

## 美洲黑杨杂交良种‘鲁林 9 号杨’离体再生体系的建立

王如月,王雪菱,李际红\*,王冬月,牛牧歌

(山东农业大学 林学院,山东 泰安 271018)

**摘要:**以‘鲁林 9 号杨’无菌叶片与叶柄作为外植体,建立‘鲁林 9 号杨’的离体再生体系。结果表明,叶片诱导不定芽的最佳培养基为  $1/2\text{ MS}+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ ,诱导芽率为 100%,平均出芽数为 10.83 个;叶柄诱导不定芽的最佳培养基为  $1/2\text{ MS}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ ,诱导芽率为 94%,平均出芽数为 5.67 个;不定芽生根的最佳培养基为  $1/2\text{ MS}+0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ ,其生根率为 95.2%,平均每株生根 5 条。组培苗炼苗移栽成活率达 95%。该研究旨在建立‘鲁林 9 号杨’的离体再生体系,为‘鲁林 9 号杨’品种遗传改良和分子生物学研究等提供试验基础,为培育高品质、速生、高抗的杨树新品种奠定理论基础。

**关键词:**‘鲁林 9 号杨’;组织培养;再生体系

**中图分类号:**S792.11

**文献标志码:**A

**文章编号:**1001-7461(2022)02-0083-07

Establishment of *in vitro* Regeneration System of *Populus deltoides* × ‘Lulin No. 9’

WANG Ru-yue, WANG Xue-ling, LI Ji-hong\*, WANG Dong-yue, NIU Mu-ge

(College of Forestry, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China)

**Abstract:** In this study, the sterile leaves and petioles of *Populus deltoides* × ‘Lulin No. 9’ were used to produce adventitious buds, then the adventitious buds were rooted to form regenerated plants. The results showed that the optimum medium of adventitious buds induced by the leaves of *P. deltoides* × ‘Lulin No. 9’ was  $1/2\text{ MS}+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ , the induction rate of adventitious bud was 100%, and the average number of buds was 10.83. The optimum medium for inducing adventitious buds from petioles was  $1/2\text{ MS}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ , the induction rate of adventitious bud was 94%, and the average number of buds was 5.67. The best rooting medium was  $1/2\text{ MS}+0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ . The rooting rate was 95.2%, with an average of 5 roots per plant. The survival rate of the regenerated seedlings was 95%. The purpose of this study was to establish an *in vitro* regeneration system of *P. deltoides* × ‘Lulin No. 9’, to provide an experimental basis for genetic improvement and molecular biology research of *P. deltoides* × ‘Lulin 9’, and to lay a theoretical foundation for cultivating new popular varieties with high quality, fast growth and high resistance.

**Key words:** *Populus deltoides* × ‘Lulin 9’; tissue culture; regeneration system

‘鲁林 9 号杨’(*Populus deltoides* × ‘Lulin 9’)是山东省林业科学研究院以美洲黑杨 L324 杨(*P. deltoides* ‘L324’)为母本,美洲黑杨 T26 杨(*P. deltoides* ‘T26’)为父本,通过人工杂交选育出

的雄性美洲黑杨杂交新品种、良种,具有速生、高抗、适应性强等特点,是我国华北地区主要的造林和园林绿化树种<sup>[1]</sup>。

杨树作为林木遗传育种中的模式树种<sup>[2]</sup>,自

收稿日期:2021-09-15 修回日期:2021-10-25

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2018ZX08020002);山东省自然科学基金项目(ZR2013CM020);山东省农业良种项目(201496)。

第一作者:王如月。研究方向:林木遗传学与生物技术。E-mail:1982531958@qq.com

\*通信作者:李际红,博士,教授,博士生导师。研究方向:林木遗传学与生物技术。E-mail:jhli@sdau.edu.cn

1986年 T. J. Parsons 等<sup>[3]</sup>首次证实可以进行遗传转化和表达外源基因以来,杨树的转基因研究已涉及抗虫、抗除草剂、木材材性改良、抗逆、抗病等方面,其中通过农杆菌介导法进行遗传转化是最常见的方法<sup>[4]</sup>。R. L. Yang 等<sup>[5]</sup>利用农杆菌介导的方法将多个抗虫基因和抗盐基因转化杨树,从而开发出抗鳞翅目和鞘翅目害虫同时又具有一定的耐盐性的杨树新品种。朱伟康等<sup>[6]</sup>利用农杆菌介导叶盘法将雄性不育基因 *TA29-Barnase* 转化到转基因欧洲黑杨(*P. nigra*)中,从而获得雄性不育的抗虫性欧洲黑杨。

但目前农杆菌转化成功的基因型大多是欧洲山杨、银白杨、黑杨以及他们的杂交种,针对我国华北地区主栽的一些欧美杨和美洲黑杨优良无性系,其遗传转化体系还有待完善<sup>[7]</sup>。农杆菌介导法是利用植物的组织再生技术,使用携带目标基因的菌液感染植物伤口从而获得转基因植株<sup>[8]</sup>。因此建立杨树的离体再生体系,对杨树品种的遗传改良具有重要的意义。目前关于杨树再生体系的构建已有大量相关报道<sup>[9-20]</sup>。由于黑杨不同类群之间具有明显的表型和生理特征差异<sup>[21]</sup>,且之前对于黑杨派再生体系的研究较少<sup>[19]</sup>,这也使得黑杨派新品种再生体系的构建存在一定难度。本研究以‘鲁林9号杨’无菌叶片和叶柄作为试验材料,研究杨树生长调节剂对叶片、叶柄直接诱导出芽和诱导生根的影响,旨在建立‘鲁林9号杨’的离体再生体系,为‘鲁林9号杨’的无性扩繁与生产利用做出贡献,同时也为美洲黑杨品种的遗传改良和分子生物育种研究等奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

该试验所需的‘鲁林9号杨’试验材料是于4月在宁阳县高桥林场采集的健壮、无病虫害的1年生枝条,且每个枝条上都有待萌生的腋芽。将采集回来的枝条修剪成30~50 cm,置于光照培养箱中进行水培,培养温度为26℃,光照强度为2 000~3 000 lx,光照时间为16 h·d<sup>-1</sup>,待腋芽萌发出嫩梢后进行后续试验。

### 1.2 试验方法

1.2.1 无菌试验材料的获取 取水培后获得的嫩梢,在流水下冲洗30 min,然后将其转移到超净工作台中,用75%的乙醇浸泡30 s,浸泡结束后用无菌水冲洗4~5次,再用0.1%的升汞浸泡15 min(每升0.1%的升汞中添加2~3滴的吐温-80),浸泡结束后用无菌水冲洗4~5次,摊开晾在无菌滤纸上吸干水分。用无菌剪刀将茎段修剪成1 cm,保证

每个茎段带有1个或多个腋芽,然后接种于添加0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA和0.05 mg·L<sup>-1</sup> NAA的1/2 MS培养基中促进腋芽萌发。

1.2.2 ‘鲁林9号杨’叶片诱导不定芽培养基的筛选 设置6-BA 3个浓度(0.1、0.3、0.5 mg·L<sup>-1</sup>)、NAA 3个质量浓度(0.1、0.15、0.2 mg·L<sup>-1</sup>)共9个组合的培养基配方,待腋芽萌发并长至1~2 cm,取其叶片,垂直于主叶脉切3~4刀,然后将其叶片近轴面朝上分别接种到上述培养基中诱导不定芽。每个组合接种15片叶,每个组合设置3次重复。接种30 d后,观察统计在每个处理中叶片的诱导出芽率及诱导出的不定芽的数量。

#### 1.2.3 ‘鲁林9号杨’叶柄诱导不定芽培养基的筛选

设置6-BA 3个质量浓度(0.3、0.5、0.7 mg·L<sup>-1</sup>)、NAA 3个质量浓度(0.1、0.15、0.2 mg·L<sup>-1</sup>)共9个组合的培养基配方,待腋芽萌发并长至1~2 cm,取其叶柄,将其剪成1 cm横放于上述培养基中诱导不定芽。每个组合接种15个叶柄,每个组合设置3次重复。接种35 d后,观察统计在每个处理中叶柄的诱导出芽率及诱导出的不定芽的数量。

#### 1.2.4 ‘鲁林9号杨’不定芽诱导生根培养基的筛选

设置IBA 3个质量浓度(0.1、0.15、0.2 mg·L<sup>-1</sup>)、NAA 3个质量浓度(0.03、0.05、0.1 mg·L<sup>-1</sup>)共9个组合的培养基配方,待叶片和叶柄上诱导出的不定芽生长至1.5~2 cm,将其接种到上述培养基中诱导生根。每个组合接种15瓶,每瓶接种2棵不定芽,每个组合设置3次重复。接种15 d后,观察统计始生根时间、生根率、生根数量及根系的生长状态。

1.2.5 ‘鲁林9号杨’炼苗移栽 待诱导获得的生根苗生长到5 cm,选取生长健壮的幼苗,先在温室大棚的苗床上放置3~5 d,然后开盖放置2~3 d进行炼苗,炼苗结束后,将生根苗从瓶中取出,轻轻洗净根部的琼脂,移栽到温室的穴盘中,营养基质为草炭:蛭石:珍珠岩按体积比3:2:1配置而成。移栽前,用0.1%的多菌灵浸泡培养基30 min,然后用清水冲洗多次,将残留的多菌灵冲洗干净。移栽后1周内用无纺布覆盖在穴盘上,之后将无纺布去除,进行正常的肥水管理,待幼苗长到20 cm可将其移栽到室外大田里。移栽15 d后,观察统计移栽成活率。

### 1.3 培养条件

除特殊说明外,试验方法中的培养温度为(24±2)℃,光照强度为2 000~3 000 lx,光照时间为12 h·d<sup>-1</sup>。方法中所用的培养基中均添加6 g·L<sup>-1</sup> 琼脂和30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖,pH 5.8~6.2。

1.4 数据处理及分析

出芽率/%=诱导出芽的外植体数/接种的外植体数×100%;平均出芽数(个)=诱导出不定芽的总数/诱导出芽的外植体数;生根率/%=生根的不定芽数/接种的不定芽数×100%。平均生根数(个)=诱导出不定根的总数/生根的不定芽数;移栽成活率/%=成活植株数/移栽总植株数×100%。试验数据采用 Microsoft Excel 2010 进行整理统计,采用 SPSS 19.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度的激素配比对‘鲁林 9 号杨’叶片诱导不定芽的影响

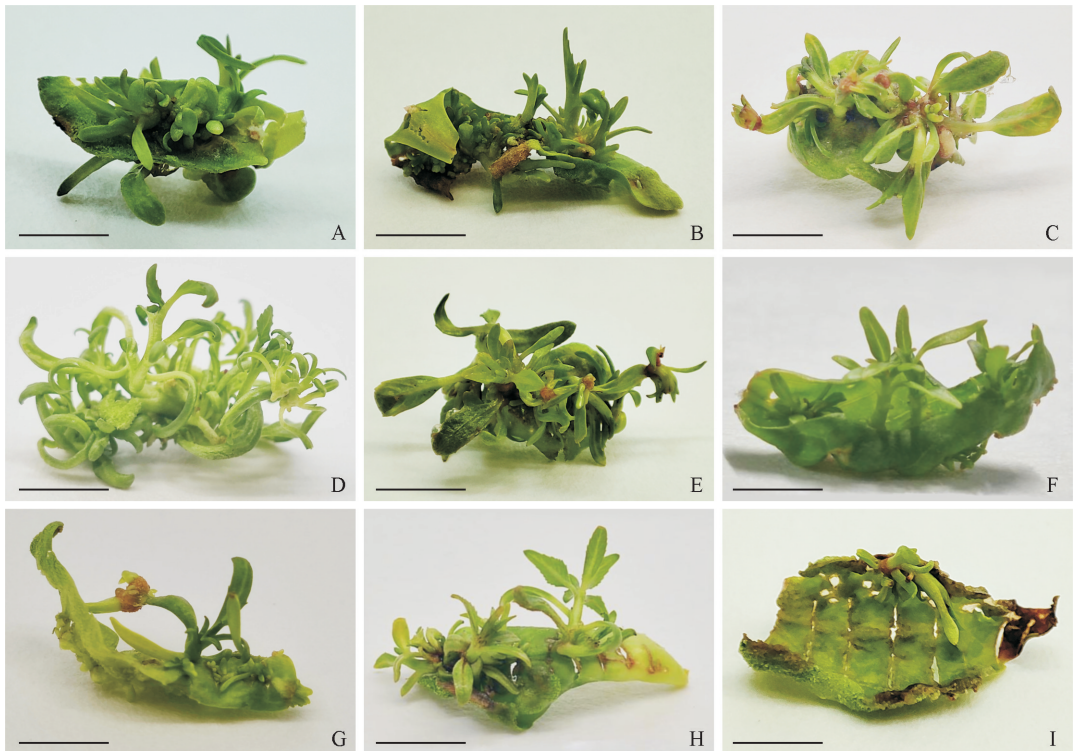
将萌发腋芽的叶片接种到 9 个组合的培养基上,30 d 后观察‘鲁林 9 号杨’叶片诱导出不定芽的情况如表 1 所示。接种 10 d 时叶片出现卷曲,接种 15 d 时切口处膨大并出现芽点。接种 30 d 时观察发现,随着 6-BA 质量浓度的增加,叶片诱导出芽率呈现先上升后下降的趋势(图 1)。当 6-BA 质量浓度为 0.3 mg·L<sup>-1</sup>、NAA 质量浓度为 0.1 mg·L<sup>-1</sup>

时接种叶片出芽率最高达 100%,平均叶片诱导出的不定芽数量最多为 10.83 个(图 1D);当 6-BA 质量浓度为 0.5 mg·L<sup>-1</sup>、NAA 质量浓度为 0.2 mg·L<sup>-1</sup> 时叶片诱导出芽率最低仅为 11%,诱导出的不定芽数量最少仅为 1 个且叶片出现褐化(图 1I)。由此可知,诱导‘鲁林 9 号杨’叶片产生不定芽的最适激素组合是 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA 和 0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA。

表 1 不同质量浓度的激素配比对‘鲁林 9 号杨’叶片诱导不定芽的影响

Table 1 Effects of different concentrations of hormones on adventitious bud induction of <i>Populus deltoides</i> × ‘Lulin 9’ leaves				
序号	6-BA /(mg·L <sup>-1</sup> )	NAA /(mg·L <sup>-1</sup> )	出芽率 /%	平均 出芽数/个
1	0.1	0.10	33.3de	2.5cd
2	0.1	0.15	44.28d	2.83c
3	0.1	0.20	61.5bc	3.17c
4	0.3	0.10	100a	10.83a
5	0.3	0.15	83.3ab	7.83b
6	0.3	0.20	65.95bc	3.5c
7	0.5	0.10	66.82bc	2.33cd
8	0.5	0.15	67.78bc	4.25c
9	0.5	0.20	11e	1d

注:小写字母分别表示在 0.05 水平的差异显著性。



注:A~I 分别表示在表 1 中 1~9 个激素配比的培养基中叶片分化及诱导出芽的情况,比例尺=1 cm。

图 1 不同质量浓度的激素配比对‘鲁林 9 号杨’叶片诱导不定芽的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of hormones on adventitious bud induction of *P. deltoides* ‘Lulin 9’ leaves

2.2 不同质量浓度的激素配比对‘鲁林 9 号杨’叶柄诱导不定芽的影响

将萌发腋芽的叶柄接种到 9 个组合的培养基上,35 d 后观察‘鲁林 9 号杨’叶柄诱导不定芽的情

况如表 2 所示。接种 20 d 时观察发现叶柄两端切口处出现膨大,接种 25 d 时发现叶柄两端出现芽点,接种 35 d 后发现,在 NAA 质量浓度相同的情况下随着 6-BA 质量浓度的升高,叶柄诱导出芽率呈



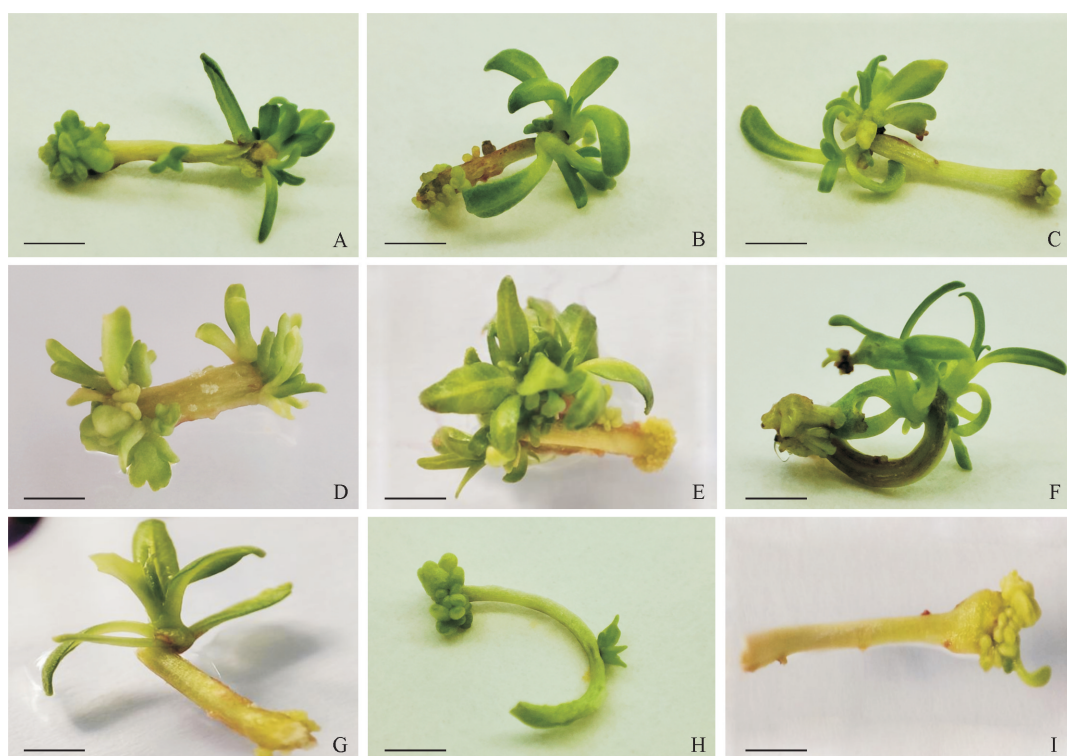
先上升后下降的趋势(图 2)。当 6-BA 的质量浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 的质量浓度为  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,叶柄诱导出芽率最高为 94% 且诱导出的不定芽数量最多为 5.67 个,诱导出的不定芽叶片翠绿,生长状态最好(图 2E),当 6-BA 的质量浓度增加至  $0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,叶柄诱导分化率降低,且随着 NAA 质量浓度的增加,叶柄诱导出不定芽的数量逐渐降低,当 NAA 质量浓度增加到  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,叶柄只有愈伤生长(图 2I)抑制不定芽的产生。由此可知,‘鲁林 9 号’杨叶柄诱导不定芽的最适配方为 6-BA 的质量浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 的质量浓度为  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 不同激素比对‘鲁林 9 号杨’叶柄诱导不定芽的影响

Table 2 Effects of different hormone combinations on adventitious buds induced by petiole of *P. deltoides* × ‘Lulin 9’

序号	6-BA / $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	NAA / $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	出芽率 /%	平均 出芽数/个
1	0.3	0.1	57.14bc	2cd
2	0.3	0.15	77.78ab	3bc
3	0.3	0.2	86.11a	3.3bc
4	0.5	0.1	83.33a	4b
5	0.5	0.15	94a	5.67a
6	0.5	0.2	80a	4.3ab
7	0.7	0.1	36cd	1.3de
8	0.7	0.15	16.67de	0.67de
9	0.7	0.2	7e	0.33e

注:小写字母分别表示在 0.05 水平的差异显著性。表 3 同。



注:A~I 分别表示在表 2 中 1~9 个激素配比的培养基中叶柄分化及诱导出芽的情况,比例尺=0.5 cm。

图 2 不同激素比对‘鲁林 9 号杨’叶柄诱导不定芽的影响

Fig. 2 Effects of different hormone combinations on adventitious buds induced by petiole of *P. deltoides* × ‘Lulin 9’

### 2.3 不同激素比对‘鲁林 9 号杨’诱导不定芽生根的影响

待叶片和叶柄上诱导产生的不定芽生长至 1.0~2 cm 时,将其掰下接种到 9 个不同组合的培养基中,观察记录始生根时间,接种 15 d 后观察统计生根情况(表 3,图 3)。当 IBA 质量浓度为  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 质量浓度为  $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,诱导生根率最高为 95.2%,根系生长快,始生根时间最短仅为 5 d,平均每株生根数量为 5 条,主根长且粗壮(图 3D)。当 IBA 质量浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 质量浓度为  $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,诱导生根率最低仅为 36.3%,平均每株生根数量仅为 1 条,且始生根时间最晚为 15 d,根部出现愈伤,抑制根的生长

(图 3A)。当 IBA 质量浓度升高至  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 质量浓度升高为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,根部出现大面积愈伤,严重抑制了根的生长(图 3D)。由此可知,诱导‘鲁林 9 号杨’不定芽生根的最适激素质量浓度为 IBA 质量浓度为  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 质量浓度为  $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

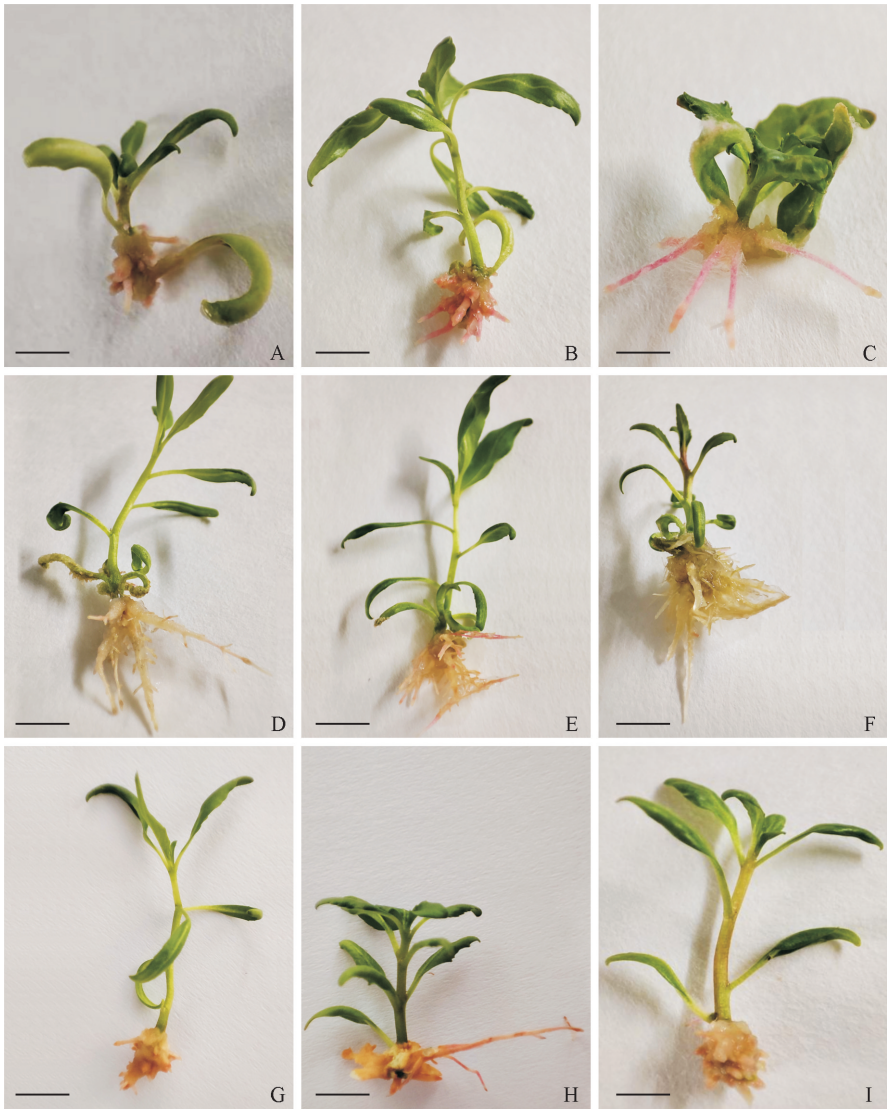
### 2.4 ‘鲁林 9 号杨’组培苗移栽

将生长到 5 cm 的健壮组培苗,在温室大棚的苗床上放置 7~10 d,然后开盖放置 2~3 d 进行炼苗。炼苗结束后轻轻将根部的琼脂清洗干净,移栽到穴盘中,穴盘中的基质为草炭:蛭石:珍珠岩按体积比 3:2:1 配置而成(图 4A)。移栽 30 d 后进行调查,成活率达 95%(图 4B)。

表 3 不同激素对比对‘鲁林 9 号杨’不定芽诱导生根的影响

Table 3 Effects of different hormone ratios on adventitious bud induction and rooting of *P. deltoides* × ‘Lulin 9’

序号	IBA /(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA /(mg · L <sup>-1</sup> )	始生根 时间/d	生根率 /%	平均 生根数/条	生根状态
1	0.1	0.03	15	36.3c	1	根部有愈伤生长,抑制生根
2	0.1	0.05	10	41.5bc	6	根部有少量愈伤形成,生长慢
3	0.1	0.1	7	77.1ab	4	根纤细,呈现淡红色,生长较慢
4	0.15	0.03	5	95.2a	5	主根长且粗壮,无愈伤形成,生长快
5	0.15	0.05	10	50bc	6	不定根较多,无愈伤形成,生长较快
6	0.15	0.1	10	65.7abc	9	不定根多,主根不明显,根部产生小面积愈伤,生长较快
7	0.2	0.03	7	63.9abc	4	根细短,生长较慢
8	0.2	0.05	13	48.1bc	4	根短粗,根部产生愈伤,生长慢
9	0.2	0.1	13	64.4abc	2	根短小,根部产生大量愈伤,抑制生长



注:A~I 分别表示在表 1 中 1~9 个激素配比的培养基中不定芽生根的情况,比例尺=1 cm。

图 3 不同激素对比对‘鲁林 9 号杨’不定芽生根的影响

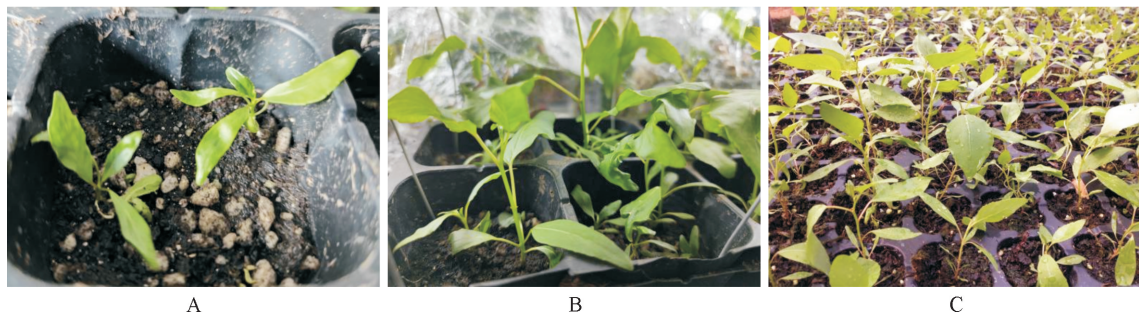
Fig. 3 Effects of different hormone ratios on adventitious bud rooting of *P. deltoides* × ‘Lulin 9’

3 结论与讨论

本研究以‘鲁林 9 号杨’无菌叶片和叶柄作为试

验材料,建立了‘鲁林 9 号杨’完整的离体再生体系,确定了叶片诱导不定芽的最佳培养基为 1/2 MS+0.3 mg · L<sup>-1</sup>6-BA+0.15 mg · L<sup>-1</sup>NAA,叶片诱





注:A为移栽5 d时‘鲁林9号杨’生长情况;B为移栽15 d时‘鲁林9号杨’幼苗生长情况;C为移栽20 d时‘鲁林9号杨’生长情况。

图4 ‘鲁林9号杨’组培苗移栽

Fig. 4 Transplanting of tissue culture seedlings of *P. deltoides* × ‘Lulin 9’

导分化率可达100%,平均分化不定芽数达10.83个;叶柄诱导不定芽的最佳培养基为 $1/2\text{ MS}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ ,叶柄诱导分化为94%,平均分化不定芽数可达5.67个;最佳生根培养基为 $1/2\text{ MS}+0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ ,始生根时间5 d,生根率可达95.2%。组培苗炼苗成活率达95%。

杨树的组织培养通常通过愈伤、器官、原生质体等途径进行苗木的再生<sup>[22]</sup>。愈伤组织诱导易,但再分化时间长,有变异发生,亲本性状的稳定性受限<sup>[23]</sup>。汪玲等<sup>[16]</sup>、贾庆彬等<sup>[17]</sup>在‘725杨’(*P. deltoides* cl. ‘725’)组培繁殖研究中,叶片接种30 d时诱导获得愈伤组织,愈伤组织接种50 d后其诱导分化率仅为77.71%。在本研究中,在接种30 d时‘鲁林9号杨’叶片诱导分化率即可达100%,平均分化不定芽数为10.83个。康薇等<sup>[18]</sup>利用美洲黑杨‘中嘉8号杨’(*P. deltoides* (I-63 × I-6))叶片直接诱导分化不定芽,在接种25 d时不定芽诱导分化率达85%,这与我们的研究结果相似。由此可见,利用杨树器官诱导成芽不仅能缩短培育时间,而且诱导分化率高,能够获得性状稳定一致优良苗木。

激素种类及其质量浓度配比也是杨树再生的关键因素<sup>[21]</sup>。沈周高等<sup>[24]</sup>发现,当6-BA:NAA比值在2~5时,有利于中林2001杨(*P. deltoides* cv. ‘zhonglin-2001’)、南林95杨(*P. deltoides* Bartr. cv. Lux × *P. euramericana* (Dode) Guineir cv. I-45/51)、南抗杨(*P. deltoides* cl. Nankang)叶片不定芽的分化。在本研究中,当6-BA与NAA的质量浓度比值等于3时,叶片的诱导分化率为100%且诱导产生的不定芽数量最多达到10.83个;当6-BA与NAA的质量浓度比值等于2.5时,叶片诱导分化率非常低仅为11%且叶片出现褐化的现象。当6-BA的质量浓度与NAA的质量浓度比为10:3时,叶柄诱导分化率可达94%,诱导产生的不定芽最多,为5.67个,且不定芽生长状态良好;当6-BA的质

量浓度与NAA的质量浓度比值升高至3.5时,叶柄伤口处诱导产生大量愈伤从而抑制不定芽的产生。因此6-BA与NAA的质量浓度比值在3时,有利于不定芽的诱导。

#### 参考文献:

- [1] 荀守华,姜岳忠,乔玉玲,等. 杨树速生优质新品种‘鲁林9号杨’[J]. 林业科学,2014,50(7):169.  
XUN S H,JIANG Y Z,QIAO Y L,et al. A new poplar variety ‘Luli9’[J]. Scientia Silvae Sinicae,2014,50(7):169. (in Chinese)
- [2] SIMON H,JEAN-CHARLES L,DANIEL C,et al. Stability of transgene expression in poplar:a model forest tree species[J]. Positive Psychology Research,2003,60(5):427-438.
- [3] PARARSONS T J,SINKAR V P,STETTLER R F,et al. Transformation of poplar by *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Bio/Technology,1986,4:533-536.
- [4] 叶冬梅,华佳文,于晓倩,等. 小美旱杨再生体系的建立[J]. 分子杨树育种,2020,18(14):4734-4739.  
YE D M,HUA J W,YU X Q,et al. Establishment of regeneration system of *Populus popularis*[J]. Molecular Plant Breeding,2020,18(14):4734-4739. (in Chinese)
- [5] YANG R L,WANG A X,ZHANG J Y,et al. Genetic transformation and expression of transgenic lines of *Populus* × *euramericana* with insect-resistance and salt-tolerance genes[J]. Genetics and Molecular Research,2016,15(2):1-14.
- [6] 朱伟康,贾小明,李周岐. 转 Bt 基因欧洲黑杨转化 TA29-Bar-nase 基因的研究[J]. 西北林学院学报,2017,32(1):121-125.  
ZHU W K,JIA X M,LI Z Q. Transformation of TA29-Bar-nase gene of Bt transgenic *Populus nigra*[J]. Journal of Northwest Forestry University,2017,32(1):121-125. (in Chinese)
- [7] 丁莉萍,王宏芝,魏建华. 杨树转基因研究进展及展望[J]. 林业科学研究,2016,29(1):124-132.  
DING L P,WANG H Z,WEI J H. Progress and prospect of research in transgenic poplar[J]. Forestry Research,2016,29(1):124-132. (in Chinese)
- [8] 闫允青. 东方梨扩繁体系的优化和叶片高效再生体系的建立[D]. 南京:南京农业大学,2016:1-63.
- [9] 丁依,巩彦西,欧品莉,等. 杨树组织培养研究综述[J]. 天津农业科学,2018,24(11):82-85.
- [10] 李素,陈芳,殷缘,等. 山新杨 PdPapGH12 基因克隆及其响应

- 胁迫的组织表达[J]. 森林工程, 2021, 37(4): 11-21.
- LI S, CHEN F, YIN Y, *et al.* Cloning of PdPapGH12 gene of Shanxin poplar (*Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*) and its tissue expression in response to stress[J]. Forest Engineering, 2021, 37(4): 11-21. (in Chinese)
- [11] 甄诚. 毛果杨组培再生及遗传转化体系的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2016: 1-53.
- [12] 周熙莹. 84K 杨再生和遗传转化体系的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013: 1-53.
- [13] 桑萨尔珠拉, 代金玲, 乌日罕, 等. 新疆杨组培再生体系建立[J]. 分子植物育种, 2020, 18(8): 2663-2670.
- Sang Saerzhula, DAI J L, WU R H, *et al.* Establishment of tissue culture regeneration system of *Populus alba* var. *pyramidalis* Bge. [J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(8): 2663-2670. (in Chinese)
- [14] 李际红, 邢世岩, 焦振, 等. 窄冠白杨组培快繁与再生体系的建立[J]. 中国农学通报, 2008, 24(7): 60-64.
- [15] 马宁. 四种杨树组培和再生体系的建立. [D]. 太原: 山西农业大学, 2015: 1-53.
- [16] 汪玲, 项艳. 725 杨组培繁殖技术研究[J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(4): 612-617.
- WANG L, XIANG Y. Research on tissue culture and propagation of *Populus deltoides* cl. '725' [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2013, 40(4): 612-617. (in Chinese)
- [17] 贾庆彬, 王晓伟, 邹建军, 等. 大青杨无性系材性分析与优良无性系选择[J]. 森林工程, 2020, 36(2): 12-19.
- JIA Q B, WANG X W, ZOU J J, *et al.* Analysis of variance in wood properties of *Populus ussuriensis* clones and superior clones selection[J]. Forest Engineering, 2020, 36(2): 12-19. (in Chinese)
- [18] 康薇, 郑进, 刘凯于, 等. 美洲黑杨(中嘉8号)离体叶片再生研究[J]. 武汉杨树学研究, 2006, 24(1): 83-86.
- [19] 付成华. 黑杨派杨树再生体系建立的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005: 1-46.
- [20] 杨林娜, 樊军锋, 高建社, 等. 白杨新杂种 I-101 × 84K 杨组培快繁技术研究[J]. 西北林学院学报, 2010, 25(5): 68-72.
- YANG L N, FAN J F, GAO J S, *et al.* Establishment of tissue-culture regeneration system of *Populus* hybrid I-101 × poplar 84 [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2010, 25(5): 68-72. (in Chinese)
- [21] 陈存, 丁昌俊, 黄秦军, 等. 美洲黑杨表型核心种质库构建[J]. 林业科学研究, 2021, 34(2): 1-11.
- CHEN C, DING C J, HUANG Q J, *et al.* Construction of phenotypic core collection of *Populus deltoides* [J]. Forest Research, 2021, 34(2): 1-11. (in Chinese)
- [22] GREGORY C P, MARTINA G. Plant tissue culture media and practices: an overview[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant: Journal of the Tissue Culture Association, 2019, 55(3): 242-257.
- [23] LESTER D T, BERBEE J C. Within-clone variation among black poplar tree derived from callus culture[J]. Forest Science, 1977, 23(1): 122-131.
- [24] 沈周高, 项艳, 蔡诚, 等. 3 个杨树品种叶片再生体系的建立[J]. 中国农学通报, 2006, 22(11): 90-96.
- SHEN Z G, XIANG Y, CAI C, *et al.* Establishment of leaf regeneration system of three poplar varieties [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(11): 90-96. (in Chinese)

(上接第 42 页)

- [33] STRES B, DANEVČIĆ T, PAL L, *et al.* Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 66(1): 110-122.
- [34] SCHJØNNING P, THOMSEN I K, MOLDRUP P, *et al.* Linking soil microbial activity to water- and air-phase contents and diffusivities [J]. Soil Science Society of America Journal, 2003, 67(1): 156.
- [35] TRIPATHI B M, KIM M, SINGH D, *et al.* Tropical soil bacterial communities in Malaysia: pH dominates in the equatorial tropics too [J]. Microbial Ecology, 2012, 64(2): 474-484.
- [36] WANG J, PAN F, SOININEN J, *et al.* Nutrient enrichment modifies temperature-biodiversity relationships in large-scale field experiments [J]. Nature Communications, 2016, 7: 13960.
- [37] JIAO S, YANG Y, XU Y, *et al.* Balance between community assembly processes mediates species coexistence in agricultural soil microbiomes across eastern China [J]. The ISME Journal, 2020, 14(1): 202-216.
- [38] LAN G, LI Y, LESUEUR D, *et al.* Seasonal changes impact soil bacterial communities in a rubber plantation on Hainan Island, China [J]. The Science of the Total Environment, 2018, 626: 826-834.
- [39] HANSON C A, FUHRMAN J A, HORNER-DEVINE M C, *et al.* Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape [J]. Nature Reviews Microbiology, 2012, 10(7): 497-506.
- [40] BAHRAM M, PEAY K G, TEDERSOO L. Local-scale biogeography and spatiotemporal variability in communities of mycorrhizal fungi [J]. New Phytologist, 2015, 205(4): 1454-1463.
- [41] NEMERGUT D R, SCHMIDT S K, FUKAMI T, *et al.* Patterns and processes of microbial community assembly [J]. Microbiology & Molecular Biology Reviews, 2013, 77(3): 342-356.
- [42] ZHOU, JZ, NING, *et al.* Stochastic community assembly: does it matter in microbial ecology? [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2017, 81(4):
- [43] AVERILL C, LEANNA L, MICHAEL D, *et al.* Spatial vs. temporal controls over soil fungal community similarity at continental and global scales [J]. The ISME Journal, 2019, 13(8): 2082-2093.