

EMS 诱变对鹰嘴紫云英种子萌发及幼苗表型特征的影响

喇黑麦,董文科,马福钦,郑雨琴,陕亚宁,马菲阳,康婷婷,马晖玲*

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】筛选适宜鹰嘴紫云英的EMS诱变条件。【方法】以鹰嘴紫云英品种甘绿2号种子为试验材料,采用不同浓度(0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%)的甲基磺酸乙酯(EMS)进行不同时间(2、4、6、8 h)的诱变处理,探究EMS对鹰嘴紫云英种子萌发特征及表型变化的影响。【结果】低浓度和短时间EMS处理促进鹰嘴紫云英种子的萌发,随EMS浓度升高和诱变时间的增加,对鹰嘴紫云英种子萌发生产抑制作用。种子浸出液电导率随诱变条件的加深呈上升趋势,在2~6 h时,萌发期发芽率、发芽势、幼苗苗长和根长均随处理时间和诱变浓度的增加呈先升高后降低的趋势,在8 h处理下,随EMS浓度的增加呈逐渐降低趋势,EMS浓度在0.8%时,种子发芽率和发芽势均达到最低,较对照分别降低了54.45%和56.67%;经形态学筛选,发现有鹰嘴紫云英幼苗表现出幼苗矮小、停滞生长、叶片黄化、宽叶、窄叶、叶片发紫、诸多病斑等特殊变异性状。【结论】0.8%EMS处理6 h可作为最佳诱变组合;幼苗的生长随诱变时间和浓度增加而明显受到抑制,且表型变异类型也逐步增多。

关键词:鹰嘴紫云英;EMS诱变;种子萌发;表型特征

中图分类号:S154.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)03-0116-09

DOI:10.13817/j.cnki.cyycp.2024.03.015



种质资源的创新是一个系统而又漫长的过程,不仅要资源尽可能地利用和对群体进行改良,还要加强对新种质资源的引进和创造^[1]。诱变技术创造的突变率是自然突变率的100~1 000倍^[1],且变异范围广,性状稳定快,可以产生自然界尚未出现或很难出现的基因型,所以诱变是种质资源创新的重要途径之一^[2]。甲基磺酸乙酯(Ethyl methyl sulfone, EMS)是一种有效且流行的化学诱变剂,已被有效地用于诱导均匀分布的高密度随机不可逆点突变^[3]。1953年, Klmark^[4]发现EMS对突变具有较好的诱导效果。此后,不断有

人用EMS进行各种诱变试验,获取最佳诱变组合,柳学余^[5]、薛守旺^[6]、李海军等^[7]分别用EMS进行了诱变试验。EMS产生的变异具有双重变异的特点,即染色体数量和结构两方面的变异,EMS的诱变形式主要是单个碱基对改变而造成的点突变,这也是它最大的特点和优点。由于DNA结构发生了某些变化,会促使植株表现出新的性状^[8],产生一些新的突变体。与其他诱变剂相比,EMS诱变后产生的突变频率高,且多为显性突变体^[4],这有利于后期突变体的筛选。

鹰嘴紫云英(*Astragalus cicer*),又名鹰嘴黄芪,隶属于豆科黄芪属,是放牧和刈割兼用的多年生豆科牧草,具耐受性强,营养丰富,适用范围广,对家畜不会引起膨胀病等优点^[9],其根系发达,在表土层中匍匐生长,形成新的根茎,根系固土能力强,有根瘤,能够改良土壤性状,常被视为优良的人工草地和水土保持草种^[10-11]。鹰嘴紫云英缺乏动物所必需的含硫氨基酸,限制了家畜对总氨基酸的摄入^[12],多位研究人员试图

收稿日期:2022-08-16;修回日期:2022-09-24

基金资助:甘肃省科技厅自然科学基金项目(22JR5RA871)

作者简介:喇黑麦(1998-),男,甘肃临夏人,硕士研究生。

E-mail:18394491335@163.com

*通信作者。E-mail:mahl@gsau.edu.cn

借助诱变的手段,培育能过量积累含硫氨基酸的鹰嘴紫云英新品种,来改善其营养品质^[13]。张改娜等^[14]用叠氮化钠处理鹰嘴紫云英幼苗下胚轴愈伤组织,并在含致死剂量甲硫氨酸的培养基中进行培养,筛选出对甲硫氨酸有较高抗性的再生体,最终与骆驼刺进行原生质融合,实现了沙漠植物抗旱遗传资源的体细胞杂交转移。目前,鹰嘴紫云英种质资源较稀缺^[15],因此,可通过诱变措施对品种进行更新,探究苗期生长特性及幼苗在逆境胁迫下的适应性。为此,本项目以甘绿2号鹰嘴紫云英为试验材料,通过探究不同EMS浓度、浸种时间对鹰嘴紫云英种子萌发及幼苗生长产生的影响,从而筛选出适宜鹰嘴紫云英的EMS诱变优化条件,以期为鹰嘴紫云英突变体库构建及种质资源创新奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验于2022年3—5月在甘肃农业大学草业学院光照培养室中进行;鹰嘴紫云英甘绿2号(*Astragalus cicer* cv. Ganlv No. 2)种子由甘肃创绿草业科技有限公司提供;EMS诱变剂购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的选取与预处理 选取颗粒饱满的鹰嘴紫云英的种子先用蒸馏水浸泡12 h,后对其表面进行全面消毒,于70%的酒精溶液中浸泡30 s,蒸馏水冲洗3~4次,放入20%的次氯酸钠溶液内浸泡10 min,用无菌水冲洗干净后用于诱变试验。

1.2.2 EMS处理方法 设定不同的时间梯度为2、4、6、8 h,EMS浓度梯度为0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%;本试验采用双因素,时间因素为4水平,浓度因素为5水平的试验设计(表1),共有20组处理,以EMS浓度为0的磷酸钠缓冲液(0.1 mol/L)为对照组,用CK表示,每组处理3个重复试验。每组处理需200粒种子,离心管内加入10 mL不同浓度的EMS磷酸处理液,各组种子处理的种子密封好后,进行遮光处理。

1.2.3 种子发芽及幼苗种植 试验采用纸上发芽法,诱变结束后,用5%的硫代硫酸钠冲洗3次,后用蒸馏水冲洗3次,晾干后进行发芽试验;在直径为9 cm

表1 不同EMS浓度及时间的诱变处理

Table 1 Mutagenesis treatments at different Ethyl methyl sulfone concentrations and times

处理时间/h	EMS浓度				
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%
2	CK1	T1-1	T1-2	T1-3	T1-4
4	CK2	T2-1	T2-2	T2-3	T2-4
6	CK3	T3-1	T3-2	T3-3	T3-4
8	CK4	T4-1	T4-2	T4-3	T4-4

培养皿内铺2层滤纸,让滤纸吸足水分,然后将以上各处理种子均匀地放置在滤纸上,每个培养皿播种50粒种子,将培养皿放置在人工气候培养箱(16 h,25℃,光照强度为6 000 Lux;8 h,16℃,黑暗)中进行连续萌发试验,每天观察、记录子发芽情况。从放置当日起,第7日计算发芽势,在第14日计算发芽率;发芽结束对幼苗根长和苗长进行测定,将幼苗移栽于盛洗净细沙的塑料杯中,移入光照培养室中培养,每隔4 d进行霍格兰营养液浇灌,并开始间苗,每杯定苗10株,每日观察幼苗生长状况及形态特征,对特殊的表型性状进行拍照记录。

1.3 指标测定

1.3.1 电导率测定 将每种EMS处理的种子取20粒,先用蒸馏水漂洗干净后吸干水分,再用去离子水冲洗2次,放入试管内,加入10 mL去离子水,充分摇匀,30 min后用电导率仪测其初电导值(S_1),测定后将试管放入沸水中加热5 min,待冷却室温后再次测定终电导值(S_2),以0 EMS浓度处理的种子为对照组,计算电导率公式为:相对电导率(L)=(S_1/S_2) \times 100%。

1.3.2 发芽指标测定 参照《牧草种子检验规程》^[16]计算发芽率、发芽势、发芽指数、移栽成活率,公式分别如下:

$$\text{发芽率} = (\text{试验结束时种子发芽数} / \text{供试种子数}) \times 100\%$$

$$\text{发芽势} = (\text{前7天内种子发芽数} / \text{供试种子数}) \times 100\%$$

$$\text{发芽指数(germination index, GI)} = \sum G_t / D_t, \text{其中 } G_t \text{ 为 } t \text{ 天内种子发芽数, } D_t \text{ 为相应发芽天数}$$

$$\text{活力指数(vigor index, VI)} = \text{GI} \times S, S \text{ 为发芽结束时的胚芽和胚根长度之和}$$

相对发芽率=(处理组发芽率/对照组发芽率)×100%

相对发芽势=(处理组发芽势/对照组发芽势)×100%

相对发芽指数=(处理组发芽指数/对照组发芽指数)×100%

相对活力指数=(处理组活力指数/对照组活力指数)×100%。

发芽结束后胚芽和胚根长度用游标卡尺测定,每10株为1个重复,重复3次,取其平均值。

1.4 数据分析

使用SPSS Statistic 19.0软件对数据进行统计分析;Microsoft Excel 2010软件进行绘图与数据处理。

2 结果与分析

2.1 EMS处理对鹰嘴紫云英种子浸出液电导率的影响

EMS诱变处理后,鹰嘴紫云英种子浸出液电导率较对照大幅度升高,随处理时间增加和EMS浓度的升高,浸出液电导率也随着升高,4种时间处理(2、4、6、8 h)均在EMS浓度0.8%时达到最大值,电导率分别为0.38、0.45、0.51、0.72 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (图1),由此表明EMS浓度越高,对种子的伤害程度越高。

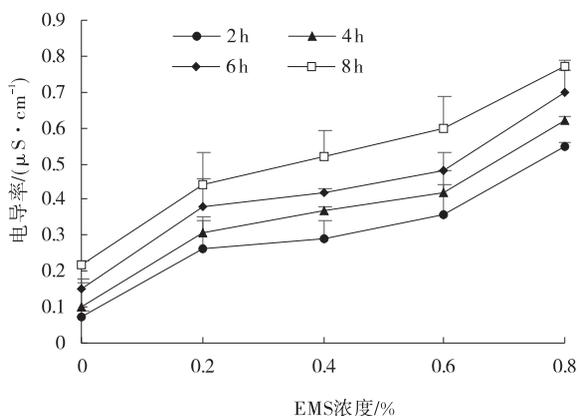


图1 鹰嘴紫云英种子在EMS处理下的浸出液电导率

Fig.1 Leachate conductivity of *A. cicer* seeds treated by EMS

2.2 EMS处理对鹰嘴紫云英种子发芽进程的影响

低浓度和短时间的EMS处理对鹰嘴紫云英种子发芽有促进作用,而随EMS浓度的升高和处理时间延长,对鹰嘴紫云英种子的发芽产生延迟和抑制作用。20组处理中15组处理在第2天开始发芽,其发芽高峰

集中在第3天和第4天,8 h、0.8%EMS浓度的处理组合发芽最晚,在第4天发芽,随时间推移各处理组发芽速度逐渐变缓,在第6天所有处理发芽数趋于稳定,至第10天各处理发芽完毕(图2)。

2.3 EMS处理对鹰嘴紫云英种子发芽率和发芽势的影响

处理时间2 h,诱变浓度在0.2%和0.4%时,种子发芽率分别较对照提高了27.61%和17.14%,发芽势比对照组提高了24.74%和15.45%,除处理时间8 h外,鹰嘴紫云英种子发芽率和发芽势随处理时间和诱变浓度的增加而出现先升高后降低的趋势(表2),且差异显著,由此表明短时间低浓度EMS处理对鹰嘴紫云英种子萌发表现促进作用;处理时间8 h时,种子发芽率和发芽势随EMS浓度的增加呈逐渐降低趋势,其EMS浓度在0.8%时,种子发芽率和发芽势均达到最低,较对照分别降低了54.45%和56.67%,表明长时间高浓度EMS处理会抑制鹰嘴紫云英种子的萌发。

2.4 EMS处理对发芽指数和活力指数的影响

处理时间为4 h,浓度为0.2%时,鹰嘴紫云英种子发芽指数和活力指数较对照有所升高,随着诱变浓度的不断增加,种子发芽指数和活力指数逐渐降低(表3),其余处理随处理时间及浓度的增加,种子发芽指数和活力指数逐渐降低,且差异显著($P < 0.05$),在处理时间8 h,诱变浓度0.8%时,种子发芽指数和活力指数最低,分别为1.53和1.37,分别较对照降低了71.35%和92.94%。由此表明,EMS诱变浓度和时间的增加会严重影响鹰嘴紫云英种子的活力,对种子的伤害不断增加。

2.5 EMS处理对鹰嘴紫云英幼苗根长和苗长的影响

在同一浓度处理下,除EMS浓度在0.2%外,其余处理随诱变时间延长,根长逐渐变短,在同一时间处理下,不同EMS浓度处理对鹰嘴紫云英种子幼苗根长具显著影响($P < 0.05$);当EMS浓度为0.2%,处理时间在2 h时,幼苗根长达到最大值,随EMS浓度升高,鹰嘴紫云英幼苗根长逐渐降低,在处理浓度0.8%,处理时间8 h时根长最短(图3)。在CK中,鹰嘴紫云英幼苗苗长随时间增加有升高的趋势,处理时间在2 h时,随诱变浓度的增加,鹰嘴紫云英幼苗苗长呈先升高后降低的趋势,诱变浓度在0.2%时,随诱变时间增加,幼苗苗长呈先降低后升高的趋势,诱变浓

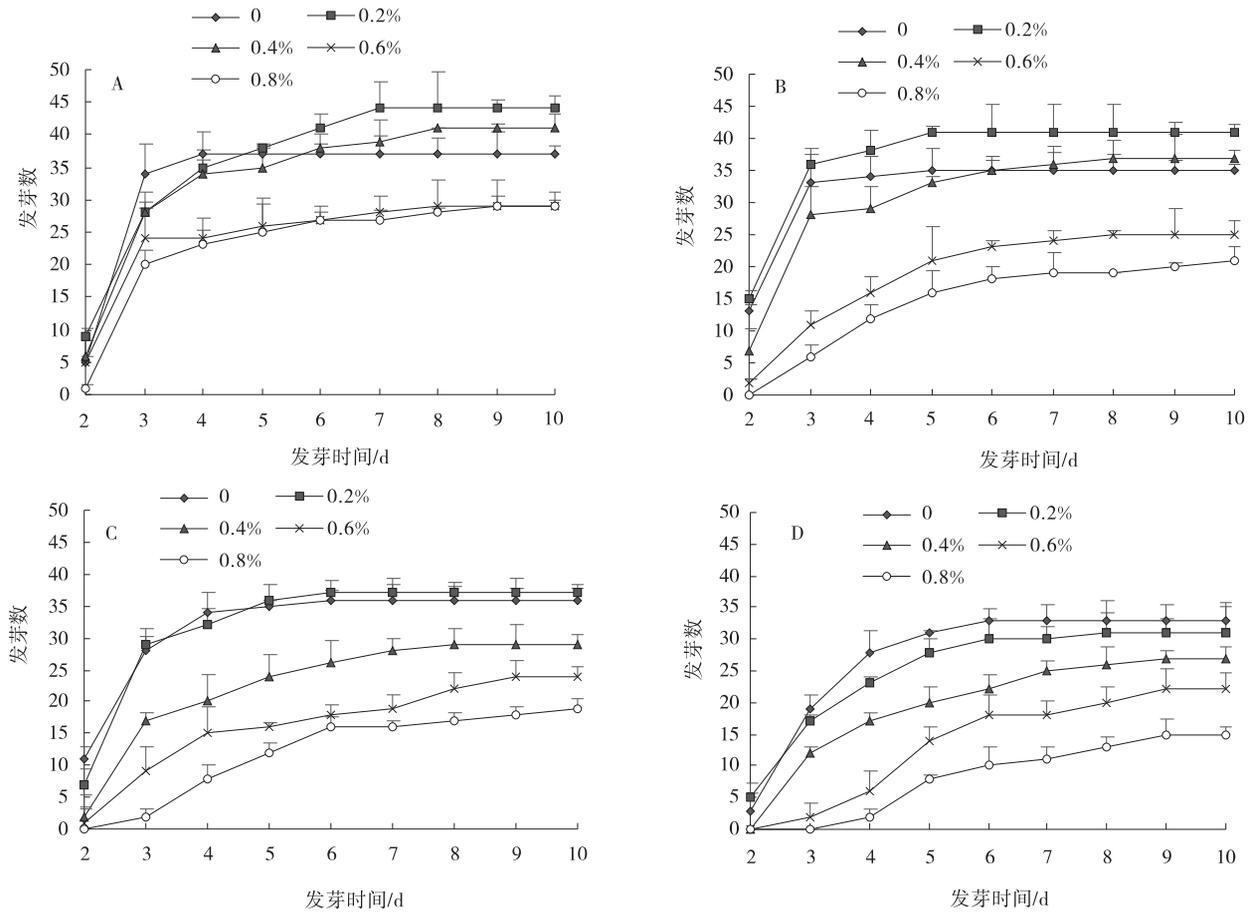


图2 不同EMS处理对鹰嘴紫云英种子的发芽进程

Fig. 2 Germination process of *A. cicer* seeds by different EMS treatments

注:A—D分别为EMS处理时间2、4、6、8 h。

表2 不同EMS处理下鹰嘴紫云英种子的发芽率和发芽势

Table 2 Germination rate and germination potential of *A. cicer* seeds under different EMS treatments.

时间/h	EMS 浓度/%	发芽率/%	相对发芽率/%	发芽势/%	相对发芽势/%
2	0	74.00±1.16 ^b	100.00±0.00 ^{ab}	64.67±5.70 ^b	100.00±0.00 ^{ab}
	0.2	89.33±2.40 ^a	122.67±12.24 ^a	80.67±0.67 ^a	126.62±10.69 ^a
	0.4	82.00±1.16 ^a	112.00±9.29 ^a	74.67±1.33 ^{ab}	117.01±9.08 ^a
	0.6	58.00±4.62 ^c	80.00±11.14 ^b	52.67±3.71 ^c	83.12±10.75 ^b
	0.8	55.33±2.91 ^c	75.67±7.86 ^b	51.33±3.53 ^c	80.82±10.09 ^b
4	0	71.33±5.46 ^a	100.00±0.00 ^a	60.67±6.36 ^a	100.00±0.00 ^{ab}
	0.2	82.67±2.91 ^a	117.00±8.74 ^a	69.33±1.76 ^a	116.22±9.24 ^a
	0.4	74.67±1.76 ^a	106.00±8.02 ^a	67.33±1.33 ^a	96.41±20.79 ^{ab}
	0.6	50.67±4.81 ^b	72.00±8.51 ^b	42.67±3.71 ^b	71.63±8.31 ^b
	0.8	42.67±1.76 ^b	60.67±6.12 ^b	40.67±0.67 ^b	68.74±8.28 ^b
6	0	72.00±1.16 ^a	100.00±0.00 ^a	65.33±0.67 ^a	100.00±0.00 ^a
	0.2	74.00±3.06 ^a	102.67±2.67 ^a	62.67±4.06 ^a	95.93±6.14 ^a
	0.4	59.33±1.76 ^b	82.67±3.33 ^b	52.67±1.76 ^b	80.59±2.14 ^b
	0.6	48.00±2.00 ^c	66.67±1.76 ^c	48.67±2.91 ^{ab}	74.50±3.75 ^{ab}
	0.8	37.00±3.06 ^d	51.67±4.00 ^d	32.00±2.31 ^c	49.05±4.00 ^c
8	0	67.33±2.91 ^a	100.00±0.00 ^a	60.00±1.16 ^a	100.00±0.00 ^a
	0.2	62.67±2.67 ^{ab}	93.33±5.24 ^a	55.33±2.91 ^{ab}	92.40±5.96 ^{ab}
	0.4	54.67±2.91 ^{bc}	81.00±1.16 ^b	47.33±5.46 ^b	78.62±7.75 ^b
	0.6	44.67±3.71 ^c	66.33±2.96 ^c	33.33±3.33 ^c	55.41±4.58 ^c
	0.8	30.67±3.71 ^d	45.67±5.78 ^d	26.00±4.16 ^c	43.43±7.12 ^c

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 3 不同 EMS 处理下鹰嘴紫云英种子的发芽指数和活力指数

Table 2 Germination index and vigor index of *Astragalus cicer* seeds under different EMS treatments

时间/h	浓度/%	发芽指数	相对发芽指数/%	活力指数	相对活力指数/%
2	0	9.45±0.78 ^a	100.00±0.00 ^a	40.96±6.03 ^a	100.00±0.00 ^a
	0.2	6.10±0.12 ^b	65.56±6.08 ^a	32.83±2.18 ^{ab}	83.99±13.59 ^{ab}
	0.4	5.38±0.31 ^{bc}	57.09±1.46 ^a	22.74±1.68 ^{bc}	58.07±9.51 ^{bc}
	0.6	3.95±0.78 ^{cd}	42.83±7.24 ^a	14.49±3.07 ^c	36.79±7.90 ^c
	0.8	3.37±0.35 ^d	36.19±5.18 ^a	11.99±1.73 ^c	32.29±10.39 ^c
4	0	7.67±0.44 ^a	100.00±0.00 ^a	34.04±3.25 ^a	100.00±0.00 ^a
	0.2	7.78±0.25 ^a	101.78±3.12 ^a	34.61±1.92 ^a	104.23±14.18 ^a
	0.4	5.42±0.56 ^b	72.09±11.97 ^b	18.97±3.48 ^{bc}	57.59±13.12 ^b
	0.6	3.35±0.48 ^c	44.66±9.20 ^c	9.58±1.68 ^c	28.98±6.28 ^{bc}
	0.8	2.21±0.06 ^c	29.01±2.05 ^c	4.08±0.03 ^c	14.33±1.21 ^c
6	0	6.00±0.10 ^a	100.00±0.00 ^a	22.99±1.81 ^b	100.00±0.00 ^a
	0.2	5.88±0.44 ^a	97.94±6.55 ^a	28.17±1.02 ^a	123.38±9.48 ^b
	0.4	3.89±0.23 ^b	64.94±4.83 ^b	11.87±2.27 ^c	53.87±24.71 ^c
	0.6	2.67±0.11 ^c	44.42±1.27 ^c	5.58±0.41 ^d	24.32±1.88 ^d
	0.8	1.87±0.13 ^d	31.13±2.29 ^d	2.96±0.13 ^d	13.15±2.86 ^d
8	0	5.34±0.10 ^a	100.00±0.00 ^a	19.4±0.86 ^a	100.00±0.00 ^a
	0.2	3.92±0.44 ^b	74.19±7.26 ^b	13.12±0.11 ^b	67.95±6.47 ^b
	0.4	3.04±0.23 ^c	57.03±2.42 ^c	8.88±0.09 ^c	45.93±3.46 ^c
	0.6	2.23±0.11 ^d	41.76±1.53 ^d	2.32±0.14 ^d	12.02±1.62 ^d
	0.8	1.53±0.13 ^c	29.29±5.16 ^d	1.37±0.19 ^d	7.16±2.28 ^d

度高于0.4%后,随诱变时间的增加,各处理苗长逐渐降低,且差异显著($P<0.05$)(图4)。由此表明,适宜诱变条件有利于鹰嘴紫云英幼苗的生长。

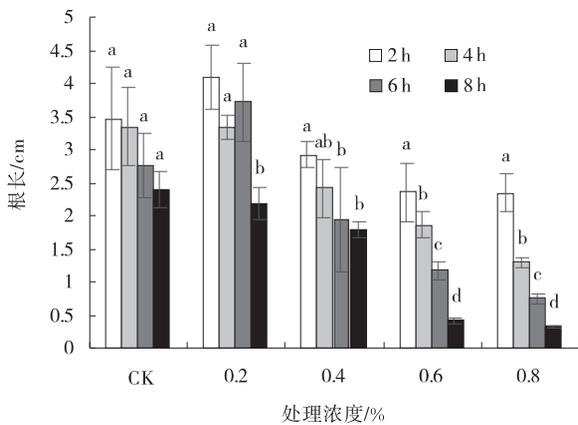


图 3 不同 EMS 处理下鹰嘴紫云英幼苗的根长

Fig. 3 Root length of *A. cicer* seedlings under different EMS treatments

注:不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。

2.6 甘绿2号鹰嘴紫云英最佳 EMS 诱变组合的确定

以上结果表明,不同浓度及时间的 EMS 处理对鹰嘴紫云英种子萌发有显著的影响。结果发现,0.8% EMS 处理 6 h 和 0.8% EMS 处理 8 h 的种子相对发芽

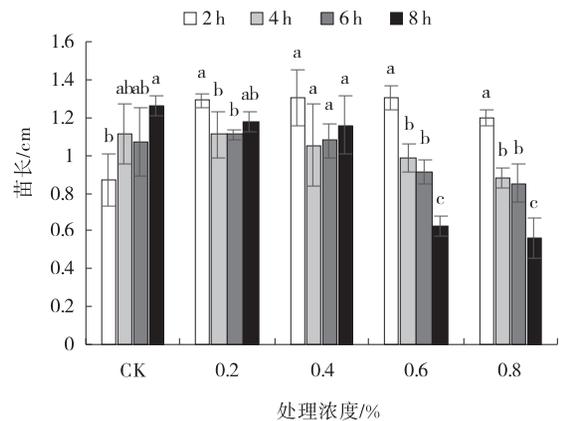


图 4 不同 EMS 处理下鹰嘴紫云英幼苗的苗长

Fig. 4 Seedling length of *A. cicer* seedlings under different EMS treatments

率(表2)均在50%左右,接近半致死量,均可为适宜于诱变的最佳处理参数;而分析2种处理对鹰嘴紫云英种子发芽势、相对发芽势、发芽指数和相对发芽指数、活力指数、相对活力指数、根长和苗高的影响,0.8% EMS 处理 8 h 组合的指标较前者有所下降,种子活力下降,最终确定0.8% EMS 处理 6 h 为最佳处理组合。

2.7 EMS 处理对鹰嘴紫云英幼苗表型的影响

本试验利用最直观简单的形态学方法对鹰嘴紫

云英变异株进行筛选,通过对照组与EMS处理组幼苗形态的比较,发现在EMS诱变处理下,适宜的诱变浓度和时间加快了鹰嘴紫云英幼苗的生长速度,通过EMS处理3 000粒鹰嘴紫云英种子,共获得M₀代单株1128株,成株率为37.6%,共有86株发生1个或多个性状的变异,变异频率为7.62%(表4),同时鹰嘴紫云英幼苗在形态上也表现出12种变异类型的植株(图5),其中叶色变异5种(叶色紫化、叶片白化、叶片黄化、斑纹叶和叶色深绿革质),叶型变异6种(叶卷曲、宽叶、大叶和小叶、狭长叶),株型变异1种(矮小株)。由于EMS的毒害作用,部分诱变苗茎秆短小、生长缓慢,甚至停止生长,随EMS浓度的递增,苗期生活力越脆弱,病虫害侵袭愈加严重。

3 讨论

3.1 EMS处理下鹰嘴紫云英种子萌发的最佳诱变浓度及时间的确定

不同植物对EMS的耐受性不同,因此对EMS诱变浓度及时间的筛选是得到大量诱变株的前提,通常

表4 鹰嘴紫云英表型突变统计

Table 4 Statistics of phenotype mutation of *A. cicer*.

形态学性状	表型	突变株数	突变频率/%
叶色	黄化	11	0.98
	紫化	12	1.06
	白化	5	0.44
	斑纹叶	1	0.09
	深绿革质	3	0.27
叶型	大叶	5	0.44
	小叶	7	0.62
	叶卷曲	2	0.18
	狭长叶	1	0.09
	宽叶	2	0.18
	连体叶	2	0.18
株型	矮小株	35	3.10
	总计	86	7.62

由诱变过程中EMS对材料造成半致死效应的剂量来确定^[17-18];通过不同的诱变浓度及时间的EMS处理试验调查M₀代幼苗致死率,最终确定最佳诱变剂



图5 EMS诱变鹰嘴紫云英M₀代植株叶片典型变异性状

Fig. 5 Typical variation characters of leaves in M₀ generation plants of *A. cicer* mutagenized by EMS

注:A叶片紫化,B叶片黄化,C叶片白化,D叶色深绿革质,E小叶,F卷叶,G矮小株,H斑纹叶,I宽叶,J狭长叶,K连体叶,L大叶。

量^[19]。张一阳等^[20]研究得出最佳诱变剂量参数过低会因为选择群体数量过大而增加对突变株选择的困难,会降低诱变频率,参数过高会因细胞过度衰亡而不能得到突变株。闫锋等^[21]用EMS处理糜子种子后,细胞遭受伤害及胞内渗透物质渗漏,种子浸出液电导率上升,出苗进程缓慢,相对出苗率及相对成苗率显著降低,随诱变条件的加深,糜子种子萌发受抑程度加深,这与上述研究结果相一致。闫利军等^[22]研究EMS诱变处理对红豆草种子萌发和出苗的影响,得出EMS诱变红豆草的最佳诱变组合为1.2% EMS处理8 h和0.9% EMS处理16 h;高翠兰^[23]研究EMS诱变处理诱变阜阳恋思萝卜半致死剂量的EMS浓度为0.6%,处理时间为6 h,又通过线性方程、指数方程、相关系数 R^2 进一步验证了半致死剂量的准确性。本试验采用化学诱变剂EMS对鹰嘴紫云英种子进行处理,研究发现低浓度和短时间的EMS促进鹰嘴紫云英种子的萌发,种子发芽指标显著高于对照组,此结果与董文科等^[24]研究EMS诱变多年生黑麦草的耐旱性研究结果一致,而高浓度和长时间处理严重抑制了种子的萌发和幼苗的生长,浓度效应显著高于时间效应,这可能是EMS对种子产生诱变的同时也造成毒害作用,从而影响种子萌发及幼苗生长,甚至影响植株的整个生长过程。通过观察、记录和综合分析种子萌发及生长指标,最终确定EMS诱变鹰嘴紫云英的最佳诱变组合:EMS浓度为0.8%,处理时间为6 h。

3.2 EMS处理对鹰嘴紫云英幼苗表型的影响

EMS诱变后的植株表现性状会发生多方面的变异,若使农艺性状发生改变,会对植物个体的产量、品质及抗逆性等都会产生影响^[25]。EMS诱变抑制鹰嘴紫云英幼苗的生长,但适宜的浓度和时间可促进幼苗的生长,云娜等^[26]对蒙农红豆草EMS处理研究发现, M_1 代幼苗出现高株、矮小株、幼苗停滞生长、叶片发黄、叶面出现大量斑点等多种特殊性状,温日宇等^[27]研究EMS诱变藜麦种子后幼苗出现叶片残缺卷曲、植株矮小、生长缓慢等性状。本试验中EMS诱变后鹰嘴紫云英幼苗出现叶片黄化、紫化、大叶和小叶、狭长叶、连体叶、矮小株等特殊表型现状,推测幼苗形态各异的原因可能是由于EMS药剂的伤害作用所引起,还需经过自交后代的性状表现与结合生理和分子方面的鉴定进行进一步的验证;鹰嘴紫云英在苗期较脆

弱,随着EMS诱变浓度和时间的增加,化学诱变剂的毒害作用愈加严重,也会对幼苗的表型产生一系列影响,而对病虫害的抵抗作用逐渐下降,部分幼苗无法正常生长。观察幼苗表型变化,根据特殊性状表现,可得到筛选的半致死剂量适宜于对鹰嘴紫云英种子的诱变,但由于种植世代数有限,诱变具有不确定性,未得到稳定的目标性状。在诱变过程中可结合逆境胁迫,筛选出耐逆性植株后进行培养鉴定,最终得到具有稳定性状的新品种。EMS诱变虽有突变频率高、变异范围广及显性突变等优点,但也有一定局限性,如有较强的随机性,有益突变较少等,导致定向育种较为困难,因此得到稳定的突变株需长期的田间试验^[28]。

4 结论

本研究中,0.8%处理6 h的相对发芽率为51.67%,结合各项相对指标,确定为鹰嘴紫云英EMS诱变的适宜剂量组合;根据表型观察,随EMS浓度及处理时间的增加,出现了矮小株、停滞生长、叶片黄化、叶片白化、叶片发紫、宽叶、矮小株等特殊性状;幼苗的生长随诱变时间和浓度增加而明显受到抑制,且表型变异类型也逐步增多,最佳诱变剂量的确定为后期鹰嘴紫云英种质创新奠定基础,对其他豆科牧草的诱变育种提供一定的参考。

参考文献:

- [1] 黄欲晓. 水稻种质资源的交流利用与保护[J]. 现代农业科技, 2010(18):76-77.
- [2] 张旭,杨兆顺. 诱变技术在玉米育种中的应用[J]. 天津农业科学, 2004, 10(4):25-27.
- [3] Tingting Chen, Luping Huang, Miaomiao Wang, *et al.* Ethyl Methyl Sulfonate-Induced Mutagenesis and Its Effects on Peanut Agronomic, Yield and Quality Traits[J]. *Agronomy*, 2020, 10(5):655.
- [4] Bird R M, Neuffer M. Induced mutations in maize[M]// *Plant Breeding Reviews*, 1987.
- [5] 柳学余. 农作物化学诱变育种[M]. 南京:东南大学出版社, 1992.
- [6] 薛守旺,周洪生. 利用花粉化学诱变创造玉米自交系的研究[J]. 作物杂志, 1998(6):6-8.
- [7] 李海军,池书敏,刘志增,等. 利用EMS化学诱变改造玉米自交系的研究[J]. 玉米科学, 2002, 10(3):36-37.

- [8] 张兵. EMS诱导黄瓜突变体的初步研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [9] Le K D, Carlyle C N. A non-native agronomic legume (*Astragalus cicer* L.) alters multiple ecosystem-services in mixed prairie grassland[J]. *Biological Invasions*, 2019, 21(3): 935-946.
- [10] 王建华. 鹰嘴紫云英生长第一年根系发育动态的研究[J]. *草业科学*, 1990, 7(1): 53-60.
- [11] 苏希孟. 优良豆科牧草——鹰嘴紫云英栽培试验研究[J]. *中国奶牛*, 2009(3): 17-19.
- [12] 戴海根. 鹰嘴紫云英适应模拟干旱的生理机制研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2021.
- [13] 王瑛华, 侯岁稳, 贾敬芬. 鹰嘴紫云英抗甲硫氨酸变异系离体筛选及鉴定[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2006, 36(5): 773-776.
- [14] 张改娜, 王瑛华, 侯岁稳, 等. 鹰嘴紫云英抗甲硫氨酸变异系的筛选及其原生质体培养再生[C]//中国细胞生物学学会 2005年学术大会、青年学术研讨会论文摘要集, 2005: 113.
- [15] 王鹏. 鹰嘴紫云英头茬草生产性能的研究[J]. *畜牧兽医学杂志*, 2005, 24(6): 7-9.
- [16] 全国畜牧业标准化委员会. 牧草种子检验规程——发芽试验: GB/T 2930.4-2001[S]. 中国标准出版社, 2017.
- [17] 郭思雨. EMS诱变创建兰州百合突变体[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [18] 孙玉龙, 朱欣欣, 何瑞士, 等. EMS诱导的盛农1号小麦突变体筛选与鉴定[J]. *麦类作物学报*, 2018, 38(07): 782-790.
- [19] 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[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [20] 张一阳. EMS诱变优质强筋小麦及突变体鉴定[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021.
- [21] 闫锋, 李清泉, 董扬, 等. EMS诱变对糜子种子出苗及幼苗生长的影响[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(10): 94-97.
- [22] 闫利军, 赵文吉, 季晓菲, 等. EMS诱变处理对红豆草种子萌发和出苗的影响[J]. *草学*, 2021(6): 15-20+34.
- [23] 高翠兰. EMS诱变处理对阜阳恋思萝卜种子萌发与农艺性状的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2021.
- [24] 董文科, 路旭平, 姜寒玉, 等. 多年生黑麦草EMS诱变与耐旱性评价[J]. *核农学报*, 2018, 32(10): 1889-1897.
- [25] 聂萌恩, 柳青山, 范昕琦, 等. EMS诱变对高粱种子萌发及农艺性状的影响[J]. *山西农业科学*, 2021, 49(7): 802-806.
- [26] 云娜. EMS对蒙农红豆草的诱导效应研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- [27] 温日宇, 刘建霞, 肖东东, 等. EMS诱变对藜麦种子萌发及幼苗生理特性的影响[J/OL]. *分子植物育种*: 1-10 [2022-08-14].
- [28] 邢飞, 王晓雪, 任旭东, 等. EMS诱变技术在水稻育种中的应用[J]. *南方农业*, 2016, 10(6): 247-249.

Effects of EMS mutagenesis on seed germination and seedling phenotypic characteristics of *Astragalus cicer*

LA Hei-mai, DONG Wen-ke, MA Fu-qin, ZHENG Yu-qin, SHAN Ya-ning,
MA Fei-yang, KANG Ting-ting, MA Hui-ling*

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] The study was carried out to explore the effect of EMS (Ethyl methyl sulfone) on the germination characteristics and phenotypic changes of *Astragalus cicer* seeds. [Method] Taking the seeds of *A. cicer* cv. Ganlv No. 2 as the test material, different concentrations (0.0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%) of EMS were used for the treatment of the seeds for different time (2, 4, 6, 8 h). [Result] The results showed that low concentration and short-time EMS treatment promoted the germination of *A. cicer* seeds. With the increase of EMS concen-

tration and the increase of mutagenesis time, the germination of *A. cicer* seeds was inhibited. The conductivity of the seed extract showed an upward trend with the deepening of the mutagenic conditions. At 2~6 h, the germination rate, germination potential, seedling length and root length at the germination stage first increased with the increase of treatment time and mutagenesis concentration, and then the germination rate and germination potential of seeds were the lowest when the EMS concentration was 0.8%, which were 54.45% and 56.67% lower than those of control, respectively. Through scientific screening, it was found that the seedlings of *A. cicer* showed special variation characteristics such as dwarf seedlings, stagnant growth, yellow leaves, wide leaves, narrow leaves, purple leaves, and many disease spots. **【Conclusion】** Comprehensive analysis showed that 0.8% EMS treatment for 6 h could be used as the best mutagenesis combination. The growth of seedlings was obviously inhibited with the increase of mutagenesis time and concentration, and the types of phenotypic variation also gradually increased.

Key words: *Astragalus cicer*; EMS mutagenesis; seed germination; phenotypic characteristics

(责任编辑 刘建荣)