

不同激素配比对花生种胚的离体培养与植株再生的影响

魏 锐,何耀奇,彭 丹,王思宇,朱元彬
(四川农业大学 农学院,四川 成都 611100)

摘要:以花生种胚作为外植体,以 6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹、6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹和 2,4-D 2.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹、2,4-D 2.0 mg·L⁻¹+KT 1.0 mg·L⁻¹为激素对花生种胚进行诱导,研究了不同激素配比对花生种胚的离体培养与植株再生的影响。结果表明:不同种类的外源激素对外植体的诱导作用不同,花生种胚愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS 中加入 6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹。

关键词:花生种胚;愈伤组织;离体培养;激素;诱导

中图分类号:S565.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2012)09-0021-03

花生(*Arachis hypogaea* L.)是重要的油料作物和经济作物^[1],起源于南美洲热带、亚热带地区。约于 16 世纪传入中国,19 世纪末有所发展。现在全国各地均有种植,主要分布于辽宁、山东、河北、河南、江苏、福建、广东、广西、四川等(区)。其最适生长温度为 25℃,最适光照是 3 500 lx。20 世纪 80 年代以来,我国的花生生产和贸易发展迅速,年产量约占世界总量的 1/3^[2],是花生主产国之一,产量居世界首位。但是,其病虫害发生日益频繁和严重,花生的品质和产量均受到影响。因此,改良品质、选育抗病花生新品种具有重要的意义。目前的研究大多集中在不同激素浓度对种胚芽丛诱导率的影响上,并且逐步把适宜的激素浓度锁定在 6-BA 3 mg·L⁻¹和 NAA 1 mg·L⁻¹附近。花生外植体再生效率与激素的种类、浓度及外植体有关^[3]。现分别以成熟花生的种胚作外植体,通过愈伤组织发生途径来诱导丛生芽,以及植株的再生,以期找到不同激素配比诱导植株再生的关键因素。

1 材料与方法

1.1 材料

供试花生种子由四川农业大学植物生理系提供。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 取用事先经过灭菌处理的花生种子将成熟荚果去果皮,用纱布包裹,在流水下冲洗 4 h,备用。

1.2.2 培养基制备 以 MS 作为基本培养基,添加不同激素、浓度(见表 1)。各培养基分别加入蔗糖 15 g,肌醇 0.05 g,琼脂 2.5 g,调节 pH 为 5.8。将配置好的培养基分装灭菌备用。

表 1 四种不同培养基的激素配比水平

Table 1 Hormone ratio level of four different mediums

水平 Level	6-BA/ mg·L ⁻¹	NAA/ mg·L ⁻¹	2,4-D/ mg·L ⁻¹	KT/ mg·L ⁻¹
A	2.0	0.5	—	—
B	2.0	1.0	—	—
C	—	—	2.0	1.0
D	—	—	2.0	0.5

1.2.3 接种 在超净工作台里,先用 75%的酒精润洗种子 10 s,然后用蒸馏水反复冲洗 3~4 次;再用 0.1%的升汞浸洗 8 min 后,用蒸馏水反复冲洗 4~5 次,备用。将镊子和手术刀在酒精灯外焰灼烧灭菌,待充分冷却后,将消毒后的花生种子取出,小心用手术刀切下种胚,保持其种胚的完整,正确接种于不同激素配方配比的 MS 基本培养基上,避免真菌和细菌的污染,并培养观察。

1.2.4 培养条件 将接种好的培养瓶存放(25±1)℃培养室培养,每日光照 13 h,光照强度为 3 500 lx,并每隔 7 d 观察 1 次,记录观察数据。

收稿日期:2012-05-29

第一作者简介:魏锐(1989-),男,四川省三台县人,在读学士,从事种子科学与工程研究。E-mail:weirui2012@yahoo.com.cn。

2 结果与分析

2.1 不同激素对花生种胚愈伤组织诱导的影响

由表 2 可以看出,A 和 B 比较,A 的诱导率较 B 低,污染率较高,丛生芽的诱导率较高;A 和 C 比较,C 的诱导率、丛生芽诱导率较 A 高,污染率较低;B 和 D 比较,B 的生根率高,诱导率和丛生芽数相当;C 和 D 比较,C 的诱导率较高,丛生芽的诱导率较低,污染率低。表明,6-BA 对花生愈伤组织形成以及生芽、生根具有促进作用,6-BA 和 NAA 配合使用出现不定芽的时间短,多数从伤口处直接长出,利用 6-BA 与 NAA 激素诱导

花生种胚产生丛生芽。在 6-BA 浓度相同的情况下,NAA 1.0 mg·L⁻¹时对愈伤组织生长诱导效果较好。

植株再生培养基中添加激素 2,4-D 对诱导花生形成愈伤组织,进而再产生芽有促进作用,并且植株再生率因培养基中添加激素的种类及浓度而异,1.0 mg·L⁻¹的 KT 对诱导具有高效作用。

试验中,花生种胚愈伤组织生根过程和结果与李美芹等在实验观察中表现一致,当诱导培养基中使用 NAA 时,外植体愈伤组织上形成大量不定根^[4]。

表 2 不同激素对比对花生种胚愈伤组织诱导的影响

Table 2 Effect of different plant hormones combinations on the peanut embryo *in vitro* culture

培养基 Medium	外植体数/个 No. of explants	污染率/% Contamination rate	诱导率/% Induction rate	丛生芽数/个 No. of multiple shoot clumps	丛生芽诱导率/% Multiple shoot clumps induction rate	生根数/个 Rooting number	生根率/% Rooting rate
A	27	22.2	77.8	17	63.0	5	18.5
B	42	14.3	85.7	27	57.1	12	28.6
C	44	2.3	97.7	30	68.2	6	13.6
D	34	14.7	85.3	28	82.4	1	2.9

2.2 不同激素对比对花生种胚离体培养的影响

该试验中,接种胚体形成愈伤组织的植株再生能力较高,但不同培养基,愈伤组织的状态不同。在添加 NAA 和 6-BA 的愈伤组织诱导培养基上,外植体初始愈伤组织结构致密呈绿色,之后,部分愈伤组织表面产生大量绿色芽点。愈伤组织结构致密呈绿色,幼苗分生生长的长势良好,较健壮;而 2,4-D 和 KT 的外植体大部分愈伤组织结构松散呈黄褐色,仅有少数结构致密呈淡黄

色,之后分化出芽点,愈伤组织较松散,颜色表现缺绿,幼苗分生生长的长势较弱(见表 3)。试验结果与雷萍萍等在对花生外植体接种 7 d 左右后开始形成愈伤组织所得到的结果是一致的^[5]。当植株再生培养基中添加 NAA 时,胚体萌发,再生小苗,继续培养茎伸长快,长势良好,由此可见 1.0 mg·L⁻¹NAA 不但促进胚体较早萌发,而且有利于茎根的伸长及再生完整植株。

表 3 愈伤组织情况

Table 3 Callus situation

培养基 Medium	愈伤表现情况 Callus situation	苗分生长状况 Seedlings growth situation meristematic
A	外植体初始愈伤组织结构致密呈绿色	健壮、良好(++)
B	外植体初始愈伤组织结构致密呈绿色	健壮、良好(++)
C	愈伤组织结构较为松散呈黄褐色,表面产生少量绿色芽点	矮小、一般(+)
D	愈伤组织结构松散呈黄褐色	无叶、有斑

3 结论与讨论

该试验结果表明:不同种类的外源激素对外植体的诱导作用不同,花生种胚愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS 中加入 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 1.0 mg·L⁻¹。

该试验的花生组织培养过程,从种胚到完整植株。将胚接种至不添加激素的基本培养基上,得不到再生小苗,这与林双荣^[6]的结果不一致,这

可能是由于品种和诱导培养条件的差异造成的。

花生组织培养对于品种改良、新品种繁殖、遗传转化和种质保存等具有深远影响。合适的培养基和植物生长调节剂,恰当的激素对比对花生组织培养至关重要。选择好培养基后,还要对各激素的用量做合适的调整,选择最适合植物生长的激素配比。胚体的萌发必须借助激素的作用,并且要想获得完整植株,必须在植株再生培养基中

降低 NAA 的浓度,至于其在分子水平上的作用机制,还有待于进一步研究。当前花生育种主要是选育高产、优质、抗病性强的新品种,其存在的主要问题是遗传基础狭窄,缺乏抗性基因源。花生的再生与其基因型关系密切,为了将生物技术方法成功应用于花生育种中,还必须对多种基因型进行研究。如何建立高效的植株再生体系,提高体细胞胚的诱导效率,利用组织培养与化学诱变筛选各种不同抗性的材料有待进一步研究。

参考文献:

[1] 张保亮,张晓玲,杨桥,等. 国际花生育种研究进展[J]. Chi-

nese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21: 4.

- [2] 何红卫,宾金华. 花生上胚轴的丛生芽诱导和植株再生[J]. 华南农业大学学报, 2003, 24(3): 46-47.
- [3] 石文山,滕娜,唐旭日. 花生不同外植体丛生芽的诱导和植株再生[J]. 江西农业学报, 2007, 19: 8-10.
- [4] 李美芹,王晶珊,孙世孟,等. 花生幼叶组织培养及有效植株再生[J]. 花生学报, 2004, 33(3): 10-14.
- [5] 雷萍萍,李美芹,张力凡,等. 花生组织培养及高频率植株再生[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(2): 163-166.
- [6] 林双荣,梁丽琨,肖显华,等. 花生幼叶为外植体的植株再生系统的建立[J]. 植物学通报, 2003, 20(3): 307-312.

Effect of Different Plant Hormones Combinations on the Peanut Embryo *in vitro* Culture and Plant Regeneration

WEI Rui, HE Yao-qi, PENG Dan, WANG Si-yu, ZHU Yuan-bin

(Agronomy College of Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611100)

Abstract: Taking peanut embryos as explants, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA and $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D + $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT as hormone combinations, the effect of the different plant hormone combinations on the peanut embryo *in vitro* culture and plant regeneration was conducted. The results showed that the induction of peanut embryo *in vitro* culture varied with the addition of hormone and the best medium for its induction was the medium MS with $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA.

Key words: peanut embryo; callus; *in vitro* culture; hormone; induction

中国科技核心期刊、中国农业核心期刊

全国中文核心期刊、全国优秀农业期刊

《植物遗传资源学报》征订启事

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊,为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。据中国期刊引证研究报告统计,2011年度《植物遗传资源学报》影响因子 1.396。影响因子在自然科学与工程技术类学科排序第 9 名。

报道内容为大田、园艺作物,观赏、药用植物,林用植物、草类植物及一切经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如,种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新,信息学、管理学等;起源、演化、分类等系统学;基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

双月刊,大 16 开本,128 页。定价 20.00 元,全年 120.00 元。各地邮局发行。

邮发代号:82-643。国内刊号 CN11-4996/S,国际统一刊号 ISSN1672-1810。

本刊编辑部常年办理订阅手续,如需邮挂每期另加 3.00 元。

地址:北京市中关村南大街 12 号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部 邮编:100081

电话:010-82105794 010-82105796(兼传真)

网址:www.zwyczy.cn E-mail:zwyczyxb2003@163.com zwyczyxb2003@sina.com