

# 西洋梨叶片直接再生体细胞胚

孙清荣<sup>1</sup> 刘庆忠<sup>1</sup> 赵瑞华<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 山东省果树研究所, 泰安 271000; <sup>2</sup> 山东农业大学生命科学学院, 泰安 271000)

**摘要:** 以西洋梨‘红安久’和‘绿安久’两个品种的无菌苗幼叶为试材, 研究了不同培养基对叶片分化不定梢及体细胞胚的影响。结果表明: 基本培养基的组成是影响叶片分化为不定梢还是体细胞胚的关键因素, 植物生长物质的种类和水平是影响体细胞胚再生率高低的重要因素。诱导培养基 NN69 附加 TDZ 2 mg/L 及 NAA 0.1 mg/L, 体细胞胚再生率最高, 绿安久达 55.5%, 红安久为 47.3%。NN69 附加 BA 5 mg/L 及 NAA 0.1 mg/L, 不定梢再生率最高, 绿安久达 100%, 红安久为 85.7%。

**关键词:** 梨; 西洋梨; 叶片; 体细胞胚; 再生

**中图分类号:** S 661.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 01-0085-02

## 1 目的、材料与方法

本试验目的是建立西洋梨‘红安久’及‘绿安久’无菌苗叶片体细胞不定器官(包括不定芽、不定胚)再生体系, 为梨体细胞染色体加倍获得多倍体及转基因获得抗病耐贮的新品系奠定基础。从转移生长 30 d 左右的红安久和绿安久梨无菌苗顶部摘取刚展开的幼叶片, 用无菌刀垂直于叶片中脉横切多个伤口, 然后接种在 C<sup>[1]</sup>、LE<sup>[2]</sup>、NN69<sup>[3]</sup>附加不同植物生长物质的诱导培养基上(见表 1)。每处理接种 30 个叶片, 重复 3 次。接种后暗培养箱中培养 3 周后移至光下培养。所有培养基都附加蔗糖 3%, pH 5.8, 其他培养条件同常规组织培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 体细胞胚和不定梢的发生

叶片接种后 20 d, 两个品种在所有诱导培养基上都可观察到有不定芽和大量白色不定根产生。25 d 时, 除不定芽和不定根继续产生外, 又可观察到体细胞胚产生。有的体细胞胚是单生(见插页 3 图版, 1), 有的是 2~3 个丛生(图版, 2); 有的体细胞胚根很长而芽很小(图版, 3), 有的根较短而芽较大(图版, 4), 有的根和芽大小相似(图版, 5、6)。体细胞胚都是从叶片伤口处直接产生, 不通过愈伤组织阶段。40 d 时, 体细胞胚停止发生, 但不定芽继续发生, 直到 50 d 时才停止。因此, 在不定器官的发生时间上, 体细胞胚晚于不定芽和不定根, 不定胚产生的时间较短, 不定芽产生的时间较长, 但在同一个叶片上既可以产生不定芽、不定根, 也可以产生体细胞胚。

### 2.2 培养基对体细胞胚及不定梢产生的影响

2.2.1 诱导叶片再生体细胞胚的因素 表 1 表明, 前 6 种处理中, 在基本培养基 NN69 附加两种生长素组成的处理 5、6 都可诱导叶片产生体细胞胚, 两个品种结果一致。在 LE 上红安久在含 NAA 的处理 4 上有 5% 产生体细胞胚, 而含 IBA 的处理 3 为零, 绿安久则在这两种处理上都为零。在 C 培养基上同处理 3、4 正好相反, 绿安久在含 NAA 的处理 2 上产生了体细胞胚, 含 IBA 的处理 1 上未能产生, 而红安久在这两种处理上都不能产生。根据这 3 种基本培养基 6 种激素组成对体细胞胚再生的影响分析, 可以得出: 基本培养基 NN69 比 C、LE, 生长素 NAA 比 IBA 更有利于体细胞胚的产生。

收稿日期: 2002-03-12; 修回日期: 2002-07-23

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目 (01DS48); 山东省农科院青年基金项目

表 1 培养基对‘红安久’和‘绿安久’梨叶片体细胞胚及不定梢再生率的影响

Table 1 Effect of media on shoot and somatic embryo regeneration rate from leaves of Red D 'Anjou and D 'Anjou (%)

处理 Treat- ment	培养基 Media	植物生长物质 Plant growth regulator (mg/L)				绿 安 久 D 'Anjou		红 安 久 Red D 'Anjou	
		BA	IBA	NAA	TDZ	不定梢 Shoot	体细胞胚 Somatic embryo	不定梢 Shoot	体细胞胚 Somatic embryo
1	C	5	0.3			76.2 ±8.6	0	30.0 ±2.8	0
2	C	5		0.1		75.7 ±6.9	14.3 ±1.6	47.6 ±6.2	0
3	LE	5	0.3			70.0 ±6.5	0	45.0 ±5.8	0
4	LE	5		0.1		75.0 ±8.6	0	52.4 ±4.5	5.0 ±1.5
5	NN69	5	0.3			90.0 ±10.0	10.0 ±0.7	63.6 ±7.8	9.1 ±3.8
6	NN69	5		0.1		100.0 ±1.0	26.7 ±3.4	85.7 ±9.6	19.0 ±3.2
7	NN69		0.3		2	87.1 ±7.8	29.0 ±3.8	68.2 ±3.4	9.1 ±1.8
8	NN69			0.1	2	81.8 ±9.7	55.5 ±4.8	59.1 ±6.0	47.3 ±6.3

注：每次重复接种 30 个叶片，3 次重复平均值 ±标准差。Note: Average of three replicates ±standard error, 30 leaves inoculated per replicate.

比较处理 5、6、7、8，基本培养基相同，但植物生长物质不同，都可诱导叶片产生体细胞胚，但附加细胞分裂素 TDZ 的处理 7、8 的平均体细胞胚再生率高于附加 BA 的处理 5、6。在细胞分裂素相同的处理 5、6 及 7、8 中，都表现生长素 NAA 比 IBA 有利于体细胞胚的产生。这说明在适宜的基本培养基上，诱导叶片产生体细胞胚，TDZ 比 BA 有效，NAA 比 IBA 有效。综合分析比较，认为体细胞胚再生的最适诱导培养基为处理 8，在该培养基上两品种的再生率最高。

2.2.2 诱导叶片再生不定梢的因素 细胞分裂素相同的前 6 种处理，基本培养基 NN69 比 C、LE 获得的不定梢再生率高；在细胞分裂素、基本培养基都相同的处理 1 和 2，3 和 4，5 和 6 中，生长素 NAA 比 IBA 更有效，这与影响体细胞胚再生的结果一致。但在基本培养基相同而附加生长物质不同的处理 5、6、7、8 上，BA 比 TDZ 有效，这一点同体细胞胚的再生结果正好相反。在 BA 5 mg/L 及 NAA 0.1 mg/L 的处理 6 上，绿安久的不定梢再生率最高，达 100%，红安久也最高，为 85.7%；而在 TDZ 2 mg/L 和 IBA 0.3 mg/L 处理 7 上，绿安久最高为 87.1%，红安久为 68.2%。

总之，成功诱导梨叶片体细胞胚再生的是 NN69；而分化不定梢则是 C、LE、NN69 都可以，但以 NN69 最好。在基本培养基 NN69 上，分化不定梢，BA 比 TDZ 有效；分化体细胞胚，TDZ 比 BA 有效。不管是分化不定梢还是体细胞胚都是 NAA 比 IBA 效果好。体细胞胚再生率有待于进一步研究提高。

## 参考文献：

- Pinet-Leblay C, Turpin F X, Chevreau E. Effect of gamma and ultraviolet irradiation on adventitious regeneration from in vitro cultured pear leaves. *Euphytica*, 1992, 62 (3): 225 ~ 233
- Quoirin M, Lepoivre P. Improved media for in vitro culture of *Prunus* sp. *Acta Hort.*, 1977, 78: 437 ~ 442
- 张自立, 愈新大. 植物细胞和体细胞遗传学技术与原理. 北京: 高等教育出版社, 1990. 237

## Somatic Embryo Genesis from in Vitro Leaves of Pear

Sun Qingrong<sup>1</sup>, Liu Qingzhong<sup>1</sup>, and Zhao Ruihua<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Shandong Institute of Pomology, Tai 'an 271000, China; <sup>2</sup> College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai 'an 271000, China)

**Abstract:** Young leaves in vitro of pear (*Pyrus communis* L.) cultivars Red D 'Anjou and D 'Anjou were selected as materials. Effect of media on shoot and somatic embryo regeneration from leaves was studied. Results showed that the composition of basic media was the main factor affecting shoot regeneration or somatic embryo regeneration from leaves; the kind and concentration of exogenous hormone supplemented were important factor to higher frequency regeneration of somatic embryo. In this study, somatic embryo regeneration rate was the highest in the treatment with medium NN69 supplemented with 2 mg/L TDZ and 0.1 mg/L NAA, D 'Anjou was 55.5%, and Red D 'Anjou was 47.3%. Shoot regeneration rate was the highest on NN69 supplemented with 5 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA, D 'Anjou was 100%, Red D 'Anjou was 85.7%.

**Key words:** Pear (*Pyrus communis* L.); Leaves; In vitro; Somatic embryo; Regeneration

徐圣友等：对锰害敏感性不同的两个苹果品种枝条中锰的积累与分布

Xu Shengyou, et al. Accumulation and Distribution of Manganese in Shoots of Apple Cultivars with Different Sensitivity to Manganese

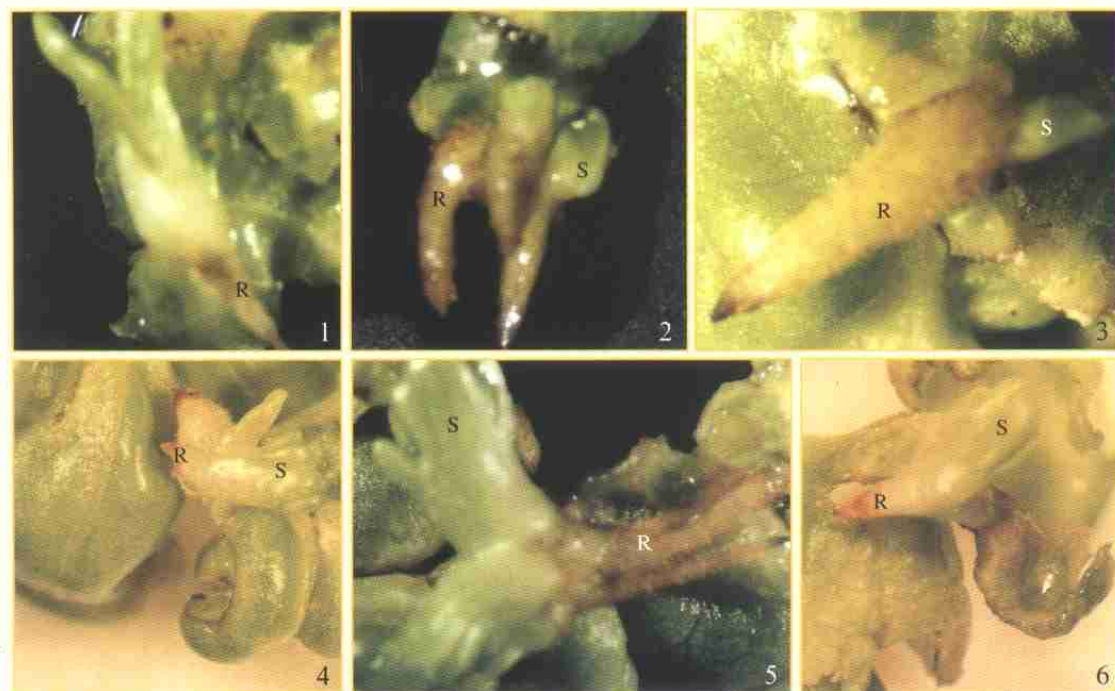


图版说明：1. 富士枝条横截面的联苯胺染色( $\times 100$ )；2. 富士枝条横切面的荧光切片图( $\times 40$ )。

Explanation of plates: 1. Phenylalanine staining of 'Fuji' shoot cross-section ( $\times 100$ ); 2. Fluorescent slice of Fuji shoot cross-section ( $\times 40$ ).

孙清荣等：西洋梨叶片直接再生体细胞胚

Sun Qingrong, et al. Somatic Embryo Genesis from in Vitro Leaves of Pear



图版说明：绿安久和红安久叶片接种30 d，中脉伤口处直接再生体细胞胚

1,2,4,5: 绿安久；3,6: 红安久。S: 不定芽；R: 不定根。

Explanation for plates: Somatic embryo direct regeneration from leaf cut of D'Anjou and Red D'Anjou, after inoculation 30 days  
1,2,4,5: D'Anjou; 3,6: Red Anjou. S: Shoot; R: Root.