香蕉试管苗变异因素的初步研究*

张海保 朱西儒 张云开 刘 卫 (中国科学院华南植物研究所,广州 510650)

王正询

(广州师范学院生物系,广州 510400)

摘 要 本文初步研究了香蕉离体培养中,培养基内不同激素浓度、继代培养数,以及3个品种(品系)对试管苗变异的影响。结果表明:631和台湾8号比威廉斯(Williams)稳定,培养条件相同,培养代数多时,变异率明显提高。外源激素的配比试验表明:IBA:BA为0.5:4.0(mg/L)为最佳配方,当IBA:BA达到2.0:10(mg/L)时,异常苗发生率最高。用田间变异株根尖细胞染色体观察结果,发现其染色体数不是增多就是严重缺失。变异株的过氧化物酶同工酶酶谱经电泳分析,表明在迁移率为0.7处的一条带纹消失,而正常对照苗则稳定存在。

关键词 香蕉试管苗;变异因素;染色体;同工酶

PRELIMINARY STUDIES ON THE VARIABLE FACTORS OF THE TUBE SEEDLING OF BANANA

Zhang Haibao Zhu Xiru Zhang Yunkai Liu Wei (South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)
Wang Zhengxun

(The department of Biology, Teacher College, Guangzhou 510400)

Abstract The effects on variation of different concentration of the extro-hormone in the media, generations of subculture in vitro and the different explants from the three varietied or lines were primarily studied. The results showed that No. 631 of banana was stabler than Williams under the same conditions of culture. The line Taiwan 8 was similar stablity with No. 631. When the generations of subculture was increased, the rate of variation was obviously enhanced, also.

The tests of proportion of hormones showed IBA: BA = 0.5:4.0 (mg/L), was the fairest. As soon as the proportion was 2.0:10.0 (mg/L), the rate of variations was the highest. The number of chromosomes in the cell of root tip from the variable seedling in the fields were increased or decreased because the generations of subculture was too much.

¹⁹⁹⁵⁻⁰³⁻²⁹ 收稿

第一作者简介: 张海保, 男, 1966年出生, 硕士, 植物保护与植物病理专业。

^{*}中国科学院华南植物研究所青年基金资助项目。

In other hand, the bands of isoenzyme for hyperoxidase were analysised by the electrophoresis.

The results of tests showed the bands of isoenzyme at 0.7 of moving rate were lost or disappeared in the variated seedling, but that of the control samples were existed.

Key words tube seedling of banana; factors of variation; chromosome; isoenzyme

香蕉(Musa paradisiaca var. soprent)组织培养已有不少报道^(3,6),而且发展为一个新兴产业,特别是在八十年代末华南地区工厂化、商品化生产盛行。广东省大小试管苗厂 100 多家,年产上百万苗的也数以十计⁽⁵⁾。

然而,体细胞无性系变异是自然存在的一种现象,也是遗传学中需要研究解决的问题之一^(2, 4)。片面追求利润,忽视变异株率上升,给生产带来很大损失,个别田块高达 70% 左右。这样,蕉农与工厂常发生经济纠纷,加上其它气候与病害等影响,香蕉试管苗发展大起大落,成为生产上一个严重问题⁽⁵⁾。

染色体变异是细胞遗传学主要研究内容之一,蕉类染色体已有报道^(1, 2),其分类地位、分布等比较明确。作为检验试管苗变异的指标是可靠的,对基因突变导致酶谱变化也是分析的重要依据⁽⁷⁾。国内外研究香蕉顶端分生组织脱毒快繁较多^(3, 6~9),而应用染色体、同工酶技术检验香蕉试管苗变异,以及外源激素和继代培养次数对变异的影响的资料很少。

1 材料与方法

- **1.1 田间不同品种香蕉试管苗变异株发生率的调查** 调查了广东省番禺市,从化县的"威廉斯"、631、台湾8号三个生产上推广品种,观察典型变异株发生及疟状表现类型。
- **1. 2** 不同激素浓度对香蕉不定芽离体生长的影响 选用 3 种组合,对 IBA 与 BA 两种主要诱导分化的外源激素在培养中对不定芽分化与生长的影响作了观察比较。使用 MS 基本培养基,培养条件为温度 25 ± 3 $\mathbb C$ 、光照用 40 W 日光灯,强度 3500 lux。
- 1. 3 不同继代培养次数与试管苗变异株率的关系比较 以"威廉斯"为材料,在含 IBA:BA 为 0.5:4.0 (mg/L) MS 培养基相同的条件下,观察培养 10,18,24 和 36 代的试管苗移植后变异株发生率。
- 1. 4 **染色体与过氧化物酶同工酶谱分析的检验** 取自从化、番禺典型变异株根尖细胞观察试管 苗变异株的染色体行为及同工酶谱变化。此外,分析芽变与营养杯苗中变异株,进行细胞学检验。

染色体用去壁低渗法,常规染色、压片观察^(1,2)。过氧化物酶同工酶谱用常规聚丙烯酰胺 凝胶电泳方法 (SCR-4 高压电泳仪,江苏丹阳无线电一厂产),浓缩胶 3%,分离胶 8.5%,pH8.9,工作电压 300V。

2 试验结果

2.1 不同香蕉品种变异株率田间调查 香蕉试管苗的品种不同,经过离体培养引起遗传稳定性变化存在明显差异(表 1),可以对组织培养中使用外源激素浓度和继代次数提供参考依据,应因品种而异,以免变异株率的升高造成生产损失。

结果表明,威廉斯表现遗传稳定性较差,发生变异株率高。虽然均调查严重田块,但品种间

还是有差异的、主要表现为植株株形松散和矮化二种类型、超高突长和白化现象不多。

其次,调查中观察到不同田块变异株分布是不规则的,出现同一品种内。同一批苗发生变异 株率分布不均匀。

2. 2 不同激素浓度配比对试管不定 芽的影响

培养基中外源激素浓度与配比直接影响体细胞无性系遗传和变异。试验中观察到不同培养基连续 10 代后,其表现黄化、针状丛芽细弱不粗壮(表2)。

试验结果认为,随着激素浓度升高,异常不定芽发生率也相应增多。 IBA 0.5, BA 4.0 (mg/L)条件下,培养 10代仍然变异芽较低。所以,调整外源激素浓度和配比,可以达到控制变异株率的升高,以便减少经济损失。

2. 3 不同继代培养次数对香蕉试管 苗变异的影响

移栽不同培养代数的香蕉试管 苗,观察其生长变化。在8叶期调查 黄化、矮化、叶畸形苗数(表3)。

试管苗在营养杯生长期,变异株率不高,表现不充分,仍可以看出因代数不同存在差异,超过18代后,小苗异常率随之增加。

表 1 香蕉不同品种试管苗田间变异株率调查1)

品种(地点)	调査株数(个)	变异株数(个)	变异率(%)
威廉斯(从化、番禺)	1080	764	70.8
台湾8号(番禺)	942	243	25.7
631(番禺)	985	227	23.0

1) 抽蕾期调查明显变异田块

表 2 不同外源激素浓度对香蕉试管苗变异的影响1)

激素浓度	(mg / L)	不定芽数	异常芽数	变异率
IBA	ВА	(个)	(个)	(%)
0.25	3.0	-651	19	2.9
0.50	4.0	720	32	4.4
2.00	10.0	636	58	9.2

1) 继代10次后统计,品种为"威廉斯"。

表 3 香蕉不定芽继代培养次数后小苗变异株率1)

培养代数	调查苗数(个)	异常株数(个)	变异率(%)
10	253	12	0.5
18	317	28	8.8
24	385	47	12.2
36	416	83	19.9

1) 品种·威廉斯

2. 4 变异的香蕉试管苗染色体与过氧化物酶同工酶谱分析

目前生产上栽培种主要是 3 倍体, 其染色体组为 AAA 或 AAB 型, 染色体数为 33 条 ^(1, 2)。观察结果证明田间变异株或苗期,以及不定芽变异,染色体严重紊乱,多的高达 100 多条,有的缺失明显(图 1),减少到 20 多条。不同变异表现型其染色体数多少? 其规律性等问题有待进一步研究。

过氧化物酶同工酶谱分析结果认为,在快带区变异株有 4 条带,也有出现 2 条带的。虽然由于条件会使过氧化物酶同工酶谱出现差异,但在香蕉中比较稳定,经过反复试验,大量样本分析,其典型变异株样本,在迁移率为 0.7 处的酶带消失,而健株则存在此带,可以作为一个参考指标(图 2)。

3 讨 论

(1) 香蕉试管苗应大力提倡和发展,其效益是显著的,品种推广应谨慎。"威廉斯"遗传稳定

性较差,需控制外源激素浓度和培养代数,以免变异问题带来不良后果与影响。

(2) 在离体培养过程中, 外源激素浓度配比及培养代数是影响体细胞无性系变异率升高的

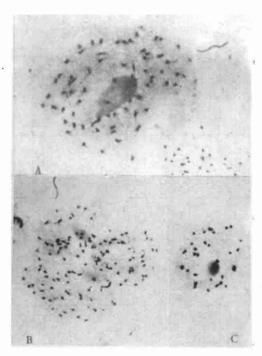


图 1 香蕉试管苗田间变异株染色体类型 (A. 染色体数 70 条, B. 杂色体数 104 条, C. 染色体数 28 条)

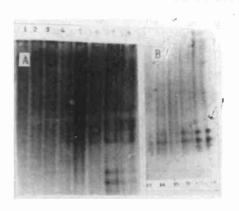


图 2 香蕉试管苗过氧化物酶同工酶谱分析 (A. 1~6 典型变异株,7~8 对照; B. 13~14 变异株,16~18 对照)

重要因素。香蕉在 MS 培养基含 IBA 0.5, BA 4.0 (mg/L)条件下是相对稳定的,但培养代数应控制在 18 代以下。否则,只提高繁殖指数,增加产值,就会有变异导致减产的危险。

(3) 染色体检验与过氧化物酶同工酶谱分析,结合表现型观察,对验证香蕉试管苗

变异程度,防止变异造成经济损失是有用的。这样,相对少地出现高变异株率现象,指导生产有 计划进行。酯酶同工酶谱分析在研究之中,尚待增加检验的可靠依据。

参考文献

- 1 王正询、林兆平、潘坤清. 蕉类的细胞遗传学研究, 遗传学报, 1994, 21(6): 453~462
- 2 王正询、林兆平、潘坤清. 香蕉減數分裂中的一种异常现象, 热带亚热带植物学报, 1994, 2(3): 34~38.
- 3 马溯轩、许圳涂。香蕉幼茎切顶组织培养应用于不定芽透发之研究。中国园艺、1972、18(3): 135~142
- 4 黄新川. 香蕉组织培养植株之变异. 中国园艺. 1986, 32(2): 117~125
- 5 朱西儒、何 柴、蔡建和,发展香蕉试管苗生产中应注意的问题,科技管理研究,1993,(6):28~29
- 6 夏元熙、郑晓英. 香蕉试管苗种植试验初报. 福建果树, 1989, (1): 47~49
- 7 森岛启子. 同工酶在稻种进化遗传学研究中的应用. 水稻文摘, 1990, 9(2):8 ~ 12, 15 (育种学最近の进步, 1988, 29: 71~77)
- 8 Berg L A. Heat treatment and meristem culture for the production of virus—free banana. Phytopathology 1974, 64: 320 ~322
- 9 Drew R A, M K Smith. Field evalution of tissue cultured bananas in south-eastern Queensland. Australian J. of Experimental Agricultrue, 1990, 30: 569~574
- 10 Hwang S C et al. Cultivation of banana using plants from meristem culture. Hortscience, 1984, 19: 231 ~233