

‘玉露香’梨组培快繁体系建立研究

成晓华¹, 赵曙良², 张莹³, 张玉星^{1,4*}

(¹河北农业大学园艺学院, 河北保定 071000; ²河北工程大学园林与生态工程学院, 河北邯郸 056038; ³河北省农林科学院生物技术与食品科学研究所, 石家庄 050050; ⁴河北省梨技术创新中心, 河北保定 071000)

摘要:【目的】针对梨品种间组培繁殖差异较大、‘玉露香’梨组培快繁体系尚未建立的问题开展了相关研究, 旨在建立其组培快繁技术体系, 以期为深入开展‘玉露香’梨分子生物学研究和脱毒苗培育提供技术支撑。【方法】以‘玉露香’梨 (*Pyrus bretschneideri* ‘Yuluxiang’) 组培苗为试材, 采用完全随机试验设计筛选影响继代增殖和生根的因素, 如基本培养基及植物生长调节剂; 设置暗培养和活性炭浓度梯度, 对继代苗生根条件进行优化。【结果】适宜‘玉露香’梨组培苗继代增殖的培养基为 MS+1.00 mg·L⁻¹ 6-BA+0.10 mg·L⁻¹ NAA, 繁殖系数为 3.57, 有效新梢数为 1.17; 适宜‘玉露香’梨组培苗生根的培养基为 1/2MS+2.00 mg·L⁻¹ NAA, 生根率为 60.00%, 生根条数为 3.40。暗培养和活性炭处理均不适于‘玉露香’梨组培苗生根, 其中, 暗培养 0~20 d 对‘玉露香’生根无显著促进作用, 且随暗培养时间延长, 根部愈伤增大, 茎尖枯死情况加重; 活性炭对‘玉露香’梨组培苗生根有显著抑制作用, 低浓度活性炭 (0.5 g·L⁻¹) 可促进地上部生长; 浓度提高到 1.0~4.0 g·L⁻¹ 时对地上部有明显抑制作用, 部分组培苗叶片出现褐化现象。移栽于温室 60 d 后, ‘玉露香’成活率为 32.57%, 植株生长良好。【结论】本试验建立了‘玉露香’梨组培快繁体系, 筛选出适宜‘玉露香’的继代增殖培养基、生根培养基及生根条件, 成功进行了‘玉露香’梨生根苗的驯化移栽。

关键词: ‘玉露香’梨; 组织培养; 继代增殖; 生根; 驯化移栽

Establishment of rapid tissue culture system of ‘Yuluxiang’ pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.)

CHENG Xiaohua¹, ZHAO Shuliang², ZHANG Ying³, ZHANG Yuxing^{1,4*}

(¹College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China; ²College of Landscape and Ecological Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China; ³Institute of Biotechnology and Food Science, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050050, China; ⁴Pear Technology Innovation Center of Hebei Province, Baoding 071000, China)

Abstract: 【Objective】 ‘Yuluxiang’ (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) is an excellent mid-late maturing variety with thin skin, delicate flesh, sweet taste aroma, and other excellent characteristics, which is widely recognized by the domestic and foreign fruit markets. In view of the large differences in tissue culture propagation among pear varieties and there was no rapid tissue culture system for ‘Yuluxiang’ pear, this paper carried out relevant research, aiming to establish the tissue culture technology system for ‘Yuluxiang’ pear, and provide technical support for further molecular biology research and virus-free seedlings cultivation of ‘Yuluxiang’ pear.

收稿日期: 2024-08-17 接受日期: 2024-10-16

作者简介: 成晓华, 女, 在读博士研究生, 研究方向: 果树结实生理与分子生物学。Tel: 18330266110, E-mail: chengxiaohua2016@126.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: zhyx@hebau.edu.cn

【Methods】 We obtained the experimental materials as follows: firstly, the new shoot explant of ‘Yuluxiang’ pear was collected from the specimen garden of Hebei Agricultural University after flowering 5~10 days. Secondly, the leaves of the explants were removed, leaving only the petiole. The single bud stem segment was cut to about 1 cm with pruning scissors and placed in a clean triangular bottle. It was rinsed with running water for 30 min, sterilized with 0.1% HgCl₂ for 6 min, then with 75% alcohol for 1 min. After rinsed three times with sterile water, it was dried using sterile filter paper. The explant was inoculated on the medium MS, with 1.00 mg·L⁻¹ 6-BA, 0.10 mg·L⁻¹ IBA, 30.0 g·L⁻¹ sucrose, 6.0 g·L⁻¹ agar, and 2.0 g·L⁻¹ PVA, and expanded to a certain amount to carry out the experiment. Factors affecting proliferation and rooting, such as basic medium and plant growth regulator, were screened by completely randomized experiment design; the way of gradient for dark culture time and activated carbon concentration was used to optimize rooting conditions. **【Results】** After compared the effect of basic medium (MS, 1/2MS, 1/4MS, NN69, WPM) and plant growth regulators (6-BA, NAA and IBA) on proliferation, it was found that MS+1.00 mg·L⁻¹ 6-BA +0.10 mg·L⁻¹ NAA +30.0 g·L⁻¹ sucrose +6.0 g·L⁻¹ agar was the suitable medium for the proliferation of ‘Yuluxiang’ pear, and the propagation coefficient was 3.57 and the number of effective seedlings was 1.17. The effects of basic medium (MS, 1/2MS, 1/4MS, NN69, 1/2NN69, 1/4NN69) and plant growth regulators (NAA or IBA) were compared on rooting effect of tissue culture seedlings. The suitable rooting medium for ‘Yuluxiang’ pear was 1/2MS+2.0 mg·L⁻¹ NAA +20.0 g·L⁻¹ sucrose +6.0 g·L⁻¹ agar. Under this rooting medium, the rooting rate was 60.00%, and the average number of rooting strips was 3.40. Based on the selected rooting medium, other culture factors affecting rooting were compared and the results were as follows. Compared the effect of dark culture for 0, 5, 10, 15, 20 days on rooting efficiency, there was no significant difference on rooting rate and average rooting number between dark culture for 5 days, 15 days and 0 day. The treatment of dark culture for 10 days and 20 days was significantly lower than the 0 day on the rooting rate and average rooting number. Compared to other treatments, the root of dark culture for 0 day was more robust. With the increase of dark culture time, the root became thinner, the stem tip dieback rate of tissue culture seedlings significantly increased, and the root callus became larger. After dark cultured for 20 days, all the stem tips died and the callus reached the maximum, which had significant inhibition effect on rooting and the ground part. In sum, dark culture had no significant promotion effect on rooting. We also compared the effect of activated carbon of 0~4.0 g·L⁻¹ added to the medium on rooting. It was found that when the activated carbon was added to the medium 0.5~4.0 g·L⁻¹, the rooting number was significantly decreased compared with the control (without activated carbon). When activated carbon was 1.0~4.0 g·L⁻¹, the rooting rate and rooting number were 0. When the concentration of activated carbon was 0.5 g·L⁻¹, it could promote the aboveground growth of ‘Yuluxiang’ seedlings. However, when the concentration of activated carbon was increased to 1.0~4.0 g·L⁻¹, there was an obvious inhibitory effect on the aboveground parts, and the leaves of some seedlings turned brown. To sum up, the addition of activated carbon significantly inhibited the rooting of ‘Yuluxiang’ pear.

After 40 days of induced rooting, 132 'Yuluxiang' tissue culture seedlings were domesticated in the greenhouse for 10 days and transplanted into the nutrient pots. It was observed that 'Yuluxiang' exhibited a mortality phenomenon 10 days after transplantation. This situation stabilized after 60 days, at this time, the survival rate of 'Yuluxiang' was 32.57%, and the overall growth of the plant was robust and healthy. **【Conclusion】** This study identified the optimal medium for proliferation and rooting, ensured the suitable rooting conditions for 'Yuluxiang' pear, and established a successful acclimation and transplantation process for tissue-cultured seedlings. In conclusion, the rapid propagation system for 'Yuluxiang' pear had been established.

Key words: *Pyrus bretschneideri* 'Yuluxiang'; Tissue culture; Subculture proliferation; Rooting; Acclimation and transplanting.

不同品种梨组培快繁体系研究已有很多报道, 但品种间差异较大。如李昌珠等发现欧洲梨'Koporeka'继代培养 28 d 繁殖系数达 5.60, 生根培养 14 d 时, 生根率达 88.65%, 'Vila'连续培养 60 d 只形成少量愈伤组织, 无芽、根的分化^[1]; 宋梅等研究表明, 与'砀山酥梨'相比, 诱导'库尔勒香梨'茎尖分化更难, 且繁殖系数较小^[2]; 刘小芳等认为'库尔勒香梨'的繁殖系数最高为 1.30, 生根诱导效果较差, 仅有一株组培苗在 $1/2MS+1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.05\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭生根培养基上诱导出一条根^[3]; 其他品种如'中梨 1 号'在 $1/2MS+1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}$ 中生根率为 44.80%^[4], '黄冠'梨生根率最高为 33.33%^[5]。综上所述, 不同梨品种间组培快繁效率差异较大, 有必要针对具体品种开展相关研究, 建立适合该品种的组培快繁体系。

'玉露香'梨是山西省农业科学院果树研究所'库尔勒香梨'×'雪花'梨杂交选育的优新品种, 具有果皮薄、果肉细腻、口感香甜、石细胞少等优点, 受到国内外市场的普遍认可^[6-7], 是农业农村部主推的中晚熟梨优良品种, 已在山西、河北等地进行大面积推广^[8]。目前, '玉露香'梨研究主要集中在生理及栽培方面^[7-9], 尚未建立组培快繁体系, 本试验旨在建立'玉露香'梨高效、稳定的组培快繁体系, 为深入开展'玉露香'梨的分子生物学研究和脱毒苗培育提供理论和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为实验室保存的继代 30 d 的'玉露香'梨组培苗。常规培养条件: 温度 (25 ± 2) °C, 光照强度 2000~3000 lx, 光周期 (昼/夜) =16 h/8 h。

1.2 试验方法

1.2.1 材料获得

盛花后 5~10 d, 于河北农业大学标本园采集'玉露香'梨新梢外植体。将外植体去掉叶片, 留下叶柄, 用剪枝剪剪为 1 cm 左右单芽茎段, 放于干净三角瓶中, 流水冲洗 30 min。在超净台上用 0.1% HgCl_2 消毒 6 min, 75%酒精消毒 1 min, 无菌水冲洗 3 次, 无菌滤纸吸干水分后, 接种于 $MS+1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+30.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 蔗糖}+6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+2.0$

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVA 培养基上，扩繁到一定数量后开展试验。

1.2.2 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗继代的影响

以 MS、1/2MS、1/4MS、NN69、WPM 为基本培养基，附加 $1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA、 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $30.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂、 $2.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVA（pH 值为 5.8~6.0）共 5 个处理开展试验，每个处理接 6 瓶，每瓶接 5 个 1 cm 左右单芽茎段，采用完全随机试验设计，重复 3 次，常规培养 40 d 后，调查统计繁殖系数及有效新梢数（繁殖系数=调查总株数/接种株数；有效新梢为继代苗中株高 $\geq 1.5\text{ cm}$ ，可用于生根的嫩梢；平均有效新梢数=调查有效新梢数/接种株数；下同）。

1.2.3 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗继代的影响

以 $\text{MS}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 为基本培养基，附加 0.50、1.00、1.50 和 $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA；以 $\text{MS}+1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 为基本培养基，附加 0.05、0.10、0.15 和 $0.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA 或 NAA，共 12 个处理开展试验。

1.2.4 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

以 MS、1/2MS、1/4MS、NN69、1/2NN69、1/4NN69 为基本培养基，附加 $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $20.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂（pH 值为 5.8~6.0）共 6 个处理开展试验，每个处理接 9 瓶，每瓶接 5 个 1 cm 左右单芽茎段，采用完全随机试验设计，重复 3 次，常规培养 40 d 后，调查统计生根率及平均生根数（生根率（%）=生根株数/接种株数 $\times 100\%$ ；平均生根数（条）=主根发生总数/接种株数；下同）。

1.2.5 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

以 1/2MS 为基本培养基，附加 0.20、0.50、1.00、2.00、 $5.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA 或 NAA，共 10 个处理开展试验。

1.2.6 暗培养时间对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

以 1.2.4、1.2.5 筛选到的生根培养基为基础，设置暗培养时间为 0 d、5 d、10 d、15 d、20 d，共 5 个处理开展试验。

1.2.7 活性炭浓度对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

以 1.2.4、1.2.5 筛选到的生根培养基为基础，设置活性炭浓度为 0.0、0.5、1.0、2.0、 $4.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，共 5 个处理开展试验。

1.2.8 ‘玉露香’梨组培生根苗驯化移栽

选取生根诱导 40 d 的‘玉露香’梨组培苗 132 棵，于温室强光（18000~35000 lx）闭瓶锻炼 1 周后开瓶锻炼 3 d，移栽到基质（草炭土：蛭石体积比为 1：2， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 20 min 后晾凉备用）中。移栽后，喷施 0.1% 多菌灵预防病害，扣育苗塑料盖保温保湿。一周后逐渐通风，10 d 左右去掉塑料盖。调查移栽 10 d、15 d、25 d、40 d、60 d ‘玉露香’梨组培苗的成活率（移栽成活率=成活株数/移栽株数 $\times 100\%$ ），并观察记录幼苗生长状态。

1.3 数据分析

使用 EXCEL 进行数据统计，利用 DPS 软件进行数据分析，采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗继代的影响

试验结果表明，WPM 处理的繁殖系数、有效新梢数及玻璃苗发生率均显著高于其他处理。MS、1/2MS、NN69 三者间繁殖系数无显著性差异，均显著高于 1/4MS 处理；MS、1/2MS、1/4MS、NN69 处理间有效新梢数均无显著性差异（表 1）。除了 MS 处理无玻璃苗出现外，1/2MS、1/4MS、NN69 处理组培苗均有不同程度玻璃化现象。由图 1 可知，MS 处理叶片大，叶色浓绿，相对更加健壮，1/2MS、1/4MS、NN69 处理叶片小而黄，有轻微玻璃化；而 WPM 处理叶片较大，叶色发黄，顶端卷曲，质脆，整体玻璃化严重。综合评价认为，适合‘玉露香’梨组培苗继代增殖的基本培养基为 MS 培养基。

表 1 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗继代增殖的影响

Table 1 Effects of minimal medium types on reproduction of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

基本培养基 Minimal medium	繁殖系数 Proliferation rate	有效新梢数 Effective shoots	玻璃苗发生率 The rate of vitrification seedling incidence/%
MS	3.97±0.42 b	1.00±0.00 b	0.00±0.00 d
1/2MS	4.10±0.00 b	1.00±0.00 b	23.33±3.84 bc
1/4MS	2.47±0.29 c	1.00±0.00 b	16.67±8.53 c
NN69	4.20±0.10 b	1.00±0.00 b	30.00±6.34 b
WPM	5.30±0.60 a	1.70±0.17 a	90.00±0.00 a

注：同一列中不同小写字母代表 $p<0.05$ 水平上的差异。下同。

Note: The different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $p<0.05$ level. The same below.

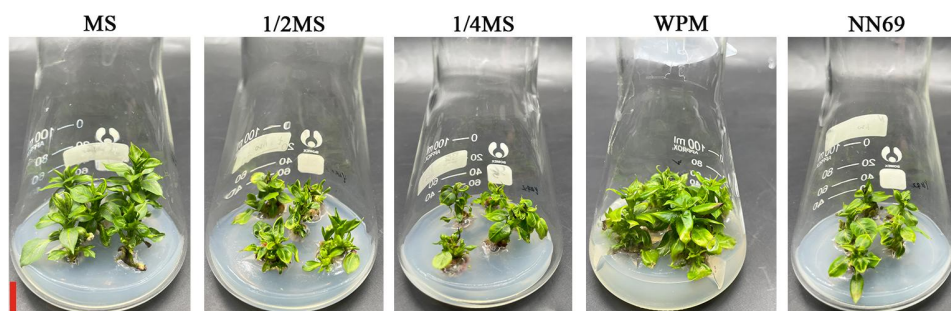


图 1 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗继代增殖的影响（比例尺：1 cm，下同）

Fig. 1 Effects of minimal medium types on reproduction of ‘Yuluxiang’ *in vitro*
(bars: 1 cm, the same below)

2.2 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗继代的影响

当 NAA 浓度一定时，1.00 mg·L⁻¹ 6-BA 处理的繁殖系数显著高于低浓度（0.50 mg·L⁻¹ 6-BA）和较高浓度（1.50~2.00 mg·L⁻¹ 6-BA）处理，不同处理间有效新梢数差异不显著

(表 2, 图 2)。总体而言, 培养基中添加 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 较合适, 浓度过高或过低均抑制‘玉露香’梨继代增殖。

当 6-BA 浓度一定时, 不同浓度 IBA 处理间繁殖系数差异不显著, $0.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理平均有效新梢数显著高于 0.05 、 $0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理, 但与 $0.20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 间差异不显著, 说明 0.15 、 $0.20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA 均适合‘玉露香’梨继代增殖。不同浓度 NAA 处理下, $0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 的繁殖系数与 $0.20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 间差异不显著, 但显著高于 0.05 、 $0.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理, 有效新梢数与各处理间差异不显著, 表明 0.10 或 $0.20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 均适合‘玉露香’继代增殖 (表 2, 图 2)。

整体看, $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 处理的繁殖系数显著高于其他处理, 有效新梢数与其他处理间无显著性差异, 更适合‘玉露香’梨组培苗继代扩繁。

表 2 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗继代增殖的影响

Table 2 Effects of plant growth regulators on the proliferation of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

植物生长调节剂浓度 The concentration of plant growth regulators/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			繁殖系数 Proliferation rate	有效新梢数 Effective shoots
6-BA	IBA	NAA		
0.50	-	0.10	1.67 ± 0.12 e	1.00 ± 0.00 c
1.00	-	0.10	3.57 ± 0.23 a	1.17 ± 0.21 abc
1.50	-	0.10	2.73 ± 0.06 cd	1.07 ± 0.12 bc
2.00	-	0.10	2.70 ± 0.10 cd	1.27 ± 0.06 ab
1.00	0.05	-	2.67 ± 0.21 cd	1.07 ± 0.06 bc
1.00	0.10	-	2.93 ± 0.32 cd	1.10 ± 0.00 bc
1.00	0.15	-	3.07 ± 0.15 bc	1.33 ± 0.12 a
1.00	0.20	-	2.77 ± 0.38 cd	1.23 ± 0.25 ab
1.00	-	0.05	2.47 ± 0.31 d	1.07 ± 0.12 bc
1.00	-	0.10	3.47 ± 0.12 ab	1.13 ± 0.06 abc
1.00	-	0.15	1.70 ± 0.36 e	1.00 ± 0.00 c
1.00	-	0.20	3.00 ± 0.46 bc	1.23 ± 0.12 ab

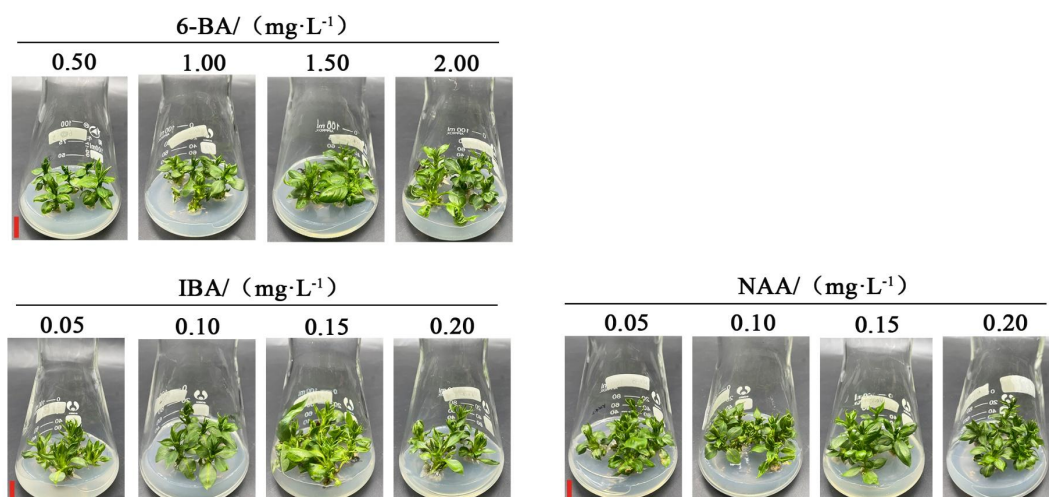


图 2 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗生长的影响

Fig. 2 Effects of plant growth regulators on the growth of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

2.3 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

MS、1/2MS 两处理间生根率、平均生根条数均无显著性差异，均显著高于其他处理，二者植株地上部叶片均较大、较为舒展、叶色油绿，长势好于其他处理（表 3、图 3）。在不同浓度 NN69 处理下，随 NN69 浓度降低，生根率显著下降，1/4NN69 处理的生根率、生根数均为 0（表 3）；不同 NN69 处理下‘玉露香’组培苗出现叶小、卷曲、皱缩、发黄的情况，整体长势较差。除去 1/2MS 与 NN69 的茎尖枯死率为 0 外，其它处理均有不同程度茎尖枯死情况出现。综合评价认为，适合‘玉露香’梨组培苗生根的基本培养基为 1/2MS，同时地上部生长良好（图 3）。

表 3 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

Table 3 Effects of different minimal medium on rooting of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

基本培养基 Minimal medium	生根率 Rooting rate/%	平均生根数（条） Average root number	茎尖枯死率 Rate of stem tip dieback/%
MS	57.78±2.23 a	2.17±0.22 a	6.67±0.00 c
1/2MS	62.22±6.13 a	2.05±0.35 a	0.00±0.00 d
1/4MS	17.78±2.97 b	0.27±0.13 b	24.44±5.02 b
NN69	15.56±2.97 b	0.32±0.02 b	0.00±0.00 d
1/2NN69	6.67±0.00 c	0.10±0.05 b	13.33±5.81 c
1/4NN69	0.00±0.00 d	0.00±0.00 b	40.00±0.00 a

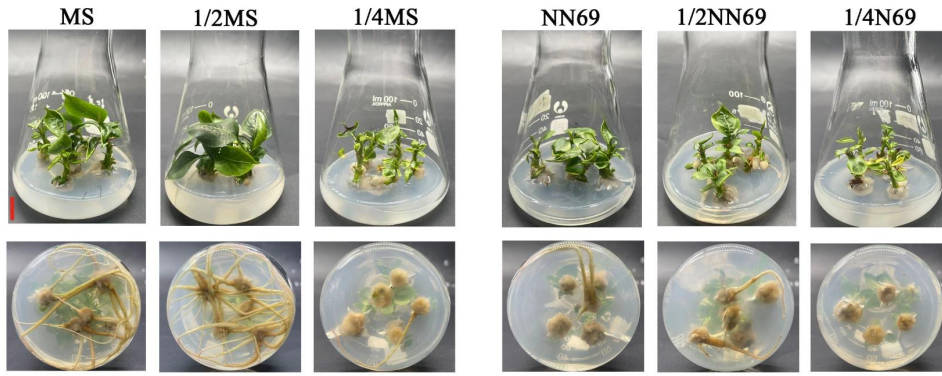


图 3 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗生长的影响

Fig. 3 Effect of minimal medium on the growth of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

2.4 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

在 0.20~5.00 mg·L⁻¹ 范围内，随 NAA 浓度增加，生根率显著提高；当 NAA 浓度为 5.00 mg·L⁻¹ 时，生根率达到最高，为 70.00%；而 IBA 各处理间生根率差异不显著。当 NAA 浓度为 2.00 mg·L⁻¹ 时，平均生根数为 3.40，显著高于其他处理，此时生根率为 60.00%（表 4、图 4）。这表明 2.00 mg·L⁻¹ NAA 更适于‘玉露香’梨组培苗生根。

表 4 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

Table 4 Effect of plant growth regulators on the rooting of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

NAA/ (mg·L ⁻¹)	IBA/ (mg·L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%	平均生根数 (条) Average root number
0.20	-	13.33±2.51 e	0.23±0.06 e
0.50	-	40.00±0.00 cd	0.80±0.26 d
1.00	-	40.00±5.89 cd	1.30±0.17 cd
2.00	-	60.00±5.89 ab	3.40±0.46 a
5.00	-	70.00±5.33 a	2.47±0.12 b
-	0.20	23.33±3.84 de	0.27±0.12 e
-	0.50	36.67±9.43 cd	1.17±0.32 cd
-	1.00	40.00±5.89 cd	1.03±0.46 cd
-	2.00	23.33±3.84 de	1.60±0.52 c
-	5.00	46.67±6.66 bc	1.17±0.32 cd

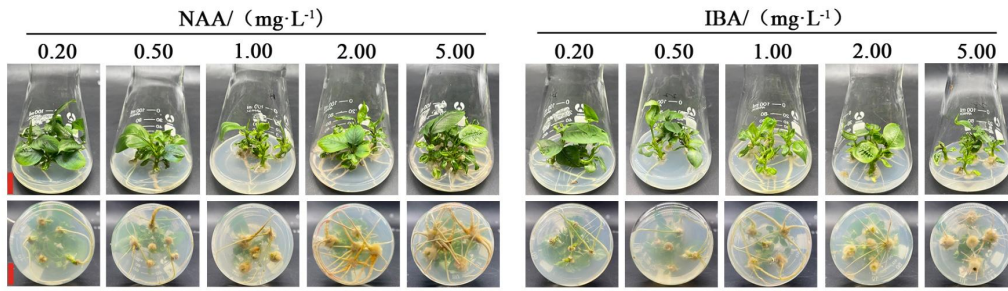


图 4 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗生长的影响

Fig. 4 Effect of plant growth regulators on the growth of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

2.5 暗培养时间对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

暗培养 0 d、5 d、15 d 处理间生根率、平均生根数均无显著性差异，均显著高于暗培养 10 d、20 d 处理。未经暗培养处理时，根系较粗壮；随暗培养时间增加，根系变细，茎尖枯死率显著增加，根部愈伤变大；暗培养 20 d 时，茎尖全部枯死，愈伤达到最大（表 5、图 5）。结果表明，‘玉露香’梨组培苗生根的培养条件为常规光培养，不适宜暗培养。

表 5 暗培养时间对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

Table 5 Effect of darkness culture on the rooting of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

暗培养时间 Darkness culture time/d	生根率 Rooting rate/%	平均生根数（条） Average root number	茎尖枯死率 Rate of stem tip dieback /%
0	62.22±6.13 a	2.05±0.35 a	0.00±0.00 c
5	76.67±3.84 a	2.27±0.23 a	15.56±2.97 b
10	40.00±5.53 b	0.87±0.01 b	17.78±2.97 b
15	75.56±5.02 a	2.03±0.06 a	15.00±5.75 b
20	6.90±0.38 c	0.09±0.04 c	100.00±0.00 a

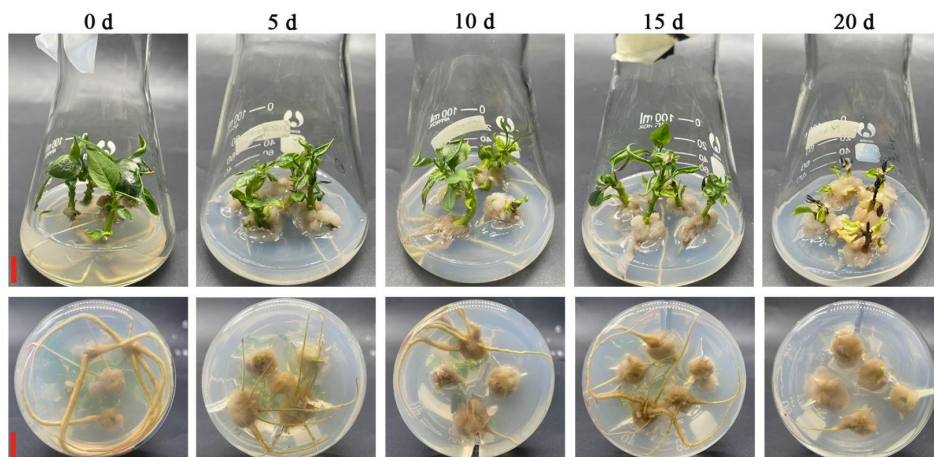


图 5 暗培养时间对‘玉露香’梨组培苗生长的影响

Fig. 5 The influence of dark culture time on the growth of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

2.6 活性炭对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

随活性炭浓度增加，‘玉露香’梨组培苗生根率及生根数均显著减少，根部愈伤也变小；当活性炭浓度高于 1.0 g·L⁻¹ 时，生根率及生根数均降为 0；当活性炭浓度为 4.0 g·L⁻¹ 时，无愈伤产生（表 6）。0.5 g·L⁻¹ 活性炭可使叶片变绿，但浓度高于 1.0 g·L⁻¹ 时，叶片开始变黄，部分出现褐化现象（图 6）。结果表明，活性炭对‘玉露香’梨组培苗生根有显著抑制作用。

表 6 活性炭对‘玉露香’梨组培苗生根的影响

Table 6 Effect of different concentrations activated carbon on the rooting of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

活性炭 Activated carbon / (g·L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%	平均生根数 (条) Average root number	根部愈伤情况 Root callus
0.0	66.67±5.16 a	2.33±0.55 a	+++
0.5	6.67±0.00 b	0.07±0.00 b	++
1.0	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	+
2.0	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	++
4.0	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	-

注：根部愈伤中标注‘-’，‘+’分别表示无愈伤、有愈伤产生，且‘+’越多，表示产生的愈伤越大。
Note: The marks ‘-’ and ‘+’ in root callus respectively indicated that there was no callus, and there was callus, and the more ‘+’, birthed the bigger callus.

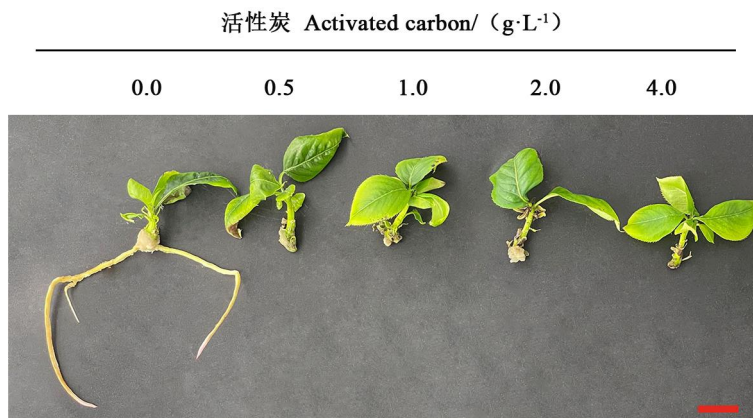
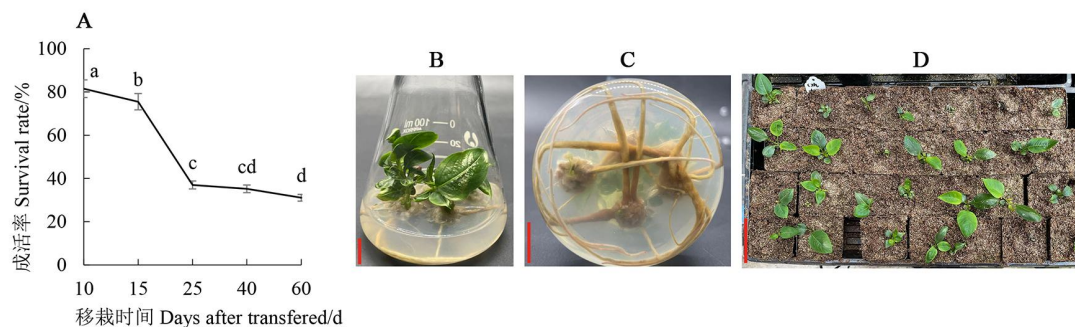


图 6 不同活性炭浓度对‘玉露香’梨组培苗生长的影响

Fig. 6 Effect of different activated carbon concentrations on the growth of ‘Yuluxiang’ *in vitro*

2.7 ‘玉露香’梨组培苗驯化移栽

将生根诱导 40 d 的‘玉露香’梨组培苗，于温室驯化 10 d 后移栽至营养钵中。观察发现，‘玉露香’梨组培苗在移栽 10 d 后开始有死亡现象出现，随着时间推移死亡增多，移栽 60 d 后，死亡情况趋于稳定，成活率为 32.57%，植株生长良好（图 7）。



折线图上不同时间点处理的不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平上差异显著。

Different letters at different time on the line chart indicate significant difference among treatments at $p < 0.05$.

A: ‘玉露香’生根苗移栽成活率随移栽时间的变化情况；B-C: ‘玉露香’组培苗生根诱导 40 d 后地上部及根系生长情况（比例尺：1 cm）；D: ‘玉露香’生根苗移栽 60 d 的生长情况（比例尺：5 cm）。

A: The change of survival rate of ‘Yuluxiang’ rooting seedlings with transplanting time;

B-C: The growth of roots and aboveground parts of ‘Yuluxiang’ seedlings after rooting induction 30 days (bars: 1 cm); D: The growth of transplanting for 60 days (bars: 5 cm).

图 7 ‘玉露香’梨移栽成活情况

Fig. 7 The survival of ‘Yuluxiang’ transplanting

3 讨论

3.1 基本培养基对‘玉露香’梨组培苗生长的影响

基本培养基是继代增殖及生根的关键因素，梨常用基本培养基有 MS、NN69、1/2MS、WPM 等^[10-11]；其中，WPM 有助于木本植物的生长和分化，在木本植物组织培养中较为常用^[12]。本试验通过对比 MS、1/2MS、1/4MS、NN69、WPM 五种基本培养基，发现 WPM 的繁殖系数显著高于其余四种培养基，但玻璃化程度也显著增高。郭静等报道，与 MS 相比，WPM 培养基可显著降低苹果砧木 G.11 的玻璃化率^[13]，但在‘玉露香’梨中得出了相反结果，具体原因有待于进一步研究。

3.2 植物生长调节剂对‘玉露香’梨组培苗继代和生根的影响

植物生长调节剂对组培苗继代增殖及生根有重要影响^[14-16]。

组培苗继代增殖中常用激素为 6-BA、NAA、IBA、IAA，其中 6-BA 常与 NAA、IBA、IAA 配合使用。试验通过对比 6-BA 与 NAA、IBA 不同组合下‘玉露香’梨的继代增殖效果发现，当 NAA 浓度一定时，添加适当浓度的 6-BA 才会对继代增殖有显著促进作用，添加低浓度（ $0.50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ）或较高浓度（ $1.50\sim 2.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ）6-BA 时，繁殖系数均较低，不利于‘玉露香’继代扩繁。杨冠宇等^[17]研究也发现，6-BA 浓度过高或过低均不适宜杜梨 7-4 株系

进行扩繁，当 6-BA 浓度为 0.30~1.50 mg·L⁻¹ 时，杜梨 7-4 株系组培苗生长正常，繁殖系数较高，均在 3.90 以上；当 6-BA 浓度降低到 0.10~0.20 mg·L⁻¹ 或提高到 3.00 mg·L⁻¹ 时，繁殖系数均降低。其他品种如西洋梨矮化砧木 BA-29^[18]、‘砀山酥梨’^[19] 等也得出了相同的结论。试验发现当 6-BA 浓度为 1.00 mg·L⁻¹ 时，添加 0.10~2.00 mg·L⁻¹ IBA 或 NAA 均能促进‘玉露香’梨组培苗继代扩繁，但 NAA 0.10 mg·L⁻¹ 与 6-BA 组合的扩繁效果要好于不同浓度 IBA 处理，因此适合‘玉露香’梨继代扩繁的激素种类为 6-BA 与 NAA。前人报道适合‘津香蜜’、‘巴梨’、‘南果梨’继代扩繁的激素也为 6-BA 与 NAA^[20-21]。

组培生根常用激素为 NAA、IBA、IAA，使用其中一种或两种以上均可促进生根。本试验发现仅用 NAA 或 IBA 便可促进‘玉露香’生根，IBA 处理生根率最高为 46.67%，NAA 处理生根率可达 70.00%。前人报道‘丰水’梨、云南椴栎在仅添加 NAA 的生根培养基上也可生根，生根率分别为 91.30%、62.50%^[22-23]。

配合使用 IBA、IAA 也可促进生根，如‘巴梨’在 1/2MS+1.00 mg·L⁻¹ IAA+1.00 mg·L⁻¹ IBA 生根培养基中生根率为 56.70%，‘津香蜜’在 1/2MS+1.00 mg·L⁻¹ IAA+3.00 mg·L⁻¹ IBA 中生根率为 70.30%^[20]，杜梨在 1/2MS+2.00 mg·L⁻¹ IAA+0.50 mg·L⁻¹ IBA 中生根率为 86.70%^[24]。NAA 与 IBA 配合使用也有较好效果，如西洋梨矮化砧木 BA-29 在 1/2MS+0.50 mg·L⁻¹ NAA+0.50 mg·L⁻¹ IBA 中生根率为 81.56%^[18]。

3.3 影响‘玉露香’梨组培苗生根的其它因素

光照强弱对梨组培苗生根有重要影响，汤浩茹等发现前期适当暗培养可促进‘早酥’和‘身不知’生根^[25]；田海青将‘新梨 7 号’暗培养 7 d 后转到光下常规培养，生根率达 75.00%^[26]。而汤浩茹等发现‘巴梨’和‘考密斯’等西洋梨在暗培养时，生根诱导效果较差^[25]；苗冉冉等也发现暗培养对‘津香蜜’和‘巴梨’不定根诱导均无显著促进作用，且会使组培苗出现细弱、枯尖现象^[20]；本试验发现暗培养 0~20 d 对‘玉露香’梨组培苗生根均无显著促进作用，且随暗培养时间增加，愈伤明显增大，茎尖枯死现象加重。

一般来说，适当浓度活性炭有助于组培苗生根，如现代月季叶片再生植株添加 0.1% 活性炭可形成完整根系^[27]；甜樱桃组培苗添加 1.0 g·L⁻¹ 活性炭生根率可达 100.00%^[28]；‘黄金’梨组培苗加入 0.5 g·L⁻¹ 活性炭后，生根率达 80.00% 以上^[29]；‘秋子梨’添加 1.0 g·L⁻¹ 活性炭后生根率由 45.50% 提高到 90.00%，平均生根条数由 2.24 提高到 6.20，根系长度和植株表面积均显著增加^[30-31]。但也有研究表明活性炭会抑制组培苗生根，如 0.5 g·L⁻¹ 和 1.0 g·L⁻¹ 活性炭显著抑制‘中矮 1 号’组培苗生根^[32]。本试验发现，活性炭对‘玉露香’组培苗生根有显著抑制作用，当活性炭浓度为 1.0~4.0 g·L⁻¹ 时生根率及生根数均降为 0。

4 结论

适于‘玉露香’梨组培苗继代增殖的培养基为 MS+1.00 mg·L⁻¹ 6-BA+0.10 mg·L⁻¹ NAA，繁殖系数为 3.57，有效新梢数为 1.17；适于‘玉露香’梨组培苗生根的培养基为 1/2MS+2.00 mg·L⁻¹ NAA，生根率为 60.00%，平均生根条数为 3.40；暗培养和添加活性炭均不适于‘玉

露香'梨组培苗生根。

参考文献 References:

- [1] 李昌珠, Sedlak Jiri, Jan Blazek. 不同基因型欧洲梨离体繁殖研究[J]. 果树学报, 2002, 19(4): 227-230.
LI Changzhu, Sedlak Jiri, Jan Blazek. Studies on *in vitro* propagation of common pear (*Pyrus communis* Linn.) with different genotypes [J]. Journal of Fruit Science, 2002, 19(4): 227-230.
- [2] 宋梅, 王淑娟, 刘振江, 刘红旗. 香梨、砀山梨组织培养及脱毒快繁技术[J]. 新疆农业科学, 2003, 40(6): 376-377.
SONG Mei, WANG Shujuan, LIU Zhenjiang, LIU Hongqi. Tissue culture and de-poison high-speed breeding technique of Fragrant pear and Dangshan pear [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2003, 40(6): 376-377.
- [3] 刘小芳, 冯建荣, 梁晓桐, 吕文娟, 李文慧, 樊新民. 库尔勒香梨组织培养的研究[J]. 山东农业科学, 2016, 48(5): 9-13.
LIU Xiaofang, FENG Jianrong, LIANG Xiaotong, LÜ Wenjuan, LI Wenhui, FAN Xinmin. Research on tissue culture of Korla Fragrant pear [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2016, 48(5): 9-13.
- [4] 段莹莹, 田彩芳, 宋宇琴, 李六林, 王旭. '中梨1号'离体培养与快速繁殖[J]. 北方果树, 2014, (5): 7-9.
DUAN Yingying, TIAN Caifang, SONG Yuqin, LI Liulin, WANG Xu. *In vitro* culture and rapid propagation of 'Zhongli 1' pear [J]. Northern Fruits, 2014, (5): 7-9.
- [5] 宗娟, 朱立武, 贾兵. '黄冠'梨茎尖离体培养再生体系建立初探[J]. 广东农业科学, 2010, 37(2): 51-53.
ZONG Juan, ZHU Liwu, JIA Bing. Primary study of regeneration system of pear cultivar 'Huangguan' stem apex by *in vitro* culture [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(2): 51-53.
- [6] 郭黄萍, 李晓梅, 张建功. 优质中熟红梨新品种'玉露香' (暂定名) [J]. 山西果树, 2001, (1): 3-4.
GUO Huangping, LI Xiaomei, ZHANG Jianguo. A new variety of high-quality medium ripe red pear 'Yuluxiang' (tentative name) [J]. Shanxi Fruits, 2001, (1): 3-4.
- [7] 谢鹏, 蔚露, 王红宁, 林隼, 牛自勉. 不同产区'玉露香'梨果实品质特性综合分析[J]. 果树学报, 2023, 40(11): 2371-2380.
XIE Peng, YU Lu, WANG Hongning, LIN Lu, NIU Zimian. Comprehensive analysis on the fruit quality of 'Yuluxiang' pear in different production areas [J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(11): 2371-2380.
- [8] 于宛婷, 王文辉, 张鑫楠, 阎维巍, 孙晓楠, 贾晓辉. 外源褪黑素对'玉露香'梨常温贮藏品质和生理特性的影响[J]. 果树学报, 2023, 40(8): 1583-1591.
YU Wanting, WANG Wenhui, ZHANG Xinnan, YAN Weiwei, SUN Xiaonan, JIA Xiaohui. Effects of exogenous melatonin on fruit quality and physiological characteristics during room temperature storage in 'Yuluxiang' pear [J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(8): 1583-1591.
- [9] 贾晓辉, 王文辉, 姜云斌, 王志华, 杜艳民, 佟伟. 采收成熟度对'玉露香'梨果实品质和耐贮性的影响[J]. 果树学报, 2016, 33(5): 594-603.
JIA Xiaohui, WANG Wenhui, JIANG Yunbin, WANG Zhihua, DU Yanmin, TONG Wei. Effects of harvest maturity on fruit quality and storage life of 'Yuluxiang' pears [J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(5): 594-603.
- [10] 叶宇, 欧春青, 王斐, 张艳杰, 马力, 杨冠宇, 李佳纯, 姜淑苓. 梨组织培养研究进展及其在育种中的应用[J]. 中国果树, 2022, (5): 1-7.
- YE Yu, OU Chunqing, WANG Fei, ZHANG Yanjie, MA Li, YANG Guanyu, LI Jiachun, JIANG Shuling. Research progresses of tissue culture in pear and its application in breeding [J]. China Fruits, 2022, (5): 1-7.
- [11] 王海燕. 农杆菌介导 *rolB* 基因转化杜梨的研究[D]. 河北农业大学, 2014.

WANG Haiyan. The *rolB* gene transformation via *Agrobacterium tumefaciens* mediated in pear rootstock '*Pyrus betulifolia* Bge.' [D]. Hebei Agricultural University, 2014.

[12] 王蒂, 陈劲枫. 植物组织培养 (第二版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2013, 356.

WANG Di, CHEN Jingfeng. Plant tissue culture (2nd edition) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013, 356.

[13] 郭静, 柴慈江, 史燕山, 骆建霞, 江文. 苹果砧木 G.11 试管苗增殖与生根培养研究[J]. 天津农学院学报, 2019, 26(4): 38-42, 48.

GUO Jing, CHAI Cijiang, SHI Yanshan, LUO Jianxia, JIANG Wen. Micro shoot proliferation and rooting of apple rootstock G.11 [J]. Journal of Tianjin Agricultural University, 2019, 26(4): 38-42, 48.

[14] 闫帅, 徐锴, 袁继存, 程存刚, 张少瑜, 赵德英. 梨组织培养及遗传转化研究进展[J]. 中国果树, 2017, (S1): 72-77.

YAN Shuai, XU Kai, YUAN Jicun, CHENG Cungang, ZHANG Shaoyu, ZHAO Deying. Review of pear regeneration and genetic transformation system [J]. China Fruits, 2017, (S1): 72-77.

[15] JIN W, WANG Y, WANG H. Adventitious shoot regeneration from leaves of apple rootstock '*Pingyitiancha*' (*Malus hupehensis* var. *pinyiensis*) and genetic fidelity of regenerated plantlets using SSR markers. [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2014, 94(8): 1345-1354.

[16] SAINI S, SHARMA I, KAUR N, PATI P K. Auxin: a master regulator in plant root development[J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(6): 741-757.

[17] 杨冠宇, 王斐, 张艳杰, 马力, 李佳纯, 欧春青, 姜淑苓. 杜梨砧木组培扩繁技术研究[J]. 中国果树, 2022, (6): 59-63.

YANG Guanyu, WANG Fei, ZHANG Yanjie, MA Li, LI Jiachun, OU Chunqing, JIANG Shuling. Study on tissue culture and propagation technology of *Pyrus betulifolia* rootstock [J]. China Fruits, 2022, (6): 59-63.

[18] 王苏珂, 杨健, 王龙, 周厚成, 李秀根. 西洋梨矮化砧木 BA-29 的组培快繁技术研究[J]. 果树学报, 2010, 27(6): 1002-1005.

WANG Suke, YANG Jian, WANG Long, ZHOU Houcheng, LI Xiugen. Studies on tissue culture and rapid propagation of dwarf rootstock BA-29 of European pear [J]. Journal of Fruit Science, 2010, 27(6): 1002-1005.

[19] 金青, 蔡永萍. '砀山酥梨'的组织培养和脱毒快速繁殖. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 900.

JIN Qing, CAI Yongping. Tissue culture and rapid propagation of *Pyrus bretschneideri* Rehd. [J]. Plant Physiology Communication, 2006, 42(5): 900.

[20] 苗冉冉, 乔月莲, 吴沅洙, 王莉, 师校欣, 杜国强. '津香蜜'和'巴黎'组织培养快速繁殖[J]. 分子植物育种, 2019, 17(7): 2297-2302.

MIAO Ranran, QIAO Yuelian, WU Yuanzhu, WANG Li, SHI Xiaoxin, DU Guoqiang. Rapid propagation of '*Jinxiangmi*' and '*Bartlett*' pear by tissue culture[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(7): 2297-2302.

[21] 陈丽静, 于春叶, 李浩戈, 张丽, 钟鸣, 马慧. 南果梨茎尖离体快繁技术研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(31): 168-173.

CHEN Lijing, YU Chunye, LI Haoge, ZHANG Li, ZHONG Ming, MA Hui. Rapid propagation of *Pyrus ussuriensis* maxin. by shoot tip culture [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(31): 168-173.

[22] 侯修胜. '丰水'梨试管快速繁殖技术研究[J]. 河北林业科技, 2003, (1): 1-2.

HOU Xiusheng. Study on the tube rapid propagation techniques of '*Hosui*' pear[J]. Journal of Hebei Forestry Science and Technology, 2003, (1): 1-2.

[23] 徐凌飞, 李致慧, 贾东峰, 李慧. 梨矮化砧木云南榉梔离体快繁研究[J]. 北方园艺, 2012, (5): 113-115.

- XU Lingfei, LI Zhihui, JIA Dongfeng, LI Hui. Study on *in vitro* propagation of Yunnan quince as a dwarf rootstock of pear [J]. Northern Horticulture, 2012, (5): 113-115.
- [24] 闫帅, 张少瑜, 徐锴, 袁继存, 李晓光, 周江涛, 程存刚, 赵德英. 杜梨组培生根过程中多胺、内源激素及相关氧化酶活性的变化[J]. 果树学报, 2019, 36(3): 318-326.
- YAN Shuai, ZHANG Shaoyu, XU Kai, YUAN Jicun, LI Xiaoguang, ZHOU Jiangtao, CHENG Cungang, ZHAO Deying. Dynamic changes in polyamines, endogenous hormones and oxidase activities during rooting of *in vitro* plantlets of *Pyrus betulifolia* Bunge [J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(3): 318-326.
- [25] 汤浩茹, 刘翠琼, 罗娅, 王小蓉. 培养基和培养条件对 4 个梨基因型试管苗生根的影响[J]. 果树学报, 2006, 23(2): 283-286, 316.
- TANG Haoru, LIU Cuiqiong, LUO Ya, WANG Xiaorong. Effects of media and cultural conditions on the rooting ability *in vitro* of 4 genotypes of *Pyrus* spp. [J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(2): 283-286, 316.
- [26] 田海青. ‘新梨 7 号’梨组培快繁体系建立及微嫁接技术的研究[D]. 河北农业大学, 2014.
- TIAN Haiqing. Study on establishment of rapid propagation system and micrografting of the pear cultivar Xinli pear 7 [D]. Hebei Agricultural University, 2014.
- [27] 任桂芳, 王建红, 冯慧, 李毅, 李燕, 施雪波. 现代月季 (*Rosa hybrida*) 叶片植株再生体系的建立[J]. 园艺学报, 2004, 31(4): 533-536.
- REN Guifang, WANG Jianhong, FENG Hui, LI Yi, LI Yan, SHI Xuebo. Establishment of plant regeneration from leaves explants of *Rosa hybrida* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31(4): 533-536.
- [28] 韩文璞, 袁明莲. 活性碳在甜樱桃组织培养中的应用[J]. 落叶果树, 2001, (3): 7-8.
- HAN Wenpu, YUAN Minglian. Application of active carbon in tissue culture of sweet cherry [J]. Deciduous Fruits, 2001, (3): 7-8.
- [29] 王献革, 及华, 王利民. ‘黄金’梨的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(6): 621.
- WANG Xiange, JI Hua, WANG Limin. Tissue culture and rapid propagation of *Pyrus pyrifolia* cv. Whangkumbe [J]. Plant Physiology Communications, 2003, 39(6): 621.
- [30] 王德芬, 张梅, 李鼎立, 王然, 马春晖, 宋健坤. ‘秋子梨’叶片高效再生体系的构建[J]. 北方园艺, 2016, (4): 97-101.
- WANG Defen, ZHANG Mei, LI Dingli, WANG Ran, MA Chunhui, SONG Jiankun. Establishment of high efficient regeneration system of *Pyrus ussuriensis* leaves [J]. Northern Horticulture, 2016, (4): 97-101.
- [31] 栾晓龙, 史昊, 许波, 张倩男, 刘莉. 活性炭对秋子梨组培幼苗生根的影响[J]. 分子植物育种, 2023, 21(2): 589-593.
- LUAN Xiaolong, SHI Hao, XU Bo, ZHANG Qiannan, LIU Li. Effect of activated carbon on rooting of tissue culture seedlings of Qiuzi pear (*Pyrus ussuriensis* Maxim.) [J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(2): 589-593.
- [32] 王艺衡, 冯静涵, 于春亮, 李涛, 李金斗, 赵健霄, 张海霞, 张玉星, 马辉, 许建锋. 梨矮化砧木‘中矮 1 号’组培快繁技术研究[J]. 山东农业科学, 2023, 55(6): 32-41.
- WANG Yiheng, FENG Jinghan, YU Chunliang, LI Tao, LI Jindou, ZHAO Jianxiao, ZHANG Haixia, ZHANG Yuxing, MA Hui, XU Jianfeng. Study on tissue culture and rapid propagation technology of pear dwarfing rootstock Zhong' ai 1 [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2023, 55(6): 32-41.