

## 四种兰花辐射育种研究初报\*

彭绿春<sup>1</sup>, 黄丽萍<sup>2</sup>, 余朝秀<sup>1</sup>, 王玉英<sup>1</sup>, 李枝林<sup>1\*\*</sup>

(1. 云南农业大学花卉研究所, 云南 昆明 650201; 2. 云南农业大学外语学院, 云南 昆明 650201)

**摘要:** 以冬凤兰[*Cymbidium dayanum* Rehb.], 竹叶兰[*Arundian graminifolia* (D. Don) Hochr.], 碧玉兰[*C. lowianum* (Rehb. f.) Rehb.], 西藏虎头兰(*C. tracyanum* L.) 组培苗为材料, 进行<sup>60</sup>Co γ 射线不同剂量处理, 统计各处理植株死亡率、成活率及成活植株增殖率, 并观察当代表型变异率和进行回归模型分析, 初步结果表明: 冬凤兰、竹叶兰、碧玉兰、西藏虎头兰组培苗的半致死剂量分别为: 20.72 Gy, 26.31 Gy, 29.88 Gy, 41.04 Gy, 出现了植株矮化、变粗、叶变宽、叶尖分叉、叶上有淡绿斑, 叶扭曲等较明显的表型变化。

**关键词:** 兰花; 辐射诱变; 半致死量; 表型变化

**中图分类号:** S 682.31.032 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2007)03-0332-05

## Initial Research of Irradiation Breeding on Orchid

PENG Lu-chun<sup>1</sup>, HUANG Li-ping<sup>2</sup>, YU Chao-xiu<sup>1</sup>, WANG Yu-ying<sup>1</sup>, LI Zhi-lin<sup>1</sup>

(1. Floricultural Research Institute, Y A U, Kunming 650201, China;

2. Faculty of Foreign Studies, Y A U, Kunming 650201, China)

**Abstract:** Treated vitro plantlets of *Cymbidium dayanum* Rehb., *Arundian graminifolia* (D. Don) Hochr., *C. lowianum* (Rehb. f.) Rehb. and *C. tracyanum* L. with <sup>60</sup>Co γ ray of different dose, to stat plant death rate, survival rate, survival plants' proliferation rate, observed variation rate of character and took regression analysis, the results showed: the half-lethiferous dose of *Cymbidium dayanum* Rehb., *Arundian graminifolia* (D. Don) Hochr., *C. lowianum* (Rehb. f.) Rehb. and *C. tracyanum* L. vitro plantlets were respective 20.72Gy, 26.31Gy, 29.88Gy, 41.04Gy, and there were remarkable character mutation on treated plants such as: stems became dwarfer and stronger, leaves became broader, some leaves could be seen the splits like saw tooth, have light spots on them and tortility.

**Key words:** Orchid; irradiation mutation; half-lethiferous dose; character mutation

兰花泛指兰科植物中具有观赏价值的种类<sup>[1]</sup>, 是我国及世界人民喜爱的一种高档花卉, 具有较高的附加值和巨大的市场潜力。花卉育种工作是兰花产业发展的基础, 而长期以来, 由于技术和方法的局限, 人们普遍采取自然变异选择和驯化方法进行新品种选育, 得到的新品种非常有限, 满足不了市场需求。辐射诱变育种是一种新型育种方法, 一次处理能产生较多的表型变异材料, 扩大

突变谱, 产生染色体畸变和基因突变, 增加变异类型, 缩短育种年限<sup>[2]</sup>。世界上的花卉辐射育种研究涉及 32 个科 69 个属的上百种植物, 育成的品种数已逾千计<sup>[3,4]</sup>, 然而在兰花上却很少见在研或育成新品种的报道。本研究对 4 种兰花组培苗经 <sup>60</sup>Co γ 射线急性照射后的表型效应和适宜处理剂量进行了观测和分析, 为进一步的兰花辐射育种提供技术依据和实验方法基础。

收稿日期: 2006-09-22 修回日期: 2006-10-17

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(3060074); 云南省自然科学基金重点项目(2002C003P), 教育部春晖计划项目(Z-2005-2-65008)。 \*\* 通讯作者 E-mail: lzl-yn@sohu.com

作者简介: 彭绿春(1981-), 云南个旧市人, 彝族, 在读硕士研究生, 主要从事兰花复合育种研究。

1 材料和方法

1.1 材料

材料为云南农业大学花卉所的组培苗:冬凤兰、竹叶兰、碧玉兰、西藏虎头兰,编号分别为①,②,③,④。①,②号为约1 cm高的无根小苗,③号为约2 cm高的无根小苗,④号为约3 cm高的无根苗。

1.2 方法

2005年7月,处理材料在云南华源辐射有限公司进行<sup>60</sup>Co γ射线急性照射,处理剂量为0,5,10,20,30,40,50,60,70 Gy,共1个对照和8个梯

度水平。照射后统计死亡数、进行形态观察和记录(株高、死亡率、母株变异率、形态变异、增殖情况等),观察时间持续4个月,到损伤苗稳定为止。其中,变异指植株矮化、变粗、叶变宽、叶尖分叉、叶上有淡绿斑,淡色条纹,叶扭曲等形态异常现象;变异率是处理后存活苗中变异苗数与处理苗数的比值。

2 结果与分析

将辐射处理后的材料死亡率、增殖率、株高等相关指标列于表1。

表1 处理4个月后相关指标统计表  
Tab.1 Related indexes after treated four months later

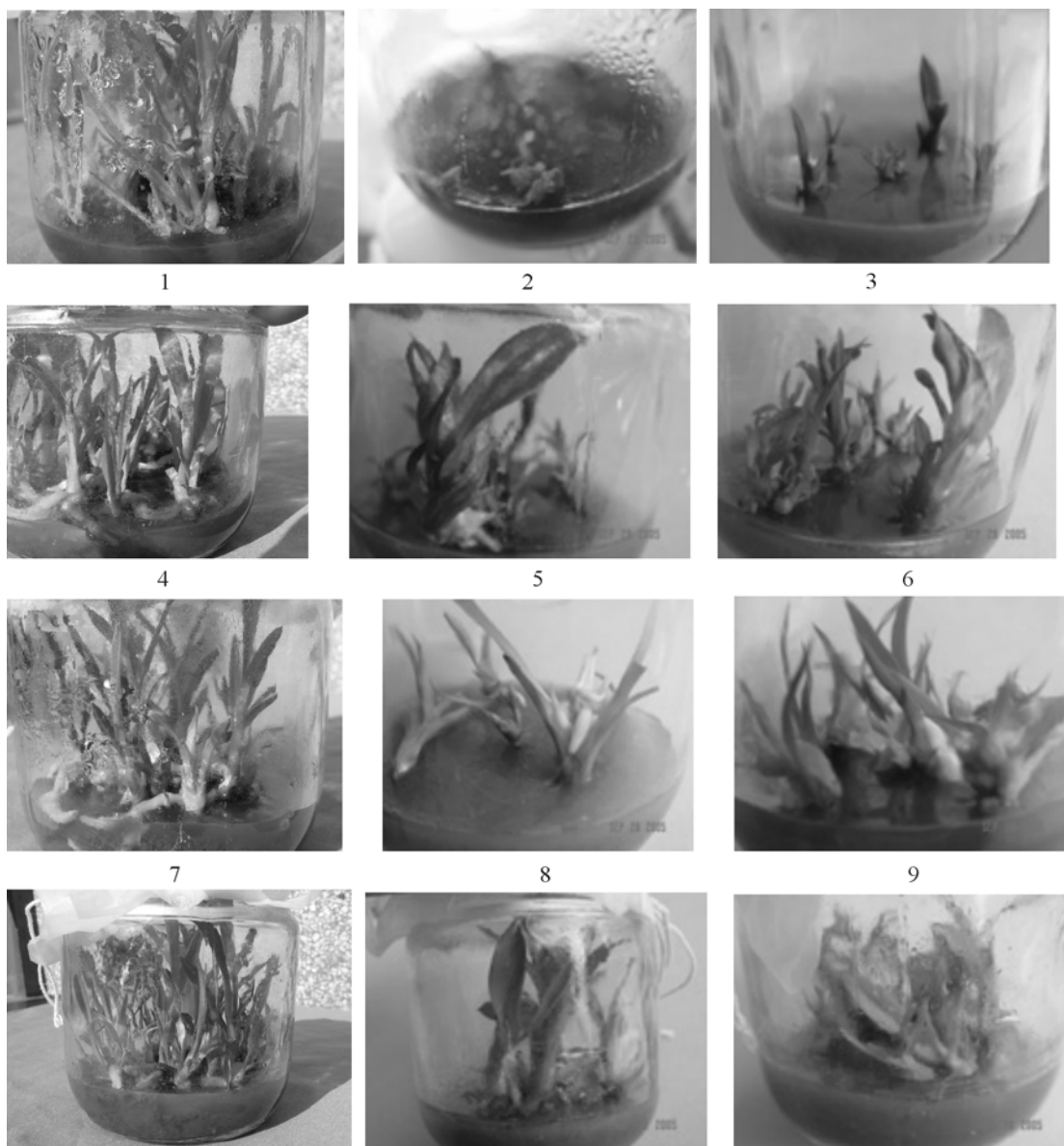
品种 species	剂量(GY) dose	接苗数/苗 original seedlings	死亡数/苗 death plants	死亡率/% death rate	母株变异数/苗 variation plants	母株变异率/% variation rate	增殖数/苗 prolife ration plants	增殖率/% prolife ration rate	平均株高/cm average height
①	0	27	0	0.00	0	0.00	76	281.00	5.0
	5	21	1	4.76	0	0.00	61	290.00	4.8
	10	20	3	15.00	2	10.00	35	175.00	2.2
	20	20	7	35.00	5	25.00	29	145.00	2.2
	30	21	12	57.14	8	38.10	8	38.00	2.0
	40	23	20	86.96	3	13.04	2	9.00	2.2
	50	24	22	91.67	2	8.33	0	0.00	2.3
	60	21	20	95.24	1	4.76	0	0.00	2.0
	70	22	20	90.91	2	9.10	0	0.00	1.8
②	0	20	0	0.00	0	0.00	58	290.00	5.0
	5	19	0	0.00	0	0.00	53	279.00	5.0
	10	20	3	15.00	3	15.00	22	110.00	1.8
	20	20	5	25.00	3	15.00	24	120.00	1.7
	30	20	9	45.00	8	40.00	17	85.00	1.5
	40	20	14	70.00	6	30.00	5	25.00	1.5
	50	20	18	90.00	2	10.00	1	5.00	1.3
	60	20	19	95.00	1	5.00	0	0.00	1.3
	70	20	18	90.00	2	10.00	0	0.00	1.3
③	0	21	0	0.00	0	0.00	65	309.52	4.0
	5	20	0	0.00	0	0.00	64	320.00	2.5
	10	20	3	15.00	1	5.00	52	260.00	1.8
	20	20	4	20.00	8	40.00	46	230.00	2.2
	30	20	7	35.00	11	55.00	10	50.00	2.5
	40	20	11	55.00	9	45.00	4	20.00	2.2
	50	20	17	85.00	3	15.00	0	0.00	2.0
	60	20	19	95.00	1	5.00	0	0.00	3.0
	70	20	19	95.00	1	5.00	0	0.00	2.5
④	0	20	0	0.00	0	0.00	67	335.00	5.0
	5	20	0	0.00	0	0.00	61	305.00	5.0
	10	20	0	0.00	3	15.00	50	250.00	4.0
	20	20	3	15.00	5	25.00	39	195.00	4.0
	30	20	5	25.00	9	45.00	16	80.00	3.8
	40	20	9	45.00	11	55.00	9	45.00	3.5
	50	20	13	65.00	7	35.00	3	15.00	3.0
	60	20	16	80.00	4	20.00	0	0.00	2.8
	70	20	18	90.00	2	10.00	0	0.00	2.8

从表 1 可知:随处理剂量升高,各处理材料死亡率、增殖率、变异率均降低,株高也随之不同程度降低,且 10 Gy 以后株高降低较明显。

### 2.1 辐射处理对表型的影响

经辐射处理,4 种材料均出现较明显的形态异常,如植株矮化、变粗、叶变宽、叶尖分叉、叶上有淡绿斑,

叶扭曲等(见版图 1),这是由于射线损伤细胞或抑制分裂,引起生长调控系统障碍导致生长不平衡所致。另从表 1 中也可看出,各材料株高均随处理剂量升高而降低,5 Gy 到 10 Gy 处理范围降低较明显,10 Gy 以上各处理间的矮化程度更明显。从表型变化看, $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线对兰花组培苗的诱变效果明显。



10 冬凤兰对照;2,3 冬凤兰变异苗;4 竹叶兰对照;5,6 竹叶兰变异苗;7 碧玉兰对照;  
8,9 碧玉兰变异苗;10 西藏虎头兰对照;11,12 西藏虎头兰变异苗

1 *Cymbidium dayanum* Rehb. f. control;2,3 *Cymbidium dayanum* Rehb. f. mutation plantlets;  
4 *Arundian chinensis* control;5,6 *Arundian chinensis* mutation plantlets;  
7 *C. lowianum* Rehb. f. control;8,9 *C. lowianum* Rehb. f. mutation plantlets;  
10 *C. tracyanum* L control;11,12 *C. tracyanum* L mutation plantlets

图 1 材料处理后形态变化

Fig. 1 Character mutation after treating

2.2 不同处理剂量对增殖率的影响

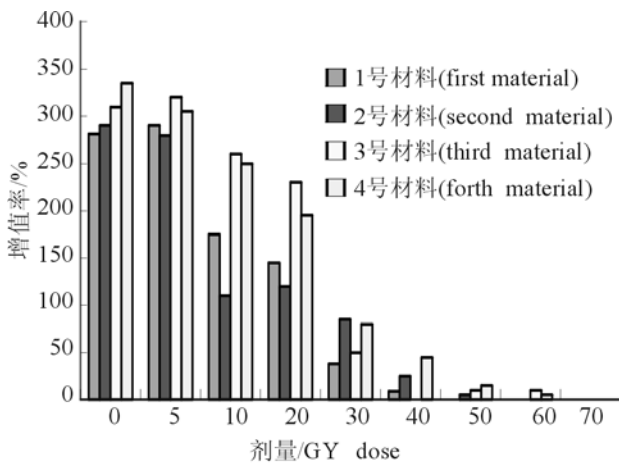


图2 增殖率随剂量变化图  
Fig.2 Change of proliferation rate following dose

由图2看出,虽然各材料间增殖率存在差异,但各材料都遵循一个趋势,即随剂量升高而增殖率降低,10 Gy以后降低趋势比较明显,40 Gy以后就几乎不增殖。

2.3 不同处理剂量对变异率的影响

由图3看出,虽然各材料间变异率存在差异,但各材料变异率的峰值均出现在30到40 Gy。由于随剂量升高死亡率增加,故变异率并非是随剂量升高而增加,且过高剂量处理后存活的材料,常因细胞严重损伤造成劣性突变或致死突变而掩盖了其它突变,不利于辐射育种<sup>[2]</sup>。

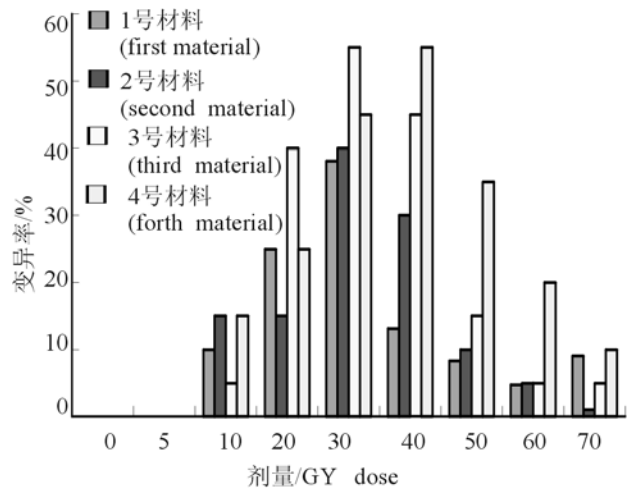


图3 变异率随剂量变化图  
Fig.3 Change of variation rate following dose

2.4 适宜处理剂量

辐射诱变育种成败的关键是采取适当的照射剂量,即达到较多的变异,又不致过大地损伤植株。经长期实践认为,一般剂量的选择通常采用半致死剂量(LD<sub>50</sub>),即植株存活率为50%时的照射剂量效果较佳<sup>[3]</sup>。用spss分析软件对4个品种进行回归分析,分别得出了4个品种处理剂量与死亡率关系的最优拟回归方程。又对各方程的相关系数进行了显著性测验,相关系数显著,表明处理剂量与死亡率之间有显著的线性关系,见表2。

表2 死亡率与处理剂量回归模型概述及参数估计表

Tab.2 Model summary and parameter estimates of death rate and dose

品种 species	model summary			parameter estimates				
	Equation	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
①		0.958	136.218	1	6	0.000	4.727	-16.89
	拟回归方程 (Linear equation)						$y = \exp[4.727 + (-16.89/x)]$	
②		0.897	43.651	1	5	0.001	4.773	-22.655
	拟回归方程 (Linear equation)						$y = \exp[4.773 + (-22.655/x)]$	
③		0.803	20.394	1	5	0.006	4.666	-22.530
	拟回归方程 (Linear equation)						$y = \exp[4.666 + (-22.530/x)]$	
④		0.967	115.741	1	4	0.000	5.182	-52.114
	拟回归方程 (Linear equation)						$y = \exp[5.182 + (-52.114/x)]$	

将各处理材料的50%死亡率y代入其回归方程,得出半致死剂量x(见表3)。从而计算出冬凤兰、竹叶兰、碧玉兰、西藏虎头兰组培苗的半致死剂

量即适宜处理剂量分别为:20.72 Gy,26.31 Gy,29.88 Gy,41.04 Gy。

表 3 各处理材料半致死剂量计算表  
Tab. 3 Half-lethiferous dose of materials

品种 species	拟回归方程 regression equation	死亡率 death rate	半致死剂量/Gy half-lethiferous dose
①	$y = \exp[4.727 + (-16.89/x)]$	50%	20.72
②	$y = \exp[4.773 + (-22.655/x)]$	50%	26.31
③	$y = \exp[4.666 + (-22.530/x)]$	50%	29.88
④	$y = \exp[5.182 + (-52.114/x)]$	50%	41.04

### 3 讨论

(1) 辐射诱发的变异类型和程度,主要依赖于辐照时植物所处的发育阶段、大小、长势和辐照的剂量。射线只能影响正在形成或即将形成的器官和组织,几乎不能改变已经形成的器官或组织的形态<sup>[4]</sup>。故材料的选择及根据所选材料确定适宜的照射剂量是辐射育种工作的首要步骤。组培苗具有较强的分化和形成新组织、器官的能力,是辐射育种较理想的材料。针对本次试验材料,笔者认为可以适当降低照射剂量的梯度,如将剂量梯度降到 5 Gy,这样可能使有益突变的剂量更精确。另外,低剂量的慢性照射是否会降低致死和劣性突变的出现率而获得更多的有益突变还有待研究。

(2) 辐射诱变育种过程中,突变嵌合体的分离和稳定是关键内容之一。BROERTJES 等证实离体培养再生,可以解决诱变育种过程中嵌合体形成的问题,提高变异的保存率,加快变异细胞的纯合,缩短育种周期<sup>[5]</sup>。目前,组织培养分离、稳定突变体已应用于甘薯、菊花等作物,是较有效的一种方法,并取得了较好成果<sup>[6,7]</sup>。本次试验中,在后续的继代、分离稳定过程中出现了较多变异的增殖芽,如叶尖分叉,叶片绿色与淡绿色,绿色与白色间色,叶变宽扭曲等,目前正在对突变体进行增殖和稳定。试验证明组培是分离突变体的一种有效方法。

(3) 诱变育种的局限性在于如何以有效的手

段鉴定和选择优良突变体<sup>[8]</sup>。大多数当代的突变性状不能遗传,本文报道的也仅只是表型上的变异,要想得到真正稳定的突变体,还需要以表型变异为基础进行多代的选择和细胞学水平、分子水平的鉴定,而经细胞学和分子水平鉴定的变异一般就是可遗传的变异,这样通过早期细胞学鉴定和分子鉴定可进一步缩短育种周期。

#### [参考文献]

- [1] 包满珠. 花卉学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [2] 杜若甫. 作物辐射遗传与育种[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [3] 王路. 花卉辐射育种浅谈[J]. 中国花卉盆景, 1997, (1): 16-18.
- [4] 徐冠仁. 植物诱变育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [5] BROERTJES C., ROEET S., BOKELMANN G S. Mutation breeding of *Chrysanthemum morifolium* Ram. Using in vitro and in vitro adventitious bud techniques[J]. Euphytica, 1976, 25: 11-19.
- [6] 林社军, 孙纪霞, 催广琴. 电子束辐射菊花组培苗诱变育种研究[J]. 山东农业科学, 2000, (5): 11-10.
- [7] 陆淑韵, 濮绍惊, 王家旭. 甘薯辐射和组培相结合筛选突变体[J]. 作物学报, 1993, 19(4): 309-313.
- [8] 高健, 卢惠萍. 花卉辐射诱变育种研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(3): 228-230.