

# 金石和伯爵百合鳞茎诱导及膨大研究

常琳, 杜方, 王丽婷, 李兴桃, 张鲜艳, 樊俊苗

(山西农业大学园艺学院, 山西 太谷 030801)

**摘要:**为找到适应金石和伯爵百合鳞茎诱导和膨大的最适培养基及光照条件,以金石和伯爵百合的愈伤组织为材料,研究激素、蔗糖和光周期对鳞茎诱导和膨大的影响。结果表明,MS+NAA 1.0 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖 60 g/L 是诱导愈伤组织形成小鳞茎的最佳培养基;该培养基可诱导金石组培苗叶片和根直接产生不定芽;30 g/L 的蔗糖质量浓度对金石和伯爵百合小鳞茎的增质量效果均好于其他蔗糖浓度下小鳞茎的增质量效果;光环境有利于小鳞茎的膨大。研究可为金石和伯爵 2 个百合品种的鳞茎商业化生产提供科学参考。

**关键词:**百合;组织培养;鳞茎诱导;鳞茎膨大

中图分类号:S682.2+65

文献标识码:A

文章编号:1002-2481(2018)08-1279-04

## Study on Bulblet Induction and Enlargement of Golden Stone and Album Lily

CHANG Lin, DU Fang, WANG Liting, LI Xingtao, ZHANG Xianyan, FAN Junmiao

(College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

**Abstract:** To understand the best way for bulblets production of Golden Stone and Album lily, different kind of hormone, sucrose and photoperiod were explored on the induction and enlargement of Golden Stone and Album bulblets. The results showed that the best medium for bulblet induction of Album and Golden Stone was MS+NAA 1.0 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+sucrose 60 g/L. The best medium could also introduce bulblet from *in vivo* leaves and roots of Golden Stone. The suitable sucrose concentration for Golden Stone and Album lily enlargement was 30 g/L. Light was in favor of the expansion of bulblet *in vivo*. These results will provide a valuable and informative method for bulblets production of Golden Stone and Album lily.

**Key words:** *Lilium*; tissue culture; bulb induction; bulblet enlargement

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)所有种、亚种、变种和品种的统称<sup>[1]</sup>,我国作为世界百合的起源中心,原产的百合种类有 47 个种及 18 个变种,分布于全国各省<sup>[2]</sup>。经过 70 a 的育种历程,在英国皇家园艺学会注册登录的品种达 10 000 种<sup>[3]</sup>,这些品种隶属于亚洲百合杂种系(A)、东方百合杂种系(O)、麝香百合杂种系(L)、喇叭百合杂种系(T)、麝亚百合杂种系(LA)和东喇叭百合杂种系(OT)等<sup>[4]</sup>。不同品种的繁殖能力不同,组织培养已成为快速扩大百合种球繁殖数量、避免种性退化的主要繁殖方式之一<sup>[5]</sup>。

目前,利用百合外植体诱导愈伤和小鳞茎的报道较多<sup>[6-10]</sup>,但使所诱导小鳞茎快速膨大的研究并不多,且针对不同品种的研究结果并不一致<sup>[11-14]</sup>。研究发现,激素配比、蔗糖含量、光周期等均可能影响

鳞茎膨大程度。培养基中只含 0.3 mg/L NAA 利于 Casa Blanca 和 Hinomoto 鳞茎的形成和膨大,而 Mona 却在不加植物生长调节剂培养基中膨大效果最好<sup>[11]</sup>。周玲云等<sup>[12]</sup>研究认为,培养基中含 60 g/L 的蔗糖对泸定百合鳞茎膨大效果最好,而张艳波<sup>[13]</sup>研究认为,培养基中含 90 g/L 的蔗糖对毛百合鳞茎膨大效果最好。对泸定百合(*Lilium sargentiae*)的研究表明,全黑暗与 8 h/d 的光照对试管鳞茎的膨大均有效果,且差异不显著<sup>[12]</sup>;但对卷丹的研究表明,8 h/d 的光照对试管鳞茎的膨大效果显著优于全黑暗条件<sup>[14]</sup>。可见,不同种类的百合对蔗糖、光照和激素的敏感程度不同,因此,有必要为新品种鳞茎诱导及膨大筛选最适的培养方案。金石(Golden Stone)是麝亚百合杂种系的品种,其突出特点是抗性强;伯爵(Album)是一类东方百合,花朵微微下垂,花瓣反

收稿日期:2018-04-03

基金项目:山西省应用基础研究项目(201601D011077);山西农业大学引进人才科研启动项目(2014ZZ02);山西省研究生教育改革研究课题(2017JG37)

作者简介:常琳(1995-),女,山西忻州人,在读本科,研究方向:百合鳞茎膨大。杜方为通信作者。

卷,花姿十分优美,这 2 种百合是山西农业大学所引种百合中表现最为突出的品种,目前尚未见对其鳞茎诱导及膨大的研究报道。

山西农业大学百合课题组利用花器官通过组织培养的方法诱导出愈伤组织。本试验以金石和伯爵这 2 种材料的愈伤组织为材料,研究外源激素、蔗糖以及光周期对其鳞茎诱导和膨大的影响,以期探索一套促进百合鳞茎形成和快速膨大的技术体系,为这 2 个品种种球的商业化生产提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试材料为百合金石 (Golden Stone) 和伯爵 (Album) 的愈伤组织,由山西农业大学园艺学院组培室提供。培养室培养温度为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.2 方法

1.2.1 小鳞茎诱导 在 MS 培养基中添加不同浓度的外源激素,将愈伤组织分割成  $1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$  的小块,接入不同培养基中,每个处理共接种 20 块愈伤组织,每瓶 5 块,共 4 瓶,重复 3 次。以 MS 和  $60\text{ g/L}$  蔗糖为基本培养基,添加不同浓度激素,共 3 个处理:处理 1. NAA  $0.1\text{ mg/L}$ +6-BA  $3.0\text{ mg/L}$ ; 处理 2. NAA  $1.0\text{ mg/L}$ +6-BA  $3.0\text{ mg/L}$ ; 处理 3. NAA  $1.0\text{ mg/L}$ +6-BA  $2.0\text{ mg/L}$ 。将上述方法培养的金石组培苗的叶

片切成  $2\text{ cm}\times 2\text{ cm}$  的小段,根切成长度为  $0.5\text{ cm}$  的小段,接种到处理 3 的培养基上,观察小鳞茎的诱导。

诱导系数 = 诱导出的鳞茎数量 / 接种的愈伤块数 (1)

1.2.2 鳞茎膨大培养 在 MS 基本培养基中添加不同质量浓度的蔗糖  $30, 60, 90, 120\text{ g/L}$ 。每处理接种 4 瓶,每瓶 3 个小鳞茎,重复 3 次。每 45 d 转接一次,培养 90 d 后剪去鳞茎叶片和根,进行统计。每处理的 2 瓶放入暗培养环境,以光培养(光照  $14\text{ h}$ ,光强  $3\ 000\text{ lx}$ )为对照。培养前测量初始鲜质量,培养 90 d 后再次测量鲜质量。

增质量倍数 = 培养后的鳞茎鲜质量 / 初始鳞茎鲜质量 (2)

### 1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2011 和 IBM SPSS 20 对数据进行单因素方差分析和多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 激素配比和蔗糖浓度对鳞茎诱导的影响

7 d 后发现,愈伤组织已诱导出明显的小鳞茎,其中,金石与伯爵在处理 3 培养基中鳞茎诱导系数分别为 2.79 和 3.30,显著高于处理 1 和处理 2 号培养基中的鳞茎诱导系数(表 1)。

表 1 不同激素配比下的鳞茎诱导系数

处理	NAA/(mg/L)	6-BA/(mg/L)	蔗糖/(g/L)	诱导系数	
				金石	伯爵
1(CK)	0.1	3.0	60	$0.77\pm 0.18$	$0.53\pm 0.12$
2	1.0	3.0	60	$0.90\pm 0.08$	$0.77\pm 0.10$
3	1.0	2.0	60	$2.79\pm 0.09^*$	$3.30\pm 0.12^*$

注:数据为平均值 $\pm$ 标准误,\*表示与 CK 差异显著( $P<0.05$ )。其余表同。

### 2.2 利用组培苗叶与根诱导小鳞茎

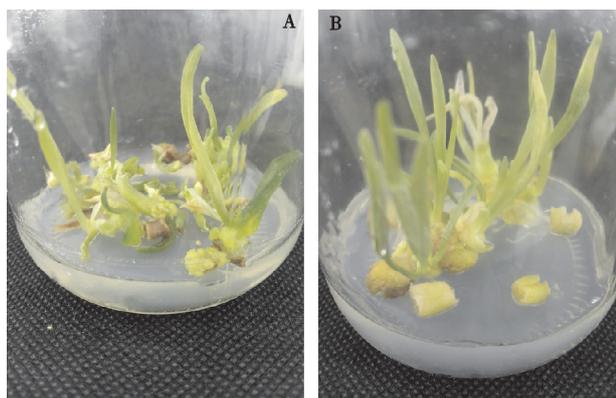


图1 金石组培苗叶(A)和根(B)在处理3培养基诱导出鳞茎

在研究中,金石组培苗很容易生根,且根易于

膨大,较粗壮。以处理 3 为培养基,培养金石组培苗的叶片与根,在培养 7 d 时,叶片与根均有膨大现象及明显芽点,均不经愈伤分化,直接产生小鳞茎(图 1)。

### 2.3 蔗糖浓度对鳞茎膨大的影响

从表 2 可以看出,伯爵鳞茎在蔗糖质量浓度为  $30\text{ g/L}$  时,鳞茎的鲜质量显著高于其他处理,说明  $30\text{ g/L}$  的蔗糖较更高浓度的蔗糖有利于伯爵鳞茎的膨大。对金石而言,虽然 4 种含有不同质量浓度蔗糖的培养基中各项指标均没有显著性差异,但是金石鳞茎在蔗糖质量浓度为  $30\text{ g/L}$  时,增质量倍数是蔗糖质量浓度为  $60\text{ g/L}$  时的 1.15 倍,是蔗糖质量浓度为  $90\text{ g/L}$  时的 1.23 倍,是蔗糖质量浓度为  $120\text{ g/L}$  时的 1.39 倍,说明含  $30\text{ g/L}$  蔗糖的培养基

较含高浓度蔗糖的培养基更适宜金石的膨大培养, 也表明蔗糖浓度过高会抑制鳞茎生长。

表2 蔗糖浓度诱导鳞茎膨大的形态指标

品种	形态指标	蔗糖质量浓度/(g/L)			
		30	60	90	120
伯爵	鳞茎鲜质量/g	0.046± 0.007*	0.018± 0.005	0.004± 0.004	0.011± 0.006*
金石	鳞茎鲜质量/g	0.067± 0.018	0.052± 0.014	0.039± 0.030	0.022± 0.008
伯爵	增质量倍数	3.288± 0.552*	1.820± 0.332	1.378± 0.250	2.633± 0.504
金石	增质量倍数	3.145± 0.688	2.720± 0.487	2.545± 0.444	2.260± 0.394

#### 2.4 光照条件对鳞茎膨大的影响

培养7 d后,光环境下金石小鳞茎开始抽叶;60 d后,光环境下,金石的鳞茎为绿色,上部略黑;暗环境下,金石鳞茎与叶片均为白色。光环境下,伯爵鳞茎为绿色,上部略黑,暗环境下,伯爵鳞茎浅绿色,无论光下还是暗处,伯爵均没有叶片抽出。对伯

爵和金石的鳞茎增质量倍数进行 *t* 检验,结果表明,伯爵鳞茎在光环境与暗环境下增质量倍数无显著差异,而金石鳞茎增质量差异显著,说明光环境对鳞茎培养没有不利影响,且对金石鳞茎增质量有显著正向影响(表3)。

表3 光照条件诱导鳞茎膨大的形态指标

形态指标	伯爵		金石	
	光	暗	光	暗
鳞茎鲜质量/g	0.023± 0.005	0.017± 0.003	0.087± 0.012	0.002± 0.013
增质量倍数	2.384± 0.334	2.175± 0.290	3.441± 0.411	1.893± 0.281*
鳞茎颜色	绿、上部略黑	浅绿	绿、上部略黑	白

### 3 讨论与结论

一般认为,蔗糖可以作为植物体内所必需的碳源、能源或渗透压调节剂,对促进球根花卉地下器官的膨大起重要的作用<sup>[15]</sup>。对东方百合的研究中发现,50 g/L的蔗糖即能最大程度促进鳞茎膨大<sup>[16]</sup>,但对亚洲百合野生亲本毛百合鳞茎膨大的研究中发现,90 g/L的蔗糖效果最好<sup>[13]</sup>。伯爵属于东方百合,本试验中,伯爵鳞茎的鲜质量在30 g/L时增质量倍数最大,金石属于麝亚百合,也在蔗糖含量为30 g/L培养基中增质量倍数最大,说明蔗糖起作用的阈值因品种不同而有很大差异,是否某一类群有较为一致的鳞茎膨大最适蔗糖浓度还需进一步研究。

HARUKI等<sup>[17]</sup>研究表明,光照可以促进鳞茎对培养基中糖以及氮和钾的吸收。MAESTO等<sup>[18]</sup>研究认为,连续光照可以促进 *Lilium japonicum* 的鳞茎再生。ANUSHRI<sup>[19]</sup>研究表明,在光环境下,亚洲百合 Gran Paradiso 和 Sanciro 也能获得最大鲜质量。但周玲云研究光周期对鳞茎膨大的作用机制中发现,全黑暗与8 h/d的光照对泸定百合试管鳞茎的膨大没有显著性影响<sup>[12]</sup>。本试验中,金石百合更适宜在光下进行培养,但伯爵百合鳞茎膨大对光周期不敏感。可见,百合鳞茎膨大过程中见光培养,对部分品种的鳞茎膨大有促进作用,原因可能是由于光下鳞茎会变绿,除利用培养基中的营养元素外,也会通

过自身的光合作用,合成膨大所需的物质。

本试验通过研究发现,金石和伯爵这2个百合品种的适应性有很大差异。在适宜的范围内,相同培养基条件下,金石百合的长势要好于伯爵百合。在含NAA 1.0 mg/L,6-BA 2.0 mg/L和蔗糖60 g/L的处理3培养基中,金石百合能够长出健壮的叶片和粗壮的根,这些根和叶在相同培养基中,能直接诱导出小鳞茎,而伯爵百合鳞茎在处理3培养基中诱导系数虽然最高,但却没有长出叶片和根,可见,基因型决定植株的生长适应性。

#### 参考文献:

- [1] 杜方. 百合不同器官转录组分析及 SSR 标记开发应用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 1-10.
- [2] 霍喜颖, 刘洪章, 乔红莲. 百合花色素的提取方法与研究进展[J]. 北方园艺, 2010(6): 224-226.
- [3] DU F, WU Y, ZHANG L, et al. De Novo Assembled transcriptome analysis and SSR marker development of a mixture of six tissues from *Lilium* oriental hybrid 'Sorbobonne' [J]. Plant Mol Report, 2015, 33(2): 281-293.
- [4] 杜方. 百合引种栽培及分子研究 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2015: 15-16.
- [5] 吴永辉, 丰锋. 百合鳞茎不定芽诱导与增殖配方优化[J]. 东南园艺, 2014(1): 9-12.
- [6] 农艳丰, 周珊, 牟玉梅. OT 型百合品种黄天霸花器官组培快繁体系的建立[J]. 南方农业学报, 2014(5): 715-719.

(下转第 1370 页)

噻虫嗪 600 g 包衣处理产量最高,达到 5 865.41 kg/hm<sup>2</sup>, 比对照增产 8.68%; 每 100 kg 种子用 35 g/L 咯·精甲 150 g+60 g/L 戊唑醇 50 g+30%噻虫嗪 800 g 包衣处理产量次之,为 5 753.42 kg/hm<sup>2</sup>, 比对照增产 6.55%。由于 2017 年 7、8 月份长期高温、干旱,春播玉米正值扬花授粉时节,花粉成活率低,导致玉米授粉不良,且在收获前夕,又逢秋雨连绵,使春播玉米遭受穗腐病侵害,产量受到了严重影响。以对照折算公顷产量为 5 399.46 kg,据调查,该产量可代表当年当地春播玉米的平均产量。

综上所述,3 种剂量包衣对玉米苗的生长、病虫害的防治以及玉米增产都起到了一定的作用。从经济角度考虑,以每 100 kg 种子用 35 g/L 咯·精甲 150 g+60 g/L 戊唑醇 50+30%噻虫嗪 600 g 包衣处理为最佳选择。以上结果仅为当年一地的试验情况,其结果受外界气候环境条件影响较大,不能完全代表该药剂的防治效果,建议下一年继续重复试验,以使该药剂在生产中尽快推广应用。

#### 参考文献:

- [1] 王海光. 玉米矮花叶病流行原因分析及预测方法 [D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- [2] 李锐, 钟诚. 成县玉米矮花叶病发生危害及防治对策[J]. 甘肃农业科技, 1996(3): 35-36.
- [3] 李恩才. 玉米矮花叶病的发生与防治[J]. 陕西农业, 1997(7): 4.
- [4] 祁景乔, 汪志和. 抚宁县玉米矮花叶病的发生与防治[J]. 植物保护, 1997, 23(5): 49-50.
- [5] 陈雨天, 钟诚. 玉米种子带矮花叶病毒田间调查简报[J]. 甘肃农业科技, 1996(9): 37-38.
- [6] 李济宸, 李桂珍. 玉米矮花叶病防治方法 [J]. 北京农业科学, 1996, 14(6): 29-31.
- [7] 阎慷. 玉米病毒综合防治对策[J]. 农业科技通讯, 1997(4): 28.
- [8] 王富荣, 李翠英, 石银鹿. 玉米矮花叶病毒对玉米危害损失测定 [J]. 山西农业科学, 1987(8): 10-12.
- [9] 王宏伟, 郭玉宏, 张芳. 玉米矮花叶病抗性育种模式研究初报[J]. 玉米科学, 2000, 8(2): 24-26.
- [10] 李新海, 韩晓清, 张锦芬, 等. 玉米矮花叶病毒抗性资源鉴定的研究[J]. 华北农学报, 2001, 16(2): 38-42.
- [11] 曹如槐. 玉米品种对矮花叶病抗性鉴定 [J]. 山西农业科学, 1982(7): 11-12.
- [12] 王富荣, 石秀清, 石银鹿, 等. 早播覆膜栽培防治玉米矮花叶病 [J]. 山西农业科学, 1999, 27(3): 76-78.
- [13] 雷海英, 孙毅, 王志军, 等. 病毒复制酶基因介导玉米抗矮花叶病的研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(5): 114-117.
- [14] VANGESSEL M J, COBLE H D. Postemergence control of Johnson rass and its effect on maize dwarf mosaic virus incidence and vectors in corn [J]. Plant Disease, 1993, 77(6): 613-618.
- [15] 史春霖, 徐绍华. 北京玉米和高粱上的玉米矮花叶病毒[J]. 植物病理学报, 1979, 9(1): 35-40.
- [16] 范在丰, 裘维蕃. 华北高粱红条病毒的研究[J]. 植物病理学报, 1987, 17(1): 1-8.
- [17] 杨士华, 杨伦伦, 张琦, 等. 山西省蚜虫消长与玉米矮花叶病流行关系[J]. 植物保护学报, 1985, 12(2): 113-117.
- (上接第 1281 页)
- [7] 唐业刚, 崔伟. 宜昌百合鳞茎增殖诱导条件研究[J]. 北方园艺, 2014(2): 112-116.
- [8] 崔祺, 贾桂霞. OT 杂种系百合 'Bay watch' 离体再生体系的建立 [J]. 东北林业大学学报, 2014(5): 34-38.
- [9] 苏江, 岑忠用, 阳艳华. 水晶布兰卡百合鳞片的组织培养及快速繁殖条件[J]. 贵州农业科学, 2014(3): 120-124.
- [10] 崔瑞峰, 张丽霞, 韩晓红. 不同激素对比对百合鳞片愈伤组织诱导的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2014(9): 8-9.
- [11] 廉美兰, 朴炫春, 孙丹. 影响百合试管鳞茎诱导及膨大的几种因素[J]. 延边大学农学学报, 2006(3): 153-158.
- [12] 周玲云, 高素萍, 陈锋. 蔗糖和光周期在泸定百合试管鳞茎膨大中的作用机制[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2016(4): 435-441.
- [13] 张艳波. 毛百合组织培养与试管鳞茎膨大的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2012: 34-35.
- [14] 张延龙, 张启翔, 薛晓娜. 光周期对野生卷丹试管苗鳞茎形成及糖代谢的影响[J]. 园艺学报, 2010(6): 957-962.
- [15] 周玲云. 蔗糖在泸定百合试管鳞茎形成及膨大过程中的信号作用初探[D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- [16] 张延龙, 梁建丽, 牛丽新. 东方百合试管鳞茎膨大的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(6): 75-78.
- [17] HARUKI K, YAMADA K, HOSOKI T et al. Effects of sugar and temperature on the growth of miniature bulbs of *Lilium japonicum* Thunb. cultured on a rotary shaker[J]. J Jap Soc Hort Sci, 1996, 65(2): 363-371.
- [18] MAESATO K, SHARADA K, FUKUI H et al. *In vitro* bulblet regeneration from bulb scale explants of *Lilium japonicum* Thunb. effect of plant growth regulators and culture environment [J]. Hort Sci, 1994, 69(2): 289-297.
- [19] ANUSHRI V, VIBHA D A. Protocol for *in vitro* mass propagation of asitatic hybrids of lily through liquid stationary culture [J]. In Vitro Cell Develop Biol, 2000, 36: 383-391.