

甘蔗不同基因型愈伤组织生化性状的研究

谭中文¹, 梁计南¹, 谭志勇², 张志胜¹, 孔垂华¹, 胡 飞¹

(1 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642; 2 东莞市种子研究所, 广东 东莞 511700)

摘要:通过甘蔗心叶的组织培养,研究了 11 个甘蔗基因型的愈伤组织的 10 个生化性状的差异,把这些生化性状与甘蔗在大田种植条件下的田间锤度、蔗茎产量进行了相关分析. 结果表明,愈伤组织干物质含量、还原糖含量、蔗糖含量、总糖含量、蛋白质含量、酸性转化酶活性、中性转化酶活性、多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性、硝酸还原酶活性在不同基因型间都存在显著的差异;愈伤组织的干物质含量与产量有显著的正相关关系,还原糖含量、酸性转化酶活性和多酚氧化酶活性与田间锤度都有显著的负相关关系.

关键词:甘蔗基因型; 组织培养; 愈伤组织; 生化性状

中图分类号:S566.1

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2004)01-0014-04

Biochemical characters of callus in different sugarcane genotypes

TAN Zhong-wen¹, LIANG Ji-nan¹, TAN Zhi-yong², ZHANG Zhi-sheng¹, KONG Chui-hua¹, HU Fei¹

(1 Agricultural Department, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Seed Research Center, Dongguan City, Dongguan 511700, China)

Abstract: A experiment was conducted to find the differences of 10 biochemical characters in callus of 11 sugarcane genotypes, and to find the correlation relationship between these characters and cane yield, Brix under field conditions. The results showed that the contents of dry matter, reducing sugar, sucrose, total sugars and soluble proteins and the activities of acid invertase (AI), neutral invertase (NI), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD) and nitrate reductase (NR) were significantly different. The coefficient between the cane yield and the content of dry matter was positive in significant level. There were significant negative correlation relationship between Brix and the reducing sugar content, AI and PPO.

Key words: sugarcane genotypes; tissue culture; callus; biochemical character

甘蔗品种的改良是采用有性繁殖与无性繁殖相结合的方法进行. 由于甘蔗是异源多倍体,主要的经济性状均为数量性状,性状遗传极为复杂,而对这些性状的选择均据表现型进行,因此极大地影响了选择的准确性. 鉴于生化育种具有的优越性,近十多年来,育种工作者对甘蔗生理生化性状进行了大量研究,特别是加强了与遗传基因密切相关的酶类与甘蔗产量、糖分关系的探讨^[1~6].

但是前人的研究都采取大田种植或盆栽方式,用植株的某部分(茎或叶)为材料,忽视了整体植株各种组织高度分化的特征和形态变异所造成的复杂性. 同时,由于田间条件变化大,各地得出的生化参数与甘蔗产量和糖分的密切程度不尽相同,特别是应该在哪个生育期进行生化鉴定,尚未形成一致意

见. 用组织培养或细胞培养进行生理生化性状研究能最大限度地人工控制系统,不受地域或季节的限制,细胞群体的均一性,材料的性状能在相对一致条件下得到表达. 然而利用组织培养进行甘蔗不同基因型愈伤组织生理生化性状差异的研究还鲜有报导. 本试验以甘蔗的心叶为外植体,研究不同基因型的愈伤组织生化性状的差异,并探讨这些差异与蔗茎产量和糖分关系,为在细胞水平上对高产高糖基因型的间接选择提供技术和理论依据.

1 材料与方法

1.1 甘蔗基因型及其田间种植试验设计

试验采用了 11 个甘蔗基因型:新台糖 10 号(RoC10)、新台糖 1 号(RoC1)、Q75、桂糖 1 号(GT1)、

粤糖 71-210(YT 210)、粤糖 65-1240(YT 1240)、粤糖 63-237(YT 237)、粤糖 57-423(YT 423)、印度 331(Co331)、台糖 172(F 172)和拔地拉(Badila)。

田间材料于 1999 年 2 月 17 日下种,小区行长 3.5 m,行距 1.1 m,每小区下种 18 个双芽苗,完全随机区组设计,4 次重复。大田种植采用常规栽培管理方法。在收获期调查田间锤度、产量性状和蔗茎产量。

1.2 测试分析的试验材料

经过 PVP 预处理的甘蔗心叶诱导出的继代三代的均匀一致的愈伤组织。测定项目包括过氧化物酶(POD)活性^[7],多酚氧化酶(PPO)活性^[8],可溶性蛋白含量,^[9]硝酸还原酶(NR)活性^[10,11],还原糖、蔗糖和总糖含量^[12],中性转化酶(NI)活性和酸性转化酶(AI)活性^[13],愈伤组织的干物质含量。利用 SAS 软件进行有关数据的统计分析,多重比较使用邓肯氏新复极差检验法(DMRT 法)。

2 结果与分析

2.1 不同基因型的愈伤组织干物质、蛋白质、还原糖、蔗糖和总糖含量的差异

试验结果(表 1)表明,不同基因型间干物质含量差异都达到显著水平,YT237 和 F172 的干物质含量较高,而 Q75 和 Co331 的较低;蛋白质含量存在显著差异,Q75、YT1240、RoC10 的蛋白质含量较高,而 Badila、Co331 的蛋白质含量较低;还原糖含量存在显著差异,YT1240、YT237 较高,而 RoC10、RoC1 的还原糖含量较低;蔗糖含量存在显著差异,GT1、Q75 的蔗糖含量显著高于其他基因型,Co331、YT423、YT210、F172 较低;总糖含量存在显著差异,YT1240 和 YT237 的总糖含量较高,而 RoC1、RoC10 的含量较低。

表 1 不同基因型的愈伤组织干物质、蛋白质和糖含量的差异¹⁾

Tab. 1 The difference in the content of dry matter, protein and sugar in callus of different sugarcane genotypes w/%

基因型	干物质	蛋白质	还原糖	蔗糖	总糖
genotypes	dry matter	protein	reducing sugar	sucrose	total sugar
YT1240	10.1 a	4.54 ab	8.32 a	7.17 b	15.49 a
RoC1	9.9 a	3.70 c	1.19 e	5.77 cd	6.95 h
YT210	9.6 ab	3.72 c	3.53 d	5.11 de	8.64 f
RoC10	9.5 ab	4.19 bc	0.96 e	6.28 bc	7.24 gh
Badila	9.0 bcd	2.69 d	5.47 c	6.58 bc	12.05 bc
YT423	8.9 bcd	3.57 c	5.65 c	4.34 ef	9.99 e
YT237	8.8 bcd	3.68 c	7.18 b	5.83 cd	13.01 b
F172	8.8 bcd	3.60 c	3.12 d	5.16 deP	8.28 fg
GT1	8.7 cd	3.46 c	1.53 e	10.07 a	11.60 cd
Q75	8.2 d	5.27 a	1.43 e	9.24 a	10.67 de
Co331	8.0 d	2.65 d	3.41 d	3.83 f	7.23 gh
F 值 F value	3.33	8.92	53.76	40.89	48.99

1)同列数据后带不同字母的表示在 0.05 水平下差异显著,
 $F_{(0.05,10)} = 2.30$

2.2 不同基因型愈伤组织的各种酶活性的差异

表 2 的结果表明,基因型间 PPO 的活性存在显著的差异,Co331、Badila、YT423 和 YT237 的活性较高,RoC10、RoC1、GT1 和 Q75 的活性明显较低;POD 活性存在显著差异,Badila、YT237、YT423 和 GT1 的活性较高,而 YT1240 和 YT210 的活性显著低于其他基因型。AI 活性存在显著差异,YT1240、F172、YT210 和 Badila 的 AI 活性较高,RoC1 和 RoC10 的 AI 活性显著较低;NI 活性存在显著差异,Co331、YT1240 和 YT210 的 NI 活性较高,而 RoC1、RoC10、GT1 和 Q75 的 NI 活性较低;NR 活性存在显著差异,YT210、YT1240 和 RoC10 的 NR 活性较高,Badila、GT1 和 YT423 的 NR 活性都很低。

表 2 不同基因型愈伤组织酶活性的差异¹⁾

Tab. 2 The activity difference of enzymes in callus of different genotypes

基因型	PPO / (ΔA _{389 nm} ·	POD / (ΔA _{470 nm} ·	AI / (mg ·	NI	NR
genotypes	mg ⁻¹ · min ⁻¹)	g ⁻¹ · min ⁻¹)	g ⁻¹ · h ⁻¹)	/(mg · g ⁻¹ · h ⁻¹)	/(μmol g ⁻¹ · h ⁻¹)
Co331	4.63 a	9.17 bc	1.11 e	1.62 a	3.52 bcd
Badila	4.62 a	11.70 a	2.22 b	0.51 fg	3.01 cd
YT423	4.52 a	10.79 ab	1.47 cde	0.72 de	2.67 d
YT237	3.89 b	11.67 a	1.28 de	0.61 ef	3.26 cd
F172	3.36 c	8.71 c	2.41 ab	0.85 cd	3.64 bcd
YT210	3.17 c	6.53 d	2.40 ab	0.91 c	5.75 a
YT1240	1.81 d	6.34 d	2.75 a	1.14 b	4.37 b
Q75	1.54 de	9.84 abc	1.69 c	0.56 fg	3.16 cd
RoC1	1.42 e	10.03 abc	0.45 f	0.23 I	3.57 bcd
RoC10	1.38 e	10.18 abc	0.46 f	0.44 gh	4.01 bc
GT1	1.26 e	10.73 ab	1.54 cd	0.32 hi	2.73 d
F 值 F value	222.83	9.23	39.51	58.39	8.03

1)同列数据后具不同字母的表示在 0.05 水平下差异显著, $F_{(0.05,10)} = 2.30$

2.3 不同基因型田间锤度、产量性状和产量的差异

从表 3 可见:RoC10、RoC1 和 Q75 的锤度较高, YT210 和 YT1240 的锤度较低,说明大部分基因型仍然表现出其固有的贮糖特性;YT210、YT1240、YT237、

YT423、RoC10 和 RoC1 表现出较高的产量潜力,而 Co331、F172、Q75、和 Badila 产量潜力较低,基本上体现了各基因型的产量性能.

表 3 不同甘蔗基因型的田间锤度、有效茎数、单茎质量和蔗茎产量

Tab. 3 The Brix, millable stalk number, mass of a stalk and cane yield of different sugarcane genotypes

基因型 genotypes	田间锤度 Bx/%			有效茎数 millable	单茎质量	产量 cane
	10 月 23 日	11 月 27 日	12 月 24 日	stalk number	mass of	yield
	Oct. 23	Nov. 27	Dec. 24	/(条·hm ⁻²)	a stalk/kg	/(t·hm ⁻²)
RoC10	18.74	20.74	19.87	4 920	1.82	134.25
RoC1	19.25	20.35	20.23	4 160	2.50	156.00
Q75	17.50	21.37	21.46	4 600	1.36	93.45
GT1	15.73	17.28	16.24	3 720	2.37	132.00
YT210	11.60	15.45	13.85	5 440	1.76	143.25
YT1240	8.77	10.41	12.44	4 960	2.70	200.85
YT237	13.77	16.10	16.59	4 680	2.12	148.80
YT423	12.70	14.91	15.37	3 920	2.50	147.00
Co331	12.19	15.24	16.53	7 320	1.02	111.60
F172	16.38	17.53	17.47	4 800	1.41	101.55
Badila	8.87	11.92	11.27	1 840	1.44	39.75

2.4 甘蔗基因型愈伤组织生化性状与田间锤度、蔗茎产量关系

从表 4 可见,干物质含量与蔗茎产量有明显的正向关系,表明在一定程度上愈伤组织的干物质含量越高,则相应基因型的蔗茎产量越高;蛋白质含量与田间锤度呈正相关,未达显著水平;还原糖含量、总糖含量与田间锤度有显著的负相关关系,而蔗糖

含量与田间锤度呈极小的正相关关系;还原糖、总糖含量与产量呈一定程度的正相关,愈伤组织蔗糖含量与产量呈负相关,但均未达显著水平;酸性转化酶、中性转化酶活性越低,田间锤度越高;酸性转化酶活性、中性转化酶活性与蔗茎产量的相关程度很小;POD 活性与田间锤度有极小的正相关关系;NR 活性与田间锤度有极小的负相关关系.

表 4 愈伤组织的生化性状与田间锤度、蔗茎产量的相关系数

Tab. 4 The correlation coefficients between biochemical characters of callus and Brix, cane yield

生化性状 biochemical characters	田间锤度 Brix			产量
	10 月 23 日 Oct. 23	11 月 27 日 Nov. 27	12 月 24 日 Dec. 24	cane yield
干物质 dry matter				0.580**
蛋白质 protein	0.361	0.401	0.472	
还原糖 reducing sugar	-0.804*	-0.845*	-0.728*	0.276
蔗糖 sucrose	0.215	0.225	0.174	-0.072
总糖 total sugar	-0.592**	-0.623*	-0.551**	0.204
PPO 活性 PPO activity	-0.589**	-0.531**	-0.517	-0.387
POD 活性 POD activity	0.271	0.261	0.220	-0.481
AI 活性 AI activity	-0.678*	-0.658*	-0.676*	-0.075
NI 活性 NI activity	-0.545**	-0.496	-0.345	0.121

3 讨论

在对不同甘蔗基因型愈伤组织生化性状研究中发现,基因型间蛋白质、干物质、糖含量和 NI、AI、PPO、POD 活性都存在显著差异;愈伤组织蛋白质含

量与田间锤度相关不显著;愈伤组织的干物质含量与蔗茎产量显著相关;愈伤组织的还原糖、总糖含量越高,田间锤度越低,但蔗茎产量却较高,这点与在植株水平上的有关研究是符合的^[19~21];愈伤组织的 PPO 活性越高,相应基因型的田间锤度越低,这与植

株水平的有关研究结果是相符的^[6,16,18],但愈伤组织的 POD 活性与田间锤度的关系却未能显示出在个体水平上的变化规律;愈伤组织的 AI 活性与田间锤度均表现为显著负相关,这与前人在甘蔗叶片上的研究相似^[2,14,15,17,19];愈伤组织的 NR 活性与蔗茎产量和田间锤度的相关程度都未达到显著水平,这与甘蔗叶片上的研究在某种程度上的一致性^[15,17,20,21],既说明 NR 活性作为衡量作物产量、品质等特性的指标,有其细胞学基础,又揭示了其活性表达在细胞水平上和个体水平上的差异性。

综上所述,根据愈伤组织干物质含量、还原糖含量、总糖含量、酸性转化酶活性和多酚氧化酶活性与田间锤度或蔗茎产量有显著的相关关系,这几个性状可作为在细胞水平上对甘蔗高产高糖基因型间接选择的指标。

参考文献:

- [1] 范隆葆. 甘蔗几个生理生化参数与蔗糖积累的关系[J]. 甘蔗糖业, 1989(3): 20-27.
- [2] 叶振邦. 甘蔗不同品种(种)间叶片中酶活性差异的研究[J]. 作物学报, 1987, 13(2): 157-162.
- [3] HATCH M D, SACHER J A, GLASZJON K T. Sugar accumulation cycle in sugar cane: I. Studies on enzymes of the cycle[J]. Plant Physiol. 1963, 38: 338-354.
- [4] ALEXANDER A G. Sucrose-enzyme relationship in immature sugarcane as affected by variable nitrate and potassium supplied in sand culture [J]. J Agric Univ PR, 1964, 48(3): 165-231.
- [5] 林国栋. 甘蔗硝酸还原酶活性及其与产量性状的关系[J]. 福建农学院学报, 1987, 16(4): 193-298.
- [6] 谭中文, 赵文宜, 李玉潜. 甘蔗不同基因型贮糖潜力与一些生化性状关系的研究[J]. 甘蔗糖业, 1984, (4): 17-24.
- [7] 李扬瑞. 甘蔗组织中过氧化物酶活性及其与生长和工艺成熟的关系初探[J]. 广西农学院学报. 1990, 91: 13-18.
- [8] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 52.
- [9] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem. 1976, 72: 248-538.
- [10] 侯学文, 郭 勇. 不同氮源对悬浮培养玫瑰茄细胞的生长和硝态氮同化指针的影响[J]. 广西植物. 1998, 18(2): 169-172.
- [11] BAER G R, COLLET G F. In vivo determination of parameters of nitrate utilization in wheat seedling growth with low concentration of nitrate in the nutrient solution[J]. Plant Physiol. 1981, 68: 1 237-1 243.
- [12] 山东农学院, 西北农学院. 植物生理学实验指导[M]. 山东: 山东科学技术出版社, 1980. 192-196.
- [13] 陈伟栋, 陈本凯. 甘蔗叶片转化酶与甘蔗进化生长和糖分积累的关系[J]. 四川甘蔗科技. 1985, (3): 27-32.
- [14] 张 勇, 陈西凯. 甘蔗叶片中转化酶的变化规律及其与生长和糖分积累的关系[J]. 西南农业大学学报 1987, 9(4): 454-456.
- [15] 张 勇, 陈西凯. 氮、钾对甘蔗中硝酸还原酶的影响及其与生长的关系[J]. 西南农业大学学报, 1989, 11(2): 189-192.
- [16] 李扬瑞. 利用叶片生化性状预测不同基因型甘蔗产量和品质的研究[J]. 广西农学院学报. 1991, 10(2): 17-22.
- [17] 陈西凯, 张 勇, 王胜培. 甘蔗叶片几种酶活性对甘蔗生长发育的作用[J]. 四川甘蔗. 1990, (2): 1-5.
- [18] 黄卓烈, 潘 涛. 几个甘蔗品种的过氧化物酶活性及其同工酶多样性的比较研究[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(4): 72-76.
- [19] 陈伟栋, 陈西凯. 不同时期甘蔗叶片生化指标与蔗糖的相关及因子分析[J]. 作物学报, 1996, 22(2): 233-237.
- [20] 谭中文, 梁计南, 陈建平. 甘蔗不基因型苗期性状与产量、糖分关系研究[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(4): 24-27.
- [21] 李玉潜, 谢九生, 谭中文. 甘蔗叶片碳、氮代谢与产量、品质关系研究初探[J]. 中国农业科学, 1995, 28(4): 46-53.

【责任编辑 周志红】