维普资讯 http://www.cqvip.com

香蕉组培苗变异的原因、防止及其利用研究综述

吴伟怀 郑肖兰
(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 儋州 571737)
郑服丛
(华南热带农业大学环境与植物保护学院)

香蕉是重要的热带、亚热带经济作物,在国际上与柑桔、苹果、梨并称"水果四大族"。目前大约有120个国家生产香蕉,其年产量仅次于柑桔,达到9 833.1万t(FAO,2002),已成为数亿人的主要粮食[1]。20世纪90年代以来,香蕉组培技术的广泛推广促进了我国香蕉产业迅速发展,香蕉产量已上升到世界第三位,香蕉产业在华南(特别是海南)地区形成重要的农业支柱产业。众所周知,组织培养技术有利于提高香蕉种性,用少量的优质吸芽就可以繁殖出大量的种苗,并且便于调节生产季节而避开台风、寒流等自然灾害和实现果实的周年均衡供应,此外,还方便栽培管理和规模化、标准化生产等。

值得关注的是,香蕉组培技术目前还存在一个比较突出的技术问题有待解决,就是组培苗的变异问题,它严重阻碍了我国香蕉产业效益的进一步提高。研究表明,香蕉组培苗容易发生遗传变异[2,3],其变异率通常比吸芽苗高[4],而且这些变异大都具有较稳定的遗传特征[2,5]。即使形态正常的试管苗,其染色体变异株的比例也高达65.7%,大大高于吸芽苗[6]。组培过程中扩繁的香蕉小苗,一旦发生变异,就可随继代数的增多而增多,如未及时采取必要的措施,变异苗数量将成几何级数增长。特别值得一提的是,有些遗传变异(主要是隐匿变异体,它是香蕉试管苗中的主要变异类型[6])在组培过程中不易发现,到大田后期才被发现,其经济损失更大[4]。因此,香蕉组培苗变异问题不得不引起我们的高度重视。迄今,国内外对香蕉组培苗变异的原因、防治及其利用等问题都进行了大量的研究。本文就此作一综述。

1 变异类型

目前关于香蕉变异的类型报道较多,综合起来其变异类型可概括为两类,一类是表现在表型性状上的变异。具体来说,这类变异主要包括株型变异、叶型变异、茎色变异及果型变异等,其中前两者又是最常见的变异类型。更进一步来说,株型变异又包括矮化株和乔化株;叶型变异包括嵌纹叶、条斑叶、扇型叶及畸形叶;茎色变异则包括黑色茎、黄绿色茎、青绿色茎;果型变异中则有长梳距蕉、微形果蕉等等[6]。实际上,生产中矮化变异和嵌纹叶变异是最常见的两种变异[7],在症状上前者表现为植株矮化,抽蕾易"卡喉",产量低,蕉指短小,经济价值低[2];后者则表现为株干较瘦,叶片较直立,伴有嵌纹斑,叶缘常皱缩呈波浪状,产量低,几乎无商品价值。尤其值得注意的是,这两种变异均可通过吸芽和组培繁殖遗传。整体而言,这类变异仅从外表特征即可辨认,可以在苗期被筛选掉,或者在大田被淘汰,而不会进入下一轮繁殖循环。

毋庸置疑,人们根据表型性状变异的特点,能及时对生产中发生变异的香蕉苗进行处理,对避免生产上由变异产生的不良后果起到了积极作用。但是,在实践应用中,人们发现仅从外表上来辨认香蕉组培苗是否发生了变异,具有很大的局限性,也难以更好地为生产服务。正鉴于此,多年来人们一直致力于寻找除由此类变异之外的更深层次的原因。王正询等在对香蕉试管苗大田植株随机取样进行染色体变异的分析中,发现形态正常的大田香蕉试管苗染色体变异株的比例平均达66.7%。其中混倍体又是主要的变异类型,约占总变异的46%,非整倍体次之,约占19%[8]。这正是导致香蕉组培苗变异的又一类型,即隐匿变异。相对于表型变异来说,由于隐匿变异在外型上完全正常,所以比较难于发现,如果不采取必要的措施,很容易被选为外植体进入下一轮的试管培养,严重影响香蕉后续生产。

2 变异原因

现有的研究结果表明,几乎所有植物在组织培养中经常出现遗传变异[9-12]。正因如此,自从香蕉组培技术推广已来,其变异的原因已引起了广大科研工作者以及农户的高度重视,并相继对此进行了相关研究。具体来说,在品种特性与变异的关系方面,韦家川等所观察的3个品种中,威廉斯的变异率比广东2号的大,台湾8号的变异率最小[13]。也就是说,变异是与品种遗传特性存在相关性的。这一

维普资讯 http://www.cqvip.com

结果也与国外的研究结果具有一致性[3,14,15]。由此说明，在选择种源的时候，我们必须考虑品种的遗传特性，即选择具有优良遗传特性的品种。

其次，在培养代数与变异率的相关性方面，目前的研究结果一致认为，培养代数与变异率成一定的相关性，不定芽继代数越多变异率越高。据报道，香蕉不定芽繁殖两年后，叶绿素缺损变异株比繁殖一年后的增加20%～30%。台湾北蕉在第2至第3代具有很高的遗传稳定性，然而，到第4至第7代的试管苗则有3%～4%的外观形态异常[16]。Cote等对香蕉组培苗进行了研究，并进一步提出了一个变异的数学模型，认为变异率是随着培养代数的增加而增加的，特别在低代数时，变异率与代数基本上成正比[17]。不过，根据王正询等的研究结果认为，Cote的公式只在一定程度上反映了变异率随代数变化的趋势，但它在实际应用中是很有限的[18]。

尤其值得一提的是，很多研究结果认为，外植体初始培养阶段的各种培养条件是引起变异的又一个不可忽视的重要因素[19-20]。王正询等研究表明，在香蕉组织培养中，植物生长调节剂种类和使用浓度水平以及培养光照与培养温度等对香蕉细胞的分化与生长均有很重要作用。就植物生长调节剂种类和使用浓度水平而言，一般来说，培养基中含有多种植物生长调节剂时，诱变率大于单一植物生长调节剂；而且植物生长调节剂浓度过高也容易导致变异，如在培养初期核酸盐导致畸变细胞大幅增加，在以后的继代培养中即使不添加核酸盐，也会导致变异率相应地上升[18]。其次，从培养光照度和培养温度来看，有试验表明，培养光照度在8 000 lx的比1 500 lx的产生的变异率高出0.8倍；同时，增殖芽培养温度高于35 ℃或低于12 ℃都会影响细胞分裂，造成变异。此外，变异与接种材料、外植体再生方式以及培养基蔗糖的浓度等存在相关性。由此可见，在外植体初始培养阶段的各种培养条件值得我们认真地研究，以便更好地减少组织培养过程中变异的发生。

总而言之，导致变异的原因是多方面的，继续加强这方面的深入研究，弄清楚哪些是主导影响因素，哪些是次要影响因素，寻找其更深层次的变异原因，才能使变异降到最低甚至避免其发生。

3 变异的防止

针对香蕉组培苗中发生的变异，人们常常从如下几个方面来应对：首先，在选择品种时，选择变异率较小的品种，同时，选择生物学特性和经济性状表现优良，生长旺盛的植株吸芽。其次，在培养代数方面，一般增殖芽继代培养都不能超过15代，时间不超过12个月。在培养条件方面，温度介于12～35 ℃之间。再次，在植物生长调节剂应用方面，严格控制浓度和种类数量，以免产生畸形苗。此外，及时剔除变异苗。但是实践证明，仅靠这些措施是远远不能满足生产需要的。

随着生物技术的不断发展，尤其是分子生物学的不断发展，为高效快速准确地检测各种病原提供了条件。到目前为止，已经建立了经济、灵敏、实用的ELISA(疫吸附剂测定)、PCR(聚合酶链式反应扩增技术)、DOT-BLOT(核酸斑点杂交)等多种检测方法，并应用于生产。1999年，肖火根等建立了PCR检测香蕉组织的香蕉束顶病毒(BBTV)，并报道了BBTV免疫捕捉PCR (IC-PCR)和直接结合PCR (DB-PCR)检测方法。结果表明，IC-PCR和DB-PCR分别能从4 μg和0.4 mg香蕉叶组织中检测到BBTV[21]。李华平等则利用ELISA、DOT-BLOT以及反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)等3种技术对检测香蕉花叶病的效果进行了比较。研究结果表明，对于利用香蕉病叶粗汁液和粗提纯的病毒，RT-PCR法比ELISA法和DOT-BLOT法灵敏度分别大100倍以上。但对于大量标样的检测，ELISA法、特别是DOT-BLOT法却更实用和方便，因为后者比前者灵敏约100倍，结果更为可靠[22]。由此可见，利用分子技术来检测各种病毒快速简易，且具有灵敏度高、特异性好等优点。正因如此，使得我们能对组培过程中各个阶段进行及时、准确的病毒检测和监控。显然，生物技术的介入解决了许多深层次的问题，弥补了过去在这方面的不足，进而为组培过程中及时剔除带病毒苗起到了良好的作用。

4 变异的利用

在香蕉组织培养过程中，其变异频率有时竟高达69%[23]。如果再加以诱变处理，变异率则更高[24]。从育种学的角度来说，通过对发生变异组培苗进行有目的的筛选，从而得到有价值的无性系，是选育香蕉栽培品种的一条可行途径。在这方面我国台湾取得了令世人瞩目的成绩，通过利用香蕉组培变异的途径，成功地选育出许多优良品种。例如：台湾香蕉研究所自1984年以来一直从事抗黄叶病的研究，从“北蕉”组培苗体细胞变异株中选育出中抗黄叶病品种且具优良综合性状的“台蕉一号”，以提供黄叶病发病率30%以上的重病蕉园种植。但是，由于该品种植株高，加之组织较脆硬，容易遭受风害，而且其产量比北蕉减少约10%，所以其推广应用受到一定限制。相对而言，从“台蕉一号”组培苗建立的蕉园中发现的中矮性变异株，并于2000年命

维普资讯 http://www.cqvip.com

名及推广的"台蕉三号",在抗风方面要明显优于前者。此外,宝岛蕉,又名"新北蕉",也是由"北蕉"体细胞变异选育而成并推广,而在对黄叶病方面比"北蕉"、"台蕉一号"、"台蕉二号"抗性更高,其发病损失可降低至5%以下,同时,其单位面积产量亦可提高40%~50%。另据 Tang 等[25]和 Nwauzoma 等[26]报道,他们均从组培苗中选育获得丰产新品系。Giménez 等则对组培诱导 CIEN BTA-03 体细胞变异而成的 Williams 进行了 RAPD 带型和染色体数目检测,表明变异后该品种具有对香蕉黄叶病有抗性[27]。Hwang 等则从组培苗中筛选出由体细胞变异而获得抗镰刀菌萎蔫的香蕉抗病品种[28]。

由此可见,组培过程中产生的变异,为选育种提供了大量试验材料,充分利用这些材料可为选育高产优质的香蕉新品种提供一个全新的途径。

5 存在的问题和展望

虽然香蕉组培技术已相当成熟,但如何进一步提高试管苗的质量、生产效率和减少变异等问题已成为人们关注的焦点。对这些问题已有大量研究,但是在对其研究中还存在不少问题。尤其是生产中,常常把变异与组织培养苗携带病毒混为一谈。根据国外报道,香蕉条纹病毒(banana streak virus, BSV)可以整合到香蕉基因组中[29,30],在组织培养条件下,其又可以游离出来而导致病毒病害[31,33]。该病毒病在国外一些国家非常普遍,如在乌干达已经造成严重危害,某些香蕉园发病率达100%[34,35],引起香蕉的产量损失可达7%~90%[36,37]。我国大陆迄今为止还没有香蕉条纹病毒的报道。在异常的香蕉组培苗中,有没有混杂病毒引起变异的原因,尚需研究探讨。所以,将来要建立组培苗各种病毒病的快速检测技术,以对母株及继代转接芽进行变异检测,进而排除由病毒整合而导致变异的假象。

其次,从研究的手段来看,前人对此领域的研究主要集中在常规的组织培养以及生理生化方面,很少从分子水平来进行研究。如何利用现代分子技术手段来研究其变异规律?这无论是对彻底了解香蕉变异的原因,还是对其品种改良都是一个新思路。这是一个今后值得重点关注和试验的课题。

参 考 文 献

[1] Frison E A, Sharrock S. The enconomic, social and nutritional importance of banana in the world[C], In: Picq C, Fouré E, Frison E A. (Eds), Banana and Food Security. INIBAP, Montpellier, France, 1999, 21-35

[2] Smith M K, Drew R A. Growth and yield characteristics of dwarf off-types recovered from tissue-cultured bananas[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1990, 30: 575-578

[3] Vuylsteke D, Swennen R, De Langhe E. Somaclonal variation in plantains (Musa spp. AAB group) derived from shoot tip culture[J]. Fruits, 1991, 46: 429-439

[4] Lsratli Y, Reuveni O, Lahav E. Quatitive aspects of somaclonal variation in banana propagalated by in vitro techniques[J]. Scientia Horticaturae, 1991, 48(1): 71-88

[5] Shepard K, Dos Santos J A. Mitotic instability in banana varieties. I. Plants from callus and shoot tip cultures [J]. Fruits, 1996, 51: 5-11

[6] 李丰年,许林兵,黄秉智,等.香蕉组培苗大田变异调查与分析[J]. 中国南方果树,1996,25(1): 39-40

[7] Jorge A S. Variation resulting from banana in vitro culture[J]. Infomusa, 1994,3(2): 31

[8] 王正询,周伯春,刘鸿先.香蕉试管苗大田植株染色体变异的调查研究[J]. 热带作物学报,2000,21(1):36-42

[9] Larkin P J, Scowcroft W R. Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultme for plant improvement [J]. Theoretical Applied Genetics, 1981, 60: 197-214

[10] Meins F. Heritable variation in plant cell culture [J]. Annual Review of Plant Physiology, 1983,34: 327-346

[11] Bajaj Y P S. In Somaclonal Variation in Crop Improvement I [C], ed. Bajaj YPS. (Springer, Berlin), 1990, 4-48

[12] Swartz H J. Post culture behavior: genetic and epigenetic effects and related problems[A]. In: Debergh PL and. Zimerman RH (Editors). Micropropagation: Technology and Application[C]. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1991,95- 112

[13] 韦家川,吕 平,张慧英.香蕉组培苗变异体的研究[J]. 广西农业生物科学,2005,24(3):255-258

[14] Daniells J W, Smith M K. Somatic mutations of bananas, their stability and potential[C]. In:. Vahnayor RV, Hwang SC, Ploetz R, Lee SW and Roa NV (Editors). Intemationa] Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology. Montpellier, France; Los Banos, Laguna, Philippines; INIBAP/ASPENT, 1993,162-171

[15] Johns G G. Field evaluation of five clones of tissue cultured bananas in northern New South Wales[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1994,34: 521-528

[16] 李晓英.北蕉不定芽分切代数对变异的影响[J]. 中国园艺(台),1988,34(4): 321

[17] Cote F X, Perrier X, Teisson C. Somaclonal variation in Musa sp.: theoretical risks, risk management, future research prospects [J]. INIBAP, 1993, 192-199

[18] 王正询,刘鸿先.香蕉试管繁殖染色体数量畸变的研究[J]. 遗传学报,1997, 24(6):.550-560

[19] Reuveni O, Israeli Y. Measures to reduce somaclonal variation in in vitro propagated bananas[J]. Acta Horticulturae, 1990, 275: 307-313

[20] Reuveni O, Israeli Y, Golubowicz S. Factors influencing the occurrence of somacional variation in micropropagated bananas [J]. Acta Horticulturae, 1993, 336: 357-384

[21] 肖火根,胡晋生.香蕉束顶病毒 PCR 检测技术研究[J]. 华南农业大学学报,1999,20(1):5-8

[22] 李华平,胡晋生,范怀忠.香蕉花叶病检测技术的比较[J]. 病毒学报,1997,13(3): 273-277

[23] Israeli Y, Lahav E, Reuveni O. In vitro culture of bananas[A]. Gowen S. Bananas and Plantains[C]. London: Chapman and Hall, 1995,147-178

[24] 一岫. 台湾利用体细胞变异进行香蕉育种的成果[J]. 台湾农业探索,1995,2: 26-27

维普资讯 http://www.cqvip.com

澳洲坚果压条繁殖研究初探

覃振师 何达标 赵大宣 施丁寿
(广西亚热带作物研究所试验站 龙州 532415)

澳洲坚果 *Macadamia integrifolia* 属山龙眼科,澳洲坚果属的常绿乔木,又名昆士兰栗、夏威夷果等。其种仁富含不饱和脂肪酸、蛋白质、维生素等,营养价值高,风味十分独特,素有"干果皇后"之称,是目前世界上的一种新兴果树。

澳洲坚果获得无性苗的常规方法是嫁接和扦插。用嫁接的方法繁殖比较普遍,但育苗的周期太长;扦插繁殖周期短,但成活率较低。关于压条繁殖育苗却很少见有报道。高空压条育苗不仅能保存优良遗传特性,且具有方法简单,操作容易,成活率高,开花早等优点。为此,从2004年起我们进行了本研究,目的在于探索澳洲坚果的压条繁殖技术,寻求提早成苗的有效途径。

1 材料与方法

供试树种为本站1994年定植的生长健壮、无病虫危害的澳洲坚果。压条枝条全部选用树冠中部外围生长充实健壮的1~2年生枝条。环剥部位直径不超过3 cm。基质选用林下腐殖质土搅拌成稠浆,以能捏成团为准。

1.1 材料处理

在母枝基部光滑处(距旺盛分枝最近的一节),用刀片进行环剥。环剥宽度为枝条直径的1/3。所有试验都是在环剥2周后包泥。用15 cm × 30 cm的聚乙烯薄膜袋装入营养基质,包裹住环剥处,上下绑扎紧实,使枝条伤口部位处于基质中上部。

全部试验都是以1株树为1个处理小区,每个处理小区有18枝,随机排列,重复3次。试验于2005年10月20日进行,于2006年4月20日调查生根枝数。

1.2 不同品种生根比较试验

参试品种为:桂热1号(我站选育的新品种)、

[25] Tang Y P, Ho Y W, Mak C, et al., An early flowering mutant derived from mutation induction of Grande Naine. a Cavendish banana[J]. Mutation Breeding Newsletter, 1993, 40: 5-6
[26] Nwauzoma A B, Tenkouano A. Somaclonal variation: a boom or doom in Musa improvement[J]. Musa Africa, 1998, 12: 15
[27] Giménez C, De Garc a E, De Enrech N Z, et al. Somaclonal variation in banana: cytologenetic and molecular characterisation of the somaclonal variant CIEN BTA-03[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2001, 37: 217-222
[28] Hwang S C, Ko W H. Cavendish banana cultivars resistant to Fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan[J]. Plant Disease, 2004, 88(6): 580-588
[29] LaFleur D A, Lockhart B E L, Olszewski N E. Portions of the banana streak badnavirus genome are integrated in the genome of its host Musa[J]. Phytopathology, 1996, 86: S100-S101
[30] Harper G, Dahal G, Hull R. Detection of banana streak virus[C]. In: Marshall G(Ed.), Diagnostics in Crop Protection. Proceedings of a Symposium Organised by the British Crop Protection Council in Association with the Association of Applied Biologists and the British Society for Plant Pathology, held at the University of Warwick, Coventry, UK on 1-3 April 1996. British Crop Protection Council, Farnham, 1998, 47-51
[31] Ndowora T G, Dahal D, LaFleur G, et al. Evidence that badnavirus infection in Musa can originate from integrated pararetroviral sequences[J]. Virology, 1999, 255: 214-220
[32] Harper G, Osuji J, Heslop-Harrison J S, et al. Integration of banana streak Badnavirus into the Musa genome: molecular and cytogenetic evidence[J]. Virology, 1999, 255: 207-213
[33] Geering A D W, Olszewski N E, Dahal G, et al. Analysis of the distribution and structure of integrated Banana streak virus DNA in a range of Musa cultivars[J]. Molecular Plant Pathology, 2001, 2: 207-213
[34] Tushmereirwe W K, Karamura E B, Karyeija R. Banana streak virus (BSV) and an associated filamentous virus (unidentifi ed) disease complex of highland bananas in Uganda[J]. InfoMusa, 1996, 5: 9-12
[35] Kubiriba J, Legg J P, Tushemereirwe W, et al. Vector transmission of Banana streak virus in the screenhouse in Uganda[J]. Annals of Applied Biology, 2001, 139: 37-43
[36] Dahal G, Ortiz R, Tenkouano A, et al. Relationship between natural occurrence of banana streak badnavirus and symptom expression, relative concentration of viral antigen, and yield characteristics of some micropropagated Musa spp[J]. Plan Pathology, 2000, 49: 68-79
[37] Daniells J W, Geering A D W, Bryde N J, et al. The effect of Banana streak virus on the growth and yield of dessert bananas in tropical Australia[J]. Annals of Applied Biology, 2001, 139: 51 - 60

收稿日期:2007-02-01
作者简介:吴伟怀(1977-),男,助理研究员。联系电话:(0898)23306905,E-mail:weihuaiwu2002@163.com