

小叶杨 × 胡杨杂交种(小 × 胡杨) 无菌培养体系初步研究*

王方琳^{1 2 4} 柴成武^{1 2} 尉秋实^{1 2 3} 李爱德^{1 2 3 4} 王理德^{1 2 3 4} 胡小柯^{1 2 3}

(1. 甘肃省治沙研究所, 兰州 730070; 2. 甘肃省荒漠化与风沙灾害防治重点实验室, 武威 733000;

3. 甘肃民勤荒漠草地生态系统国家野外观测研究站, 民勤 733300; 4. 甘肃河西走廊森林生态系统国家定位观测研究站, 武威 733000)

提 要: 以小 × 胡杨当年生枝条作为外植体, 探讨不同激素组合的培养基对其外植体愈伤组织诱导、不定芽分化与增殖以及幼组培瓶苗生根的影响, 并筛选更为合理的培养基配方。结果表明: 与叶片相比, 茎段更加适宜进行愈伤组织诱导培养, 诱导率为 76.95%, 叶片最佳诱导率为 53.31%, 最佳配方为 WPM + IBA0.1mg/L + 6-BA0.3mg/L + 琼脂 4.5g/L + 蔗糖 30g/L; 不定芽诱导与增殖的最佳培养基配方为 WPM + 6-BA0.5mg/L + KT0.5mg/L + AC3.0g/L + 琼脂 4.5g/L + 蔗糖 30g/L, 诱导率最高为 89.30%, 此时不定芽诱导速度快、增殖率高、芽苗长势良好; 最适宜小 × 胡杨生根培养的最佳培养基配方为 1/2WPM + IBA 0.4mg/L + 蛋白胨 1g/L + 香蕉 150g/L + 琼脂 4.5g/L + 蔗糖 30g/L, 生根率高达 94.85%, 此时组培瓶苗根系较长、根毛多、叶片深绿、生长健壮, 有利于进行炼苗移栽。

关键词: 组织培养; 小 × 胡杨; 激素

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A

我国西北有大面积荒漠化及盐渍化土地分布, 这些土地的改良及利用是生态环境建设及林业可持续发展的重要任务, 而造林树种的贫乏是进行盐渍化土地改良面临的主要困难之一, 为迅速有效地解决这一问题, 除进行耐盐树种引种驯化外, 还必须同时大力开展耐盐、耐旱品种的选育。

小 × 胡杨(*Populus simonii* × *P. euphratica*) 是我国学者董天慈^[1] 于 1980 年成功培育的一种耐干旱、盐碱而又能在较广泛生态条件下生长的杨树杂交新品种, 它是以小叶杨(*Populus simonii* Carr.) 为母本(♀)、胡杨(*P. euphratica* Oliv.) 为父本(♂) 进行多次、反复杂交试验后获得的完全具有双亲融合性状的优良品种^[1]。总体来说, 小 × 胡兼有小叶杨和胡杨两者的优点, 即比小叶杨耐盐碱, 比胡杨更抗干旱, 而且生长迅速、繁殖容易, 因此成为干旱地区盐渍化土地改良及植树造林很有前途的树种。

目前, 国外有关小 × 胡杨的研究报道还是空白, 国内学者主要在其杂交育种技术^[1]、硬枝扦插繁殖及引种驯化^[2,3]、幼苗的抗旱性^[4] 等方面开展了少量的工作, 而有关其组织培养无菌快繁方面的研究至今没有报道。

20 世纪 30 年代组织培养技术在植物生理学以及细胞学的基础上发展起来无性繁殖方法^[5-8]。因其具有能使植物种植摆脱周期长, 可集中控制, 规模化、自动化生产、不受自然外界环境影响、所繁殖的苗木可以继续很好地保持母株的优良性状等优点^[9,10], 被广泛应用于分子生物技术、苗木快速繁殖、脱毒苗生产、育种、次生代谢物生产及种质资源保存等各种领域, 并产生了巨大的经济效益和生态效益^[11]。因此, 利用现代生物学技术, 在不改变其母株优良性状的前提下, 开展小 × 胡杨的组织培养繁殖技术, 可在较短时间内建立其无菌快速繁殖体系, 实现其优质种苗的无性繁殖, 为我国西北干旱荒漠区盐渍化土地改良及荒漠区植树造林苗木的选择提供参考。

* 收稿日期: 2017-9-20; 修回日期: 2018-2-11。

基金项目: 国家自然科学基金项目(41761051、31760709、41671528、31460069); 甘肃省自然科学基金项目(17JR5RA060) 资助。

作者简介: 王方琳(1985-) 女, 甘肃天水人, 助理研究员, 硕士研究生, 主要从事植物生理生态和荒漠化防治研究。

E-mail: wangfanglin2008@163.com

通讯作者: 柴成武

1 材料处理及培养条件

供试材料小 × 胡杨植株于 2015 年 4 月移栽至苗圃,待 2016 年 5 月植株发芽时剪取当年生带芽茎段为外植体,自来水冲洗 8~12h 后用 75% 的酒精浸泡 40s,然后用 0.1mg/LHgCl₂ 溶液浸泡 5min,最后用无菌水冲洗 5~7 遍,置于超净工作台已灭菌的滤纸上将表面的水渍吸干备用。

1.1 最佳外植体及愈伤组织诱导培养基筛选

分别将外植体叶片剪切成 0.3 × 0.3cm 的小片,茎段及嫩根剪切成长 0.5cm 左右的小段,接种在以 WPM 为基本培养基,添加不同浓度 IBA(0.1、0.3、0.5mg/L) 与 6-BA(0.1、0.3、0.5mg/L) 不同配比的处理对不同外植体(叶片、茎段、嫩根)愈伤组织诱导的影响,每种培养基 10 个重复,每个培养皿接种 10 个外植体,观察并统计实验结果。最后,选择愈伤组织诱导率最高培养基作为最佳方案,选择成活率最高的外植体作为进行愈伤组织诱导的最佳外植体种类。

$$\text{外植体诱导率} = (\text{诱导的外植体数} / \text{接种的外植体数}) \times 100\% \quad (1)$$

1.2 最佳不定芽增殖培养基筛选

将初始诱导的愈伤组织转接至含不同浓度 6-BA(0.3、0.5、1.0mg/L)、NAA(0.1、0.2、0.3mg/L)、KT(0.1、0.3、0.5mg/L) 以及活性炭(AC)(1、3、5g/L) 配比的培养基中,每种培养基 10 个重复,每个培养瓶接种 3 个愈伤组织,生长 20d 后观察愈伤组织在 不定芽增殖培养基中的增殖情况并统计实验结果。

$$\text{不定芽增殖率} = (\text{增殖的愈伤组织数} / \text{接种的愈伤组织数}) \times 100\% \quad (2)$$

1.3 最佳生根培养基筛选

剪切增殖培养带有茎尖的不定芽转接入附加不同浓度 IBA(0.2、0.4、0.6mg/L)、蛋白胨(1、2、3g/L) 以及香蕉(100、150、200g/L) 按照不同浓度组合配比的 1/2WPM 培养基上进行生根培养。每种培养基 20 个重复,每个培养瓶接 3 个愈伤组织。1 周后观察记录根生长状况并统计生根率。

$$\text{丛生芽生根率} = (\text{生根的丛生芽数} / \text{接种的丛生芽数}) \times 100\% \quad (3)$$

1.4 培养基及培养条件

试验除生根阶段采用 1/2WPM 培养基外,其它均采用 WPM 培养基为基本培养基,附加蔗糖 30、琼脂 5 及各种激素, pH5.8; 培养条件为温度 24 ± 1℃、光照强度 1500~2000lx、时间 12~16h/d 的环境下培养。

1.5 数据统计与分析

用 Microsoft Excel2007 和 SPSS19.0 进行方差分析,利用 Duncan 法对不同激素配比处理之间的显著性进行检验。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导

表 1 不同试剂灭菌后茎段、叶片成活率比较

Table 1 The survival rates of explants after sterilization with different reagents

处理	培养基	样本数 (个)	愈伤组织诱导率(%)		
			嫩根	茎段	叶片
CK	WPM	100	-	-	-
1	WPM+0.1IBA+0.16-BA	100	21.46 ± 1.2b	55.61 ± 1.1c	53.31 ± 3.2a
2	WPM+0.1IBA+0.36-BA	100	25.19 ± 0.6b	76.95 ± 7.5a	43.14 ± 0.7b
3	WPM+0.1IBA+0.56-BA	100	18.33 ± 1.8c	69.21 ± 3.1b	40.64 ± 0.2b
4	WPM+0.3IBA+0.16-BA	100	25.66 ± 0.4b	63.61 ± 0.2b	45.29 ± 8.5b
5	WPM+0.3IBA+0.36-BA	100	29.67 ± 2.4b	55.44 ± 0.5b	43.43 ± 5.9b
6	WPM+0.3IBA+0.56-BA	100	22.02 ± 3.8b	53.48 ± 1.7c	39.33 ± 0.3c
7	WPM+0.5IBA+0.16-BA	100	-	51.86 ± 5.2c	-
8	WPM+0.5IBA+0.36-BA	100	-	54.31 ± 3.6c	-
9	WPM+0.5IBA+0.56-BA	100	-	41.11 ± 0.9d	-

注: 显著性水平 0.05, 同列相同字母表示差异不显著, 下同。

不同激素种类及浓度对小 × 胡杨不同外植体的愈伤组织诱导效果不同(表 1)。试验以 WPM 基本培养基不加任何激素为对照处理时,小 × 胡杨嫩根、茎段及叶片三种外植体均没有愈伤组织产生。当 IBA

为 0.1 附加 6-BA 的浓度分别为 0.1、0.3、0.5mg/L 时,叶片愈伤组织诱导率随 6-BA 浓度的增大而减小,最大为 6-BA0.1mg/L 时的处理,叶片愈伤组织诱导率为 53.31%,并于 6-BA 0.3、0.5mg/L 时的处理间差异极显著;采用嫩根作为外植体时,三种处理的愈伤组织诱导率均较低;该处理下愈伤组织诱导率最高为 6-BA0.3mg/L 时,茎段的愈伤组织诱导率,达到 76.95%,并于 6-BA 浓度为 0.1、0.5mg/L 的处理间均存在极显著差异。当培养基中 IBA 浓度为 0.3mg/L 时 6-BA 三种浓度处理时茎段愈伤组织诱导率最大,叶片次之,嫩根的愈伤组织诱导率最小。当培养基中 IBA 浓度增加至 0.5mg/L、6-BA 三种不同的浓度处理时,嫩根和叶片均不会产生愈伤组织,而茎段愈伤组织诱导率在 40~55% 之间,当 6-BA 浓度为 0.3mg/L 时,茎段外植体能诱导出较多的愈伤组织,并于 6-BA 为 0.1mg/L 的处理间差异不显著,与 6-BA 浓度为 0.5mg/L 的处理间存在极显著差异,因此选择小×胡杨的茎段作为进行愈伤组织诱导的外植体材料。因此最适宜小×胡杨进行愈伤组织诱导的最佳外植体为茎段,在配方为 WPM + IBA0.1mg/L + 6-BA0.3mg/L + 琼脂 4.5g/L + 蔗糖 30g/L 的培养基中能诱导出较多的愈伤组织,且愈伤组织长势良好。

2.2 不定芽的诱导与增殖

表 2 不同处理条件下小×胡杨茎段诱导增殖情况

Table 2 The proliferation of *Populus simonii* × *P. euphratica* stem in different treatment conditions

处理	培养基	样本数 (个)	诱导增殖 率(%)	生长状况
CK	WPM	30	0	愈伤组织不发生诱导与增殖
1	WPM + 0.3 6-BA + 0.1KT + 1.0AC	30	36.25 ± 8.2e	诱导速度慢、易玻璃化、增殖效果不明显
2	WPM + 0.3 6-BA + 0.3KT + 3.0AC	30	38.75 ± 0.8e	诱导速度慢、增殖较少
3	WPM + 0.3 6-BA + 0.5KT + 5.0AC	30	50.83 ± 1.7d	不定芽诱导慢、增殖速度较慢、增殖芽苗较少
4	WPM + 0.5 6-BA + 0.1KT + 0.5AC	30	62.08 ± 1.2c	诱导速度较快、诱导率较低
5	WPM + 0.5 6-BA + 0.3KT + 1.0AC	30	73.75 ± 3.6b	诱导速度快、不定芽增殖多、生长缓慢、嫩绿色
6	WPM + 0.5 6-BA + 0.5KT + 3.0AC	30	89.30 ± 0.5a	不定芽诱导速度快、增殖率高、芽苗长势良好
7	WPM + 1.0 6-BA + 0.1KT + 3.0AC	30	76.17 ± 5.6b	不定芽诱导较慢、增殖率较高、芽苗发黄
8	WPM + 1.0 6-BA + 0.3KT + 5.0AC	30	64.58 ± 38c	不定芽诱导慢、芽苗发黄、畸形苗较多、
9	WPM + 1.0 6-BA + 0.5KT + 1.0AC	30	60.42 ± 0.6c	不定芽诱导慢、芽苗生长后期畸形

表 3 不同处理条件下小×胡杨生根情况

Table 3 The root formation of *Populus simonii* × *P. euphratica* under different treatment conditions

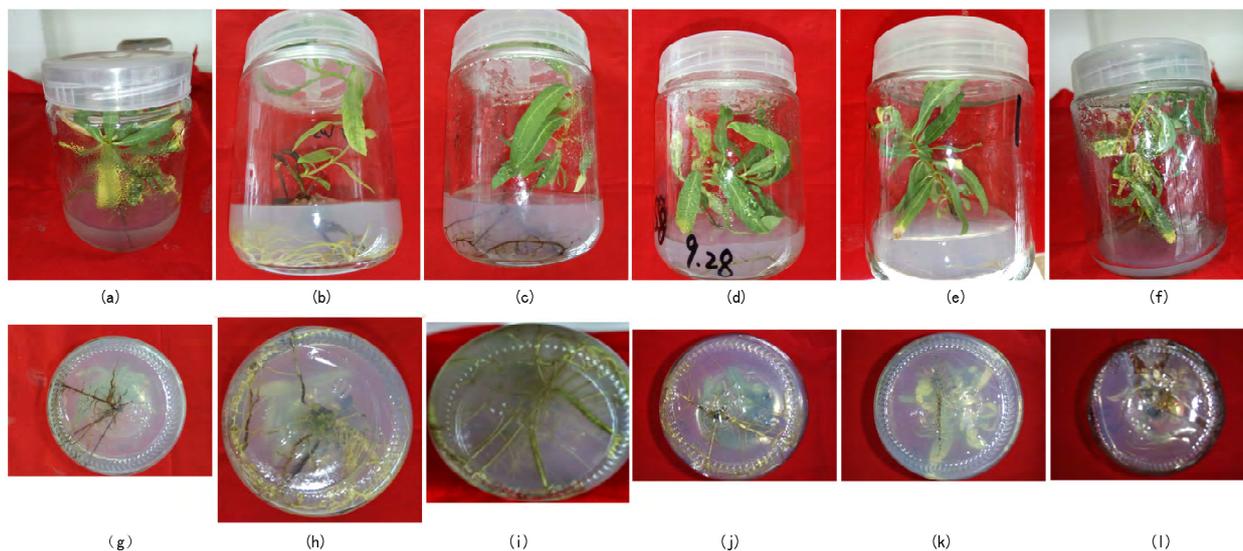
处理	培养基	样本数 (个)	30d 根苗平 均高度(h)	30d 根系平 均长度(cm)	最早生根 天数(d)	生根率 (%)	生长状况
CK	1/2WPM	60	-	-	-	-	不定芽不生根
1	1/2WPM + 0.2IBA + 1.0 蛋白胨 + 100 香蕉	60	3.02 ± 5.1c	4.27 ± 0.7b	17	53.18 ± 3.2e	植株较矮、叶黄绿色、根系细长、根毛较少;(图 1-a)
2	1/2WPM + 0.2IBA + 2.0 蛋白胨 + 150 香蕉	60	3.11 ± 0.4c	4.88 ± 1.4b	14	57.40 ± 1.1e	植株不高、叶片深绿、根系细长、根毛较多;(图 1-b、g)
3	1/2WPM + 0.2IBA + 3.0 蛋白胨 + 200 香蕉	60	4.76 ± 0.4b	3.67 ± 1.7	14	62.10 ± 9.3e	植株矮、叶片淡绿、卷曲、根系较短、较细;(图 1-h)
4	1/2WPM + 0.4IBA + 1.0 蛋白胨 + 150 香蕉	60	5.33 ± 3.2a	4.23 ± 0.9b	11	94.85 ± 0.6a	植株生长健壮、叶片深绿、根系较长、根毛多;(图 1-c、i)
5	1/2WPM + 0.4IBA + 2.0 蛋白胨 + 200 香蕉	60	5.61 ± 1.8a	5.0 ± 2.1a	13	84.57 ± 0.6b	植株健壮、较高、叶片深绿、根系较长、较细;(图 1-j)
6	1/2WPM + 0.4IBA + 3.0 蛋白胨 + 100 香蕉	60	3.82 ± 0.5c	3.41 ± 4.3c	13	82.00 ± 1.6b	长势差、矮小、叶片黄绿色、根系短、根毛少;(图 1-d、k)
7	1/2WPM + 0.6IBA + 1.0 蛋白胨 + 200 香蕉	60	6.17 ± 0.4a	3.22 ± 0.9c	17	74.22 ± 5.9c	植株很高、叶片淡绿色、根系细长、数量较少;(图 1-e)
8	1/2WPM + 0.6IBA + 2.0 蛋白胨 + 100 香蕉	60	5.91 ± 1.3a	4.56 ± 3.1b	15	64.82 ± 05d	植株较高、叶片深绿色、根细长、数量较少;(图 1-l)
9	1/2WPM + 0.6IBA + 3.0 蛋白胨 + 150 香蕉	60	4.87 ± 1.5b	3.56 ± 3.3	18	52.99 ± 3.8e	植株较矮、叶片黄绿、根系较短、数量较少;(图 1-f)

将小×胡杨茎段作为外植体时诱导的、生长良好、结构松散的愈伤组织转接至不定芽诱导与增殖培养基中,此阶段也采用 WPM 为基本培养基,附加不同浓度的 6-BA(0.3、0.5、1.0mg/L)、NAA(0.1、0.2、0.3mg/L)、KT(0.1、0.3、0.5mg/L)以及活性碳(AC)(1、3、5g/L),愈伤组织接种后不定芽诱导与增殖情况

如表 2 所示,采用 WPM 为基本培养基,不加任何激素时,愈伤组织接种后不产生不定芽,接种后 15d,愈伤组织水分逐渐散失,最后干枯;1~9 号培养基处理时,愈伤组织接种后均能产生不定芽,但不同激素种类及不同浓度处理间给不定芽增殖率与生长状况差异较大。当不定芽诱导与增殖培养基中 6-BA 浓度为 0.3mg/L 时,不定芽诱导率随 KT 以及 AC 浓度的增加而逐渐增大,当培养基中 KT 浓度为 0.5mg/L 时,不定芽诱导率达到最大值,为 50.83%,并于此阶段 KT 其它两种浓度处理间存在极显著差异。当培养基中 6-BA 浓度为 0.5mg/L 时,KT 不同浓度的三种处理不定芽诱导率均较大,并随 KT 浓度的增加,不定芽诱导率逐渐增大,最大为 KT 为 0.5mg/L 时的处理,不定芽诱导率达到 89.30%,与其它两种处理间存在极显著差异,且不定芽诱导与增殖速度较快,产生的不定芽长势良好。随着培养基中 6-BA 与 KT 浓度的增加,不定芽诱导与增殖率逐渐减小,诱导与增殖速度减慢,不定芽长势较差。因此最适宜小 × 胡杨进行不定芽诱导与增殖培养的培养基配方为 WPM + 6-BA 0.5mg/L + KT 0.5mg/L + AC 3.0g/L + 琼脂 4.5g/L + 蔗糖 30g/L。

2.3 生根培养

小 × 胡杨生根培养采用 1/2WPM 为基本培养基,并在培养基中附加不同浓度的生长激素 IBA,以及蛋白胨、香蕉。如表 3 所示,当采用 1/2 基本培养基时,不定芽接种后不生根。当培养基中附加 IBA 浓度为 0.2mg/L 时,不定芽生根率随蛋白胨、香蕉浓度的增加而逐渐增大,生根天数也逐渐提前,三种处理均能诱导出较多的不定根,植株生根较慢,根系细长、根毛较少(图 1-e),根苗略发黄,但各处理间差异不显著(图 1-a、b、g、h)。将培养基中 IBA 的含量增加至 0.4mg/L 时,不定芽生根率随蛋白胨、香蕉浓度的增加而逐渐减小,生根天数也越来越长,当 IBA 为 0.4mg/L、附加蛋白胨 1.0g/L、香蕉 150g/L 时,不定芽生根时间最早,根苗叶片嫩绿色,根系粗壮、根毛较多(图 1-c、i),生根率也最高,达到 94.85%,并于其它两种浓度处理间存在极显著差异。当培养基中 IBA 浓度增加为 0.6mg/L 时,小 × 胡杨不定芽生根率随着蛋白胨、香蕉浓度的增大而逐渐减小,不定芽生根率逐渐减小,根系生长及生根速度逐渐减慢(图 1-e、l、f)。因此,最适宜小 × 胡杨进行生根培养的培养基配方为 1/2WPM + IBA 0.4mg/L + 蛋白胨 1.0g/L + 香蕉 150g/L + 琼脂 4.5g/L + 蔗糖 30g/L。



a、1 号生根培养基中植株生长情况; b、2 号生根培养基中植株生长情况; c、4 号生根培养基中植株生长情况; d、6 号生根培养基中植株生长情况; e、7 号生根培养基中植株生长情况; f、9 号生根培养基中植株生长情况; g、2 号生根培养基中根系生长情况; h、3 号生根培养基中根系生长情况; i、4 号生根培养基中根系生长情况; j、5 号生根培养基中根系生长情况; k、6 号生根培养基中根系生长情况; l、8 号生根培养基中根系生长情况;

图 1 不同生根培养基中小 × 胡杨植株及根系生长情况

Figure 1 The seedling and root growth of *Populus simonii* × *P. euphratica* in different root mediums

3 讨论

3.1 小 × 胡杨外植体灭菌及适宜进行愈伤组织诱导的外植体选择

外植体的种类不同,要达到最佳灭菌效果所采用的灭菌方法也有较大差异。在培养的外界环境相同的情况下,不同的外植体表面灭菌消毒方法与其结构、采集环境条件密切相关。采用外界环境中生长的小×胡杨植株带芽茎段作为外植体材料,培养后容易发生污染;而研究中所用的植株是从室外移栽至实验室内培养的,受细菌污染的影响较小。但采用相同种类、相同浓度的试剂灭菌时,叶片的灭菌时间难以掌握,很容易灭菌过度伤害其组织而干枯死亡。由此可见,室内培养栽植的小×胡杨的幼嫩茎段的表面灭菌较容易掌握,且成活率较高,使用浓度为 75% 的乙醇溶液处理后再用 0.1mg/L 的 HgCl₂ 灭菌,即可获得较好的表面灭菌效果。

采用嫩根、茎段、叶片进行愈伤组织诱导时,在相同配方的培养基进行处理时,茎段能诱导出较多的愈伤组织,而叶片接种后,随着接种时间的延长,叶片四周边缘容易发生卷曲,最后逐渐干枯;而嫩根也容易发生干枯,发生这种现象的原因可能与小×胡杨的形态特征有关,由于在长期适应干旱、盐碱自然环境的过程中,茎段具有较发达的维管束系统,分生能力较强,叶片和根部维管束分生能力较弱,而愈伤组织诱导过程中生长调节物质需要通过维管系统运输,致使维管系统越丰富的地方,生长调节物质浓度越高,也就越容易形成愈伤组织^[12,13]。

3.2 小×胡杨试管苗大规模工厂化生产的技术优化问题

本研究实施过程中,小×胡杨进行组织培养时容易生根,且试管苗叶片和茎段均可长出不定根,不管是试管苗叶片还是试管苗,且在继代增殖培养时也有部分不定根长出。因此,在进行实际工厂化育苗的过程中,只要成本核算、产品质量要求及生产时间安排许可,可考虑采用一次性成苗的方法对小×胡杨进行离体快繁;另外,可以考虑结合使用组培苗的叶片进行叶插繁殖方法,这样两种方法同时进行,既可增加组培苗成苗的数量,又能降低生产成本,增加经济收入。

3.3 小×胡杨组织培养快速繁殖存在的主要问题

小×胡杨组织培养快速繁殖具有明显的优势,但也存在以下问题。从本研究试验过程中发现,进行初代愈伤组织培养时,愈伤组织有轻微的褐变的现象。如果能有效改善培养方法、减少褐变现象,就能在一定程度上扩大试管苗的增殖数量,提高组培苗的质量与产量。研究表明,增加琼脂培养基中琼脂和蔗糖的浓度、适当降低 6-BA 的浓度、采用通气性好的封口材料、对外植体进行低温预处理、提高培养过程中的光照强度、延长培养室的光照时间等措施可以有效降低组织培养中试管苗的褐变。具体上述哪种方法能减轻小×胡杨的褐变现象,还有待做进一步研究。

4 小结

本研究采用组织培养的方法,选择小×胡杨带芽茎段为外植体,对其离体培养中的初代、继代增殖与生根培养不同培养阶段的培养基及植物激素进行筛选,建立高效再生体系,实现通过愈伤组织再生植株的新途径;在较短时间内实现了小×胡杨优质试管苗的快速繁殖,整个繁殖过程从丛生芽诱导与增殖到试管苗生根仅需 90d 左右,大大提高了小×胡杨的成苗速度,对其植株的规模化、工厂化生产、扩繁具有重要作用,可为我国西北干旱荒漠区盐渍化土地改良及荒漠区植树造林源源不断地提供优质苗木。

参考文献

- [1]董天慈.小叶杨与胡杨亚属间有性杂交[J].遗传,1980,2(1):25-28.
- [2]季蒙,张博文,任建民.小×胡杨硬枝扦插试验初报[J].内蒙古林业科技,2005(3):6-7.
- [3]杜少林,康春风,吕林军,等.小胡杨杨树引种及硬枝扦插育苗技术研究[J].内蒙古林业调查设计,2006(4):25-26.
- [4]冯伟,孟和,杨文斌,等.小叶杨与胡杨杂交种(小×胡杨)幼苗抗旱性初步研究[J].干旱区资源与环境,2014,28(7):166-170.
- [5]谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.
- [6]罗士韦.植物细胞和组织培养的应用与展望[J].植物生理学通讯,1983(2):1-6.
- [7]曹攸义,刘国民.实用植物组织培养教程[M].兰州:甘肃科技出版社,1996.
- [8]裘文达.园艺植物组织培养[M].上海:上海科学出版社,1986.
- [9]李胜,李唯.植物组织培养原理与技术[M].北京:化学工业出版社,2007.
- [10]韦弗.农业中的植物生长物质[M].北京:科学出版社,1979.
- [11]曹攸义,齐玉枢.植物组织培养技术[M].北京:高等教育出版社,1990.
- [12]韩一凡.德国林业生物技术研究现状[J].世界林业研究,1993(2):23-26.
- [13]王方琳,徐先英,尉秋实,等.强旱生濒危植物霸王组织的组织培养[J].干旱区资源与环境,2014,28(2):114-118.

The preliminary study on aseptic culture system of *Populus simonii* × *P. euphratica*

WANG Fanglin^{1 2 4}, CHAI Chengwu^{1 2}, YU Qiushi^{1 2 3}, LI Aide^{1 2 3 4},
WANG Lide^{1 2 3 4}, HU Xiaoke^{1 2 3}

(1. Gansu Desert Control Research Institute, Lanzhou 730070, China;

2. State Key Laboratory of Desertification and Aeolian Sand Disaster Combating, Wuwei 733000, China;

3. Minqin National Station for Desert Steppe Ecosystem Studies, Minqin 733300, China;

4. Gansu Hexi Corridor Forest Ecosystem National Research Station, Wuwei 733000, China)

Abstracts: The annual branches of *Populus simonii* × *P. euphratica* were taken as explants to be cultured in mediums with different hormone combinations, in order to probe the influences of different hormone combinations on the callus induction, adventitious bud differentiation and proliferation, and the young earth container seedlings rooting, to screen more reasonable medium formula. The results showed that compared with leaf, the stem segment was more suitable for callus induction. The induction rate was 76.95%, and the optimum induction rate of blade was 53.31%. The best recipe was WPM + IBA 0.1mg/L + 6-BA 0.3 mg/L. The best medium for the induction and multiplication of the indefinite bud was WPM + 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.3mg/L + KT 0.1mg/L + AC3.0g/L + agar 4.5 g/L + sucrose 30g/L. The induction rate was 89.30%, and the rate of bud induction was high and the proliferation rate was high. The best medium for the root culture of *Populus simonii* × *P.* was the 1/2WPM + IBA 0.4mg/L + Peptone 1.0g/L + Banana 150 g/L + agar 4.5g/L + sucrose 30g/L. The rooting rate was as high as 94.85%. At this time, the roots were long and with more hairs; the leaves were deep green, and the seedlings were strong. It was conducive to the transplanting of the seedling.

Key words: tissue culture; *Populus simonii* × *P. euphratica*; hormone