

# MMS 对白花泡桐种子发芽率和内源激素的影响

翟晓巧<sup>1,2</sup>, 贾峰, 刘飞, 范国强, 张变莉 (1. 河南农业大学, 河南郑州 450002; 2. 河南省林业科学研究院, 河南郑州 450008)

**摘要** 在白花泡桐种子萌发的不同时段、采用不同浓度的甲基磺酸甲酯对种子进行不同时间浸泡处理, 记录种子发芽率, 测定各处理幼苗的内源激素含量。结果表明: 在3种因素中, 不同时段的处理对种子发芽率和GA含量影响极显著; 浸泡时间对ABA含量影响显著; 而3种因素对种子芽内的IAA含量、ZR含量影响均不显著; GA含量与种子的发芽率成正相关。

**关键词** 甲基磺酸甲酯; 白花泡桐; 种子发芽率; 内源激素

中图分类号 Q945 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-02866-02

**Effects of Methyl Methanesulfonate on Seed Germination and Endogenous in** *Pawlonia fortunei*

**ZHAI Xiaogiao et al** (Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002)

**Abstract** In lab test in 2004, the *Pawlonia fortunei* seed was soaked with different concentrations of methyl methanesulfonate for different time in different time interval of seed sprouting, the seed germination rate was recorded and the endogenous contents in all samples were determined. The variance analyses show that the different time interval has a specially significant effect on GA content in seed germination. The soaking time has significant effect on ABA content. IAA and ZR content in seed germination are not sensitive to above three factors. The GA content positively correlated with seed germination.

**Key words** Methyl methanesulfonate; *Pawlonia fortunei*; Seed germination rates; Endogenous hormone

植物激素是植物正常代谢的产物。在极低的浓度下, 植物激素就能够调节植物的生长发育。甲基磺酸甲酯(MMS)是目前应用广泛而且有效的DNA甲基化剂<sup>[1-3]</sup>。DNA甲基化(DNA Methylation)是真核生物基因组最常见的一种DNA共价修饰形式, 是基因表达调控机制之一<sup>[4-7]</sup>。在生长发育的不同阶段, DNA甲基化会影响DNA-蛋白质的相互作用, 并且通过抑制基因表达对植物生长进行调节。泡桐是我国常用的绿化树种, 对改善生态环境和提高经济收入效果明显。但是, 由于缺乏新的优良品种, 泡桐的推广受到了很大的限制。为了加快新品种的开发, 笔者采用MMS处理白花泡桐种子, 通过测定幼苗内源激素的变化初步探讨MMS对幼苗内源激素的影响。

## 1 材料与试验方法

**1.1 试验材料** 材料为2004年9月采于河南省郑州市的白花泡桐 [*Pawlonia fortunei* (Seem) Hems.] 的种子。

**1.2 试验设计** 将室温风干白花泡桐种子用蒸馏水浸泡24 h后, 取沉入水下的种子。将种子放置于发芽床(在直径9 cm的玻璃皿中, 放入脱脂棉, 铺上纱布, 注入适量蒸馏水)上, 每个发芽床上放100粒种子。发芽时间从种子放入发芽床时算起。采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表, 根据设计安排了9个试验组合, 因子水平安排见表1。

表1 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计

种子萌发的时期	d	MMS 浓度 ng/L	MMS 浸泡种子的时间 h
1	2	20	1
2	2	40	2
3	2	60	3
4	5	40	1
5	5	60	2
6	5	20	3
7	8	60	1
8	8	20	2
9	8	40	3

**基金项目** 国家自然科学基金(30271082, 30571496); 高等学校博士学科点专项科研基金(20050466003); 河南省杰出青年基金(0612001900)。

**作者简介** 翟晓巧(1971-), 女, 河南宜阳人, 博士, 从事林木生物技术方面的研究。

**收稿日期** 2007-01-08

**1.3 内源激素测定** 采样时间为处理后第15天。称取0.5 g 幼苗, 放入液氮中速冻10 min, 然后放入-76℃低温冰箱保存。样品送至中国农业大学农学与生物技术学院进行激素含量的测定。

**1.4 数据处理** 发芽率进行正弦转换。采用SPSS软件对试验数据进行方差分析。

$$\text{发芽率} = \frac{14 \text{ d 出芽的种粒数}}{\text{供试种子粒数}} \times 100\% \quad (1)$$

## 2 结果与分析

**2.1 MMS 处理对泡桐发芽率的影响** 表2、3表明, MMS处理中种子萌发的时期对发芽率影响0.01水平显著; MMS浓度和MMS浸泡种子的时间对发芽率影响0.05水平显著。在第2天采用MMS处理, 其发芽率随MMS浓度的增加和处理时间的延长而降低, 其中处理3的发芽率最低为20%。在第5天采用MMS处理种子, 其发芽率整体较高, 虽然处理5的发芽率仅为38%, 但比第2、8天处理的发芽率高。在第8天采用MMS处理种子, 其发芽率相对于第2天处理较高一些。这表明在种子萌发过程中, 不同时段对MMS的敏感程度存在0.05水平显著差异, 即第2、5、8天处理种子发芽率的差异较大。MMS浓度和浸泡时间对种子的萌发也有影响, 但与不同时段采用MMS处理相比差异较小。可能的原因是MMS参与种子萌发时的某种生理生化反应使一些基因发生了甲基化, 阻止了种子应该表达基因的表达, 抑制了酶蛋白质的产生, 从而降低了发芽率。

## 2.2 MMS 处理对内源激素含量的影响

**2.2.1 MMS 处理对GA含量的影响。** 表2表明, 经过MMS处理后, 幼芽内的GA含量变化与种子的发芽率成正相关。表3表明, 3个因素都对种子萌发时的GA含量变化存在0.05水平显著影响。在第2、8天MMS处理的种子GA含量比较低, 最低达到561 ng/g FW; 而第5天MMS处理的种子GA含量有所上升。这可能与种子所处的生理状态有关。

**2.2.2 MMS 处理对IAA含量的影响。** 表2、3表明, 经过MMS处理后, 幼芽内IAA含量对种子萌发的时期和MMS浸泡种子的时间变化较敏感。当第2、5天用MMS处理时, IAA含量高于第8天处理的组合; MMS浸泡种子1 h处理的IAA

含量高于MMS 浸泡种子2、3 h 处理;而对MMS 浓度的变化不敏感。

表2 MMS 对白花泡桐发芽率和内源激素含量的影响

	发芽率 %	内源激素 ng/ g FW			
		GA	IAA	ABA	ZR
1	25	561	861	719	808
2	22	617	848	808	980
3	20	606	869	649	802
4	49	677	943	823	852
5	38	593	845	660	629
6	44	643	909	893	869
7	34	590	867	843	1 024
8	36	622	777	698	656
9	35	639	784	789	654

表3 方差分析

	发芽率	GA	IAA	ABA	ZR
种子萌发的时期	541.73**	7.996*	7.349*	0.223	0.136
MMS 浸泡种子的时间	22.63*	10.126*	5.108*	0.251	0.414
MMS 浓度	34.67*	15.769*	1.087	0.320	0.120

注:\*、\*\* 分别表示在0.05、0.01 水平上差异显著。

**2.2.3 MMS 处理对 ABA 含量的影响。**表2、3 表明,MMS 浸泡种子的时间对 ABA 含量影响0.05 水平显著,MMS 浸泡种子1 h 处理的 ABA 含量要低于 MMS 浸泡种子2、3 h 处理,说明用 MMS 浸泡种子的时间越长越有利于 ABA 的合成;MMS 浓度对 ABA 合成的影响大于种子萌发时期的影响,但两者均不存在差异。

**2.2.4 MMS 处理对 ZR 含量的影响。**表2、3 表明,经过 MMS 处理后,芽内 ZR 含量的变化趋势与 IAA 相同。3 种因素对 ZR 含量的变化均不明显。在第5 天的处理中,60 ng/ L MMS 浸泡种子2 h,ZR 含量最小;在第8 天的处理中,60 ng/ L MMS 浸泡种子1 h,ZR 含量最大,达1 024 ng/ g FW。

### 3 讨论

MMS、EMS(甲基磺酸乙酯)、亚硝酸胍等 DNA 烷化剂带有1 个或多个活泼的烷基。这些烷基能够转移到其他电子密度较高的分子中去,从而多方面改变氢键的结合能力。烷化作用可使 DNA 的碱基易于水解而从 DNA 上裂解下来,从而造成碱基的缺失,引起碱基的转换、颠换及移码突变。Ideker 研究发现,用 MMS 处理愈伤组织后,有30 种转录因子参与了损伤导致的反应,通过与正常生长状态比较基因、基因-蛋白质的相互作用,绘制出了当细胞经历 DNA 损伤后转录因子改变自己行为的机理图。机理图表明,参与 MMS 损伤反应的基因有82 个<sup>[8]</sup>。在诱变植物时,DNA 烷化剂的机理是复杂的、多层面的。

种子吸水萌动后,胚内细胞的代谢机能趋向旺盛,对外界的条件反应非常敏感<sup>[9]</sup>。种子开始基因表达合成 mRNA,

并且激活蛋白质、酶的产生,为种子萌发进行物质和能量的准备。有研究表明,ABA、GA、ZR 是种子去除休眠萌发的重要因子<sup>[10]</sup>。范怀德认为,GA 能提高一些酶的活性,并使这些酶类物质从糊粉层转移到胚乳,在胚乳内降解淀粉、蛋白质,促进种子的萌发<sup>[11]</sup>。Grubisic 研究表明,GA 能够促进白花泡桐种子的萌发<sup>[12]</sup>。MMS 处理种子后可能导致 GA 合成路径中一种关键酶(异贝壳杉烯酸羟化酶)活性的减弱,使 GA 含量下降<sup>[13]</sup>。这也许是第2 天用 MMS 处理种子后,幼苗体内 GA 含量下降的原因。第5 天时,种子的生理状态达到较旺盛时期,其去甲基化酶可能开始作用,此时用 MMS 处理去甲基化酶或甲基化转移酶能够及时去除一些甲基,调节 GA 的合成。该试验表明,GA 含量与发芽率存在正相关性,GA 含量高时种子的发芽率也高。通过极性运输、合成及代谢等途径生长素参与调控植株的株型和生长发育的过程。这是一个复杂的生理生化过程,并且有许多中间产物的参与<sup>[14-15]</sup>。由于在种子萌发时其内部激素变化极其复杂,因此还需进一步研究。

### 参考文献

- [1] KRAMER E M, BENNETT M J. Auxin transport: a field in flux[J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11: 382-386.
- [2] HILL S A. *Neisseria gonorrhoeae* recombinational repair of alkylated bases and UV-induced pyrimidine dimers[J]. *Molecular and General Genetics MGG*, 2000, 264: 268-275.
- [3] SAKURABA Y, SCHROEDER A L, ISHI C, et al. A *Neurospora crassa* strand break repair gene, *ms-11*, encodes a RAD52 homologue and is inducible by mutagens[J]. *Molecular and General Genetics MGG*, 2000, 264: 392-401.
- [4] 李梅兰. DNA 甲基化与白菜的生长转变[D]. 杭州: 浙江大学, 2001.
- [5] KASS S U, PRUSS D, WOLFFE A P. How does DNA methylation repress transcription[J]. *Trends in Genet*, 1997, 13: 444-449.
- [6] RAZINA, CEDAR H. DNA methylation gene expression[J]. *Microbiol Rev*, 1991, 55(3): 451-458.
- [7] RICHARDI S, BRETEL L, DENNIS E S. Reactivation of a silent following tissue culture is associated with heritable alteration in its methylation pattern[J]. *Mol Genet Evol*, 1991, 229: 365-372.
- [8] IDEKER T, THORSSON V, RANSHJ A, et al. Integrated genomic and proteomic analyses of a systematically perturbed metabolic network[J]. *Science*, 2001, 292: 929-934.
- [9] 颜启传. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [10] 郝建军, 康宗利. 植物生理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 204.
- [11] 范怀德, 陈晓前. 论 GA 对麦芽生产的调控作用[J]. *啤酒科技*, 2003(4): 125-131.
- [12] GRUBISIC D, KONJEVIC R, NESKOME M. The effect of some growth regulators on light-induced germination of *Paulownia tomentosa* seeds[J]. *Physiologia Hartum*, 1988, 72: 525-528.
- [13] BURNJ E, BAGNALL D J, MEIZGER J D, et al. DNA methylation vernalization, and the initiation of flowering[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993: 287-291.
- [14] 李俊华, 种康. 植物生长素极性运输调控机理的研究进展[J]. *植物学通报*, 2006, 23(5): 466-477.
- [15] 王冰, 李家洋, 王永红. 生长素调控植物株型形成的研究进展[J]. *植物学通报*, 2006, 23(5): 443-458.