

‘巴西蕉’离体芽的化学诱变和抗镰刀菌酸材料的筛选

韩伟^{1,2} 魏岳荣¹ 盛鸥¹ 胡春华¹ 易干军¹ 杨乔松¹
黄永红¹ 李春雨¹ 邝瑞彬¹

(1. 广东省农业科学院果树研究所,广东 广州 510640; 2. 广东韶关学院英东生命科学学院,广东 韶关 512005)

摘要:在离体条件下,以我国主栽香蕉品种‘巴西蕉’(*Musa AAA Cavendish*)的多芽体和不定芽为材料,采用 EMS 和 NaN_3 对其进行诱变处理,以镰刀菌酸毒素为选择压,筛选抗镰刀菌酸的材料。结果表明,EMS 和 NaN_3 诱变处理多芽体适宜的浓度和时间组合分别为 1.6% + 3h 和 2g/L + 3h, NaN_3 诱变处理不定芽适宜的浓度和时间组合为 2g/L + 1h。镰刀菌酸毒素筛选多芽体和不定芽适宜浓度范围分别为 36 ~ 45mg/L 和 10 ~ 20mg/L, 筛选获得的多芽体和不定芽多次继代培养后仍保持对镰刀菌酸的抗性。本研究可为香蕉抗枯萎病育种提供有价值的材料和技术参考。

关键词:‘巴西蕉’;多芽体;不定芽;EMS; NaN_3

CHEMICAL MUTATION AND SCREENING FOR TOLERANCE TO FUSARIC ACID ON SHOOT TIP OF *Musa AAA Cavendish* cv. ‘Baxijiao’

HAN Wei^{1,2} WEI Yue-rong¹ SHENG Ou¹ HU Chun-hua¹ YI Gan-jun¹ YANG Qiao-song¹
HUANG Yong-hong¹ LI Chun-yu¹ KUANG Rui-bin¹

(1. Fruit Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640;

2. Yingdong College of Life Sciences, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005)

Abstract: Fusarium wilt is a devastating disease for banana planting. This work was initiated to develop an *in vitro* technique suitable for mutation induction on ‘Baxijiao’ (*Musa AAA Cavendish*) using chemical mutagens. The experiment was to establish the optimal dose of chemical mutagenesis for mutagenic induction of the banana cv. ‘Baxijiao’ for subsequent mutation breeding. Scalps and shoot apices of *in vitro*-grown cultures of banana cv. ‘Baxijiao’ were treated with various concentrations of the mutagens ethylmethanesulfonate (EMS), sodium azide (NaN_3) and fusaric acid to evaluate their effectiveness in inducing mutations and to select variants tolerant to the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. The results showed that the optimal concentration and treatments period of EMS and NaN_3 on the scalps was 1.6% + 3h and 2g/L + 3h, respectively, but on the shoot apices from adventitious buds, the optimal concentration and treatments period of NaN_3 was 2g/L + 1h. The suitable concentration range of fusaric acid on the scalps and adventitious buds was 36 ~ 45mg/L and 10 ~ 20mg/L, respectively, for mutation screening. The selected scalps and adventitious buds still kept resistance to fusaric acid after subcultures. However, further identification test is needed for a definitive and reliable result. This study provides a valuable data for the breeding of banana resistance to fusarium wilt.

Key words: ‘Baxijiao’; scalps; adventitious buds; ethylmethanesulfonate; sodium azide

收稿日期:2011-12-14 接受日期:2012-05-20

基金项目:国家科技部 863 项目(2011AA10020603),国家自然科学基金项目(U1131004),国家香蕉产业技术体系建设项目(CARS-32-04B),国家科技部国际合作项目(2010DFA31760),国家农业部 948 项目(2011-G16),广东省现代农业产业技术体系专项(lnsgtx-03)

作者简介:韩伟(1983-),男,河南遂平人,硕士研究生,研究方向为园艺植物组培及育种。Tel: 0751-8120123; E-mail: hanwei8210@sina.com

通讯作者:魏岳荣(1972-),男,湖南岳阳人,博士,副研究员,研究方向为植物细胞工程育种。Tel: 020-38694291; E-mail: weid18@163.com

香(大)蕉(*Musa* spp.)是一种世界性的果树,是非洲、大洋洲、中美洲部分贫穷国家的一种主要粮食作物,全球有120多个国家和地区种植,近20年来我国香蕉产业发展迅速,已成为我国华南诸省的一种主要经济作物。近年来,香蕉枯萎病的迅速传播成为该产业发展的主要制约因素,目前尚无有效的防治措施。选育抗枯萎病香蕉新品种是解决这一问题的根本途径。但香蕉栽培种多为三倍体,具有雌雄不育性,通过传统的杂交育种方法难以培育适合我国推广种植的抗性新品种。因此,通过自然芽变或者诱变筛选获得抗病突变体成为目前香蕉抗性品种选育的一条主要途径。

关于香蕉体细胞离体诱变和突变体筛选技术的研究,已有少量报道^[1~7]。据报道^[8~10],尖孢镰刀菌能产生毒素,主要成分为镰刀菌酸,对香蕉致死起主要作用。理论上,利用纯的镰刀菌酸离体筛选香蕉抗性突变体,能防止香蕉尖孢镰刀菌的毒害,进而降低香蕉枯萎病的发生和对产业的危害^[11]。目前在该领域的研究较少,国内更是鲜见报道。本文以我国主栽香蕉品种‘巴西蕉’(*Musa* AAA Cavendish)的多芽体和不定芽为材料,采用甲基磺酸乙酯(EMS)和叠氮化钠(NaN_3)2种常用的化学诱变剂进行诱变,用镰刀菌酸作为筛选压,期望能获得该品种的抗性材料,为香蕉抗枯萎病育种提供有价值的材料和技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以我国主栽香蕉品种‘巴西蕉’(*Musa* AAA Cavendish)为试材,材料来源于广东省农业科学院果树研究所建立的“国家果树种质—广州香蕉圃”,诱变外植体为多芽体(scalps)和不定芽。

1.2 不定芽和多芽体的获得

参照魏岳荣^[12]的方法。从香蕉资源圃中挖取健壮的‘巴西蕉’吸芽,切取生长点消毒后,接种于培养基(MS基本培养基+22.2 $\mu\text{mol/L}$ BAP+0.05 $\mu\text{mol/L}$ NAA+30g/L蔗糖+7g/L琼脂,pH5.8)诱导不定芽的分化,分化的不定芽转移到增殖培养基(MS基本培养基+17.8 $\mu\text{mol/L}$ BAP+0.10 $\mu\text{mol/L}$ NAA+29.85 $\mu\text{mol/L}$ 腺嘌呤+30g/L蔗糖+7g/L琼脂,pH5.8)进行扩繁后获得大量不定芽。

挑选‘巴西蕉’幼嫩粗壮的不定芽,切除上部叶鞘至基部1cm处,逐层剥离剩余叶鞘组织后置于P4培养基(MS基本培养基+100 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA+1 $\mu\text{mol/L}$

IAA+30g/L蔗糖+7g/L琼脂,pH5.8)^[13]中培养,经过5~6个继代周期后可获得类似花椰菜结构的多芽体。

1.3 化学诱变剂处理

1.3.1 EMS和 NaN_3 诱变多芽体 EMS溶液用0.1mol/L pH7.0的磷酸缓冲溶液(PBS)配制,过滤灭菌,设0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.6%、2.0%等7个诱变浓度处理,以不含诱变剂的磷酸缓冲溶液作为对照。 NaN_3 溶液用无菌水配制,过滤灭菌,诱变浓度设计为:0.5、1、1.5、2、2.5g/L,以不含诱变剂的无菌水做为对照。取生理状态较为旺盛的多芽体,无菌条件下切割成大小为2mm×2mm×1mm(长×宽×厚)的外植体,用不同浓度的EMS和 NaN_3 分别浸泡3h,之后用无菌水冲洗3~4次。每个浓度处理外植体数30个,每个处理重复3次。将诱变处理后的外植体接种于多芽体诱导培养基(MS基本培养基+100 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA+1 $\mu\text{mol/L}$ IAA+30g/L蔗糖+7g/L琼脂,pH5.8)。30d后统计多芽体致死率。

1.3.2 NaN_3 诱变不定芽 NaN_3 溶液用无菌水配制,过滤灭菌,诱变浓度设为:0.5、1、2g/L,以不含诱变剂的无菌水为对照。取增殖3~4代的不定芽,用不同浓度的 NaN_3 浸泡1h,之后用无菌水冲洗3~4次,每个浓度处理外植体个数为30个,每个处理重复3次。接种于不定芽增殖培养基(MS基本培养基+17.8 $\mu\text{mol/L}$ BAP+0.10 $\mu\text{mol/L}$ NAA+29.85 $\mu\text{mol/L}$ 腺嘌呤+30g/L蔗糖+7g/L琼脂,pH5.8)。30d后统计不定芽增殖数和增殖系数。

1.4 筛选适宜的抗镰刀菌酸临界浓度

参考Lee等^[14]的方法,分别配制含有0、18、36、45、54和72mg/L镰刀菌酸(FA)的多芽体诱导培养基(镰刀菌酸(FA)采用过滤灭菌加入,下同)。取多芽体(多芽体块大小为2mm×2mm×1mm(长×宽×厚))接种,每个培养基接种30个多芽体块,每个浓度重复3次。30d后统计多芽体致死率和相对生长重量,确定适宜的镰刀菌酸筛选压。

分别配制含有0、10、20、30、40和50mg/L镰刀菌酸(FA)的不定芽增殖培养基。取增殖3~4代的不定芽接种,每个培养基接种30个不定芽,每个浓度重复3次。30d后统计不定芽的存活情况和不定芽数,确定适宜的镰刀菌酸筛选压。以上所有培养条件为:培养温度25℃±1℃,光照强度2000lx,光照时间12h/d。

1.5 数据统计与方差分析

使用Office Excel 2003,SPSS 13.0进行数据统计和方差分析。各指标及计算公式如下:

致死率% = 致死外植体数/接种外植体数 × 100%

增殖系数 = 接种 30d 后存活总不定芽数/接种的不定芽数

相对生长量 = (接种 30d 后多芽体重量 - 接种前多芽体重量)/接种前多芽体重量

总芽数指接种 30d 后存活总不定芽数,增殖数指接种 30d 后增殖的不定芽数。

2 结果与分析

2.1 化学诱变剂对‘巴西蕉’离体芽的诱变

2.1.1 EMS 对‘巴西蕉’多芽体的诱变 由表 1 可以看出,经不同浓度 EMS 诱变处理 3h 的多芽体在接种到诱导培养基中培养 30d 后,致死率均高于对照(以磷酸缓冲溶液处理的多芽体)。随 EMS 诱变浓度的提高,多芽体的致死率也明显提高,部分多芽体变黑,生长缓慢或死亡。经过 0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2% EMS 诱变的多芽体接种 7d 内生长缓慢,7d 后大部分多芽体开始正常的增殖生长。经 1.6% EMS 诱变的多芽体接种 14d 内未见生长,保持原状,14d 后部分多芽体开始正常生长。而 2.0% EMS 诱变的多芽体接种后 20d 内未见生长,20d 大部分多芽体变黑死亡,只有个别多芽体存活。可见,EMS 诱变处理浓度越大对多芽体的生长和增殖抑制作用越大。在诱变试验中,通常以半致死剂量作为诱变剂的适宜诱变浓度。本试验中 1.6% EMS 诱变处理的多芽体致死率达 43.33%,接近半致死率,考虑确定为适宜的诱变浓度。

表 1 不同浓度的 EMS 对‘巴西蕉’多芽体的影响

Table 1 Effect of EMS concentrations on the scalps of banana cv. ‘Baxijiao’

EMS 浓度 concentration of EMS (%)	致死多芽体数 number of lethal scalps	致死率 lethality (%)
0 (PBS)	0.7 ± 0.6e	2.22 ± 1.92e
0.4	2.3 ± 0.6e	7.78 ± 1.92e
0.6	3.0 ± 1.7de	10.00 ± 5.77de
0.8	6.0 ± 0.0cd	20.00 ± 0.0cd
1.0	7.7 ± 1.5c	25.56 ± 5.09c
1.2	8.0 ± 2.6c	26.67 ± 8.8c
1.6	13.0 ± 2.6b	43.33 ± 8.8b
2.0	27.3 ± 1.5a	91.11 ± 5.09a

注:不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平。下表同。

Note: The different small letters mean significance at 0.05 probability level. The same as following tables.

2.1.2 NaN₃ 对‘巴西蕉’多芽体的诱变 与对照(以

无菌水处理的多芽体)相比,‘巴西蕉’多芽体经不同浓度 NaN₃ 诱变处理 3h 后,多芽体的致死率明显提高,且随 NaN₃ 浓度的增大而逐步提高。表 2 表明,当 NaN₃ 处理浓度为 2g/L 时,多芽体的致死率达 46.67%,接近半致死率。当 NaN₃ 处理浓度达 2.5g/L 时,致死率达 68.89%。由此确定 NaN₃ 诱变多芽体的适宜浓度为 2g/L。

表 2 不同浓度的 NaN₃ 对‘巴西蕉’多芽体的影响

Table 2 Effect of NaN₃ concentrations on the scalps of banana cv. ‘Baxijiao’

NaN ₃ 浓度 concentration of NaN ₃ (g/L)	致死多芽体数 number of lethal scalps	致死率 lethality (%)
0 (水)	0.3 ± 0.6c	1.11 ± 1.92c
0.5	9.7 ± 2.5b	32.22 ± 8.39b
1	10.3 ± 2.5b	34.44 ± 8.39b
1.5	11.7 ± 2.1b	38.89 ± 6.94b
2	14.0 ± 3.0b	46.67 ± 10.0b
2.5	20.7 ± 3.2a	68.89 ± 10.72a

2.1.3 NaN₃ 对‘巴西蕉’不定芽的诱变 由表 3 可以看出,‘巴西蕉’的不定芽经不同浓度的 NaN₃ 诱变处理 1h,接种于不定芽增殖培养基培养 30d 后,不定芽的增殖数和增殖系数受到抑制,致死率明显增加。当 NaN₃ 为 2g/L 时,致死率达 36.67%,不定芽的增殖数只有 5.5,增殖系数为 0.72。多次重复试验表明,NaN₃ 诱变后不定芽恢复生长和增殖较困难,容易出现褐化,并最终死亡。诱变后存活的不定芽在继代过程中能够生长,但再生苗假茎伸长生长较慢,假茎较细弱,大部分植株矮小。

2.2 镰刀菌酸对‘巴西蕉’离体芽的筛选

2.2.1 镰刀菌酸对‘巴西蕉’多芽体的筛选 ‘巴西蕉’的多芽体接种在含不同浓度镰刀菌酸的诱导培养基上后,多芽体的致死率随镰刀菌酸浓度的提高而增加,相对生长量减少(表 4,图 1)。当培养基中添加 18mg/L 的镰刀菌酸时,大部分的多芽体能够正常生长和增殖。在镰刀菌酸浓度增加到 36 ~ 45mg/L 时,多芽体致死率达到 26.67% ~ 67.78%,多芽体生长和增殖缓慢,但存活的多芽体在继代过程中能够恢复生长并增殖,在连续 2 次继代培养后仍保持对镰刀菌酸的抗性,此镰刀菌酸浓度下采取多次筛选法,可选择到大量的抗性多芽体。当培养基中加入 54mg/L 和 72mg/L 镰刀菌酸时,多芽体的生长受到绝对抑制,致死率达到最大,相对生长量最小,多芽体转入新的培养基不能恢复生长。

表3 不同浓度的NaN₃对‘巴西蕉’不定芽的影响Table 3 Effect of NaN₃ concentrations on the adventitious buds of banana cv. ‘Baxijiao’

NaN ₃ 浓度 concentration of NaN ₃ (g/L)	致死不定芽数 number of lethal buds	致死率 lethality (%)	增殖数 propagation number	增殖系数 propagation coefficient
0 (水)	2.0 ± 0.0b	6.67 ± 0.0b	17.5 ± 3.5a	1.92 ± 0.16a
0.5	5.0 ± 3.0b	16.67 ± 14.14b	12.5 ± 6.4a	1.20 ± 0.38ab
1	7.5 ± 1.5ab	25.0 ± 7.1ab	12.5 ± 0.7a	0.90 ± 0.0b
2	11.0 ± 1.0a	36.67 ± 4.7a	5.5 ± 0.7a	0.72 ± 0.12b

表4 不同浓度的镰刀菌酸对‘巴西蕉’多芽体的影响

Table 4 Effect of fusaric acid concentrations on the scalps of banana cv. ‘Baxijiao’

FA 浓度 concentration of FA (mg/L)	致死多芽体数 number of lethal scalps	致死率 lethality (%)	相对生长量 relative growth yield
0	0b	0d	4.39 ± 0.44a
18	0.7 ± 0.6b	2.22 ± 1.92d	1.28 ± 0.49b
36	8.0 ± 2.6ab	26.67 ± 8.81c	0.33 ± 0.01c
45	20.3 ± 5.5a	67.78 ± 18.36b	0.13 ± 0.02c
54	29.3 ± 1.2ab	97.78 ± 3.85a	0.04 ± 0.04c
72	29.7 ± 0.6ab	98.89 ± 1.92a	0.04 ± 0.06c

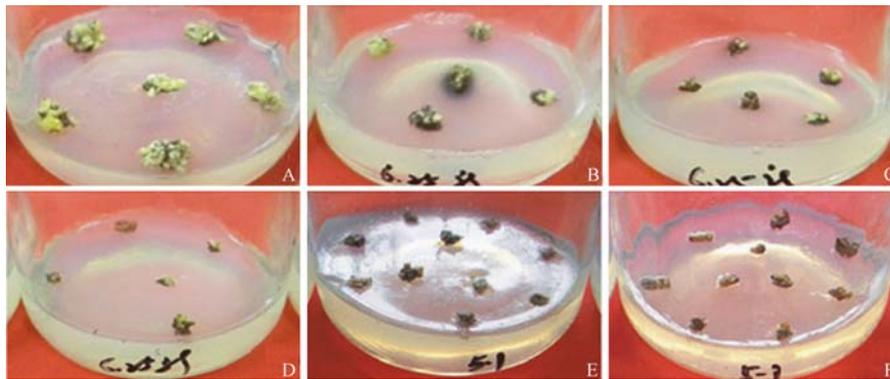


图1 不同浓度的镰刀菌酸对‘巴西蕉’多芽体的影响

Fig. 1 Effect of fusaric acid concentrations on the scalps of banana cv. ‘Baxijiao’

A: 培养基中添加0mg/L 镰刀菌酸; B: 培养基中添加18mg/L 镰刀菌酸; C: 培养基中添加36mg/L 镰刀菌酸;
D: 培养基中添加45mg/L 镰刀菌酸; E: 培养基中添加54mg/L 镰刀菌酸; F: 培养基中添加72mg/L 镰刀菌酸
A: without fusaric acid in the medium; B: adding 18mg/L fusaric acid in the medium; C: adding 36mg/L fusaric acid in the medium;
D: adding 45mg/L fusaric acid in the medium; E: adding 54mg/L fusaric acid in the medium; F: adding 72mg/L fusaric acid in the medium

2.2.2 镰刀菌酸对‘巴西蕉’不定芽的筛选 将‘巴西蕉’的不定芽接种于含有10, 20, 30, 40 和 50mg/L 镰刀菌酸的增殖培养基中, 随培养基中镰刀菌酸浓度的提高, 不定芽的致死数增加, 增殖数和总芽数不断减少(表5, 图2)。当培养基中加入10mg/L 镰刀菌酸时, 不定芽可正常增殖。而加入20mg/L 镰刀菌酸时, 不定芽的致死率达到76.67%, 不定芽增殖困难, 假茎

伸长慢, 叶片抽生困难。当培养基中加入的镰刀菌酸为50mg/L时, 不定芽生长受到绝对抑制, 致死率达到100%。因此选择镰刀菌酸浓度在10~20mg/L范围内筛选不定芽较为适宜, 但筛选获得的抗性不定芽再生植株表现为生长缓慢, 植株矮小。由此可见与多芽体相比, 单个不定芽对镰刀菌酸毒素更敏感。

表 5 不同浓度的镰刀菌酸对‘巴西蕉’不定芽的影响

Table 5 Effect of fusaric acid concentrations on the adventitious buds of banana cv. ‘Baxijiao’

FA 浓度 concentration of FA (mg/L)	致死不定芽数 number of lethal buds	致死率 lethality (%)	总芽数 total buds
0	0d	0d	89.0 ± 2.0a
10	7.3 ± 2.5c	24.44 ± 8.39c	22.7 ± 2.5b
20	23.0 ± 2.0b	76.67 ± 6.67b	11.0 ± 1.0c
30	25.5 ± 2.5b	85.0 ± 8.33b	4.5 ± 2.5d
40	29.3 ± 0.6a	97.78 ± 1.92a	1.0 ± 0.0e
50	30.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	0e

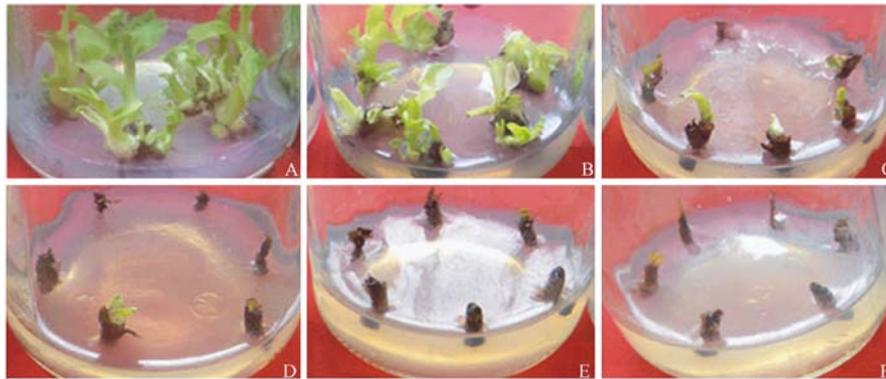


图 2 不同浓度的镰刀菌酸对‘巴西蕉’不定芽的影响

Fig. 2 Effect of fusaric acid concentrations on the adventitious buds of banana cv. ‘Baxijiao’

A: 培养基中添加 0mg/L 镰刀菌酸; B: 培养基中添加 10mg/L 镰刀菌酸; C: 培养基中添加 20mg/L 镰刀菌酸;
D: 培养基中添加 30mg/L 镰刀菌酸; E: 培养基中添加 40mg/L 镰刀菌酸; F: 培养基中添加 50mg/L 镰刀菌酸

A: without fusaric acid in the medium; B: adding 10mg/L fusaric acid in the medium; C: adding 20mg/L fusaric acid in the medium;
D: adding 30mg/L fusaric acid in the medium; E: adding 40mg/L fusaric acid in the medium; F: adding 50mg/L fusaric acid in the medium

3 讨论

3.1 诱变材料的选择

选择合适的诱变材料对离体诱变育种十分重要。既要考虑选择合适的基因型,又要考虑外植体再生植株的难易程度。‘巴西蕉’为我国主栽香蕉品种,但易感镰刀菌枯萎病 4 号生理小种,如能通过诱变获得该品种的抗枯萎病突变体,将对香蕉产业贡献巨大。本研究发现,以多芽体为材料进行诱变和镰刀菌毒素筛选效果较不定芽好,处理后材料容易恢复生长,而且再生后代正常成苗。因此,多芽体比不定芽更适宜作为诱变和筛选的外植体。

3.2 化学诱变剂的选择

甲基磺酸乙酯(EMS)和叠氮化钠(NaN_3)作为诱变剂在香蕉^[1-3]、草莓^[15-17]、马铃薯^[18]、豌豆^[19]、小麦^[20,21]、水稻^[22]、花生^[23]、甘蔗^[24]等植物育种中都得以广泛应用。本研究发现,‘巴西蕉’的多芽体和不定芽对 NaN_3 较 EMS 更敏感,可能是不同的外植体对不

同的诱变剂敏感程度不同。因此,在具体的操作过程中应根据不同的外植体材料选择合适的诱变剂。

3.3 诱变剂的诱变浓度和镰刀菌酸毒素筛选浓度的确定

确定诱变剂适宜的诱变浓度要综合考虑诱变的效果和对外植体的伤害程度,一般以半致死剂量为参考^[25-27]。Bhagwat 和 Duncan^[28]则认为通过半致死剂量确定适宜的诱变浓度并不是绝对合适的,还要综合考虑处理后材料的恢复情况、增殖率和再生情况。本试验中,用 1.6% EMS 和 2g/L NaN_3 诱变处理‘巴西蕉’的多芽体 3h,致死率分别为 43.33% 和 46.67%,接近于半致死剂量,存活的多芽体能够恢复生长和增殖,因此被确定为适宜的诱变浓度和诱变时间。用 2g/L NaN_3 诱变不定芽的致死率为 36.67%,虽未达到半致死,但综合考虑不定芽的生长和增殖情况,该浓度被确定为不定芽诱变的适宜浓度。Ali^[29]以香蕉品种‘Grand Nain’(*Musa* AAA Cavendish)茎尖为材料时,EMS 诱变处理的适宜浓度和时间组合为 0.2% + 2h,与本文研究结果有所不同,这主要与所用香蕉品种和

外植体不同有关。

以筛选压力进行突变体筛选时,要确定筛选剂适宜的筛选浓度,同样要综合考虑外植体的恢复生长、增殖率和再生情况等因素。本试验中,用镰刀菌酸毒素对‘巴西蕉’的多芽体和不定芽进行胁迫筛选时,适宜浓度范围分别为 36 ~ 45mg/L 和 10 ~ 20mg/L,该结果与 Lee 等^[14]的试验结果较为一致。

另外,本研究发​​现经镰刀菌酸筛选获得的抗性植株表现出植株矮化、前期生长缓慢的现象。一般而言,当植物获得抗性变异时,其株型与对照相比会发生一定程度的变化,如植株变矮、叶片变短变厚^[30]等。在植物育种中通常发现植株矮化性状与抗逆性提高有一定程度的偶联性,尤其在多倍体育种中发生比较普遍,当染色体组加倍后,随着植株变矮,抗病性增强^[31]。在香蕉选育种中同样发现突变体的矮化性状与抗枯萎病性状存在一定的关联^[32,33]。本文的研究结果与前人的研究有类似的现象,由此推测本文经过镰刀菌酸筛选得到的抗性植株可能是发生了遗传变异。但通过植株的外部形态来判断易受生长环境条件等多因素影响,为提高判断的准确性,还需进一步进行分子生物学检测和多年的大田病圃试验。

4 结论

本研究得出,‘巴西蕉’的多芽体比不定芽更适宜作为诱变和筛选的外植体,诱变处理‘巴西蕉’的多芽体适宜的 EMS 和 NaN_3 浓度和时间组合分别为 1.6% + 3h 和 2g/L + 3h,诱变处理‘巴西蕉’的不定芽适宜的 NaN_3 浓度和时间组合为 2g/L + 1h,筛选‘巴西蕉’抗性多芽体和不定芽适宜的镰刀菌酸毒素浓度分别为 36 ~ 45mg/L 和 10 ~ 20mg/L。在进一步的研究中,我们将利用镰刀菌酸毒素多次筛选 EMS 和 NaN_3 诱变后代,然后通过香蕉枯萎病菌 4 号生理小种(Race 4)病原菌接种筛选和大田病圃筛选,期望获得香蕉抗枯萎病的材料。本研究为香蕉抗枯萎病育种提供了有价值的材料和技术参考。

参考文献:

- [1] Imelda M, Deswina D, Hartati S, Estiati A, Atmowidjojo S. Chemical mutation by ethyl methanesulfonate (EMS) for bunchy top virus resistance in banana[J]. *Annales Bogorienses*, 2000, 7(1): 19 - 25
- [2] Bidabadi S S, Meon S, Wahab Z, Subramaniam S, Mahmood M. Induced mutations for enhancing variability of banana (*Musa* spp.) shoot tip cultures using ethyl methanesulphonate (EMS) [J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2012, 6(3): 391 - 401
- [3] Sayed E I, Eman H, Mahfouze S A, Shaltout A D, Dougdoug K A E, Sayed R A. Chemical mutation induction *in vitro* cultured shoot tip of banana cv. Grand Nain for resistance some virus diseases[J]. *International Journal of Virology*, 2012, 8(2): 178 - 190
- [4] Kumar A R, Kumar N, Poornima K, Soorianathasundaram K. Screening of *in-vitro* derived mutants of banana against nematodes using bio-chemical parameters [J]. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 2008, 2(3): 271 - 278
- [5] Tripathi L, Odipio J, Tripathi J N, Tusiime G. A rapid technique for screening banana cultivars for resistance to *Xanthomonas* wilt [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2008, 121: 9 - 19
- [6] Smith M K, Hamill S D, Langdon P W, Giles J E, Doogan V J, Pegg K G. Towards the development of a Cavendish banana with resistance to race 4 of *Fusarium* wilt: Gamma irradiation of micropropagated Dwarf Parfitt (*Musa* spp., AAA group, *Cavendish* subgroup) [J]. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2006, 46: 107 - 113
- [7] Fernández-Falcón M, Borges A A, Borges-Pérez A. Induced resistance to *Fusarium* wilt of banana by exogenous applications of indoleacetic acid[J]. *Phytoprotection*, 2003, 84(3): 159 - 153
- [8] 于莉,黎永坚,李赤,张英俊,王建余. 香蕉枯萎病菌毒素的成分分析及其生物测定[C]. 中国植物病理学会学术年会论文集,2008:228 - 234
- [9] 李赤,黎永坚,于莉,黄秉智. 香蕉枯萎病菌毒素的成分分析及其生物测定[J]. *果树学报*,2010,27(6):969 - 974
- [10] 兀旭辉,许文耀,林成辉. 香蕉枯萎病菌粗毒素特性的初步研究[C]. 中国植物病理学会学术年会论文集,2004:39 - 44
- [11] Matsmoto K, Souza L A C, Barbosam L. *In vitro* selection for *Fusarium*wilt resistance in banana I, co-cultivation technique to produce culture filtrate of race I *Fusarium oxysporum*. f. sp. *cubense* [J]. *Fruits*, 1999, 54(2): 97 - 102
- [12] 魏岳荣,黄学林,黄霞,李佳,肖望,李筱菊. ‘过山香’香蕉多芽体的诱导及其体细胞胚的发生[J]. *园艺学报*,2005,32(3):414 - 419
- [13] Schoofs H, Panis B, Swennen R. Competence of scalps for somatic embryogenesis in *Musa*[J]. *Acta Horticulturae*, 1998, 490: 475 - 483
- [14] Lee S W, Lee S Y, Huang M J. Role of *in vitro* selection of multiple bud clumps in the screening of fusarium wilt resistant somaclones of bananas in Taiwan [C]. *The Second ISHS/ProMusa Banana Symposium*, Guangzhou, China, 2009, 90
- [15] 刘艳萌,张学英,葛会波,胡淑明. EMS 处理对草莓离体叶片再生植株耐盐性的影响[J]. *河北农业大学学报*,2006,29(6):25 - 28
- [16] 刘艳萌,张学英,葛会波. EMS 诱发草莓不同组培材料的耐盐性变异[J]. *核农学报*,2008,22(6):798 - 802
- [17] 罗静,周厚成,王永清,赵霞. EMS 离体诱变及抗草莓灰霉病愈伤组织的筛选[J]. *核农学报*,2009,23(1):90 - 94
- [18] 杨乾,张峰,王蒂,张俊莲,杨宏羽,刘玉汇. EMS 诱变筛选马铃薯茎段离体耐盐突变体[J]. *核农学报*,2011,25(4):673 - 678
- [19] Divanli-Turkan A, Mahmood Khawar K, Yasar Çiftci C, Özcan S.

- Effects of mutagenic sodium azide (NaN_3) on *in vitro* development of four Pea (*Pisum sativum* L.) cultivars[J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2006, 8(3): 349-353
- [20] 许云峰, 蒋方山, 郭营, 李端军, 李斯深. EMS 诱导小麦品种烟农 15 突变体的鉴定和 EST-SSR 分析[J]. 核农学报, 2008, 22(4): 410-414
- [21] 陈洋, 高兰英, 邵艳军, 张增艳. 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
- [22] 王峰, 徐飏, 杨正林, 凌英华, 何光华, 陈胜, 卿明敬, 桑贤春. EMS 诱变水稻矮生资源的鉴定评价[J]. 核农学报, 2011, 25(2): 197-201
- [23] 王传堂, 王秀贞, 唐月异, 陈殿绪, 张建成, 崔凤高, 禹山林. 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
- [24] Haq I U, Memon S, Gill N P, Rajput M T. Regeneration of plantlets under NaCl stress from NaN_3 treated sugarcane explants [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(72): 16152-16156
- [25] 陈受宜, 朱立煌, 洪建. 水稻耐盐突变体分子生物学鉴定[J]. 植物学报, 1991, 33(8): 569-573
- [26] 张成合, 曹军, 鲍文奎. 小黑麦单倍体愈伤组织 ($n=28$) 耐碱和耐盐变异体的研究[J]. 植物学报, 1986, 28(2): 137-144
- [27] Novak F J, Afza R, Van Duren M, Omar M S. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro*-cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa* cvs.) [J]. Tropic Agriculture (Trinidad), 1990, 67: 21-28
- [28] Bhagwat B, Duncan E J. Mutation breeding of banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA Group) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using chemical mutagens [J]. Scientia Horticulturae, 1998, 73: 11-22
- [29] Ali M A. Optimal dose rate of gamma irradiation and EMS concentration for mutation induction on shoot tip of Banana cv. Grand Nain [C]. The 38th Meeting of the NCHC, Sudan, 2008: 228-233
- [30] 张建华, 陈火英, 庄天明. 番茄耐盐体细胞变异体的离体筛选 [J]. 西北植物学报, 2002, 22(2): 257-262
- [31] 崔平, 潘荣. 甜菜种质资源的繁种更新及安全保存 [J]. 中国糖料, 2004, (3): 51-53
- [32] 陈厚彬, 冯奇瑞, 徐春香, 霍日祥, 李建国, 王泽槐. 抗枯萎病香蕉种质筛选 [J]. 华南农业大学学报, 2006, 27(1): 9-12
- [33] 胡玉林, 谢江辉, 梁国鲁, 陈佳瑛, 王忠猛. 香蕉抗枯萎病突变体的诱发与筛选 [J]. 果树学报, 2008, 25(2): 188-192

(责任编辑 王媛媛)