

甲基磺酸乙酯对凤仙花的诱变效应研究

张永福^{1,2}, 鲁桂芝¹, 谢映美¹, 黄鹤平^{1,2}, 银立新^{1,2}, 刘佳妮^{1,2}

(1. 昆明学院 农学院, 云南 昆明 650214; 2. 云南省高校都市型现代农业工程研究中心, 云南 昆明 650214)

摘要:以浅红色凤仙花地方品种为试材,研究了不同浓度(0.5、1.0、2.0、4.0 mg/mL)与不同时间(1、2、3 d)的甲基磺酸乙酯(EMS)组合处理对凤仙花的诱变效应,以确定适合于凤仙花诱变育种的最佳剂量,并筛选出观赏价值高的诱变株系。结果表明:凤仙花种子发芽率、胚根长度、胚芽长度、幼根条数、出苗率、株高、茎粗、叶长、叶宽及叶形指数均受药剂浓度和处理时间的影响,当浓度为 40 mg/mL 处理时间为 2 d 和 3 d 时,发芽率为 0。半致死剂量为 2.0 mg/mL 处理 2 d,但此剂量不能获得较多优异的突变体,而 0.5~1.0 mg/mL 处理 2~3 d 却能获得较多的观赏价值较高的优良突变体。突变体的类型包括顶生花、一柄多花簇生、重瓣花、嵌合花、嵌合叶、花柄极度缩短及无主干等类型的突变体。花色也出现了深红、淡粉、紫红、粉白、淡紫红、紫色、粉红、白色、深紫、淡紫、粉紫、红色以及红白嵌合花色等 10 余种突变类型。在这些突变类型中,观赏价值高的单株有紫红重瓣花、深红间白色嵌合重瓣花、紫色重瓣花、淡粉牡丹型重瓣花、红色茶花型重瓣花、浅红间白色嵌合玫瑰型重瓣花、粉红蝶形重瓣花、一柄多花簇生型、花柄极度缩短重瓣嵌合花等 9 个。此外,处理以后的凤仙花花瓣色素物质和营养物质均发生了不同程度的变化。经逐代筛选,可望在其后代中获得新品种进行商品化生产,或为凤仙花育种提供理想材料。

关键词:甲基磺酸乙酯; 凤仙花; 诱变; 花型; 花色

中图分类号:S 681.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)21-0083-07

凤仙花(*Impatiens balsamina*)属凤仙花科(Balsaminaceae)凤仙花属一年生观赏及药用植物,又名指甲花、金凤花,在园林景观中应用广泛^[1]。该植物主要分布在热带及亚热带山区,少数产于北温带,在中国主要产于西南地区^[2]。作为药用,凤仙花的茎有祛风湿、活血、止痛之效,用于治风湿性关节炎、屈伸不利等症;种子有软坚、消积之效,用于治噎膈、骨鲠咽喉、腹部肿块、闭经等症^[3]。但作为观赏,凤仙花具有一些不足之处,如很多品种为单瓣花,色泽单一,观赏性较差,有逐渐被淘汰出市场的趋势。因此有必要通过诱变手段,改良凤仙花的花瓣及花色,提高其观赏价值。

运用诱变育种创造有利变异,是解决当前育种中种质资源狭窄、匮乏的有效途径之一。化学诱变操作简单、专一性强、突变性状稳定快等而被广泛用于种质创造。在众多化学诱变剂中,甲基磺酸乙酯(EMS)是一种高效、稳定的烷化剂,主要诱发点突变,诱发突变体与野

生种在遗传背景相似,多为单基因突变而成为研究基因功能的理想材料。EMS 诱变技术在国内外已是一项成熟的技术,广泛应用于水稻^[4]、小麦^[5]、玉米^[6]、大豆^[7]、花生^[8]、油菜^[9]等作物上。通过 EMS 诱变获得了油菜的高油酸突变性状^[10],开花期提早和花器官突变的菊花类型^[11],具有较高皂苷含量的党参初选植株^[12]。在凤仙花上,有通过航天诱变^[13]和离子注入诱变^[14]育种的报道,但有关 EMS 诱变育种的研究尚鲜见报道。该研究利用不同浓度 EMS 溶液处理凤仙花种子,确定 EMS 诱变的适宜浓度和处理时间,创建凤仙花突变类型,并重点对花瓣形态和花色突变体进行筛选,旨在改良当前凤仙花品种普遍存在的缺陷,选育出重瓣、花朵直径大、色泽丰富、花姿优美的新品种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为云南省弥勒市普通的凤仙花种子,花瓣浅红色、单瓣,为地方品种。

1.2 试验方法

EMS 处理浓度为 0(CK)、0.5、1.0、2.0、4.0 mg/mL,用 0.01 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)配制。挑选健壮、圆润、饱满的凤仙花种子,放入垫有滤纸的培养皿中,每个培养皿中放入 50 粒种子,然后在培养皿中各自加入上

第一作者简介:张永福(1981-),男,云南弥勒人,博士,副教授,研究方向为植物遗传育种。E-mail:123017360@qq.com.

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(31301665);昆明学院引进人才科研资助项目(YJL11030,YJL12002)。

收稿日期:2015-05-19

述不同浓度的 EMS 溶液 10 mL,放入温度为 25℃、湿度为 60%的生化培养箱中,设置正交实验,处理时间分别为 1、2、3 d,各处理分别重复 3 次。处理结束后用去离子水把药剂冲洗干净,继续放入生化培养箱中培养 6 d,然后测定种子发芽率、胚芽和胚根长度、幼根条数等。测完以后分别种入长 100 cm、宽 30 cm、高 40 cm 的长条盆中,每盆种 20 株,统一水肥管理,计算出苗率,并观察植株的生长情况及变异情况,统计株型、叶片、花色、花型等的变异分离情况,采集花瓣测定各种色素及营养物质。

1.3 项目测定

胚芽和胚根长度于播种前用直尺测定,幼根条数于播种前清数,株高于植株开花后不再生长时用卷尺测量,叶长和叶宽于植株长成后挑选植株中部的叶片用直尺测量,茎粗于植株长成后用游标卡尺测定离地面 1 cm 处。

发芽率(%)=发芽种子数/该处理供试种子总数×100;出苗率(%)=出苗总数/该处理供试种子总数×100。各种变异性状出现的百分率(%)=各种变异性状出现的植株数/该处理的植株总数×100。

分别采集各种颜色的花瓣测定色素和营养物质含量,花色苷含量测定采用 pH 示差法^[15],总酚含量测定采用福林-酚显色法^[16],总黄酮含量测定采用 NaNO₂-Al(NO₃)₃ 显色法^[17];类胡萝卜素含量测定采用酒精提取法,可滴定酸含量测定采用 NaOH 滴定法,淀粉含量测定采用酸解法,可溶性糖含量测定采用苯酚-H₂SO₄ 显色法,

可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G250 显色法^[18]。

2 结果与分析

2.1 不同 EMS 处理组合对凤仙花种子发芽率及 M₁ 植株生长的影响

从表 1 可以看出,在处理时间不变的情况下,随着 EMS 浓度的增大,发芽率逐渐降低;在处理浓度不变的情况下,随着处理时间的延长,发芽率亦降低。EMS 浓度在 0~1.0 mg/mL 时,发芽率为 100.0%或接近 100.0%,且各处理间无差异显著性,EMS 浓度从 1.0 mg/mL 增到 4.0 mg/mL 时,发芽率有所降低,其中,4.0 mg/mL 处理 2 d 和 3 d 种子发芽率均为 0。在药剂浓度为 0~4.0 mg/mL 时,胚芽和胚根长度随药剂浓度的增加而降低,幼根条数随处理时间的延长而减少,特别是从 1.0~4.0 mg/mL 时下降幅度最大,如 2.0 mg/mL 处理 3 d 后胚芽和胚根的生长速度非常缓慢。出苗率也随处理浓度的增大和处理时间的增长而下降,如在处理 2 d 的情况下,出苗率由 1.0 mg/mL 时的 76.4%下降到 4.0 mg/mL 时的 0,在处理 3 d 的情况下,出苗率由 1.0 mg/mL 时的 73.2%下降到 4.0 mg/mL 时的 0。在确定 EMS 诱变处理浓度和时间时,出苗率是重要的考察指标,因为出苗率直接影响后期突变体的成功筛选。如果以处理后 50%出苗率为临界剂量,则凤仙花的最适诱变浓度为 2.0%,最适处理时间为 2 d。

表 1 不同 EMS 处理组合对凤仙花种子发芽率及 M₁ 植株生长的影响

Table 1 Effect of different EMS combinations on seed germination and M₁ plant growth of *Impatiens balsamina*

处理组合 Treatment combination	发芽率 Germination rate /%	胚芽长度 Length of germ /cm	胚根长度 Length of radicle /cm	幼根条数 The number of roots	出苗率 Emergence rate /%	株高 Plant height /cm	茎粗 Stem diameter /cm	叶长 Leaf length /cm	叶宽 Leaf width /cm	叶形指数 Leaf index
CK	100.0a	2.2a	1.5a	5.5ab	87.8a	23.4b	2.8ab	15.0b	2.4c	6.25
0.5 mg/mL-1 d	100.0a	2.4a	1.1ab	5.0b	80.2ab	22.3b	2.6ab	14.6b	2.4c	6.08
1.0 mg/mL-1 d	97.1a	2.0a	1.2a	4.7bc	76.3ab	21.7b	2.1b	15.7a	2.6bc	6.04
2.0 mg/mL-1 d	92.7ab	1.0bc	0.6bc	3.3e	70.1bc	23.2b	2.3b	15.5a	2.8ab	5.54
4.0 mg/mL-1 d	91.3ab	0.6c	0.4c	3.4e	64.2c	18.4bc	2.3b	15.0b	2.9a	5.17
0.5 mg/mL-2 d	98.3a	2.0a	1.2a	5.5ab	80.1ab	31.2a	3.1a	15.5a	2.7b	5.74
1.0 mg/mL-2 d	97.5a	1.3b	0.9b	5.0b	76.4ab	25.1b	3.3a	15.0b	2.7b	5.56
2.0 mg/mL-2 d	87.3b	0.6cd	0.4c	3.7de	47.9d	34.9a	3.1a	16.0a	2.9b	5.52
4.0 mg/mL-2 d	0d	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.5 mg/mL-3 d	99.6a	1.3b	0.9b	4.9bc	76.3ab	25.1b	2.6ab	15.5a	2.6bc	5.96
1.0 mg/mL-3 d	99.0a	0.6c	0.5c	4.1d	73.2b	25.3b	2.4c	15.6a	2.8ab	5.57
2.0 mg/mL-3 d	73.5c	0.2d	0.2d	1.0f	21.3e	11.3c	0.9d	10.2c	2.6bc	3.92
4.0 mg/mL-3 d	0d	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注:表中同一列数字旁不同小写字母表示通过 Duncan 氏新复极差检验差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column show significant differences among means according to Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

从表 1 还可以看出,不同浓度和时间的 EMS 处理对凤仙花 M₁ 的株高、茎粗、叶长、叶宽及叶形指数具有一定的影响,其中各浓度处理 2 d 后株高、茎粗、叶长和叶宽均大于 CK,表现出较强的生长势,叶形指数变小,叶片由窄披针形变为宽披针形;2.0 mg/mL 处理 3 d 时,植株生长受到严重抑制,株高、茎粗、叶长、叶宽和叶形指数均显著低于其它处理,植株完全畸形,无利用价

值,表现为劣变。

2.2 不同 EMS 处理组合对凤仙花 M₁ 花朵及植株特征的影响

经 EMS 处理后,凤仙花 M₁ 群体花朵及植株特征发生了明显的变异,出现了顶生花、一柄多花簇生型、重瓣花、嵌合花瓣等突变体,植株特征上出现了畸形苗、无顶芽植株、无主干植株等变异类型(图 1 和表 2)。



注:a. 亲本花型;b. 紫红重瓣花(1.0 mg/L-3 d);c. 深红间白色嵌合重瓣花(1.0 mg/L-3 d);d. 紫色重瓣花(1.0 mg/L-3 d);e. 淡粉牡丹型重瓣花(0.5 mg/L-2 d);f. 红色茶花型重瓣花(0.5 mg/L-2 d);g. 浅红间白色嵌合玫瑰型重瓣花(1.0 mg/L-3 d);h. 粉红色蝶状重瓣花(0.5 mg/L-3 d);i. 一柄双花(0.5 mg/L-1 d);j. 一柄多花簇生(1.0 mg/L-3 d);k. 顶生花(2.0 mg/L-2 d);l. 黄绿嵌合叶(2.0 mg/L-2 d);m. CK 植株;n. 花柄极度缩短的重瓣嵌合花(2.0 mg/L-2 d);o. 无明显主干株型(1.0 mg/L-3 d);p. 畸形植株(2.0 mg/L-3 d)。

Note:a. Parents spend type;b. Purple red double flower;c. The crimson white chimeric double flower;d. Purple double flower;e. The pale pink peony type double flower;f. Red camellia type double flower;g. Light red and white roses type chimeric double flower;h. Pink papilionaceous double flower;i. A flower stalk two flower;j. A handle to spend clustered type;k. Terminal flower;l. Yellow green chimeric leaf;m. CK plants;n. Pedicel in extremely short double chimeric flowers;o. No obvious main plant type;p. Abnormal plants.

图1 花朵和植株的变异

Fig. 1 Variation of flowers and plants

由表 2 可知,在花朵的变异特征中,以顶生花的发生率最高,1.0、4.0 mg/mL 处理 1 d,0.5、1.0、2.0 mg/mL 处理 2 d,0.5、1.0 mg/mL 处理 3 d 均出现了顶生花,其中以 4.0 mg/mL 处理 1 d 出现的概率最大,达 13.3%;0.5 mg/mL 处理 1 d,0.5、1.0 mg/mL 处理 3 d 均出现了一柄多花簇生现象,其中以 0.5 mg/mL 处理 1 d 出现的概率最大,为 6.3%;0.5、2.0 mg/mL 处理 2 d,0.5、1.0 mg/mL 处理 3 d 均出现了重瓣花,其中以 1.0 mg/mL 处理 3 d 出现的概率最大,为 4.2%;2.0、4.0 mg/mL 处理 1 d,1.0 mg/mL 处理 2 d 及 1.0 mg/mL 处理 3 d 均出现了嵌合花瓣,其中以 4.0 mg/mL 处理 1 d 出现的概率最大,为 4.1%。

从表 2 还可以看出,在各处理组合中 4.0 mg/mL 处理 1 d,2.0 mg/mL 处理 2 d,1.0、2.0 mg/mL 处理 3 d

均出现了畸形苗,其中 2.0 mg/mL 处理 3 d 的畸形苗率为 100.0%;在 4.0 mg/mL 处理 1 d 和 2.0 mg/mL 处理 2 d 的组合中,还出现了少量的绿黄嵌合叶植株;2.0 mg/mL 处理 1 d 和 2 d,1.0 mg/mL 处理 3 d 均出现了无顶芽植株,其中 2.0 mg/mL 处理 2 d 出现的概率最大,为 13.8%;1.0、2.0、4.0 mg/mL 处理 1 d,2.0 mg/mL 处理 2 d,0.5、1.0 mg/mL 处理 3 d 均出现了无主干植株,其中 2.0 mg/mL 处理 2 d 出现的概率最高,达 37.9%。凤仙花茎干有暗红色和绿色 2 种颜色,通过计算发现,基部暗红色植株与基部绿色植株的比例为 3.3:1,考虑到茎干基部绿色的植株生活力较弱造成早期夭折植株比例大和试验误差,得出凤仙花基部色泽是由一对主基因控制的质量性状,暗红色对绿色为显性。

表 2 不同 EMS 处理组合对凤仙花 M_1 花朵及植株突变特征概率的影响

Table 2 Effect of different EMS combinations on the probability of M_1 flowers and plants mutation characteristics of *Impatiens balsamina* %

处理组合 Treatment combination	顶生花 Terminal flower	一柄多花 A handle to spend	重瓣花 Double flower	嵌合花瓣 Chimeric petals	畸形苗 Abnormal seedlings	嵌合叶 Chimeric leaf	无顶芽 No terminal bud	无主干 No branch	茎基部暗红色 Stem base dark red	茎基部绿色 Stem base of green
CK	0	0	0	0	0	0	0	0	80.0	20.0
0.5 mg/mL-1 d	0	6.3	0	0	0	0	0	0	62.5	37.5
1.0 mg/mL-1 d	11.8	0	0	0	0	0	0	11.8	64.7	35.3
2.0 mg/mL-1 d	0	0	0	3.5	0	0	8.9	14.3	82.6	17.4
4.0 mg/mL-1 d	13.3	0	0	4.1	13.5	1.6	0	16.7	73.3	26.7
0.5 mg/mL-2 d	10.4	0	2.1	0	0	0	0	0	87.5	12.5
1.0 mg/mL-2 d	2.6	0	0	2.5	0	0	0	0	76.3	23.7
2.0 mg/mL-2 d	10.5	0	0.4	0	12.3	2.3	13.8	37.9	79.3	20.7
0.5 mg/mL-3 d	7.4	1.5	1.5	0	0	0	0	16.2	76.8	23.2
1.0 mg/mL-3 d	2.1	2.1	4.2	3.2	18.1	0	2.1	4.2	81.2	18.8
2.0 mg/mL-3 d	0	0	0	0	100.0	0	0	0	0	0

2.3 不同 EMS 处理组合对凤仙花 M_1 花瓣色泽的影响

不同 EMS 处理后,凤仙花 M_1 花瓣出现了从白色、红色到深紫色等 13 种不同的颜色(图 1 和表 3)。由表 3 可知,CK 植株 M_1 花瓣只出现深红和浅红 2 种颜色,其中浅红色花瓣出现的频率达 94.2%;0.5 mg/mL 处理 1 d 的 M_1 花瓣出现了浅红、淡粉、粉白、淡紫红、紫色和淡紫 6 种颜色,其中淡紫红出现的概率最大,达 46.7%;1.0 mg/mL 处理 1 d 的 M_1 花瓣出现了深红、浅红、紫

色、粉红和淡紫 5 种颜色,其中以深红出现的概率最大;2.0 mg/mL 处理 1 d 的 M_1 花瓣出现了浅红、紫红、粉白、淡紫红、紫色和粉红 6 种颜色;4.0 mg/mL 处理 1 d 的 M_1 花瓣出现了深红、浅红、粉白和淡紫红 4 种颜色,其中淡紫红出现的概率最大;0.5 mg/mL 处理 2 d 的 M_1 共有浅红、淡粉、淡紫红、紫色、粉红、白色和深紫 7 种颜色的花瓣,其中出现概率最大的是淡紫红色,达 46.7%;1.0 mg/mL 处理 2 d 的 M_1 共有深红、淡粉、淡紫红、紫

表 3 不同 EMS 处理组合对凤仙花 M_1 花瓣色泽突变概率的影响

Table 3 Effect of different EMS combinations on the mutation probability of M_1 petals color of *Impatiens balsamina* %

处理组合 Treatment combination	深红 Deep red	浅红 Light red	淡粉 Pale pink	紫红 Amaranth	粉白 White powder	淡紫红 Pale purplish red	紫色 Purple	粉红 Pink	白色 White	深紫 Modena	粉紫 Lilac	淡紫 The purple powder	红色 Red
CK	5.8	94.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5 mg/mL-1 d	0	3.3	13.3	0	6.7	46.7	13.3	0	0	0	0	16.7	0
1.0 mg/mL-1 d	33.3	16.7	0	0	0	0	11.1	16.7	0	0	0	22.2	0
2.0 mg/mL-1 d	0	14.6	0	20.0	6.0	26.7	6.0	26.7	0	0	0	0	0
4.0 mg/mL-1 d	23.1	23.0	0	0	15.4	38.5	0	0	0	0	0	0	0
0.5 mg/mL-2 d	0	3.4	3.0	0	0	46.7	23.3	10.3	3.3	10.0	0	0	0
1.0 mg/mL-2 d	16.1	0	12.9	0	0	35.5	9.7	3.2	0	0	0	6.5	16.1
2.0 mg/mL-2 d	0	40.0	0	0	0	26.7	6.7	0	0	0	0	13.3	13.3
0.5 mg/mL-3 d	5.4	18.9	5.4	10.8	5.4	43.2	8.2	2.7	0	0	0	0	0
1.0 mg/mL-3 d	17.6	11.8	17.6	0	2.9	14.7	14.8	0	0	14.7	5.9	0	0

色、粉红、淡紫和红色 7 种颜色的花瓣,其中淡紫红出现的概率最大;2.0 mg/mL 处理 2 d 的 M_1 共出现了浅红、淡紫红、紫色、淡紫和红色共 5 种颜色的花瓣,其中以浅红出现的概率最大;0.5 mg/mL 处理 3 d 的 M_1 花瓣颜色有深红、浅红、淡粉、紫红、粉白、淡紫红、紫色和粉红等 8 种,其中出现概率最大的是淡紫红;1.0 mg/mL 处理 3 d 的 M_1 花瓣的颜色有深红、浅红、淡粉、粉白、淡紫红、紫色、深紫和粉紫共 8 种。可见,在新出现的 12 种花色中,频率最高的是淡紫色,其次是深红色和紫色,而出现频率最低的是白色,粉紫色倒数第二。在各处理组合中,以 0.5、1.0 mg/mL 处理 3 d 出现的花色最多,而以 4.0 mg/mL 处理 1 d 出现的花色最少。

2.4 不同 EMS 处理组合对凤仙花 M_1 花瓣色素及营养物质含量的影响

从表 4 可以看出,不同 EMS 处理组合对凤仙花 M_1 花瓣色素及营养物质含量也有一定的影响,其中,

表 4 不同 EMS 处理组合对凤仙花 M_1 花瓣色素及营养物质含量的影响

Table 4 Effect of different EMS combinations on M_1 flower petals pigment and nutrient content of *Impatiens balsamina*

处理组合 Treatment combination	花色苷含量 Anthocyanins content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	总酚含量 Total phenolic content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	总黄酮含量 Total flavonoids content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	类胡萝卜素含量 Carotenoid content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	淀粉含量 Starch content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	可溶性糖含量 Soluble sugar content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	可溶性蛋白质含量 Soluble protein content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	可滴定酸含量 Titratable acid content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
CK	163.92c	3.81ab	1.65b	81.16b	0.98a	30.12ab	3.07ab	1.45b
0.5 mg/mL-1 d	208.30bc	3.97ab	1.51b	65.01c	1.20a	26.79b	3.11ab	2.57a
1.0 mg/mL-1 d	276.41ab	3.71b	1.64b	68.19c	1.07a	33.46a	3.23sb	2.19a
2.0 mg/mL-1 d	243.02b	3.73b	1.12c	77.06bc	1.14a	37.21a	3.67a	1.67b
4.0 mg/mL-1 d	314.85a	4.32a	1.06c	81.81b	1.25a	35.29a	4.08a	1.33b
0.5 mg/mL-2 d	247.54b	4.01a	2.83a	83.01b	1.08a	27.89b	3.67a	2.02a
1.0 mg/mL-2 d	278.37ab	3.90ab	1.46b	84.27b	0.67b	32.09a	3.78a	2.14a
2.0 mg/mL-2 d	240.86b	3.86ab	1.49b	121.86a	0.26c	37.31a	4.17a	2.35a
0.5 mg/mL-3 d	305.21a	4.05a	1.72b	107.71ab	0.25c	35.15a	2.18b	1.18b
1.0 mg/mL-3 d	230.55b	4.33a	2.11ab	84.64b	0.31c	36.09a	2.09b	1.13b

3 讨论与结论

EMS 作为一种化学诱变剂,具有以诱导点突变为、突变频率较高、突变谱较稳定等优点,而在化学诱变中应用广泛,且效果显著。其作用机制是直接作用于 DNA 的碱基和磷酸,使其发生烷化作用,造成转换或颠换。点突变不对作物基因组进行大的调整,也不易引发基因沉默或丢失,在保持原品种的优良性状基础上,对作物的个别性状进行修缮^[19]。然而,在化学诱变中,由于突变的方向是随机的,既有优变亦有劣变,因此在育种中须进行定向筛选。一个适合的处理浓度和时间的组合既能够有效获得具有优良性状的突变体又能缩小供选群体的规模,减少在育种过程中人力和物力的投入量。研究发现,在诱变过程中,以对处理材料造成半致死效应的剂量效果最佳,因此可通过设置诱变剂浓度梯度和时间梯度来筛选最佳组合^[20]。崔霞等^[21]报道,EMS 诱变番茄种子的半致死浓度为 0.7%~0.9%,时间为 8 h。该研究发现,0~4.0 mg/mL 处理 1 d 时所有凤

仙花种子均能保持 90% 以上的发芽率,虽然出苗率随浓度升高而有所降低,但也均在 60% 以上;当处理时间为 2 d 和 3 d 时,随浓度的升高发芽率和出苗率均有所降低,当浓度由 2.0 mg/mL 升高到 4.0 mg/mL 时,发芽率由 70%~80% 急剧降为 0;通过分析得出,凤仙花出苗率的半致死剂量为浓度 2.0 mg/mL,时间 2 d。在同一浓度下,随着处理时间的延长发芽率和出苗率均表现出不同程度的降低,2.0 mg/mL 处理 3 d 使种子发芽率、胚芽和胚根长度、出苗率、株高、茎粗、叶长、叶宽和叶形指数均显著低于其它处理,且所有苗均为畸形苗,说明此时凤仙花已经受到严重的伤害。此外还发现,药剂浓度越大、处理时间越长,叶形指数越小。

研究表明,虽然 EMS 浓度过高可以获得较大的遗传变异,但获得的突变体较少,浓度太低虽能增大突变体的群体规模,但又会加大突变体选择的工作量^[22-23]。张娜等^[24]报道,EMS 浓度偏高是造成获得突变体群体较小的主要原因,因此需要调整浓度创制新的突变体群

体,该研究结果也支持上述观点。综合分析发现,EMS对凤仙花的诱变过程中,使用2.0 mg/mL处理2 d的半致死剂量并不能获得较多优异的突变体,而使用较低浓度和适当延长处理时间却能诱导出较多的观赏价值高的突变体,因此该研究认为在凤仙花诱变育种中,EMS的最佳浓度为0.5~1.0 mg/mL,最佳处理时间为2~3 d。

虽然EMS诱变产生的不良突变较多,但通过EMS诱发基因点突变,可对作物现有品种的缺陷进行修缮,如提高烟草产量^[25],增强草菇耐寒性^[26],以及获得优良的菊花突变体^[11],高皂苷轮叶党参突变体^[12],甘蓝型油菜的高油突变体^[27]和抗除草剂突变体^[28]。在凤仙花上,有关EMS诱变育种的研究鲜为报道,该研究通过不同浓度的EMS与不同时间组合对凤仙花种子进行诱变处理,获得了顶生花、一柄多花簇生、重瓣花、嵌合花、嵌合叶、花柄极度缩短及无主干等类型的突变体;在花色上由浅红色诱变出了深红、淡粉、紫红、粉白、淡紫红、紫色、粉红、白色、深紫、淡紫、粉紫、红色以及红白嵌合花色等10余种突变体类型;其中,观赏价值高的单株有紫红色重瓣花、深红色间白色嵌合重瓣花、紫色重瓣花、淡粉色牡丹型重瓣花、红色茶花型重瓣花、浅红间白色嵌合玫瑰型重瓣花、粉红色蝶形重瓣花、一柄多花簇生型、花柄极度缩短重瓣嵌合花等9个。此外,还发现诱变以后凤仙花花瓣中的花色苷、总酚、总黄酮、类胡萝卜素等色素物质以及淀粉、可溶性糖、可溶性蛋白质、可滴定酸等营养物质的含量均发生了不同程度的变化。由于控制凤仙花的这些优良性状的基因源于人工诱变,不同于源于自然变异的基因,是一种新的优良基因,经过逐代筛选后,其后代若通过特异性、一致性和稳定性鉴定,有可能成为新品种进行商业化生产。随着研究的深入,控制这些优良性状的基因将会不断被发现,为凤仙花育种提供理想的材料。

参考文献

- [1] 汤泽生,杨军,刘平.卫星搭载对凤仙花减数分裂和小孢子的影响[J].核农学报,2005,19(1):33-36.
- [2] 陈艺林.中国植物志(第47卷第2分册)[M].北京:科学出版社,2001.
- [3] 南京中医药大学.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2005.
- [4] 王峰,徐飏,杨正林,等.EMS诱变水稻矮生资源的鉴定评价[J].核农学报,2011,25(2):197-201.
- [5] 陈洋,高兰英,邵艳军,等.EMS诱导小麦易位系YW642突变体的鉴定与分子标记分析[J].核农学报,2011,25(4):617-621.
- [6] 张明义,王翔,张彦芹,等.玉米EMS诱变材料的抗旱性筛选[J].山西农业科学,2011,39(2):99-102.
- [7] 韩锁义,杨玛丽,陈远东,等.大豆“南农94-16”突变体库的构建及部分性状分析[J].核农学报,2008,22(2):131-135.
- [8] 王传堂,王秀贞,唐月异,等.EMS直接注入花生花器创制高产突变体[J].核农学报,2010,24(2):239-242.
- [9] 李浩杰,蒲晓斌,张锦芳,等.甘蓝型油菜EMS诱变后代农艺性状观察及分子检测[J].核农学报,2012,26(2):245-249.
- [10] 张宏军,肖钢,谭太龙,等.EMS处理甘蓝型油菜(*Brassica napus*)获得高油酸材料[J].中国农业科学,2008,41(12):4016-4022.
- [11] 蔡海燕,温立柱,郑成淑,等.EMS诱发菊花突变类型及重要性状的分子鉴定[J].山东农业大学学报,2013,44(2):171-175.
- [12] 马晓菲,唐玉倩,于元杰,高皂苷轮叶党参EMS诱变突变体研究[J].西北植物学报,2014,34(6):1125-1130.
- [13] 杨军,李劲涛,汤泽生,等.航天诱导凤仙花SP₄代三种不同花色突变系比较[J].云南植物研究,2008,30(2):221-226.
- [14] 赵曼祯.“离子注入”诱变中国凤仙花[J].中国花卉园艺,2010(6):20-22.
- [15] WROLSTAD R E, CULBERTSON J D, CORNWELL C J. Detection of adulteration in blackberry juice concentrates and wines[J]. Journal Association Official Analytical Chemists, 1982, 65: 1417-1423.
- [16] SINGLETON V L, ROSSI J A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents [J]. American Journal of Enology Viticulture, 1965, 16: 144-158.
- [17] 游新侠,仇农学.超声波辅助提取荆芥叶中总黄酮的方法研究[J].西北农业学报,2006,26(1):13-15.
- [18] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [19] 安学丽,蔡一林,王久光,等.化学诱变及其在农作物育种上的应用[J].核农学报,2003,17(3):239-242.
- [20] LATADO R R, ADAMES A H. *In vitro* mutation of chrysanthemum with EMS in immature floral pedicels[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2004, 77(1):103-106.
- [21] 崔霞,梁燕,王玲慧.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[J].北方园艺,2013(14):28-30.
- [22] 赵天祥,孔秀英,周荣华,等.EMS诱变六倍体小麦偃展4110的形态突变体鉴定与分析[J].中国农业科学,2009,42(3):755-764.
- [23] OLOF O, AAKASH C, PER S. Development and characterization of an oat TILLING-population and identification of mutations in lignin and β -glucan biosynthesis genes[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 86.
- [24] 张娜,杨希文,任长忠,等.白燕2号EMS突变体的形态鉴定与遗传变异分析[J].麦类作物学报,2011,31(3):421-426.
- [25] REDDY T V, DWIYEDI S, SHARMA N K. Development of TILLING by sequencing platform towards enhanced leaf yield in tobacco[J]. Industrial Crops Products, 2012, 40: 324-335.
- [26] LIU Z, ZHANG K, LIN J F. Breeding cold tolerance strain by chemical mutagenesis in *Volvariella volvacea* [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(1): 18-24.
- [27] 黄永娟,张凤启,杨甜甜,等.EMS诱变甘蓝型油菜获得高油酸突变体[J].分子植物育种,2011,9(5):611-616.
- [28] 曲高平,孙妍妍,庞红喜,等.甘蓝型油菜EMS突变体库构建及抗除草剂突变体筛选[J].中国油料作物学报,2014,36(1):25-31.

Study on Mutagenic Effects of Ethyl Methane Sulfonate on *Impatiens balsamina*

ZHANG Yongfu^{1,2}, LU Guizhi¹, XIE Yingmei¹, HUANG Heping^{1,2}, YIN Lixin^{1,2}, LIU Jiani^{1,2}

(1. School of Agriculture, Kunming University, Kunming, Yunnan 650214; 2. Engineering Research Center for Urban Modern Agriculture of High Education in Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650214)

Abstract: Light red *Impatiens balsamina* landraces was chosen as test materials to study mutagenic effects of the combination treatment of ethyl methane sulfonate (EMS) with different concentrations (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/mL) and different times (1, 2, 3 days) on *Impatiens balsamina*, in order to determine the best dosage in *Impatiens balsamina* induced mutation breeding, and screened the high ornamental value of the mutation strain. The results showed that *Impatiens balsamina* seed germination rate, root length, coleoptile length, radicle emergence rate, number, plant height, stem diameter, leaf length, leaf width and leaf shape index were controlled by chemical concentration and treatment time, when the concentration of 40 mg/mL treatment time was 2 days and 3 days, the germination rate was 0. Semi-lethal dose was 2 mg/mL for 2 days treatment, but this dose not obtained more excellent mutant, and 0.5—1.0 mg/mL treated for 2—3 days was able to obtain more excellent mutants with high ornamental value. The mutant types include terminal flower, a handle to spend fascicled, double flower, flower, flower stalk, block hinge fitting an extremely shortened and no trunk type mutant. Color also appeared deep red, pale pink, amaranth, pale pink, white powder, pale purplish red, purple, pink, white, modena, lilac, the purple powder, red and red and white mosaic color more than 10 kinds of mutation types. In these types of mutations, the individual plant of ornamental high value were purple red double flower, the crimson white chimeric double flower, purple double flower, the pale pink peony type double flower, red camellia type double flower, red and white roses type chimeric double flower, pink papilionaceous double flower, a handle to spend clustered type, pedicel in extremely short double chimeric flowers a total of 9. In addition, after processing of *Impatiens balsamina* petals pigment substances and nutrients were changed in different degree. The generational screening could be expected to obtain new varieties in the progeny of commercial production, or for *Impatiens balsamina* breeding to provide ideal materials.

Keywords: ethyl methyl sulfonate; *Impatiens balsamina*; mutation; flower type; flower color

欢迎订阅 2016 年《北方园艺》

中文核心期刊
中国农业核心期刊
全国优秀农业期刊
中国北方优秀期刊
黑龙江省优秀科技期刊
美国化学文摘社(CAS)收录期刊

主管:黑龙江省农业科学院
主办:黑龙江省农业科学院、黑龙江省园艺学会
中国标准连续出版物号:
ISSN 1001-0009 CN 23-1247/S
广告经营许可证号:2301070000009
邮发代号:14-150 半月刊 每月 15、30 日出版
单价:15.00 元 全年:360.00 元

全国各地邮局均可订阅 或直接向编辑部汇款订阅

本刊栏目涵盖园艺学的蔬菜、果树、瓜类、花卉、植保等研究领域的新成果、新技术、新品种、新经验。竭诚欢迎全国各地科研院所人员、大专院校师生,各省、市、县、乡、镇农业技术推广人员、农民科技示范户等踊跃订阅。

现辟有试验研究、研究简报、设施园艺、栽培技术、园林花卉、生物技术、植物保护、贮藏保鲜加工、食用菌、中草药、土壤与肥料、新品种选育、产业论坛、专题综述、农业经纬、经验交流等栏目。

地址:黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路 368 号《北方园艺》编辑部

邮编:150086 电话:0451-86674276 信箱:bffybjb@163.com 网址:www.haasep.cn