

# 离子注入某些花卉种子的生物效应

毛培宏<sup>1</sup>, 郝微丽<sup>2</sup>, 金 湘<sup>1</sup>, 林 成<sup>3</sup>, 曾宪贤<sup>1</sup>

(1. 新疆大学离子束生物工程中心; 2. 乌鲁木齐市蔬菜科学研究所; 3. 新疆农业大学园艺系, 乌鲁木齐 830052)

中图分类号: Q947.8; S681 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2003)05-0056-02

近十年来, 离子注入技术的应用已从材料改性等方面发展成一种新型的生物诱变手段, 并以其独特的诱变机理和较显著的生物学效应受到关注, 被广泛地应用于植物、微生物育种和外源 DNA 大分子转导<sup>[1~6]</sup>。离子注入的质量、电荷、能量参数可按需要进行不同组合, 这种联合作用不但使诱变具有较高的方向性和可控性, 还可使产生的生物学效应比单一辐射更为丰富, 这就为筛选有利的突变型提供了较大的空间。

中国是世界上花卉物种最丰富的国家之一, 被誉为“世界园林之母”, 在世界上许多常见的花卉中, 原产中国的占一半左右, 这些种类经过园艺化后是发展花卉业的宝贵资源。花卉业作为我国种植业的新兴产业, 是促进城乡绿化美化并与生态建设、人们生活息息相关的重要产业, 也是当今世界最具活力的产业之一。我们将离子注入技术应用于花卉育种, 以期获得奇、特、怪、异、稀有的花卉, 从而积累更多有价值的种质资源。本文主要报道离子注入花卉种子后的生物学效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 花卉种子

福祿考(*Phlax drummondii* Hook)、早小菊(*Chrysanthemum parthenium* Pers.)、加勒比一串红(*Salvia splendens* Ker-Gawl.)、矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm.)、茴香(*Foeniculum dulce* Mill)、孔雀草(*Tagetes patula* L.)、麦杆菊(*Helichrysum bracteatum* Andr.)、麦杆菊(法国)、万寿菊(*Tagetes erecta* L.)、百日草(*Zinnia elegans* Jacq.)等花卉种子均由乌鲁木齐市蔬菜科学研究所提供。

### 1.2 离子注入

分别将不同的花卉种子均匀平铺于 LCD-1000 型多功能离子注入机大真空室的自动靶盘上, 采用能量 35KeV、剂量  $4 \times 10^{16}$  ions/cm<sup>2</sup> 和  $6 \times 10^{16}$  ions/cm<sup>2</sup> 的氮离子(N<sup>+</sup>) 在  $3.3 \times 10^{-3}$  Pa 真空状态下, 以 5 s/次的脉冲方式注入花卉

第一作者简介: 毛培宏, 1983 年毕业于华中农业大学, 获农学学士学位, 副研究员。1983 年 8 月至今一直从事微生物学、分子生物学和离子束育种等方面的研究及应用工作, 参加了省部级科研项目 8 项, 主持完成了国家和新疆科研项目 5 项。获新疆科技进步二等奖 3 项、三等奖和四等奖各 1 项, 获联合国 TIPS 创新奖 1 项。在国内学术刊物上发表论文 29 篇; 在影响因子 2.92 的国外学术刊物上发表论文 3 篇; 参与著书一部。现参加科研项目 3 项, 主持科研项目 1 项。

\*新疆自然科学基金资助项目(2001)。乌鲁木齐市重大基金项目(Y0010)。“十五”国家科技攻关计划(2001BA302B)。

收稿日期: 2003-04-24

种子。每个品种设 1 个对照。

### 1.3 播种与管理

2002 年 4 月 18 日将离子注入的花卉种子播种于营养钵中, 每个处理及对照均为 10 钵, 每钵 1 粒。5 月 29 日将花苗移植到花盆中。处理与对照的水、肥、光照等管理相同。

## 2 结果与分析

离子注入花卉种子的当代生物学效应表

花卉品种	离子注入剂量 (N <sup>+</sup> /cm <sup>2</sup> )	出苗率		株高		其他 变异情况
		%	提高%	cm	增加%	
福祿考	$4 \times 10^{16}$	50	66.67	5		
	$6 \times 10^{16}$	60	100.00	50	25.00	
	对照	30		40		
早小菊	$4 \times 10^{16}$	50				分枝 15~17
	$6 \times 10^{16}$	60	20.00			分枝 15~17
	对照	50				分枝 8~12
矮牵牛	$4 \times 10^{16}$	50	66.67	50	42.86	
	$6 \times 10^{16}$	40	33.33	55	57.14	
	对照	30		35		
茴香	$4 \times 10^{16}$	70	16.67	60	7.14	
	$6 \times 10^{16}$	50		64	14.29	
	对照	60		56		
孔雀草	$4 \times 10^{16}$	80	14.29	78	14.71	
	$6 \times 10^{16}$	70		74	8.82	
	对照	70		68		
加勒比一串红	$4 \times 10^{16}$	70	40.00	42	20.00	
	$6 \times 10^{16}$	80	60.00	43	22.86	
	对照	50		35		
麦杆菊	$4 \times 10^{16}$	80	33.33	85	16.44	
	$6 \times 10^{16}$	90	50.00	79	8.22	
	对照	60		73		
麦杆菊(法)	$4 \times 10^{16}$	90	12.50	68	9.68	
	$6 \times 10^{16}$	70		72	16.13	
	对照	80		62		
万寿菊	$4 \times 10^{16}$	90	12.50	65	38.30	株型、叶型变异
	$6 \times 10^{16}$	80		68	44.68	
	对照	80		47		
百日草	$4 \times 10^{16}$	90	12.50	81	17.39	花型、花色变异
	$6 \times 10^{16}$	90	12.50	83	20.29	
	对照	80		69		

利用两种离子注入剂量分别处理了 10 种花卉种子, 试验结果(表)表明, 不同的离子注入剂量能不同程度地提高花卉种子的出苗率, 9 个品种的株高有不同程度增加, 而低剂量( $4 \times 10^{16}$  ions/cm<sup>2</sup>)的 N<sup>+</sup> 注入明显抑制了福祿考(*Phlax drummondii*) 的生长, 其株高只有对照株高的 12.5%。特别是离子注入早小菊(*Chrysanthemum parthenium*)、万寿菊(*Tagetes erecta*) 和百日草(*Zinnia elegans*) 的生物学效应显著: 早小菊的分枝比对照多 4~8 个; 万寿菊株高增加, 茎秆变粗, 叶片变大、变厚; 百日草花型、花色发生多种变异。

## 3 讨论

<sup>60</sup>Co-γ 射线是花卉最常用的辐射诱变源<sup>[7]</sup>, 而离子注入作为一种新的诱变源, 与传统的诱变源如 X 射线、γ 射线及化学诱变剂的作用机理有着本质的差异<sup>[8]</sup>。本研究结果表明, 低能 N<sup>+</sup> 注入花卉种子的当代生物效应明显, 株型、花型和花色发生了多种变异, 预示着离子注入技术在花卉育种中的广阔的应用前景。

蝴蝶兰属热带气生兰, 多产于热带亚洲, 其株型美观、色彩艳丽、花期持久, 在热带兰中有“兰花皇后”之美称, 是兰科植物中栽培最广泛、最普及的种类之一, 它属单茎性气生兰, 植株极少发育侧枝, 常规情况下种子发育不完全, 极难萌发。因此世界

上多采用组织培养来繁殖种苗。台湾及东南亚一些国家利用组织培养技术对蝴蝶兰进行了工厂化生产, 并出口欧美获得了较大的经济效益。胚培养技术比较简单, 为此我们对蝴蝶兰胚培养技术和快速繁殖进行了系统的研究, 为我国的蝴蝶兰的大规模工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

3个蝴蝶兰杂交品种。即红花5号, 粉红1号, 条纹1号。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒 将蝴蝶兰杂交种的果荚, 以70%的酒精表面消毒15 s(秒)后置于10%次氯酸钠溶液中消毒15 min(分钟), 再用0.1%的氯化汞消毒5 min(分钟), 再用无菌水冲洗5~6次。

1.2.2 接种 超净工作台上, 用无菌手术刀将果荚前后两端各切去一部分以不露出胚为好。然后用手术刀把中间部分切开, 用无菌镊子夹出其中的胚, 浸入小半瓶无菌水中, 使之扩散均匀。最后用吸管将胚带水吸出接种在培养基上。每瓶胚量不能太多。

1.2.3 培养条件 培养基采用1/2MS, VW, 改良KC和改良N6, 进行播种胚培养试验。培养温度25℃~28℃, 每日光照10 h~12 h(小时), 光照强度1 600 lx~2 000 lx(勒克斯)。

2 结果与分析

2.1 胚在不同培养基上发芽、生长情况

分别以1/2MS, VW, 改良KC和改良N6为培养基, 加入5%香蕉汁, 将红花1号, 粉红1号, 条纹1号金黄色胚无菌播种后, 进行观察, 从表可以看出, 在4种培养基上胚生长情况不一样, 在改良KC培养基中胚的萌发情况和成苗率都最好。无菌播种一周后。胚由金黄色转为淡黄色。这是由于胚吸水膨胀, 撑破种皮形成淡黄色胚, 然后胚由淡黄色转为绿色, 2个月后形成第一个芽鞘。

收稿日期: 2003-04-15

蝴蝶兰的胚培养技术及其快速繁殖研究

王慧瑜<sup>1</sup>, 张晓申<sup>1</sup>, 杨录军<sup>1</sup>, 李平<sup>2</sup>

(1. 郑州市农科所生物技术中心, 郑州 450005; 2. 陕西咸阳渭丰种子站, 咸阳 712300)

摘要: 对3种蝴蝶兰属植物进行了胚培养试验和快速繁殖研究。结果表明: 种子胚的成熟程度影响成苗量; 蝴蝶兰胚培养的最适培养基为改良KC, 糖的最适浓度为3%; 加入香蕉汁能提高萌芽率, 萌发后加入活性炭对幼苗生长有促进作用, 香蕉汁能促进根的生成和生长。

关键词: 蝴蝶兰; 胚培养; 试管苗; 快速繁殖

中图分类号: S682.31; S604<sup>+</sup>.3 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2003)05-0057-01

胚在不同培养基中的发芽、生长情况表

培养基	红花1号			粉红1号			条纹1号		
	萌发率 (%)	萌发芽数 (d)	成苗率 (%)	萌发率 (%)	萌发芽数 (d)	成苗率 (%)	萌发率 (%)	萌发芽数 (d)	成苗率 (%)
VW	80	15	70	75	15	70	85	10	80
KC	95	10	95	90	12	87	90	10	90
N6	85	12	80	80	15	70	80	10	75
1/2MS	80	12	75	80	15	75	85	10	80

2.2 不同成熟度种子胚对发芽的影响

在培养中发现, 荚果内种子胚的颜色为乳白色和淡白色, 播种后发芽率为30%左右, 并且生长也很慢, 部分胚自然变黑、老化死亡。果荚内种子胚颜色为乳黄色和淡黄色的, 播种后发芽率在50%左右, 生长较慢, 部分胚变黑、老化死亡。果荚内种子胚颜色为金黄色时。播种后发芽率在85%以上。生长较快。成苗率也较高。可见, 荚果的成熟度对种子胚播种后的发芽成苗有很大影响。

2.3 小苗的转接和移栽

把胚培养的小苗转接2~3次, 就可以长到4 cm(厘米)高, 具有3~4片叶的出瓶苗。转接培养基以改良KC, 附加香蕉汁15%, 活性炭0.4%, 蔗糖3%, 试管苗生长良好。

试管苗移栽以3~5月份内为好, 将试管苗取出, 用自来水清洗其根部的培养基, 将根部放于70%甲基托布津药液中消毒4 h(小时), 药液浓度为1500倍, 晾干后放于背荫处准备定植。定植材料为水苔, 定植后半个月, 每两周施肥一次。管理要求是: 温度18℃~28℃, 前两周湿度80%~90%为宜, 以后渐渐保持在70%左右。蝴蝶兰对光的要求是1500~2000 lx(勒克斯), 采用加盖2层60%的遮阳网为好, 移栽后2年内可以开花。

3 小结

蝴蝶兰胚培养以果荚不开裂消毒比较容易。胚的成熟度高出苗率也高, 胚的播种密度影响苗的生长速度。播种培养基是改良KC, 附加5%香蕉汁为好; 转接培养基以改良KC, 附加15%香蕉汁和活性炭0.4%为好, 以上培养基都附加蔗糖3%, 琼脂10 g/L, pH5.4为好。培养条件温度不要超过28℃, 转接2~3次即可出苗, 出苗时间要掌握在春季为好。

参考文献:

[1] 余增亮. 离子束生物技术引论[M]. 安徽科技出版社, 1996.  
[2] 余增亮. 离子束与生命科学——一个新的研究领域[J]. 物理, 1997, 26(6): 333~338.  
[3] 虞龙, 余增亮. 离子束生物工程及其应用研究[J]. 中国兽药杂志, 2001, 35(1): 55~59.  
[4] 曾宪贤. 离子注入甜菜种子生物效应[J]. 科学通报, 1999, 44(4): 382~384.

[5] Yu Zengliang. Ion Beam Application in Genetic Modification. IEEE Transaction on Plasma Science, Feb. 2000, 28(1): 128~132.  
[6] 李红, 吴丽芳, 余增亮. 低能离子介导水稻遗传转化的研究[J]. 核农学报, 2001, 15(3): 199~206.  
[7] 王艳, 任吉君. 我国花卉育种现状与发展策略[J]. 种子, 2002, (5): 37~39.  
[8] 曾宪贤. 离子注入甜菜杂交种当代生物效应[J]. 核技术, 2002, 25(3): 193~197.