

文章编号: 1674-7054(2015)03-0269-04

香蕉辐射诱变抗寒株系果实中淀粉和糖含量的变化

黄旭^{1,2}, 王安邦^{1,2}, 苗红霞², 刘菊华², 贾彩红², 金志强², 徐碧玉^{1,2}

(1. 海南大学 农学院, 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所, 海南 海口 571101)

摘要: 以巴西蕉(*Musa acuminata* L. AAA group, 'Brazilian') 未成熟雄花诱导的愈伤组织和芽体作为外植体, 通过⁶⁰Co- γ 辐射诱变和低温筛选获得了2个抗寒株系(抗寒9号、抗寒11号), 测定了抗寒株系和非诱变对照果实中的淀粉、总糖、葡萄糖、果糖和蔗糖的含量。结果表明: 2个抗寒株系果实的总糖、蔗糖、果糖和葡萄糖含量均极显著高于对照($P < 0.01$); 2个抗寒株系果实的总淀粉、直链淀粉和支链淀粉含量也高于对照, 但抗寒11号株系直/支比低于对照。

关键词: 香蕉; 抗寒株系; 淀粉含量; 糖含量

中图分类号: S 667.9

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2015.03.008

辐射诱变是改善植物品质性状(如淀粉含量、可溶性糖含量、类胡萝卜素含量等)、产量、熟期、抗病性的有效手段^[1-2]。大豆经辐射诱变后, 其农艺性状、产量和品质均有所改变, 具体表现为生育期提前、株形矮化、百粒重和单株果荚数增加、油分及蛋白含量发生改变等^[3]。应用伽马射线辐照甘薯产生了高糖和高淀粉含量的诱变株系^[4]。肉质果实中淀粉和糖的含量是决定其内在品质的关键, 也是类胡萝卜素、维生素、色素和芳香类物质等合成的基础物质^[5-8]。同时, 可溶性糖作为植物渗透调节物质对植物抵御低温寒害也起着重要作用, 植物经低温锻炼可导致可溶性糖含量增加、细胞渗透势降低、细胞膨压稳定^[9-11]。有研究报道, 抗寒性强的品种的可溶性糖含量高于抗寒性弱的品种^[12]。香蕉属芭蕉科(Musaceae) 芭蕉属(*Musa*) 是热带、亚热带最重要的经济作物之一^[13], 在中国热区的农业和社会发展中具有重要作用。目前, 香蕉主栽品种多为三倍体, 要通过传统杂交育种方式育出新品种和改良香蕉品质是很困难的, 因此, 辐射诱变成为香蕉育种的一种重要手段^[14]。由于辐射诱变具有随机性, 因此, 笔者对其进行幼苗期低温锻炼, 以期达到定向筛选的目的^[15]。香蕉属于淀粉转化型果实, 光合作用产生的碳水化合物, 除一部分用于果实生长发育的呼吸消耗外, 多余的部分主要以淀粉形式积累于果实中直至采收, 经过后熟淀粉最终转化为可溶性糖^[16]。糖和淀粉的含量多少与植株抗寒性有着密切的关系^[11], 因此, 本实验以2株香蕉辐射诱变抗寒株系第1代果实为研究对象, 测定了完熟期香蕉果实淀粉和糖含量的变化, 旨在为选育抗寒优质香蕉新品种提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料和处理 以巴西蕉未成熟雄花诱导的愈伤组织和芽体作为外植体, 经过⁶⁰Co- γ 辐照(辐射剂量梯度为40、60、70、80、100 Gy), 挑选各梯度辐射后长势较好的外植体, 以14、10、7、4℃梯度降温进行筛选(每个梯度处理时间为2周), 将筛选出来的2个抗寒株系(抗寒9号、抗寒11号)于2013年10月移栽至中国热带农业科学院香蕉实验基地, 土地条件、栽培管理水平一致。2014年7月底, 蕉果棱角饱满, 达7成熟度时采收, 24 h内运至实验室, 选择果型均匀、健康饱满, 无伤、无病虫害的香蕉果实, 浸泡于3%的

收稿日期: 2015-02-04

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-32); “十二五”农村领域国家科技计划(2011AA0020605); 海南省自然科学基金(314116)

作者简介: 黄旭(1988-) 男, 海南大学农学院2012级硕士研究生, E-mail: 604814685@qq.com

通信作者: 徐碧玉, 研究员, 主要从事香蕉生物技术方面的研究, E-mail: biyuxu@126.com

NaClO 水溶液中, 10 min 后取出, 晾干。乙烯(浓度为 $100 \mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度为 24°C) 处理 5 d 达到最佳食用期时取样, 用于糖和淀粉含量的测定。对照为与辐射株系同期种植、相同成熟度的未经辐射和低温筛选的巴西蕉。

1.2 测定方法 用 waters2695-3300ELSD 高效液相色谱仪测定香蕉果实中的糖组分及含量; 紫外分光光度计法测定淀粉含量。

1.2.1 糖的提取和测定方法 取香蕉果肉在 0.5% 的 NaHSO_3 中护色 10 min, 于 40°C 恒温箱中烘干至恒重(约 24 h), 然后磨成香蕉粉备用。准确称取 300 mg 香蕉粉至 2 mL 离心管中, 加入 1.5 mL 蒸馏水, 放入 80°C 恒温水浴锅中 30 min, $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清至 50 mL 离心管, 残渣用 1 mL 蒸馏水再提取 2 次, 合并上清液, 加入 15 mL 无水乙醇, 颠倒混匀, 静置 10 min, 沉淀蛋白, $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清至小烧杯中, 80°C 烘干溶液, 加入 2 mL 超纯水溶解, 涡旋混合后用 1 次性注射器抽取样液, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 孔水系滤膜针头过滤注入样品瓶中待上机分析。糖组分及其含量用 waters2695-3300ELSD 高效液相色谱仪测定, 色谱条件为: 柱子为氨基柱, 流动相为 $V_{\text{乙醇}} : V_{0.1\% \text{ 氨水}} = 75 : 25$, 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 30°C , 进样量 $10 \mu\text{L}$, 根据标准曲线计算香蕉果实中各糖组分及其含量。

1.2.2 总淀粉的提取和含量测定 香蕉果肉浸入 0.5% 的 NaHSO_3 溶液中护色 10 min, 于 40°C 干燥 20 ~ 24 h, 磨粉, 水洗离心, 残渣用 5 mL 的 80% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 悬浮, 在沸水中水浴 10 min, 低速离心($4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 5 min 后, 将上清液转入 20 mL 容量瓶中, 残渣用 80% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 重复提取 2 次, 合并提取液, 定容至 20 mL。每个处理重复 3 次。取淀粉液 0.05 ~ 2 mL(视样品淀粉含量高低), 用 80% 的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 补充至 2 mL, 加入 $100 \mu\text{L}$ 的 $\text{I}_2\text{-KI}$ 溶液, 混匀后于 620 nm 波长下测定吸光度值, 代入标准曲线, 计算样品总淀粉含量, 计算方法参考文献 [17]。

1.2.3 直链淀粉和支链淀粉含量测定 称取 100 mg 的香蕉粉于 50 mL 离心管中, 加入 1 mL 的 95% 乙醇和 9 mL 的 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$, 40°C 恒温箱内放置 24 h。将溶液移入 100 mL 容量瓶中并用蒸馏水定容, 混匀后取 5 mL 移入新的 100 mL 容量瓶中, 加入 1 mL 的 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸和 2 mL 的 $\text{I}_2\text{-KI}$ 溶液后定容至 100 mL。在 30°C 恒温箱中静置 20 min, 在 620 nm 波长下测定吸光度值, 代入标准曲线, 计算样品直链淀粉含量, 计算方法参考文献 [18], 支链淀粉含量为总淀粉减去直链淀粉含量^[19]。

1.2.4 数据处理 采用 SAS 9.0 软件 LSD 法多重比较进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 2 个抗寒株系香蕉果实中糖的组分及含量 由表 1 可知 2 个抗寒株系果实中均含有蔗糖、葡萄糖和果糖, 且 3 种糖含量相差不大($241.22 \sim 280.67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 约占总糖的 30% ~ 35%; 但与对照相比, 抗寒 9 号和抗寒 11 号 3 种糖含量均有所升高, 其中, 蔗糖含量增加最明显, 抗寒 9 号较对照提高了 34.6%, 抗寒 11 号提高了 22.3%, 果糖和葡萄糖含量较对照也有所提高, 其中, 果糖含量提高了 9.9% 和 12.02%, 葡萄糖含量提高了 22.2% 和 21.42%。抗寒 9 号和抗寒 11 号的总糖含量分别提高了 17.56% 和 15.37%。

表 1 抗寒 9 号、抗寒 11 号 and 对照香蕉果实中的糖组分和含量

Tab. 1 Change of glucose, fructose, sucrose and the total sugar content of fully ripe banana in cold-tolerant banana lines Kanghan 9 and 11 and the control

品系名称 Species	蔗糖含量 Sucrose content	葡萄糖含量 Glucose content	果糖含量 Fructose content	总糖含量 Total sugar content
对照 Control	$197.27 \pm 0.50\text{Bb}$	$227.00 \pm 0.09\text{Bb}$	$250.60 \pm 0.03\text{Bc}$	$674.87 \pm 0.49\text{Bb}$
抗寒 9 号 Line Kanghan 9	$265.47 \pm 0.64\text{Aa}$	$277.40 \pm 0.14\text{Aa}$	$275.40 \pm 0.04\text{Ab}$	$818.27 \pm 1.65\text{Aa}$
抗寒 11 号 Line Kanghan 11	$241.22 \pm 0.09\text{Aa}$	$275.60 \pm 0.13\text{Aa}$	$280.67 \pm 0.20\text{Aa}$	$797.47 \pm 1.20\text{Aa}$

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$), 下同

Note: The values with different lowercase letters within the same column indicate significant difference ($P < 0.05$), and those with different uppercase letters indicate highly significant difference ($P < 0.01$), similarly hereinafter

LSD 多重比较结果表明 与对照相比 2 个抗寒株系果实中糖组分含量及总糖含量存在极显著 ($P < 0.01$) 差

异。不同品系香蕉果实中蔗糖含量的大小顺序为抗寒 9 号>抗寒 11 号>对照。其中 抗寒 9 号蔗糖含量最高, 为 $265.47\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 其次为抗寒 11 号($241.22\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 均极显著高于对照的 $197.27\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 果实中葡萄糖大小顺序为抗寒 11 号>抗寒 9 号>对照 其中 抗寒 9 号和抗寒 11 号分别为 $277.40\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $275.60\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 两者差异显著($P<0.05$) 但都极显著($P<0.01$) 高于对照($227.00\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$); 果糖含量顺序为抗寒 11 号>抗寒 9 号>对照 其中 抗寒 11 号与抗寒 9 号两者差异显著($P<0.05$) 与对照相比 均达到极显著($P<0.01$) 差异; 果实中总糖含量大小顺序为抗寒 9 号>抗寒 11 号>对照 其中 以抗寒 9 号为最高($818.27\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 对照最低($674.87\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 极显著($P<0.01$) 低于抗寒 9 号和抗寒 11 号。

2.2 2 个抗寒株系香蕉果实中的淀粉含量 淀粉按照化学结构不同分为直链淀粉和支链淀粉 2 大类。由表 2 可知 抗寒 9 号和抗寒 11 号成熟果实的总淀粉、直连淀粉、支链淀粉含量均高于对照。其中 抗寒 9 号、抗寒 11 号 and 对照的总淀粉含量分别为 19.54 49.77 和 $9.57\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 与对照相比 抗寒 9 号提高了 16.7% 抗寒 11 号提高了 17% ; 直链淀粉含量分别为 7.5 8.64 和 $2.23\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 提高幅度为 72.9% 和 76.5% ; 支链淀粉含量分别为 12.04 41.13 和 $7.34\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 提高幅度为 37.4% (抗寒 9 号) 和 81.7% (抗寒 11 号); 直/支比以抗寒 9 号的最高(0.62) 其次是对照(0.30) 抗寒 11 号最低 仅有 0.21 。

从表 2 还可知 抗寒 9 号、抗寒 11 号 and 对照的总淀粉含量存在显著差异 由高到低排序为: 抗寒 11 号>抗寒 9 号>对照 三者总淀粉含量均达到极显著差异($P<0.01$) 水平; 直链淀粉和支链淀粉含量的高低排序为: 抗寒 11 号>抗寒 9 号>对照 其中 抗寒 9 号和抗寒 11 号直连淀粉的含量差异极显著($P<0.01$) 而两者直连淀粉含量均极显著高于($P<0.01$) 对照; 抗寒 11 号支链淀粉含量极显著高于抗寒 9 号 and 对照 抗寒 9 号与对照差异显著($P<0.05$); 抗寒 11 号与对照直/支比达到显著($P<0.05$) 差异水平 两者与抗寒 9 号相比 均差异极显著($P<0.01$)。实验结果说明 2 个抗寒株系与对照株系总淀粉、直连淀粉、支链淀粉和直/支比存在明显差异 这可能是导致不同株系香蕉果实糯性、口感以及质地不同的原因。

表 2 3 个品系香蕉果实不同类型淀粉对比分析

Tab. 2 Comparative analysis of different types of starches in banana fruit from three banana lines				
品系名称 Species	总淀粉/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) Total starch content	直链淀粉/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) Amylose content	支链淀粉/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) Amylopectin content	直/支 Amylose/amylopectin ratio
对照 Control	$9.57\pm0.02\text{Cc}$	$2.23\pm0.01\text{Bc}$	$7.34\pm0.02\text{Bc}$	$0.30\pm0.01\text{Bb}$
抗寒 9 号 Line Kanghan 9	$19.54\pm0.07\text{Bb}$	$7.50\pm0.04\text{Ab}$	$12.04\pm0.20\text{Bb}$	$0.62\pm0.01\text{Aa}$
抗寒 11 号 Line Kanghan 11	$49.77\pm1.53\text{Aa}$	$8.64\pm0.15\text{Aa}$	$41.13\pm0.48\text{Aa}$	$0.21\pm0.03\text{Bc}$

3 讨 论

糖类物质是果实甜味增加的主要原因。果实成熟初期 植物光合作用制造大量的淀粉 贮藏在果肉细胞中 因此 果实成熟初期无甜味 随着果实的发育成熟 大量淀粉转化为糖类 果实的甜味也随之增加。糖的种类与果实甜味密切相关 其中 果糖对果实甜味的贡献度最大 其次是蔗糖 再次是葡萄糖^[20]。本实验结果表明 抗寒 9 号和抗寒 11 号果糖含量均显著高于对照 因此 抗寒 9 号和 11 号的甜味会高于对照株系; 总糖含量也明显高于对照。但是 随着人类生活水平的提高 对健康的要求也越来越高 过高的糖含量不利于人类健康 尤其是老年人。香蕉品质好坏的界定 取决于食用的不同年龄阶层人群。

淀粉含量的高低是衡量果实粘度与糯性的重要标志。以水稻为例 我国东北稻米糯性强 食味好 其原因就是直连淀粉含量低 相反南方稻米直链淀粉含量高 糯性差。直链淀粉含量低 支链淀粉含量高, 直/支比低 淀粉糊化和膨胀特性好^[21]。香蕉的糯性也是评价其食用品质的一个重要指标 而淀粉含量高 低是糯性形成的基础^[22]。抗寒 11 号的总淀粉最高 且直/支比最低 其粘性和糯性强于抗寒 9 号 and 对照。

植物蔗糖、果糖、葡萄糖均为可溶性糖 在低温胁迫下 植物体为了平衡低温胁迫造成的伤害 一般通过增加可溶性糖等物质进行渗透调节。从总糖含量来看 经过低温筛选的香蕉辐射诱变株系果实中可溶性糖含量明显高于对照株系的 可能增加了诱变株系对低温的适应性。淀粉和糖均属于碳水化合物 叶片光合作用加强积累更多碳水化合物可能与幼苗期低温筛选有关。植物为抵抗低温冷害从而积累更多的碳水化合物 这与本研究中抗寒 9 号和抗寒 11 号总糖和总淀粉含量的增加一致^[9-11]。本研究发现 抗

寒 9 号和 11 号果实中总淀粉和总糖含量显著高于对照,总淀粉含量的增加是否提高了诱变株系对低温的适应性,仍需要进一步验证。

参考文献:

- [1] KUKIMURA H. Mutation breeding in sweet potato and tuber crops [J]. Gamma Field Symp, 1986, 25: 109–130.
- [2] WANG Y, WANG F, ZHAI H, et al. Production of a useful mutant by chronic irradiation in sweet potato [J]. Science, 2007, 35(1): 24–34.
- [3] 孙玉, 刘军民. 我国大豆辐射诱变育种研究进展与展望 [J]. 山东农业科学, 2008(10): 14–17.
- [4] SHIN J M, KIM B G, SEO S G, et al. Mutation breeding of sweet potato by gamma-ray radiation [J]. African Journal of Agricultural Research, 2011, 6(6): 1447–1454.
- [5] 林玲, 孙光明, 李绍鹏, 等. 园艺植物果实中糖代谢的研究进展 [J]. 华南热带农业大学学报, 2005, 11(4): 37–41.
- [6] PANCOAST H M, JUNK W R. Handbook of sugars [M]. 2nd ed. Westport Connecticut: AVI Publishing Company Inc, 1980.
- [7] SCHAFFER A A, PETREIKOV M, MIRON D. Modification of carbohydrate content in developing tomato fruit [J]. Horticultural Science, 1999, 34(6): 1024–1027.
- [8] 秦巧平, 张上隆, 谢鸣, 等. 果实糖含量及成分调控的分子生物学研究进展 [J]. 果树学报, 2005, 22(5): 519–525.
- [9] BARTEL S D, NELSON D. Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics [J]. Plant Cell & Environment, 1994, 17(5): 659–667.
- [10] BOHNERT H J, NELSON D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stresses [J]. Plant Cell, 1995, 7(7): 1099–1111.
- [11] SICHER R. Carbon partitioning and the impact of starch deficiency on the initial response of Arabidopsis to chilling temperatures [J]. Plant Sci., 2011, 181(2): 167–176.
- [12] 元白岩, 周冬琴, 於朝广, 等. 8 种含笑属植物的抗寒性研究 [J]. 江苏农业科学, 2010(5): 258–263.
- [13] SIMMONDS N W. Tropical Science Series: The Evolution of the Bananas [M]. London: Longmans, 1962: 1–12, 170.
- [14] 李丰年, 黄秉智. 香蕉⁶⁰Co 辐射诱变效应的初步研究 [J]. 广东农业科学, 1996(3): 29–31.
- [15] 郭安熙, 范家霖, 杨保安, 等. 菊花花色辐射诱变研究 [J]. 核农学报, 1997, 11(2): 65–71.
- [16] 张上隆, 陈昆松. 果实品质形成与调控的分子生理 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 2–72.
- [17] XU Changjie, CHEN Wenjun, CHEN Kunsong, et al. A simple method for determining the content of starch-iodine colorimetry [J]. Biotechnology, 1998, 8(2): 41–43.
- [18] 张小明, 石春海, 包根良, 等. 稻米直链淀粉含量测定方法研讨 [J]. 植物遗传资源科学, 2002, 3(1): 31–35.
- [19] 曾凡遒, 赵新, 周添红, 等. 双波长比色法测定马铃薯直链/支链淀粉含量 [J]. 现代食品科技, 2012, 4(2): 10.
- [20] DOTY T E. Fructose sweetness: a new dimension [J]. Cereal Foods World, 1976, 21(2): 62–63.
- [21] ZHAO X C, BATEY I L, SHARP P J, et al. A single genetic locus associated with starch granule properties and noodle quality in wheat [J]. Journal of Cereal Science, 1998, 27(1): 7–13.
- [22] 苗红霞, 金志强, 孙佩光, 等. 3 个香蕉品种的果实淀粉形状与含量及风味物质比较 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(3): 560–564.

Change of Sugar and Starch Content in Cold Tolerant Banana lines by Radiation Mutagenesis

HUANG Xu^{1,2}, WANG Anbang^{1,2}, MIAO Hongxia², LIU Juhua², JIA Caihong², JIN Zhiqiang², XU Biyu^{1,2}

(1. College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou 571101, China)

Abstract: Banana (*Musa acuminata* L. AAA group, ‘Brazilian’) calli and buds induced from immature male flowers were used as explants, radiated with ⁶⁰Co- γ ray for mutagenesis and then screened by low temperature selection. Banana plants of two cold tolerant lines (Kanghan 9 and Kanghan 11) and the control without radiation treatment were determined in terms of starch, total sugar, glucose, fructose and sucrose. The two cold-tolerant banana lines contained highly significantly higher total sugar, sucrose, fructose and glucose in the banana fruit than the control ($P < 0.01$) and also had higher content of total starch, amylose and amylopectin in the fruit than the control. However, Kanghan 11 had a lower amylose/amylopectin ratio in the fruit than the control.

Key words: banana (*Musa acuminata* L. AAA group, ‘Brazilian’); cold-tolerant lines; starch content; sugar content