

不同浓度化学诱变剂甲基磺酸乙酯对番茄种子发芽的影响

崔霞, 梁燕, 王玲慧

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以番茄自交系“TTD302A”种子为试材, 设置 0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1.1% 5 个不同浓度 EMS, 并用 2 个不同时间处理组合诱变番茄种子, 测定其发芽势、发芽率及根长等发芽指标。结果表明: 相同诱变时间、不同浓度 EMS 诱变各处理间种子发芽势、相对发芽势、发芽率及相对发芽率差异极显著; 相同浓度 EMS、不同诱变时间各处理间种子发芽势差异极显著, 相对发芽势和发芽率无显著差异, 相对发芽率差异显著; EMS 诱变番茄“TTD302A”种子的半致死浓度为 0.7%~0.9%, 处理时间为 8 h。

关键词:EMS; 番茄; 种子; 半致死浓度; 发芽率

中图分类号:S 641.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)14-0028-03

化学诱变作为人工诱变的一种方法, 较物理诱变具有突变比例高、突变谱稳定性好、突变频率高、特异性强、成本低、易操作等特点^[1-3]。诱变剂甲基磺酸乙酯(EMS)是易挥发的有机试剂, 是诱变剂和致癌剂, 在植物突变体创建中被证明是最为有效且负面影响小、使用最广泛的诱变剂^[4-6]。据 IAEA/FAO 突变品种数据库最新统计, 联合编入目录的数据库中有来自 234 个国家的 240 种植物的 3 218 个突变品种。其中, 蔬菜作物 49 种, 诱变共得到 423 个突变品种, 通过化学诱变得到的突变品种占 20%, 以 EMS 为诱变剂诱变获得的品种占化学诱变所得品种的 51%^[6]。

国外番茄化学诱变育种研究中, Menda 等^[7]利用 EMS 和快中子诱变番茄“M82”种子; Watanabe 等^[8]用 EMS 诱变番茄“Micro-Tom”种子, 构建了番茄突变体库, 但未见我国利用化学诱变构建番茄突变体库的相关研究报道。

该试验采用不同浓度的 EMS 对番茄种子进行诱变处理, 通过对种子发芽指标分析比较, 确定 EMS 诱变番茄种子的半致死浓度, 以期利用化学诱变构建番茄突

变体库奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试番茄自交系“TTD302A”种子由西北农林科技大学园艺学院番茄育种组提供。

1.2 试验方法

1.2.1 EMS 浓度及诱变时间设置 设 5 个 EMS 浓度: 按 W/V(溶质为 EMS 诱变剂, 溶剂是 pH 7.0 的磷酸缓冲液)分别配置浓度为 0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1.1% 的 EMS pH 7.0 磷酸缓冲液, 分别设置 4、8 h 处理时间, 以不添加为对照(CK), 共计 12 个处理。

1.2.2 诱变处理番茄种子 挑选当年采收饱满度好的“TTD302A”种子, 室温浸种 10 h 使其充分吸水, 用滤纸将其表面水分吸干, 浸没于不同浓度 EMS pH 7.0 磷酸缓冲液中处理, 先于 4℃ 静置 2 h, 再于 37℃ 130 r/min 分别振荡处理 2 h 和 6 h, 然后用流动的自来水冲洗 6 h, 用滤纸将其表面水分吸干后转至铺有双层滤纸的培养皿中, 人工培养箱 26℃ 催芽培养。清水处理为对照, 每处理 50 粒, 3 次重复。

1.3 项目测定

统计各处理 7 d 发芽势及相对发芽势、15 d 发芽率及相对发芽率, 测量 15 d 时幼苗根长。发芽势(%) = 第 7 天发芽种子数/供试种子数 × 100%; 发芽率% = 第 15 天发芽种子数/供试种子数 × 100%; 相对发芽势 = 各处理发芽势/对照发芽势; 相对发芽率 = 各处理发芽率/对照发芽率。

第一作者简介:崔霞(1987-), 女, 甘肃永靖人, 硕士研究生, 研究方向为番茄化学诱变育种。E-mail:lcuixia@163.com。

责任作者:梁燕(1963-), 女, 陕西渭南人, 博士, 教授, 现主要从事番茄遗传育种与蔬菜种质资源研究工作。E-mail:liangyan@nwsuaf.edu.cn。

基金项目:陕西省科技统筹创新工程计划资助项目(2011KTCL02-03)。

收稿日期:2013-03-04

2 结果与分析

2.1 EMS 处理对番茄种子发芽的影响

由表 1 可知,经相同时间处理,随 EMS 浓度增大,发芽势及相对发芽势、发芽率及相对发芽率均逐渐降低。诱变时间为 4 h,发芽势由对照的 74%降至 1.1%浓度 EMS 处理的 27%,相对发芽势由 100%降至 36%,不同 EMS 浓度处理间发芽势及相对发芽势差异极显著;发芽率由 82%降至 11%,相对发芽率由 100%降至 13%,不同 EMS 浓度处理间发芽率及相对发芽率差异

表 1 不同浓度 EMS 及不同处理时间对“TTD302A”种子发芽的影响

Table 1 Effect of different concentrations of EMS and treatmental time on seed germination of ‘TTD302A’

处理组合 Treatment combination	发芽势 Germination potential/ %	相对发芽势 Relative germination potential/ %	发芽率 Germination rate/ %	相对发芽率 Relative germination rate/ %
CK-4 h	74Aa	100Aa	82Aa	100Aa
0.3%-4 h	51Ba	69Ba	70Ba	85Ba
0.5%-4 h	49Ca	67Ca	67Ca	82Ca
0.7%-4 h	34Da	46Da	61Da	74Da
0.9%-4 h	37Ea	50Ea	26Ea	32Ea
1.1%-4 h	27Fa	36Fa	11Fa	13Fa
CK-8 h	58Ab	100Aa	86Aa	100Aa
0.3%-8 h	50Bb	86Ba	67Ba	78Bb
0.5%-8 h	38Cb	65Ca	68Ca	79Cb
0.7%-8 h	35Db	60Da	60Da	70Db
0.9%-8 h	9Eb	16Ea	35Ea	41Eb
1.1%-8 h	0 Fb	0 Fa	3 Fa	3 Fb

注:同列不同大写字母表示同一时间不同浓度各处理差异性达到极显著水平($\alpha=0.01$),不同小写字母表示同一浓度不同时间各处理差异性达到显著水平($\alpha=0.05$),以下同。

Note:Different capital letters within the same column mean significant difference ($\alpha=0.01$) at the same time under difference concentrations treatment, different small letters mean significant difference at the same concentration at different treatment time ($\alpha=0.05$), the same below.

极显著。诱变时间为 8 h,发芽势由 CK 的 58%降至 1.1%浓度 EMS 处理的 0,相对发芽势由 100%降至 0,不同浓度 EMS 处理间发芽势及相对发芽势差异极显著;发芽率由 86%降至 3%,相对发芽率由 100%降至 3%,不同浓度 EMS 处理间发芽率及相对发芽率差异极显著。相同浓度 EMS 诱变番茄种子不同时间的各处理间发芽势差异极显著、相对发芽势无显著差异、发芽率无显著差异、相对发芽率差异显著,除 0.7% EMS 处理 4 h 的发芽势及相对发芽势低于 8 h 0.7%处理,0.9% EMS 处理 4 h 的发芽率及相对发芽率低于 8 h 0.9%处理的外,其它浓度处理时间均为 4 h 的发芽势及相对发芽势和发芽率及相对发芽率均高于 8 h 处理。

2.2 EMS 处理对番茄种子根长的影响

由表 2、图 1 可知,相同时间处理,随 EMS 浓度增大,根长逐渐减小。处理时间为 4 h,根长由对照的 7.2 cm 减小至 1.1% EMS 的 2 cm;处理时间为 8 h,根长由对照的 9.1 cm 减小至 1.1% EMS 的 1.3 cm,各处理间差异极显著。相同浓度 EMS,诱变 4 h 各处理的番茄幼苗根长均大于 8 h,但无显著差异,说明 EMS 浓度显著影响了番茄幼苗的根长,而诱变时间并无影响。

表 2 不同浓度 EMS 及相同时间处理后 15 d“TTD302A”幼苗的根长

Table 2 The root length of ‘TTD302A’ seedling 15 days after treated with different concentrations of EMS for same time

处理组合 Treatment combination	根长 Root length/ cm	处理组合 Treatment combination	根长 Root length/ cm
CK-4 h	7.2Aa	CK-8 h	9.1Aa
0.3%-4 h	5.2Ba	0.3%-8 h	4.8Ba
0.5%-4 h	4.7Ca	0.5%-8 h	4.0Ca
0.7%-4 h	3.4Da	0.7%-8 h	3.2Da
0.9%-4 h	3.0Ea	0.9%-8 h	3.0Ea
1.1%-4 h	2.0Fa	1.1%-8 h	1.3Fa

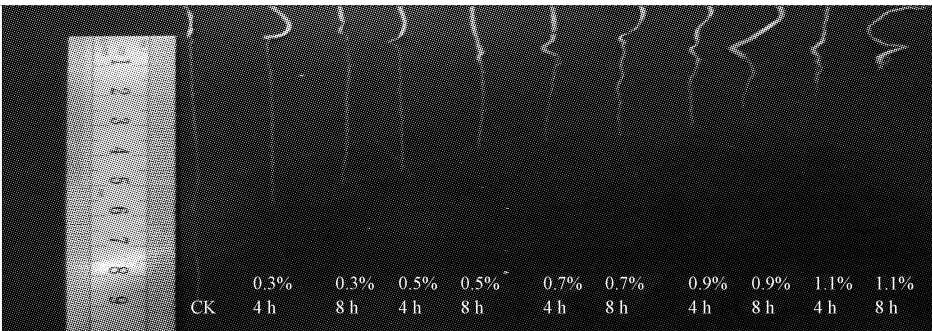


图 1 不同浓度 EMS 及不同时间处理后 15 d“TTD302A”幼苗的根长

Fig. 1 The root length of ‘TTD302A’ seedling 15 days after treated with different concentrations of EMS for different time

3 结论与讨论

选择适宜的浓度和时间是化学诱变中获得最佳突变率、提高突变频率、得到理想突变体的关键,浓度是主要影响因素,通常以半致死浓度作为标准。一般以诱变

种子发芽率为 50%确定半致死浓度,为准确客观反映半致死浓度对种子发芽的影响,该试验将相对发芽势和相对发芽率作为确定半致死浓度的依据。差异显著性分析表明,相同时间处理,不同 EMS 浓度各处理间相对发

芽势和相对发芽率差异极显著;相同 EMS 浓度,不同时间各处理相对发芽势无显著差异,相对发芽率差异显著,说明处理时间对相对发芽势未产生影响,而影响了相对发芽率。以上分析得出,试验应以相对发芽率 50% 确定半致死浓度。各处理间的相对发芽率由对照的 100% 降至 EMS 浓度 1.1% 处理 8 h 的 3%,当处理为 0.7%EMS 处理 8 h 时,其相对发芽率为 70%;处理为 0.9%EMS 处理 8 h 时,其相对发芽率为 41%。低浓度的 EMS 可促进幼苗的根长,如烤烟等^[9],该试验中 0.3% EMS 对番茄幼苗的根长已经有了抑制作用,诱变时间为 8 h,半致死浓度为 0.7%~0.9%时的根长约为对照根长的 1/3,说明根长不能作为确定半致死浓度的指标,致死浓度 1.1%处理的根长约为对照根长的 1/9,严重抑制了根的生长。

记录于 IAEA/FAO 突变品种数据库的番茄突变体共 55 个,其中只有 1 个品种名为“Co. 3”的突变体是由化学诱变得来,诱变剂是浓度为 0.1% EMS(溶剂为水溶液)。该试验利用 EMS 诱变番茄“TTD302A”种子,通过分析其相对发芽率,得到半致死浓度为 0.7%~0.9%,诱变时间为 8 h。Watanabe 等^[8]用 EMS 诱变番茄“Micro-Tom”种子,EMS 浓度及时间组合为 0.3%-12 h、0.5%-12 h、1.0%-12 h、0.5%-48 h,确定半致死剂量为 1.0%-12 h。Menda 等^[7]用 0.5%、0.7%、0.9%、1.0% EMS 处理番茄“M82”种子 12 h,致死量分别为 15%、25%、70%、90%,确定半致死剂量为(0.7%~0.9%)-12 h。

卢银^[10]用 EMS 诱变大白菜“津育 80”和“99-2”种子,半致死浓度分别为 0.4%、0.6%,诱变时间为 4 h。王军伟等^[9]用不同浓度 EMS 诱变不同品种烤烟,得到不同品种烤烟对 EMS 的诱变敏感性不同。由此可以得出,影响诱变效果的主要因素是诱变剂浓度,基因差异也可影响突变谱和突变频率,因此不同作物及同种作物不同品种之间适宜的浓度不同,而 EMS 诱导番茄种子适宜浓度在 0.5%~1.0%之间。

参考文献

- [1] 葛莘. 高级植物分子生物学[M]. 北京:科学出版社,2004:222.
- [2] 柳学余. 农作物化学诱变育种[M]. 南京:东南大学出版社,1992.
- [3] 徐冠仁. 植物诱变育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
- [4] 赵会芳,巩振辉,李大伟. 我国蔬菜作物诱变育种研究进展[C]//赵尊练. 园艺学进展(第 6 辑). 西安:陕西科技出版社,578-583.
- [5] Wani M R, Khan S, Kozgar M I. Induced Chlorophyll mutations. I. Mutagenic effectiveness and efficiency of EM, HZ and SA in mungbean[J]. Frontiers of Agriculture in China,2011(4):514-518.
- [6] FAO/IAEA Mutant Varieties Database[EB/OL]. <http://www-mvd.iaea.org/MVD/Default.htm>. 2012-03-15.
- [7] Menda N, Semel Y, Peled D, et al. In silico screening of a saturated mutation library of tomato[J]. The Plant Journal,2004,38:861-872.
- [8] Watanabe S, Mizoguchi T, Aoki K, et al. Ethylmethanesulfonate(EMS) mutagenesis of *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom for large-scale mutant screens[J]. Plant Biotechnology,2007,24:33-38.
- [9] 王军伟,蒋彩虹,宋志美,等. 甲基磺酸乙酯对烤烟种子发芽率的处理效应[J]. 中国烟草科学,2011,32(3):17-21.
- [10] 卢银. EMS 诱发大白菜变异的研究[D]. 保定:河北农业大学,2011.

Effect of Different Concentrations of Chemical Mutagen EMS on Tomato Seed Germination

CUI Xia, LIANG Yan, WANG Ling-hui

(College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Taking tomato seeds of ‘TTD302A’ as materials, five different concentrations of EMS (0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%, 1.1%) were set and two different treatment time were used to induce tomato seeds, seed germination index such as germination potential, germination percentage and root length were measured. The results showed that there were highly significant difference of seed germination potential, the relative germination potential, germination percentage and the relative germination percentage among the treatments induced by the same treatment time and different concentrations of EMS; there were highly significant difference of seed germination potential, no significant differences of seeds relative germination potential and germination percentage, significantly different of the relative germination percentage among each treatment induced by the same concentration of EMS and different time. The median lethal dose (LD_{50}) of EMS treatment tomato seed ‘TTD302A’ was 0.7%~0.9% EMS for 8 h.

Key words: EMS; tomato; seeds; median lethal dose (LD_{50}); germination rate