

研究报告

Research Report

‘津香蜜’和‘巴梨’组织培养快速繁殖

苗冉冉 乔月莲 吴沅洙 王莉 师校欣* 杜国强*

河北农业大学园艺学院, 保定, 071000

* 通信作者, shixx@hebau.edu.cn; gdu@hebau.edu.cn

摘要 为建立‘津香蜜’和‘巴梨’组培快繁体系,本试验筛选了两个品种适宜的增殖培养基,研究了生根培养基激素配比、暗培养及两步生根法对组培苗生根的影响。结果表明,‘津香蜜’适宜的继代增殖培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA,增殖系数为5.73,生根培养基为1/2 MS+1.0 mg/L IAA+3.0 mg/L IBA,生根率70.3%;‘巴梨’适宜的继代增殖培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA,增殖系数为3.83,生根培养基为1/2 MS+1.0 mg/L IAA+1.0 mg/L IBA,生根率56.7%。暗培养对两个品种不定根诱导作用不显著,两步生根法可有效促进‘巴梨’组培苗生根,在4.0 mg/L IBA的培养基上培养5 d后转入无激素培养基培养,生根率可达96.7%;‘津香蜜’和‘巴梨’温室移栽的成活率分别为49.1%和60.0%。本研究建立梨属植物组培快繁体系,为开展遗传转化等研究提供理论依据,利于优良品种的选育与推广。

关键词 津香蜜, 巴梨, 继代增殖, 两步生根法

Rapid Propagation of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' Pear by Tissue Culture

Miao Ranran Qiao Yuelian Wu Yuanzhu Wang Li Shi Xiaoxin* Du Guoqiang*

College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding, 071000

* Corresponding authors, shixx@hebau.edu.cn; gdu@hebau.edu.cn

DOI: 10.13271/j.mpb.017.002297

Abstract In order to establish the rapid propagation system of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' pear, the optimal media for the plantlets proliferation of the two varieties were selected, and the effects of hormone ratio of rooting medium, dark culture and two-step-rooting method on rooting of tissue culture seedlings were studied. The results showed that the suitable subculture medium for proliferation of 'Jinxiangmi' *in vitro* was MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, with a proliferation rate of 5.73. The rooting medium was 1/2 MS+1.0 mg/L IAA+3.0 mg/L IBA, with a rooting rate of 70.3%. The suitable subculture medium for proliferation of Bartlett *in vitro* was MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA, with a proliferation rate of 3.83. The rooting medium was 1/2 MS+1.0 mg/L IAA+1.0 mg/L IBA, with a rooting rate of 56.7%. Dark culture had no significant effect on adventitious roots induction of two cultivars. Two-step-rooting method could effectively promote the rooting of Bartlett plantlets. After culture for 5 d on 4 mg/L IBA medium, it was transferred to steroid free medium and the rooting rate reached 96.7%. The survival rates for 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' of transplanting in the greenhouse were 49.1% and 60.0%, respectively. This study established tissue culture and rapid propagation system of *Pyrus*, which could provide theoretical basis for genetic transformation and other research, and could be conducive to the breeding and promotion of fine varieties.

Keywords Jinxiangmi, Bartlett, Subculture proliferation, Two-step-rooting

基金项目 本研究由河北省自然科学基金项目(C2018204055)和河北省现代农业产业技术体系(HBCT2018100204)共同资助

引用格式 Miao R.R., Qiao Y.L., Wu Y.Z., Wang L., Shi X.X., and Du G.Q., 2019, Rapid propagation of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' pear by tissue culture, *Fenzi Zhiwu Yuzhong* (Molecular Plant Breeding), 17(7): 2297-2302 (苗冉冉, 乔月莲, 吴沅洙, 王莉, 师校欣, 杜国强, 2019, ‘津香蜜’和‘巴梨’组织培养快速繁殖, 分子植物育种, 17(7): 2297-2302)

随着生物技术的不断发展,植物组织培养技术已广泛应用于植物的快速繁殖、品种改良、基因工程育种和种质资源保存等方面(肖哲丽和柳金凤, 2011)。通过组织培养技术建立植物快速繁殖体系,可以高效获得大量优质种苗,有助于优良品种的推广与利用。梨传统的繁殖方式是通过嫁接进行无性繁殖,繁殖效率低,植株易积累病毒,且梨的遗传杂合程度高、童期长,育种费时、费力(Yousefiara et al., 2014),而组织培养技术可提供有效的解决途径。

目前,梨在组织培养方面的研究已取得一些进展,‘香水梨’(曾令达等, 2017)、“黄金梨”(王献革等, 2003)、“豆梨”(李晓刚等, 2012, 江苏农业科学, 40(12): 54-56)等品种已建立组织培养快繁体系,但存在繁殖系数低、生根困难(孙清荣等, 2004)、易枯尖等问题。刘小芳等(2016)对库尔勒香梨进行了研究,增殖系数最高为 1.3 倍,生根诱导效果较差,所有生根试材中仅一株组培苗在 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L+AC 0.05 g/L 的培养基上诱导出一条根,黄冠梨的生根率最高仅达 33%(张玉娇等, 2009, 江苏农业科学, (3): 35-36)。此外,梨不同基因型间也存在很大差异,李昌珠等(2002)以 12 个基因型的欧洲梨为试材,研究表明梨的不同基因型间离体繁殖和形态分化显著不同, Koporeka 继代培养 28 d 繁殖系数达 5.6 倍,生根培养 14 d 时生根率达 88.65%,而 Vila 连续培养 60 d 却只形成少量愈伤组织,无芽和根的分化;宋梅等(2003)研究表明诱导香梨茎尖分化比诱导砀山酥梨茎尖分化难,且繁殖数目较少。在梨组织培养方面,还须加大对不同品种的研究范围,建立多品种适宜的组织培养快繁体系。

‘津香蜜’是目前国内优质晚熟的洋梨品种之一,果实甜度高、奶香浓郁、丰产。‘巴梨’是栽培历史悠久、极具栽培价值的西洋梨品种之一,果肉肉质柔软细腻,是鲜食、制罐兼可的优良品种。目前有关‘津香蜜’组织培养方面的研究未见报道,‘巴梨’在组织培养快繁体系方面的研究也较少。本研究以‘津香蜜’和‘巴梨’两个梨品种为试材,筛选适宜的继代增殖、生根培养基及生根条件,为建立高效、稳定的组培快繁体系提供依据。

1 结果与分析

1.1 6-BA 浓度对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗继代增殖的影响

‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗分别接种在不同 6-BA

浓度的继代培养基上培养, 6-BA 1.0~2.0 mg/L 时, ‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗的繁殖系数无显著差异,均显著高于 0.5 mg/L 6-BA 时的繁殖系数;‘津香蜜’组培苗的有效新梢数在 0.5 mg/L 6-BA 和 1.0 mg/L 6-BA 时较高,‘巴梨’组培苗的有效新梢数在 1.0 mg/L 6-BA 和 2.0 mg/L 6-BA 时较高(表 1)。适宜‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗增殖的 6-BA 浓度为 1.0 mg/L。

1.2 NAA 浓度对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗继代增殖的影响

在不同浓度的 NAA 的培养基中,‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗继代增殖情况差异较大。随 NAA 浓度提高,‘津香蜜’组培苗的繁殖系数、有效新梢数逐渐提高, NAA 0.2 mg/L 时繁殖系数和有效新梢数显著高于其它处理,只是有效新梢数与 NAA 0.15 mg/L 无显著差异,而‘巴梨’组培苗随 NAA 浓度的提高,繁殖系数呈下降趋势, NAA 0.05 mg/L 时的繁殖系数显著高于 0.1 mg/L NAA、0.2 mg/L NAA 时的繁殖系数,各处理间有效新梢数无显著性差异。适宜‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗增殖的 NAA 浓度分别为 0.2 mg/L 和 0.05 mg/L (表 2; 图 1)。

1.3 IBA 浓度对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根的影响

在 1/2 MS 附加不同浓度 IBA 的培养基中诱导不定根发生,结果表明(表 3),‘津香蜜’和‘巴梨’的生根表现差异较大。随 IBA 浓度的增加,‘津香蜜’组培苗的生根率、生根条数明显提高, IBA 2.0~4.0 mg/L 时的生根率、IBA 浓度为 3.0 mg/L 和 4.0 mg/L 时的生根条数显著高于其它处理,而‘巴梨’组培苗随 IBA 浓度的增加,生根率逐渐下降, IBA 浓度为 0.5~

表 1 6-BA 浓度对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗繁殖的影响
Table 1 Effects of 6-BA concentration on the proliferation of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' *in vitro*

6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	津香蜜 Jinxiangmi		巴梨 Bartlett	
		繁殖系数 Prolifera- tion rate	有效新梢数 Effective shoots	繁殖系数 Prolifera- tion rate	有效新梢数 Effective shoots
0.5	0.05	2.00 b	1.00 ab	2.10 b	1.33 b
1.0	0.05	3.97 a	1.67 a	4.13 a	1.80 a
1.5	0.05	3.90 a	0.93 b	4.00 a	1.40 b
2.0	0.05	3.70 a	0.83 b	3.95 a	1.75 a

注: 表中同列数据后标记不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异显著
Note: Different letters following the data in the same column represented the significance at $p < 0.05$ level

表 2 NAA 浓度对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗繁殖的影响

Table 2 Effects of NAA concentration on the proliferation of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' *in vitro*

NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	津香蜜		巴梨	
		Jinxiangmi	Bartlett	Jinxiangmi	Bartlett
		繁殖系数	有效新梢数	繁殖系数	有效新梢数
		Prolifera- tion rate	Effective shoots	Prolifera- tion rate	Effective shoots
0.05	1.0	3.33 c	0.47 c	3.83 a	1.73 a
0.10	1.0	4.50 b	0.67 bc	2.77 c	1.80 a
0.15	1.0	4.87 b	0.93 ab	3.67 ab	1.93 a
0.20	1.0	5.73 a	1.37 a	3.57 b	2.00 a

注: 表中同列数据后标记不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异显著
 Note: Different letters following the data in the same column represented the significance at $p < 0.05$ level

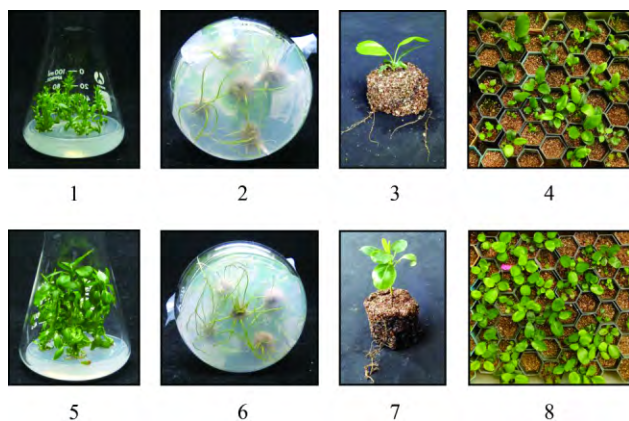


图 1 ‘津香蜜’和‘巴梨’组织培养过程

注: 1~4: ‘津香蜜’增殖培养, 生根培养, 移栽成活; 5~8: ‘巴梨’增殖培养, 生根培养, 移栽成活

Figure 1 Tissue culture process of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett'

Note: 1~4: Proliferation, rooting, and transplanting of 'Jinxiangmi'; 5~8: Proliferation, rooting, and transplanting of 'Bartlett'

1.5 mg/L 时生根率较高, IBA 浓度为 1.0~2.0 mg/L 时生根条数较高。综合考虑, 适宜‘津香蜜’组培苗生根的 IBA 浓度为 3.0 mg/L, 适宜‘巴梨’组培苗生根的 IBA 浓度为 1.0 mg/L (图 1)。

1.4 暗培养对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根的影响

对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗不定根诱导时, 分别在接种后进行不同时间的暗培养。结果表明, 对于‘津香蜜’品种, 对照与不同处理间的生根率无显著差异, 暗培养 15 d 的生根条数显著高于对照, 但此时植株茎尖枯死数较多; 对于‘巴梨’品种, 暗培养 10 d 时生根率显著降低, 暗培养 10 d、15 d 时的生根条数显著低于对照。暗培养未显著促进‘津香蜜’和‘巴

表 3 IBA 浓度对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根的影响

Table 3 Effect of IBA concentration on the rooting of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' *in vitro*

IBA (mg/L)	津香蜜		巴梨	
	Jinxiangmi	Bartlett	Jinxiangmi	Bartlett
	生根率(%)	生根条数(株)	生根率(%)	生根条数(株)
	Rooting rate (%)	Number of roots (plant)	Rooting rate (%)	Number of roots (plant)
0.5	40.0 c	2.96 b	70.0 a	7.067 b
1.0	26.5 d	2.45 b	56.7 ab	10.19 a
1.5	63.4 b	2.75 b	56.7 ab	11.54 a
2.0	76.8 a	2.90 b	53.4 b	10.29 a
3.0	70.3 ab	5.15 a	53.4 b	7.82 b
4.0	80.0 a	5.08 a	36.5 c	4.89 c

注: 表中同列数据后标记不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异显著
 Note: Different letters following the data in the same column represented the significance at $p < 0.05$ level

表 4 暗培养对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根的影响

Table 4 Effect of darkness culture on the rooting of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett' *in vitro*

暗培养 时间(d)	津香蜜		巴梨	
	Jinxiangmi	Bartlett	Jinxiangmi	Bartlett
Darkness culture time (d)	生根率(%)	生根条数(株)	生根率(%)	生根条数(株)
	Rooting rate (%)	Number of roots (plant)	Rooting rate (%)	Number of roots (plant)
0	73.3 ab	3.10 b	80.0 a	6.50 a
5	70.0 ab	3.11 b	86.7 a	5.56 ab
10	83.3 a	3.29 ab	60.0 b	4.49 b
15	63.3 b	4.16 a	76.7 a	4.71 b

注: 表中同列数据后标记不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异显著
 Note: Different letters following the data in the same column represented the significance at $p < 0.05$ level

梨’不定根诱导(表 4), 且暗培养会造成组培苗细弱、枯尖。因此, 两个品种组培苗生根以组培室常规光照、不进行暗培养为宜。

1.5 两步生根法对‘巴梨’组培苗生根的影响

以一步生根法(在 3.0 mg/L、4.0 mg/L 的 IBA 培养基上培养 40 d)为对照, 两步生根法即先将组培苗经 3.0 mg/L、4.0 mg/L 的 IBA 短时间培养, 再转接至不含任何激素的培养基, 可显著提高‘巴梨’组培苗的生根率和生根条数。‘巴梨’组培苗由 4.0 mg/L IBA 的培养基培养 5 d 后转接到无激素培养基, 生根率和生根条数显著提高, 生根率可达 96.7%, 两步生根法适宜‘巴梨’组培苗不定根诱导(图 2)。

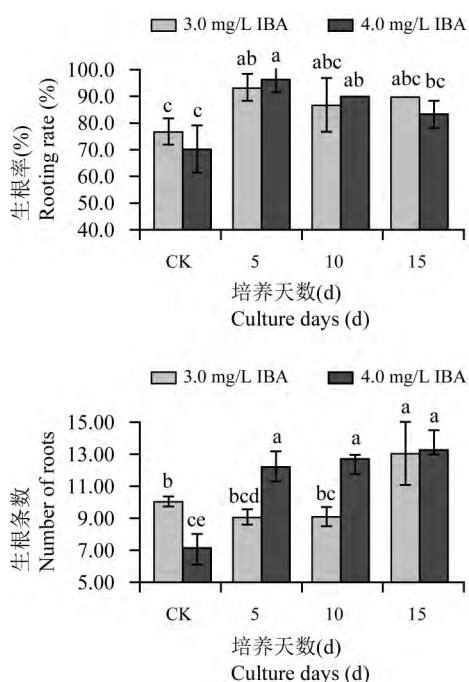


图2 不同培养方法对‘巴梨’组培苗生根的影响
注: 不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异显著
Figure 2 Effects of different culture methods on the rooting of 'Bartlett' *in vitro*
Note: Different letters represented the significance at $p < 0.05$ level

1.6 ‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗温室驯化移栽

‘津香蜜’和‘巴梨’生根苗在日光温室经强光照锻炼后出瓶移栽, 移栽成活率的变化显示(图3), 移栽初期, 随移栽天数的增加, ‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗成活率逐渐下降, 移栽30 d后, ‘津香蜜’和‘巴梨’的成活率均无显著性差异, 45 d后成活率趋于稳定。移栽60 d, ‘津香蜜’的移栽成活率为49.1%, ‘巴梨’的移栽成活率为60.0%。调查期间, 植株叶片增大、叶色较绿有光泽, 巴梨48 d、津香蜜53 d时开始长

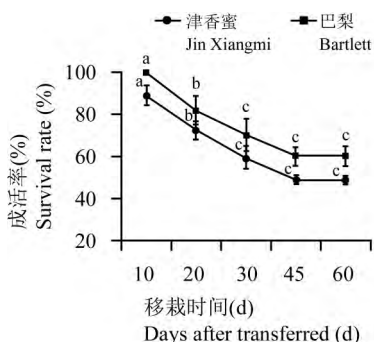


图3 ‘津香蜜’和‘巴梨’生根苗移栽成活率
注: 不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异显著
Figure 3 Survival rate of transplanting of 'Jinxiangmi' and 'Bartlett'
Note: Different letters represented the significance at $p < 0.05$ level

出新叶, 根系也进一步发育(图1)。

2 讨论

植物生长发育期间, 体内激素处于一个动态变化过程, 植物生长调节剂对组培苗生长有一定的调节作用。不同品种对生长调节剂的种类和浓度反应不同, 选择适宜的激素配比, 才能达到较好的增殖效果(许建兰等, 2008)。孙清荣等(2001)研究认为 BA 和 GA_3 组合适宜‘丰水梨’的继代增殖, 李晓刚等(2012, 江苏农业科学, 40(12): 54-56)研究表明适宜‘豆梨’继代增殖的培养基为 $MS+0.6 \text{ mg/L } 6\text{-BA}+0.2 \text{ mg/L NAA}$, Shibli 等(1997)认为适宜野生梨(*Pyrus syriaca*)繁殖的 BA 浓度为 $1.5 \text{ mg/L} \sim 2.0 \text{ mg/L}$ 。本研究发现 $1.0 \text{ mg/L BA}+0.2 \text{ mg/L NAA}$ 适宜‘津香蜜’继代增殖培养, $1.0 \text{ mg/L BA}+0.05 \text{ mg/L NAA}$ 适宜‘巴梨’继代增殖培养。

梨属植物组织培养通常存在生根难的问题, 影响组培苗生根的一个重要因素是生长素的种类及浓度, IBA、IAA 和 NAA 是促进生根常用的生长调节剂。‘黄金梨’(王献革等, 2003)和‘新梨7号’(祁东文, 2002)组培苗生根均选用 IBA 和 IAA 组合, 但适宜浓度不同, 0.2 mg/L NAA 适宜‘Passe Crassane’和‘Williams’组培苗生根(Al-Maarri et al., 1994)。本研究结果表明, $3.0 \text{ mg/L IBA}+1.0 \text{ mg/L IAA}$ 适宜‘津香蜜’组培苗的不定根诱导, $1.0 \text{ mg/L IBA}+1.0 \text{ mg/L IAA}$ 适宜‘巴梨’组培苗的不定根诱导。

光照条件和培养方法对组培苗不定根诱导也有影响。‘新梨七号’在 $1/2 \text{ MS}+2.5 \text{ mg/L IBA}+25 \text{ g/L}$ 蔗糖的培养基上先暗培养 7 d 左右, 生根率可达 75% (田海青, 2014)。汤浩茹等(2006)研究发现前期暗培养能有效促进东方梨品种‘早酥红’和‘神不知’根的发生, 对西洋梨品种‘巴梨’和‘考密斯’根的诱导效果较差。本试验中暗培养对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根率提高效果不明显, 15 d 暗培养虽提高了‘津香蜜’组培苗的生根条数, 但出现了组培苗茎尖枯死问题, 因此‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根培养以常规光照培养为宜, 这可能与西洋梨品种喜光的特性有关。孙文英等(2015)研究显示在一步生根法中‘绿宝石’梨的生根率和生根条数分别为 38.03%和 2.01 条, 采用两步生根法在含生长素培养基上培养 7 d 生根率为 47.81%, 生根条数为 2.35 条, 两步生根法可提高‘绿宝石’梨的生根率和生根条数。本试验证明两步生根法能够有效促进‘巴梨’组培苗根的诱导, 明显提高了生根率和生根条数, 其原因可能是根原基

的形成需要在高浓度的生长素下进行诱导,而根原基形成后的生长发育阶段并不需要生长素的存在,此时高浓度的生长素反而会抑制其生长(于亚军等,2002,北方园艺,(6):68-70)。

在梨属植物组织培养方面,不同品种间存在较大差异。陈丽静等(2011)的研究表明不同品种的南果梨茎尖增殖和生长能力存在差异,小南果梨继代增殖需要较低水平的6-BA和NAA,而大南果梨继代增殖对6-BA和NAA的浓度要求较高。本研究发现,‘津香蜜’和‘巴梨’两个梨品种在继代增殖和生根培养中都存在一定差异,为此应根据不同品种特点建立适宜的组织培养快繁体系。

3 材料与方法

3.1 试验材料

2016年4月于河北赵县梨品种资源圃采集梨品种‘津香蜜’和‘巴梨’新梢外植体,用自来水冲洗30 min,在超净工作台上用0.1% HgCl₂消毒7 min,无菌水冲洗3次,接种在培养基(MS+1.5 mg/L BA+0.05 mg/L NAA+30 g/L 白砂糖+6.0 g/L 琼脂)上培养,待组培苗繁殖到一定数量时进行试验,试验在河北农业大学园艺学院生物技术实验室进行。

3.2 继代增殖培养基的筛选

以MS+0.05 mg/L NAA为基本培养基,附加0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L和2.0 mg/L的6-BA;以MS+1.0 mg/L 6-BA为基本培养基,附加0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.15 mg/L和0.20 mg/L的NAA,培养基含30 g/L白砂糖、6 g/L琼脂,pH值为5.8~6.0,接种‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗。每个处理接种6瓶,每瓶接种5株,重复3次,完全随机试验设计。接种40 d左右调查各处理繁殖系数和平均有效新梢数(株高≥1.5 cm,可用于生根的嫩梢数),繁殖系数=调查时总株数/接种株数;平均有效新梢数=调查时有效新梢数/接种株数。

3.3 生根培养基的筛选

基本培养基为1/2 MS+1.0 mg/L IAA+25 g/L白砂糖+6 g/L琼脂,分别附加0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L、3.0 mg/L和4.0 mg/L的IBA,pH值为5.8~6.0,切取继代40 d左右、株高在1.5 cm以上、生长健壮的嫩梢,接入各处理培养基中。每个处理接种10瓶,每瓶接种5株,重复3次,完全随机试验设计。接种40 d后调查各处理生根率和平均生根

条数,生根率=生根株数/接种株数×100%;平均生根条数=生根总条数/生根总株数。

3.4 暗培养对‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗生根的影响

切取‘津香蜜’和‘巴梨’组培嫩梢,分别接种于1/2 MS+3.0 mg/L IBA (1.0 mg/L IBA ‘巴梨’)+1.0 mg/L IAA+25 g/L白砂糖+6 g/L琼脂培养基中,pH值为5.8~6.0,暗培养0 d、5 d、10 d和15 d后,置于培养室内常规培养。每个处理接种10瓶,每瓶接种5株,重复3次,完全随机试验设计。接种40 d后调查生根率和平均生根条数。

3.5 两步生根法对‘巴梨’组培苗生根的影响

两步生根法即先将组培苗接种在含有高浓度激素的培养基上培养一段时间,然后将其转接至不含任何激素的培养基上,使其生根。基本培养基为1/2 MS+1.0 mg/L IAA+25 g/L白砂糖+6 g/L琼脂,分别附加3.0 mg/L、4.0 mg/L的IBA,pH值为5.8~6.0,培养5 d、10 d和15 d后转接至不含任何激素的培养基上进行培养,以一步生根法(在3.0 mg/L、4.0 mg/L的IBA培养基上培养40 d)为对照。每个处理接种10瓶,每瓶接种5株,重复3次,完全随机试验设计。接种40 d后调查生根率和平均生根条数。

3.6 ‘津香蜜’和‘巴梨’组培苗驯化移栽

将生根培养40 d、根系生长较好的组培苗由培养室移至日光温室,在25 000 lx以上的强光照下闭瓶锻炼3周左右出瓶移栽,基质用营养土、蛭石等混合物,装入营养钵的2/3处,浇透水。将试管苗从三角瓶内取出,直立置于营养钵的基质上,用0.1%多菌灵药液消毒过的蛭石覆盖并固定根系。栽后喷0.1%多菌灵液防病,扣小拱棚,保证小拱棚内空气湿度90%以上。移栽7~10 d即缓苗期过后应逐渐揭膜通风,降低湿度,直至完全除去薄膜,视小苗发病状况,每1~2周喷1次0.1%多菌灵液。‘津香蜜’和‘巴梨’两个品种分别驯化移栽80株组培苗,栽后10 d、20 d、30 d、45 d和60 d调查成活率。

3.7 培养条件

常规培养温度(25±3)°C,光照强度2 000 lx,光周期(昼/夜)16 h/8 h。

3.8 数据处理与分析

数据采用Excel软件进行处理,DPS软件进行统计分析。

作者贡献

苗冉冉是本研究的试验设计者和试验研究的执行人,完成数据分析和论文初稿的写作;乔月莲和吴沅洙参与部分试验研究;王莉参与试验设计、试验结果分析、论文修改;师校欣和杜国强是项目的构思者及负责人,指导试验设计、数据分析、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由河北省自然科学基金项目(C201820-4055)和河北省现代农业产业技术体系(HBCT2018-100204)共同资助。

参考文献

Al-Maarri K., Arnaud Y., and Miginiac E., 1994, Micropropagation of *Pyrus communis* cultivar 'Passe Crassane' seedlings and cultivar 'Williams': factors affecting root formation *in vitro* and *ex vitro*, *Sci. Hortic.*, 58(3): 207-214

Chen L.J., Yu C.Y., Li H.G., Zhang L., Zhong M., and Ma H., 2011, Rapid propagation of *Pyrus ussuriensis* Maxim. by shoot tip culture, *Zhongguo Nongxue Tongbao* (Chinese Agricultural Science Bulletin), 27(31): 168-173 (陈丽静, 于春叶, 李浩戈, 张丽, 钟鸣, 马慧, 2011, 南果梨茎尖离体快繁技术研究, *中国农学通报*, 27(31): 168-173)

Li C.Z., Jiri S., and Blazek J., 2002, Studies on *in vitro* propagation of common pear (*Pyrus communis* Linn.) with different genotypes, *Guoshu Xuebao* (Journal of Fruit Science), 19(4): 227-230 (李昌珠, Jiri S., Blazek J., 2002, 不同基因型欧洲梨离体繁殖研究, *果树学报*, 19(4): 227-230)

Liu X.F., Feng J.R., Liang X.T., Lv W.J., Li W.H., and Fan X.M., 2016, Research on tissue culture of Korla fragrant pear, *Shandong Nongye Kexue* (Shandong Agricultural Sciences), 48(5): 9-13 (刘小芳, 冯建荣, 梁晓桐, 吕文娟, 李文慧, 樊新民, 2016, 库尔勒香梨组织培养的研究, *山东农业科学*, 48(5): 9-13)

Qi D.W., Jiang Q., and Liu S.Y., 2002, Rapidly multiplying propagules of 'Xinli' 7 pear via tissue culture, *Luoye Guoshu* (Deciduous Fruits), 34(4): 4-5 (祁东文, 蒋琴, 刘淑玉, 2002, 新梨7号组织培养快繁技术研究, *落叶果树*, 34(4): 4-5)

Shibli R.A., Ajlouni M.M., Jaradat A., Aljanabi S., and Shatnawi M., 1997, Micropropagation in wild pear (*Pyrus syriaca*), *Sci. Hortic.*, 68(1-4): 237-242

Song M., Wang S.J., Liu Z.J., and Liu H.Q., 2003, Tissue culture and de-poison high-speed breeding technique of fragrant pear and Dangshan pear, *Xinjiang Nongye Kexue* (Xinjiang Agricultural Sciences), 40(6): 376-377 (宋梅, 王淑娟, 刘振江, 刘红旗, 2003, 香梨、砀山梨组织培养及脱毒快繁技术, *新疆农业科学*, 40(6): 376-377)

Sun Q.R., Liu Q.Z., Zhao H.J., and Liu P., 2004, Effect of media and culture conditions on root induction of *Pyrus communis* L. shoots *in vitro*, *Luoye Guoshu* (Deciduous Fruits), 36(1): 1-3 (孙清荣, 刘庆忠, 赵红军, 刘鹏, 2004, 培养基及培养条件对西洋梨试管苗生根的影响, *落叶果树*, 36(1): 1-3)

Sun Q.R., Sun H.Y., and Liu Q.Z., 2001, Rapidly multiplying propagules of 'Hosui' pear via tissue culture, *Luoye Guoshu* (Deciduous Fruits), 33(4): 4-5 (孙清荣, 孙洪雁, 刘庆忠, 2001, 丰水梨的组培快繁研究, *落叶果树*, 33(4): 4-5)

Sun W.Y., Liu R.N., Zhang S.S., Huang H.F., He A.L., and Yang H.J., 2015, Rooting technique of 'Lyubaoshi' pear tissue culture seedling, *Beifang Yuanyi* (Northern Horticulture), (18): 116-118 (孙文英, 刘荣宁, 张守仕, 黄海帆, 贺爱莉, 杨海蛟, 2015, "绿宝石"梨组培苗生根培养技术, *北方园艺*, (18): 116-118)

Tang H.R., Liu C.Q., Luo Y., and Wang X.R., 2006, Effects of media and cultural conditions on the rooting ability *in vitro* of 4 genotypes of *Pyrus* spp., *Guoshu Xuebao* (Journal of Fruit Science), 23(2): 283-286 (汤浩茹, 刘翠琼, 罗娅, 王小蓉, 2006, 培养基和培养条件对4个梨基因型试管苗生根的影响, *果树学报*, 23(2): 283-286)

Tian H.Q., 2014, Study on establishment of rapid propagation system and micrografting of the pear cultivar Xinli pear 7, Thesis for M.S., Hebei Agricultural University, Supervisor: Du G.Q., pp.17 (田海青, 2014, 新梨7号梨组培快繁体系建立及微嫁接技术的研究, 硕士学位论文, 河北农业大学, 导师: 杜国强, pp.17)

Wang X.G., Ji H., and Wang L.M., 2003, Tissue culture and rapid propagation of *Pyrus pyrifolia* cv. Whangkumbe, *Zhiwu Shengli Xuebao* (Plant Physiology Journal), 39(6): 621 (王献革, 及华, 王利民, 2003, 黄金梨的组织培养和快速繁殖, *植物生理学报*, 39(6): 621)

Xiao Z.L., and Liu J.F., 2011, Advances in plant tissue culture and new technology application, *Ningxia Nonglin Keji* (Ningxia Journal of Agriculture & Forestry Science & Technology), 52(1): 13-14, 47 (肖哲丽, 柳金凤, 2011, 植物组织培养的研究进展及新技术应用, *宁夏农林科技*, 52(1): 13-14, 47)

Xu J.L., Ma R.J., Yu M.L., and Shen Z.J., 2008, Studies on the tissue culture of Damas 1869 plum, *Guoshu Xuebao* (Journal of Fruit Science), 25(5): 740-743 (许建兰, 马瑞娟, 俞明亮, 沈志军, 2008, Damas 1869 李组培繁殖技术研究, *果树学报*, 25(5): 740-743)

Yousefiara M., Kermani M.J., Bagheri A., Habashi A., and Abdollahi H., 2014, Study of factors affecting direct shoot regeneration of pear (*Pyrus communis* L.), *J. Plant Mol. Breed.*, 2(1): 21-28

Zeng L.D., Li C.H., and Zhai Q.Y., 2017, *In vitro* propagation of Danshui pear, *Fujian Nongye Xuebao* (Fujian Journal of Agricultural Sciences), 32(11): 1224-1227 (曾令达, 李彩华, 翟秋艳, 2017, 淡水砂梨离体快繁技术研究, *福建农业学报*, 32(11): 1224-1227)