

文章编号:1003-8701(2011)05-0013-03

吉林省主栽亚麻品种组织培养再生植株

刘艳芝¹, 樊丽华², 韦正乙¹, 王云鹏¹,
王士发¹, 刘淑莲¹, 谭化¹, 凤桐^{1*}

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 吉林省白山市外国语学校, 吉林 白山 134300)

摘要: 本试验主要选用吉林省主栽亚麻品种进行组织培养, 均获得了再生植株。研究结果: 吉亚 4 号无茵苗下胚轴上半部分不定芽诱导率为 47%, 下半部分不定芽诱导率达到 90%; IAA 对不定芽状态影响明显, 1.0 mg/L 为适宜浓度, 与 0.5 mg/L BA 组合外植体玻璃化现象较轻, 不定芽诱导率为 100%, 约 2 cm 高不定芽转到生根培养基, 再生植株移栽成活率为 80%。不同亚麻品种诱导不定芽能力差别不大, 诱导率均可以达到 90% 以上, 但是不同品种外植体培养过程中玻璃化程度有差异, 玻璃化外植体诱导的不定芽呈玻璃化状态, 不能正常生长。

关键词: 亚麻; 下胚轴; 不定芽; 再生植株

中图分类号: S563.203.53

文献标识码: A

Tissue Culture and Regeneration of Main Flax Cultivars in Jilin Province

LIU Yan-zhi¹, FAN Li-hua², Wei Zheng-yi¹, WANG Yun-peng¹,

WANG Shi-fa¹, LIU Shu-lian¹, TAN Hua¹, FENG Tong^{1*}

(1. Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Changchun 130033;

2. Jilin Baishan Foreign Language School, Baishan 134300, China)

Abstract: Tissue culture and regeneration of the main cultivars of flax in Jilin province was investigated in this study and regenerated plants were obtained. Research results were for cultivar 'Jiya No.4', adventitious buds regenerated from upper and lower part of hypocotyls derived from sterile seedlings with a ratio of 47% and 90%, respectively. The bud status was affected by IAA. The optimal concentration of IAA was 1.0mg/L. 100% of adventitious bud induction rate and less vitrification rate of explants was gotten on medium with 1.0mg/l IAA and 0.5mg/l 6-BA. Shoots regenerated was moved to rooting medium when they grow to approximate 2cm, and 80% of the regenerated plants survived when they were transplanted to soil. There was no significant difference among different cultivars and the adventitious bud rate could up to 90%. However, vitrification rate were rather different among varieties and the shoots from vitrified explants were vitrified and could not grow normally.

Keywords: Flax; Hypocotyls; Adventitious bud; Regenerated plant

油用亚麻(*Linum usitatissimum*)又称胡麻, 属于亚麻科(Linaceae)、亚麻属(Linum), 是我国一种重要的油料作物^[1]。随着转基因技术在农作物育种中的逐渐深入应用, 亚麻组织培养和转基因研究

也取得了一定进展, 已经建立了双亚 1 号、双亚 5 号、双亚 6 号、黑亚 11、7309、宁亚 1 号等和部分野生品种的再生体系^[2], 姬妍茹等^[3](2005)建立的亚麻直接分化再生体系个别品种绿苗诱导率可达 242.11%。

吉林省有 70 年的亚麻种植历史, 但是育种研究发展缓慢。目前主要种植吉亚系列的 4 个品种, 品种单一, 长麻率和抗倒伏性明显不如国外品种^[4],

收稿日期: 2011-03-30

作者简介: 刘艳芝(1964-), 女, 副研究员, 主要从事牧草等作物转基因研究。

通讯作者: 凤桐(1961-), 男, 研究员, E-mail: ftsz2225@163.com

需要利用先进的育种技术进行改良。本实验以吉林省主栽亚麻品种为材料，建立组织培养再生体系，旨在以此为基础建立转基因体系进而改良亚麻品种，为吉林省亚麻育种提供新的技术手段。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本实验以吉林省主栽亚麻品种吉亚 2 号、吉亚 3 号和吉亚 4 号为主要受体材料，同时供试的受体材料还有陇 10 和同白亚 1 号(由吉林省农科院经济作物研究所提供)。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体制备

选择饱满度好，有光泽的亚麻种子，用 75%乙醇浸泡 30 min，0.1% HgCl_2 浸泡 10 min，然后用无菌水冲洗 3 遍，接种到 MS_0 (不加激素)培养基上，在 25℃ 黑暗条件下培养 5~7 d，使用前两天使其置于 24℃，每天 16 h 光照条件下备用。

1.2.2 培养基

整个培养过程均使用 MS 基本培养基，诱导培养基中附加不同浓度的 IAA 和 BA；生根培养基中附加 IBA0.2 mg/L 或 NAA1.0 mg/L。

1.2.3 不定芽诱导及生根

将 7 d 苗龄无菌苗下胚轴切成 0.5 cm 左右小段，接种于诱导培养基上，24℃ 光照 16 h 条件下培养。培养 2 周后转移至 MS_0 培养基上，诱导出不定芽。约 2 cm 高不定芽转移至生根培养基，1 周即可长出白色的根(图 1)，待根长至 3 cm 左右移栽。

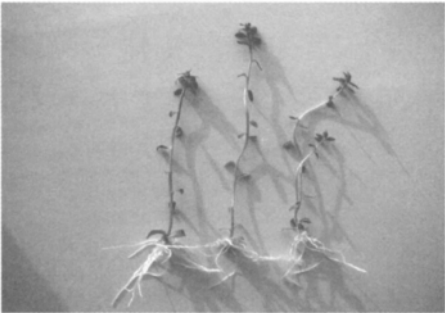


图 1 吉亚 4 号组织培养再生植株

2 结果与分析

2.1 不同外植体诱导不定芽结果

切取吉亚 4 号 7 d 苗龄无菌苗子叶、胚轴和根，子叶切去顶端 2/3，留下 1/3 子叶和叶柄；胚轴分上下两部分各切成 0.5 cm 小段；根也切成 0.5 cm 小段，3 种外植体分别接种于 $\text{M}_2(\text{MS}+\text{IAA}0.5 \text{ mg/L}+\text{BA}2.0 \text{ mg/L})$ 培养基上诱导不定芽，3 周观察统计，结果见表 1。

表 1 吉亚 4 号不同外植体在 M_2 培养基上诱导不定芽结果

外植体类别	接种外植体数	出愈外植体数	诱导不定芽外植体数	培养物状态
根	20	20	0	愈伤组织绿色，块状较硬，玻璃化
子叶	20	0	0	子叶膨大，较硬，芽原基生长出一个芽
下胚轴(上)(绿色)	28	28	13	愈伤组织绿色，块状较硬，玻璃化
下胚轴(下)(紫色)	35	35	35	平均每块外植体不定芽 1-2 个，部分玻璃化
				愈伤组织绿色，块状较硬，玻璃化，平均每块外植体不定芽 5-6 个，部分玻璃化

供试 3 种外植体诱导培养 3 周后，根和子叶均不能诱导出不定芽，只有下胚轴可以诱导出不定芽，上半部分下胚轴的诱导率为 47%；上半部分下胚轴的诱导率达到 90%。下胚轴下半部分不定芽诱导率虽然很高，但是玻璃化现象严重，玻璃

化的愈伤组织诱导的不定芽也呈玻璃化状态(图 2)，移栽后无法正常生长。

2.2 不同 IAA 浓度对外植体玻璃化影响

切取吉亚 4 号下胚轴切段接种于附加不同浓度 IAA 的诱导培养基 (MS 基本培养基， $\text{BA}2.0 \text{ mg/L}$)上，3 周观察统计，结果见表 2。

表 2 不同 IAA 浓度影响外植体玻璃化结果

IAA 浓度(mg/L)	接种外植体数	玻璃化外植体数	玻璃化百分率(%)
0.5	24	7	29.2
1	23	2	8.6
2	24	10	41.7
3	23	10	43.5
4	23	6	26.1

从表 2 可以看出，IAA 浓度过高或过低外植体玻璃化都比较严重，1.0 mg/L 为适宜浓度，外植体玻璃化率最低为 8.6%。实验结果还表明，IAA

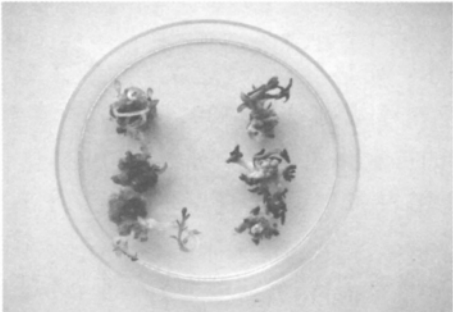


图 2 吉亚 4 号下胚轴诱导不定芽(玻璃化和正常不定芽)

浓度与外植体玻璃化率相关性不具有规律性 ,0.5 mg/L 和 4.0 mg/L 浓度外植体玻璃化率都相对较低 ,本实验设置 IAA 浓度范围为 0.5~4.0 mg/L ,或许在此范围之外还存在更适宜的浓度 ,但是从其它植物组织培养过程来看 ,过高的激素浓度会导致出现无性系变异现象 ,对以后的育种工作带来问题 ;过低激素浓度虽然可降低玻璃化程度 ,但

是对不定芽率会产生影响 ,从而降低以后转基因过程中的转化率。

2.3 不同 BA 浓度对外植体玻璃化影响

以 MS 为基本培养基 ,附加 IAA0.5 mg/L ,设置不同 BA 浓度组成不同的诱导培养基 ,同样以吉亚 4 号下胚轴为外植体 ,接种 3 周后观察统计 ,结果见表 3。

表 3 不同 BA 浓度影响外植体玻璃化结果

BA 浓度(mg/L)	接种数	玻璃化外植体数	玻璃化率(%)	不定芽生长势
0.25	36	9	25	+++
0.5	36	2	5.6	++
1.0	34	8	23.5	++
2.0	34	11	32.3	+

设置较低浓度的 IAA 与 BA 组合 ,观察 BA 浓度对外植体玻璃化的影响。实验结果表明 :BA 0.5 mg/L 时外植体玻璃化率为 5.6% ;其余 3 个浓度外植体玻璃化程度接近。但是从不定芽生长势来看 ,随着 BA 浓度的增高 ,不定芽的生长势减弱。转基因体系要求每块外植体不定芽数多 ,相应会提高转化率 ,但是不定芽数多生长势就会减弱 ,影响到再生植株的成活率 ,因此激素组合以诱导每块外植体不定芽数 3~5 个 ,生长势旺盛为最佳选择。

2.4 不同亚麻品种外植体玻璃化程度比较

以 MS 为基本培养基 ,附加 IAA1.0 mg/L 和 BA0.5 mg/L ,诱导 5 个亚麻品种下胚轴切段 ,观察外植体的玻璃化现象及生长势 ,结果见表 4。

表 4 不同亚麻品种下胚轴诱导不定芽结果

品种名称	接种数	玻璃化外植体数	玻璃化率(%)	生长势
吉亚 2 号	125	27	21.6	++
吉亚 3 号	84	24	28.6	++
吉亚 4 号	69	32	46.3	+++
陇 10	36	6	16.7	++
同白亚 1 号	50	0	0	+

5 个亚麻品种均能获得再生植株 ,只是再生能力不同 ,吉亚 4 号虽然玻璃化程度高 ,但是生长势好每块外植体上的不定芽数也多 ,因此可获得大量的再生植株 ;同白亚 1 号玻璃化程度低 ,但是生长势弱 ,每块外植体上不定芽数少 ,因此获得的

再生植株也少 ,且移栽成活率也低。

3 讨 论

供试亚麻品种下胚轴外植体都能诱导出不定芽 ,平均每块外植体 3~5 个芽 ,但是每个品种都存在玻璃化现象 ,只是程度不同。本实验将每个下胚轴均分为上中下 3 部分接种诱导不定芽 ,结果是从上到下玻璃化程度加重 ;下胚轴在诱导培养基上的培养时间为 5、10、15、20、25、30 d ,结果都有玻璃化现象 ,培养 20 d 和 25 d 的外植体玻璃化程度轻且诱导的不定芽多 ;降低诱导培养基中的激素浓度 ,即使是较低浓度的激素组合 ,也只是减轻玻璃化程度。玻璃化外植体也可诱导出不定芽 ,不定芽呈玻璃化状态 ,无法移栽成活。如何使亚麻组织培养过程中玻璃化程度降到最低还需要进一步实验解决。

参考文献 :

[1] 李文心 ,黄凤兰 ,郑 伟 ,等 . 油用亚麻低亚麻酸变异材料的定性鉴定及半粒法应用技术[J] . 中国油料作物学报 ,2004 ,26(4) : 82- 86 .

[2] 张志扬 ,陈信波 ,张 瑜 ,等 . 亚麻组织培养高频不定芽诱导体系[J] . 植物学通报 ,2007 ,24(5) :629- 635 .

[3] 姬妍茹 ,田玉杰 ,宋淑敏 ,等 . 亚麻直接分化再生系统的初步建立[J] . 生物技术通报 ,2005(3) :41- 46 .

[4] 周玉萍 ,徐 驰 ,牛海龙 ,等 . 吉林省亚麻产业发展的现状、存在问题与对策[J] . 中国麻业科学 ,2008 ,30(5) :268- 270 .