

# 秋子梨叶片高效再生体系的构建

王德芬, 张梅, 李鼎立, 王然, 马春晖, 宋健坤

(青岛农业大学 园艺学院, 山东 青岛 266109)

**摘要:**以秋子梨(*Pyrus ussuriensis* M.)叶片为外植体, NN69 为基本培养基, 研究了秋子梨组织培养高效再生体系。结果表明:噻隆(TDZ)对秋子梨叶片不定芽的诱导效果显著高于 6-苄基腺嘌呤(6-BA)和激动素(KT), 吲哚丁酸(IBA)和吲哚乙酸(IAA)的诱导效果显著高于萘乙酸(NAA)和 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)。其中, 适合秋子梨叶片不定芽再生的最佳培养基为 NN69+TDZ 3.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L, 再生率和再生芽数分别为 100.0%和 8.47 个; 适合秋子梨不定根诱导的最佳培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L, 生根率为 45.5%, 生根条数为 2.24 条。

**关键词:**山梨; 叶片; 组织培养; 再生

**中图分类号:**S 661.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)04-0097-05

秋子梨(*Pyrus ussuriensis* M.)是我国特有梨种质资源, 原产我国东北、西北和华北地区<sup>[1]</sup>, 分为栽培种和野生种 2 种。秋子梨野生种是梨属植物中最耐寒的砧木类型, 同时还兼具耐贫瘠的特性, 在我国北方地区应用较多, 但由于其繁殖过程中主要依靠种子, 后代参差不齐, 限制了其生产应用, 高效的组织培养技术是实现种苗一致性的有效方法之一<sup>[2-4]</sup>。国内对梨的组织培养研究主要集中在白梨和砂梨, 秋子梨报道较少<sup>[1,5-6]</sup>, 由于野生种之间基因型一致性较差, 组织培养体系重复性较差。课题组在砧木资源调查的基础上, 以秋子梨野生种质叶片为试材, 进行了其高效再生体系的构建。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

秋子梨由吉林省农业科学院馈赠, 嫁接保存于青岛农业大学现代农业科技示范园梨种质资源圃, 离体培养体系初代于 2010 年建立, 常规继代培养保存。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 芽的诱导与增殖** 取秋子梨试管苗中上部叶片, 去叶柄, 垂直叶中脉横切 3 刀, 以远轴面(叶背面)接触培

养基, 平铺接种到再生培养基上。基本培养基为 NN69, 并附加不同植物生长调节剂(表 1、2)诱导芽分化, 用于筛选最佳的生长调节剂配比, 每处理设 4 个重复, 每个重复接种 10 个叶片, 暗培养 14 d, 然后转移至光下培养, 14 d 时统计秋子梨叶片的脱分化率, 40 d 时统计秋子梨叶片再生率和再生芽数。

**1.2.2 根的再生** 将诱导出不定芽的叶片转接于 MS+6-苄基腺嘌呤(6-BA) 1.0 mg/L+吲哚丁酸(IBA) 0.1 mg/L 的生长培养基上进行继代培养(图 1), 培养 30 d 后将嫩梢切成 2 cm 茎段, 转入含有不同浓度 IBA(表 3)的生根培养基上, 每处理接种茎段 30 个, 40 d 后统计生根率和生根数。

**1.2.3 培养条件** 各处理蔗糖浓度为 30 mg/L, 琼脂糖浓度为 7 g/L, pH 5.8。培养温度(25±1)℃, 光照强度 4 800 lx, 光周期 16 h/d。

### 1.3 项目测定

再生率(%)=再生芽的外植体数/接种的外植体总数×100; 再生芽数(个)=外植体再生芽的个数/再生芽的外植体数; 生根率(%)=生根的茎段数/接种的茎段总数×100; 生根条数(条)=茎段生的总根数/生根的茎段数。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶片不定芽发生的过程

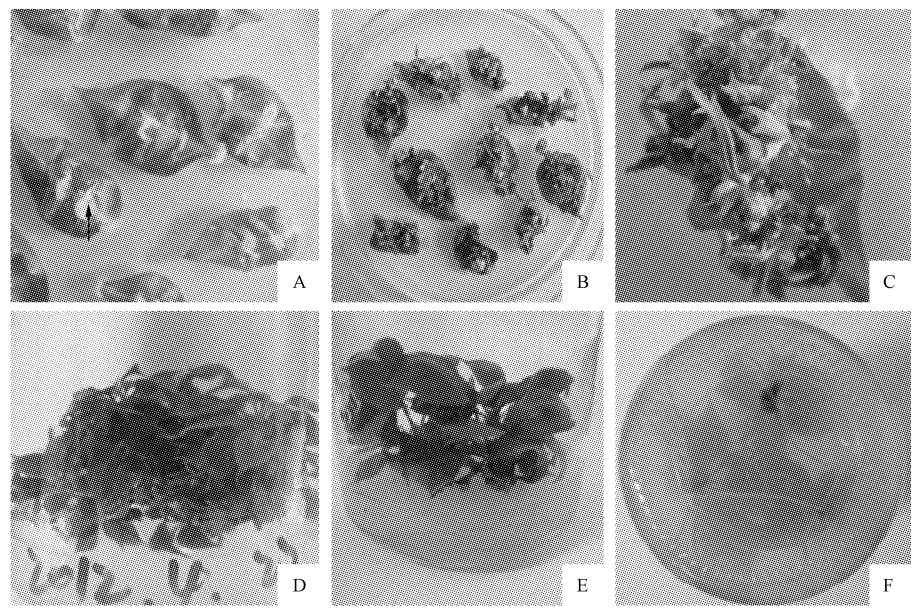
秋子梨叶片在培养基上暗培养约 4 d 后, 叶片开始隆起, 叶脉膨大, 切口处产生少量的乳白色愈伤组织; 暗培养约 7 d 后愈伤组织迅速膨大, 愈伤组织大量发生; 培养 10 d 后愈伤组织形成量逐渐减少, 在移至光培养前, 部分愈伤形成少量的芽点(图 1A); 培养约 20 d, 在叶片伤口处、叶片叶脉处分化出了丛生芽, 其中以叶片基部分化

**第一作者简介:**王德芬(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为果树逆境生理与分子生物学。E-mail: qauldl@163.com

**责任作者:**王然(1960-), 女, 博士, 教授, 研究方向为果树育种。E-mail: qauwr@126.com

**基金项目:**现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-29); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(BS2011NY007); 山东省良种工程资助项目(2014-2016); 山东省高等学校科技计划资助项目(J14LF05)。

**收稿日期:**2015-10-19



注:A,叶片外植体培养 14 d 形成的愈伤组织(有白色芽点);B,C,由愈伤组织再生的不定梢;D,不定梢继代培养形成的丛芽;E,秋子梨生根苗;F,由不定梢再生的不定根。

Note:A, formation of callus from leaves after 14 days cultured (with white bud points);B,C, regeneration of adventitious shoots from callus;D, proliferation of adventitious shoot in one subculture;E, root regeneration from adventitious shoots;F, root of *P. ussuriensis*.

图 1 秋子梨叶片组织培养再生

Fig. 1 Plant regeneration of leaves of *Pyrus suriensis*

的芽居多;30 d 左右不定芽大量形成(图 1B、C),随后产生不定芽的速度逐渐减缓,之后不定芽伸长生长形成嫩梢。

2.2 秋子梨叶片不定芽再生培养基的筛选

以 NN69 为基本培养基,优化了 TDZ 和 IBA 不同浓度对比对秋子梨不定芽再生的影响。由表 1 可知,不同浓度 TDZ 和 IBA 配比影响秋子梨叶片的再生数量和再生率,TDZ 可以有效促进不定芽诱导效率。综合 2 种激素浓度对秋子梨再生芽数和再生率的影响,发现当 TDZ 浓度为 3.0 mg/L、IBA 浓度为 0.3 mg/L 和 TDZ 浓度为 4.0 mg/L、IBA 浓度为 0.3 mg/L 时再生率和再生芽数最高,但研究同时发现,当 TDZ 浓度超过 3.0 mg/L 时,秋子梨再生芽玻璃化现象严重。因此,秋子梨叶片不定芽诱导最佳培养基为 NN69+TDZ 3.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L,再生率为 100.0%,再生芽数为 8.47 个。

2.3 细胞分裂素对秋子梨叶片不定芽再生的影响

不同细胞分裂素对秋子梨叶片不定芽再生影响明显,由表 2 可知,在 IBA 和 IAA 浓度一定的情况下 TDZ 的诱导效果显著高于 6-BA 和 KT,且随着 TDZ 浓度的增加,叶片不定芽的再生率和再生芽数量均得到提高,在其浓度为 3.0 mg/L 时达到最大,后逐渐平缓,但在 TDZ 浓度为 4.0 mg/L 时,不定芽玻璃化现象比较严重。研究发现,与 6-BA 诱导不定芽以单芽为主不同,TDZ 诱导多为丛生芽,更有利于外植体的增殖。

表 1 不同激素对比对秋子梨叶片再生的影响

Table 1 Effect of hormone combination on regeneration of *P. ussuriensis* leaves

编号 No.	噻苯隆 TDZ (mg · L <sup>-1</sup> )	吲哚丁酸 IBA (mg · L <sup>-1</sup> )	再生率 Regeneration frequency/ %	再生芽数 Number of regeneration buds per leaf/ 个
1	0.0	0.0	0.0iI	0.00gG
2	0.0	0.1	0.0iI	0.00gG
3	0.0	0.2	0.0iI	0.00gG
4	0.0	0.3	0.0iI	0.00gG
5	0.0	0.4	0.0iI	0.00gG
6	1.0	0.0	47.5fghFGH	1.43fgFG
7	1.0	0.1	80.0abcdABCD	3.81bcCDEF
8	1.0	0.2	80.0abcdABCD	3.92bcCDE
9	1.0	0.3	55.0efgDEFGH	2.88bcdeCDEF
10	1.0	0.4	40.0ghGH	2.66cdeCDEF
11	2.0	0.0	52.5efgEFGH	1.88defgDEFG
12	2.0	0.1	90.0abAB	4.57bcBC
13	2.0	0.2	100.0aA	7.68aA
14	2.0	0.3	9.6abA	4.14bcCD
15	2.0	0.4	95.0abA	6.73aAB
16	3.0	0.0	30.0hH	1.58efgEFG
17	3.0	0.1	67.5cdeBCDEF	4.30bcCd
18	3.0	0.2	92.5abAB	7.14aA
19	3.0	0.3	100.0aA	8.47aA
20	3.0	0.4	95.0abA	4.63bBC
21	4.0	0.0	62.5defCDEFG	3.35bcdeCDEF
22	4.0	0.1	77.5bcdABCDE	3.55bcdCDEF
23	4.0	0.2	85.0abcABC	7.21aA
24	4.0	0.3	100.0aA	8.50aA
25	4.0	0.4	100.0aA	8.10aA

注:同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05),不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。下同。

Note:Different lowercase letters in the same column show significant difference at 0.05 level;different capital letters show highly significant difference at 0.01 level. The same below.

表 2 不同细胞分裂素对秋子梨叶片再生的影响

Table 2 Effect of cytokinin on regeneration of *P. ussuriensis* leaves

编号 No.	噻苯隆 TDZ /(mg·L <sup>-1</sup> )	6-苄基腺嘌呤 6-BA /(mg·L <sup>-1</sup> )	激动素 KT /(mg·L <sup>-1</sup> )	吲哚丁酸 IBA /(mg·L <sup>-1</sup> )	吲哚乙酸 IAA /(mg·L <sup>-1</sup> )	再生率 Regeneration frequency/%	再生芽数 Number of regeneration buds per leaf/个
1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0eD	0.00gG
2	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG
3	1.0	0.0	0.0	0.3	0.0	55.0dC	2.88deDE
4	2.0	0.0	0.0	0.3	0.0	97.5abAB	4.14cdBCD
5	3.0	0.0	0.0	0.3	0.0	100.0aA	8.48aA
6	4.0	0.0	0.0	0.3	0.0	100.0aA	8.50aA
7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0eD	0.00gG
8	1.0	0.0	0.0	0.0	0.3	47.5dC	2.17efEF
9	2.0	0.0	0.0	0.0	0.3	77.5cB	3.75cdCDE
10	3.0	0.0	0.0	0.0	0.3	82.5bcAB	5.72bB
11	4.0	0.0	0.0	0.0	0.3	80.0cAB	4.70bcBC
12	0.0	1.0	0.0	0.3	0.0	2.5eD	0.25gFG
13	0.0	2.0	0.0	0.3	0.0	2.5eD	0.25gFG
14	0.0	3.0	0.0	0.3	0.0	0.5eD	0.50gFG
15	0.0	4.0	0.0	0.3	0.0	0.5eD	0.50gFG
16	0.0	5.0	0.0	0.3	0.0	15.0eD	0.94fgFG
17	0.0	6.0	0.0	0.3	0.0	7.5eD	0.75gFG
18	0.0	1.0	0.0	0.0	0.3	2.5eD	0.25gFG
19	0.0	2.0	0.0	0.0	0.3	2.5eD	0.25gFG
20	0.0	3.0	0.0	0.0	0.3	0.5eD	0.75gFG
21	0.0	4.0	0.0	0.0	0.3	2.5eD	0.50gFG
22	0.0	5.0	0.0	0.0	0.3	0.5eD	0.38gFG
23	0.0	6.0	0.0	0.0	0.3	0.5eD	0.38gFG
24	0.0	0.0	1.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG
25	0.0	0.0	2.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG
26	0.0	0.0	3.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG
27	0.0	0.0	4.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG
28	0.0	0.0	5.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG
29	0.0	0.0	6.0	0.3	0.0	0.0eD	0.00gG

2.4 生长素对秋子梨叶片不定芽再生的影响 IAA、IBA、NAA 和 2,4-D 对秋子梨叶片再生的影响。从表 3 可以看出,IBA 和 IAA 效果相差不大,IBA、IAA 的诱导效果显著高于 NAA,极显著高于 2,4-D。IBA、IAA 的影响效果不同,以 TDZ 3.0 mg/L 为不变因素评价了

表 3 不同生长素对秋子梨叶片再生的影响

Table 3 Effect of auxin on regeneration of *P. ussuriensis* leaves

编号 No.	噻苯隆 TDZ /(mg·L <sup>-1</sup> )	吲哚丁酸 IBA /(mg·L <sup>-1</sup> )	吲哚乙酸 IAA /(mg·L <sup>-1</sup> )	萘乙酸 NAA /(mg·L <sup>-1</sup> )	2,4-二氯苯氧乙酸 2,4-D/(mg·L <sup>-1</sup> )	再生率 Regeneration frequency/%	再生芽数 Number of regeneration buds per leaf/个
1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0gH	0.00gG
2	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30.0efFG	1.58efFG
3	3.0	0.1	0.0	0.0	0.0	67.5cdBCD	4.30dDE
4	3.0	0.2	0.0	0.0	0.0	92.5abAB	7.14bAB
5	3.0	0.3	0.0	0.0	0.0	10.0aA	8.48aA
6	3.0	0.4	0.0	0.0	0.0	95.0abAB	4.63cdCD
7	3.0	0.0	0.1	0.0	0.0	62.5cdCDE	2.66deEF
8	3.0	0.0	0.2	0.0	0.0	92.5abAB	6.05bBCD
9	3.0	0.0	0.3	0.0	0.0	8.25abcABC	5.72bcBCD
10	3.0	0.0	0.4	0.0	0.0	77.5bcABC	6.49bBC
11	3.0	0.0	0.0	0.1	0.0	35.0efFG	2.67deEF
12	3.0	0.0	0.0	0.2	0.0	47.5deDEF	2.08efF
13	3.0	0.0	0.0	0.3	0.0	37.5eEFG	2.37eF
14	3.0	0.0	0.0	0.4	0.0	15.0fgGH	0.83fgFG
15	3.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0gH	0.00gG
16	3.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0gH	0.00gG
17	3.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0gH	0.00gG
18	3.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0gH	0.00gG



诱导的不定芽以丛生芽为主, NAA 则以单芽为主, 2,4-D 则没有不定芽的产生。不同浓度的生长素类植物生长调节剂对秋子梨叶片再生影响效果也不同, 随着 IBA 浓度的增加叶片外植体再生率和再生芽数相应增加, 0.3 mg/L 时达到最高, 进一步提高 IBA 浓度至 0.4 mg/L, 叶片再生率和芽数与前一浓度无显著性差异, 生长素为 IAA 时也存在同样的情况。

表 4 培养基和植物生长调节剂对不定梢生根的效应

Table 4 Effect media and plant growth regulators on rooting of adventitious shoots from *P. ussuriensis*

培养基 Medium	吲哚丁酸 IBA/(mg · L <sup>-1</sup> )	生根率 Rate of rooting/%	生根条数 Regeneration roots per leaf/条
1/2MS	0.0	0.0bB	0.00bB
1/2MS	0.5	45.5aA	2.24aA
1/2MS	1.0	18.2bB	1.80aA

### 3 讨论与结论

组织培养再生受到基因型、外植体和培养基等因素的影响, 该研究以 NN69 为基本培养基进行了秋子梨组织培养再生研究, 发现适合秋子梨叶片再生的最佳培养基受到激素种类和浓度的限制, 其中 TDZ 对不定芽的诱导效果显著, 显著高于 6-BA 和 KT, 这可能与 TDZ 的活性有关, TDZ 是苯基脲类化合物中活性最强的, 其细胞分裂素活性比 BA、KT 等嘌呤类化合物高出许多倍<sup>[7-9]</sup>, 它能使难以进行组织培养的植物, 特别是木本植物的组织培养获得成功<sup>[10-11]</sup>。虽然杨芳等<sup>[5]</sup>在激素的选取上也使用了 TDZ 作为诱导芽的因子, 但是再生效果并不理想, 最高再生率仅为 17.5%, 该结果可能与激素配比相关, 有研究表明 IBA 比 NAA 更有效<sup>[12]</sup>, 该研究亦表明, 生长素 IBA、IAA 的诱导效果显著高于 NAA, 极显著高于 2,4-D, 推测 NAA 适合西洋梨的组织培养再生, 东方梨品种则以 IBA、IAA 为主<sup>[13]</sup>, 同时 2,4-D 对细胞有毒害作用<sup>[14-15]</sup>, 不适合在再生培养基中进行添加。除此以外, 梨的组织培养再生还受到基本培养基的种类、基因型和外植体的种类影响<sup>[1-4]</sup>。前人研究发现 NN69 较 MS 更适于叶片不定芽的诱导<sup>[16]</sup>, 该研究表明, 使用 NN69 诱导秋子梨叶片再生获得了更高的再生率, MS 培养基在秋子梨的组织培养再生中一般再生率较低<sup>[5,16]</sup>, 推测与基本培养基组成成分和浓度有关, NN69 同 MS 培养基的主要区别是 NN69 的无机盐成分较低, 约为 MS 的一半, 有机成分中添加了生物素和叶酸成分。

该研究发现适合秋子梨叶片不定芽再生的最佳培养基为 NN69+TDZ 3.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L, 再生率和再生芽数分别为 100.0% 和 8.47 个。适合秋子梨不定根诱导的最佳培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L, 生根率为 45.5%, 生根条数为 2.24 条。该研究的开展为梨属植物组织培养快繁和基因工程研究奠定了基础。

### 2.5 不定根的诱导与再生

以 1/2MS 为基本培养基, 优化了秋子梨不定芽根诱导培养基。从表 4 可以看出, 叶片再生不定芽并进行增殖培养后, 接种到生根培养基上 20 d 左右就开始产生不定根, 后数量逐渐增多, 在培养 30 d 左右产生不定根数量增长减缓, 后以增长和增粗生长为主(图 1E)。在 1/2MS 上, 当 IBA 浓度为 0.5 mg/L 时, 不定芽的生根率最高为 45.5%。

### 参考文献

- [1] 周佳红, 邢才华, 曹慧, 等. 秋子梨茎段薄层细胞培养再生初探[J]. 北方园艺, 2015(6): 95-98.
- [2] 汤绍虎, 李道高. 梨组织培养再生技术研究进展[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2002(24): 21-23.
- [3] 张虹. 梨树组织培养研究的进展[J]. 广西热带农业, 2004(5): 12-16.
- [4] 谭雪灰, 刘洪章. 梨组织培养与遗传转化研究进展[J]. 北方园艺, 2007(1): 147-149.
- [5] 杨芳, 王忆, 许雪峰, 等. 秋子梨叶片植株再生研究[J]. 中国果树, 2008(3): 13-16.
- [6] 郑亚杰, 张茂君, 姚寰宇, 等. 山梨组织培养及快繁技术研究[J]. 吉林农业科学, 2010, 35(1): 45-46.
- [7] THOMAS J C, KATTERMAN F R. Cytokinin activity induced by thidiazuron[J]. Plant Physiol, 1986, 81: 681-683.
- [8] KADOTA M, NIIMI Y. Effects of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in *in vitro* pear cultivar shoots[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2003, 72(3): 261-265.
- [9] 徐凌飞, 马锋旺, 王喆之, 等. 梨叶片离体培养和植株再生[J]. 园艺学报, 2002, 29(4): 367-368.
- [10] 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]. 植物学报, 1997(3): 48-54.
- [11] 周俊彦, 郭扶兴. 苯基脲衍生物的细胞分裂素活性[J]. 植物生理学通讯, 1990, 4(7): 13.
- [12] 孙清荣, 刘庆忠, 赵红军, 等. 影响梨叶片高频不定梢再生因素的研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 99-100.
- [13] 刘翠琼, 罗娅. 满园香梨叶片不定芽的诱导[J]. 果树学报, 2005(6): 706-708.
- [14] CHKANIKOV D I, PAVLOVA N N. Proteins responsible for 2,4-D detoxication in resistant plants[J]. Agrokimiya, 1996, 5: 115-119.
- [15] SANDAL I, KUMAR A, BHATTACHARYA A, et al. Gradual depletion of 2,4-D in the culture medium for indirect shoot regeneration from leaf explants of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze[J]. Plant Growth Regulation, 2005, 47(2-3): 121-127.
- [16] ABU-QAoud H A. *In vitro* separation of chimeral pears into their component genotypes[D]. Illinois: University of Illinois, 1989: 105.

## 山杏愈伤组织诱导及植株再生

何炎红, 吴高殷, 白玉娥, 田有亮, 金牧兰, 邹薇薇

(内蒙古农业大学 林学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

**摘要:**以山杏成熟胚和胚乳为外植体,以MS为基本培养基进行组织培养,研究了基于山杏经愈伤组织途径建立的再生植株技术。结果表明:以胚乳为外植体诱导愈伤组织的适宜培养基为MS+6-苄基腺嘌呤(6-BA) 1.0 mg/L+2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D) 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 3 g/L;愈伤组织的继代及分化培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+萘乙酸(NAA)0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 3 g/L;以成熟胚诱导愈伤组织和丛生芽增殖分化培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 3 g/L;生根培养基为1/2MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 3 g/L。

**关键词:**山杏;愈伤组织;植株再生

**中图分类号:**S 662.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)04-0101-06

山杏(*Armeniaca sibirica* (L.) Lam)主要分布于我国北方地区,是主要的经济树种和生态绿化树种,具有广泛应用和实际价值。山杏常用的繁殖方法是播种繁殖和嫁接繁殖,嫁接繁殖能够保持品种的优良特性,遗传性状稳定,但繁殖速度慢,严重阻碍优良品种的推广应用。播种繁殖需要层积等技术,种子处理时间长,要求高,且种子产量往往受到气候影响,限制了山杏播种

苗的培养。而植物组织培养技术,能够在较短时间内利用较少的材料,大量繁殖出具有统一优良性状的山杏苗木,不受地区、气候等影响,扩繁速度比常规方法近数万倍,已被广泛应用于多种植物<sup>[1]</sup>。但迄今为止,山杏组培苗在生产中尚未应用,对山杏组织培养的研究报道较少。王鸿<sup>[2]</sup>以山杏下胚轴、子叶、茎尖和无性系叶片作为外植体,研究不同外植体、外源植物生长调节剂、培养基类型、培养时间、接种方式等因素对增殖效率、愈伤组织诱导率、再生频率和试管苗生根的影响。刘小蕾<sup>[3]</sup>通过对山杏的茎尖、叶片和下胚轴的组织培养初步建立了山杏再生体系。现以山杏胚乳、成熟胚为外植体,经愈伤组织途径诱导丛生芽,建立再生植株,以期如山杏快速繁殖和种质资源保护等提供参考依据。

**第一作者简介:**何炎红(1979-),女,内蒙古呼和浩特人,博士,副教授,研究方向为森林培育。E-mail:hyh20012008@imau.edu.cn.

**责任作者:**白玉娥(1968-),女,教授,研究方向为林木遗传育种。E-mail:bye666@163.com.

**基金项目:**国家科技支撑资助项目(2013BAD14B02)。

**收稿日期:**2015-10-28

## Establishment of High Efficient Regeneration System of *Pyrus ussuriensis* Leaves

WANG Defen, ZHANG Mei, LI Dingli, WANG Ran, MA Chunhui, SONG Jiankun

(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

**Abstract:** In this study, an efficient regeneration system of leaves of *Pyrus ussuriensis* was established by using the NN69 basic culture medium. The results showed that introduction effect of TDZ was better than that of 6-BA and KT, introduction effect of IBA and IAA was better than NAA and 2,4-D, in adventitious bud regeneration. The optimal culture medium of shoot regeneration whose efficiency was 100.0% and the number of shoots per plant was 8.47, was NN69+TDZ 3.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L. The optimal of root induction was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L, and the efficiency of it was 45.5% and root number was 2.24 per shoot.

**Keywords:** *Pyrus ussuriensis*; leaves; tissue culture; regeneration