

# 响叶杨×84K 杨高效再生体系的建立

张彦, 樊军锋, 高建设, 周永学

(西北农林科技大学 林学院 杨凌 陕西 712100)

**摘要:**以响叶杨×84K 杨的茎段和叶片为外植体,应用正交实验方法对响叶杨×84K 杨的再生条件进行研究。结果表明:茎段和叶片不定芽诱导的最佳培养基分别为 MS+TDZ 0.0015 mg/L+NAA 0.05 mg/L,茎段不定芽再生率可达 91%,MS+TDZ 0.001 mg/L+NAA 0.01 mg/L,叶片不定芽再生率可达 70%;诱导不定芽生根的最佳组合为 1/2MS+NAA 0.01 mg/L+IBA 0.1 mg/L,生根率可达 100%。在碳源对生根率影响的研究中,蔗糖的影响最大,生根率可达 88.9%。

**关键词:**响叶杨×84K 杨;植株再生;组织培养

**中图分类号:**S 792.111 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)09-0152-05

白杨派树种生长快、适应性强,是防风护林和绿化的优良树种,但是由于白杨派扦插繁殖比较难,采用常规育种方法很难在短时间内大量繁殖,大大制约了优良品种的培育和发展<sup>[1]</sup>。随着组织培养技术的日益成熟,其在育种过程中的作用越来越大<sup>[2]</sup>。用组织培养的方法进行繁殖,周期短,效率高,有利于大规模的生产和新优品种的快速推广。

2002~2009 年,西北农林科技大学林学院杨树组连续 7 a 开展了白杨派种内杂交育种研究。结果表明,响叶杨×84K 杨杂交组合杂种优势强,其生长迅速、干形通直、抗逆性强,为白杨派种内杂种中很有生产价值的 1 个新杂种。但由于该杂种扦插生根率低(仅 46%),严重影响了其生产推广。该试验在前人研究响叶杨和 84K 杨<sup>[3-6]</sup>的基础上,对响叶杨×84K 杨组织培养技术进行全面、系统的研究。其中以叶片为外植体进行组织培养的研究,可为以后的遗传转化奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

响叶杨×84K 杨的带芽枝条于 2009 年 3 月 16 日采自西北农林科技大学林学院渭河实验站。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 初代培养 将外植体在温度为(25±2)℃的温室

第一作者简介:张彦(1983-),女,硕士,现主要从事林木遗传育种林业生物技术研究工作。E-mail: zhyan83268190@163.com

通讯作者:樊军锋(1963-),博士,研究员,现主要从事杨树育种研究工作。

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD01A1502-2);陕西省 13115 市大科技专项资助项目(2009-13)。

收稿日期:2010-02-03

中水培,每 3 d 换水 1 次。15 d 后,嫩茎长至 10 cm 左右,将其切成 2~3 cm 的茎段,每段保留 2~3 个腋芽。所选茎段用自来水冲洗 30 min 后,再用 84 消毒液浸泡 3 min,无菌蒸馏水冲洗 3~4 次,0.1% 升汞溶液浸泡 8 min,无菌蒸馏水冲洗 4~5 次,在无菌环境下将茎段接种于以下培养基上 MS+6-BA 0.3 mg/L,MS+6-BA 0.5 mg/L,MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L,MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L,进行外植体的扩繁培养<sup>[7]</sup>。

1.2.2 不定芽的诱导 利用  $L_9(3^4)$  正交实验设计<sup>[8]</sup>研究培养基(MS, 1/2MS, 1/4MS)、细胞分裂素 6-BA (0.3、0.5、0.7 mg/L)、生长素 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L)3 种因子对响叶杨×84K 杨的茎段和叶片不定芽诱导的影响;利用  $L_9(3^4)$  正交实验设计研究培养基(MS, 1/2MS, 1/4MS)、细胞分裂素 TDZ (0.001、0.0015、0.01 mg/L)、生长素 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L)3 种因子对响叶杨×84K 杨的茎段和叶片不定芽诱导的影响。将带有 2~3 个腋芽的嫩茎段和叶片分别放入以上的 18 个处理中进行培养。7 周后,统计各处理茎段和叶片产生的不定芽数量,根据再生率及平均不定芽诱导数筛选诱导不定芽最佳培养基。

1.2.3 生根的诱导 利用  $L_9(3^4)$  正交实验设计研究培养基(MS, 1/2MS, 1/4MS)、生长素 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L)、IBA (0.05、0.1、0.2 mg/L)3 种因子对响叶杨×84K 杨的生根诱导的影响。将无根无菌苗放入以上的 9 个处理中进行培养。30 d 左右根据各处理生根率,筛选最适生根培养基及激素配比。

#### 1.3 研究碳源对外植体生根的影响

将无根组培苗分别接种到含有 3.0% 的白砂糖、蔗糖、果糖和葡萄糖的培养基上,研究碳源对响叶杨×84K

杨生根的影响。

1.4 统计指标及方法

不定芽诱导率: 产生不定芽的外植体数/ 接种外植体数的百分比; 再生率: 诱导产生不定芽的茎段(或叶片)/ 接种茎段(或叶片)总数的百分比; 平均不定芽诱导数: 不定芽总数/ 产生不定芽的茎段(或叶片)数; 生根率: 产生不定根的无菌苗/ 接种无菌苗总数的百分比; 不定芽: 指除了原有腋芽在无菌苗上任何部位新长出的芽; 在极差和方差分析中, A 代表正交实验中第 1 个因素, B 代表正交实验中第 2 个因素, D 代表正交实验中第 4 个因素, 正交实验表中第 3 列是空白因子。所有的正交实验没有考虑交互作用。

2 结果与分析

2.1 初代培养

从表 1 中可以看出, 响叶杨× 84K 杨的茎段在以上几种培养基上均可生长, 单独使用 6-BA 时, 随着其浓度的增加, 不定芽的诱导率增加, 不定芽生长慢。加入一定浓度的 NAA 后, 随着 6-BA 浓度的增加, 不定芽的生长速度加快, 诱导率继续增加, 但是切口处的愈伤越来越明显。这可能是 6-BA 和 NAA 2 种激素所起的协调作用, 增加了愈伤组织的诱导率。说明在同时使用 2 种激素时, 随着 6-BA 浓度的增加, 不定芽生长加快, 切口处愈伤也明显化。

表 1 6-BA/NAA 对响叶杨× 84K 杨茎段初代培养的影响

培养基浓度/ mg · L <sup>-1</sup>	接种茎		诱导率	生长情况
	段数/ 个	/%		
MS+ 6-BA 0.3	40	42.5		芽生长较慢 切口无愈伤
MS+ 6-BA 0.5	40	52.5		芽生长慢 切口有愈伤
MS+ 6-BA 0.3+NAA 0.05	40	67.5		芽生长较快 切口有愈伤
MS+ 6-BA 0.5+NAA 0.05	40	82.5		芽生长快 切口愈伤明显

2.2 筛选 6-BA/NAA 组合诱导响叶杨× 84K 杨茎段和叶片产生不定芽的最佳培养基配方

接种后 15 d 侧芽萌动, 30 d 后茎段切口处膨大, 形

成愈伤组织, 且面积较大。50 d 后茎段诱导产生很多不定芽, 但是叶较小, 节间较短, 个别苗出现玻璃化现象。

将无菌苗的叶片沿主脉横切接种到表 2 中的诱导培养基上, 培养 20 d 后, 叶片切口边缘开始膨大卷曲, 25 d 后, 叶脉切口处出现黄色愈伤组织; 30 d 左右, 大量愈伤组织分化产生不定芽, 很多不定芽从主叶脉处产出。

表 2 6-BA/NAA 组合诱导响叶杨× 84K 杨茎段和叶片不定芽对比

试验处理					茎段		叶片		
试验编号	培养基种类	6-BA / mg · L <sup>-1</sup>	空列	NAA / mg · L <sup>-1</sup>	再生率 / %	平均不定芽诱导数/ 个	再生率 / %	平均不定芽诱导数/ 个	
1	1	1	1	1	0.55	5.10	0.55	6.1	
2	1	2	2	2	0.47	5.63	0.37	4.1	
3	1	3	3	3	0.37	2.20	0.29	2.8	
4	2	1	2	3	0.45	3.55	0.34	3.8	
5	2	2	3	1	0.43	3.82	0.42	4.6	
6	2	3	1	2	0.43	3.00	0.33	4.1	
7	3	1	3	2	0.52	4.87	0.35	4.8	
8	3	2	1	3	0.36	3.30	0.28	2.7	
9	3	3	2	1	0.41	2.20	0.38	4.1	

由表 3 可以看出, 在所选的 3 个因素中, 6-BA 对茎段不定芽的诱导影响最大, 其次是 NAA, 最后是培养基。这说明在诱导响叶杨× 84K 杨茎段不定芽的过程中, 细胞分裂素 6-BA 起着决定作用。MS 对诱导不定芽的影响比 1/2MS 和 1/4MS 大, 这说明, 富含高浓度盐的培养基比较适合诱导茎段不定芽的产生。随着 6-BA 浓度的增加及大量元素的减少, 芽的再生率和平均不定芽诱导数呈下降趋势, 下降的趋势变化不大。随着 NAA 浓度的增加, 芽的再生率和平均不定芽诱导数先增加后减少, 变化趋势也不大。所以 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>D<sub>2</sub> 正交组合对诱导茎段不定芽所起的作用最大, 也就是在 6-BA 和 NAA 组合中最优的培养基配方。这说明 6-BA 和 NAA 的浓度变化对不定芽的影响趋势是不同的, 而 6-BA 的浓度变化和培养基中大量元素含量的变化对不定芽的影响趋势是相同的。

表 3 6-BA/NAA 组合诱导响叶杨× 84K 杨茎段和叶片不定芽的极差分析

	(茎段)再生率/ %			(茎段)平均不定芽诱导数/ 个			(叶片)再生率/ %			(叶片)平均不定芽诱导数/ 个		
	A	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D
K <sub>1</sub>	1.39	1.52	1.39	12.9	13.5	11.1	1.21	1.24	1.35	13.0	14.7	14.8
K <sub>2</sub>	1.31	1.26	1.42	10.4	12.8	13.5	1.09	1.07	1.05	12.5	11.4	13.0
K <sub>4</sub>	1.29	1.21	1.18	10.4	7.4	9.1	1.01	1.00	0.91	11.6	11.0	9.3
k <sub>1</sub>	0.46	0.51	0.46	4.3	4.5	3.7	0.40	0.41	0.45	4.3	4.9	4.9
k <sub>2</sub>	0.44	0.42	0.47	3.5	4.3	4.5	0.36	0.36	0.35	4.2	3.8	4.3
k <sub>4</sub>	0.43	0.40	0.39	3.5	2.5	3.0	0.34	0.33	0.30	3.9	3.7	3.1
R	0.03	0.10	0.08	0.9	2.0	1.5	0.07	0.08	0.15	0.5	1.2	1.8

A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>D<sub>1</sub> 正交组合对叶片的不定芽诱导影响最大, 即 MS+ 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.01 mg/L 是对叶片诱导不定芽的最佳培养基组合。并且 NAA 对诱导叶片不定芽的影响最大, 其次是 6-BA, 最后是 MS。这说明, 在使用 6-BA 和 NAA 诱导叶片不定芽时, NAA 起主要作

用, 这与 NAA 有促进细胞分裂, 诱导愈伤组织的产生有关, 6-BA 在此过程中发挥的作用较 NAA 小, MS 培养基的作用大于 1/2MS 和 1/4MS, 说明在诱导叶片不定芽时, 高盐浓度的培养基对叶片的诱导影响大。试验结果还可表明, 随着 NAA 和 6-BA 浓度的增加及培养基大量

元素的减少,叶片的再生率和平均不定芽诱导数呈下降趋势,但变化不明显。这说明,它们对叶片不定芽的影响趋势是相同的。

从表4中可以看出,培养基种类对茎段的再生率和平均不定芽诱导数的影响差异都显著。6-BA对茎段的

再生率和平均不定芽诱导数的影响差异都极显著。NAA对茎段再生率的影响差异极显著,对平均不定芽诱导数的影响差异显著。NAA对诱导叶片的再生率和平均不定芽诱导数的影响差异显著。

表4 6-BA/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨茎段和叶片不定芽的方差分析									
方差来源	自由度	(叶片)再生率/%		(叶片)平均不定芽诱导数/个		(茎段)再生率/%		(茎段)平均不定芽诱导数/个	
		F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值
A	2	4.074	0.197	2.254	0.307	25.560	0.038	26.180	0.037
B	2	6.173	0.139	18.46	0.051	251.80	0.004	133.20	0.008
D	2	20.91	0.046	35.21	0.027	154.40	0.006	59.430	0.017

注 P 值<0.05 显著,P 值<0.01 极显著。

2.3 筛选 TDZ/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨茎段和叶片产生不定芽的最佳培养基配方

将茎段接种于表5培养基中,10 d 后侧芽萌动,呈现绿色;20 d 后茎段切口处膨大,逐渐形成愈伤组织,但是面积不大;25 d 后在侧芽周围产生不定芽,但是没有明显的伸长;40 d 后诱导出不定芽,并且叶较大,节间较长。将无菌苗的叶片沿主脉横切接种到表5中诱导培养基上,培养15 d 后,叶片切口边缘开始膨大卷曲,叶脉切口处出现黄色愈伤组织,愈伤组织质地松软;20 d 左右愈伤组织上就有绿色突起,再培养1个星期后产生不定芽,每1叶片7~8个不定芽。

由表6可以看出,各因素对茎段不定芽的诱导起作用的顺序为B>D>A。随着B和D浓度的增大,再生率和平均不定芽诱导数先增大后减少,变化趋势不明显,因此所使用激素浓度最佳的是B<sub>2</sub>、D<sub>2</sub>。随着培养基中大量元素的减少,再生率和平均不定芽诱导数一直在减少,下降趋势也不明显。所以各因素的最优水平分别为A<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、D<sub>2</sub>,即TDZ/NAA组合对茎段诱导不定芽的

最佳培养基配方为MS+TDZ 0.0015 mg/L+NAA 0.05 mg/L。这说明,TDZ对不定芽的诱导作用大于NAA,并且还可以看出,TDZ用量较少,都是微量。最适合诱导茎段不定芽产生的培养基种类还是大量元素充足的MS培养基。B和D对诱导茎段不定芽的促进作用趋势是一致的,B和D与A对不定芽诱导的趋势是不一致的。

表5 TDZ/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨茎段和叶片不定芽对比

试验 编号	培养基 种类	处理			茎段		叶片	
		6-BA / mg * L <sup>-1</sup>	空列	NAA / mg * L <sup>-1</sup>	再生率 /%	平均不定芽 诱导数/ 个	再生率 /%	平均不定 芽诱导数/ 个
1	1	1	1	1	0.69	7.7	0.70	7.0
2	1	2	2	2	0.91	8.1	0.60	7.1
3	1	3	3	3	0.47	3.9	0.32	5.5
4	2	1	2	3	0.52	6.5	0.54	6.5
5	2	2	3	1	0.83	7.9	0.54	6.0
6	2	3	1	2	0.58	5.1	0.41	6.4
7	3	1	3	2	0.60	7.0	0.60	7.5
8	3	2	1	3	0.77	6.6	0.41	6.1
9	3	3	2	1	0.42	7.7	0.34	5.7

表 6 TDZ/ NAA 组合诱导响叶杨× 84K 杨茎段和叶片不定芽的极差分析												
	(茎段)再生率/ %			(茎段)平均不定芽诱导数/ 个			(叶片)再生率/ %			(叶片)平均不定芽诱导数/ 个		
	A	B	D	A	B	D	A	B	D	A	B	D
$K_1$	2.07	1.81	1.94	19.7	21.3	19.2	1.62	1.84	1.58	19.6	21.0	18.7
$K_2$	1.93	2.51	2.09	19.5	22.5	20.2	1.49	1.55	1.61	18.9	19.2	21.0
$K_4$	1.79	1.47	1.76	17.2	12.6	17.0	1.35	1.07	1.27	19.3	17.6	18.1
$k_1$	0.69	0.60	0.65	6.6	7.1	6.4	0.54	0.61	0.53	6.5	7.0	6.2
$k_2$	0.64	0.84	0.70	6.5	7.5	6.7	0.50	0.52	0.54	6.3	6.4	7.0
$k_4$	0.60	0.49	0.59	5.7	4.2	5.7	0.45	0.36	0.42	6.4	5.9	6.0
$R$	0.09	0.35	0.11	0.85	3.32	1.08	0.09	0.26	0.11	0.23	1.13	0.97

表6中可以看出,各因素对影响叶片不定芽诱导的顺序为B>D>A。B、D和A对叶片再生率和平均不定芽诱导数的影响趋势是相同的,随着激素浓度的增加和大量元素的减少,再生率和平均不定芽诱导数呈下降趋势,但变化不是很明显。这说明TDZ对诱导叶片不定芽的影响大,而且所需浓度比诱导茎段的还要低,诱导叶片不定芽最好的培养基还是MS,证明大量元素充足是诱导不定芽的最好培养基。所以TDZ/NAA组合诱

导叶片不定芽的最佳配方MS+TDZ 0.001 mg/L+NAA 0.01 mg/L。

从表7分析得出,B对茎段不定芽再生率和平均不定芽诱导数的影响差异显著,对诱导叶片再生率的影响差异极显著。A和D对叶片不定芽再生率的影响差异显著,而B和D对诱导叶片平均不定芽诱导数的影响差异显著。

表 7 TDZ/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨茎段和叶片不定芽的方差分析

方差来源	自由度	(叶片)再生率/%		(叶片)平均不定芽诱导数/个		(茎段)再生率/%		(茎段)平均不定芽诱导数/个	
		F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值
A	2	2.0206	0.3311	5.0408	0.1655	19.536	0.0487	1.972	0.3365
B	2	28.989	0.0333	72.606	0.0136	162.04	0.0061	47.656	0.0206
D	2	2.8144	0.2622	6.8413	0.1275	37.964	0.0257	38.512	0.0253

注 P 值<0.05 显著,P 值<0.01 极显著.

2.4 筛选 IBA/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨无根组培苗生根的最佳培养基配

将无根组培苗接种于表 8 的培养基进行培养。待 30 d 后统计生根率。

表 8 IBA/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨无根组配苗生根情况

试验编号	培养基种类	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	空列	IBA /mg·L <sup>-1</sup>	生根率 /%
1	1	1	1	1	0.60
2	1	2	2	2	0.88
3	1	3	3	3	0.65
4	2	1	2	3	0.80
5	2	2	3	1	0.50
6	2	3	1	2	1.00
7	3	1	3	2	0.75
8	3	2	1	3	0.25
9	3	3	2	1	0.35

表 9 IBA/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨无根组培苗生根极差分析

	生根率/%		
	A	B	D
K <sub>1</sub>	2.11	2.15	1.45
K <sub>2</sub>	2.30	1.61	2.61
K <sub>4</sub>	1.35	2.00	1.70
k <sub>1</sub>	0.70	0.72	0.48
k <sub>2</sub>	0.77	0.54	0.87
k <sub>4</sub>	0.45	0.67	0.57
R	0.32	0.18	0.39

从表 9 中可以看出, D 因素对无根苗生根影响最大, 其次是 A, 最后是 B。随着 D 浓度的增加, 生根率先增大后减小, 所以 D<sub>2</sub> 是最优浓度。随着 B 浓度的增加, 生根率是先减小后增大, 可见 B<sub>1</sub> 是最优浓度。A 因素对无根苗的影响变化跟 D 相同, A<sub>2</sub> 是最优浓度。即生根的最优培养基配方为 1/2MS+NAA 0.01 mg/L+IBA 0.1 mg/L。这说明在诱导生根的过程中, 低盐浓度的 1/2MS 比 MS 要好。从表 10 中得出, A 和 D 对无根苗生根的影响差异显著。

表 10 BA/NAA 组合诱导响叶杨×84K 杨无根组培苗生根方差分析

方差来源	自由度	再生率/%	
		F 值	P 值
A	2	39.194	0.025
B	2	12.223	0.076
D	2	57.614	0.017

注 P 值<0.05 显著,P 值<0.01 极显著.

2.5 研究碳源对无根组培苗生根的影响

将无根苗接种到 1/2MS+NAA 0.01 mg/L+IBA 0.1 mg/L 的培养基上, 其中的碳源分别为 3% 的葡萄糖、蔗糖、果糖、白砂糖。

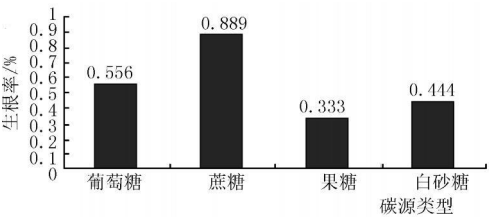


图 1 不同碳源对无根苗生根的影响

图 1 表明, 在含有蔗糖的培养基上无根苗生根率最大, 且生长迅速、主根长而粗、叶片面积大、基部愈伤组织较少; 含葡萄糖的培养基生根率次之, 生长缓慢、主根细长、基部有愈伤组织; 含白砂糖的培养基生根率排第 3, 根生长较慢、有侧根; 含果糖的培养基生根率最低, 生长慢、主根短而细、侧根多。这证明最适应生根的碳源是蔗糖。

3 结论与讨论

经初代培养发现同时使用细胞分裂素和生长素时, 会增加不定芽的诱导率。这说明细胞分裂素和生长素具有协作作用, 其配合使用比单独使用效果好。此类报道已经很多, 马宗新等<sup>[10]</sup>在三倍体速生杨树的组织培养中也发现此类现象。王关林等<sup>[11]</sup>认为, 这可能与不同激素的作用机理有关, 联合使用不同的植物激素可以实现生物学效应的互补, 从而提高不定芽的分化率。

响叶杨×84K 杨茎段不定芽诱导的试验, 采用了 2 种不同的激素组合, 分别是 6-BA/NAA 和 TDZ/NAA 组合。前一个组合的最佳培养基配方为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 后一组合的最佳培养基配方为 MS+TDZ 0.0015 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 但综合无根苗的生长速度、再生率和平均不定芽诱导数来看, 诱导茎段不定芽的最优配方为 MS+TDZ 0.0015 mg/L+NAA 0.05 mg/L。

响叶杨×84K 杨叶片不定芽诱导的试验, 同样采用了 2 种不同的激素组合, 6-BA/NAA 和 TDZ/NAA 组合。前一组合的最佳培养基配方为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.01 mg/L, 此配方中, 生长素的作用大于细胞分裂素, 可能由于细胞分裂素具有诱导愈伤组

组织的作用<sup>[1]</sup>, 后一组合的最佳培养基配方为 MS+TDZ 0.001 mg/L+NAA 0.01 mg/L, 但综合愈伤组织的产生速度、玻璃化程度、不定芽的个数、再生率和平均不定芽诱导数来看, 诱导叶片不定芽的最优配方为 MS+TDZ 0.001 mg/L+NAA 0.01 mg/L。

在所有细胞分裂素中, TDZ 的作用最强, 往往较小的用量就能起到十分明显的诱导效果<sup>[10]</sup>。该研究中 TDZ 的使用浓度都很小, 但是不定芽的个数比使用 6-BA 明显的多而且生长迅速。尤其是诱导叶片不定芽时, 更能看出 TDZ 诱导不定芽所起的作用。

所有诱导不定芽的试验处理中, 含有大量元素丰富的 MS 始终都是最合适的培养基种类, 说明高浓度盐对不定芽的诱导影响大。

生根处理试验中, 最适合生根的培养基是 1/2MS+NAA 0.01 mg/L+IBA 0.1 mg/L。这个试验结果与高盐浓度不利于某些杨树的生根的报道相一致<sup>[1]</sup>, 与李科友等<sup>[12]</sup>在毛白杨无性系 85 号高效再生系统的建立中的研究也是一致的。

在碳源对无根苗生根的试验中得出, 廉价的蔗糖是最适合生根的碳源。

## 参考文献

- [1] 赵华燕, 卢善发. 杨树的组织培养及其基因工程研究[J]. 植物学通报, 2001, 8(2): 169-176.
- [2] 李毅, 邱利, 箭胡毛杨组培繁殖技术的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2002, 37(2): 180-184.
- [3] 朱忠荣, 伍孝贤, 杨业正, 响叶杨的组织培养快速繁殖研究[J]. 贵州农学院学报, 1994, 13(1): 17-23.
- [4] 王树耀, 田宗城, 黄白红, 等. 84K 杨叶片再生系统的建立[J]. 湖南文理学院报, 2004, 16(4): 50-55.
- [5] 樊军锋, 李玲, 韩一凡, 等. 84K 杨叶片外植体再生系统的建立[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(2): 33-36.
- [6] 赵清爽. 84K 杨组织培养及基因转化的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2003.
- [7] 范小峰, 李师翁, 范小玲. 应用组织培养技术进行三倍体毛白杨快繁的研究[J]. 中国水土保持, 2002(6): 18-19.
- [8] 齐高强, 赵忠, 张存旭, 等. 大扁杏组培基本培养基与培养条件的优化研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(3): 115-118.
- [9] 贾小明, 樊军锋, 王娟娟. 河北杨和新疆杨离体叶片诱导不定芽研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(12): 110-114.
- [10] 马宗新, 高玉祥, 赵红, 等. 三倍体速生杨树的组织培养及应用[J]. 安徽农业科技, 2004, 32(4): 715-716.
- [11] 王关林, 方宏筠, 那杰. 高活性细胞激动素 TDZ 在植物组织培养中的应用[J]. 植物学通报, 1997, 14(3): 47-53.
- [12] 李科友, 朱海兰, 赵忠, 等. 毛白杨无性系 85 号高效再生系统的建立[J]. 林业科技开发, 2008, 22(2): 45-48.

## Establishment of an Efficient Regeneration System for the Populusadenopoda× the poplar 84K

ZHANG Yan, FAN Jun-feng, GAO Jian-sha, ZHOU Yong-xue

(College of Forestry, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** Through the application of orthogonal designing, stems and leaves of Populusadenopoda× the poplar 84K were used as explants to study the optimal differentiation medium and proportion of hormone. The results showed that the optimal differentiation medium and proportion of hormone of stems and leaves were respectively MS+TDZ 0.0015 mg/L+NAA 0.05 mg/L and MS+TDZ 0.001 mg/L+NAA 0.01 mg/L, and 1/2MS+NAA 0.01 mg/L+IBA 0.1 mg/L for adventitious root. Using the optimal regeneration system, regeneration rate of stems was 91%, regeneration rate of leaves was 70%, rooting frequency was 100%. In the study of rooting rate on carbon, the impact of sucrose was largest, on which the rate of rooting was 88.9%. The results achieved laid a sound foundation for regeneration of Populusadenopoda× poplar 84k on an industrial basis and gene transformation by means of leaf disc method.

**Key words:** Populusadenopoda× the poplar 84 K; plantlet regeneration; tissue culture