

# 不同花生品种组培苗嫁接及移栽技术研究

苗利娟,石磊,韩锁义,黄冰艳,董文召,齐飞艳,房元瑾,张新友\*

(河南省农业科学院 经济作物研究所/农业部黄淮海油料作物重点实验室/河南省油料作物遗传改良  
重点实验室,河南 郑州 450002)

**摘要:**为解决花生组培苗及转基因植株移栽成活率低、田间长势较弱等难题,对花生嫁接技术进行了研究。以不同花生品种实生苗为砧木,4个花生品种的无菌组培苗为接穗,采用劈接法,分别采用花生的上胚轴和下胚轴为嫁接部位进行嫁接。不同品种的砧木嫁接成活率差异很大,豫花0215作砧木嫁接成活率较高,且结实时性较好;不同品种接穗成活率也存在很大差异,珍珠豆型品种嫁接成活率及结实时性优于普通型品种。从田间长势和结实时性来看,下胚轴是较适宜的嫁接部位,移栽田间后省去了去除砧木侧芽的工作,收获时只有接穗上结果。通过嫁接可以大大提高移栽成活率,并且田间长势较好,都能正常开花,结实时性较好,个别植株出现不育。

**关键词:**花生;组培苗;嫁接;移栽

中图分类号:S565.2 文献标志码:A 文章编号:1004-3268(2018)06-0037-05

## Study on Grafting and Transplanting Techniques of Tissue Culture Seedlings of Different Peanut Cultivars

MIAO Lijuan, SHI Lei, HAN Suoyi, HUANG Bingyan, DONG Wenzhao, QI Feiyan,  
FANG Yuanjin, ZHANG Xinyou\*

(Industrial Crops Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Oil Crops in Huanghuaihai Plains, Ministry of Agriculture/Henan Provincial Key Laboratory for Oil Crops Improvement, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** The objective of this paper was to study the grafting technique of peanut in order to solve the problems of poor survival rate of transplanted plantlets and transgenic plants. In this experiment, the seedlings of different peanut varieties were used as the rootstocks. The sterile plantlets of four peanut cultivars were used as scion. The cleavage method was used to graft the epicotyls and hypocotyls of peanut to the grafting sites. The results showed that the difference of the graft survival rate of different varieties of rootstocks was significant. The graft survival rate of Yuhua 0215 was higher and the fecundity was better. There were also significant differences in the scion survival rate of different varieties. Under the growth condition of field and fecundity, Spanish type peanut is superior to Virginia type varieties. The hypocotyls are suitable for grafting without the need to remove the lateral buds of rootstocks after transplanting in the field and only the scion can fruiting. Graft can greatly improve the survival rate of transplanting as well as the plant growth. All of them can normally flowering and fruiting, but some plants have infertility.

**Key words:** Peanut; Grafting; Tissue culture seedlings; Transplanting

花生作为我国重要的油料作物,在农业生产中占据重要地位。近年来,我国花生种植面积逐渐扩

大,已成为世界上花生第一生产和消费大国<sup>[1]</sup>,但由于当前推广的花生栽培品种遗传基础比较狭窄,

收稿日期:2017-12-17

基金项目:国家高技术研究与发展计划(863计划)项目(2013AA102602-6);河南省重大科技专项(16110011100);河南省农业科学院自主创新专项基金(2018ZC16)

作者简介:苗利娟(1981-),女,河南滑县人,助理研究员,硕士,主要从事花生组织培养及基因工程研究。

E-mail:miao8139@163.com

\*通讯作者:张新友(1963-),男,河南太康人,研究员,博士,主要从事花生遗传育种研究。E-mail:haasz@sohu.com

抗病抗逆性较差,进而影响花生产量和质量进一步提高<sup>[2-3]</sup>。随着生物技术的快速发展,转基因及离体诱变技术受到广大研究者的重视。遗传转化及离体诱变的成功与否依赖于花生组织培养高效再生体系的建立。研究者们利用花生不同基因型、不同外植体,通过器官发生和胚胎发生途径得到了再生植株,建立了花生高效植株再生体系<sup>[4-6]</sup>。但花生组培再生苗的根系较弱,其移栽成活率较低,尤其是通过转基因和突变体筛选等技术得到的具有优良性状的花生再生苗难以高成活率移栽,严重影响了后续工作的顺利开展。再生苗嫁接是解决组培苗移栽成活率低的有效手段<sup>[7]</sup>。嫁接技术在园艺作物上应用较广泛<sup>[8-9]</sup>,随着嫁接技术的不断发展,嫁接在棉花<sup>[10]</sup>、油菜<sup>[11]</sup>和大豆<sup>[12]</sup>上也有应用,大豆<sup>[13]</sup>和绿豆<sup>[14]</sup>等通过远缘嫁接获得变异新种质,目前已突破其传统的繁殖意义,而广泛应用于植物的栽培生产、育种实践和基础理论研究等方面。花生嫁接方面应用报道较少,有研究表明,采用 14 d 的花生实生苗为砧木,用不同的嫁接方法(劈接法、合接法和插接),以实生苗和转基因组培苗为接穗,嫁接部位为上胚轴<sup>[15]</sup>,结果显示劈接法操作简单,成活率高。还有报道无菌嫁接方法,采用 12~15 d 苗龄的无菌幼苗作砧木,花生组培苗为接穗,嫁接于下胚轴,无菌条件下进行嫁接,之后在无菌培养基上培养使伤口愈合,成活后,取出嫁接苗,用水将嫁接植株根系上的培养基冲洗干净,再移栽到育苗基质中,室内驯化 3 周,成活后移栽田间<sup>[16]</sup>。为解决组培苗及转基因苗生根困难及移栽成活率低,以及组培苗移栽后长势较弱等问题,本研究采用劈接法,以不同花生品种实生苗作为砧木,以 4 个不同类型花生品种的组培苗为接穗,分别采用花生的上胚轴和下胚轴为嫁接部位,对不同品种嫁接成活率及生长情况进行研究,旨在为花生转基因苗及抗性突变体材料的高成活率移栽提供有效的方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试品种

砧木材料:多粒红籽花生品种四粒红(简称四);黑籽花生品种豫花 0215(0215)。

接穗材料:普通大果型花生品种豫花 9326(9326)、濮科花 16 号(P16);珍珠豆型花生品种豫花 22(Y22)、远杂 9307(9307)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 砧木材料的准备 选用成熟饱满的花生种子于培养箱中催芽,露白后将种子种植于高压灭菌

的蛭石中,室温 25 ℃,生长 10 d,长出 2~3 片真叶后作为砧木材料。

1.2.2 无菌组培苗接穗的准备 将 4 d 苗龄的花生幼叶接种于诱导培养基上,诱导培养 3 周,形成不定芽后将不定芽转入分化培养基进一步分化,不定芽长出 2 片叶,约 2 cm 作为嫁接接穗材料。

1.2.3 嫁接方法及嫁接部位 采用劈接法,嫁接部位为花生的上胚轴和下胚轴。上胚轴的嫁接方法:切除顶芽及侧芽,取子叶节以上的上胚轴部分,用手术刀片从中间垂直劈开,切口 0.5~1 cm;以组培苗为接穗,从基部切掉再生苗,下端切成 0.5~1 cm 的切口,切口保持光滑平整;将接穗插入制备好的砧木材料中,使接穗和砧木紧密接触,用 Parafilm 封口膜缠紧。下胚轴嫁接切掉子叶以及以上部位,嫁接方法同上胚轴嫁接。嫁接后覆膜保湿,避免阳光直射,适当浇水,7~10 d 后去掉薄膜。

1.2.4 嫁接苗的驯化移栽 成活的嫁接苗长出新叶后于傍晚或阴天移栽至大田,移栽前浇透水,避免移栽过程中伤根,搭建遮阳网遮阴,2 周后嫁接苗长出新叶,去掉遮阳网,大田常规管理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同嫁接部位对花生嫁接成活率及结实率的影响

以上胚轴和下胚轴为嫁接部位,同一品种不同嫁接部位的成活率差别不大,而品种间的成活率差异较大,豫花 0215 在上胚轴和下胚轴砧木上的平均成活率分别为 95% 和 96%,四粒红在上胚轴和下胚轴砧木上的平均成活率分别为 74% 和 67%(图 1)。上胚轴嫁接苗移栽田间后砧木上会有侧芽生长,需经常去掉侧芽,而下胚轴嫁接省去这一环节。上胚轴嫁接由于砧木上侧芽去除不彻底,收获时发现砧木和接穗上均有结果现象(图 2A—D)。而下胚轴嫁接无侧芽生长,整株植株只有接穗结果(图 2E—H),并且下胚轴嫁接的结实性优于上胚轴,因此,最佳的嫁接部位为下胚轴。

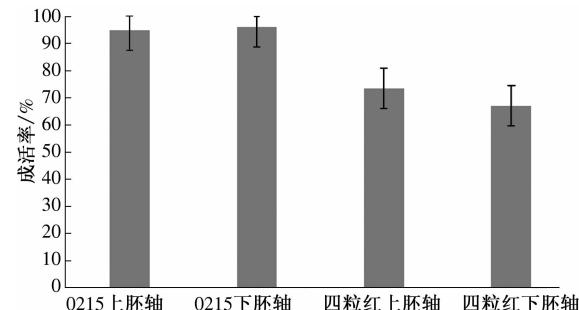
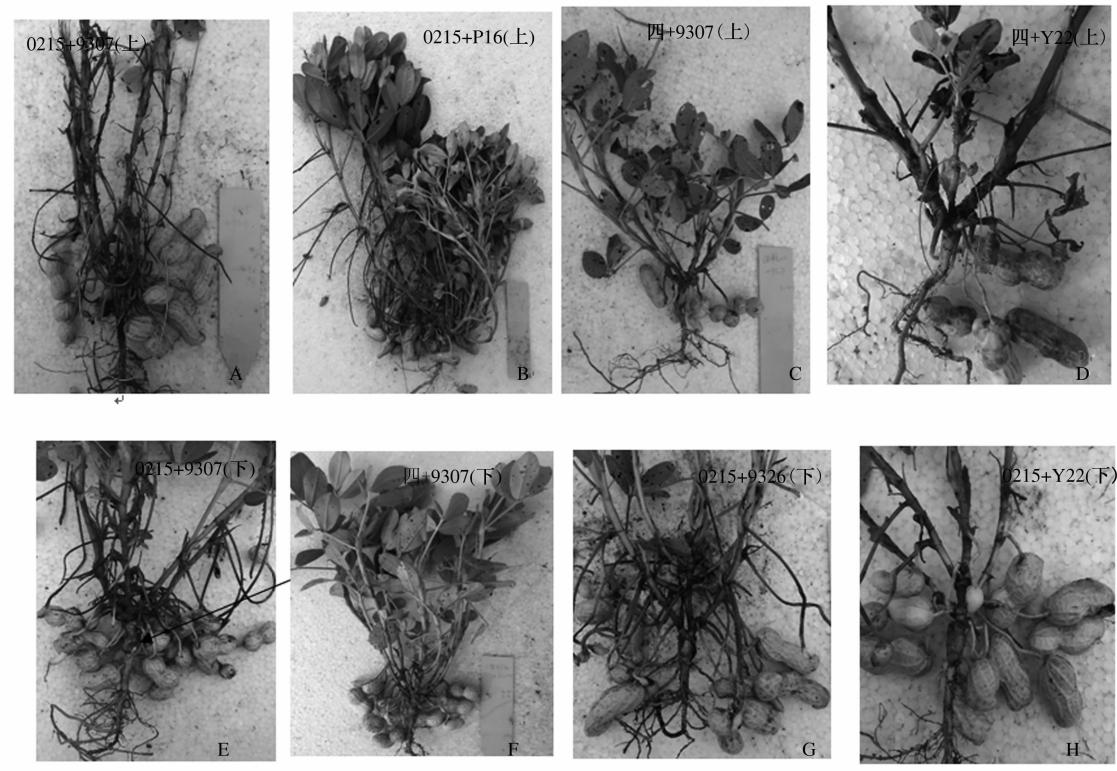


图 1 不同品种砧木及嫁接部位的嫁接成活率



(上)表示嫁接部分为上胚轴;(下)表示嫁接部位为下胚轴。下同

图2 不同花生品种不同嫁接部位的结实情况

## 2.2 不同品种砧木对花生嫁接成活率及结实的影响

分别以豫花 0215 和四粒红为嫁接砧木,嫁接成活率差别很大,豫花 0215 作砧木嫁接的成活率平均为 94.5%,而四粒红的成活率平均为 65.1%,豫花 0215 作砧木嫁接成活率高于四粒红。豫花 0215 作砧木的嫁接苗田间长势较旺,结实性较好。部分四粒红上胚轴作砧木的嫁接苗接穗几乎没有分枝生长,没有果实(图 3),结果表明,豫花 0215 作砧木优于四粒红。

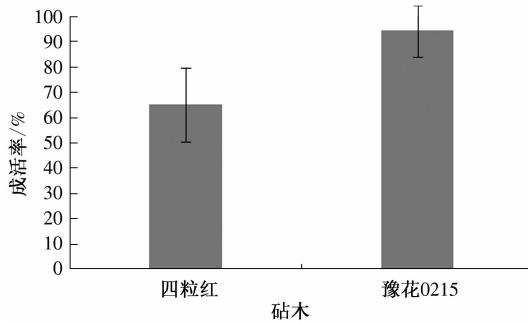


图3 四粒红和豫花 0215 为砧木的嫁接成活率

## 2.3 不同品种花生作接穗嫁接成活率及结实情况

采用 4 个花生品种的组培苗嫁接到不同的砧木上,嫁接成活率差别较大。珍珠豆类型的花生品种嫁接平均成活率较高,其中豫花 22 成活率最高,为 90% 以上,豫花 22 嫁接到砧木豫花 0215 上,嫁接成活率达到 96%。濮科花 16 号嫁接成活率最低,成

活率平均为 84.2%,4 个品种的嫁接成活率都在 80% 以上。田间长势和结实方面,珍珠豆型品种结实性较好(图 4),嫁接部位为上胚轴的嫁接植株,豫花 22 和远杂 9307,除了砧木侧芽结果之外,接穗上也有结果现象,而豫花 9326 和濮科花 16 号,基本上都是砧木上结果,接穗上几乎无结果。嫁接部位为下胚轴的嫁接苗,豫花 22 和远杂 9307 结实性较好,而豫花 9326 和濮科花 16 号的嫁接苗多数是不育株。

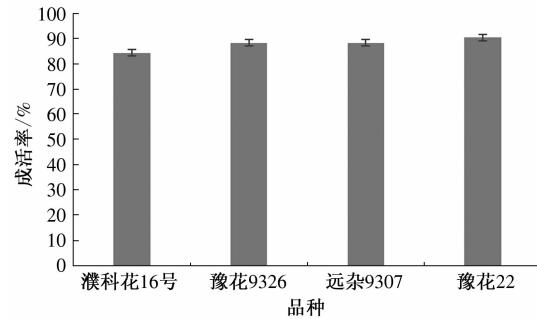


图4 不同花生品种接穗的成活率

## 2.4 花生嫁接苗中不育株的产生

濮科花 16 号和豫花 9326 作接穗在 2 种砧木上嫁接都出现了不育株,2 种砧木上嫁接共成活 25 株,其中濮科花 16 号在四粒红上嫁接出现 6 株不育株,在豫花 0215 上出现 6 株不育株,不育株占嫁接总数 48%(图 5A、B)。豫花 9326 在豫花 0215 上嫁

接成活 16 株,其中 6 株不育,不育株占 37.5% (图 5C、D)。嫁接植株都能正常开花,除了不育株之外,

成活的嫁接植株结实性差,只有 1~2 个果,将不育株组培接种,组培苗移栽田间后,仍然出现不育。

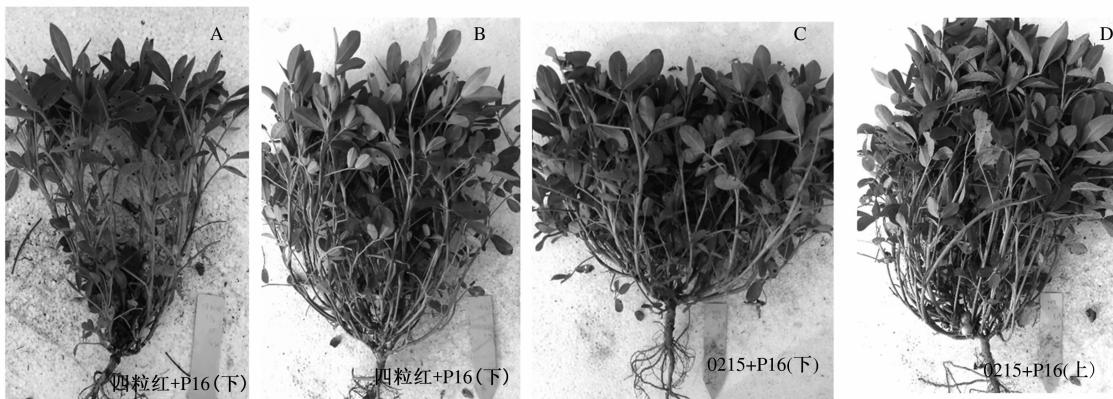


图 5 濨科花 16 号出现的不育株

## 2.5 花生组培苗的嫁接、驯化移栽及结果情况

通过比较上胚轴和下胚轴 2 个嫁接部位,上胚轴嫁接是在子叶节以上,操作比较方便(图 6A),而下胚轴大多数在土里,嫁接时需要将下胚轴漏出土面,嫁接时操作有障碍(图 6B),嫁接后覆膜保湿,嫁

接 7 d 后有新叶长出(图 6C),成活后去掉塑料薄膜,逐渐见光培养,7 d 左右即可移栽大田,移栽大田后,遮阳网遮阴(图 6D),避免阳光直射,2 周后嫁接苗成活去掉遮阳网,正常田间管理,嫁接植株都能正常开花(图 6E),个别品种不结实。

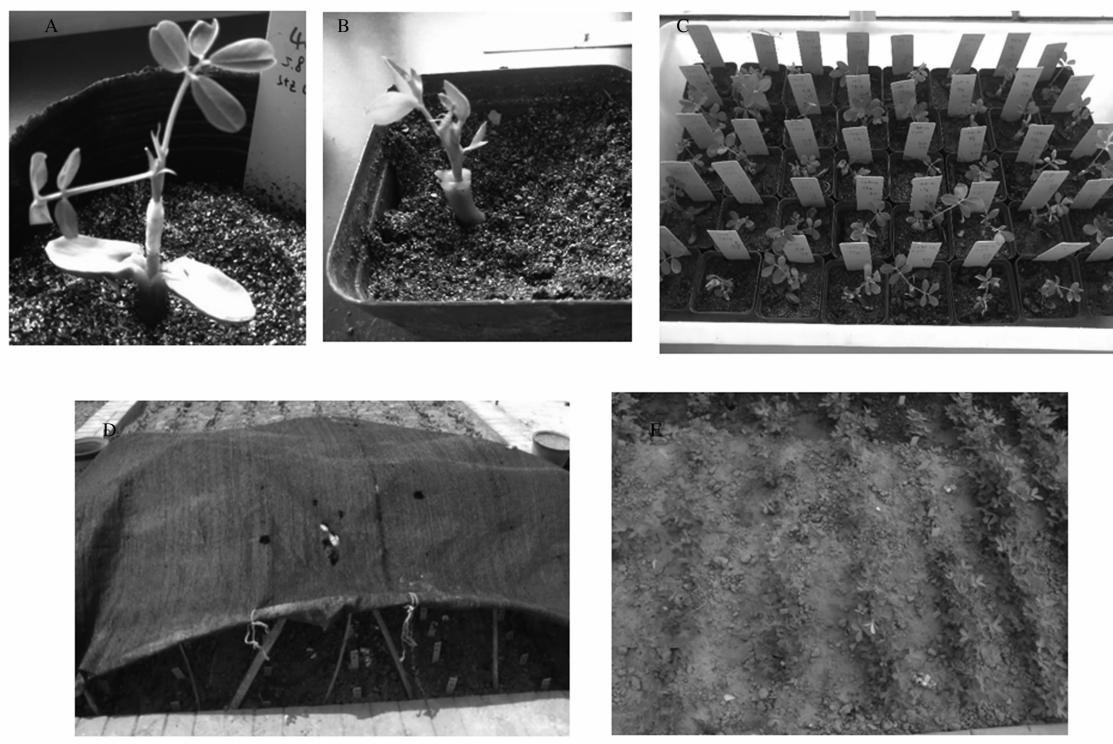


图 6 组培苗的嫁接、移栽生长情况

## 3 结论与讨论

植物嫁接最早起源于我国,是常规的无性繁殖技术,在果树、蔬菜、花卉等许多生产领域应用广泛,通过嫁接提高植株的抗性、增加产量和改变品质等<sup>[17]</sup>。随着嫁接技术的不断发展,嫁接技术已应用到植物组织培养、基因工程和植物生命科学等领域,

例如,棉花从愈伤诱导到分化成苗需要 10 个月以上,并且组培苗生根移栽成活率较低,利用嫁接大大提高了棉花转基因植株的移栽成活率<sup>[18]</sup>,花生也存在类似的情况,最近几年,花生组培苗、转基因植株及诱变后代也采用嫁接方法移栽大田<sup>[19]</sup>,但都是亲缘关系比较近的同种嫁接,其他作物上有采用远缘嫁接改变后代材料性状的相关研究<sup>[20-21]</sup>。

本研究采用四粒红和豫花0215实生苗作砧木,这2个品种都有独特的特点,粒色分别为红色和黑色,嫁接后砧木上侧芽有结实情况,非常容易区分,豫花0215作砧木嫁接成活率高于四粒红,并且结实性优于四粒红。豫花0215作砧木,嫁接部位为上胚轴的,收获时发现砧木和接穗上都有结实现象,而四粒红作砧木,嫁接部位为上胚轴时,接穗基本不分枝生长,砧木侧枝生长旺盛,收获时发现只有砧木上有结果,接穗上几乎无结果,这可能与花生品种特性有关,四粒红为农家种,不容易驯化,对外来嫁接枝条有排斥现象。

同一品种不同嫁接部位,嫁接成活率差异不大,不同品种间嫁接成活率存在很大差异,这在其他植物上也表现出嫁接亲和力的差异<sup>[22]</sup>。嫁接部位为上胚轴时,由于上胚轴离土面较远,更易于操作,嫁接效率高于下胚轴,但下胚轴几乎都在土里,嫁接时需将下胚轴漏出土面,嫁接时操作很受限制,从田间长势及结实情况来看,下胚轴优于上胚轴,上胚轴嫁接的植株,移栽田间后需经常去除侧芽,摘掉后还会在生长,不容易去除干净,收获时发现植株上砧木侧芽有结实现象,并且砧木上侧芽生长旺盛,严重影响接穗的生长及结实,同一植株上既有砧木上结有果实又有接穗上结有果实,而下胚轴移栽后省去了去除侧芽的麻烦,营养更好地供给了接穗,结实情况优于上胚轴,下胚轴是理想的嫁接部位,这与李冠等<sup>[19]</sup>研究结果一致。但由于下胚轴较短不便于操作,严重影响嫁接速度,今后可以通过其他方法增加下胚轴长度,可以尝试砧木材料采用暗培养做进一步的研究。

不同品种接穗嫁接成活率有很大差别,珍珠豆型的品种嫁接成活率较高,田间长势及结实性也较好,豫花9326和濮科花16号作接穗,嫁接至上胚轴上基本无结果,大多数是砧木侧枝结果;而嫁接至下胚轴的,虽然分枝较多,田间长势较旺,但大多数不结果,出现大量不育株,但不育株都能正常开花,对其花粉育性进行检测,只有10%左右的育性,属于高度不育,出现大量不育株的原因尚不明确,目前有报道,绿豆嫁接到凤仙上出现空夹现象,棉花不同品种嫁接出现不吐絮<sup>[23]</sup>。这些不育株通过组培保存下来,可以进一步研究,对花粉育性可做进一步测试,还可以借助分子手段做进一步探索。

不同花生品种嫁接,嫁接成活率存在很大差异,不同的嫁接部位嫁接成活率差别不大,比较理想的嫁接部位是下胚轴;通过嫁接可以大大提高移栽成活率,并且田间长势较好,都能正常开花,结实性较好,个别植株出现不育。

## 参考文献:

- [1] 董文召,张新友,韩锁义,等.中国与美国花生生产成本及收益比较分析[J].农业科技管理,2017,36(5):57-60.
- [2] 李丽娜,付留洋,秦利,等.花生栽培种与野生种(*Ara-chis stenosperma*)种间杂种的创制、鉴定与遗传分析[J].中国油料作物学报,2017,39(2):137-144.
- [3] 董文召,张新友,黄冰艳,等.河南、山东育成花生品种的亲本遗传贡献及相关育种策略探讨[J].河南农业科学,2014,43(12):40-45.
- [4] 李文静,付留洋,黄冰艳,等.花生上胚轴愈伤组织诱导体系的建立与优化[J].中国农学通报,2016,32(21):75-78.
- [5] 苗利娟,张新友,黄冰艳,等.河南省育成花生品种的幼叶体细胞胚胎诱导[J].江苏农业科学,2015,43(9):68-70.
- [6] Chengalrayan K, Gallo-Meagher M. Evaluation of runner and virginia market types for tissue culture responses[J]. Peanut Science, 2004, 31(2):74-78.
- [7] 李长生,夏晗,卢金东,等.利用嫁接提高花生离体再生或转基因苗成活率的研究[J].中国农学通报,2009,25(20):63-67.
- [8] 陶鹏,赵彦婷,李必元,等.十字花科植物嫁接 mRNA 长距离运输基因 *IAA14* 的鉴定及比较[J].分子植物育种,2016,14(10):2574-2581.
- [9] 张红梅,丁明,姜武,等.不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合的组织细胞学研究[J].园艺学报,2012,39(3):493-500.
- [10] 王彦霞,王省芬,马峙英,等.棉花高效嫁接新方法及其应用[J].中国农业科学,2007,40(2):264-270.
- [11] 耿明建,郭丽丽,赵竹青,等.甘蓝型油菜品种间相互嫁接及其生长发育的影响[J].中国油料作物学报,2009,31(2):185-189.
- [12] 贾贞,吴存祥,王妙,等.大豆嫁接体系中砧木或接穗保留叶片数对接穗生长发育的影响[J].作物学报,2011,37(4):650-660.
- [13] 潘相文,孙晓环,张凤芸,等.大豆远缘嫁接诱变技术的优化[J].大豆科学,2012,31(2):237-241.
- [14] ZHANG D H, MENG Z H, XIAO W M, et al. Graft induced inheritable variation in mungbean and its application in mungbean breeding [J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(7): 832-837.
- [15] 朱统国,宋传雪,赵长星,等.不同类型花生嫁接对植株幼苗生长的影响[J].农学学报,2012,2(10):5-8.
- [16] 郝世俊,隋炯明,乔利仙,等.花生组培苗嫁接技术的研究[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2010,27(2):110-113.
- [17] 王幼群.植物嫁接系统及其在植物生命科学中的应用[J].科学通报,2011,56(30):2478-2485.
- [18] 张大伟,刘忠山,李春平,等.一种棉花高效嫁接新方法及其利用[J].新疆农业科学,2015,52(3):416-419.
- [19] 李冠,尹秀波,崔山,等.花生离体诱变再生苗的无菌嫁接与移栽[J].植物生理学报,2017,53(3):397-406.
- [20] 孙海丽,赵智勇,李秀菊.对植物远缘嫁接中几个问题的探讨[J].江苏农业科学,2014,42(11):9-13.
- [21] 邵果园,陆方方.远缘植物试管嫁接及 ISSR 分析[J].浙江林学院学报,2010,27(4):630-634.
- [22] 闫海霞,陶大燕,何荆洲,等.月季和野蔷薇的试管嫁接研究[J].西南农业学报,2017,30(7):1636-1641.
- [23] 赵智勇.不同植物嫁接体系的建立及嫁接变异机制的初步研究[D].新乡:河南科技学院,2013.