

食药两用百合离体培养和小鳞茎膨大技术研究

涂文龙, 李楠, 尹佳琪, 赵骥民, 马艳丽

(长春大学园林学院 长春 130012)

摘要: 为了系统研究不同消毒方式及植物生长调节剂浓度对比对食药两用百合外植体不定芽诱导、继代增殖培养、生根培养的影响,同时分析不同浓度组合的NAA、IBA、蔗糖(SUC)对大花卷丹小鳞茎膨大的影响机制,试验以食药两用百合大花卷丹、兰州百合、卷丹、龙牙百合、宜兴百合鳞茎鳞片作为外植体,设置不同浓度配比的植物生长调节剂处理组,进行不定芽诱导、继代增殖培养、生根培养等试验。同时采用单因素试验和响应面分析法对大花卷丹小鳞茎膨大的影响进行研究。结果表明,(1)最佳消毒方案为75%乙醇30 s+0.1% HgCl₂12 min;(2)大花卷丹、兰州百合诱导最适培养基为MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC;卷丹、龙牙百合、宜兴百合小鳞茎诱导的最适培养基为MS+2 mg·L⁻¹ 6BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC、MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC、MS+2 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC;(3)兰州百合、卷丹、宜兴百合最佳增殖配方为MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ SUC,大花卷丹为MS+0.5 mg·L⁻¹ 6BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ SUC,龙牙百合为MS+1.5 mg·L⁻¹ 6BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ SUC;(4)大花卷丹最佳生根配方为MS+1 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC,兰州百合最佳生根配方为MS+2 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC,卷丹、宜兴百合最佳生根配方为MS+2 mg·L⁻¹ IBA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC、龙牙百合最佳生根配方为MS+3 mg·L⁻¹ IBA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC;(5)1.15 mg·L⁻¹ NAA、2.14 mg·L⁻¹ IBA、43.71 g·L⁻¹ SUC为响应曲面优化结果最佳值,大花卷丹小鳞茎预测可增大质量0.746 g,验证试验证明能增大质量0.765 g。该试验结果为百合的工厂化育苗和开发利用提供了科学依据和技术支持。

关键词: 食用百合;药用百合;组织培养;工厂化育苗;响应曲面法

中图分类号:S644.1

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2025)09-169-12

Research on *in vitro* culture and bulblet enlargement technologies of edible and medicinal lily resources

TU Wenlong, LI Nan, YIN Jiaqi, ZHAO Jimin, MA Yanli

(College of Landscape Architecture, Changchun University, Changchun 130012, Jilin, China)

Abstract: This study systematically evaluated the effects of different disinfection methods and plant growth regulator (PGR) concentration ratios on the *in vitro* regeneration of five kinds of edible and medicinal lily (Dahua Juandan, Lanzhou lily, Tiger lily, Longya lily, and Yixing lily) scale explants, and explored the mechanism of different concentration combinations of NAA, IBA, and SUC on the bulblet enlargement of Dahua Juandan using single-factor experiments and response surface methodology (RSM). The results showed that: (1) The optimal disinfection protocol for explants was 75% ethanol for 30 s followed by 0.1% HgCl₂ for 12 min. (2) The optimal medium for adventitious bud induction: MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ sucrose (SUC) for Dahua Juandan and Lanzhou lily, MS+2 mg·L⁻¹ 6BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Tiger lily, MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Longya lily, and MS+2 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Yixing lily. (3) The optimal formula for subculture and proliferation: Lanzhou lily, Tiger lily, and Yixing lily were MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ SUC, while Dahua Juandan and Longya lily were MS+0.5 mg·L⁻¹ 6BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ SUC, and Longya lily is MS+1.5 mg·L⁻¹ 6BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ SUC, respectively. (4) The best formula for rooting culture: MS+1 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Dahua Juandan, MS+2 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Lanzhou lily, MS+2 mg·L⁻¹ IBA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Tiger lily and

收稿日期:2024-11-25;修回日期:2025-03-27

基金项目:吉林省科技厅项目(20240305026YY)

作者简介:涂文龙,男,在读硕士研究生,主要从事植物资源开发研究。E-mail:1628340646@qq.com

通信作者:马艳丽,女,教授,主要从事寒冷地区经济植物资源开发与应用研究。E-mail:1513776399@qq.com

Yixing lily, MS+3 mg·L⁻¹ IBA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC for Longya lily. (5)RSM optimization revealed that the best combination to promote the bulblet expansion of Dahua Juandan was 1.15 mg·L⁻¹ NAA, 2.14 mg·L⁻¹ IBA, and 43.71 g·L⁻¹ SUC. The predicted mass gain was 0.746 g, and the actual mass gain in the verification experiment was 0.765 g. These results provide scientific basis and technical support for the industrial seedling cultivation and development utilization of edible *Lilium* resources.

Key words: Edible lily; Medicinal lily; Tissue culture; Factory seedling breeding; Response surface methodology

百合(*Lilium* sp.)是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)植物的总称,多年生具地下鳞茎的草本植物。因其鳞茎由多数鳞片合抱,而且能治疗伤寒后的百合病,故名“百合”,别称有强瞿、强仇、中庭、重迈、夜合花、蒜脑薯、百合蒜,被誉为“球根花卉之王”^[1]。目前,全世界已发现的百合有120多种^[2],主要分布于北半球温带与寒带地区。百合是集观赏、食用、药用价值于一身的重要经济作物,现已被我国卫生部列入食用、药用资源名录之中。现代研究表明:卷丹百合为目前药用百合的主流品种,甘肃省的兰州百合、江苏省的宜兴百合和江西省的龙牙百合是主要的食用品种,渥丹花蕾晒干后称红花菜,可作山菜食用^[3-5]。

随着百合市场需求增长和种植面积扩大,对百合种球的需求越来越大。然而,传统百合繁殖方法由于耗时较长,且受气候和地理因素的限制,无法实现快速繁殖。再加上传统的龙牙百合、宜兴百合等退化严重、抗性低、效益差,使得食药百合的发展受到较大限制。采用组织培养技术能够有效地克服这些限制^[6],不仅能够保护百合的遗传资源,还能确保遗传特性的稳定传递^[7]。因此,建立高效的离体再生体系及小鳞茎膨大技术,对保障原料供应、提升百合种质资源利用效率具有重要学术价值与经济意义。李仁平等^[8]研究表明,卷丹诱导培养基配方为MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ 蔗糖+7 g·L⁻¹ 琼脂;裴怀弟等^[9]运用响应曲面法得到兰州百合最适的增殖培养基为MS+1.25 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA;钱滢宇等^[10]以兰州百合鳞片为材料,筛选出了芽诱导的最适培养基为MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ NAA,诱导率可以达到91.53%;尹秀等^[11]以藏产卷丹百合为材料,发现最适不定芽增殖培养基为2 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ NAA;陈海霞等^[12]以龙牙百合为材料研究发现,MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ NAA为不定芽诱导最佳培养基,分化率最高达到93%,分化系数为7.43。牛慧婷等^[13]以兰州百合组培小鳞茎为材料,发现添加120 g·L⁻¹ 蔗糖时鳞茎平均直径最大,添加0.02 mg·L⁻¹ 2,4-D能有效促进小鳞茎形

成和膨大;常琳等^[14]研究发现,添加30 g·L⁻¹ 蔗糖能有效增加金石和伯爵百合小鳞茎的质量。研究表明,鳞茎越大,移栽成活率越高,能够有效缩短生长周期^[15]。大花卷丹百合为多年生药食同源植物,是目前新开发的极具市场前景的食用百合品种,富含营养成分,与目前市场主流的食用百合品种兰州百合、龙牙百合相比,具有生长周期短、口感好,营养成分含量高等优势^[16-18]。然而,现有研究多局限于单一品种或阶段,缺乏对多品种离体再生体系的系统性对比,对新兴的、具有市场潜力的品种如大花卷丹的研究较少,且对小鳞茎膨大的激素-蔗糖协同机制解析不足,难以满足规模化生产需求。

笔者以5种食药百合资源鳞片为外植体,对百合鳞片消毒时间,影响鳞片诱导、小鳞茎增殖和生根的因素,大花卷丹小鳞茎膨大最佳激素配比进行探究,以期食药百合资源的工厂化育苗、资源开发与利用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

选择长春大学园林学院引种栽培的5个药用食用百合品种(表1)开展试验研究。培养基为MS培养基。琼脂粉购于北京Solarbio科技有限公司,蔗糖(SUC)(分析纯)购于比克曼生物公司,激素

表1 所使用的药用食用百合的名称、产地和序号
Table 1 Names, origins, and identification numbers of medicinally and edibly used lilies

序号	种名或品种名	产地
No.	Botanical name or variety name	Origin
1	大花卷丹 (<i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>)	吉林省长白山 Changbaishan, Jilin Province
2	兰州百合 (<i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>)	甘肃省兰州市 Lanzhou City, Gansu Province
3	卷丹 (<i>Lilium lancifolium</i> Thunb.)	吉林省长春市 Changchun City, Jilin Province
4	龙牙百合 (<i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>)	湖南省永州市 Yongzhou City, Hunan Province
5	宜兴百合 (<i>Lilium lancifolium</i> Thunb.)	江苏省宜兴市 Yixing City, Jiangsu province

6-苄基腺嘌呤(6-BA)、 α -萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)、激动素(KT)均购于合肥博美生物有限责任公司。

1.2 培养条件

试验于2023年11月至2024年5月在长春大学园林学院组培试验室内进行,组培室温度控制在(25±1)℃,使用黑布覆盖1周无光处理后再进行光照处理,光周期为18 h光照/6 h黑暗,光照强度为1600~2000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,空气相对湿度为60%。

1.3 外植体处理

选择生长状况良好,无病虫害的百合种球。剥开除去外层鳞片,取中层鳞片放置于玻璃烧杯中,用洗衣粉浸泡30 min,用毛刷轻柔搅拌5 min后用自来水冲洗1 h。

在超净工作台中,将百合鳞片置于75%乙醇中浸泡消毒30 s,其间轻轻晃动烧杯,用无菌水漂洗3次。使用0.1% HgCl_2 消毒,试验设计见表2。其间继续晃动烧杯使外植体与消毒剂充分接触,消毒后用无菌水漂洗3次,无菌滤纸吸干外植体表面水分。使用手术刀将百合鳞片切割为宽0.15~0.2 cm的纵向长条,接种在 $\text{MS}+1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ SUC}+$ 琼脂的 $6.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 基础培养基上,每瓶放置3个外植体,共10瓶,3次重复试验。30 d后观察统计外植体生长情况、污染率与存活率。

污染率/%=外植体污染个数/接种外植体总数×100;

存活率/%=外植体存活个数/接种外植体总数×100。

表2 外植体消毒处理试验设计(HgCl_2)

Table 2 Experimental design for the disinfection treatment of explants (0.1% HgCl_2)

处理 Treatment	消毒时间 Disinfection time/min
1	0
2	6
3	10
4	12
5	15

1.4 启动培养

选择MS为基本培养基,添加不同浓度的6-BA、NAA,浓度梯度见(表3),将消毒处理后的百合纵切长条外植体接种于启动培养基上,每个组培瓶3个外植体,10瓶,3次重复。避光处理1周后,进入光照周期培养30 d后观察记录愈伤组织诱导率和诱导倍数。

诱导率/%=不定芽诱导数/接种总数×100;

诱导倍数=不定芽诱导个数/外植体个数。

表3 不同浓度6-BA、NAA对外植体诱导分化影响的试验设计

Table 3 Experimental design on the influence of different concentrations of 6-BA and NAA on inducing explant differentiation

处理 Treatment	$\rho(6\text{-BA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
Y1	1	0.1
Y2	1	0.2
Y3	1	0.3
Y4	2	0.1
Y5	2	0.2
Y6	2	0.3
Y7	3	0.1
Y8	3	0.2
Y9	3	0.3

1.5 增殖培养

将启动培养中长势良好的小鳞茎转移到不同浓度的6-BA、NAA、KT增殖培养基中,激素浓度梯度见表4。每瓶3个外植体,共5瓶,3次重复。30 d后统计增殖倍数。

增殖倍数=增殖数/接种总数。

表4 不同浓度6-BA、NAA、KT对外植体增殖影响的试验设计

Table 4 Experimental design on the effect of different concentrations of 6-BA, NAA, and KT on explant proliferation

处理 Treatment	$\rho(6\text{-BA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{KT})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
Z1	0.5	0.1	0.0
Z2	0.5	0.1	0.5
Z3	0.5	0.1	0.1
Z4	1.0	0.2	0.0
Z5	1.0	0.2	0.5
Z6	1.0	0.2	0.1
Z7	1.5	0.3	0.0
Z8	1.5	0.3	0.5
Z9	1.5	0.3	0.1

1.6 生根培养

将长势良好的小鳞茎接种于不同浓度配比的IBA、NAA生根培养基中,激素浓度梯度见表5。每瓶2个小鳞茎,共5瓶,3次重复。30 d后统计生根数和根长。

1.7 小鳞茎膨大试验设计

1.7.1 材料 选取启动培养中长势良好的大花卷丹小鳞茎,接种在培养基上进行培养,30 d后观察

表5 不同浓度的 IBA、NAA 对小鳞茎生根影响的试验设计

Table 5 Experimental design on the influence of different concentrations of IBA and NAA on rhizogenesis of small bulbils

处理 Treatment	$\rho(\text{IBA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
S1	1	0.1
S2	1	0.5
S3	1	1.0
S4	2	0.1
S5	2	0.5
S6	2	1.0
S7	3	0.1
S8	3	0.5
S9	3	1.0

记录小鳞茎增大质量、球茎膨大情况。

小鳞茎增大质量/g=接种后质量-接种前质量；

小鳞茎直径=接种后直径-接种前直径。

1.7.2 单因素试验设计 将小鳞茎分别接种于不同浓度的 NAA 与 IBA 培养基中,使用 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ SUC (蔗糖)为基础,接种至不同浓度 SUC 培养基中,试验设计见表 6。每瓶 3 个小鳞茎,共 5 瓶,3 次重复。35 d 后观察记录小鳞茎增大质量、球茎膨大情况。

表6 NAA、IBA、SUC 单因素浓度水平试验设计

Table 6 Experimental design of single-factor concentration levels for NAA, IBA, and SUC

处理 Treatment	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	处理 Treatment	$\rho(\text{SUC})/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	处理 Treatment	$\rho(\text{IBA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
N1	0.1	T1	15	I1	0.5
N2	0.5	T2	30	I2	1.0
N3	1.0	T3	45	I3	1.5
N4	1.5	T4	60	I4	2.0
N5	2.0	T5	90	I5	2.5

1.7.3 响应曲面设计 以小鳞茎的增大质量为响应值,N(NAA)、I(IBA)、S(SUC)浓度为自变量进行响应曲面试验,使用 Box-Behnken 中心组合原理进行试验设计,共 17 组试验(表 7)。通过响应面分析法进行建模分析,并进行验证。

1.8 数据分析

采用 Excel 2016 进行数据记录、整理;使用 SPSS 27 进行数据处理和差异显著性分析;采用 Design Expert 13 完成试验设计、模型建立和数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同消毒处理对外植体的影响

由表 8 可知,处理 1 的污染率均在 90%以上,

表7 Box-Behnken 响应曲面设计

Table 7 Box-Behnken response surface design

处理 Treatment	因素水平 Factor levels			质量 Mass/g
	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{IBA})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{SUC})/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	
1	1.5	1	45	0.22±0.01 hi
2	1.0	2	45	0.73±0.04 ab
3	0.5	1	45	0.19±0.01 i
4	1.0	2	45	0.73±0.04 ab
5	1.0	1	30	0.25±0.02 gh
6	1.0	2	45	0.76±0.04 a
7	1.0	3	60	0.33±0.04 f
8	1.5	2	60	0.52±0.02 d
9	1.0	2	45	0.71±0.02 b
10	1.5	2	30	0.60±0.02 c
11	0.5	3	45	0.33±0.03 f
12	1.0	2	45	0.73±0.04 ab
13	0.5	2	60	0.35±0.02 f
14	1.0	1	60	0.27±0.01 g
15	0.5	2	30	0.46±0.02 e
16	1.5	3	45	0.51±0.02 d
17	1.0	3	30	0.35±0.04 f

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level.

其中兰州百合和宜兴百合的污染率达到了 100%。随着 0.1% HgCl_2 处理时间的增加,污染率逐渐降低。大花卷丹、卷丹和龙牙百合处理 4 和处理 5 的污染率显著低于其他处理组。兰州百合在处理 3、处理 4 和处理 5 中的污染率有所下降,但即使在最佳处理(处理 4 和处理 5)下,污染率仍然相对较高。

大花卷丹和兰州百合处理 3 的存活率最高,为 76.00%、80.00%,卷丹、龙牙百合、宜兴百合在处理 4 中的存活率显著高于其他处理,分别为 90.00%、68.00%、88.00%(表 9)。从整体趋势来看,处理 3 和处理 4 存活率较高,处理 1 和处理 5 的存活率普遍较低。综合考虑污染率和存活率,处理 4(30 s 75%乙醇+12 min 0.1% HgCl_2)效果最好,既能有效消毒,又不会对植物组织造成过多伤害,在保持较低污染率的同时,也能保持较高的存活率。

2.2 不同浓度 6-BA、NAA 对外植体诱导的影响

将百合鳞片纵切后接入不同启动培养基上,全暗培养 1 周后,转到组培架上进行光照培养,在光照条件下外植体由白色转变成嫩绿色,15~20 d 后外植体创口处开始有不定芽突起,然后进行生长膨大(图 1)。大花卷丹在 Y3 处理的诱导率最高,为

表8 不同外植体消毒处理对污染率的影响

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
1	92.00±13.04 a	100.00±0.00 a	98.00±4.47 a	98.00±4.47 a	100.00±0.00 a
2	83.33±8.17 a	88.33±4.08 a	88.33±4.08 a	86.67±5.16 a	86.67±5.16 b
3	32.00±8.37 b	56.00±11.40 b	42.00±17.89 b	60.00±12.25 b	36.00±11.40 c
4	8.00±8.37 c	50.00±15.81 b	8.00±8.37 c	46.00±11.40 c	10.00±7.07 d
5	6.00±5.48 c	42.00±21.68 b	6.00±5.48 c	36.00±19.49 c	10.00±0.00 d

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters after the same column indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

表9 不同外植体消毒处理对存活率的影响

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
1	50.00±7.07 b	48.00±4.47 c	54.00±11.40 c	28.00±8.37 c	48.00±8.37 c
2	65.00±5.48 a	66.67±8.17 b	70.00±8.94 b	51.67±7.53 b	65.00±5.48 b
3	76.00±15.17 a	80.00±12.25 a	74.00±11.40 b	56.00±5.48 b	68.00±8.37 b
4	46.00±8.94 bc	64.00±15.17 b	90.00±10.00 a	68.00±8.37 a	88.00±8.37 a
5	34.00±11.40 c	46.00±8.94 c	56.00±5.48 c	34.00±5.48 c	50.00±12.25 c

93.60%;兰州百合、宜兴百合在 Y5 处理的诱导率最高,分别为 95.60%、95.71%;龙牙百合在 Y2 处理的诱导率最高,为 86.20%;卷丹在 Y4 处理的诱导率最高,为 83.20%(表 10)。

大花卷丹在 Y3 处理的诱导倍数最高,为 5.00,表明这种处理最能促进大花卷丹的组织生长和增殖。兰州百合与宜兴百合在 Y5 处理的诱导倍数最高,分别为 11.75、10.00。卷丹与龙牙百合分别在 Y4 和 Y2 处理中诱导倍数最高(表 11)。综上所述,大花卷丹、兰州百合在 Y3 处理下获得较高的诱导率与诱导倍数,Y4、Y2 和 Y5 处理下,分别最适合卷丹、龙牙百合、宜兴百合小鳞茎的诱导。

2.3 不同浓度 6-BA、NAA、KT 对外植体增殖的影响

当小鳞茎生长到球茎为 0.2~0.3 cm 时,将其切割成单个小鳞茎,接种在增殖培养基上,18~22 d 可以看到明显增殖(图 2);部分小鳞茎转接到增殖培养基上,从鳞茎尖端开始逐渐褐变,15~20 d 褐化死亡。卷丹和宜兴百合在 Z1、Z2 和 Z3 处理下,小鳞茎褐化死亡情况严重,增殖倍数分别为 0.34、0.54、0.60 和 0.30、0.46、0.58。不同激素配比对药食用百合外植体增殖存在显著差异(表 12)。大花卷丹在 Z3 处理下增殖倍数最高,为 2.70,表明这种处理最能促进大花卷丹的组织增殖;Z6 和 Z7 处理的增殖倍数最低,分别为 0.60 和 0.40。从整体趋势来看,大多数品种在 Z6 处理下都表现出较高的增殖倍

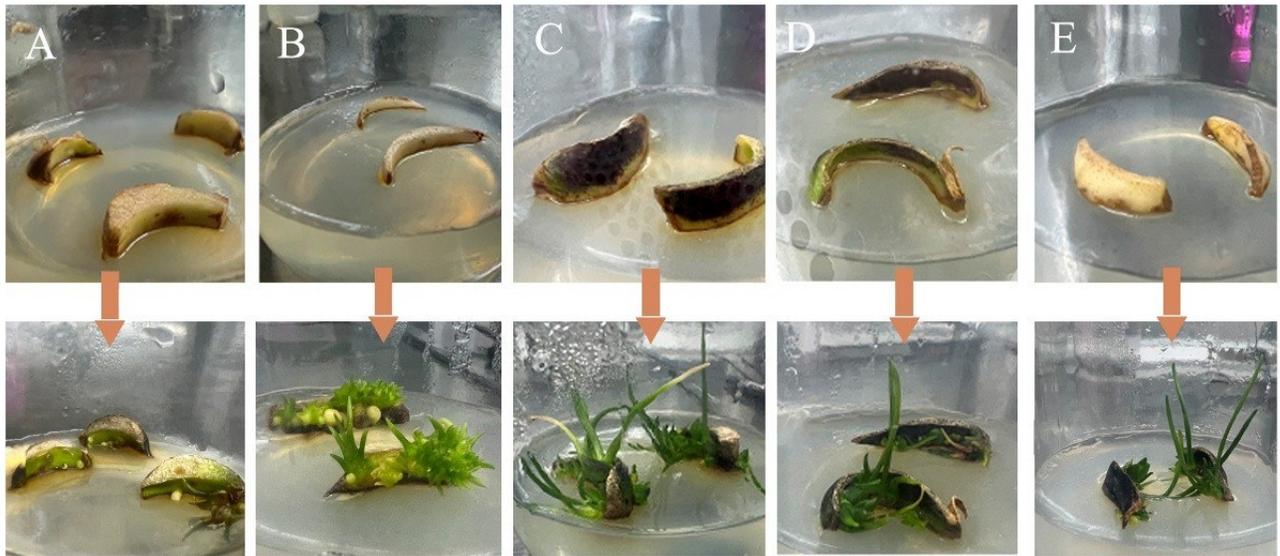
数,兰州百合、卷丹、龙牙百合、宜兴百合在 Z6 处理下的增殖倍数分别为 4.70、2.72、1.54、2.92。

2.4 不同浓度 IBA、NAA 对小鳞茎生根的影响

将球茎大小一致的小鳞茎转接到生根培养基中,10~15 d 内小鳞茎基部开始长出白色须根,12~15 d 后须根开始逐渐伸长,根茎增加,由白色转变为绿色,如图 3。由表 13 可知,卷丹和宜兴百合在 S4 处理下生根数最高,分别为 4.4 条和 5.0 条;大花卷丹在 S1 处理下生根数最高,为 4.4 条;兰州百合和龙牙百合分别在 S5 和 S7 处理下生根数最高,为 4.6 条、6.8 条。5 种食药百合在 S9 处理下均表现出了较低的生根数,由表 14 可知,兰州百合、卷丹和宜兴百合在 S5 处理下根长最长,为 2.41、2.82、3.22 cm;大花卷丹和龙牙百合分别在 S2、S7 处理下根长最长,为 2.75、2.55 cm。

2.5 三因素对小鳞茎膨大的影响

2.5.1 单因素试验分析 将大花卷丹小鳞茎分别接种到不同浓度的 NAA 与 IBA 培养基中,在 NAA 处理下,N3 处理(1.0 mg·L⁻¹ NAA)的大花卷丹球茎和质量均为最大,N1 处理下质量最小,为 0.196 g;N1 处理下球茎最小,为 0.135 cm。在 SUC 处理下,T3 处理(45 g·L⁻¹ SUC)的大花卷丹和球茎质量均为最大,T1 处理的质量和 T5 处理的球茎最小,分别为 0.088 g 和 0.031 cm。在 IBA 处理下,I3 处理(1.5 mg·L⁻¹ IBA)的大花卷丹质量和球茎都最大(表 15)。因此,根据单因素筛选结果选择 0.5~1.5 mg·L⁻¹



注:A. 大花卷丹鳞片;B. 兰州百合鳞片;C. 卷丹鳞片;D. 龙牙百合鳞片;E. 宜兴百合鳞片。

Note: A. *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* scales; B. *Lilium davidii* var. *willmottiae* scales; C. *Lilium lancifolium* Thunb. scales; D. *Lilium brownii* var. *viridulum* scales; E. *Lilium lancifolium* Thunb. scales.

图1 不同浓度6-BA、NAA配比下外植体诱导情况

Fig. 1 Induction of explants under different concentrations of 6-BA and NAA mixtures

表10 不同浓度6-BA、NAA配比下的诱导率

Table 10 Induction rates of different concentration ratios of 6-BA and NAA

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
Y1	52.80±2.86 f	66.40±4.16 cd	69.60±2.89 b	38.00±5.70 d	37.50±9.57 e
Y2	60.80±3.96 e	84.80±2.78 ab	48.20±6.06 d	86.20±4.15 a	48.00±13.04 de
Y3	93.60±2.51 a	92.80±3.11 a	61.00±5.10 c	67.00±5.70 b	50.00±8.17 d
Y4	67.20±7.29 cd	75.20±2.49 bc	83.20±6.14 a	56.00±6.52 c	74.00±5.48 bc
Y5	86.20±5.17 b	95.60±4.56 a	68.00±4.69 b	33.80±3.83 d	95.71±5.35 a
Y6	72.60±8.38 c	66.00±7.34 cd	46.60±8.26 d	49.40±6.58 c	72.00±13.04 bc
Y7	67.80±2.39 cd	65.20±6.14 cd	27.80±4.87 e	34.00±15.57 d	82.00±8.37 b
Y8	62.00±7.04 de	56.00±6.52 d	19.80±2.59 f	24.00±6.52 f	72.50±9.57 bc
Y9	44.00±4.85 g	56.00±6.52 d	14.00±3.54 f	25.00±3.54 f	70.00±8.17 c

NAA、1~3 mg·L⁻¹ IBA、30~60 g·L⁻¹ SUC 进行响应面优化。

2.5.2 回归分析 选取对小鳞茎膨大影响最显著的3个因素进行回归分析建模。以小鳞茎增加的质量为响应值,N(NAA)、I(IBA)、S(SUC)为自变量进行优化试验。使用 Box-Behnken 中心组合原理进行试验设计,共设计 17 组试验,试验设计和试验结果见表 7。应用 Design-Expert 13 软件对表 7 中的试验结果进行统计回归分析,得出增大质量(Y)与植物生长调节剂 N(NAA)、I(IBA)、S(SUC)的数学回归模型为:

$$Y = -2.18092 + 0.866367N + 1.23634I +$$

$$0.050627S + 0.075210NI + 0.001042NS - 0.000583IS - 0.467665N^2 - 0.302979I^2 - 0.00057S^2。$$

由表 16 可知,回归方程中一次项 N,二次项 N²、I²、S² 对小鳞茎膨大影响极显著。由 F 值可知,3 个因素对小鳞茎膨大的影响主次顺序为 I>N>S。回归方程 P<0.0001,表明该模型有极高的显著性,预测性较好、误差小、可信度高,实际值与预测值较接近,可用此模型方程对小鳞茎膨大进行预测分析和优化配方组合。

2.5.3 响应曲面分析 该模型的三维响应面图见图 4~6,任意两因素交互作用的三维图均呈现较陡峭的坡度,且等高线图几乎全为椭圆形,表明两两

表 11 不同浓度 6-BA、NAA 配比下诱导倍数

Table 11 Induction multiplicity of different concentration ratios of 6-BA and NAA

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
Y1	1.40±0.55 c	5.00±1.25 fg	4.80±1.30 b	2.20±0.84 bc	2.67±1.03 d
Y2	2.20±0.84 bc	5.00±1.22 fg	1.80±0.84 ef	5.80±0.84 a	4.55±1.51 cd
Y3	5.00±1.00 a	10.25±0.46 b	2.80±0.84 cde	2.60±0.55 bc	3.00±1.41 d
Y4	1.60±0.55 c	6.50±1.52 d	7.80±1.30 a	2.00±1.00 bc	3.75±0.96 d
Y5	2.40±1.14 bc	11.75±1.49 a	3.00±1.22 cd	3.20±0.84 b	10.00±2.45 a
Y6	2.40±0.55 bc	7.78±1.48 c	3.80±0.84 bc	2.60±1.52 bc	6.25±0.87 bc
Y7	2.20±1.10 bc	5.17±1.47 f	2.80±0.84 cde	2.40±0.90 bc	6.67±2.46 b
Y8	2.80±1.10 b	4.00±0.89 g	2.60±0.55 de	1.60±0.89 c	4.50±0.71 cd
Y9	2.20±0.84 bc	4.14±0.90 fg	1.40±0.55 f	3.00±1.58 b	7.63±1.6 b



注: A. 大花卷丹小鳞茎; B. 兰州百合小鳞茎; C. 卷丹小鳞茎; D. 龙牙百合小鳞茎; E. 宜兴百合小鳞茎。

Note: A. Small Bulbils in *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* scales; B. Small Bulbils in *Lilium davidii* var. *willmottiae* scales; C. small bulbils in *Lilium lancifolium* Thunb. scales; D. small bulbils in *Lilium brownii* var. *viridulum* scales; E. small bulbils in *Lilium lancifolium* Thunb. scales.

图 2 不同浓度 6-BA、NAA、KT 配比下外植体增殖情况

Fig. 2 Proliferation of explants under different concentrations of 6-BA, NAA, and KT mixtures

表 12 不同浓度 6-BA、NAA、KT 配比下增殖倍数

Table 12 Proliferation multiples at different concentration ratios of 6-BA, NAA, and KT

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
Z1	0.62±0.18 f	1.60±0.55 e	0.34±0.09 g	0.60±0.55 e	0.30±0.12 f
Z2	2.08±0.46 bc	2.20±0.84 de	0.54±0.06 f	1.28±0.18 cd	0.46±0.05 f
Z3	2.70±0.14 a	2.40±0.55 d	0.60±0.07 ef	1.52±0.18 c	0.58±0.04 f
Z4	2.00±0.07 cd	2.80±0.83 cd	1.86±0.22 c	0.56±0.05 e	1.32±0.45 e
Z5	2.26±0.30 b	2.60±0.55 d	2.36±0.13 b	1.12±0.11 d	1.80±0.27 cd
Z6	0.60±0.17 f	4.70±0.27 a	2.72±0.16 a	1.54±0.36 c	2.92±0.20 a
Z7	0.40±0.12 f	3.40±0.42 bc	0.76±0.13 e	2.22±0.30 b	2.30±0.25 b
Z8	0.98±0.13 e	2.60±0.55 d	1.06±0.15 d	3.30±0.27 a	1.62±0.33 de
Z9	1.82±0.13 d	3.70±0.27 b	1.70±0.28 c	2.30±0.27 b	1.96±0.36 c

因素之间存在一定的交互作用,小鳞茎膨大存在最大值。从 IBA 与 SUC 响应曲面可知,当 IBA 一定时,随着 SUC 浓度的增加,小鳞茎质量增加,但是高

浓度后小鳞茎质量下降,说明适宜的 SUC 浓度对小鳞茎膨大有促进作用,高浓度则会抑制(图 4)。在 NAA 与 SUC 的交互中,当 NAA 浓度一定时,小鳞



注:A. 大花卷丹小鳞茎;B. 兰州百合小鳞茎;C. 卷丹小鳞茎;D. 龙牙百合小鳞茎;E. 宜兴百合小鳞茎。

Note: A. Small Bulbils in *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* scales; B. Small Bulbils in *Lilium davidii* var. *willmottiae* scales; C. Small bulbils in *Lilium lancifolium* Thunb. scales; D. Small bulbils in *Lilium brownii* var. *viridulum* scales; E. Small bulbils in *Lilium lancifolium* Thunb. scales.

图3 不同浓度 IBA、NAA 配比下小鳞茎生根情况

Fig. 3 Rooting of small bulbils under different concentrations of IBA and NAA mixtures

表 13 不同浓度 IBA、NAA 下小鳞茎生根数

Table 13 Number of roots in small bulbils under different concentrations of IBA and NAA

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
S1	4.4±2.30 a	1.6±0.90 bcd	1.0±0.61 e	1.2±0.84 f	1.4±0.55 cd
S2	3.8±1.30 ab	2.0±0.71 bcd	2.1±0.24 cd	2.2±0.84 ef	2.4±1.34 bc
S3	3.0±0.71 abc	1.2±1.30 cd	2.4±0.55 bc	3.4±1.34 cde	2.4±1.14 bc
S4	1.4±0.55 c	2.0±0.71 bcd	4.4±1.14 a	2.6±1.52 def	5.0±1.00 a
S5	2.8±0.84 abc	4.6±1.52 a	3.0±1.00 b	5.0±1.87 b	3.4±0.55 b
S6	2.6±1.52 bc	2.6±1.51 b	2.0±0.71 cd	4.6±1.67 bc	1.2±0.84 d
S7	2.6±1.51 bc	2.2±0.83 bc	2.2±0.84 bcd	6.8±0.84 a	1.8±0.84 cd
S8	2.2±0.84 bc	1.4±0.55 bcd	1.5±0.36 de	3.8±0.84 bcd	1.8±0.84 cd
S9	1.3±0.45 c	0.8±0.45 d	1.0±0.61 e	1.8±0.83 f	0.8±0.83 d

表 14 不同浓度 IBA、NAA 下小鳞茎生根根长

Table 14 Root length of small bulbils at different concentrations of IBA and NAA

cm

处理 Treatment	大花卷丹 <i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i>	兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>willmottiae</i>	卷丹 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	龙牙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	宜兴百合 <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.
S1	1.70±0.18 bc	0.16±0.15 e	1.04±0.34 f	0.16±0.15 f	0.86±0.30 c
S2	2.75±0.44 a	0.60±0.19 d	1.50±0.35 e	0.48±0.08 e	1.56±0.36 b
S3	1.95±0.63 b	1.00±0.35 c	2.16±0.31 bc	0.78±0.26 e	1.84±0.28 b
S4	0.96±0.29 de	1.76±0.24 b	2.54±0.36 ab	1.12±0.11 d	2.92±0.29 a
S5	1.90±0.59 b	2.41±0.54 a	2.82±0.48 a	1.62±0.16 c	3.22±0.27 a
S6	1.25±0.75 cd	1.54±0.46 b	1.92±0.19 cd	2.00±0.071 b	1.82±0.22 c
S7	1.12±0.59 d	0.84±0.19 cd	1.56±0.05 de	2.55±0.55 a	1.56±0.23 c
S8	0.51±0.24 ef	0.76±0.24 cd	1.52±0.50 e	2.10±0.23 b	1.70±0.67 c
S9	0.30±0.06 f	0.14±0.13 e	0.76±0.24 f	1.48±0.39 c	0.68±0.43 c

茎增大质量随着 SUC 浓度的增加呈先增大后减小的趋势(图 5)。在 NAA 与 IBA 的交互中,当 NAA 浓度一定时,小鳞茎增大质量随着 IBA 浓度的增加呈先增大后减小的趋势(图 6)。

2.5.4 模型验证试验 应用 Design-Expert13 进行

分析,结果显示,各因素的最优值如图 7 所示, ρ (NAA)=1.15 mg·L⁻¹, ρ (IBA)=2.14 mg·L⁻¹, ρ (SUC)=43.71 g·L⁻¹,理论增大质量 0.746 g。为了进一步验证模型预测的准确性,在此条件下进行验证试验,得到小鳞茎增大质量达 0.765 g,超过预测值

表 15 不同激素对大花卷丹小鳞茎膨大的影响

Table 15 Effects of different hormones on the swelling of small bulbils *L. leichtlinii* var. *maximowiczii*

处理 Treatment	质量 Mass/g	球茎 Bulbil/cm	处理 Treatment	质量 Mass/g	球茎 Bulbil/cm	处理 Treatment	质量 Mass/g	球茎 Bulbil/cm
N1	0.196±0.09 c	0.135±0.04 d	T1	0.088±0.07 b	0.093±0.03 c	I1	0.448±0.03 b	0.276±0.02 b
N2	0.357±0.04 b	0.210±0.02 b	T2	0.206±0.12 ab	0.139±0.04 ab	I2	0.243±0.09 c	0.219±0.01 c
N3	0.675±0.05 a	0.288±0.04 a	T3	0.257±0.09 a	0.166±0.03 a	I3	0.703±0.11 a	0.453±0.03 a
N4	0.245±0.07 c	0.172±0.03 c	T4	0.150±0.13 ab	0.105±0.07 bc	I4	0.470±0.08 b	0.307±0.03 b
N5	0.358±0.11 b	0.157±0.03 d	T5	0.089±0.13 b	0.031±0.01 d	I5	0.420±0.02 b	0.260±0.02 b

表 16 响应面回归方程系数显著性检验

Table 16 Significance test of coefficients in the response surface regression equation

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of squares	DF Degrees of freedom	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significance
模型 Model	0.647 4	9	0.071 9	31.97	<0.000 1	**
N	0.032 9	1	0.032 9	14.64	0.006 5	**
I	0.043 1	1	0.043 1	19.15	0.003 3	**
S	0.004 4	1	0.004 4	1.94	0.206 6	
NI	0.005 7	1	0.005 7	2.51	0.156 9	
NS	0.000 2	1	0.000 2	0.1085	0.751 5	
IS	0.000 3	1	0.000 3	0.1361	0.723 1	
N ²	0.057 6	1	0.057 6	25.58	0.001 5	**
I ²	0.386 5	1	0.386 5	171.77	<0.000 1	**
S ²	0.071 3	1	0.071 3	31.69	0.000 8	**

注：“**”表示在 0.01 水平上差异极显著；“*”表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: “**” indicates a extremely significant difference at 0.01 level; “*” indicates a significant difference at 0.05 level.

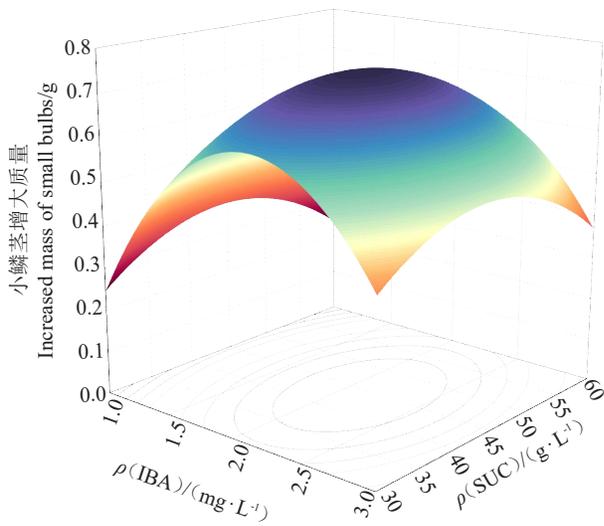


图 4 IBA 浓度与 SUC 浓度交互作用对小鳞茎膨大影响的响应曲面

Fig. 4 Response surface of the interactive effect of IBA concentration and SUC concentration on the enlargement of small bulbils

2.54%，证明此模型是科学合理的。用响应曲面法的 BBD 设计法安排试验，应用 Design-Expert 13 对小鳞茎膨大技术进行优化，获得的数学模型为：

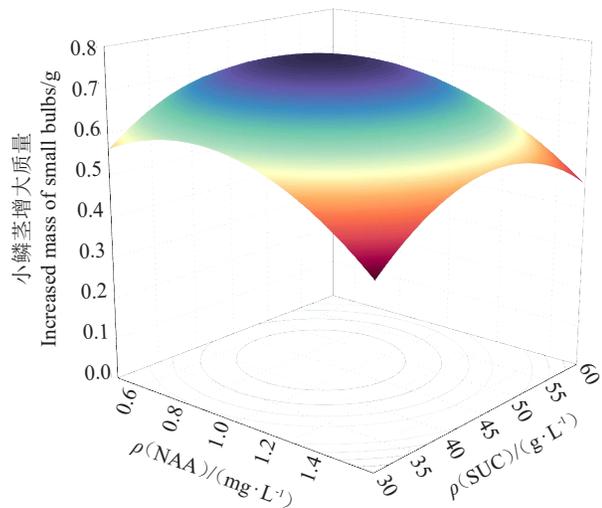


图 5 NAA 浓度与 SUC 浓度交互作用对小鳞茎膨大影响的响应曲面

Fig. 5 Response surface of the interactive effect of NAA concentration and SUC concentration on the enlargement of small bulbils

$$Y = -2.180 \ 92 + 0.866 \ 367N + 1.236 \ 34I + 0.050 \ 627S + 0.075 \ 210NI + 0.001 \ 042NS - 0.000 \ 583IS - 0.467 \ 665N^2 - 0.302 \ 979I^2 - 0.000 \ 57S^2$$

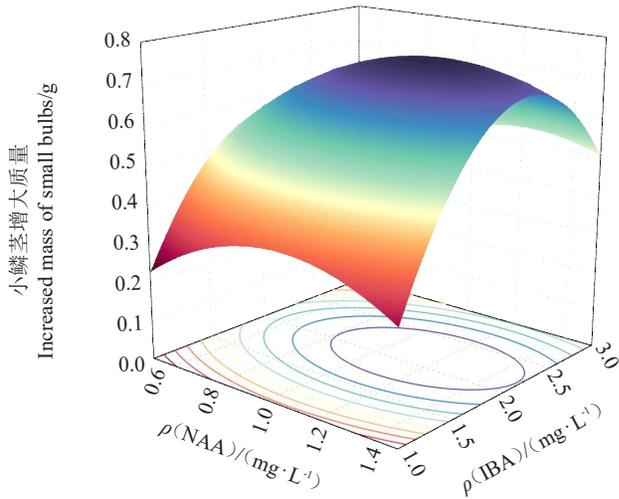


图6 NAA浓度与IBA浓度交互作用对小鳞茎膨大影响的响应曲面

Fig. 6 Response surface of the interactive effect of NAA and IBA concentrations on the enlargement of small bulbils

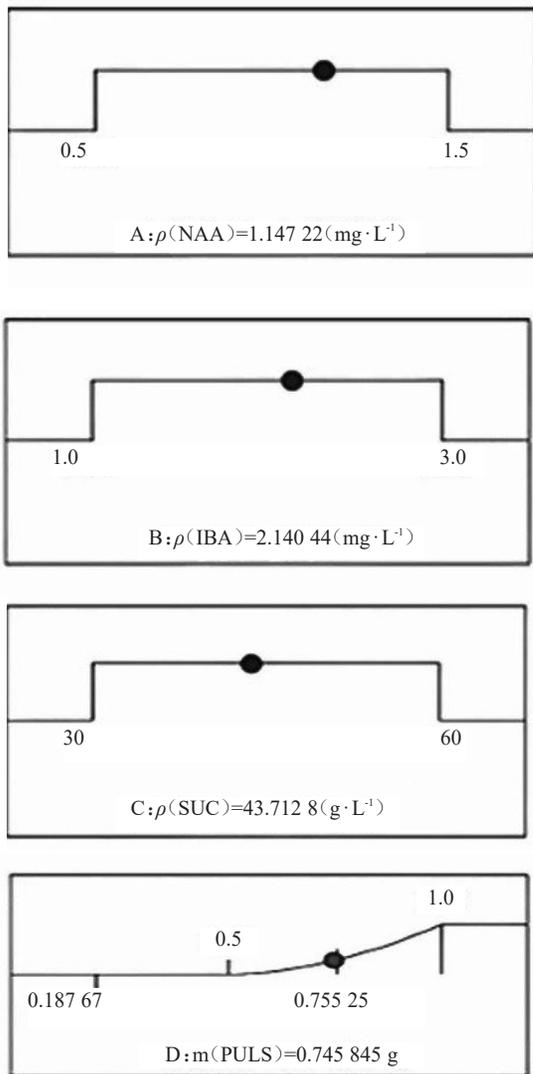


图7 各因素的最优值

Fig. 7 Optimal values of each factor

3 讨论与结论

百合鳞茎属于地下器官,直接与土壤接触,携带大量杂菌。使用鳞茎作为外植体时,常用消毒剂有乙醇、次氯酸钠、0.1% HgCl₂、84 消毒剂等。消毒剂不同,百合品种不同消毒方案也各有差异。消毒剂的浓度和消毒时长是组织培养的关键,消毒时间过长或消毒剂浓度过高会杀死外植体活性细胞,致使外植体死亡。消毒时间过短,病毒杂菌无法被彻底清除,材料会被污染。需要根据不同外植体材料确定最佳消毒剂浓度和消毒时间,使材料污染率降到最低,以提高成活率。笔者对鳞片消毒灭菌时间进行探究,发现单使用乙醇消杀 30 s 处理,污染率均达到了 98%、100%;随着 0.1% HgCl₂ 处理时间增加,污染率显著降低。但是,处理时间超过 12 min 后,存活率显著降低至 50%左右。与孙慧等^[9]在香水百合鳞片组织培养研究中的结果一致。75%乙醇 30 s 和 0.1% HgCl₂ 消毒 12 min 效果最佳,既可以有效灭菌,又能保证外植体有较高的存活率。同时,本研究结果表明,百合不同品种的外植体在同一种消毒处理下污染率也存在差异。大花卷丹、卷丹、宜兴百合用 0.1% HgCl₂ 消毒 12 min 污染率能控制在 8%~10%,而兰州百合、龙牙百合污染率在 46%~50%。朱纯瑶等^[20]以小黄叶、金头饰、莲花、蓝男孩 4 个玉簪品种的幼芽为外植体,研究了不同消毒处理对外植体污染率、存活率、褐化率的影响,不同玉簪品种通过 75%乙醇 30 s+0.1% HgCl₂ 6 min 消毒处理,污染率分别为 24.09%、9.51%、21.98%、27.43%,存在显著差异。

在组织培养过程中,外植体自身产生内源激素较缓慢,很难满足植物生长发育的需求,所以需要在培养基中添加适当的植物生长调节剂,促进植物生长发育。在百合鳞片初代诱导和继代增殖阶段常以 MS 作为基本培养基添加蔗糖,不同浓度的 6-BA、NAA、KT,以及其他植物生长调节剂。本研究结果表明,大花卷丹、兰州百合诱导的最适培养基为 MS+1 mg·L⁻¹ 6BA +0.3 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC;卷丹、龙牙百合、宜兴百合小鳞茎诱导的最适培养基分别为 MS+2 mg·L⁻¹ 6BA +0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC、MS+1 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA +30 g·L⁻¹ SUC、MS+2 mg·L⁻¹ 6BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ SUC。6-BA 属细胞分裂素,其主要

生理作用为促进细胞的分裂和扩大;NAA 属生长素类,其主要生理作用为促进细胞分裂和伸长生长。当细胞分裂素/生长素的比例在 10:3 和 20:1 之间,百合鳞片诱导和分化能力较强,但是超过这个最佳区间百合鳞片的诱导率和诱导倍数会呈现不同幅度的下降,细胞分裂素在小鳞茎诱导分化中占主导地位。

植物激素 KT 是细胞分裂素的一种,能够促进植物细胞的分裂,增加细胞数量,有助于植物的再生和繁殖。韩淞名等^[21]以 2 种雄性不育百合为试材,分别选用质量浓度为 0.1、0.2、0.3 mg·L⁻¹ 的 NAA 与 IBA 进行组合搭配,在 IBA 质量浓度为 0.2 mg·L⁻¹ 时生根率达到 100% 并且根系健壮。本研究结果表明,添加适量 KT 能有效提高小鳞茎的增殖效率,当 6-BA、NAA、KT 浓度比例在 10:2:1 时,兰州百合、卷丹、宜兴百合均能获得较高的增殖倍数,其中兰州百合能增殖 4.7 倍。大花卷丹和龙牙百合在 6-BA、NAA、KT 比例 5:1:1 和 15:3:5 时获得最适增殖倍数。影响外植体生根的外界因素较多,笔者在标准 MS 培养基中分别加入生长素 NAA 和 IBA 后,外植体生根条数明显增多,根系质量提高。说明生长素与 MS 培养基对不同品种百合再生不定芽生根诱导具有积极作用。同时,本研究结果表明,高浓度的生长素会显著抑制小鳞茎生根。

百合的鳞茎不仅是繁殖器官,同时还是植株贮存营养物质的部位,是百合属植物生长发育过程中重要的供能器官,其中富含有机物和多种无机盐^[22]。利用组织培养技术促使小鳞茎膨大,能缩短种球的培育周期,甚至小鳞茎足够大可以直接药用食用,大大缩短育苗周期,降低生产成本^[23-24]。彭伯阳等^[25]发现,蔗糖(SUC)处理能为鳞茎提供大量能量,促进其生长与有机物积累,有效促进百合品种 N82 和 N136 鳞茎膨大。孙琪^[26]以郁金香品种阿德瑞姆和红色力量为材料,在 MS 培养基中外源 IAA 浓度在 1.0×10^{-6} mol·L⁻¹ 时,子代鳞茎的鲜质量与周径显著增大。张延龙等^[27]研究发现,0.5 mg·L⁻¹ NAA 不但能促进百合鳞茎形成,同时也能增加百合鳞茎的质量。本研究结果表明,IBA、NAA 和蔗糖(SUC)三因素协同作用下小鳞茎增效更显著,高于单因素下小鳞茎膨大效果,但模型未考虑光照度、温度波动等环境因子的交互影响,后续可通过正交试验进一步优化多因子协同效应。

综上所述,75%乙醇 30 s+0.1% HgCl₂ 12 min 为最佳消毒方案,污染率控制在 8%~10%;大花卷丹、兰州百合最佳诱导培养基为 MS+1 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.3 mg·L⁻¹ NAA +30 g·L⁻¹ SUC,而卷丹、龙牙百合、宜兴百合需调整 6-BA/NAA 配比(2/0.1、1/0.2、2/0.2 mg·L⁻¹);KT 通过协同 6-BA 显著提升增殖效率,龙牙百合在 MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA +0.5 mg·L⁻¹ KT 中增殖倍数达 3.3;卷丹、宜兴百合最佳生根配方为 MS+2 mg·L⁻¹ IBA +0.1 mg·L⁻¹ NAA +30 g·L⁻¹ SUC,大花卷丹、兰州百合、龙牙百合调整 IBA/NAA 配比为(1/0.5、2/0.5、3/0.1)时生根效果最佳;响应面法建立的 NAA-IBA-SUC 交互模型可精准预测大花卷丹小鳞茎膨大效果,验证增大质量 0.765 g;成功建立了 5 种食药用百合的离体培养体系,并针对大花卷丹的小鳞茎膨大技术进行了探究,为食药用百合的工厂化育苗提供了技术支持,为大花卷丹的高效繁殖和鳞茎膨大提供了理论依据。

参考文献

- [1] LEE C S, KIM S C, YEAU S H, et al. Major lineages of the genus *Lilium* (Liliaceae) based on nrDNA ITS sequences, with special emphasis on the Korean species[J]. *Journal of Plant Biology*, 2011, 54(3): 159-171.
- [2] 汪初庵. 本草易读[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987.
- [3] 王昌华, 舒抒, 银福军, 等. 百合道地药材源流考[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(11): 2738-2740.
- [4] 王昌华, 舒抒, 银福军, 等. 药用百合正源考证研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(8): 1732-1736.
- [5] 刘鹏, 林志健, 张冰. 百合的化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(23): 201-211.
- [6] 何丹, 张海潮, 李世慧, 等. 百合化学成分、药理作用及质量标志物的预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(12): 205-212.
- [7] 张敏慧, 陈俊吉, 全伟, 等. 玫红百合组培小鳞茎瓶内膨大影响因素的研究[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2024, 50(1): 42-52.
- [8] 李仁平, 宁波, 王诗琦, 等. 卷丹百合组培技术研究[J]. *中国林副特产*, 2023(3): 13-16.
- [9] 裴怀弟, 林玉红, 李琦, 等. 基于响应面法优化兰州百合芽增殖培养基[J]. *甘肃农业科技*, 2020(7): 7-12.
- [10] 钱滢宇, 洪玲艳, 聂江力, 等. 兰州百合组培快繁体系的建立[J/OL]. *分子植物育种*, 1-15(2024-02-20). <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240220.1049.003>.
- [11] 尹秀, 王丹, 王园园, 等. 藏产卷丹百合鳞茎离体快繁的研究[J]. *种子*, 2024, 43(12): 149-156.
- [12] 陈海霞, 王登辉, 王茯苓, 等. 龙牙百合组织培养技术体系的优化[J]. *天津农业科学*, 2021, 27(12): 6-12.

(下转第 186 页)