

胡麻胚状体诱导及植株再生的研究

赵 玮, 党占海, 张建平, 赵 利, 王利民, 党 照

(甘肃省农业科学院 作物研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘 要:以胡麻优良新品种陇亚 10 号为试验材料,探讨了培养基中不同的激素配比处理,外植体的取材对愈伤组织和胚状体诱导以及再生植株分化的影响。结果表明:最佳培养基为 MS+IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L;最适宜的外植体为下胚轴。

关键词:胡麻;愈伤组织;胚状体;再生植株

中图分类号:S 563.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)21-0174-03

胡麻(Linseed)属于亚麻科(Linaceae)亚麻属(*Linum*),即油用亚麻,是一种重要的油料作物。胡麻油富含 α -亚麻酸及各种不饱和脂肪酸,这些物质是人体必需的不饱和脂肪酸,具有促进人体智能、强身健脑、防止心血管疾病、抑制疾病基因等重要作用^[1]。胡麻籽油也是典型的干性油,可制造高档油漆、油墨、涂料等化工产品,在工业领域也在广泛应用^[2]。为充分利用甘肃省丰

富的胡麻资源,胡麻的品质改良和抗病性研究已被广泛关注。随着生物技术的广泛应用,已经深入到转基因等分子生物学领域,但利用该项技术的首要条件是建立一个高效的组织培养体系。组织培养中胚状体诱导具有增殖率高,结构完整,易成苗和可免去生根、繁殖速度快的优点,已受到各国生物工程技术人员的普遍重视^[3]。为此课题组在胡麻上开展了胚状体诱导及植株再生的研究,拟通过对不同的激素配比处理,外植体的不同取材等因素进行探讨,建立一个适宜于胡麻胚状体诱导及分化的再生体系,为胡麻的基因转化提供一种理想的转化受体培养方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为胡麻优良新品种‘陇亚 10 号’,由甘肃省农业科学院作物所提供。

第一作者简介:赵玮(1976-),男,在读硕士,助理研究员,现主要从事作物遗传育种工作。E-mail: 308214921@qq.com。

通讯作者:党占海(1955-),男,研究员,博士生导师,现主要从事遗传育种工作。E-mail: dangzh1955@yahoo.com.cn。

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(nycytx-22)。

收稿日期:2010-07-19

Research on *in vitro* Culture for Plant Regeneration and Cultivation of Ornamental of *Trachelospermum asiaticum* cv. Ougonnishiki

ZOU Qing-cheng ZHOU Jiang-hua ZHU Kai-yuan, LIU Hui-chun

(Research and Development Center of Flower, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Xiaoshan, Zhejiang 311202)

Abstract: *In vitro* culture and plant regeneration of *Trachelospermum asiaticum* cv. Ougonnishiki by tissue culture using its blade were studied. Inoculated the blade into MS medium and with different concentration of BA and NAA. Observed growth condition under different temperature, illumination, medium and fertilizer. The results showed that the optimum medium for callus induction was MS supplemented with BA 3 mg/L, NAA 0.2 mg/L, 3% sucrose and 0.5% agar. The optimum medium for the formation and growth of cluster buds was MS supplemented with BA 1.5 mg/L, NAA 0.2 mg/L, 3% sucrose and 0.5% agar. The optimum medium for rooting was 1/2 MS with NAA 0.2 mg/L, 3% sucrose and 0.5% agar. The cultivation for ornamental of test-tube was also studied. The optimum temperature was 20~30°C. The optimum light intensity was 80%. The optimum medium was peat or 2/3 peat and 1/3 vermiculite. The best proportion of N, P and K was 1:1:1. The test-tube plantlets can be cultivated as a pot flower and ornamental lawn with high ornamental value.

Key words: *Trachelospermum asiaticum* cv. Ougonnishiki; *in vitro* culture; regeneration; cultivation; ornamental

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理与取材 将‘陇亚 10 号’胡麻种子用 70% 的酒精表面杀菌 30 s, 再用 0.1% HgCl₂ 消毒 5~6 min, 用无菌蒸馏水冲洗 4 次, 然后接种于含有 40 mL MS 培养基的三角瓶中, 每瓶 20 粒。待其发芽 5 cm 后, 分别剪切子叶、下胚轴与茎端各 1 cm 作为外植体, 转接于 MS 空白培养基, 每瓶接种 5 个外植体, 每组 10 瓶, 3 次重复, 观察不同外植体对再生植株分化的影响; 用下胚轴分别接种于装有不同激素配比培养基的三角瓶中, 每瓶接种 5 个外植体, 每组 10 瓶, 3 次重复, 观察不同激素配比对愈伤组织、胚状体、再生植株以及生根的影响。

1.2.2 培养基的配制 基本培养基为 MS 培养基, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 5.5 g/L, pH 5.8。附加不同激素配比(表 1)。在高压灭菌锅中灭菌 20 min, 温度为 120℃, 压强为 0.12 MPa。灭菌后用细菌过滤器 0.20 μm 的过滤膜加入激素, 分装待用。



图1 愈伤诱导

图2 胚状体分化

1.2.4 试验统计方法 培养 15 d 后观察并统计各培养基中愈伤组织诱导率、胚状体诱导率、成苗率及生根情况。出愈率(%)=产生的愈伤组织数/接种外植体数×100%; 分化率(%)=分化出绿点的愈伤组织数/转分化的愈伤组织数×100%; 生根率(%)=生根的再生植株/成苗数×100%。

2 结果与分析

2.1 不同激素处理对愈伤组织诱导的影响

通过在 MS 培养基上添加不同处理的激素, 发现不同配比浓度的 IAA 和 6-BA 对胡麻愈伤组织的诱导率均为 100%(表 2), 但愈伤组织的形态差异较大, 其中 IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 配比浓度下, 诱导的愈伤组织深绿、致密、团状性好。其它配比浓度下诱导的愈伤组织均有不同程度的玻璃化和疏松透明现象(图 1)。

2.2 不同激素处理对胚状体诱导的影响

胚状体发生方式是由愈伤组织经球形胚期, 心形胚期, 鱼雷形胚期细胞诱导分化出具有胚芽、胚根、胚轴的胚状结构, 进而长成完整植株^[8]。这种由愈伤组织中的薄壁细胞不经过有性生殖过程, 直接产生类似于胚的结

表 1 不同激素与浓度的 MS 培养基

培养基编号	激素浓度及组合/mg·L ⁻¹
1	IAA 0.25+6-BA 0.5
2	IAA 0.25+6-BA 1.0
3	IAA 0.25+6-BA 1.5
4	IAA 0.25+6-BA 2.0
5	IAA 0.5+6-BA 0.5
6	IAA 0.5+6-BA 1.0
7	IAA 0.5+6-BA 1.5
8	IAA 0.5+6-BA 2.0
9	IAA 1.0+6-BA 0.5
10	IAA 1.0+6-BA 1.0
11	IAA 1.0+6-BA 1.5
12	IAA 1.0+6-BA 2.0

1.2.3 培养条件 在查阅文献的基础上^[4-7], 并且经过大量的试验摸索, 发现胡麻的培养条件基本一致, 最终确定以下培养条件诱导愈伤组织: 黑暗、室温(23±2)℃; 分化培养及生根培养: 16 h 光照、8 h 黑暗、室温(23±2)℃、光照强度 1 500~2 000 lx。



图3 再生植株

图4 生根

构就为胚状体诱导。试验通过在 MS 培养基上添加不同处理的激素发现, 深绿、致密、团状性好的愈伤组织胚状体的诱导率最高(图 2), 其中 IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 配比浓度下, 胚状体的诱导率达到 44.0%(表 2), 为所有处理中最高。

表 2 不同激素配比组合对胡麻再生的影响

培养基	愈伤诱导率 /%	胚状体诱导率 /%	成苗率 /%	生根率 /%
1	100	23.6	2.1	0
2	100	33.8	3.3	0.2
3	100	20.8	5.2	0.6
4	100	21.4	4.7	0
5	100	34.2	1.4	0
6	100	38.2	6.9	1.4
7	100	44.0	7.7	3.5
8	100	27.9	4.4	2.0
9	100	15.5	3.8	0
10	100	18.6	0	0
11	100	20.0	0.4	0
12	100	12.3	0	0

2.3 不同激素处理对植株再生和生根的影响

当胚状体形成以后, 不同浓度的激素配比对植株再

生和生根的影响也比较大,再生植株分化率随着 IAA 浓度从 0.25~1.0 mg/L 的逐渐增加而明显变化,其中在激素配比为 IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 的培养基上分化率达到 7.7%,生根率达 3.5%,为所有处理中最高(图 3、4)。

表 3 不同外植体对胡麻再生的影响

外植体	愈伤诱导率/%	胚状体发生率/%	再生植株成苗率/%
子叶	100	0	0
茎段	100	12.7	5.2
下胚轴	100	13.0	6.7

2.4 不同外植体对再生植株分化的影响

在筛选出的最佳培养基 MS+IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 中,分别接种子叶、茎端、下胚轴。试验结果表明,子叶虽然诱导愈伤率跟茎端和下胚轴一样达到 100%,但胚状体的诱导率却为 0,接种以后的表现只是愈伤的无限扩增,没有明显的胚状体形成(表 3)。

3 结论与讨论

该研究通过不同的激素配比处理,筛选出最佳的利于胚状体诱导与植株再生分化的培养基配方,即 MS+IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L。同时发现高浓度的 IAA,对胚状体的诱导和再生植株的分化有明显的抑制作用。当 IAA 浓度达到 1.0 mg/L 以上时,胚状体诱导和再生植株的分化几乎停滞。

外植体的选择也是影响胡麻组培的关键因素,试验结果表明,子叶不利于胚状体的形成以及再生植株的分化,茎端和下胚轴则表现相对较好。其主要原因是茎端

和下胚轴具有相对活跃的分生能力有关,而子叶的角质层也是制约它分化的因素之一。

研究过程中,虽然对再生植株的分化技术已比较成熟,但从胚状体上生成植株相对困难,再生植株的主要生成部位位于愈伤与外植体的交接部位,该研究将在这方面继续探索。

生根仍然需要进一步研究。主要表现是根基于再生植株之间的联系因为愈伤组织而阻断,因此影响到再生植株从根部直接吸收营养能量。

参考文献

[1] 吴素萍. 亚麻籽中一亚麻酸的保健功能及提取技术[J]. 中国酿造 2010(2): 12-16.

[2] 吴艳霞. 亚麻籽及亚麻籽油[J]. 陕西粮油科技, 1994, 19(2): 22-23.

[3] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.

[4] 顾瑞霞, 张建平, 党占海. 激素和低温预处理对胡麻花药愈伤组织诱导的影响[J]. 分子植物育种, 2009, 7(6): 1180-1185.

[5] Axel D. Ex situ collections of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) and other species of the genus *Linum* L. [J]. Genet. Resour. Crop Evol. 2007, (54): 661-678.

[6] Rutkowska-krause Z, Marknowska G, Lukaszewicz M. Regeneration of flax (*Linum usitatissimum* L.) plants from anther culture and somatic tissue with increased resistance to *Fusarium oxysporum* [J]. Plant Cell Rep. 2003, 22: 110-114.

[7] Yurong Chen, Paul Dribnenki. Effect of medium osmotic potential on callus induction and shoot regeneration in flax anther culture [J]. Plant Cell Rep. 2004, 23: 272-276.

Embryoid Induction and Plant Regeneration in Flax

ZHAO Wei, DANG Zhan-hai, ZHANG Jian-ping, ZHAO Li, WANG Li-min, DANG Zhao
(Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract: Studied the effect of different hormone combinations and different explants on callus induction, embryoid induction and plant regeneration in flax 'Long-ya 10'. We found that the optimum medium was MS+IAA 0.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L; the best explant was hypocotyl.

Key words: flax; callus; embryoid; regeneration