

DOI:10.11937/bfyy.201514025

# 四川扁桃组织培养技术研究

乔改霞<sup>1,2</sup>, 陈春伶<sup>1,2</sup>, 徐美隆<sup>1,2</sup>, 朱强<sup>1</sup>

(1. 宁夏林业研究所 种苗生物工程国家重点实验室, 宁夏 银川 750004; 2. 国家经济林木种苗快繁工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004)

**摘 要:**四川扁桃是一种具有良好经济和生态价值的灌木树种, 开发利用前景广阔。以四川扁桃一年生嫩枝切段为试材, 采用外植体芽诱导的方法, 研究不同培养基对四川扁桃组织培养的影响。结果表明: 适合四川扁桃外植体芽诱导培养基为 MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L, 分化培养基为 MS+6-BA 0.4 mg/L+IAA 0.8 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L, 生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L。

**关键词:**四川扁桃; 组织培养; 植株再生

**中图分类号:**S 722.8; Q 945.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0096-03

四川扁桃(*Amygdalus tangutica*)属蔷薇科(Rosaceae)桃属(*Amygdalus*)灌木, 又名西康扁桃、唐古特扁桃、松潘扁桃, 主要分布四川南坪、松潘、康定等地, 在海拔

1 500~4 600 m 的地带分布最多, 青海、甘肃和陕西也分布<sup>[1]</sup>。四川分布区年均温度 8~15℃, 年均降水量 500~800 mm, >10℃年积温 2 500~4 600℃, 无霜期在 210~280 d, 年日照数约 1 200~2 400 h, 1 月均温 -6~0℃, 7 月均温 22~30℃<sup>[2]</sup>。四川扁桃是我国西部地区重要的生态树种和野生木本油料植物, 其根系发达, 抗逆性强, 生长量大, 是良好的水土保持和造林树种<sup>[3]</sup>, 同时也是扁桃(*Amygdalus communis*)良好的矮化种质、优良的蜜源和观赏植物<sup>[4]</sup>。近年研究发现, 四川扁桃种仁含油丰

**第一作者简介:**乔改霞(1988-), 女, 陕西榆林人, 本科, 现主要从事植物组织培养等研究工作。E-mail:534790912@qq.com.

**责任作者:**陈春伶(1983-), 女, 硕士, 助理研究员, 现主要从事植物生物技术等研究工作。

**基金项目:**国家林业行业公益专项资助项目(201104041)。

**收稿日期:**2015-03-16

[25] PATERSON A H, LANDER E S, HEWITT J D, et al. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms[J]. Nature, 1998, 335: 721-726.

[26] ESHEN Y, ZAMIR D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield associated QTL[J]. Genetics, 1995, 141(3): 1147-1162.

## Correlation Analysis and QTL Mapping in Fruit Mature Period of Tomato

PENG Yan, LI Jingfu, HE Yanlong, XU Xiangyang, JIANG Jingbin, ZHANG He  
(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** Taking F<sub>2</sub> population which was developed from an intraspecific cross between early-maturity tomato 13493 and late-maturity tomato 13592 as material, to analyze the correlation of fruit mature of tomato. A molecular linkage map of the cross was constructed by SSR and AFLP, which was used for the QTL mapping. The results showed that maturate stage(MS) was significantly positive correlated with white-maturate to turning stage(WT), and was positively correlated with turning to maturate stage(TM), and was significantly negative correlated with flowering to white-maturate stage(FWS). Flowering to white-maturate stage(FWS) was significantly negative correlated with white-maturate to turning stage(WT), and was negative correlated with turning to maturate stage(TM). A total of 21 QTLs were detected for the fruit mature period of tomato by inclusive composite interval mapping(ICIM), including 14 QTLs for turning to maturate stage(TM), 5 QTLs for flowering to white-maturate stage(FWS) and 1 QTL for the maturity stage and the white-maturate to turning stage.

**Keywords:** tomato; mature period; correlation analysis; QTL

富,其油脂中不饱和脂肪酸含量高,是理想的保健用品,其油脂不仅可供食用,也是重要的工业原料,具有很高的利用及开发价值<sup>[5-6]</sup>。该研究用植物组织培养方法,探讨四川扁桃外植体芽诱导进一步分化形成再生植株的过程和条件,筛选出适合其分化及生根的培养基,提高繁殖系数和发挥其生态效应开辟新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料来源于宁夏银川植物园,选择长势较好、无病虫害的四川扁桃一年生嫩枝及顶芽作外植体。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的消毒 将采摘的四川扁桃嫩枝和顶芽叶片剥去,用吐温润洗干净,自来水冲洗 2 h 后,移到超净工作台上。将材料放入 70%酒精浸泡 15 s 后,再放入 0.1%的氯化汞中消毒,其中嫩芽 2 min,老枝 4 min。进行表面消毒时要不断振荡,使材料与消毒溶液充分接触。消毒后用无菌水冲洗 4~5 遍,备用。

1.2.2 芽的诱导培养 将消毒后的单芽茎段垂直接入 MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L,pH 5.8~6.0 的培养基上,5 d 后观察。

1.2.3 继代培养 将萌发的腋芽从基部切下,接入 6-BA 与 IAA 不同浓度组合的继代培养基上,培养 30 d 后,进行分化、株高、生长状况调查。分化培养基:1 号,MS+6-BA 0.2 mg/L+IAA 0.4 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;2 号,MS+6-BA 0.4 mg/L+IAA 0.8 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;3 号,MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;4 号,MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 1.8 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L。

1.2.4 不同培养基对诱导生根的影响 选取较健壮的芽苗切成 1.5~2.0 cm 的茎段,转入生根培养基,每隔 2 d 查看四川扁桃在生根培养基中的生长情况,并于 30 d 后统计生根情况。生根培养基:5 号,1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;6 号,1/2MS+IBA 0.8 mg/L+NAA 0.05 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;7 号,1/2MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;8 号,1/2MS+IBA 0.8 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L。

1.2.5 练苗与移栽 将不开瓶盖生根苗放在散射自然光下练苗 4~5 d 后取出,打开瓶盖练苗 24 h 后,取出生根苗,洗干净基部的培养基,移栽于蛭石:珍珠岩:草炭=1:1:2 基质中,盖上保湿膜,保持湿度 90% 以上,温度 20~28℃。1 周后通风透气,每隔 2 h 喷洒水 1 次,

直到植株开始抽生新叶,发出新根。

1.2.6 培养条件 培养条件是(25±2)℃,用 40 W 的白炽灯管做光源,光照强度 2 000~2 500 lx,光照时间 12 h。

## 2 结果与分析

### 2.1 芽诱导培养

5 d 后观察其污染情况,并及时清理污染苗,以免造成其它苗的污染。7 d 后腋芽开始萌动,15 d 后芽不但抽长而且叶片展开,待芽生长到 3~5 cm 时,转到继代培养基上继续培养。

### 2.2 继代培养

从表 1 可知,不同浓度的 6-BA 与 IAA 对四川扁桃试管苗茎芽的增殖有明显的影响。植株在 1 号和 2 号培养基上生长情况较好,在 3 号和 4 号培养基上植株分化系数增高,最高可达到 6.0,但出现了明显的玻璃化,且叶片卷曲。2 号培养基的分化系数及株高等均高于 1 号培养基,所以 2 号培养基更有利于植株的生长分化。此试验可说明在植株分化的过程中,当 6-BA (0.2 mg/L)的浓度过低时植株的分化系数较低,当 6-BA (0.8、1.0 mg/L)浓度过高时,植株出现了玻璃化严重,生长缓慢,叶片卷曲。综上所述,激素的浓度对植株的生长与分化有较为显著的影响,激素浓度越高反而抑制了四川扁桃的正常生长。

表 1 不同浓度的激素对四川扁桃分化的影响

| 编号 | 6-BA<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | IAA<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | NAA<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | 分化<br>系数 | 平均株<br>高/cm | 生长<br>状况   |
|----|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------|-------------|------------|
| 1  | 0.2                           | 0.4                          | 0.01                         | 2.0      | 5.0         | 叶片正常,无玻璃化  |
| 2  | 0.4                           | 0.8                          | 0.01                         | 3.0      | 5.5         | 叶片正常,无玻璃化  |
| 3  | 0.8                           | 1.5                          | 0.01                         | 4.5      | 2.5         | 玻璃化,叶片卷曲   |
| 4  | 1.0                           | 1.8                          | 0.01                         | 6.0      | 1.8         | 玻璃化严重,叶片卷曲 |

### 2.3 不同培养基对诱导生根的影响

四川扁桃接入生根培养基 7~9 d 后,有部分芽苗露出白色根尖,10~15 d 后迅速生长,根呈放射状排列(图 1)。但是,不同生根培养基培养条件下四川扁桃的生根情况差异较为明显,由表 2 可知,5 号和 7 号培养基对根诱导率较高,在 5 号和 7 号培养基上添加相同浓度 IBA 0.5 mg/L,添加不同的 NAA 时,发现含 NAA 0.05 mg/L 的 5 号培养基的生根率低于 7 号培养基,并且茎基部形成愈伤组织,相比之下,无添加 NAA 的 7 号培养基更有利于生根,生根率达 90%,且植株长势正常,生根均匀,叶片浓绿(图 2)。表明在 1/2MS 培养基上添加不同浓度的 IBA(0.5、0.8 mg/L)时,浓度较低的生根率较高。当在 1/2MS 培养基添加相同浓度的 IBA 0.5 mg/L,添加不同的 NAA 时,不添加 NAA 的培养基更有利于生根。由此可见,高浓度的生长素和添加生长素均抑制了植株的生根。

表 2

不同培养基对四川扁桃生根的影响

| 编号 | 培养基   | 接种数<br>/株 | 生根数<br>/株 | 生根率<br>/% | 总根数<br>/株 | 平均生根数<br>/(条·株 <sup>-1</sup> ) | 根的生长状况         |
|----|---|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------------------|----------------|
| 5  | 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L | 30        | 25        | 83        | 83        | 2.76                           | 粗细均匀,分枝多,愈伤较大  |
| 6  | 1/2MS+IBA 0.8 mg/L+NAA 0.05 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L | 30        | 18        | 60        | 38        | 1.72                           | 粗细不均匀,分枝少,愈伤较大 |
| 7  | 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L               | 30        | 27        | 90        | 93        | 3.10                           | 粗细均匀,分枝多,无愈伤   |
| 8  | 1/2MS+IBA 0.8 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L               | 30        | 20        | 67        | 46        | 1.53                           | 粗细不均匀,分枝少,愈伤较大 |

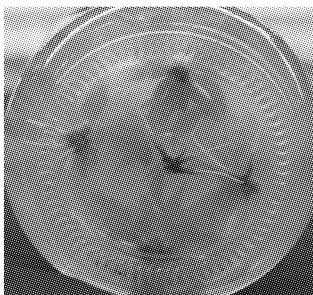


图 1 四川扁桃试管苗生根苗

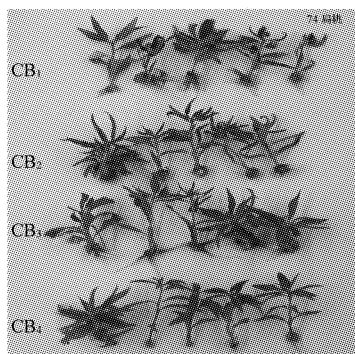


图 2 四川扁桃生根试验对比

#### 2.4 练苗与移栽

但植株生长 20 d 后,逐渐出现叶片脱落,变黄,根腐烂的现象,最后成活率仅达 45%。分析其移栽成活率低的主要原因是由于四川扁桃是木本植物,植株的木质化程度高,基质消毒不彻底,根上的培养基清洗不彻底,土

壤通气不好等导致移栽成活率低。结合以上现象,移栽时需做到,保持空气湿度高,土壤通气好,太阳勿直照。移栽后要完成上述步骤 4~6 周时间,此后即可让这些植物在正常的温室或田间条件下生长<sup>[7]</sup>。

#### 3 结论

通过开展不同芽诱导、生根培育和移栽处理试验发现,适合四川扁桃外植体芽诱导培养基为 MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L,其芽诱导率达 86%;适合的分化培养基为 MS+6-BA 0.4 mg/L+IAA 0.8 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L,分化系数达 3.0,平均株高 5.5 cm;适合的生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L,生根率达 90%。而且在移栽时,要保持良好的空气湿度和土壤通气性能,以增加移栽成活率。

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志(第 38 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1986.
- [2] 苏贵兴, 姚玉卿, 张善云, 等. 四川扁桃的调查研究[J]. 中国果树, 1982(4): 21-23.
- [3] 张善云, 黄光志. 四川扁桃[J]. 植物杂志, 1983(6): 5-10.
- [4] 张善云. 用四川扁桃作普通扁桃的砧木[J]. 中国果树, 1983(3): 53.
- [5] 朱强, 李永华, 李瑞, 等. 四川扁桃种仁的含油率及其脂肪酸组成分析[J]. 西部林业科学, 2013, 42(4): 100-103.
- [6] 王娅丽, 李永华, 王钰, 等. 3 种扁桃属植物营养成分分析[J]. 广东农业科学, 2012(7): 127-129.
- [7] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.

### Study on Tissue Culture of *Amygdalus tangutica*

QIAO Gaixia<sup>1,2</sup>, CHEN Chunling<sup>1,2</sup>, XU Meilong<sup>1,2</sup>, ZHU Qiang<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Seeding Bio-engineering, Ningxia Forestry Research Institute, Yinchuan, Ningxia 750004; 2. The National Center of Research and Engineering Technology of Economic Forest Tree Speedy Propagation, Yinchuan, Ningxia 750004)

**Abstract:** *Amygdalus tangutica* is a kind of shrub that is good for its economical and ecological value, which has a good future of development and application. Using annual tender stems of *Amygdalus tangutica* as explants to research the effect of different medium on tissue culture of *Amygdalus tangutica*. The results showed that the proper initiation culture medium was MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7 g/L, the proper multiplication culture medium was MS+6-BA 0.4 mg/L+IAA 0.8 mg/L+NAA 0.01 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7 g/L, the proper rooting culture medium was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7 g/L.

**Keywords:** *Amygdalus tangutica*; tissue culture; plant regeneration