

# 河北杨和新疆杨离体叶片诱导不定芽研究\*

贾小明, 樊军锋, 王娟娟

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 对河北杨和新疆杨离体叶片诱导不定芽的方法进行了研究。结果表明, 适合河北杨和新疆杨离体叶片不定芽诱导的最适培养基为:  $1/2MS + 0.25\text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.01\text{ mg/L } TDZ + 0.25\text{ mg/L } IAA$ ; 在此培养基中, 叶片分化率河北杨可达70%, 新疆杨可达52%; 平均分化芽数河北杨为6.84个, 新疆杨为5.32个。6-BA单独使用对叶片不定芽诱导没有效果, NAA作用不明显。叶片刻伤方式对两种杨树叶片诱导不定芽影响显著, 沿中脉横切效果优于去除叶边缘, 诱导的不定芽数前者比后者约多3个。光照显著影响叶片不定芽产生的时间, 不定芽在3~5 d暗培养后转至16 h/d光照下培养比全程16 h/d光培养发生早15 d左右; 光照对分化率和平均分化芽数无显著影响。

[关键词] 河北杨; 新疆杨; 叶片再生; 组织培养

[中图分类号] S722.3<sup>+</sup>7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)12-0110-05

河北杨(*Populus hopeiensis* Hu et Chow)和新疆杨(*Populus alba* L. var. *pyramidalis*)是我国西北地区广泛栽植的优良树种, 其根系发达, 生长较快, 萌芽性强, 耐寒、耐旱、耐风沙、耐瘠薄, 是西北黄土丘陵、沟坡及沙滩地的重要水土保持和造林树种<sup>[1]</sup>。我国西北地区杨树虫害严重, 且有大量不适合杨树生长的盐碱地, 对杨树进行树种改良迫在眉睫。林木世代周期长, 采用常规育种技术难以在短时间内选育出抗逆新品种, 基因工程技术为林木的遗传改良提供了新途径。与草本植物相比, 林木基因工程进展较为缓慢, 但作为林木分子生物学研究模式植物的杨树, 其基因工程研究发展迅速, 在抗性生物工程方面取得了巨大成就<sup>[2-7]</sup>。到目前为止, 林木转基因研究已在毛白杨、84k、欧美杨、美洲黑杨×青杨等树种中获得成功, 有的已在林业生产中发挥了巨大作用<sup>[2-7]</sup>。

植物基因工程是通过组织培养过程来实现的, 转基因多数采用Horsch发明的农杆菌介导的叶盘转化法, 即叶片创伤经浸染后再生<sup>[4, 7-8]</sup>。因此, 建立高效的离体再生系统成为植物基因遗传转化研究的关键和前提。基因工程之所以在木本植物中受到限制, 与多数树种组织培养再生困难有关。杨树离体再生相对容易, 但也因树种而异。有关杨树组织培养方法的报道<sup>[7, 9-14]</sup>, 对培养腋芽及经愈伤组织再生的研

究居多, 而适合基因转化的再生方式——外植体直接再生不定芽较少。已报道的外植体直接再生不定芽的杨树品种有毛白杨、84k、欧美杨、美洲黑杨、美洲黑杨×青杨和新疆杨等。河北杨只有培养腋芽的报道<sup>[9-10]</sup>, 通过该途径不能进行基因转化。诸葛强等<sup>[11]</sup>于2003年研究了新疆杨叶片离体再生, 通过 $1/2MS + 0.25\text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.005\text{ mg/L } TDZ + 0.5\text{ mg/L } IAA$ 培养基组合, 使新疆杨叶片不定芽分化频率达100%, 平均分化芽数6.18个。作者在利用该培养基进行新疆杨基因转化时发现, 叶片愈伤硬化, 部分丧失分化能力, 不定芽畸形, 有大量根状毛产生。为此, 本研究对河北杨、新疆杨离体叶片不定芽的诱导方法进行了研究, 以期寻找一种能同时适合两种杨树叶片再生的培养方法, 为两树种遗传转化奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

河北杨和新疆杨枝条采自西北农林科技大学林学院渭河试验站杨树基因库。于2004-11温室水培休眠的枝条, 用萌发的嫩枝建立无菌苗体系, 带腋芽的茎段于含分裂素与生长素的 $1/2MS$ 培养基上继代。本研究取继代12次的两种杨树试管苗叶片进行试验。

试验所用生长素有: 萘乙酸(NAA), 吲哚乙酸

\* [收稿日期] 2005-12-05

[基金项目] 国家“863”高技术研究与与发展计划转基因专项(JY03-B-26-02); 西北农林科技大学专项(05ZR051); 国家林业局黄土高原林木培育实验室开放研究课题

[作者简介] 贾小明(1973-), 男, 甘肃泾川人, 讲师, 硕士, 主要从事林木生物技术育种研究。

[通讯作者] 樊军锋(1963-), 男, 陕西扶风人, 副研究员, 博士, 主要从事杨树育种研究。

(IAA)。细胞分裂素有: 苄氨基嘌呤(6-BA), 激动素(KT), 玉米素(ZT), 塞苯隆(TDZ)。以上试剂均由上海生化公司生产。

## 1.2 方法

从已生根、生长健壮的试管苗上取叶色深绿、平展、叶尖无黄化、状态一致的叶片, 用手术刀刻伤, 接种于诱导培养基上, 叶面接触培养基。

1.2.1 培养基筛选 基本培养基为1/2 MS培养基, 内含蔗糖25 g, 琼脂5 g, pH为5.8。基本培养基附加0.1 mg/L IAA分别与0.5, 1.0, 2.0 mg/L的6-BA, ZT和KT, 以及0.005, 0.010, 0.015 mg/L的TDZ组成12种芽诱导培养基, 用于筛选细胞分裂素。基本培养基附加0.1 mg/L IAA及0.01 mg/L TDZ, 分别与0.10, 0.25, 0.50 mg/L 6-BA组成3种培养基, 用于筛选细胞分裂素组合。基本培养基附加0.01 mg/L TDZ及0.25 mg/L 6-BA, 分别与0.10, 0.25, 0.50 mg/L NAA或IAA配合, 组成6种培养基, 用于筛选生长素。由于杨树叶片再生常用的植物激素是价格便宜的6-BA与NAA或IAA组合, 因此另设计1/2 MS+6-BA(浓度分别为0.5, 1.0, 2.0 mg/L)+NAA(浓度分别为0.01, 0.1, 0.5 mg/L)及1/2 MS+6-BA(浓度分别为0.5, 1.0, 2.0 mg/L)+IAA(浓度分别为0.01, 0.1, 0.5 mg/L)共18种培养基, 研究常用激素在两树种叶片不定芽诱导中的效果。

1.2.2 叶片刻伤方式选择 设2种方式: 一是沿中脉横切叶面2/3宽度, 叶边缘不切断, 不带叶柄; 另一种是剪去叶边缘, 视叶片大小剪成0.5~0.7 cm<sup>2</sup>的叶盘。在激素筛选试验中, 均采用第1种刻伤方式。

1.2.3 培养条件选择 光照分全程16 h光培养和先暗培养3~5 d后再16 h光培养2种。光照强度2 000 lx, 培养温度(25±2)。

1.2.4 调查指标 叶片接种45 d后, 调查统计叶片分化率和平均分化不定芽数。

叶片分化率/% = (分化不定芽的叶片数/接种叶片数) × 100%;

平均分化不定芽数 = 不定芽总数/分化不定芽的叶片数。

## 2 结果与分析

### 2.1 细胞分裂素对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导效果的影响

#### 2.1.1 6-BA对叶片不定芽诱导效果的影响 单独

使用6-BA对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导均没有效果。在1/2 MS+6-BA(0.5~2.0 mg/L)+NAA(0.01~0.50 mg/L), 以及1/2 MS+6-BA(0.5~2.0 mg/L)+IAA(0.01~0.50 mg/L)的所有组合中, 新疆杨没有一个叶片再生不定芽, 河北杨只有零星叶片从叶柄处产生了不定芽。新疆杨叶片在20 d左右能形成疏松的愈伤组织, 呈黄绿色, 40 d左右几乎整个叶片愈伤化。随着培养时间的延长愈伤组织上类似于芽点的地方变黑, 少数变成红色, 始终没有不定芽和根产生。河北杨叶片愈伤化相对较轻。

#### 2.1.2 ZT和KT对叶片不定芽诱导效果的影响

在0.1 mg/L IAA浓度下, 单独使用ZT或KT作为分裂素, 对两种杨树叶片不定芽诱导没有效果, 而且随着分裂素浓度的增加, 叶片愈伤组织化、白化加重。在0.5 mg/L ZT浓度下, 叶片在20 d左右就能形成点状突起的愈伤组织, 随着培养时间的延长, 愈伤组织变黑变红, 并且出现玻璃化趋势, 丧失分化能力。使用KT的叶片, 整个叶片皱缩呈蜂窝状, 愈伤化严重, 但愈伤组织不明显, 而且KT对叶片具有较强的杀伤作用, 随着培养时间的延长, 叶片白化死亡较严重。

2.1.3 TDZ对叶片不定芽诱导效果的影响 新型细胞分裂素类物质TDZ对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导作用明显, 结果见表1。

表1表明, 0.005~0.015 mg/L的TDZ均能诱导两种杨树叶片产生不定芽, 只是在诱导效果和不定芽质量上存在差异。

当TDZ浓度为0.005 mg/L时, 两种杨树叶片分化率和平均分化芽数均最低, 虽然河北杨平均分化芽数与TDZ浓度为0.010 mg/L时相差不多, 但分化率只有30%, 而且此浓度下叶片有少量根状毛产生。TDZ浓度为0.010 mg/L时, 两种杨树的叶片分化率和平均分化芽数均最高, 其中河北杨分化率达到56%, 新疆杨达到40%; 河北杨平均分化芽数为5.12个, 新疆杨为3.2个; 且在此浓度下诱导的不定芽生长正常, 叶片愈伤化较轻。当TDZ浓度超过0.010 mg/L时, 两种杨树叶片分化率和平均诱导芽数均有不同程度下降, 在TDZ浓度为0.015 mg/L时, 整个叶片愈伤化, 且不定芽出现畸形、玻璃化趋势。综合分析认为, 在河北杨、新疆杨叶片再生中, TDZ浓度以0.010 mg/L为宜。

表1 TDZ对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导的影响

Table 1 Effects of TDZ on adventitious buds induced from leaf explants of *P. hopeiensis* Hu et Chow and *P. alba* L. var. *pyramidalis*

| TDZ/<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | 接种叶片数<br>No. of<br>inoculated<br>leaves | 分化叶片数<br>No. of differentiated leaves     |  | 分化率/%<br>Differentiated frequency         |  | 平均不定芽数<br>Average No. of<br>adventitious buds |  | 备注 Notes  |
|-------------------------------|---|---|--|---|--|---|--|---|
|                               |   | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i><br>L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i><br>L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow     | 新疆杨<br><i>P. alba</i><br>L. var.<br><i>pyramidalis</i> |   |
|                               |   | 0.005                                     | 50   | 15  | 12   | 30  | 24   |   |
| 0.010                         | 50                                      | 28  | 20   | 56  | 40   | 5.12  | 3.2  | 不定芽正常, 叶片愈伤组织化较轻, 无根状毛产生。Normal buds, little parts of leaves became callus, no root-like hair occurred. |
| 0.015                         | 50                                      | 24  | 18   | 48  | 36   | 4.0   | 3.1  | 不定芽出现畸形, 玻璃化趋势, 叶片愈伤组织化严重。Buds are abnormal and vitreous, much parts of leaves became callus.           |

2.1.4 TDZ与6-BA配合使用对叶片不定芽诱导效果的影响 在本试验中, 6-BA单独使用没有效果, TDZ单独使用虽然具有一定效果, 但分化率较低, 大都在50%以内。6-BA与TDZ配合使用对两种杨树叶片分化的影响试验结果见表2。表2表明, 在含有0.1 mg/L IAA和0.01 mg/L TDZ的培养基中添加一定浓度的6-BA, 对两种杨树叶片不定芽诱导均有促进作用, 而且在一定浓度范围内, 随6-BA浓度的增高, 分化率呈上升趋势, 但平均分化芽数却呈现先增多后减少的趋势。在6-BA浓度为0.25 mg/L

时, 两种杨树叶片平均分化芽数最多, 河北杨达6.02个, 新疆杨达4.5个。虽然两树种在6-BA浓度为0.50 mg/L时叶片分化率最高, 但平均分化芽数却最低, 河北杨为3.2个, 新疆杨只有1.4个, 而且形成的不定芽几乎全部畸形, 表现为节间缩短, 叶形不正常, 长条状, 黄化。因此, 两种杨树叶片不定芽诱导细胞分裂素选用0.25 mg/L 6-BA+0.01 mg/L TDZ, 与单独使用TDZ相比, 河北杨的叶片分化率增加了14.82%, 新疆杨增加了25%; 河北杨平均分化芽数增加了0.9个, 新疆杨增加了1.3个。

表2 6-BA与TDZ配合使用对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导的影响

Table 2 Coordination effects of TDZ and 6-BA on adventitious buds induced from leaf explants of *P. hopeiensis* Hu et Chow and *P. alba* L. var. *pyramidalis*

| 6-BA/<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | 接种叶片数<br>No. of<br>inoculated<br>leaves | 分化叶片数<br>No. of differentiated leaves     |   | 分化率/%<br>Differentiated frequency         |   | 平均不定芽数<br>Average No. of adventitious buds |   |
|--------------------------------|---|---|---|---|---|--|---|
|                                |   | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i> L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i> L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow  | 新疆杨<br><i>P. alba</i> L. var.<br><i>pyramidalis</i> |
|                                |   | 0.00                                      | 50  | 28  | 20  | 56   | 40  |
| 0.10                           | 50                                      | 30  | 23  | 60  | 46  | 5.42                                       | 3.6   |
| 0.25                           | 50                                      | 32  | 25  | 64  | 50  | 6.02                                       | 4.5   |
| 0.50                           | 50                                      | 35  | 28  | 70  | 56  | 3.20                                       | 1.4   |

## 2.2 生长素对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导效果的影响

表3表明, NAA不适合两种杨树叶片不定芽诱导, 虽然河北杨叶片能产生不定芽, 但分化率较低, 在45%以内, 尤其平均不定芽数很少, 最高只有1.8个。新疆杨叶片只在NAA浓度为0.10 mg/L时叶片分化, 但分化率也只有4%, 其他浓度下叶片均无分化。相比而言, IAA对两树种叶片诱导不定芽效果明显, 在浓度为0.10~0.50 mg/L时均有不定

芽产生, 其中以0.25 mg/L浓度下分化率和平均分化芽数为最高, 河北杨叶片分化率为70%, 新疆杨为52%; 河北杨平均分化芽数为6.84个, 新疆杨为5.32个。IAA浓度过高时, 诱导率反而下降, 并有大量根状毛产生。

经过综合筛选后认为, 适合河北杨和新疆杨叶片诱导不定芽的培养基为: 1/2 MS+0.25 mg/L 6-BA+0.01 mg/L TDZ+0.25 mg/L IAA。

表 3 生长素对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导的影响

Table 3 Effects of Auxin on adventitious buds induced from leaf explant of

*P. hopeiensis* Hu et Chow and *P. alba* L. var. *pyramidalis*

| 生长素/<br>(mg · L <sup>-1</sup> )<br>Auxin |      | 接种叶片数<br>No. of inoculated leaves | 分化叶片数<br>No. of differentiated leaves     |  | 分化率/%<br>Differentiated frequency         |  | 平均不定芽数<br>Average No. of adventitious buds |  | 备注 Notes  |
|--|------|-----------------------------------|---|--|---|--|--|--|---|
| NAA                                      | AA   |                                   | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i><br>L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i><br>L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow  | 新疆杨<br><i>P. alba</i><br>L. var.<br><i>pyramidalis</i> |   |
|  | 0.10 | 50                                | 31  | 23   | 62  | 46   | 5.89                                       | 4.0  | 芽正常 Normal buds   |
|  | 0.25 | 50                                | 35  | 26   | 70  | 52   | 6.84                                       | 5.32   | 芽正常 Normal buds   |
|  | 0.50 | 50                                | 24  | 17   | 48  | 34   | 4.2  | 2.9  | 芽正常, 大量根状毛产生 Normal buds, much root-like hair occurred  |
| 0.10                                     |      | 50                                | 22  | 2  | 44  | 4  | 1.8  | 3.0  | 芽正常 Normal buds   |
| 0.25                                     |      | 50                                | 18  | 0  | 36  | 0  | 0.91                                       | 0  | 河北杨芽正常, 有根状毛出现, 新疆杨叶片整个愈伤化 Normal buds of <i>P. hopeiensis</i> and few some root-like hair occurred, leaves of <i>P. alba</i> var. <i>became callus</i> |
| 0.50                                     |      | 50                                | 21  | 0  | 42  | 0  | 0.72                                       | 0  | 河北杨芽正常, 2 树种叶片均产生大量根状毛 Normal buds of <i>P. hopeiensis</i> , much root-like hair appeared on leaves of both two Poplar occurred                         |

2.3 叶片刻伤方式对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导效果的影响 用试验筛选的培养基进行试验, 结果见表 4。

表 4 叶片刻伤方式对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导的影响

Table 4 Effects of leaf cutting methods on adventitious buds induced from leaf explants of

*P. hopeiensis* Hu et Chow and *P. alba* L. var. *pyramidalis*

| 刻伤方式<br>Cutting methods                   | 接种叶片数<br>No. of inoculated leaves | 分化叶片数<br>No. of differentiated leaves     |   | 分化率/%<br>Differentiated frequency         |   | 平均不定芽数<br>Average No. of adventitious buds |   |
|---|-----------------------------------|---|---|---|---|--|---|
|   |                                   | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i> L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow | 新疆杨<br><i>P. alba</i> L. var.<br><i>pyramidalis</i> | 河北杨<br><i>P. hopeiensis</i><br>Hu et Chow  | 新疆杨<br><i>P. alba</i> L. var.<br><i>pyramidalis</i> |
| 剪去叶边缘<br>Cutting the leaf edge            | 50                                | 37  | 23  | 74  | 46  | 3.14                                       | 2.23  |
| 沿中脉横切<br>Cutting the leaf vein vertically | 50                                | 35  | 26  | 70  | 52  | 6.84                                       | 5.32  |

表 4 表明, 叶片刻伤方式对两树种不定芽诱导的影响极其明显, 虽然 2 种刻伤方式对两树种叶片分化率影响不大, 但不定芽数量差别较大, 沿中脉横切方式的不定芽数明显多于剪去叶边缘的处理, 河北杨前者不定芽比后者平均多 3.7 个, 新疆杨多 3.09 个。在试验中还发现, 多数不定芽都产生于叶脉断口处, 以中脉断口处最多, 尤其是叶柄处, 而且几乎所有不定芽都产生于叶片后半部。去除叶边缘的处理由于几乎不伤及中脉, 再加上剪去了大部分叶片基部, 致使不定芽数量下降。在沿中脉横切时, 刻伤不宜过密, 4 mm 的距离较适合, 距离较近时, 叶片容易脱色坏死。

2.4 光照对河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导效果的影响

试验结果表明, 光照主要影响两树种叶片不定

芽出现的时间, 对分化率和平均分化芽数没有影响。3~5 d 暗培养后转至 16 h 光照培养比全程 16 h 光培养的愈伤组织及不定芽出现早, 前者出现时间为 40 d 左右, 后者出现时间为 55 d 左右。

3 讨论

在杨树叶片再生的报道中, 细胞分裂素多使用 6-BA, 效果较好<sup>[2, 5-6, 11-14]</sup>, 但本研究中单独使用 6-BA 对两树种叶片再生没有效果, 这与他人的研究结果不符。分析其原因, 可能与试管苗的继代方式与次数, 以及培养过程中激素积累有关。诸葛强<sup>[11]</sup>以根部萌蘖的方式继代, 继代次数少, 试管苗相对年轻, 叶片再生容易, 而本试验以腋芽萌发的方式继代, 继代次数多, 每次继代都添加 6-BA, 可能使 6-BA 在试管苗中积累较多, 而高浓度的分裂素会抑

制细胞分裂。本研究单独使用ZT或KT对两树种叶片再生没有效果,这与诸葛强等<sup>[11]</sup>对新疆杨的研究结果类似,但与陈维纶等<sup>[13]</sup>对山新杨、郝贵霞等<sup>[15]</sup>对毛白杨的研究结果不一致,这可能与ZT具有较强的树种特异性有关。

TDZ(Thidiazuron)是一种新型的具有细胞分裂素活性的物质,是一种苯基脲衍生物,商品名为塞苯隆。在所有细胞分裂素类物质当中,TDZ的作用最强,往往最小的用量就能起到十分明显的效果<sup>[16]</sup>。但由于价格昂贵,使其广泛应用受到限制。TDZ可能具有促进植物体内非结合态IAA保持在高水平的功能等<sup>[17]</sup>。本研究中分裂素使用TDZ,并将TDZ与6-BA配合使用,在河北杨和新疆杨叶片再生中均获得良好效果。关于多种细胞分裂素配合使用较单独使用效果好的报道已经很多,陈维纶等<sup>[18]</sup>在毛白杨叶片的组织培养中,诸葛强等<sup>[11]</sup>在新疆杨的研究中均发现此种现象。王关林等<sup>[16]</sup>认为,出现这种现象的原因可能与不同细胞分裂素的作用机理差异有关,联合使用可以实现生物学效应的互补,从而产生更好的促分化效果。

杨树离体叶片再生中生长素多采用NAA<sup>[2,5-6,11-14]</sup>,但本研究发现,NAA对河北杨和新疆杨叶片诱导不定芽作用不明显。NAA是人工合成的一种生长素,它在植物体内的作用是作为一种

生长素合成的前体,靠植物体细胞自身的转化酶系统转化成相关的生长素而发挥生物学效应的,所以,NAA具有一定的特异性,即仅对具有NAA转化酶的植物起作用<sup>[19]</sup>,本研究结果可能与此有关。但在试管苗的生根试验中发现,NAA对两树种不定芽的生根诱导效果良好。这说明不同树种,在不同形态建成中需要不同种类及结构的生长调节物质,而且其机理是复杂多样的。

本研究还发现,在河北杨和新疆杨叶片不定芽诱导中,叶片质量很关键,质地厚、叶色深、平展的叶片不定芽分化率明显高于质地较薄、浅绿、皱缩的叶片,而且后者随着培养时间的延长会逐渐褪绿坏死,其褪绿部位往往首先发生在最易产生不定芽的叶脉刻伤处,然后逐渐蔓延。培养高质量叶片可以通过壮苗培养来实现,此外,在试管苗生根阶段应注意培养容器的透光、透气性。多数卷曲、浅绿、纤弱的叶片都是在封闭、透光性差的容器中产生的。

在本试验条件下,河北杨的组培性能要强于新疆杨,但与已报道的其他白杨派树种相比,两树种的叶片不定芽诱导率均较低,尤其平均分化芽数没有超过7个。因此,研究其他因素,如无菌苗继代次数、叶片状态、激素积累等对2种杨树离体叶片不定芽诱导的影响,进一步提高两树种的叶片再生率应该是今后工作的重点。

### [参考文献]

- [1] 赵天锡,陈章水.中国杨树集约栽培[M].北京:中国科学技术出版社,1994
- [2] 郝贵霞,朱 桢,朱之悌.豆豉蛋白酶抑制剂基因转化毛白杨的研究[J].植物学报,1999,41(12):1276-1282
- [3] 林善枝,肖基洪,张志毅.杨树抗性基因工程研究进展[J].北京林业大学学报,2000,22(6):85-88
- [4] 苏晓华,张冰玉,黄烈健,等.转基因林木研究进展[J].林业科学研究,2003,16(1):95-103
- [5] 陈 颖,韩一凡,李 玲,等.苏云金杆菌杀虫晶体蛋白基因转化美洲黑杨的研究[J].林业科学,1995,31(2):97-103
- [6] 樊军锋,李 玲,韩一凡,等.84K杨树耐盐基因转化研究[J].西北林学院学报,2002,17(4):33-37
- [7] 赵华燕,卢善发,晁瑞堂.杨树的组织培养及基因工程的研究[J].植物学通报,2001,18(2):169-176
- [8] 王关林,方宏筠.植物基因工程[M].2版.北京:科学出版社,2002
- [9] 范小峰,李师翁,张民权.河北杨组织培养快繁技术研究[J].中国水土保持,2001(3):17-18
- [10] 曹攸文,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].修订版.兰州:甘肃科学技术出版社,1999
- [11] 诸葛强,王婕琛,黄敏仁,等.新疆杨植株再生体系的建立[J].南京林业大学学报:自然科学版,2003,27(6):1-4
- [12] 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
- [13] 陈维纶,郭东红,杨善英,等.山新杨叶外植体的器官分化以及生长调节物质对它的影响[J].植物学报,1980,22(4):311-315
- [14] 孙宇正,高秀华,赵彦修,等.欧美杨107杨组织培养再生系统的建立[J].山东师范大学学报,2004,19(2):85-87
- [15] 郝贵霞,朱 桢,朱之悌.毛白杨遗传转化系统优化的研究[J].植物学报,1999,41(9):363-394
- [16] 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
- [17] 徐华松,徐力龙,黄学林.TDZ在植物组织培养中的作用[J].广西植物,1996,16(1):77-80
- [18] 陈维纶,杨善英,郭东红,等.一种以黄化法为基础提高毛白杨快速繁殖效率的新分化方法[J].植物学报,1991,33(1):14-18
- [19] 任永波,任迎虹.植物生理生化[M].成都:四川科技出版社,2001.

(下转第120页)

of cone and trunk shape were analyzed with the methods of principal component analysis (PCA), cluster analysis of genetic distance, index selection and comparison of integrated characteristics of breeding value based on ranking (CICR) selection of the superior families through comparison of the methods mentioned above. The results of study show that the PCA can evaluate genetic characteristics of families of *P. tabulaeformis*, and offer the opportunity to select the superior families; the cluster analysis can group the family materials into different categories according to their own principal component values, and then the similar families are clustered together. The correlated groups will be selected according to the breeding goal; The CICR can reflect the differences of genetic essentials among families and it is a much simpler and direct method; the index selection method is a relatively ideal method to evaluate superior families with multi-characteristics, because the selection efficiency is better than that of other methods. The synthetic representation of families can be evaluated and the superior families be selected accurately when the four methods are applied together.

**Key words:** *Pinus tabulaeformis* Carr.; progeny test; multi-characteristic selection; selection method; selection index

(上接第114页)

**Abstract ID:** 1671-9387(2006)12-0110-EA

## Studies on adventitious buds induction *in vitro* leaf of *Populus hopeiensis* Hu et Chow and *Populus alba* L. var. *pyramidalis*

JIA Xiao-ming, FAN Jun-feng, WANG Juan-juan

(College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Studies on adventitious buds induction *in vitro* leaf of *Populus hopeiensis* Hu et Chow and *P. alba* L. var. *pyramidalis* were carried out. The systematic experiment showed that  $1/2 MS + 0.25 \text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.01 \text{ mg/L TDZ} + 0.25 \text{ mg/L IAA}$  was the optimal system to induce adventitious buds of *Populus hopeiensis* Hu et Chow and *P. alba* L. var. *pyramidalis* *in vitro* leaves. In this medium, 70% leaves of *P. hopeiensis* Hu et Chow and 50% leaves of *P. alba* L. var. *pyramidalis* produced adventitious buds and the average numbers of each were 6.48 and 5.32 respectively. The study also showed that only 6-BA had no influence on the induction of adventitious buds. NAA had a little effect on the formation of adventitious buds. The means of cutting leaves had remarkable effect on the formation of adventitious buds, and the numbers of adventitious buds describing the leaves' middle ventions were three times more than disposing the leaves' edge. Illumination would influence the time of leaves to induce adventitious buds but had no effect on the differentiation rate and average numbers of the adventitious buds. The adventitious buds were induced 15 days earlier with 3-5 days' dark culture and then 16 hours' illumination per day than with 16 hours' illumination per day.

**Key words:** *Populus hopeiensis* Hu et Chow; *P. alba* L. var. *pyramidalis*; leaf regeneration; tissue culture