DOI: 10.3724/SP.J.1006.2013.01127

花生种间杂种胚胎发育及内源激素变化

张新友* 徐 静 汤丰收 董文召 臧秀旺 张忠信

¹ 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: 以花生栽培品种豫花 15 为母本分别与野生种 *A. correntina* 和 *A. macedoi* 杂交, 以栽培品种间杂交组合豫花 15×白沙 1016 为对照, 采用石蜡切片技术观察花生杂种胚胎发育进程, 酶联免疫吸附分析法(ELISA)测定花生杂种胚胎内源激素含量, 分析胚胎发育进程与胚胎内源激素含量的关系。结果显示, 3 个杂交组合的下针率无明显差异, 表明栽培种与 2 个野生种杂交不存在受精前障碍; 与对照相比, 豫花 15×*A. correntina* 表现杂交可亲和, 其胚胎发育中激素含量的变化与对照组合基本一致; 而豫花 15×*A. macedoi* 杂交授粉后 12 d 内胚胎发育基本正常, 17–27 d 发育缓慢, 之后珠被迅速向内增生抑制了胚的进一步发育并最终败育。在同一时期的杂种胚胎中, 3-吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA₃)和玉米素核苷+二氢玉米素核苷(ZR+DHZR)等促进生长的激素维持在较低的水平, 而脱落酸(ABA)含量以及脱落酸与某一促进生长激素或 3 类促进生长激素之和的比值保持了较高的水平, 推测可能是激素代谢的失衡导致种间杂种胚胎的败育。用 IAA、激动素(KT)单独或混合处理不亲和组合豫花 15×*A. macedoi* 杂交授粉后的果针基部表明, 外施促进生长的激素能够明显增加胚珠的长度, 一定程度上验证了上述推测。

关键词: 花生; 花生野生种; 种间杂交; 胚胎发育; 内源激素

Embryonic Development and Changes of Endogenous Hormones in Interspecific Hybrids between Peanut (*A. hypogaea* L.) and Wild *Arachis* Species

ZHANG Xin-You*, XU Jing, TANG Feng-Shou, DONG Wen-Zhao, ZANG Xiu-Wang, and ZHANG Zhong-Xin

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 peanut cultivar Yuhua 15 was used as female parent to cross with wild species *A. correntina* and *A. macedoi*, respectively, with intervarietal cross Yuhua 15×Baisha 1016 as check. There were no significant differences observed in pegging percentage among all the crosses. It indicated normal fertilization in the interspecific crosses. Embryo development was observed through paraffin sections, and contents of endogenous hormones including IAA, GA₃, ZR+DHZR, and ABA in the developing embryos of hybrids were determined with ELISA. In comparison with normal seed development of Yuhua 15×Baisha 1016 and Yuhua 15×*A. correntina*, Yuhua 15×*A. macedoi* was incompatible due to a deterred embryo development at approximately 12–17 days after pollination followed by the hyperplasia of integument into the embryo sac which suppressed further development of the embryo and finally resulted in abortion. Compared with two compatible crosses, the ABA content and ratios of ABA to total of other auxin in developing embryos of cross (Yuhua 15×*A. macedoi*) were relatively higher at the early development stage, while the contents of IAA, GA₃, and ZR+DHZR remained at a relatively lower level, which speculates on that abnormal hormone activities may be an important reason leading to the abortion of hybrid embryos. Peg bases of Yuhua 15×*A. macedoi* were treated with IAA, KT, or mixture of the two, showing that the exogenous hormones can increase the length of ovule.

Keywords: Peanut; Wild *Arachis* species; Interspecific hybrid; Embryonic development; Endogenous hormones

花生属植物起源于南美洲, 目前发现并已命名的有 80 个种, 划分为 9 个区组, 栽培种(*Arachis hypogaea* L.) 是唯一具有重要经济价值的种, 与其他 31 个野生种划归

花生区组(Section *Arachis*), 其他区组均为野生种^[1-2]。花生属野生植物资源丰富, 不少野生种具有突出的抗病性、抗逆性或优异的品质性状, 这对改良花生栽培品种, 拓宽

本研究由河南省创新人才计划(104200510003)与河南省重大科技专项(111100110200)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 张新友, E-mail: haasz@sohu.com, Tel: 0371-65729560

Received(收稿日期): 2012-11-17; Accepted(接受日期): 2013-01-15; Published online(网络出版日期): 2013-02-19.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20130219.1020.008.html>

其遗传背景, 解决抗源与优质基因源缺乏问题, 提供了深厚的物质基础^[3-5]。长期以来, 人们一直试图以种间杂交途径实现野生种质的有益基因向栽培种的渗透。但大量的研究和实践表明, 花生种间杂交成功率相当低, 在常规条件下, 栽培种除了与所在的花生区组的野生种杂交表现出一定的亲和性外, 与花生区组以外的其他区组野生种杂交, 大多因杂种胚败育(夭亡)表现杂交不亲和或弱的亲和力^[6-10], 大大影响了对花生野生资源的利用。关于花生种间杂交亲和性, 以往的研究主要关注的是杂交授粉以后的下针率、结荚率、荚果与种仁的发育状况及种子的活力等^[3,8,10], 关于杂种胚胎发育的动态与败育的机理, Johanson 和 Smith^[11]曾报道利用石蜡切片技术观察到杂种胚早期发育迟缓、珠被增生抑制胚胎进一步发育等异常现象, 其他系统的报道甚少。

植物激素在植物的生长发育中具有重要的调控作用, 植物胚胎发育状况与内源激素的代谢密切相关。因此, 追踪种间杂种胚胎发育进程中激素的变化, 对于深入探讨花生种间杂交不亲和现象与杂种胚败育的机制具有重要的意义。关于激素对花生生长发育影响的研究, 以往主要集中在外源激素对花生的营养生长和生殖生长的调节, 以及对荚果形成的影响^[12-14]。花生种间杂交胚胎败育与其内源激素变化的关系尚未见详细报道。本研究拟利用石蜡切片技术追踪杂种胚胎发育动态, 采用酶联免疫吸附分析法(ELISA)测定杂种胚胎发育过程中几种主要内源激素的变化, 施用外施激素了解其对杂种胚胎的影响, 旨在探讨杂种胚败育形态特征及其与内外源激素变化的关系, 为有效克服花生种间杂交不亲和障碍, 推动优异野生种质的利用提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以栽培品种豫花 15 为母本, 分别以花生区组(section *Arachis*)二倍体种 *A. correntina* Krapov. & Gregory 和围脉区组(section *Extranervosae*)二倍体种 *A. macedoi* Krapov. & Gregory 为父本, 配制 2 个种间杂交组合, 即豫花 15×*A. correntina* 和豫花 15×*A. macedoi*, 以栽培品种间杂交组合豫花 15×白沙 1016 作为对照。

1.2 有性杂交

在河南省农业科学院网室中, 每天下午 16:00 以后, 对母本次日将开放的花蕾去雄并做好标记, 次日早上 5:00~9:00 采集父本花粉授粉, 杂交工作持续 27 d。

1.3 石蜡切片

采用石蜡切片法观察花生杂种胚胎发育进程。根据标记分别取授粉后 12、17、22、27、32、40 和 45 d 的果针或胚珠, 置 FAA 固定液固定后, 逐级脱水、透明、浸蜡, 并将材料包埋于石蜡中固着、修整, 将蜡块夹在石蜡切片机上切片, 厚度 10 μm, 然后将蜡带粘到载玻片上展片、烘片, 再逐级脱蜡、复水后用番红和固绿染色, 经透明、封藏后即可在显微镜下观察^[15]。

1.4 内源激素测定

采用酶联免疫吸附分析法(ELISA)测定花生杂种胚胎内源激素。根据标记的日期分别采集授粉后第 11、第 16、第 21、第 26 和第 31 天的果针或荚果。对于尚未膨大的果针, 则从顶端截取 5 mm 用于激素测定; 对于已经膨大的荚果, 取样时即对荚果进行解剖, 取出其中的胚珠用于激素测定。

1.5 外源激素施加

配制杂交组合豫花 15×*A. macedoi* 6 盆, 每 2 盆为一处理, 待果针形成后, 用脱脂棉包裹果针基部。处理 1 为授粉后第 10~25 天用滴管向脱脂棉上滴加 100 mg L⁻¹ IAA 与 50 mg L⁻¹ KT 的等量混合液, 第 26~40 天滴加蒸馏水; 处理 2 为授粉后第 10~25 天滴加 100 mg L⁻¹ IAA 与 50 mg L⁻¹ KT 的等量混合液, 第 26~40 天滴加 50 mg L⁻¹ KT; 对照组为授粉后第 10~40 天滴加蒸馏水, 每个材料每次滴加溶液 1 mL, 每天早晚各滴 1 次。

1.6 数据分析

收获时, 根据标记统计杂交授粉的花数及产生果针的数量(无论是否结荚), 以此计算下针率。

$$\text{下针率}(\%) = \frac{\text{产生果针条数}}{\text{授粉花数}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 有性杂交结果

3 个杂交组合在授粉后 5~8 d, 肉眼可观察到果针。与对照组合相比, 栽培种与野生种杂交组合的下针率无明显差异(表 1), 表明栽培种与 2 个野生种杂交不存在受精前障碍。

2.2 杂种胚胎发育情况

2.2.1 豫花 15×白沙 1016 杂种胚胎发育 切片观察表明(图 1), 第 12 天(图 1-A)合子已发育成多细胞的原胚; 第 17 天(图 1-B)早期原胚迅速发育成球形胚, 能看到大量的胚乳游离核; 第 22 天(图 1-C)由于子叶原始体开始生长, 原胚先端双顶突起, 发育成心形幼胚; 第 27 天(图 1-D)子

表 1 各组合杂交结果

Table 1 Result of hybridization for combinations

杂交组合 Cross combination	授粉花数 Number of pollinations	下针数 Number of pegs	下针率 Peg no. pollinations (%)
豫花 15× <i>A. correntina</i> Yuhua 15× <i>A. correntina</i>	424	204	48.11
豫花 15× <i>A. macedoi</i> Yuhua 15× <i>A. macedoi</i>	455	199	43.74
豫花 15×白沙 1016 Yuhua 15×Baisha 1016 (control)	528	240	45.45

图 1 组合豫花 15×白沙 1016 在授粉后胚胎发育进程图

Fig. 1 Embryo development in Yuhua 15×Baisha 1016 after pollination

A: 原胚(12 d); B: 胚乳游离核(17 d); C: 幼胚(22 d); D: 胚芽(27 d); E~F: 子叶(32~40 d); G: 真叶(45 d)。

A: proembryo (12 d); B: endosperm free nuclei (17 d); C: immature embryo (22 d); D: germ (27 d); E~F: cotyledon (32~40 d); G: leaf (45 d).

叶原始体发育成子叶, 能清晰地分辨出子叶、胚芽等结构; 之后子叶迅速伸长, 胚日趋成熟, 第 45 天(图 1-G)可以看出由真叶原始体分化出的真叶。

2.2.2 豫花 15×*A. correntina* 杂种胚胎发育 由图 2 可知, 与对照趋于一致, 从第 45 天(图 2-G)的切片能明显地看出真叶的分化。在授粉后 50~70 d, 杂交荚果接近或达到对照组合的正常荚果体积, 其种子具有活力, 表现杂交可亲和。

2.2.3 豫花 15×*A. macedoi* 杂种胚胎发育 授粉后第 12 天(图 3-A)、第 17 天(图 3-B), 胚发育基本正常, 但第 22 天、第 27 天(图 3-C, D)胚胎发育减缓, 始终处于球形胚时期, 明显滞后于对照组合。之后胚胎虽然仍有缓慢的发育, 但是珠被内层迅速向内增生, 并很快充塞整个胚囊, 挤压幼胚, 从而抑制了幼胚的进一步发育(图 3-F), 至第 45 天(图 3-G), 几乎形成一个“实心”的胚珠, 长度仅有 3~4 mm, 之后胚珠不再持续增长, 并缓慢出现褐化、皱缩等退化现象, 无法得到具有生命力的种子, 表现杂交不亲和。

象, 无法得到具有生命力的种子, 表现杂交不亲和。

2.3 杂种胚胎激素含量变化

2.3.1 IAA 含量变化 从图 4-A 可看出, IAA 含量变化呈单峰曲线, 对照组合豫花 15×白沙 1016 的峰值出现在授粉后 26 d, 随后下降; 不亲和杂交组合豫花 15×*A. macedoi* 的变化趋势与对照大致相同; 亲和的豫花 15×*A. correntina* 组合峰值提前, 出现在 21 d。在授粉后 11 d, 各组合胚胎中 IAA 的含量相差不大, 这与石蜡切片观察, 初期胚胎发育基本正常是一致的。之后, 前两组合中 IAA 含量迅速增加并明显高于组合豫花 15×*A. macedoi*。对照的 IAA 峰值大约出现在球形胚向心形胚发育时期前后。在授粉后 16~26 d, 亲和组合的胚胎中 IAA 含量均高于不亲和杂交组合, 可能正是较高的 IAA 含量保证了胚的正常发育和分化。

2.3.2 GA₃ 含量变化 在授粉后 11 d(图 4-B), 亲和组合与不亲和杂交组合的 GA₃ 含量并无明显的差异, 之后

图 2 组合豫花 15×*A. correntina* 授粉后胚胎发育进程图Fig. 2 Embryo development in Yuhua 15×*A. correntina* after pollination

A~B: 原胚(12~17 d); C: 幼胚(22 d); D~F: 子叶(27~40 d); G: 真叶(45 d)。

A~B: proembryo (12~17 d); C: immature embryo (22 d); D~F: cotyledon (27~40 d); G: leaf (45 d).

图 3 组合豫花 15×*A. macedoi* 授粉后胚胎发育进程图Fig. 3 Embryo development in Yuhua 15×*A. macedoi* after pollination

A~D: 原胚(12~27 d); E: 幼胚(32 d); F~G: 珠被增生(40~45 d)。

A~D: proembryo (12~27 d); E: immature embryo (32 d); F~G: integument hyperplasia (40~45 d).

图 4 杂种胚胎发育进程中 IAA、GA₃、ZR+DHZR 和 ABA 的变化Fig. 4 Dynamic changes of IAA, GA₃, ZR+DHZR, and ABA contents in developing hybrid embryos

均有增加, 在 21 d 出现峰值, 然后下降。整体来看, 亲和组合与不亲和组合中 GA₃ 的变化趋势基本趋于一致, 但在亲和杂交组合豫花 15×*A. macedoi* 中, GA₃ 的变化幅度小于亲和组合, 尤其是在胚胎发育分化的关键时期, 亲和组合的 GA₃ 含量显著高于不亲和组合, 说明 GA₃ 对胚胎发育有重要影响。

2.3.3 ZR+DHZR 含量变化 图 4-C 显示, 在发育的早期, 各组合 ZR+DHZR 含量基本一致, 到授粉后 16 d 就出现了明显的差别: 豫花 15×白沙 1016、豫花 15×*A. correntina* 组合 ZR+DHZR 含量迅速增加, 分别于 21 d 和 26 d

达到峰值; 不亲和组合豫花 15×*A. macedoi* 含量变化趋势与前两者基本一致, 在 21 d 达到一个小的峰值。特别值得注意的是, 亲和组合胚胎中 ZR+DHZR 的含量在 16~26 d 期间远远高于不亲和组合, 甚至最大能相差 6 倍。低水平的 ZR+DHZR 含量很可能与胚胎败育相关。

2.3.4 ABA 含量变化 在授粉后 11 d (图 4-D), 各组合 ABA 含量差异就比较明显; 到 31 d 时, 含量基本趋于一致。整体来看, 不亲和种间杂交组合豫花 15×*A. macedoi*, 亲和种间杂交组合豫花 15×*A. correntina* 和对照豫花 15×白沙 1016 的 ABA 含量依次降低, 说明种间杂种胚胎败育

可能与其较高的 ABA 含量有关。

2.3.5 杂种胚胎发育过程中 ABA 与 GA₃、IAA、ZR + DHZR 及其总和比值的变化 从整体来看, 在 3 个组合中(图 5), 各比值均呈下降趋势, 在授粉后发育的前 26 d, 不亲和组合豫花 15×*A. macedoi* 的比值基本上始终高于亲和组合豫花 15×*A. correntina* 和豫花 15×白沙 1016, 尤其 16 d 和 21 d 比值相差较大, 而 2 个亲和组合比值曲线的变化基本是一致的。结合石蜡切片观察, 与对照相比, 不亲和组合豫花 15×*A. macedoi* 的胚胎在 22 d 和 27 d 表现出发育减缓的迹象, 而这些现象正是出现在杂种胚胎内源激素含量发生明显异常之后。

以上结果说明在不亲和杂交组合的胚胎发育过程中, 尤其是在胚胎发育前期, 生长抑制激素与生长促进激素的比值较高意味着激素的平衡失调, 因而推测激素失衡可能是导致胚胎败育的重要因素之一。

2.4 外施激素对不亲和组合杂种胚珠长度的影响

对不亲和组合豫花 15×*A. macedoi* 的杂交果针外施激素 IAA 和 KT, 待荚果充分发育后收获, 测量胚珠的长度(表 2), 结果显示, 对照组平均胚珠长 3.84 mm, 处理 1 平均胚珠长 4.70 mm, 处理 2 平均胚珠长 5.29 mm。经单因素方差分析, 处理 1 胚珠长度与对照相比达到显著水平 ($P<0.05$), 处理 2 则达到极显著水平 ($P<0.01$)。

图 5 杂种胚胎发育进程中 ABA/IAA、ABA/GA₃、ABA/(ZR+DHZR)和 ABA/(IAA+GA₃+ZR+DHZR)的变化
Fig. 5 Changes of ratios of ABA/IAA, ABA/GA₃, ABA/(ZR+DHZR), and ABA/(IAA+GA₃+ZR+DHZR) in developing hybrid embryos

表 2 不同外源激素处理后胚珠的长度
Table 2 Ovule lengths under different exogenous hormones treatments (mm)

编号 Code	处理 1 Treatment 1		处理 2 Treatment 2		对照 Control	
	基豆 Basal seed	先豆 Apical seed	基豆 Basal seed	先豆 Apical seed	基豆 Basal seed	先豆 Apical seed
1	6.0	6.0	3.5	4.0	4.5	3.0
2	5.5	4.5	4.0	6.0	5.0	3.0
3	3.5	5.0	10.0	3.0	3.5	2.5
4	3.0*		6.5	5.0	4.5	4.5
5	4.5		6.0	5.5	5.0	4.5
6	5.5		4.5	4.5	5.0	3.5
7	3.5		6.0	3.0	4.0	
8			6.0		3.5	
9			4.5		2.5	
10			8.0		3.0	
11			5.0			
12			5.5			

* 单粒荚按基豆统计。* Pods with single seed were considered as basal seed.

3 讨论

3.1 花生种间杂交亲和性研究

长期以来,人们一直试图通过种间杂交改良栽培花生,实现野生种质有益基因的渗透。早在 1938 年 Hull 和 Garver 首次以栽培种花生(*A. hypogaea* L.)与根茎区组的 *A. glabrata* 杂交,但未获得杂种。1951 年 Krapovickas 和 Rigonii 首次获得栽培种与花生区组多年生区系野生种 *A. villosa* var. *correntina* (Burk)的种间杂种。之后大量的研究表明,在常规条件下,栽培种花生与花生区组的大多数野生种杂交表现出一定的亲和性,而与其他区组野生种杂交则大多表现杂交不亲和或弱亲和^[6-10]。本研究 2 个种间杂交组合的结果与上述结论是一致的。

Johanson 和 Smith^[11]曾研究花生栽培种与二倍体野生种 *A. diogeni* 种间杂种的胚胎发育状况,发现杂种胚在授粉后前 5 d 发育正常,6~24 d 荚果、胚和胚乳的发育非常缓慢,特别是 10~24 d 明显滞后于栽培种自交胚,之后杂种胚发育虽有所恢复,但很快被迅速增生的珠被内层所抑制,最后导致胚败育。我们曾利用石蜡切片观察花生栽培种与匍匐区组野生种杂交组合(兰考三四粒×*A. appressipila*)的胚胎发育动态,发现在授粉后 14 d,杂种胚胎的发育与栽培种自交胚差异不显著,之后杂种胚胎发育明显缓慢,珠被内层迅速增生,至授粉后 20 d 左右,整个胚囊几乎被增生珠被组织所充塞(未发表)。本研究的结果与作者利用种间杂交组合兰考三四粒×*A. appressipila* 的研究结果基本一致,与 Johanson 和 Smith^[11]在杂种胚发育异常出现的时间上有一定出入,这可能与试验材料及取样误差有关。综合以往的研究结果,基本可以得出以下结论,杂种胚在早期(心形胚之前)发育受阻,随之发生的珠被增生加剧并最终导致胚败育。初步揭示了不亲和杂交组合中杂种胚败育的形态学特征。

3.2 内源激素对花生杂种胚胎发育的影响

关于花生栽培种胚胎发育过程中内源激素的变化动态,本研究对照组合胚胎发育过程中 IAA、GA₃ 和 ABA 的变化趋势与王铭伦等^[16]和冯启理等^[17]的研究报道基本一致。关于花生种间杂种胚胎发育过程中激素的变化动态过去鲜有报道。本研究发现,花生杂种胚胎发育过程中内源激素含量的变化与其发育状态密切相关。3 个组合在胚胎发育的初期,IAA、GA₃ 和 ZR+DHZR 含量基本一致,石蜡切片显微观察也表明,3 个组合在授粉后 12 d 内胚胎发育基本保持同步;在授粉后 16~26 d,对照组合与杂交亲和组合豫花 15×*A. correntina* 中,上述 3 个促进生长激素的含量均有明显的升高,此时正是由球形胚向心形胚和鱼雷形胚发育的关键时期。高水平的生长促进物质维持了胚胎的细胞分裂、核酸和蛋白质的合成以及光合产物的输入和积累,这对胚胎的正常发育无疑是至关重要的。而同一时期在不亲和组合豫花 15×*A. macedoi* 中,促进生长激素的含量水平较低,抑制生长的 ABA 却维持在较高水平,

从而造成物质和能量的亏损以及生理代谢的紊乱,使胚发育受到严重影响。这与石蜡切片所观察到的杂种胚授粉 17 d 后种发育异常现象是密切相关的。

更多的试验证实,植物的每一个生长发育事件往往是激素间协同作用,而不是某一种激素单独作用的结果^[18-19],因此,分析植物激素间的平衡关系对胚胎发育的影响比孤立研究单一激素的影响可能更有意义。本试验研究了 3 个杂交组合胚胎发育进程中 ABA/IAA、ABA/GA₃、ABA/(ZR+DHZR)、ABA/(IAA+GA₃+ZR+DHZR) 比值的变化趋势,从整体来看,2 个亲和组合豫花 15×白沙 1016 (对照)、豫花 15×*A. correntina* 的上述比值基本上始终低于不亲和组合豫花 15×*A. macedoi*,尤其是在授粉后 16~21 d 胚胎发育分化的关键时期,相差幅度较大。这就意味着 ABA 影响胚胎发育可能是通过生长抑制激素与生长促进激素的比值变化来实现的,这与在其他植物上的研究结果相吻合^[20]。

可能是由于内源激素的变化导致了杂种胚胎发育异常,因此不少研究者试图利用果针、胚珠和幼胚离体培养技术克服种间杂交不亲和障碍^[21-22],但由于对内源激素含量以及比例关系不甚了解,对在培养基中凭借经验添加外源生长调节物质带有一定的盲目性,这也可能是利用组织培养技术获得杂种一代较为困难的原因之一。本研究结果可能会对今后更加有效地开展胚拯救工作提供一定借鉴。

3.3 外施激素对花生杂种胚胎发育的影响

IAA 能够促进子房的膨大,增加胚珠体积;KT 则促进荚果的形成。曲咏梅^[23]和周蓉等^[24]开展过外施激素对花生杂种胚胎发育影响的研究,但未涉及到内源激素的变化。本研究证明外施促进生长的激素能够明显增加杂种胚珠的长度,这与前人研究结果一致。同时结合前面不亲和组合内源激素的动态变化,在一定程度上验证了可能是内源激素变化导致杂种胚胎败育这一推测。对于施加外源激素合适的种类、浓度、时间,以及施加后对花生内源激素的影响,进而对杂种胚胎发育的影响我们将做深入研究。

References

- [1] Wan S-B(万书波). Peanut cultivation in China (中国花生栽培学). Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2003. pp 65-67 (in Chinese)
- [2] Krapovickas A, Gregory W C. Taxonomy of the genus *Arachis* (Leguminosae). *Bonplandia*, 1994, 8: 1-186
- [3] Weng Y-J(翁跃进), Zhou R(周蓉). Different types of *Arachis hypogaea* L. and wild species hybridization compatibility study. *Oil Crops China* (中国油料), 1986, (3): 8-15 (in Chinese)
- [4] Zhang X-Y(张新友). Utilization of wild species in the genus *Arachis* for the improvement of the cultivated groundnut: I. Resistance to groundnut rust and leaf spots. *Acta Agric Boreali-Sin* (华

- 北农学报), 1991, 6(4): 30–35 (in Chinese with English abstract)
- [5] Singh A K, Moss J P. Utilization of wild relatives in genetic improvement of *Arachis hypogaea* L.: 5. Genome analysis in section *Arachis* and its implications in gene transfer. *Theor Appl Genet*, 1984, 68: 355–364
- [6] Zhou R(周蓉), Chen X-M(陈小娟), Qu Z(瞿桢), Wu X-Y(吴新镛), Duan N-X(段乃雄). Interspecific hybridization in genus *Arachis* and techniques for embryo rescue. *Oil Crops China* (中国油料), 1997, 19(1): 19–27 (in Chinese with English abstract)
- [7] Amir J. A study on the reproductive stage of the groundnut, *Arachis hypogaea* L. induction of pod setting in the upper-nodal gynophores. *Ann Bot*, 1969, 33: 333–338
- [8] Gregory M P, Gregory W C. Exotic germ plasm of *Arachis* L. interspecific hybrids. *J Hered*, 1979, 70: 185–193
- [9] Stalker H T, Eweda M A. Ovule and embryo culture of *Arachis hypogaea* L. and interspecific hybrids. *Peanut Sci*, 1988, 15: 98–104
- [10] Zhang X Y, Liu E S. Crossability between *Arachis hypogaea* L. and *Erectoides* species A. sp. 9990 GKP. *Acta Agric Boreali-Sin*, 1993, 8(suppl): 16–20
- [11] Johanson E L, Smith B W. *Arachis hypogaea* × *A. diogeni* embryo and seed failure. *Am J Bot*, 1956, 43: 250–258
- [12] Ketring D L, Schubert A M. Growth, flowering and fruiting responses of peanut plants to ethrel. *Crop Sci*, 1980, 20: 327–329
- [13] Feng Q-L(冯启理), Pan R-C(潘瑞炽). The influence of NAA, GA₃, and BA on pod formation of peanut ovary cultured *in vitro*. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1989, 15(2): 111–116 (in Chinese with English abstract)
- [14] Zhang H-Y(张海燕), Wang M-L(王铭伦). Plant growth regulators and the growth of peanut. *J Laiyang Agric Coll* (莱阳农学院学报), 2002, 19(1): 30–33 (in Chinese)
- [15] Li H-P(李和平). Plant Microtechnique (植物显微技术), 2nd Edn. Beijing: Science Press, 2009. pp 9–46 (in Chinese)
- [16] Wang M-L(王铭伦), He Z-P(何钟佩), Li P-M(李丕明). Changes of ethylene, CTK and ABA levels during the development of peanut pods and seeds. *J Laiyang Agric Coll* (莱阳农学院学报), 1992, 9(1): 1–5 (in Chinese with English abstract)
- [17] Feng Q-L(冯启理), Pan R-C(潘瑞炽). Changes of auxin, gibberellin and ethylene during pod development in peanut. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 1989, (2): 25–28 (in Chinese)
- [18] Leopold A C, Nooden L O. Hormonal regulatory system in plants. In: Scott T K ed. Hormonal Regulation of Development II. Berlin: Springer-Verlag, 1984. pp 10–11
- [19] Franklin P G, Pearce R B, Roger L M. Physiology of Crop Plants. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1985. pp 201–242
- [20] Chen W(陈伟), Lü L-X(吕柳新), Ye C-L(叶陈亮), Ye M-Z(叶明志). Relationship between embryo abortion and endogenous hormones in litchi ovules. *Chin J Trop Crops* (热带作物学报), 2000, 21(3): 34–38 (in Chinese with English abstract)
- [21] Feng Q L, Pattee H E, Stalkef H T. *In vitro* reproductive development of peanut, *Arachis hypogaea* L., as influenced by plant growth regulators, sucrose and pH. *Peanut Sci*, 1995, 22: 135–141
- [22] Shen F-Y(申馥玉), Zhu Z-X(朱忠学), Wang C-T(王传堂), Lü Z-Z(吕祝章), Duan S-F(段淑芬). *In vitro* peg culture to overcome peanut interspecific incompatibility. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1991, 25(5): 31–35 (in Chinese with English abstract)
- [23] Qu Y-M(曲咏梅). Effect of hormone treatment on pod and ovule development of the incompatible interspecific cross in *Arachis*. *J Laiyang Agric Coll* (莱阳农学院学报), 1992, 9(1): 27–32 (in Chinese with English abstract)
- [24] Zhou R(周蓉), Qu Z(瞿桢), Duan N-X(段乃雄), Wu X-Y(吴新镛). Effect of hormones on overcoming the incompatibility in interspecific crosses in genus *Arachis*. *Oil Crops China* (中国油料), 1994, 16(2): 4–6 (in Chinese with English abstract)