

湖南农业大学

硕士学位论文

亚麻多倍体化学诱导技术初步研究

胡 平 建

中国·长沙

二〇〇五年六月

分类号_____

密 级_____

UDC_____

单位代码_____

湖南农业大学

硕 士 学 位 论 文

亚麻多倍体化学诱导技术初步研究

Studies on Chemical Induction of Flax Polyploidy

研究生姓名 胡 平 建

指导教师 张福泉 教 授

孙焕良 教 授

学 科 专 业 作物遗传育种

研 究 方 向 亚麻细胞工程

提交论文日期_____

论文答辩日期_____

答辩委员会主席_____

论文评阅人_____

学位授予日期_____

二〇〇五年六月

独 创 性 声 明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的
研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包
含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得湖南农业大学或其
它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我工作过的同志对本研究所做
的任何贡献均在论文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：

时间： 年 月 日

关于论文使用授权的说明

本人完全了解湖南农业大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有
权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以采用影印、
缩印或扫描等手段保存、汇编学位论文。同意湖南农业大学可以用不同方式
在不同媒体上发表、传播学位论文的全部或部分内容。

(保密的学位论文在解密后应遵守此协议)

研究生签名：

时间： 年 月 日

导师签名：

时间： 年 月 日

亚麻多倍体化学诱导技术初步研究

摘 要

本研究以范妮亚麻种子为实验材料，通过化学诱导、组织培养和温室移栽成活因子的一系列相关研究，初步培育出了多倍体植株，并得到小规模繁殖。主要研究结论如下：

1、在单因素实验基础之上，进一步作二次回归分析，初步得出了影响亚麻种子变异诱导成活率的主要因子为秋水仙碱浓度，其次为处理时间，而诱导温度、种子清水浸泡时间因子对其诱导成活率的影响程度较小。综合单因素与二次回归分析实验，研究结果为：在无菌条件下，“范妮”亚麻种子无菌水浸泡16小时后，经0.16%秋水仙碱溶液在温度20℃条件下处理12小时，无菌水洗尽秋水仙碱溶液，然后转移至生根培养基中，可以得到较高的变异成活率(24.67%)。

2、采用秋水仙碱溶液诱导后的“范妮”亚麻种子，在不同的pH值和培养基类型下生长，在生根培养阶段添加不同生长调节剂，研究pH值、培养基类型及生长调节剂对变异试管苗诱导生根作用的影响。结果表明：在1/2B₅培养基、pH值6.2、添加0.1~0.2mg/L NAA或0.3mg/L IBA或0.3mg/L NAA和0.1mg/L IBA配合使用均对变异试管苗诱导生根有显著的作用，诱导生根率可达到80%以上。

3、以形态变异“范妮”亚麻试管苗为材料，系统研究了炼苗时间、不同温度、不同根量、培养基质、温室、室外不同炼苗时间对形态变异试管苗移栽成活率的影响。结果表明：根数为6~8根的试管苗，先在温度25℃的培养室炼苗7天，后移栽在黄土:细沙:炭化谷壳(5:3:2)的培养基质中，温室炼苗10天，室外炼苗6天，再移栽至大田，移栽成活率最高，可达90%以上。初步探索出了一套简单易行，实用高效的试管苗优化配套移栽技术。

[关键词]：亚麻，变异株，生根，移栽

Studies on Chemical Induction of Flax Polyploidy

Abstract

Flax seeds, Fanny, were taken as the experiment materials, and then chemical induction, tissue culture and transplanting were studied. So polyploidy plants were gained and were made to get small-scale reproduction. The main results were as follows.

1. On the base of experiments of quadratic regressive analysis after single factor experiment, induced survival rate was affected mainly by the concentration of colchicines solution, secondly by worked time, and relatively little by induced temperature and soaked time with pure water. The results showed that the best induced effect could be obtained under the conditions as follows: immersion by 16 hours with water, temperature 20°C, colchicines concentration 0.16%, worked time by 12 hours, the induced survivor by 24.67%.

2. The budding flax seeds induced by colchicines solution grew on the different pH and culture medium, and were cultivated on the basal medium supplemented with various plant growth regulators during rooting phases. The effects of pH、different culture medium and plant growth regulators on root induction of mutation plantlets were studied. The results showed treatment of NAA(0.1~0.2mg/L) or IBA(0.3mg/L) or the combination of IBA(0.1mg/L) and NAA(0.3mg/L) on the 1/2B5 medium favored obviously rooting. The above substances promoted rooting ratio (above 80%).

3. Flax plantlets of morphological variation were taken as experimental materials. The effect of domesticated time, temperature, different number of roots, transplant matrix, green house and outdoor on transplant survival percent of plantlets of morphological variation were systematically studied. The results showed the transplant survival percent was the highest (above 90%) when we selected seedlings with 6~8 roots, domesticated seven days in 25°C in culture house, took the loess and sand and coking chaff (5:3:2) as matrix, cultivated ten days in green house, and then six days in open air, and finally transplanted in farmland. A set of simple available, practical and efficient technique of transplant plantlets was obtained.

Key words: flax, plant variation, rooting, transplant.

目 录

第一章 前言.....	1
-------------	---

1 多倍体诱导方法概况	2
1.1 作物染色体倍性变异的基本原理	2
1.2 作物染色体倍性变异的人工诱导	2
2 主要麻类作物倍性育种的研究	4
2.1 麻类作物多倍体诱导技术研究与应用	4
3 提高麻类作物倍性育种效率的技术途径	4
3.1 进一步加强作物倍性诱导技术研究	4
3.2 建立作物倍性快速鉴定的技术体系	5
3.3 倍性育种与杂种优势利用紧密结合	5
3.4 多种育种手段相结合加速育种进程	5
4 亚麻多倍体诱导技术研究的意义	6
第二章 秋水仙碱溶液对亚麻变异成活率的影响	7
1 材料与方法	7
1.1 供试品种	7
1.2 试验设计	7
1.3 实验流程	8
1.4 观察项目与测定方法	8
2 结果与分析	9
2.1 种子清水浸泡预处理时间对亚麻多倍体诱导效果的影响	9
2.2 秋水仙碱浓度对亚麻多倍体诱导效果的影响	9
2.3 秋水仙碱浸泡时间对亚麻多倍体诱导效果的影响	9
2.4 处理温度对亚麻多倍体诱导效果的影响	11

3 结论与讨论	12
第三章 组织培养对亚麻多倍体生根诱导的影响	14
1 材料与方法	14
1.1 材料及培养条件	14
1.2 试验方法	14
2 结果与分析	15
2.1 pH 值对生根的影响	15
2.2 培养基类型对生根的影响	15
2.3 生长调节剂类型对生根的影响	15
2.4 NAA、IBA 及其组合对生根的影响	16
3 讨论	17
第四章 促进亚麻变异试管苗移栽成活因子研究	20
1 材料与方法	20
1.1 材料	20
1.2 试验处理	20
1.3 实验流程	20
2 结果与分析	20
2.1 培养室不同炼苗天数对移栽成活率的影响	20
2.2 不同炼苗温度对移栽成活率的影响	21
2.3 不同根量对移栽成活率的影响	21
2.4 不同生长基质对移栽成活率的影响	21
2.5 室内外炼苗天数对移栽成活率的影响	22

3 讨论与结论.....	22
第五章总结.....	25
参考文献.....	27
致谢.....	29
作者简介.....	30

第一章 前 言

亚麻(*Linum usitatissimum* L.)是亚麻科(*Linaceae*)亚麻属(*linum*)的一年生草本植物,它既是当今世界的主要纤维作物,又是主要的油料作物之一。亚麻栽培种有纤用型、油用型、

和兼用型三种生态类型，油用和兼用俗称为胡麻，纤用亚麻简称为亚麻。亚麻主要分布在西欧平原的温带夏季温凉湿润的气候区和东欧平原的温带海洋性气候区以及温带大陆性气候区及其过度地区，包括俄罗斯、中国、法国、波兰、罗马尼亚、捷克斯洛伐克、匈牙利、比利时等。我国的黑龙江、辽宁、吉林、新疆、内蒙古、甘肃、云南、湖南、浙江等省区均有分布。世界亚麻年播种面积 $1.33 \times 10^5 \text{hm}^2$ 左右，国内年播种面积约 $7 \times 10^4 \text{hm}^2$ ，总产量为世界的 1/10。

中国亚麻育种工作开始于 50 年代，主要是农家品种的整理及种质资源的引进，既解决了燃眉之急又丰富了种质资源。60 年代以引种鉴定为主，先后推广了 JJ—1120、匈牙利 3 号、塞盖地等，表现了较好的丰产性。70 年代在种质资源不断丰富的基础上育种家们开始了杂交育种工作，主要以单交为主同时开展了杂交与诱变相结合育种，选育出黑亚 2 号、黑亚 3 号、黑亚 4 号、雁杂 10、宁亚 1 号、宁亚 5 号、甘亚 4 号、定亚 1 号等品种。使产量、含油率、纤维含量等有了明显提高。80 年代以来开展了高产、高纤、高油、抗病育种，并开辟了许多育种新途径。选育出了黑亚 6 号、黑亚 7 号、黑亚 10、天亚 5 号、天亚 6 号、定亚 17、陇亚 7 号等高产、优质、抗病新品种。

亚麻是我国重要的纺织工业原料和出口创汇产品，主产于黑龙江省，播种面积和总产量占全国的 60% 以上。据统计，该省的亚麻纤维制成品主要通过香港或直接出口到美国、日本、韩国等地，产品供不应求，畅销不衰，年创汇近 6000 万美元，利税达 1.5 亿元以上。我国北方亚麻栽培始于 20 世纪初，现已形成以黑龙江为中心的集原料生产、脱胶制纤、纺织加工、内外贸易、科学研究于一体的亚麻产业化体系。目前黑龙江省拥有纺锭 10 万枚，年需亚麻纱 1.5~2.0 万吨，而该省的纤维产量约 1 万吨，原料严重不足，约有 50% 需从俄罗斯等东欧国家进口。据预测，在今后 5~10 年内，国内麻类服装和制品的潜在市场将达到 40 亿美元。目前我国亚麻内销不足 10%，中国纺织总会提出在 2010 年亚麻内销要达到 50%，但是亚麻纺织生产原料供应不足，进口原料约占 50% 以上，过分依赖进口原料，制约了亚麻纺织行业的稳定发展。我国北方亚麻生产因单产低、品质差、效益低而处于种麻难、卖麻更难的困境。南方冬季亚麻引种栽培成功与产业化开发，使亚麻由局限于三北地区的区域性作物，一跃成为继棉花、红麻之后的又一种全国性纤维作物。实践证明，南方亚麻产业化发展具有东北地区无可比拟的土地资源、产量品质、脱胶制纤、梳纺贸易优势，有利于优化农业结构，进一步推动冬季农业开发，促进农民增产增收和农村经济的发展；有利于促进乡镇企业的发展，吸纳大量的农村剩余劳力，促进农村经济的发展；南方亚麻纺织工业的发展，有利于纺织工业结构的优化，培育新的经济增长点，减

少我国亚麻原料进口，提高亚麻行业的整体效益^[1,2]。然而，南方亚麻产业刚刚起步，产业规模和科技水平明显落后于北方，更落后于欧洲。因此，要巩固发展“三北”（华北、东北、西北）亚麻生产潜力，同时促进南方亚麻产业化的健康发展，开拓春季亚麻种植，补充低支纱原料，大力开展亚麻纤维资源的开发研究，前景极为广阔。

1 多倍体诱导方法概况

世界上约 70% 的被子植物在其进化过程中曾经历过多倍化事件^[3]，丹麦 O.Winge 早在 1917 年就提出了多倍体植物形成学说^[4]，20 年后证实了植物界的多倍体物种是由两个或两个以上的二倍体物种经自然杂交和加倍演化而成的。掌握作物多倍体的形成规律和诱导方法，便可在较短的时间内创造出人类需要的作物新种质。

1.1 作物染色体倍性变异的基本原理

多倍体形成主要原理有配子不减数、体细胞加倍、多精受精三种类型。配子不减数——指在生殖细胞中，由于减数分裂异常，未产生正常的 n 配子，而产生未减数的 $2n$ 配子， $2n$ 配子与正常或异常配子结合而产生了多倍体。减数分裂过程又可分为第一次减数分裂重组和第二次减数分裂重组两种类型，二者在传递杂合性方面，前者优于后者^[5]。体细胞加倍（内源有丝分裂）——指由于某种条件，体细胞有丝分裂受阻，染色体复制加倍而细胞核、细胞质不分裂，使染色体产生倍性变化的方法，这种情况多发生在分生组织或愈伤组织的细胞内，结果产生多倍体苗或枝条。多精受精——Hagerup 在兰科植物中发现过这种情况^[6]，但这并不是多倍体形成的主要途径。

1.2 作物染色体倍性变异的人工诱导

作物染色体自然加倍主要是通过体细胞加倍来实现，但频率很低，难以完全满足作物倍性育种的需要，必须通过人工方法来诱导形成多倍体。作物染色体人工诱导方式主要有三种：

(1) 物理方法：最早的物理诱导方式是通过番茄打顶实现的，后来使用温度骤变、机械损伤、电离和非电离辐射、离心力等方法，其中以辐射诱变应用较多。

(2) 化学方法：它是目前应用最广泛的诱导方法，化学诱变剂有秋水仙碱、异生长素、吲哚乙酸、 N_2O 、除草剂（富民隆）等，又以秋水仙碱处理效果最佳。据统计，从 1937 年 Blakeslee 和 Avery^[7]发现秋水仙碱能够诱导染色体加倍以来，人工诱导植物多倍体已达 1000 余种。诱变材料从最初活体处理种子、生长点发展到离体处理茎尖、叶片、愈伤组织、单个悬浮培养细胞，甚至原生质体，同时也从诱导体细胞变异发展到处理一定时期的生殖器官诱导 $2n$ 配子发生，从而形成多倍体。由于化学诱变的生理生化机制尚未统一

的结论，导致化学诱变的方法和观点不同。现阶段秋水仙碱处理方法主要是实体人工加倍处理和离体培养加倍处理。在实体加倍处理法中，普遍采用浸种法、注射法、涂抹法及包裹法，其中运用浸种法成功地在君子兰、菊花脑、油菜、虞美人^[8-11]等植物上诱导出了多倍体，但其诱导后成活率低、而且秋水仙碱用量大，毒害作用最为直接。人们在研究中发现，在实体人工诱导加倍中，秋水仙碱作用的主要对象是生长点，只有生长点的细胞全部加倍，才能获得加倍成功的植株，但这种几率很小，由此获得加倍材料多为嵌合体，往往不能稳定遗传，而且受环境干扰大，并且可能产生回复突变。而随着植株组织培养技术的发展，使得秋水仙碱可以在离体条件下诱导单个细胞染色体加倍，获得多倍体再生，克服常规人工加倍处理方法的缺陷。

在离体培养加倍法中，主要的途径有两条。一是先用秋水仙碱溶液处理培养材料，然后转入分化培养基，其成功的实例有四倍体的药用百合^[12]；二是在含秋水仙碱的固体培养基培养一段时间，诱导加倍，再转入分化培养基，此途径成功的诱导出四倍体黄花蒿、小叶绿萝、金鱼草^[13-15]。

近年来研究发现，离体培养条件下染色体加倍具有明显的优越性：试验条件容易控制，试验结果重复性强，工作效率高，嵌合体发生率低。因此，秋水仙碱进行离体组织的染色体加倍，日益受到重视。

根据目前获得成功的报道，秋水仙碱溶液的有效浓度很广，0.006%~1.0%之间均有成功的报道，最常用的浓度是0.2%。处理时间的确定，理论上讲应为一个细胞分裂周期的时间与药液透入细胞时间之和，6h~7d之间都有成功的报道。因为随着处理浓度的增加，秋水仙碱对细胞的伤害越大，细胞死亡率会增加，所以选择合适的浓度和处理时间，对诱导染色体加倍至关重要。一些学者认为低浓度、长时间的处理组合较好，但另外一些学者则倾向于高浓度、短时间的处理组合。综合目前成功的报道，不同的植物、不同的处理材料有各自的最佳处理组合，没有统一标准。

(3) 生物方法：有性杂交中一般以培育三倍体和四倍体最具实际意义，而其他高多倍体和非整倍体在生产中无实际利用价值，只能作为多倍体水平上细胞学和遗传学的研究材料。因此，有计划的有性杂交多是二倍体间及二倍体与四倍体间进行，二倍体与四倍体杂交仍是获得三倍体的最有效途径。同时远缘杂交使二个物种的染色体组合在一起，人工加倍后即可形成异源多倍体。

2 主要麻类作物倍性育种的研究

作物倍性育种是指利用自然发生的或人工诱导的，染色体减半或加倍，发育完整并符合育种目标的植株，辅以常规的育种途径，培育作物新品种的方法。

2.1 麻类作物多倍体诱导技术研究与应用

自从1937年Blakeslee证实秋水仙碱可以诱导多倍体后，用秋水仙碱诱导多倍体的技术日趋成熟，它为农作物的品种改良提供了新途径。三倍体西瓜和甜菜、四倍体黄花菜^[16]、六倍体小黑麦^[17]等作物在实践中成功的应用，显示了倍性育种的巨大潜力。国内外有关麻类作物多倍体的研究报道不多。印度曾开展过大麻、太阳麻、黄麻的多倍体诱导研究，我国台湾农业科学研究所采用秋水仙碱处理南华青皮苧麻，产生多倍体变种，从中选出突变四倍体Me6002和MC-60-11，其产量超过了原二倍体23%—104%，但纤维品质有所降低^[18]。蒋宝韶等（1982）认为0.2%的秋水仙碱溶液浸泡幼苗生长点，成活率高，1976年处理圆果种“713”获得了同源四倍体C77—22株系。谢卓荣^[19]（1986）以不同浓度的秋水仙碱处理苧麻种子，发现种子变异随秋水仙碱浓度的提高或处理时间的延长而明显提高，成活率则降低。近年来，组织培养技术的迅速发展给麻类多倍体育种注入了新的活力。郑思乡、陈德富、潘昌立等^[20~23]开展了单独药剂诱导，或药剂诱导结合组织培养，获得了不同倍性的后代，并在麻类多倍体诱导方法、多倍体植株形态、解剖特征、经济性状和纤维品质、多倍体体细胞染色体特征等诸方面开展了研究。最近，湖南农业大学苧麻研究所育成的苧麻三倍体新品种“Tri-1号”和“Tri-2号”，已通过湖南省品种审定，目前正在大面积推广应用。

但是在亚麻诱导技术研究方面有关报道很少。杨学^[24]（2002）用0.2%秋水仙碱处理“黑亚7号”亚麻种子12h，然后催芽播种，得到多倍体诱导率为12.75%。研究发现，处理的品种不同，秋水仙碱的浓度与处理时间不同，其诱导成活率也不相同；即使用同样的处理浓度与处理时间但采取的培养途径不同，其诱导成活率也不相同。到目前，化学诱导结合组织培养在亚麻多倍体诱导方面有关报道较少。

3 提高麻类作物倍性育种效率的技术途径

3.1 进一步加强作物倍性诱导技术研究

用秋水仙碱溶液对作物的种子、子叶、下胚轴和生长点进行浸泡、滴液、注射和涂抹处理，均可以得到变异株，但诱变率较低，生长势较弱，对分生组织诱变时嵌合体现象比较严重，如何提高诱变株的成活率，使诱导率和成活率同步提高，还需要不断研究和总结。利用组织培养技术诱导多倍体，有早代稳定变异的效果，但迄今尚无成功的报道；组织培

养中体细胞（花丝、药壁、药隔等）干扰，培养基成分的不确定性，因核内复制、核融合、引起倍性变异，如何控制不利变异、促进有效变异仍需进一步探索；花药培养中药壁绒毡层细胞对花粉发育的作用，还不十分清楚，如何用人工合成培养基代替绒毡层的作用有待深入研究。因此，麻类作物多倍体的诱导技术及其嵌合体的分离纯化技术，仍然是麻类作物倍性育种研究的重点。

3.2 建立作物倍性快速鉴定的技术体系

麻类作物倍性鉴定工作量大，尤其是麻类染色体数量多、体积小、分辨困难，染色体显微观测烦琐，效率很低，难以满足麻类作物大批育种材料倍性检测的需要。近年来，相关检测仪器分析技术的不断改进给作物倍性检测带来了便利，如采用德国 Partec 公司的倍性分析仪和 DPAC 分析软件快速的进行柑橘愈伤组织的倍性检测等，但所需的费用比较高，目前难以得到推广。因此，根据麻类作物形态特征等与染色体倍性的关系，建立简单适用快速有效的鉴定方法尤其重要。

3.3 倍性育种与杂种优势利用紧密结合

麻类作物，特别是苧麻的遗传背景复杂，杂交后代的基因高度杂合，杂种优势十分明显。倍性育种与杂种优势利用紧密结合，将成为麻类作物杂种优势利用的新领域，发展前景十分广阔：一方面可以通过麻类花药培养诱导染色体加倍，使基因高度纯化，培育成二倍体“纯系”品种，然后进行大量“纯系”间的杂交配组，从中选择出符合育种目标的杂交组合；另一方面可以通过麻类二倍体品种的诱导加倍，培育成四倍体植株，从中选优与二倍体杂交配组，选育具有杂种优势的三倍体。

3.4 多种育种手段相结合加速育种进程

作物倍性育种只是人工创造变异的重要方法，诱导成功的多倍体植株只是育种的原始材料，必须进入正常的育种程序，通过选系、品系比较和区域试验等，因此，倍性育种必须与杂交育种、诱变育种、基因工程、组织培养等有机结合，才能克服倍性育种的某些困难，提高育种成效。由于作物单倍体后代是一种随机的、未经选择的基因型，只含有一个单一功能的基因组，其中含有隐性基因的后代一般是致死的，难以获得单倍体植株，即使发育成单倍体植株，也是不育的，必须通过染色体加倍方能解决其不育问题，因此，单倍体育种与多倍体育种必须紧密结合。

4 亚麻多倍体诱导技术研究的意义

现有的亚麻品种均是在北方高纬度地区选育而成，为提高南方春季亚麻生产的效率和经济效益，就需要选育一批适合南方地区生产的高产优质亚麻品种。根据作物诱导成多倍体后普遍表现为营养器官呈巨大性特点为启示，为进一步解决现有亚麻原茎单产低、纤维品种差、效益低的问题，将开展秋水仙碱溶液诱导亚麻多倍体技术研究。本项研究将对影响亚麻种子多倍体诱导的内外因子、成活影响因子进行深入系统的探讨，为建立亚麻多倍体诱导技术、组织培养技术体系提供技术参考。这为南方亚麻新品种开发提供了理论基础与技术支持，对于完善亚麻科学技术体系，推动南方亚麻产业化健康发展，促进农民增产、增收和增效具有十分重要的意义。

第二章 秋水仙碱溶液对亚麻变异成活率的影响

1 材料与方法

1.1 供试品种

供试品种为引自法国的“范妮”亚麻种子

1.2 试验设计

1.2.1 清水浸泡、秋水仙碱浓度、秋水仙碱浸泡时间、秋水仙碱浸泡温度，各单因子试验设计

各处理种子90粒，三次重复。各试验处理如下：a.种子清水浸泡试验—— 设清水浸泡0h(CK)、8h、16h、24h、32h 和40h。b.秋水仙碱浓度试验—— 设秋水仙碱浓度0.00% (CK) 、0.16%、0.24%、0.32%、0.04%。c.秋水仙碱浸泡时间—— 设6h、12h、18h、24h、32h、36h、42h。d.秋水仙碱浸泡温度—— 设15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃。

1.2.2 秋水仙碱浓度和处理时间二次回归正交实验设计

二次回归正交实验设计要求每个因素各取 5 个水平进行组合设计，建立二次多项式回归方程，本实验涉及秋水仙碱浓度与处理时间 2 个因素，因此建立二元二次回归方程： $\hat{y}=b_0+b_1x_1+b_2x_2+b_{12}x_1x_2+b_{11}x_{21}^2+b_{22}x_{22}^2$ 其中， b_0 为常数项， b_1 、 b_2 为一次回归系数， b_{12} 交互项回归系数， b_{11} 、 b_{22} 分别为因素 1 和因素 2 的二次回归系数。按实验统计方法^[25] 要求进行秋水仙碱浓度与处理时间二次回归设计，列因素编码表 $r'=1.148$, $\Delta_j=(Z_{2j}-Z_{1j})/2$, $x_j=(Z_j-Z_{0j})/\Delta_j$, $+r=Z_{2j}+(r'-1)\Delta_j$, $-r=Z_{1j}-(r'-1)\Delta_j$, 试验水平编码值和试验方案分别见表 2-1、表 2-2。表 2-2 中 x_1 、 x_2 的编码值分别是秋水仙碱的浓度与处理时间各水平的编码值，按表 2-1 中各水平的实际用量进行不同浓度与时间的组合试验，表中最后 1 列为统计的变异成活率。

表 2-1 秋水仙碱浓度与处理时间二次回归正交编码值

Tab.2-1 Code of concentrations of colchicines and time drawing into quadratic regressive orthogonal design

编码 code	-r'	-1	0	1	r'	Δ
浓度(%)concentrations	0	0.03	0.2	0.37	0.4	0.17
时间(h)time	0	1.55	12	22.45	24	10.45

根据表 2-2 的实验数据参照实验统计方法计算各项回归系数，以这些回归系数建立二元二次回归方程： $\hat{y}=0.365273+0.283047x_1+0.247573x_2+0.14775x_1x_2-0.04924x_1^2-0.06823x_2^2$ ，检验结果表明，回归方程显著($F=5.349632>F_{0.05}=5.05$)，各项回归系数除一次项显著外 ($F_{x_1}=13.53986$ 、 $F_{x_2}=10.35864 > F_{0.05}=6.61$)，其它均不显著，因此，在进一步建立回归方程时，交互项、二次项均可以剔除，因此无需作因子间交互作用分析。考虑到主效应分析，暂不删去交互项、二次项。但回归方程显著，并不一定表示二次回归方程拟合良好，还需要进行回归失拟性检验。试验进行了三次零水平重复，纯误差平方和与失拟平方和的差异性检验结果表明回归方程拟合良好($F=0.68181<F_{0.05}=19.16$)。

表 2-2 二次回归正交设计处理组合与变异成活率

Tab.2-2 Treatments of quadratic regressive factorial experiment for mutation survivors

combinations	x_0	x_1	x_2	x_1x_2	$x_1^2-0.6033$	$x_2^2-0.6033$	y
1	1	1	1	1	0.3967	0.3967	0.835
2	1	1	-1	-1	0.3967	0.3967	0.179
3	1	-1	1	-1	0.3967	0.3967	0.09
4	1	-1	-1	1	0.3967	0.3967	0.025
5	1	1.148	0	0	0.7146	-0.6033	0.853
6	1	-1.148	0	0	0.7146	-0.6033	0
7	1	0	1.148	0	-0.6033	0.7146	0.803
8	1	0	-1.148	0	-0.6033	0.7146	0
9	1	0	0	0	-0.6033	-0.6033	0.171
10	1	0	0	0	-0.6033	-0.6033	0.458
11	1	0	0	0	-0.6033	-0.6033	0.604

1.3 实验流程

1.3.1 单因子试验流程

种子清水浸泡预处理实验，以后各项实验都按预处理结果进行清水浸泡处理，温度 20℃、0.24%秋水仙碱处理12h，其余条件按相应试验设计进行。其流程如下：

精选种子,按试验要求进行清水浸泡→按试验设计进行秋水仙碱溶液浸泡→洗净秋水仙碱，消毒5-8分钟→移入B₅培养基，诱导生根→14天后炼苗并测量各项指标→移植到苗床。

组织培养条件：温度 20℃，每天光照 10h，光照强度 1600lx,相对湿度 70%。

1.3.2 二次回归正交实验流程

供试材料范妮亚麻清水浸泡 16 小时后的无菌种子，接种到以二次回归正交设计的含有不同浓度的无菌秋水仙碱溶液中，并按试验设计要求实施不同时间处理。余下流程与单因子实验流程相同。

1.4 观察项目与测定方法

变异数的测定先以下胚轴增粗为变异标志，然后根尖染色体镜检^[26~27]，确定是否变异。

变异率=变异株数/接种数；成活率=成活株数/接种数；变异成活率=变异成活株数/成活株数。

2 结果与分析

2.1 种子清水浸泡预处理时间对亚麻多倍体诱导效果的影响

秋水仙碱诱导多倍体的实质是抑制细胞分裂过程中纺锤丝的形成,使染色体不能移动到两极,以致无法正常分裂,最后导致细胞的染色体加倍。因此,细胞所处的分裂状态对多倍体诱导效率有着密切相关。从图2-1可以看出,亚麻种子的发芽率以清水浸泡16h最大,高达93%,小于16h的处理,发芽率随着浸泡时间的增加而增加,大于16h的处理,由于种子浸泡时间过长缺氧而导致死亡,故随着处理时间的进一步增加,其发芽率反而在下降。

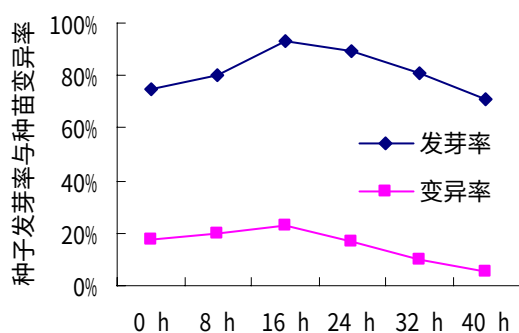


图2-1 清水预处理对变异率和发芽率的影响

Fig.2-1 effect of water drunk on the seed variation and the pullulation

秋水仙碱处理的种苗变异率预处理随着处理时间的延长而增加,在16 h处达到最大值,而后呈下降趋势,这与种子发芽率呈相一致变化趋势。由此说明,亚麻种子发芽率的高低直接影响到种子的成活率与变异率,多倍体诱导以清水浸泡16h,即种子充分吸涨并开始萌动为最佳。

以后各实验就以16h的清水预处理时间为基准,其余条件按相应实验要求实施。

2.2 秋水仙碱浓度对亚麻多倍体诱导效果的影响

在单因子实验中,幼苗成活株数随着秋水仙碱溶液浓度的增加而减少,其中0.4%的成活株数一直在各个测定时期都处于最小值。由此说明,种子随着处理浓度增大,所受到的

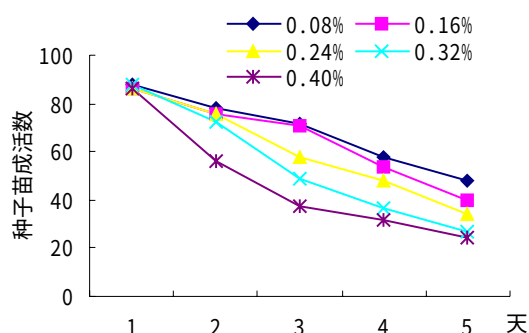


图2-2 秋水仙素浓度对种子成活数的影响

Fig.2-2 Effect of colchicine concentration on the seed survivor

伤害程度增加,成活率随之下降(图2-2)。秋水仙碱浓度过低,诱变效果不佳,而其浓度过高,幼苗成活率下降。秋水仙碱溶液浓度为0.16%时的变异率最大,达到24.67%,依次是秋水仙碱浓度为0.24%、0.32%、0.08%、0.40%变异率分别为23.80%、19.30%、16.16%、12.00%。

由此说明,在单因子实验中亚麻多倍体诱导以秋水仙碱浓度为0.16%为最佳。

2.3 秋水仙碱浸泡时间对亚麻多倍体诱导效果的影响

图2-3表明,处理时间与种子的成活数呈成负相关.种子处理时间过长,则会导致种子缺氧窒息死亡。同时,秋水仙碱对种子的伤害会急剧加深,处理时间超过16h成活率急剧下降。

秋水仙碱浸泡时间对诱变率影响较大，呈现由低到高再降低的变化趋势(表2-3)。经多重比较，种子苗变异率除42h处理显著较低外，其它处理的差异未达到显著水平。24h处理标准差与方差最小，说明了在24h处理样本的生长长势整齐度较高，差异较小；其次

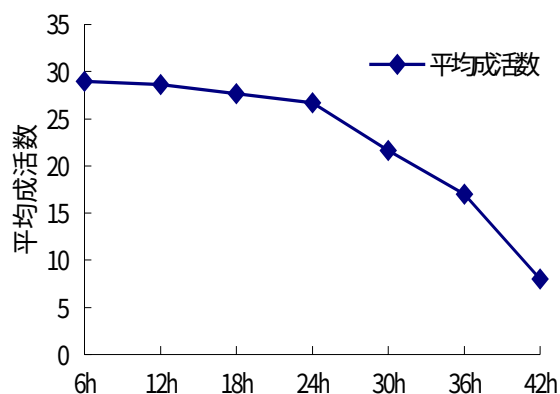


图2-3 秋水仙碱处理时间对亚麻种子平均成活数的影响
Fig.2-3 Effect of worked time on the average survivor

为12h处理，因此12h处理成活率高于前者。综合考虑成活率与变异率，秋水仙碱浸泡时间以12h较理想。

以秋水仙碱浓度与处理时间单因子为基础，进一步进行秋水仙碱浓度与处理时间正交试验，其试验因子主效应分析如下：

由于设计中各因素处理进行了正交编码，回归方程中的统计值已相对独立，反映各因子与试验结果关系时，只要把其它

因子以零水平编码代入，就可得到秋水仙碱浓度 (x_1) 与变异成活率 ($\hat{y}_1$)，处理时间 (x_2) 与变异成活率 ($\hat{y}_2$) 的一元二次方程：

$$\hat{y}_1 = 0.365273 + 0.283047x_1 - 0.04924x_1^2;$$

$$\hat{y}_2 = 0.365273 + 0.247573x_2 - 0.06823x_2^2;$$

根据以上方程函数求极值的方法，可求得变异成活率最高时的编码值及相应的实际数值。当 $x_1=2.874157$ ，即秋水仙碱浓度为0.688607时， $\hat{y}_1$ max最大值为0.772034； $x_2=1.814253$ ，即处理时间为10.75842小时， $\hat{y}_2$ max最大值0.589853。根据表2-2数据通径分析得出秋水仙碱浓度 (x_1) 每增加一个标准差单位，变异成活率 (y) 将平均增加0.184844个标准差单位；而处理时间 (x_2) 每增加一个标准差单位，变异成活率将平均增加0.141415个标准差单位。由此说明浓度对于增加变异成活率的效应要比时间更加显著。

表 2-3 秋水仙碱浸泡时间对种子变异率的影响

Table 2-3 Statistical result of working time on the seed variation

浸泡时间(h)	样本数	平均数	标准离差	方差
6	3	26.0000	5.19615	27.0000
12	3	27.0000	1.0000	1.0000
18	3	27.6667	2.08167	4.3333
24	3	27.3333	0.57735	0.3333
30	3	27.3333	2.08167	4.3333
36	3	24.3333	2.51666	6.3333
42	3	7.0000 [*]	7.2110	52.0000

注：*表示 $\alpha=0.05$ 显著水平

由于试验因子只存在主效应，因此从主效应中分析中可得出最佳技术组合。从剔除交互项与二次项后，进一步进行统计分析，直至各项回归系数达到显著水平，此时所得到的方程为 $\hat{y}=0.365273+0.283047x_1+0.247573x_2$ ，经回归方程显著性检验和失拟性检验，分别达到显著水平 ($F=12.1781>F_{0.05}=5.05$) 和拟合良好 ($F=0.725175<F_{0.05}=19.33$)。将自变量编码值 x_j 转换为原自变量 Z_j ，得到以 Z_j 为自变量的回归方程： $\hat{y}=-0.25202+1.664982Z_1+0.023691Z_2$ 。

根据求得的多项式回归方程，从 $5^2=25$ 个处理组合中寻找最佳组合，诱导变异成活率大于 10% 共有 18 个，由回归方程拟合 0.16%，处理 12 小时，变异成活率为 29.87%，经试验证实 0.16%，处理 12 小时，变异成活率可达到 24.67%。

2.4 处理温度对亚麻多倍体诱导效果的影响

温度是影响种子生理状态的重要外界因子，在适宜的温度范围内，温度越高，种子与外界物质与能量的交换速率越高，秋水仙碱渗透到种子体内的机会就越大，对种子的诱导效果就越明显。试验结果表明，温度越高，下胚轴直径越大。但是温度过高，也会导致种子生活力显著下降；出苗数以 20℃ 为最高值，30℃ 却无出苗数 (图 2-2)。由此说明，20℃ 为适宜诱导温度。

考虑到植株生长发育必须在适宜的温度范围内才能进行正常的生长，当对亚麻种子进行诱导实验时，秋水仙碱处理过的种子必会受到其毒害作用，因此，其生长势、生活力等都会有所下降，因而，正在处理的或受到处理过的亚麻种子如果要正常的生长都应该在正常亚麻生长的温度范围内，故我们精确考虑各因素对变异成活率主次作用其各因素互作关系时，我们暂不考虑处理温度的变化，只提供 20℃ 温度条件，进行正交试验。

3 结论与讨论

本试验结果表明，秋水仙碱对亚麻种子多倍体诱导有着显著的作用，种子诱导之后表

现下胚轴增粗、茎秆增粗、叶色变浓绿、植株矮化等现象（图 2-5）；在细胞水平上，染色体数目增加（图 2-6、图 2-7）。清水浸泡时间、秋水仙碱的浓度、温度和处理时间等外界因子对种子的成活与诱导产生影响。在各因子单独实验时，16 小时的清水浸泡时间，温度 20℃下，0.16%的秋水仙碱，处理 12 小时，效果显著，有利于多倍体的诱导。正交试验中秋水仙碱浓度与浸泡时间对变异成活率的影响如下：

1) 由 $\hat{y} = -0.25202 + 1.664982Z_1 + 0.023691Z_2$ 方程表明秋水仙碱浓度与处理时间对变异成活率的影响是为线性关系，并为正相关，也就是说当浓度一定时，处理时间越长，变异成活率越高；处理时间一定时，浓度越高，变异成活率也越高。当浓度增加一个单位时，变异成活增加 1.66498 个单位；而当时间增加一个单位时，变异成活率仅增加 0.02369 个单位，由此也可以得出浓度对变异成活率的贡献要比处理时间的大得多，这与通径分析的结论是一致的。而且在实验中浓度为 0.03%、处理时间 22.45 小时，变异成活率也只有 0.09，而 0.37%、处理时间 1.55 小时，变异成活率就达到了 0.179，也证明了此结论的正确性。

2) 由方程还可以得出当变异成活率一定时，浓度越高，则所需的处理时间越短；反之，处理时间越长。这与前人所得的结论是一致的。董延瑜（1992）、周朴华^[28,16]等指出一般浓度高，处理的时间宜稍短，若以较稀的浓度处理，则处理的时间可适当延长。当然不同的材料要求所需的浓度与处理时间有所不同。

3) 除了秋水仙碱的浓度与处理时间，其它因素也影响植物变异成活率，如不同的材料、材料处理前的生理状态、处理过程中所处的环境、处理后生长条件等无不影响其变异成活率。为了消除或尽可能减少不明因素的干扰，本实验尽可能做到取材一致，温度、湿度、光照、pH 等培养条件以及培养基基本一致。结果表明：化学诱变结合组织培养进行亚麻育种，可以提高突变的频率，得到丰富的变异体，为选育新品种提供了丰富的材料。由于单因素条件下各实验条件都是在全部因素固定而某一因素变化的情况下测定的，因而应用起来有一定的局限性，但是二次回归设计实验所得的结论在秋水仙碱浓度 0.00%~0.4%条件下，其浓度与处理时间可以作相应的调整，达到高效变异诱导成活的效果；本次实验所得实际最佳组合为 16 小时的清水浸泡时间，温度 20℃下，0.16%秋水仙碱溶液，诱导处理时间 12 小时，可以得到较高的变异成活率 24.67%。

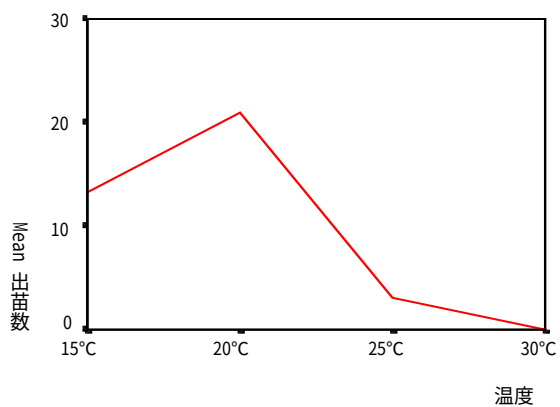


图 2-4 温度处理对种子出苗数的影响

Fig.2-4 Effect of temperature on the number of seedlings



Fig.2-5 Seedlings treated with colchicines

图 2-5 秋水仙碱处理过的种子苗

a.处理茎杆增粗 b.下胚轴增粗 c 未处理正常植株



图 2-6 亚麻变异植株染色体

Fig.2- 6 chromosomes of flax variation



图 2-7 正常亚麻二倍体植株染色体

Fig. 2-7 Chromosomes of flax diploid plant

第三章 组织培养对亚麻多倍体生根诱导的影响

通过组织培养与化学诱导技术,进行亚麻品种遗传改良,培育亚麻新品种将是亚麻育种的重要途径。用秋水仙碱溶液诱导出亚麻变异株,虽然在 1/2MS 培养基中也能长出新根,但是其试管苗的素质比较差,移栽后成活率偏低。本实验通过对不同培养基、pH 值调节及生长调节剂的配比对生根影响的研究,试图找出试管苗生根的适宜条件,以提高试管苗的素质和移栽成活率。

1 材料与方法

1.1 材料及培养条件

供试材料范妮亚麻清水浸泡 16 小时后的无菌种子,接种到 0.16%秋水仙碱溶液中处理 12 小时,处理结束后用无菌水清洗 3~4 次,洗净秋水仙碱溶液,转至各种设计的生根培养基中。每处理接种 50 粒萌动种子,5 次重复(10 粒/重复),除 NAA 与 IBA 组合试验之外,其它均采用单因素随机实验设计。在生根培养基中培养 14 天后进行指标测量,培养条件为:温度 20℃,每天光照 10h,光照强度 1600lx,相对湿度 70%。

1.2 试验方法

1.2.1 pH 值对生根的影响

以 1/2 B₅+ NAA 0.1mg/L 为生根培养基,设计 5 种不同 pH 值培养基:5.4、5.8、6.2、6.6、7.0。接种秋水仙碱溶液诱导过的萌动种子至以上设计的培养基上进行生根试验。

1.2.2 培养基类型对生根的影响

对 MS 和 B₅ 培养基的大量元素、微量元素、有机物进行相互组合形成新的培养基,7 种培养基设计为:B₅, 1/2B₅, 1/2BMS (B₅ 的大量元素和微量元素减半+MS 有机物, pH 值 5.5, 20g/L sugar, 6.5g/L agar), BMS (B₅ 大量元素和微量元素+MS 有机物, 其它与 1/2BMS 一致), 1/2MS (pH 为 5.8), 1/2MSB (MS 的大量元素和微量元素减半+B₅ 有机物, pH 为 5.8, 其它相同), MSB (MS 的大量元素和微量元素+B₅ 有机物, pH 为 5.8, 其它相同)。以上培养基均附加 NAA 0.1mg/L。

1.2.3 生长调节剂类型对生根的影响

浓度均为 0.3mg/L NAA、IBA、2, 4-D 三种生长调节剂分别添加到 1/2 B₅ 培养基中进行生根实验。

1.2.4 NAA、IBA 及其组合对生根的影响

用 1/2B₅ 为基本培养基, NAA、IBA 及其组合进行浓度筛选, NAA、IBA 浓度设为 0.1, 0.2, 0.3 和 0.5 mg/L 分别进行单因素随机实验; NAA 及 IBA 的组合实验浓度均设为 0.1, 0.2, 0.3 和 0.4 mg/L 采用二因素完全随机实验设计, 共 16 种组合处理。

2 结果与分析

2.1 pH 值对生根的影响

pH 值影响试管苗的生根, 不同的植物对 pH 值要求不一, 一般在 5.0~6.0。观察发现, 接种后 4d 左右, pH 为 6.2 的生根率就达到了 20%, 10d 达到 50%, 12d 达到了 100%, 比 pH 值 5.8、5.4、7.0 分别提早 2d、4d、6d 出根。其中 pH 值 5.4、5.8、6.6、7.0 在 12d 的生根率分别为 30.77%、50%、80.21%、66.67%。由此可知, pH 值的高低直接影响亚麻试管苗的出根速率。

从表 3-1 各项测量指标可以得知, pH 值 6.2 除主根直径较低外, 其余指标平均值均高于其它 pH 值。从苗高、发根密度、侧根长、单株根干物质重的增长趋势来看, 随着 pH 值的增加, 其值也在增加, 到 pH 值为 6.2 时达到高峰, 接着下降, 呈抛物线的变化趋势。因而 pH 值 6.2 更有利于提供亚麻生长所需的环境, 在以后的试验中选择 pH 值 6.2 作为生根的基本培养环境。

2.2 培养基类型对生根的影响

培养基是试管苗生长赖以生存的基本环境, 其大量元素、微量元素、有机物均对试管苗生长产生影响。适当降低无机盐浓度, 有利于根的生长, 其中含低 NH_4^+ 的培养基更有利于亚麻生根, 从实验中得知, 1/2B₅、1/2BMS 培养基上的生根率均可达到 100%, 而以含 MS 无机物的培养基 1/2MS、1/2MSB、MSB 均不利于根的生长, 生根率分别为 32.33%、40.53%、20.15%, 而且试管苗有较严重的玻璃化现象出现。

由 SSR (新复极差) 多重比较发现, 1/2B₅、1/2BMS 的试管苗在苗高、根长、发根密度上二者之间没有明显的差异之外, 与其它培养基均差异显著, 但其余培养基之间差异不明显 (表 3-2)。因此, 亚麻试管苗在较低 NH_4^+ 的培养基 1/2B₅、1/2BMS 均生长较好, 说明试管苗生根对培养基选择上要求不严格。

2.3 生长调节剂类型对生根的影响

从图 3-1 可以看出, 试管苗在不同的生长调节剂培养基中, 开始生根的时间有所不同, 含 IBA 的培养基中 4d 左右开始生根, 生根高峰出现在转接后第 6~8 天; 在含 NAA 或不含

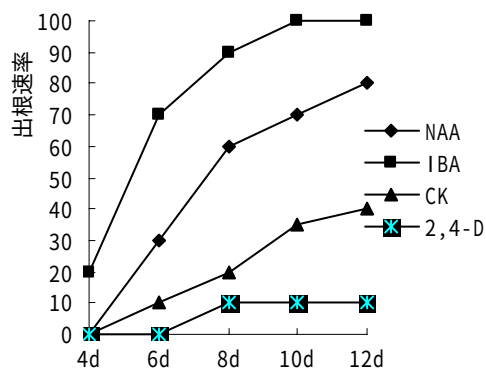


图3-1 不同生长调节剂对出根速率的影响
Fig.3-1 Effect of different plant growth regulators on the ratio of rooting

生长素 (CK) 的培养基中, 试管苗一般在 8 天左右开始生根, 生根高峰出现在转接后第 10~12 天; 而在含 2,4-D 的培养基中生根率很低, 很可能是对亚麻根的分化有抑制作用, 同时伴随有大量愈伤组织形成。所以不同生长素类型对生根诱导有着不同的效果, IBA 和 NAA 在一定浓度范围内不仅具有促进作用, 而且还能使试管苗提早生根, 但 2,4-D 却具有抑制根形成的作用。

经 SSR 检测结果发现, IBA 在发根密度、侧根长、根干物质重方面的测量指标平均值比其它生长素明显的高, 而且与其它生长素方面存在着极显著的差异 ($\alpha=0.01$)。而 2,4-D、CK 之间不存在显著差异。因此, 浓度 0.3mg/L 的不同生长素对生根的作用差异明显, IBA 比 NAA 对生根的作用效果更加明显 (表 3-3)。

2.4 NAA、IBA 及其组合对生根的影响

2.4.1 不同浓度的 NAA 对生根诱导的影响

不同的材料对生长调节剂的需求不同, 若浓度过低, 不能促进根的生长; 浓度过高, 容易形成愈伤组织, 而后从愈伤组织上分化出根来, 这样由于茎与根之间的维管束连接不好, 影响养分和水分的输导, 移栽时, 根易脱落, 且易污染, 移栽成活率不高。实验表明, 0.1mg/L~0.2mg/L 的 NAA 对根的诱导效果较好, 随着浓度增加, 根部愈伤化程度也在增加。由 F 测验结果可知, 各处理浓度之间差异显著, 但经 SSR 测验后发现 0.1mg/L、0.2mg/L 的主根长、主根直径、发根密度、侧根长及根干物重的平均值之间差异并不明显, 而与 0.3mg/L、0.5mg/L 之间差异显著。从各处理浓度的生根率发现 0.1mg/L 和 0.2mg/L 浓度的生根诱导率分别为 84.43% 和 86.18%, 而 0.3mg/L 和 0.5mg/L 由于浓度过高, 茎部形成大量的愈伤组织, 导致生根很低, 只有 15.36%、10.44%。因此, NAA 对根的诱导有效浓度为 0.1mg/L~0.2mg/L (图 3-2)。

2.4.2 不同浓度的 IBA 对生根诱导的影响

由 F 测验结果表明, 除主根长与发根密度存在显著性差异外, 其余各测量指标均无明显差异。经 SSR 多重比较, 0.3mg/L 的主根长、发根密度分别为 5.425cm、19.35 根/cm, 其主根长比最长的低了 8.415cm, 而发根密度却是最密的, 比稀的多出了 12.5288 根/cm, 由此表明, 虽然各处理浓度对根的生长都有一定的效果, 但 0.3mg/L 处理对根的诱导效果是短而密, 而 0.1mg/L 的却是稀而长。侧根较长不利于移栽, 侧根较少则不利于成活, 因

此，0.3mg/L 浓度对根的诱导效果有利于较高的移栽成活率(图 3-2)。

2.4.3 NAA 与 IBA 不同浓度组合对生根诱导的影响

IBA 作用强烈，作用时间长，诱导根多而长；NAA 诱导根少而粗，本研究目的就是二者的相互配合，是否有利于取长补短，发挥其生根诱导的最好效果。F 测验表明，NAA 与 IBA 在侧根生长方面互作显著，说明侧根长度的各处理组合的效应不是各单因素效应的简单相加，而是 NAA 效应随 IBA 浓度不同而不同（或反之）。在其余各项测量指标里，它们之间互作不显著，只是由 NAA 或 IBA 单因素所引起的效应(表 3-4)。因此，以前面的单因素实验为基础，本研究不作深入测验，而只以侧根长度为指标的各处理组合进一步作 SSR 测验。测验结果显示，处理组合 NAA:IBA 浓度之比为 4:2,4:3,3:1 时侧根长度平均值之间差异不明显之外，与其余 13 种处理组合之间差异显著。但 4:2 与 4:3 的处理组合由于根部愈伤化程度严重，能显著的引起移栽成活率的下降，因此，适宜的 NAA 与 IBA 之间的浓度组合为 0.3mg/L:0.1mg/L。

3 讨论

3.1 pH 值不仅影响生长调节剂进入细胞，而且还可能影响激素在胞内的作用状况。在 pH 值 6~8 之内，NAA、IAA、2,4-D 对豌豆上胚轴可溶性胞质蛋白中专一结合蛋白的结合随 pH 值上升而结合量增加^[29]，因此，pH 值对植物的生长、分化、发育有着重要的影响。但现阶段对 pH 值的作用机理研究的有关报道还很少。

3.2 亚麻变异试管苗的生根培养，选用 1/2B₅ 或 1/2BMS 为基本培养基，生根效果佳。可见适当降低培养基中无机盐浓度特别是较低 NH₄⁺，有利于亚麻变异试管苗的生根，且根多而粗壮，发根快。这与王清连、曹孜义研究的结论一致^[30~31]。

3.3 不同的生长调节剂类型对不同的材料诱导生根有不同的效果，即使诱导同一种材料由于化学性质和促进生根的机理不同，因而生根效果也不相同。本实验研究发现，IBA 的诱导效果要比 NAA 的好，并且在 0.1mg/L~0.5mg/L 之内，没有出现愈伤化现象，但是随 NAA 浓度的增加，其亚麻根部愈伤化程度在加深。这与孟新法对苹果生根诱导的研究所作的结论恰好相反^[32]。

表 3-1 不同 pH 值的试管苗生根情况

Tab.3-1 Rooting of plantlets in different pH

pH 值	苗高(cm)	主根长(cm)	主根直径(cm)	发根密度(number/cm)	侧根长(cm)	根干重(g)	总重(g)
5.4	1.104	4.720	0.042	3.8222	2.3634	0.0010	0.0055
5.8	1.200	5.105	0.028	7.3081	2.6965	0.0012	0.0080
6.2	3.357	9.267	0.013	13.6885	3.7362	0.0030	0.0119
6.6	2.882	3.550	0.057	10.2848	1.8755	0.0017	0.0076
7.0	1.960	2.227	0.030	7.7948	1.6666	0.0015	0.0074

表 3-2 不同培养基的生根情况

Tab.3-2 Rooting of plantlets in different medium

培养基	苗高	根长	发根密度
1/2B ₅	2.823 a	3.787 a	11.7956 a
1/2BMS	1.434 a	3.263 a	11.1361 a
BMS	0.541 b	1.482 b	6.1388 b
B ₅	0.748 b	1.923 b	9.9813 b
1/2MSB	0.556 b	1.399 b	7.7639 b
1/2MS	0.654 b	1.250 b	5.2664 b
MSB	0.735 b	1.889 b	6.0664 b

Note: a=0.05, “a” and “b” mean the different level, “a” shows, at the same level, the different between “a” and “b” is significant. The same below

表 3-3 不同生长调节剂对试管苗生根的影响

Tab.3-3 Effect of different plant growth regulators on rooting

类型	发根密度(number/cm)	侧根长(cm)	根干物重(g)
IBA	19.350 A	0.8194 A	0.00760 A
NAA	10.887 B	0.7884 A	0.00486 A
2,4-D	3.000 C	0.132 B	0.00194 B
CK	2 .000C	0.127 B	0.00140 B

Note: a=0.01, “A”,“B” and “C” mean the different level, “A” shows, at the same level, the different among “A”,“B”,“C” is significant. The same below.

表 3-4 NAA 与 IBA 组合的方差分析表

Tab.3-4 Variance analysis of combination of NAA and IBA on rooting

变异来源	自由度 DF	平方和 MS				
		主根长(cm)	苗高(cm)	主根直径(cm)	发根密度(根/厘米)	侧根长(cm)
处理组间	15	17.2539	8.0290	0.0890	147.3690	7.3217
NAA	3	18.1365	13.3214	0.0807	245.5657	15.0100
IBA	3	12.9119	20.3480	0.0487	52.8557	2.9458
NAA x IBA	9	18.4070	2.1586	0.1051	146.1412	6.2176
误差	64	5.9797	2.1445	0.0523	81.4785	1.0042

变异来源	F 值					
	自由度 DF	主根长(cm)	苗高(cm)	主根直径(cm)	发根密度(根/厘米)	侧根长(cm)
处理组合间	15	2.8853	3.7440	1.7001	1.808684	7.2910
NAA	3	3.0329 *	6.2118 *	1.5428	3.013868 *	14.9470 *
IBA	3	2.1592	9.4884 *	0.9308	0.648708	2.9335 *
NAA x IBA	9	3.0782 *	1.0065	2.0089	1.793615	6.1915 *

Note: * means $F > F_{0.05}$.

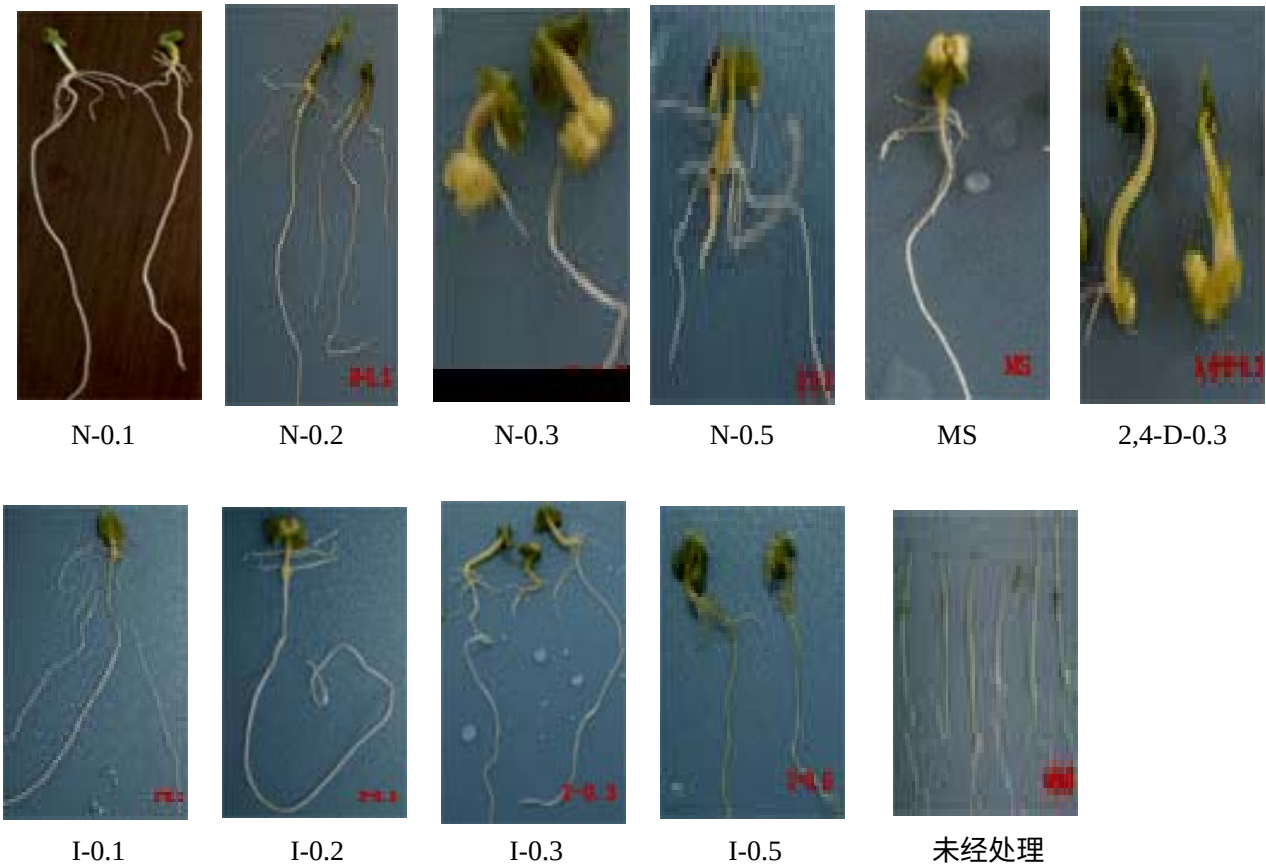


图 3-2 不同激素与浓度对生根诱导的影响

Fig.3-2 Effect of different hormone and concentrations on rooting

第四章 促进亚麻变异试管苗移栽成活因子研究

近年来, 亚麻组培苗研究虽有报道^[33-34], 但其炼苗移栽方面的有关研究很少见报道。本实验通过研究和探索, 总结出了一套炼苗方式及移栽技术, 使移栽成活率达到 90%以上, 为变异植株田间生物学性状研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为经过 0.16%秋水仙碱溶液诱导 12 小时处理过的变异亚麻(范妮)试管苗。

1.2 试验处理

单因子试验设计, 各处理试管苗 60 株, 三次重复。处理设计如下:

- 1) 试管内炼苗时间分别为 0、3、5、7、9、11d。
- 2) 设炼苗温度为 20°C、25°C、30°C。
- 3) 设不同根量(根数/株)为 0、2、4、6、8 根/株。
- 4) 不同生长基质: 黄土记为 A、黄土:细沙(7:3)记为 B、黄土:细沙:炭化谷壳(5:3:2)记为 C、细沙:炭化谷壳(7:3)记为 D、黄土:炭化谷壳(7:3)记为 E。
- 5) 设温室炼苗时间为 6、8、10、12、14、16。
- 6) 设室外炼苗时间为 2、4、6、8、10、12。

1.3 实验流程

取素质一致的试管苗, 按试验要求进行培养室炼苗→开瓶取出生根苗, 用自来水洗净琼脂→移栽到温室里, 在实验设计好的生长基质中生长→浇水后用塑料覆盖保湿 4 天→揭膜降湿, 按设计要求在温室里培养→移出温室, 根据设计的天数炼苗→连同基质移栽到大田。测量苗高、根数、根干物重、成活数等指标。

2 结果与分析

2.1 培养室不同炼苗时间对移栽成活率的影响

组培苗在培养基中生长的光照强度、温度、营养供给等环境基本恒定, 生长的苗比较娇嫩, 移至培养室内阳面窗下生长, 其环境从相对恒定到变化的过程, 光照强度变化, 昼夜温差均对组培苗的生长发育产生显著的影响。从实验结果(表 4-1)可以得出, 随着炼苗天数的增加, 移栽成活率在相应提高, 当达到 7 天时, 苗高、根数、根干物重的平均值达

到了最大，但是随着炼苗天数的进一步增加，然后呈下降趋势。这是由于试管苗从一个无菌、恒温、高湿、弱光、异养的环境向变温、低湿、强光、自养环境过渡，如果炼苗时间短，移栽到基质中去，试管苗此时还没有达到完全能自养的能力，无法适应外界的环境，所以成活率较低；如果炼苗时间过长，一方面培养基中的营养物质已经无法满足植株生长的需要，另一方面在炼苗过程中，幼苗根系在不断的生长，根系过长的幼苗刚从瓶内出来时已长得很旺，但移栽之后，其生长旺势已过，适应力、抗逆性下降，环境稍不适宜就易造成根系的损伤或腐烂，所以成活率反而在下降。因此，选择适宜的炼苗天数也就是选择幼苗达到自养和生长势强弱的时间，这是保证成活率提高的首要条件。

2.2 不同炼苗温度对移栽成活率的影响

植物的生长都有温度“三基点”（最高温度、最低温度、最适温度），只有在最适温度条件下酶的活性才达到最佳水平。温度的变化，引起酶的活性发生改变，从而引起植株的生长发育进度不一。从实验分析可以得出，不同温度炼苗对移栽成活率有明显影响（表 4-2）。在温度 25℃，试管苗的移栽成活率达到最大 91.65%，而在 20℃、30℃的成活率显著下降，只有 58.33%、53.3%。从苗高测量项可以得知，植株高度随着温度的升高而增长，但是地下部分却没有相应的得到提高，也就无法保证地上部分所需物质的供应，导致地上部分“营养不良”，植株在温室炼苗的过程中就夭折了，温度过高，成活率反而会下降。因此，温度高时，炼苗时间可以相应缩短；温度低时，炼苗时间可适当延长，同样可以达到植株能自养、适应外界环境的能力。本实验炼苗 7 天，温度选择 25℃，可以作为适宜的炼苗温度。

2.3 不同根量对移栽成活率的影响

不同根系试管苗出瓶移栽后新根及成活率变化都比较大(表 4-3)。移栽根系在 6 条根及以上的根数移栽成活率都在 90%以上，由此表明，根系的生长状况对试管苗的成活影响显著，根系越发达，植株适应外界环境的能力越强。当然植株的根数达到一定的数量需要一定的时间，并且植株茎秆也在不断的生长，时间过长，导致地上部分茎秆过高，移栽时易倒伏，成活率也会下降。故选择移栽根数在 6~8 根/株，对于较高的移栽成活率是适宜的。

2.4 不同生长基质对移栽成活率的影响

试管苗移栽至温室生长基质中生长的过程，是一个从异养到自养全面适应外界环境的过程，而生长基质所提供的土壤环境对试管苗的成活起着关键的作用。经 F 测验不同生

长基质之间各项测量指标均存在显著性差异,进一步进行 SSR(新复极差法)统计分析发现(表 4-4),以黄土:细沙:炭化谷壳(5:3:2)(C)为生长基质的移栽成活率最高,表现在苗高、根数、根干物重、成活数各指标均比其它处理的生长基质之间存在显著的差异性,其平均值均处于最高值,表明此处理生长基质对试管苗的生长提供了良好的土壤环境,有利于试管苗根系的生长,移栽成活率可达到 92.15%。

通过试验发现(图 4-1),在炼苗初期,试管苗处于适应和恢复期,生长活动平缓,因而在 10 天以内,试管苗的生长速度在不同的生长基质上并没有显著差异,但在 10 天以后,试管苗开始转入旺盛生长时期,对基质的要求在逐步提高,越是疏松透气、保湿的基质,生长速度越快,其成活率也越高。因此,在相同的管理条件下,处理黄土:细沙:炭化谷壳(5:3:2)(C)是最有利于试管苗生长的。

2.5 室内外炼苗天数对移栽成活率的影响

试管苗炼苗的过程实际上是一个从相对恒温、恒湿到相对较大幅度的变温、变湿的环境,逐步适应外界环境的过程。炼苗时间的长短要根据试管苗的长势长相来判定。炼苗之前,苗木基本靠异养生活,叶片颜色嫩绿且薄,极易失水萎蔫;炼苗后,叶片颜色深绿,对湿度降低引起的水分胁迫已初步具有了一定的抗性,比较伸展。通过分步炼苗,提高了植株的抗逆性,从而大大提高了试管苗的移栽成活率。图 4-2 表明,温室炼苗成活率随着炼苗时间的延长移栽成活率逐渐提高,当达到 10 天左右,成活率最高达到 90.45%;之后,由于生长基质的肥力有限,植株开始生长活力增强,当前的肥力无法补充植株所需的营养,因而要不断的补充营养成分,另外,植株生长过高,移栽到大田之中也很容易倒伏,因而成活率反而缓慢下降。

室外炼苗生长是试管苗完全过渡到纯自然状态下的生长,只有那些经过培养室炼苗、温室炼苗过程逐步适应外界环境,具有一定抗逆性的试管苗才能生长良好。试验结果表明(图 4-2)室外炼苗 6 天左右,再移栽至大田,其移栽成活率可达到 93.48%。其它炼苗天数均不及。因而 6 天左右的室外炼苗,对于保证较高移栽成活率是适宜的选择。

3 讨论与结论

3.1 亚麻经秋水仙碱溶液处理后在不同程度上改变了原来的遗传基础,使得变异了的植株对外界的环境要求比正常植株更加严格,试管苗从培养室炼苗、温室炼苗、室外炼苗和定植到大田之中,需各环节最佳搭配(图4-3)。同时选择适宜的外界环境,使之生存环境逐步发生变化,才能提高移栽成活率。本实验研究结果表明,根数为6~8根/株的试管苗,

先在温度25℃的培养室炼苗7天，后移栽在黄土:细沙:炭化谷壳(5:3:2)的培养基质中，温室炼苗10天，室外炼苗6天，再移栽至大田，移栽成活率最高，可达90%以上。

3.2 移栽苗死亡的原因，主要是幼苗组织水分失去平衡和外界病菌对幼苗的侵染所造成的^[35]。故提高试管苗移栽成活率的基本措施是防止幼苗失水和病菌感染。因此，加强温室炼苗初期保温、保湿、肥水管理、病虫害防治等措施对植株的生长也产生重要的影响。实验发现，植株在生长基质生长10天之后，进入生长旺期，及时喷施营养液，能使植株生长量显著的提高；同时移栽2天后及时喷施多菌灵溶液等杀菌剂进行灭菌，建立适宜的过渡环境，促使其从异养向自养转化过渡，进而移入大田。

表4-1 不同炼苗天数对移栽成活率的影响

Tab.4-1 Effect of different domestication stages on transplant survival percentage

天数(d)	苗高(cm)	根数(条/株)	根干物重(g/株)	成活率(%)
0	2.4267	3.01	0.0040	11.66
3	3.2567	7.00	0.0075	36.66
5	4.4433	12.32	0.0313	70.00
7	4.6167	14.63	0.0605	91.66
9	4.6367	13.33	0.0380	50.00
11	4.6000	11.66	0.0283	46.66

表4-2 不同炼苗温度对移栽成活率的影响

Tab.4-2 Effect of different temperature domesticated on transplant survival percentage

温度(℃)	苗高(cm)	根数(条/株)	根干物重(g/株)	成活率(%)
20	3.2866	7.33	0.0052	58.33
25	4.2266	14.66	0.0284	91.66
30	4.7066	10.66	0.0171	53.33

表 4-3 不同根量对移栽成活率的影响

Tab.4-3 Effect of different number of roots on transplant survival percentage

根数(/株)	苗高(cm)	新根数(条/株)	根干物重(g/株)	成活率(%)
0	2.4933	2.00	0.0012	11.66
2	3.1900	6.00	0.0077	35.00
4	3.5333	12.33	0.0381	56.66
6	3.5966	18.33	0.0933	93.33
8(>8)	3.7266	17.66	0.0891	91.54

表 4-4 不同生长基质对移栽成活率的影响

Tab.4-4 Effect of different growth matrixes on transplant survival percentage

生长基质	苗高(cm)	新根数(条/株)	根干物重(g/株)	成活数
A	3.8966 c	6.33 c	0.0038 c	5.66 d
B	4.0566 c	10.33 b	0.0051 bc	11.00 c
C	5.8033 a	16.00 a	0.0098 a	18.43 a
D	4.0700 c	11.33 b	0.0060 b	15.33 ab
E	5.1633 b	13.00 ab	0.0065 b	14.66 b

Note: $\alpha=0.05$, "a", "b", "c" and "d" mean the different level, "a" shows, at the same level, the different among "b", "c" "d" is significant.

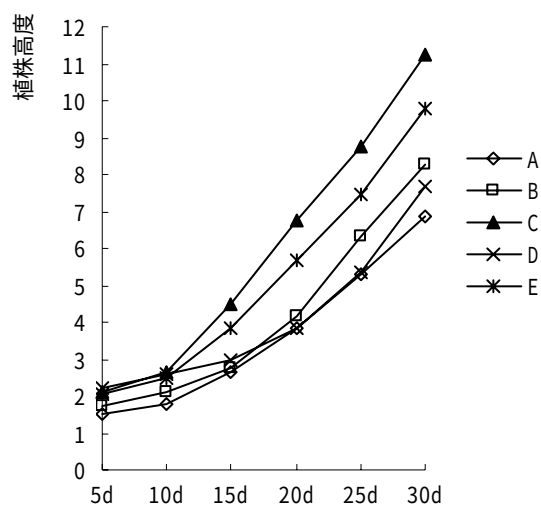


图4-1 不同基质类型对植株生长速度的影响

Fig.4-1 Effect of growth speed on different matrixes

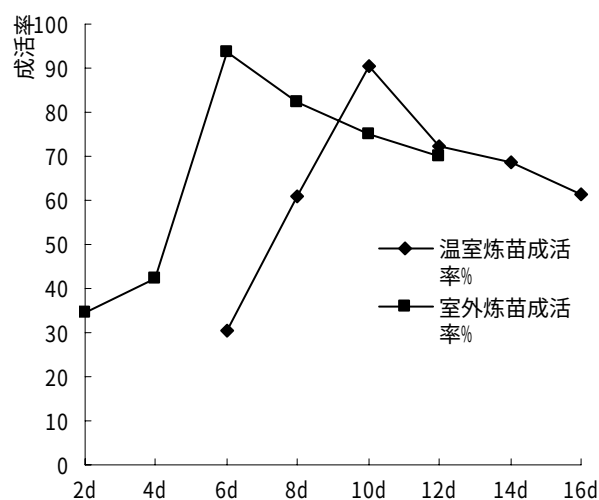


图4-2 温室、室外炼苗天数对移栽成活率的影响

Fig.4-2 Effect of different days in green house and in outdoor on transplant survival percentage



封盖炼苗



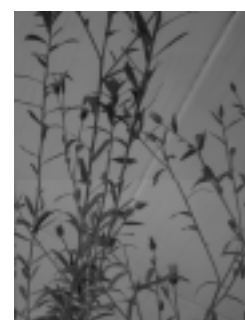
开瓶炼苗



温室炼苗



室外生长



亚麻开花期

图 4-3 不同阶段炼苗图

Fig. 4-3 different domestication stages

第五章 总 结

本研究通过亚麻多倍体化学诱导技术单因素研究基础之上,筛选出影响其变异诱导率相对重要的两因素即秋水仙碱浓度与处理时间,以此两因素进行二次回归正交设计,利用实际有限的范围数据结合生物统计学的原理科学推导出了更为有效、灵活多变的秋水仙碱浓度与相应处理时间的正确组合,可以达到有效变异诱导效果;由于化学诱导药剂对种子的伤害比较大,因而影响了种子的生活力,对于种子的正常生长必然产生重要的影响,其表现出种苗的生长情况较弱,生根比较差,植株矮化等现象。通过运用植物生长调节剂可以有效改善以上存在的不足。诱导变异了的植株经历培养室炼苗、温室炼苗、室外炼苗和定植到大田,从一个无菌、恒温、高湿、弱光、异养的环境向变温、低湿、强光、自养环境过渡,逐步适应外界环境的过程。通过试管苗移栽成活因子的研究,多倍体植株成活率得到了较大的提高。本实验通过化学诱导、组织培养和移栽成活因子的一系列相关研究,初步培育出了多倍体植株,并得到小规模繁殖。现将实验主要结论总结如下:

1 秋水仙碱对亚麻变异成活率的影响

在单因素实验基础之上,进一步作二次回归分析,初步得出了影响亚麻种子变异诱导成活率的主要因子为秋水仙碱浓度,其次为处理时间,而诱导温度、种子清水浸泡前处理时间因子对其诱导成活率的影响程度较小。综合单因素与二次回归分析实验,研究结果为:在无菌条件下,“范妮”亚麻种子无菌水浸泡16小时后,经0.16%秋水仙碱溶液在温度20℃条件下处理12小时,无菌水洗尽秋水仙碱溶液,然后转移至生根培养基中,可以得到较高的变异成活率(24.67%)。

2 组织培养对亚麻多倍体植株生根的影响

采用秋水仙碱溶液诱导后的亚麻种子,在不同的pH值和生根培养基下生长,在添加不同生长调节剂,研究pH值、培养基类型及生长调节剂对变异试管苗诱导生根作用的影响。结果表明:在1/2B₅培养基、pH值6.2、添加0.1~0.2mg/L NAA或0.3mg/L IBA或0.3mg/L NAA和0.1mg/L IBA配合使用均对变异试管苗诱导生根有显著的作用,诱导生根率可达到80%以上。

3 多倍体试管苗移栽成活因子的研究

以多倍体亚麻试管苗为材料,系统研究了炼苗时间、温度、不同根量、培养基质、温室、室外炼苗天数对形态变异试管苗移栽成活率的影响。结果表明,根数为6~8根的试管

苗,先在温度25℃的培养室炼苗7天,后移栽在黄土:细沙:炭化谷壳(5:3:2)的培养基质中,温室炼苗10天,室外炼苗6天,再移栽至大田,移栽成活率可高达90%以上。初步探索出了一套简单易行,实用高效的试管苗优化配套移栽技术。

参考文献

- [1] 吕江南,胡镇修. 我国南方亚麻开发的几点思考[J].农牧产品开发,1999,(7):34-35.
- [2] 周文新,孙焕良,郭清泉.我国南方亚麻产业化发展刍论[J]. 农业现代研究,2001,22(1):7-10.
- [3] Masterson J.Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms[J]. Science, 1992,264: 421-424.
- [4] Allard R W. Principle of Plant Breeding[M]. New York: Plenum Press 1960.
- [5] Mendiburu A O, Peloquin S J Bilateral. Sexual polyploidization in potatoes[J]. Euphytica, 1997, 26:573-583.
- [6] Hagerup O. The spontaneous formation of haploid, polyploidy and aneuploid embryos in some orchids[J]. Kongel Danse Videnskab Selskab Biol Meddelelser, 1947,20:1-22.
- [7] 蔡 旭. 植物遗传育种学[M].北京:科学出版社,1988.
- [8] 牛维和,徐玉冰. 诱导君子兰多倍体的研究初报[J]. 园艺学报,1986,13(1):61-63.
- [9] 陈发棣,蒋甲福. 秋水仙碱诱导菊花脑多倍体的研究[J]. 上海农业学报,2002,18(1):46-50.
- [10] 周伟军. 油菜小孢子秋水仙碱直接处理增加醇和两倍体植株频率[J]. 浙江大学学报,2002,26(2):125-126.
- [11] 马新才. 虞美人多倍体化学诱变研究初报[J]. 莱阳农学院学报,2003,20(3):172-174.
- [12] 张兴翠. 药用百合的多倍体诱导及快速繁殖[J]. 西南农业大学学报,2003,25(1):14-17.
- [13] 寻晓红. 黄花蒿试管苗再生途径及多倍体诱发的研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2003,29(2):115-119.
- [14] 郭 英. 小叶绿萝同源多倍体诱导研究初报[J]. 西南园艺,2002,30(4):1-4.
- [15] 郑思乡. 离体培养条件下金鱼草多倍体诱导研究. 云南林业科技,2003,4:80-83.
- [16] 周朴华,何立珍. 黄花菜圆圆周球茎经秋水仙碱处理后再生苗加倍效果观察[J]. 湖南农学院学报,1991,17(2):158-165.
- [17] 孙 敏. 小黑麦生物学特性、营养价值及利用前景[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2003,23(3):200-203.
- [18] Chi, C. Y. Lai, M. L. Producing new varieties through mutation by colchicines proc[J].Soil Sci Fla,1964(24):405-408.
- [19] 谢卓荣. 苎麻多倍体诱导的研究中国[J].农业科学, 1986.
- [20] 郑思乡,罗慧敏. 组织培养在苎麻多倍体研究中的应用初报[J].湖南农业大学学

报,1995,21(4):361-365.

[21] 陈德富,陈喜文. 苧麻体细胞胚胎发生及其人工种子制备技术的研究[J].中国麻作,1996,18(4):56-59.

[22] 潘昌立,李树川. 苧麻体细胞无性系变异及其规律的研究[J].中国麻作,1996,18(1):1-6.

[23] 熊兴耀,甘霖. 苧麻原生质体再生植物及影响因子的研究[J].农业生物技术学报,1996,4(2):147-152.

[24] 杨学. 亚麻多倍体诱导技术研究[J].黑龙江农业科学,2002,(4):14-15.

[25] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 中国农业出版社,2000.

[26] 李宗道. 苧麻生理生化与遗传育种[M]. 中国农业出版社,1989.

[27] 李宗道. 苧麻科学论文集[J]. 作物研究,1994(5).

[28] 董延瑜,郑思乡,洪亚辉等. 苧麻多倍体诱导的基础研究[J]. 湖南农学院学报,1993,18(3):529-538.

[29] 曹新祥,韩小云. 植物组织培养中的 pH 值[J]. 杭州师范学院学报,2003,2(1):60-63.

[30] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002.

[31] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学出版社,1996,11:50-52.

[32] 孟新法,周维燕. 吲哚乙酸对苹果矮化砧木离体快繁生根的影响[J]. 北京农业大学学报,1988(2):25-27.

[33] 姬妍茹,田玉杰,苑志辉等. 用组织培养法繁殖野生亚麻的研究[J]. 中国麻业,2001,23(4):8-11.

[34] 孙洪涛. 亚麻茎尖、子叶、下胚轴诱导再生植株的研究[J]. 科学通报,1983,21:1322-1334.

[35] 罗晓芳,田现亭,李云等. 金丝小枣组织快速繁殖的研究[J]. 北京林业大学学报,1996,18(2):9—15.

致 谢

论文从选题、资料收集、设计、实施到撰写、修改都是在导师张福泉教授和孙焕良教授悉心指导下完成的，在此我要特别感谢两位恩师。三年来，导师从学习、生活上给了我诸多关心、照顾，使我在入学之初迅速适应了研究生生活，并顺利完成了三年的学业。导师严谨的治学态度、朴素的生活作风、孜孜不倦的敬业精神令我终身受益。在以后的学习和工作中，我将谨记导师的教诲，以导师为榜样，认真工作，勇攀高峰，开拓创新。

在论文进行过程中，衷心的感谢永州职业技术学院组培研究中心的何增明教授、黄绿荷老师、梁文旭老师等所有老师和工作人员的诸多帮助和支持；感谢向世鹏、王孔俭、李煊星、孟桂园、瞿军、黄萍等帮助与支持；感谢苎麻研究所的所有工作人员为实验提供方面和支持；感谢研究生处的大力关心和支持。

衷心的感谢我的父母、姐姐和姐夫，是你们的无私关怀、帮助和支持，让我顺利完成了学业。

衷心地感谢三年来曾帮助过我的所有老师与同学！

最后，对参加本论文评议、评阅和对本论文提出了宝贵意见的所有专家和同仁表示衷心的感谢！

2005年5月于湖南农业大学

作者简介

姓名：胡平建

性别：男

籍贯：湖南宁乡

出生年月：1977.10

主要简历：

1997.9-2001.6 湖南农业大学 农学学士学位

2002.9-2005.6 湖南农业大学 攻读农学硕士学位

攻读硕士期间发表的论文：

1. 《亚麻多倍体诱导技术研究 I.秋水仙碱诱导形态变异率的影响因子研究》

中国麻业，2004，第5期。第1作者

2. 《竹类资源研究进展与展望》

湖南农业大学学报，2004，第5期。第3作者

3. 《竹纤维研究开发的现状与对策》

作物研究，2004，第5期。第3作者

4. 《作物倍性育种研究进展及其在麻类上的应用》

湖南农业大学学报(自然科学版)，2005，第31卷，第2期。第一作者

5. 《提高亚麻变异试管苗移栽成活率的研究》

湖南农业大学学报(自然科学版)，2005，第31卷，第3期。第一作者

拟将发表的论文：

1. 《亚麻多倍体诱导技术研究 II.秋水仙碱浓度与处理时间对亚麻变异成活率的影响》

2. 《亚麻多倍体诱导技术研究 III.变异试管苗的生根诱导研究》