洪飞, 等. 中国薯蓣属植物的研究综述 [J]. 浙江师大学报(自然科学版), 1993, 16(4): 100-106.
- [4] SHEWRYP R. Tuber Storage Proteins [J]. Annals of Botany, 2003, 91(7): 755-769.
- [5] 景娴, 江海, 杜欢欢, 等. 我国山药研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2016, 44(15): 114-117.
- [6] 郭林宇, 汤晓艳. 国内山药营养品质、影响因素及评价方法研究进展 [J]. 中国食物与营养, 2021, 27(12): 53-60.
- [7] 陈阳, 马丽娜, 李金贵, 等. 8 份不同地区山药资源营养成分比较分析 [J]. 福建农业科技, 2020, 51(9): 35-38.
- [8] SCHMIDT A, SCHMID M W, GROSSNIKLAUS U. Plant Germline Formation: Common Concepts and Developmental Flexibility in Sexual and Asexual Reproduction [J]. Development, 2015, 142(2): 229-241.
- [9] 黄东静, 冯刚, 刘继虎, 等. 鸡爪槭翅果表型性状变异 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2016, 28(5): 36-41.
- [10] RICHARDS A J. Plant Breeding Systems [M]. New York: Garland Science, 1997.
- [11] PHILBRICK C T, LES D H. Evolution of Aquatic Angiosperm Reproductive Systems [J]. BioScience, 1996, 46(11): 813-826.
- [12] JACKSON J B C. Population biology and evolution of clonal organisms [M]. New Haven: Yale University Press, 1985.
- [13] GRACE J B. The Adaptive Significance of Clonal Reproduction in Angiosperms: An Aquatic Perspective [J]. Aquatic Botany, 1993, 44(2-3): 159-180.
- [14] TALEBI A B, TALEBI A B, SHAHROKHIFAR B. Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (Cv. MR219) for Lethal Dose Determination [J]. American Journal of Plant Sciences, 2012, 3(12): 1661-1665.
- [15] GIRIJA M, DHANAVEL D, GNANAMURTHY S. Gamma Rays and EMS Induced Flower Color and Seed Mutants in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) [J]. Adv Appl Sci Res, 2013, 4(2): 134-139.
- [16] SHAHS N M, GONG Z H, ARISHA M H, et al. Effect of Ethyl Methyl Sulfonate Concentration and Different Treatment Conditions on Germination and Seedling Growth of the Cucumber Cultivar Chinese Long (9930) [J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(1): 2440-2449.
- [17] 赵冬生, 刘金钰, 刘巧泉. 水稻突变体库构建方法的新发展——CRISPR/Cas9 系统 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2021, 42(4): 71-77.
- [18] 方小梅, 杨文娟, 王于栋, 等. 苦荞 EMS 突变体库的构建及 SCoT 标记筛选分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2023, 45(2): 54-65.
- [19] 袁书林. 山药的化学成分和生物活性作用研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 176-179.
- [20] 董俊美, 李锦超, 孟义江, 等. 山药种质资源鉴评与品种选育研究进展 [J]. 河南农业科学, 2021, 50(11): 6-14.

- [21] 龚亚丽, 吴建静, 杜小兵, 等. “红庙山药 1 号”的选育及应用 [J]. 陕西农业科学, 2019, 65(5): 99-100.
- [22] 陈芝华, 华树妹, 李丽红, 等. 淮山药新品种“明淮 1 号”的选育及应用 [J]. 湖南农业科学, 2016(7): 18-20, 23.
- [23] 王素霞. 怀山药新铁 2 号的选育及高产栽培技术 [J]. 河南农业科学, 2013, 42(7): 112-114.
- [24] 史新敏, 李勇, 樊继德. 块状紫山药新品种苏蕻 3 号的选育 [J]. 蔬菜, 2018(5): 80-82.
- [25] 南怀林, 王耀琴, 刘建平, 等. 山药零余子 EMS 诱变处理的研究 [J]. 农学学报, 2021, 11(9): 7-10.
- [26] PATHIRANA R. Plant Mutation Breeding in Agriculture [J]. CABI Reviews, 2011, 6(32): 1-20.
- [27] SHU Q Y, FORSTER B P, NAKAGAWA H. Principles and Applications of Plant Mutation Breeding [M] // Plant mutation breeding and biotechnology. UK: CABI, 2012: 301-325.
- [28] PARRY M A J, MADGWICK P J, BAYON C, et al. Mutation Discovery for Crop Improvement [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(10): 2817-2825.
- [29] SIKORA P, CHAWADE A, LARSSON M, et al. Mutagenesis as a Tool in Plant Genetics, Functional Genomics, and Breeding [J]. International Journal of Plant Genomics, 2011, 2011(1): 314829.
- [30] FISCHER L, LIPAVSKA H, HAUSMAN J F, et al. Morphological and Molecular Characterization of a Spontaneously Tuberizing Potato Mutant: An Insight into the Regulatory Mechanisms of Tuber Induction [J]. BMC Plant Biology, 2008, 8(1): 117.
- [31] MUTH J, HARTJE S, TWYMAN R M, et al. Precision Breeding for Novel Starch Variants in Potato [J]. Plant Biotechnology Journal, 2008, 6(6): 576-584.
- [32] MOON K B, AHN D J, PARK J S, et al. Transcriptome Profiling and Characterization of Drought-Tolerant Potato Plant (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Molecules and Cells, 2018, 41(11): 979-992.
- [33] LUAN Y S, ZHANG J, GAO X R, et al. Mutation Induced by Ethylmethanesulphonate (EMS), in Vitro Screening for Salt Tolerance and Plant Regeneration of Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2007, 88(1): 77-81.
- [34] ORJI I E, EKA M J, OKOCHA P I, et al. Effect of Chemical Mutagenesis on Storage Root Formation in Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) [J]. JGGPB, 2021(5): 33-37.
- [35] DAI W H, SU Y J, CASTILLO C, et al. Plant Regeneration from in Vitro Leaf Tissues of *Viburnum dentatum* L [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2011, 104(2): 257-262.
- [36] 骆海波, 邹颀, 贺从安, 等. 甲基磺酸乙酯(EMS)对萝卜早期发育性状的诱变效应 [J]. 基因组学与应用生物学, 2013, 32(5): 608-611.
- [37] OTTOLINE LEYSER H M, FURNER I J. Characterisation of Three Shoot Apical Meristem Mutants of *Arabidopsis thaliana* [J]. Development, 1992, 116(2): 397-403.
- [38] SIVAKUMAR R, RANJANI J, VISHNU U S, et al. Evaluation of INSeq to Identify Genes Essential for *Pseudomonas aeruginosa* PGPR2 Corn Root Colonization [J]. G3, 2019, 9(3): 651-661.
- [39] CHEN C, CUI Q Z, HUANG S W, et al. An EMS Mutant Library for Cucumber [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(7): 1612-1619.
- [40] MENG X B, YU H, ZHANG Y, et al. Construction of a Genome-wide Mutant Library in Rice Using CRISPR/Cas9 [J]. Molecular Plant, 2017, 10(9): 1238-1241.
- [41] BOUALEM A, FLEURIER S, TROADEC C, et al. Development of a *Cucumis Sativus* TILLinG Platform for Forward and Reverse Genetics [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97963.
- [42] FRAENKEL R, KOVALSKI I, TROADEC C, et al. Development and Evaluation of a Cucumber TILLING Population [J]. BMC Research Notes, 2014(7): 846.