

香蕉离体试管芽诱变育种研究 :

“漳蕉8号”株系生化分析

郭建辉¹, 蔡恩兴¹, 林庆同², 陈丽萍¹, 黄锡栋¹, 沈明山²

(1. 福建省漳州市农业局, 福建 漳州 363000; 2. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 本文用⁶⁰Co 射线对“台湾北蕉”(Musa AAA Group Cavendish)辐照诱变选育的“漳蕉8号”株系抗损伤相关酶的生化指标和过氧化物酶同工酶进行分析, 结果表明, “漳蕉8号”株系对⁶⁰Co 射线造成的损伤已完成修复, 其优良性状可稳定遗传。

关键词: 香蕉; “漳蕉8号”株系; ⁶⁰Co 射线; POD同工酶; 生化分析

中图分类号: S668.1; Q943.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-7791(2003)01-0011-03

Study on mutation breeding of banana buds *in vitro* :

Bio-chemical analysis to 'Zhangjiao No. 8' strain

GUO Jian-hui¹, CAI En-xing¹, LIN Qing-tong², CHEN Li-ping¹, HUANG Xi-dong¹, SHEN Ming-shan²

(1. Agricultural Bureau of Zhangzhou, Zhangzhou 363000, Fujian China; 2. College of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian China.)

Abstract: Treated with irradiation of ⁶⁰Co ray, a new strain 'Zhangjiao No.8' was developed from 'Musa AAA Group Cavendish'. The bio-chemical indexes corresponding to anti-injury and POD isoenzyme of 'Zhangjiao No.8' were analyzed. The results showed that 'Zhangjiao No.8' strain had recovered from the irradiation injury and the excellent traits could be inherited stably.

Key words: banana; 'Zhangjiao No. 8'; ⁶⁰Co ray; POD isoenzyme; bio-chemical analysis

福建漳州是我国香蕉的重要产区, 每年有大量香蕉销往国内外, 因此, 选育高产、优质、抗逆性强的新株系或新品种将有利于香蕉产业的进一步发展。在国外, 利用⁶⁰Co 射线进行香蕉诱变育种已有成功的报导^[1]。我们从1992年以来, 对福建“台湾北蕉”离体试管芽进行⁶⁰Co 射线辐照育种研究, 已选育出性状稳定、高产、优质的“漳蕉8号”(原“漳农8号”)优良新株系^[2-4]。为此, 本文对该株系抗损伤相关酶的生化指标和过氧化物酶同工酶进行分析, 试图探讨“漳蕉8号”株系损伤修复和稳定遗传的生化证据, 为保持其优良性状奠定理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试材为“漳蕉8号”香蕉新株系及其对照(“台湾北蕉”)。于大田随机采集以上两种试材的各4株吸芽苗, 分别经组织培养后, 相应取4瓶供分析用。各瓶取0.5g, 加入5ml 50mmol/L 磷酸缓冲液(pH7.8), 冰液研磨, 13 000 × g 离心20 min, 取上清液备用。

1.2 方 法

O₂⁻ (活性氧) 生成速率测定采用王爱国等的方法^[5]; MDA (丙二醛) 含量的测定采用赵世杰等的方法^[6]; POD (过氧化物酶) 活性测定采用 Trevor E. Kraus 等的方法^[7]; SOD (超氧化物歧化酶) 活性

收稿日期: 2002-05-13

基金项目: 漳州市科技计划项目(Z9315)

作者简介: 郭建辉(1961-), 男, 福建惠安人, 高级农艺师, 从事园艺植物组织培养研究。

测定采用王雅平等的方法^[8],以 3ml 反应体系中,与“漳蕉 8 号” $O.D_{560nm}$ 值之差等于 0.1 定义为 1 个酶活单位(U);CAT (过氧化氢酶)活性测定采用 Trevor E. Kraus 等的方法^[7];POD 同工酶电泳分析采用吴少伯的方法^[9]。

2 结果与分析

2.1 O_2^- 生成速率、MDA 含量及相关保护性酶活性分析

结果(表 1)表明,“漳蕉 8 号”与对照(“台湾北蕉”) O_2^- 生成速率相近,所获得的 O_2^- 对 DNA、蛋白质损伤和膜脂的过氧化作用程度相当,所以由其所导致的膜脂过氧化最终产物 MDA 表现出相似的水平。SOD、CAT 和 POD 是植物防御体系中重要的保护酶,其活性水平在两组材料中表现出相似性,具有类同的自我保护能力,因此, ^{60}Co 射线对“漳蕉 8 号”的损伤已得到修复。

表 1 “漳蕉 8 号”及“台湾北蕉”的生化分析

项 目	“台湾北蕉”	“漳蕉 8 号”
O_2^- 生成速率($\times 10^{-4} \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg fw}$)	0.26 \pm 0.05	0.30 \pm 0.03
MDA 含量($\times 10^{-5} \mu\text{mol}/\text{mg fw}$)	1.28 \pm 0.20	1.27 \pm 0.09
POD($\times 10^{-5} \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg fw}$)	9.90 \pm 0.80	9.11 \pm 0.77
CAT($\times 10^{-6} \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg fw}$)	15.20 \pm 0.97	15.90 \pm 0.86
SOD(U/min/mg fw)	0.83 \pm 0.06	0.91 \pm 0.06

2.2 POD 同工酶电泳分析

POD 同工酶电泳分析结果(图 1)表明,两组的同工酶主带相同,而“台湾北蕉”的次带较为明显,各组中不同植株的谱带均相同,说明“漳蕉 8 号”中与 POD 有关的基因已稳定遗传与表达。

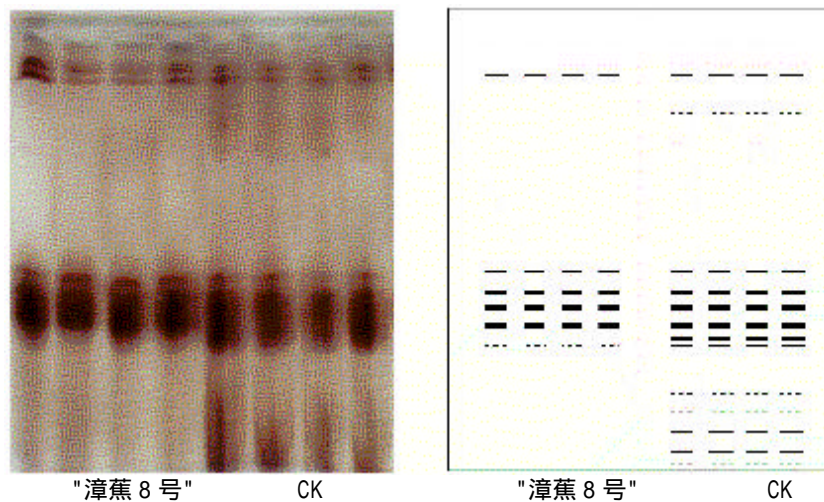


图 1 “漳蕉 8 号”和“台湾北蕉”POD 同工酶电泳图谱

3 小 结

本文对 O_2^- 生成速率、MDA 含量以及 SOD、CAT 和 POD 等抗损伤相关酶活性的测定表明,“台湾北蕉”和“漳蕉 8 号”株系的差异不大;两者的 POD 同工酶主谱带相同,而次带有所差异;“漳蕉 8 号”株系不同植株的谱带均一致,说明了“漳蕉 8 号”株系受 ^{60}Co 射线的损伤已完成修复,且稳定遗传。

致 谢: 本文承蒙庄伊美教授审阅, 谨致谢忱。

参考文献:

- [1] 邓澄欣,等. 香蕉突变育种研究的回顾与前瞻[J]. 中国园艺, 2000,46(3): 251-258.
- [2] 郭建辉,等. 香蕉离体试管芽诱变育种的研究: 试管芽的 ^{60}Co 射线辐照试验[J]. 福建省农科院学报,1996,11(4): 20-23.
- [3] 郭建辉,等. 香蕉离体试管芽诱变育种的研究: 性状变异的观察调查[J]. 福建农业学报,2002,17(1): 38-39.
- [4] 郭建辉,等. 香蕉离体试管芽诱变育种: 辐照后代优良株系的筛选[J]. 福建农业大学学报, 2001,30(4): 473-476.
- [5] 王爱国,等. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990,26(6): 55-57.
- [6] 赵世杰,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994,30(3): 207-210.
- [7] Trevor E. Kraus, *et al.* Paclbutrazol Protects wheat seedlings from heat and paraquat injury is detoxification of active oxygen involved[J]. *Plant cell physiology*, 1994,35(1): 45-52.
- [8] 王雅平,等. 小麦对赤霉素抗性不同的品种的 SOD 活性[J]. 植物生理学报, 1993,19(4): 353-358.
- [9] 吴少伯. 植物蛋白及同工酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳[J]. 植物生理学通讯, 1979,15(1): 30-35.

(上接第 10 页)

4 小结与讨论

紫球藻细胞对紫外线有较强抵抗能力,照射时间在 30s 以内,虽可使部分细胞缺刻变形,但培养后基本可修复并生长。低剂量(10s)照射,能提高细胞生长速度;高剂量(20~90s)照射,能增加单细胞代谢产物含量,因此,选择紫外线为诱变剂时,采用高照射剂量有利于分离到高产优质突变藻株。导致这一现象的可能原因是紫外线对藻细胞内的酶和核酸等大分子有活化、损伤和致畸作用。但这种诱变作用的效果随着继代培养而逐渐减弱,到藻细胞第二代培养物,紫外线对生长与代谢的影响就已很小,可能是辐照后仅少量突变细胞,而且随着代谢作用与细胞分裂,有些变异细胞又被修复而还原成野生型,培养过程中大量的野生型细胞群体效应完全掩盖了少量变异细胞。这也说明诱变后突变株选择无法通过培养富集,也很难从液体培养中分离,最终途径是分离到连续性固体平板培养基上,待形成藻落后再进行分离筛选突变株。

参考文献:

- [1] Reboloso Fuentes M M, *et al.* Biomass nutrient profiles of the microalga *P. creurentum* [J]. *Food Chemistry*, 2000,70(3): 345.
- [2] 曹吉祥. 用途广泛的紫球藻[J]. 中国海洋药物, 1994,(3): 55-56.
- [3] 华汝成. 单细胞藻类的培养与利用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.
- [4] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1979. 43-45.
- [5] 刘建国,等. 胁迫条件下盐藻-胡萝卜素及其异构体累积的研究——盐度的影响[J]. 海洋与湖沼, 1994,25(1): 71-76.
- [6] Hansman E. Pigment analysis[A]. *In: Janet R. Stein, et al. Handbook of physiological methods; Culture methods and growth measurements*[M]. London: Cambridge University Press, 1973. 362-366.