

花生高效再生体系的建立初报

尤淑丽

(辽宁省风沙地改良利用研究所, 辽宁 阜新 123000)

摘要:为了建立花生高效再生体系,选用外引及自选共8个花生品种(系)胚小叶作外植体,研究愈伤组织诱导率和不定芽分化率。结果表明:品种间愈伤组织诱导率和不定芽分化率均差异显著。品种冀花4号愈伤组织诱导率最高,为98%;太空1号、唐油4号、豫花9626、花育20较高,泉花646、阜花13次之;品系452-2最低,为43%。不定芽分化率为5%~73%,其中冀花4号最高,为73%;太空1号68%较高;豫花9626次之,为35%;花育20、泉花646和452-2较低,分别为13%、11%和10%;阜花13、唐油4号最低,均为5%。

关键词:花生;基因型;愈伤组织诱导;不定芽分化

中图分类号:S565.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)03-0013-03

花生(*Arachis hypogaea* L.)属于豆科蝶形花亚科花生属,是世界范围内一种重要的油料作物。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重要意义^[1]。关于花生外植体芽诱导再生及丛生芽培养已有许多报道。刘峰等用成熟花生子叶外植体诱导丛生芽,诱导

率较高,并进行了遗传转化^[2];高国良等也用子叶外植体建立了高效再生体系^[3];郝浩勇等利用花生下胚轴为外植体诱导产生大量的愈伤组织,并获得再生植株^[4];刘凤珍以花生胚小叶为外植体建立了高效再生体系,并进行了遗传转化研究^[5]。花生组织培养已有40多年的历史,但由于豆科植物再生难度较大,研究进展较缓慢^[6]。

该试验以花生胚小叶愈伤组织发生途径诱导丛生芽,以期建立高效再生途径,为花生遗传育种研究奠定基础。

收稿日期:2013-11-05

基金项目:辽宁省科技厅攻关资助项目(2011201021)

作者简介:尤淑丽(1968-),女,辽宁省法库县人,学士,研究员,从事花生生物育种研究。E-mail:youshuli2004@163.com。

参考文献:

- [1] 蒋佰福. 优良玉米自交系合344的选育和应用[J]. 杂粮作物, 2005, 25(3): 143-144.
- [2] 牛忠林. 合344及其衍生系在玉米育种中的应用[J]. 现代化农业, 2010(4): 1-4.

[3] 王巍. 玉米自交系合344及其衍生系在早熟玉米育种中的应用[J]. 黑龙江农业科学, 2011(6): 3-5.

[4] 唐跃文. 玉米自交系合344的应用于研究[J]. 种子世界, 2006(6): 34-35.

Study on Plant Type Traits of He 344 and Derivate Inbred Lines

WU Li-li

(Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Variance analysis and factor analysis on six plant type related traits of He 344 and derivative inbred lines were carried out to study the differences and correlation of He 344 and derivative inbred lines. The results showed that there was significant difference plant type related traits between He 344 and derivative inbred lines, there was positively correlated with plant height, spike height and tassel length and negatively correlated with the tassel branch number and leaf orientation value. The plant type of He 344 inbred lines was developed to compact type. The lines with large leaf orientation value obtained more tassel branch. Maize inbred line single cross could significantly improve plant height, spike height, tassel branch and leaf orientation value.

Key words: He 344; derivate inbred line; plant type traits

1 材料与方法

1.1 材料

选用外引及自选共 8 个花生品种(系)见表

表 1 供试花生品种(系)

Table 1 Peanut varieties(lines)for test

品种(系)Varieties(lines)	类型 Types	育种单位 Breeding units
冀花 4 号 Jihua 4	小花生	河北省农业科学院粮食作物研究所
豫花 9626 Yuhua 9626	大花生	河南省农业科学院经济作物研究所
花育 20 Huayu 20	小花生	山东省花生研究所
唐油 4 号 Tangyou 4	小花生	唐山市农业科学院
太空 1 号 Taikong 1	小花生	中国科学院
阜花 13 Fuhua 13	小花生	辽宁省风沙地改良利用研究所
泉花 646 Quanhua 646	小花生	泉州市农业科学院
452-2	小花生	辽宁省风沙地改良利用研究所

1.2 方法

1.2.1 培养基配制 基本培养基采用改良 MS 培养基:MS 无机盐 + B₅ 有机物 + 30% 蔗糖 + 0.8% 琼脂, pH5.8。

愈伤组织诱导培养基采用 A:改良 MS+BA 4.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.7 mg·L⁻¹; A1: MS+BA 4.5 mg·L⁻¹ + NAA 1.4 mg·L⁻¹;愈伤组织分化培养基采用 B:改良 MS+BA 5.0 mg·L⁻¹, pH 5.8; B1:MS+BA 5.0 mg·L⁻¹, pH5.8。

1.2.2 无菌材料的获得 挑选成熟花生种子,先后浸于 75%酒精中 1 min,0.1%HgCl₂ 中 10 min,进行表面灭菌,再用无菌水漂洗 3~4 遍,将灭菌的种子浸泡于无菌水中 16~18 h,将种皮剥去,沿纵向分开,在无菌条件下切取小叶片,接种于培养基 A 及 A1 中,诱导胚小叶产生愈伤组织。每个品种接种 20 粒,每粒种子材料接种 1 瓶,3 次重复。

1.2.3 计算愈伤组织诱导率 and 不定芽分化率 待胚小叶在愈伤组织诱导培养基中培养 30 d,统

1. 供试的花生种子来自辽宁省风沙地改良利用研究所花生研究室。外植体均采用胚小叶。

计脱分化外植体数。转入培养基 B 及 B1 中诱导不定芽分化,继代 3 次后统计不定芽分化数。

愈伤组织诱导率(%)=(产生愈伤组织外植体数/外植体总数)×100;不定芽分化率(%)=(不定芽数/外植体总数)×100。

1.2.4 小植株再生及驯化移栽 当不定芽长至 2~3 cm 时,将其从基部切下,转移至 MS 无激素培养基中,诱导生根长成完整植株。

2 结果与分析

2.1 不同花生品种愈伤组织诱导效果

不同花生品种在培养基 A:改良 MS+BA 4.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.7 mg·L⁻¹ 及 A1:MS+BA 4.5 mg·L⁻¹ + NAA 1.4 mg·L⁻¹ 中均产生愈伤组织。在培养基 A1 中,产生愈伤组织较快,最初为深绿色愈伤组织,随着培养时间的延长,产生白色疏松愈伤组织,这种愈伤组织一般不分化。活性愈伤组织一般呈黄绿色,且表面凹凸不平。所以,培养基 A 为较适宜的愈伤组织诱导培养基。

表 2 不同基因型愈伤组织诱导率比较

Table 2 Comparison of callus induction of different genotypes

品种(品系)	愈伤组织诱导率/%	品种(品系)	愈伤组织诱导率/%
Varieties(lines)	Callus formation rate	Varieties(lines)	Callus formation rate
冀花 4 号 Jihua 4	98 a	花育 20 Huayu 20	88 bc
太空 1 号 Taikong 1	93 b	泉花 646 Quanhua 646	65 c
唐油 4 号 Tangyou 4	92 b	阜花 13 Fuhua 13	60 c
豫花 9626 Yuhua 9626	90 b	452-2	43 d

注:表中不同字母表示品种间差异显著(P≤0.05)。下同。

Note; Different letters indicate significant difference among varieties(P≤0.05). The same below.

由表 2 看出,品种冀花 4 号外植体胚小叶愈伤组织诱导率最高为 98%,太空 1 号、唐油 4 号、豫花 9626、花育 20 较高,泉花 646、阜花 13 次之,品系 452-2 最低,为 43%。

2.2 不同花生品种胚小叶愈伤组织分化结果

胚小叶在愈伤组织诱导培养基中培养 30 d,挑取胚小叶愈伤组织转入培养基 B;改良 MS+BA5.0 mg·L⁻¹, pH5.8 及 B1; MS+BA5.0 mg·L⁻¹, pH5.8 中诱导不定芽分化。

培养基处理组合 AB1 中,6 个品种胚小叶愈伤组织均未发生分化。在培养基处理组合 AB 中,不同品种愈伤组织分化率差异显著,分化率为 5%~73%,其中冀花 4 号最高,为 73%;太空 1 号 68%较高;豫花 9626 次之,为 35%;花育 20、泉花 646 和 452-2 较低,分别为 13%、11% 及 10%;阜花 13 和唐油 4 号最低,均为 5%(见表 3)。

表 3 胚小叶愈伤组织分化情况

Table 3 Callus differentiation of embryonic leaflet

培养基处理组合 Medium treatment combination	品种(品系) Varieties (lines)	愈伤组织分化率/% Callus differentiation rate
AB	冀花 4 号	73 a
	太空 1 号	68 a
	豫花 9626	35 b
	花育 20	13 c
	泉花 646	11 c
	452-2	10 c
	阜花 13	5 d
	唐油 4 号	5 d

3 结论与讨论

选取当年成熟花生种子胚小叶为外植体,培养基处理采用 MS B₅+BA 4.5 mg·L⁻¹+NAA 0.7 mg·L⁻¹+30%蔗糖+0.8%琼脂, pH 5.8, 25℃,光照 14 h·d⁻¹条件下诱导产生愈伤组织,培养 30 d 左右转接到 MS B₅+BA 5.0 mg·L⁻¹+30%蔗糖+0.8%琼脂, pH5.8 培养基诱导愈伤组织分化。分化率为 5%~73%,品种间差异显著,分化率较低。贾士荣等研究表明用于基因转化的受体系统应具有 80%~90%的再生频率,才能有效地进行基因转化^[7]。所以,需进一步探索培养基及培养环境,保证分化效果。

花生胚小叶外植体在幼叶、子叶和下胚轴等众多外植体中比较容易获得,该试验中胚小叶愈伤组织诱导率较高,下一步试验将主要侧重提高不定芽分化率。

参考文献:

[1] 张书标,庄伟建,刘思恒.花生组织培养研究进展[J].福建农业大学学报,1999,28(3):268-273.
[2] 刘峰,单世华,闫彩霞,等.花生子叶再生体系影响因素的研究[J].花生学报,2007,36(1):13-19.
[3] 高国良,杨庆利,徐静,等.花生子叶再生系统的建立[J].花生学报,2007,36(1):32-35.
[4] 郝浩永,尉亚辉,王娅宁,等.花生愈伤组织的诱导和再生体系的建立[J].武汉植物学研究,2007,25(4):410-412.
[5] 刘凤珍,万勇善,潘玉名.花生遗传转化高效基因型的筛选与研究[J].花生学报,2009,38(1):21-25.
[6] 何宏卫,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.
[7] 贾士荣,曹东孙.转基因植物[J].植物学通报,1992(9):3-15.

Establishment of Efficient Regeneration System of Peanut

YOU Shu-li

(Liaoning Institute of Sandy Land Improvement and Utilazation, Fuxin, Liaoning 123000)

Abstract: In order to establish the efficient regeneration system of peanut, taking embryonic leaflets of eight peanut varieties as explants, the effects of genotypes on callus formation rate and buds differentiation rate were analyzed. The results showed that there were significant effects of peanut genotype on callus formation rate and buds differentiation rate. Callus formation rate of Jihua 4 was the highest, 98%; Taikong 1, Tangyou 4, Yuhua 9626 and Huayu 20 were higher; Quanhua 646 and Fuhua 13 were lower, 452-2 was the lowest, achieved 43%. The buds differentiation rate were the range of 5%~73%, the buds differentiation rate of Jihua 4 was the highest, achieved 73%; Taikong1 achieved higher, 68%; Yuhua 9626 was lower, achieved 35%; Huayu 20, Quanhua 646, 452-2 were lower, achieved 13% and 11% and 10% respectively; Fuhua 13 and Tangyou 4 were the lowest, achieved 5%.

Key words: peanut; genotype; callus formation; buds differentiation