

DOI:10.11937/bfyy.201521027

四种野生梨离体培养体系的建立及耐盐性比较

王德芬, 谭俊超, 李鼎立, 杨英杰, 宋健坤, 王 然

(青岛农业大学 园艺学院, 青岛市园艺植物遗传改良与育种重点实验室, 山东 青岛 266109)

摘 要:以杜梨、豆梨、川梨和山梨为试材,进行了无菌体系的建立和增殖培养基的优化,在此基础上进行了Na盐胁迫下耐盐相关生理指标的测定,以期进行不同材料耐盐性的比较,探讨利用离体培养体系进行耐盐性鉴定的可行性。结果表明:不同种类梨芽的增殖对培养基中附加的各类生长调节剂的配比要求不同,筛选得到最佳芽增殖培养基为杜梨MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L;豆梨MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.1 mg/L;川梨MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L;山梨MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L。对4种梨试管苗进行不同浓度NaCl胁迫处理的结果表明,不同梨盐害指数从高到低分别为川梨、豆梨、山梨、杜梨;对保护性酶类的活性及脯氨酸含量测定分析显示,4种梨中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和脯氨酸(Pro)在NaCl处理浓度较低时均呈现上升趋势,杜梨的活性变化相对平缓,而MDA变化以川梨的活性最高。

关键词:梨;离体培养;盐胁迫

中图分类号:S 661.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)21-0102-05

梨(*Pyrus spp.*)是我国第三大水果,在我国农业经济发展中起重要的作用,但盐碱化的危害使产业发展变

第一作者简介:王德芬(1990-),女,山东潍坊人,硕士研究生,研究方向为果树育种与基因工程。E-mail:wangdefen503@163.com.

责任作者:王然(1960-),女,山东烟台人,博士,教授,现主要从事果树遗传育种与生物技术等研究工作。E-mail:qauwr@126.com.

基金项目:国家现代农业(梨)产业技术体系建设专项资助项目(CARS-29-07);“十二五”农村领域国家科技计划课题资助项目(2013BAD02B01-2);山东省农业良种工程资助项目(2014—2016年)。

收稿日期:2015-07-29

缓且质量受到影响^[1-2],梨的抗盐碱胁迫能力因品种、砧木、树龄和生长时期的不同而有差异^[2],其中砧木的抗盐性是决定砧木栽培应用价值和范围的最重要的性状之一^[3]。通过选育耐/抗盐碱砧木也是提高品种耐性的有效途径之一。我国是梨属植物原产地之一,具有丰富的野生资源类型,有12个种原产于我国,如杜梨(*Pyrus betulaeifolia*)、豆梨(*Pyrus calleryana*)、山梨(*Pyrus ussuriensis*)、川梨(*Pyrus pashia*)等,常被生产上广泛用作梨的砧木,抗逆性较好^[3]。由于这些野生梨主要是实生繁殖,种内变异大、类型多,对其耐盐性缺乏系统的评价。植物在遇到盐胁迫时,体内常发生一系列生

SRAP Analysis of 12 Mango Germplasm Genetic Relationships

ZHAO Ying, HUANG Guodi, FU Haitian, MO Yonglong, LI Riwan, ZHOU Jun'an, ZHANG Yu, TANG Yujuan
(Guangxi Institute of Subtropical Crops, Nanning, Guangxi 530001)

Abstract: Taking 12 mango germplasms as materials, SRAP marker was used to analyze genetic diversities. The results showed that 22 primers selected from 36 SRAP-primer were used for amplification and 251 DNA bands were obtained, including 181 polymorphic bands. Each primer amplified 15.08 polymorphic bands. The percent of polymorphic was 72.11%. Based on UPGMA analysis, all samples showed higher similarities and their coefficients from 0.77 to 0.89. If the coefficient 0.78 was regarded as divided line of their genetic relationship, 12 materials could be clustered into 3 groups by SRAP. The study indicated that the genetic relationship of mango cultivars or lines could be better assessed by SRAP which could be used in mango germplasms identification.

Keywords: mango; SRAP; genetic relationship

理代谢的变化,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)等保护性酶类活性^[4-6]和多胺含量变化^[7-8]等。有研究表明保护性酶及多胺和植物的抗逆成正相关^[9-10],刘吉利等^[11]发现盆栽高粱幼苗在龟裂碱土胁迫条件下,高粱体内的MDA含量以及SOD、POD、CAT等保护性酶活性显著升高。安勐颖等^[12]研究发现,外源亚精胺处理能够缓解盐胁迫对草地早熟禾根系和幼苗生长的抑制,可以降低细胞内Na⁺的含量,增加K⁺、Ca²⁺和Mg²⁺的含量,稳定细胞膜结构,提高草地早熟禾幼苗的耐盐性。因此,在逆境及盐碱危害性试验中测定该生理指标的含量可以作为评估抗/耐盐的指标之一。

该研究以野生梨中4种典型性比较强的个体为试材,在建立适宜的离体培养体系的基础上进行了4种野生梨耐盐性评价,以期对梨耐盐种质的筛选鉴定提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

杜梨(*P. betulaefolia*)来自山东龙口,豆梨(*P. calleryana*)来自山东沂源,川梨(*P. pashia*)来自云南,山梨(*P. ussuriensis*)来自吉林长春,收集后嫁接保存在青岛农业大学现代农业示范园梨种质资源圃。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的处理 取4种梨的一年生枝条经水培处理、芽萌发后剥取茎尖,进行外植体消毒处理:75%酒精浸泡30 s,无菌水冲洗3次,0.1%升汞溶液处理6 min,无菌水冲洗3次,接种于MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L培养基中进行初代培养。培养35 d后转接到MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L培养基中进行初代增殖培养,获得的嫩梢用于后续试验。

1.2.2 继代培养基的筛选 为消除组培苗长势带来的误差,保证试验的一致性,选用L₉(3⁴)正交表进行试验设计,研究不同浓度6-BA、IBA和GA₃组合的培养基对4种梨砧木组培苗生长的影响(表1),筛选出最适宜4种梨砧木的增殖壮苗培养基。每个处理的基本培养基均为MS培养基,添加蔗糖30 g/L、琼脂7 g/L,pH 5.8~6.0。培养温度(25±1)℃,光周期16 h,光源为日光灯光源,光照强度2 000 lx。每个处理接种5瓶,每瓶3株苗,重复3次。28 d后统计不同处理下组培苗的高度,计算平均生长高度(处理后平均高度-原始平均高度)及芽增殖倍数(处理后芽数量/原始芽数量)。

1.2.3 盐处理 取生长健壮、长势一致的杜梨、豆梨、川梨和山梨约2 cm高的无根试管苗,接种到含有不同浓度NaCl(0、2、4、6、8、10 g/L)的最适增殖壮苗培养基中,

每个处理接种5瓶,每瓶4株苗,设置3次重复。离体培养4周后进行相关指标的调查分析。

表1 试验处理组合 mg/L

组合编号	6-BA 浓度	IBA 浓度	GA ₃ 浓度
1	0.5	0.1	0.1
2	0.5	0.3	0.3
3	0.5	0.5	0.5
4	1.0	0.1	0.3
5	1.0	0.3	0.5
6	1.0	0.5	0.1
7	2.0	0.1	0.5
8	2.0	0.3	0.1
9	2.0	0.5	0.3

1.3 项目测定

1.3.1 盐害指数测定 盐害等级划分标准参照王海英等^[13]的方法,0级:生长正常;1级:轻度盐害,少量叶片边缘褐化或局部有褐化斑点;2级:中度盐害,50%左右叶片及少量茎褐化,叶片褐化面积占总叶面积的1/2左右;3级:重度盐害,80%以上叶片褐化或畸形,50%以上茎褐化;4级:极重度盐害,植株完全死亡。盐害指数=(盐害代表级数×受害株数)/(调查总株数×盐害最高级数)

1.3.2 生理指标的测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量的测定参照邹琦^[14]的NBT(氮蓝四唑)显色法。过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法^[15]、过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照李合生^[15]的方法、脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮法^[14],每个指标重复测定3次。

1.4 数据分析

数据采用DPS和Excel软件进行分析,采用Duncan's新复极差法进行数据差异显著性测验。

2 结果与分析

2.1 芽增殖最适培养基的筛选

应用L₉(3⁴)正交表对离体培养体系的关键环节的芽增殖培养进行了比较。由表2可以看出,在所试的9种培养基中,4种梨虽然都能生长,但是不同的梨在不同培养基上的生长情况存在差异。杜梨在组合5培养基上的生长高度最大,但是芽增殖倍数较低,组合7和9培养基中芽增殖的数量最多,但组合9培养基中杜梨的生长高度相对较低,兼顾增殖倍数和试管苗生长高度2个因素,适宜杜梨增殖伸长的培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L,适宜豆梨增殖伸长的培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.1 mg/L,适宜川梨增殖伸长的培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L,适宜山梨增殖伸长的培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L。

表 2

不同浓度激素对比对 4 种梨砧木组培苗生长的影响

组合编号	杜梨		豆梨		川梨		山梨	
	生长高度	芽增殖倍数	生长高度	芽增殖倍数	生长高度	芽增殖倍数	生长高度	芽增殖倍数
1	0.013cB	0.067bA	0.213bB	0.133bcA	0.213cC	0.733bAB	0.900abA	0.167aA
2	0.214bAB	0.000bA	0.460bB	0.333abcA	0.980bcBC	0.267bB	0.608bA	0.083aA
3	0.300abAB	0.067bA	0.358bB	0.050cA	0.807bcBC	0.400bB	0.809abA	0.000aA
4	0.407abA	0.333abA	0.445bB	0.583aA	2.713aA	0.800bAB	0.792abA	0.083aA
5	0.453aA	0.067bA	0.465bB	0.300abcA	1.267bBC	0.667bAB	0.933abA	0.250aA
6	0.253abAB	0.133bA	0.589bB	0.050cA	1.200bBC	0.600bAB	1.117abA	0.000aA
7	0.347abA	0.533aA	0.832bB	0.233abcA	1.286bBC	1.533aA	0.859abA	0.083aA
8	0.264abAB	0.067bA	1.878aA	0.500abA	1.367bBC	0.800bAB	1.206aA	0.083aA
9	0.200abAB	0.533aA	2.210aA	0.300abcA	1.660bAB	0.400bB	0.942abA	0.167aA

注:小写字母表示 $P < 0.05$ 上的差异,大写字母表示 $P < 0.01$ 上的差异。

2.2 不同浓度 NaCl 处理下 4 种梨试管苗耐盐指数的比较

在没有经过 NaCl 处理条件下,在所筛选的最适培养基上 4 种梨对照试管苗生长无差异(图 1)。当培养基中附加 NaCl 2 g/L 时,4 种梨试管苗均表现出盐害症状,但盐害指数均在 0.3 以下,差异不显著。附加 NaCl 浓度达到 4 g/L 时,杜梨和山梨盐害指数没有明显增加,以杜梨最低。而豆梨和川梨的盐害指数则迅速上升,分别达到 0.46 和 0.56。当 NaCl 浓度达到 6 g/L 时,杜梨仍无明显增加,山梨有所上升,豆梨变化不明显,川梨则呈继续增加趋势。当 NaCl 浓度达到 8 g/L 时,杜梨和山梨的盐害指数快速增加,豆梨和川梨较之前上升不明显。由此可以看出,不同种类的梨对环境的适应性不同,在较低盐浓度条件下,杜梨和山梨有较好的适应性,但达到较高的盐浓度后,均表现了耐性的急剧下降。

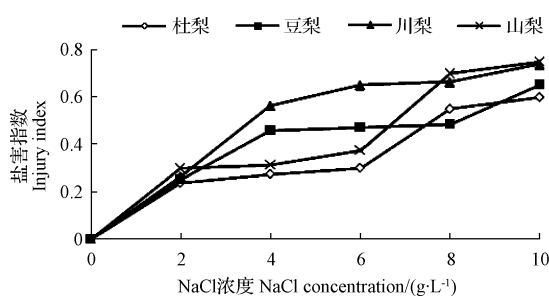


图 1 培养基中不同浓度 NaCl 对 4 种梨试管苗盐害指数的影响

2.3 不同浓度 NaCl 处理对试管苗保护性酶类的影响

2.3.1 SOD 活性的变化 由图 2 可知,随着盐浓度的升高,4 种梨试管苗的 SOD 活性总体呈现先上升后下降的趋势。总体上看随培养基中 NaCl 浓度的升高,杜梨和山梨的 SOD 变化相对平缓,分别在 NaCl 浓度为 6 g/L 和 4 g/L 时达到最高值。川梨和豆梨分别在 NaCl 浓度 2 g/L 和 4 g/L 时 SOD 活性达到最高值,且显著高于杜梨和山梨,随后开始急剧下降并在 6 g/L 时达到最低,川梨下降幅度大于豆梨,且二者均低于对照。

2.3.2 POD 活性的变化 由图 3 可知,杜梨的 POD 活

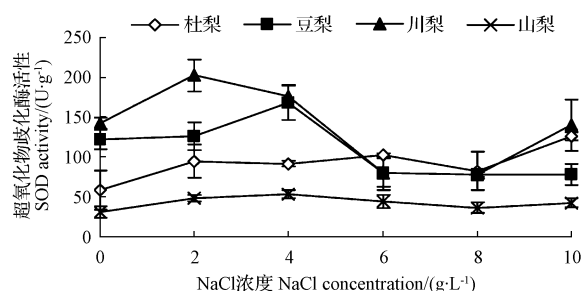


图 2 培养基中不同浓度 NaCl 对 4 种梨试管苗 SOD 活性的影响

性变化幅度小,比较平稳,仅在 NaCl 浓度达到 10 g/L 时有小幅度的上升。山梨在 NaCl 浓度达到 6 g/L 之前总体上呈现上升趋势,但幅度较小,在 NaCl 浓度达到 8 g/L 时急剧上升,随后又迅速下降。川梨在对不同浓度 NaCl 处理下呈现先上升后下降的变化趋势,在 NaCl 浓度为 6 g/L 时达到最大值。豆梨较其它 3 种梨在未经 NaCl 处理时有较高的 POD 活性,经 NaCl 处理后,在 NaCl 浓度为 2 g/L 时达到最大值,直到 NaCl 浓度达到 6 g/L 时都保持较高的活性水平,当 NaCl 浓度达到 8 g/L 时 POD 活性开始急剧下降。

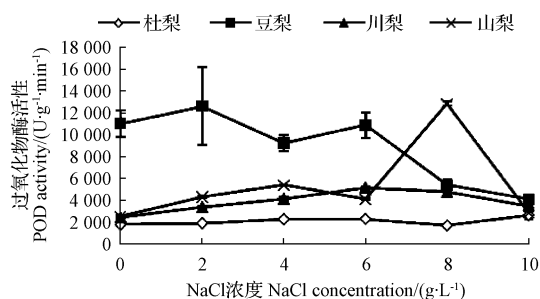


图 3 培养基中不同浓度 NaCl 对 4 种梨试管苗 POD 活性的影响

2.3.3 CAT 活性的变化 从图 4 可以看出,杜梨在 NaCl 浓度为 2 g/L 时,CAT 活性较对照有所下降,随后开始上升,在 NaCl 浓度达到 6 g/L 时 CAT 活性达到最大值。山梨的 CAT 活性随着 NaCl 浓度的升高呈现先

上升后下降的趋势,在 NaCl 浓度达到 4 g/L 时活性最大。豆梨在 NaCl 浓度为 2 g/L 时,CAT 活性变化无明显变化,在 NaCl 浓度达到 4 g/L 时,快速上升并达到最大值。川梨在 NaCl 浓度为 2 g/L 时 CAT 活性呈增加趋势,在 NaCl 浓度达到 4 g/L 时,较前一浓度有小幅度的增加但变化不明显,在 NaCl 浓度达到 6 g/L 时快速增加,之后随 NaCl 浓度升高 CAT 活性变化相对平缓。

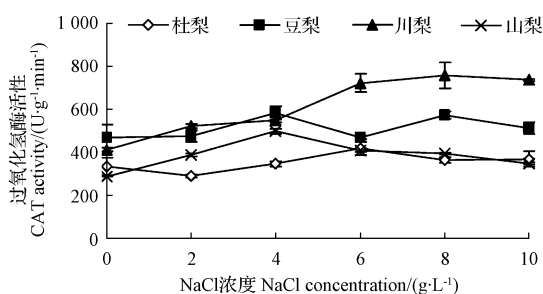


图4 培养基中不同浓度 NaCl 对 4 种梨试管苗 CAT 活性的影响

2.3.4 MDA 含量的变化 植物组织中 MDA 含量常作为膜脂过氧化程度的指标。从图 5 可知,在未经 NaCl 处理下,山梨的 MDA 含量较低,杜梨和豆梨含量居中,川梨 MDA 含量最高。在不同浓度的 NaCl 胁迫处理下,当 NaCl 浓度为 2 g/L 时,MDA 含量除川梨有较大幅度下降外其余 3 种梨均无明显变化。当 NaCl 浓度达到 4 g/L 时,杜梨和川梨的 MDA 含量快速下降并达到最小值,山梨和豆梨有小幅度的上升,此时豆梨的 MDA 含量达到最高。当 NaCl 浓度达到 6 g/L 时杜梨和川梨快速增加,山梨呈继续增加趋势,豆梨缓慢下降。当 NaCl 浓度达到 8 g/L 时杜梨和豆梨较之前无明显变化,山梨快速下降,川梨变化平缓。继续增加 NaCl 浓度时,除川梨的 MDA 含量继续上升外其余 3 种梨均呈现下降趋势。

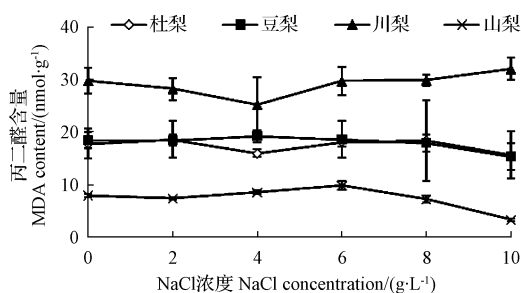


图5 培养基中不同浓度 NaCl 对 4 种梨试管苗 MDA 含量的影响

2.3.5 Pro 含量的变化 用不同浓度的 NaCl 处理 4 种梨试管苗后测定其 Pro 含量的变化,由图 6 可知,杜梨在 NaCl 处理浓度为 2 g/L 时与其对照相比 Pro 含量稍有降低,随后随 NaCl 浓度的升高呈现先上升后下降的趋势,在 NaCl 浓度达到 6 g/L 时 Pro 含量最高。山梨的

Pro 含量则随着 NaCl 浓度的升高呈现一直上升的状态。豆梨在 NaCl 浓度为 2 g/L 时 Pro 含量无明显变化,之后随着 NaCl 浓度的升高不断增加,在 NaCl 浓度为 8 g/L 时达到最大,然后开始下降。川梨的 Pro 含量在 NaCl 浓度达到 6 g/L 之前随 NaCl 浓度的升高而升高,当 NaCl 浓度达到 8 g/L 时急剧下降,NaCl 浓度达到 10 g/L 时又快速上升。

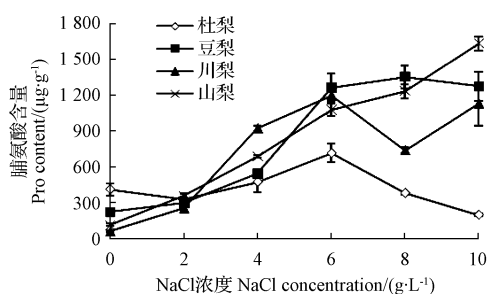


图6 培养基中不同浓度 NaCl 对 4 种梨试管苗 Pro 含量的影响

3 讨论

植物生存环境的土壤中,在较低的盐分存在情况下,植物可以通过自身的调节来适应环境,消除逆境伤害所产生的后果,SOD、POD、CAT 保护酶类则是在这种情况下发生作用^[17]。SOD 作用主要是清除超氧自由基,POD 具有清除活性氧等作用,CAT 可以清除 H_2O_2 ,防止其积累导致的破坏作用^[18]。该研究中 SOD 在对照下的活性和其在不同 NaCl 处理时的变化幅度表现了一致性(除山梨外),与试管苗在不同浓度 NaCl 处理下所表现出的盐害指数是一致的。说明变化幅度的大小也反映出植物自我调节和适应能力的强弱,但 POD、CAT 及 MDA 的这种一致性不明显。这也说明可能不同的梨种其耐盐或应对盐胁迫的机制是不同的。在较低的盐浓度下,植物会积极开启自我保护机制来抵御不良环境的影响,当超出一定范围,这种保护机制也会受到破坏^[19]。这在某种程度上也是植物适应性表现的一个方面。MDA 是膜脂过氧化分解产物,其含量高低在一定程度上可作为鉴定砧木耐盐性强弱的生理指标之一^[16]。该研究结果显示,杜梨试管苗随 NaCl 浓度增加 MDA 含量变化不大,说明 NaCl 对杜梨无根试管苗的损伤不明显,与杨升等^[20]的研究结果不符。豆梨和山梨试管苗的 MDA 含量呈略微下降的趋势,这与杨秀玲等^[21]的研究结果不一致,可能与实生苗和试管苗本身的差异有关。许多研究指出,MDA 含量在低盐浓度下增加不明显,并且耐盐植物 MDA 含量的增加幅度要小于不耐盐植物^[22],说明川梨耐盐性要小于另外 3 种梨,也与盐害指数的结果一致。

脯氨酸作为有机渗透调节物质,容易在渗透胁迫下

积累,是植物在对抗盐胁迫过程中采取的一种保护性措施^[23]。研究认为,脯氨酸不仅是作为渗透调节物质缓解盐胁迫对植物的伤害,还能起到调节细胞内微环境,有利于细胞内的各种代谢反应过程的顺利进行,尤其是提高抗氧化酶的活性,随着外界盐浓度的增加,植物体内 Pro 含量升高^[24]。该研究中山梨无根试管苗的 Pro 含量在整个处理过程中呈递增的趋势,和前人研究结果一致,Pro 含量随着 NaCl 浓度增加而增加,通过渗透调节缓解了 NaCl 对梨的盐害程度,稳定细胞内的微环境。杜梨、豆梨和川梨试管苗 Pro 含量在增高后还有个降低的过程,说明 Pro 的调节作用有一定的限度,当 NaCl 浓度较高(大于 6 g/L)时梨试管苗受害过度,Pro 无法继续维持细胞内微环境的稳定而导致含量下降。

参考文献

- [1] 陈立松,刘星辉. 果树逆境生理[M]. 北京:中国农业出版社,2003:217-256.
- [2] 张素敏. 果树耐盐碱性研究进展[J]. 北方果树,2004(1):52-54.
- [3] 陈长兰. 梨树野生砧木的抗盐性和抗旱性鉴定初报[J]. 作物品种资源,1996(4):30-32.
- [4] 陶晶,陈士刚,秦彩云,等. 盐碱胁迫对杨树各品种丙二醛及保护酶活性的影响[J]. 东北林业大学学报,2005,33(3):13-15.
- [5] 乔枫,耿贵工,陈志. 混合盐碱处理下蚕豆叶片生理指标的变化[J]. 干旱地区农业研究,2013,31(3):162-165.
- [6] 刘正祥,张华新,杨秀艳,等. 林木耐盐碱相关基因与基因工程研究进展[J]. 世界林业研究,2012(5):11-17.
- [7] 郭紫娟,孙凤国,张慎好. 多胺对果树生长发育的影响研究进展[J]. 河北农业科学,2006,9(3):99-102.
- [8] 郑望,宋勇,贺利雄. 多胺与植物抗逆性研究及其在马铃薯上的应用[C]. 马铃薯产业与粮食安全(2009),2009.
- [9] KRISHNAMURTHY R, BHAGWAT K A. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars[J]. Plant Physiol, 1989(91):500-504.
- [10] KUZNETSOV V, SHEVYAKOVA N I. Desert Plants[M]. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010:261-298.
- [11] 刘吉利,吴娜. 龟裂碱土对不同基因型甜高粱幼苗生长和生理特性的影响[J]. 草业学报,2014(5):208-213.
- [12] 安勤颖,孙珊珊,濮阳雪华,等. 外源亚精胺调控草地早熟禾幼苗耐盐性的研究[J]. 草业学报,2014(6):207-216.
- [13] 王海英,孙建设,马宝焜,等. 苹果砧木组培苗耐盐筛选技术研究[J]. 果树科学,2000,17(3):188-191.
- [14] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000:7.
- [15] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [16] 骆建霞,孙延辉,周丽霞,等. 盐胁迫对早开堇菜生长及生理指标的影响[J]. 北方园艺,2011(23):15-17.
- [17] 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害[J]. 植物生理学通讯,1989(2):12-16.
- [18] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京:科学技术出版社,1993:221-235.
- [19] 孟繁昊,王聪,徐寿军,等. 盐胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2014(3):315-318.
- [20] 杨升,张华新,刘涛. 盐胁迫对三种不同耐盐类型植物生长和生理生化的影响[C]. 第十三届中国科协年会第 16 分会场-沿海生态建设与城乡人居环境学术研讨会论文集,2009(9):21.
- [21] 杨秀玲,郁继华,李雅佳,等. NaCl 胁迫对黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 甘肃农业大学学报,2004,39(1):6-9.
- [22] 刘玉冬,杨静慧,刘艳军,等. 文冠果和银合欢抗盐生理特性初探[J]. 安徽农业科学,2009,37(6):2378-2379.
- [23] SANTA-CRUZ A, ACOSTA M, RUS A, et al. Short-term salt tolerance mechanisms in differentially salt tolerant tomato species[J]. Plant Physiol. Biochem, 1999, 37(1):65-71.
- [24] LIU J, ZHU J K. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in salt-hypersensitive mutant of Arabidopsis[J]. Plant Physiol, 1997, 114(2):591-596.

Establishment of the System *in vitro* Culture and Comparison of Salt Tolerance in 4 Species of Wild Pear

WANG Defen, TAN Junchao, LI Dingli, YANG Yingjie, SONG Jiankun, WANG Ran

(Qingdao Municipal Key Laboratory of Horticultural Plant Genetic Improvement and Breeding, College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Using orthogonal design methods, the suitable medium used for bud proliferation of *Pyrus betulae folia*, *P. calleryana*, *P. pashia* and *P. ussuriensis* were screened and the salt tolerance were analysed and compared. The results showed that the suitable medium for the bud proliferation and growth of *P. betulae folia*, *P. calleryana*, *P. pashia* and *P. ussuriensis* were MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L, MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.1 mg/L, MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L, MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L, respectively. The salt injury index of plantlets treated with different concentration of NaCl and observed after four weeks revealed that the result as the following *P. pashia* > *P. calleryana* > *P. ussuriensis* > *P. betulae folia*. The activity of SOD, POD, CAT and the content of Pro showed all rising in 4 species of wild pear when the medium added lower concentration of NaCl, and there was a slowly change trend in *P. betulae folia*. In the change of the content of MDA, the concentration of *P. pashia* was the highest.

Keywords: pear; *in vitro* culture; salt stress