

# 百合组培中鳞片处理及其颜色变化与鳞茎形成的关系

王爱勤 何龙飞 温庆兰 林鉴钊

(广西大学农学院, 南宁 530005)

**摘 要:** 研究了百合鳞片发育程度、切割段数、形态及生理变化、培养基的 P 和 K 含量与鳞茎形成的关系。结果表明: 取中层鳞片、每片横切 6 段的繁殖系数最高, 基部鳞片结鳞茎数最多, 且鳞茎发生最早。鳞片由基部向顶部繁殖系数递减。培养过程中鳞片颜色和形态变化依次为乳白色、浅黄、浅紫色、绿紫、鳞片干枯、鳞茎增大, 鳞片由浅黄变为绿紫色过程中叶绿素含量增加, 淀粉和可溶性糖含量下降。适当增加培养基中 P、K 的含量可提高鳞茎形成的数量和质量。

**关键词:** 百合; 组织培养; 外植体; 切割方式; 鳞茎

**中图分类号:** S 682 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 01-0117-03

## Studies on the Relation between Scale Treatment, Color Change and Lily Bullet Formation in Tissue Culture

Wang Aiqin, He Longfei, Wen Qinglan, and Lin Jianzhao

(Agriculture College, Guangxi University, Nanning 530005, China)

**Abstract:** The relations were studied between lily bullet formation and physiological age of scale, cutting ways, phosphorus (P) and potassium (K) concentrations in medium, anatomy and physiological changes. The results showed that middle layer scale crosscut into 6 sections had the highest propagation coefficient. Compared with others sections, the scale base had the highest propagation coefficient and the earliest generation of bullet, propagation coefficient decreased from the base to top of scale. Scale color and shape changed distinctly along with milky white pale yellow pale purple green purple scale withering and bullet growing. Chlorophyll content of scale increased, but starch and sugar contents of scale decreased. The suitable increases of phosphorus and potassium concentrations in medium increased the quantity and quality of bullet.

**Key words:** Lily; Tissue culture; Explant; Cutting way; Bullet

### 1 目的、材料与方法

有关百合 (*Lily davidii*) 鳞片组培的研究报道很多。我们在前文报道了百合试管内结鳞茎及小鳞茎移栽成活的研究<sup>[1,2]</sup>, 但鳞片的来源和处理对小鳞茎形成数量和质量的影响还没有很好解决, 同时在培养过程中发现鳞片颜色发生变化与鳞茎的形成有关, 这方面研究未见有报道。

本试验以兰州鲜百合 (*Lily davidii* var. *unicolor* Cotton) 鳞茎为材料 (购自市场), 剥去鳞茎表面腐烂干枯的鳞片, 将健康的鳞片分为: 外 (2.5 g  $\pm$  0.3 g, 长 4.0~4.6 cm, 宽 1.92~2.00 cm, 厚 4.8 mm  $\pm$  2.0 mm)、中 (1.5 g  $\pm$  0.3 g, 长 3.0~3.9 cm, 宽 1.0~1.9 cm, 厚 4.5 mm  $\pm$  1.0 mm)、内 (0.6 g  $\pm$  0.3 g, 长 2.0~2.9 cm, 宽 0.9~1.0 cm, 厚 1.0 mm  $\pm$  0.5 mm) 3 个部分, 75% 酒精浸泡 10 s, 0.1% 升汞浸泡 15~25 min, 无菌水洗 3 次, 用消毒滤纸吸干, 接种于 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L +

收稿日期: 2003-02-25; 修回日期: 2003-08-18

基金项目: 广西大学谭锦球青年基金资助项目 (X0102030); 广西教育厅植物学硕士点重点建设项目 (D1008)

糖 3 % + 琼脂 0.35 % 培养基中。一个月后, 统计鳞茎直径、转绿率、繁殖系数等。以中层鳞片为材料, 按上述方法消毒后, 随机分成 7 份, 平均横切成 1 (即不切)、2、3、4、6、8、12 等小段, 分别接种于培养基 (同上) 上。同时取横切成 6 小段的鳞片, 从基部至叶尖依次记为 (1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6), 分别接种于培养基 (同上) 上, 统计结鳞茎情况。取不同时期萌动的鳞片进行冰冻切片, 观察小鳞茎发生的部位和不同培养时期鳞片的形态与颜色变化。取不同颜色鳞片, 采用旋光法<sup>[3]</sup>测定淀粉含量, 蒽酮比色法测定可溶性糖, 分光光度法<sup>[4]</sup>测定叶绿素含量。以 MS 配方中大量元素  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  用量为基础, 分别取 2 倍和 4 倍  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + MS 其他成分 + NAA 0.1 mg/L + 糖 3 % + 琼脂 0.35 % 配成 3 种不同 P、K 含量的培养基, 将中层鳞片横切 2 小段, 取基部接种于培养基中。1 和 2 个月, 统计繁殖系数、鳞茎直径、100 个鳞茎鲜样质量、根数和根长。

## 2 结果与分析

### 2.1 鳞片不同发育程度对鳞茎形成的影响

在培养一段时间后, 鳞片颜色发生变化, 由乳白色变为绿色, 不同来源鳞片转绿程度不同, 内层转绿率最高, 达 90.9 %, 中层次之, 外层最低, 差异极显著。形成的鳞茎大小为外层 > 中层 > 内层。小鳞茎繁殖系数中层 > 内层 > 外层 (表 1)。虽然内层细胞再生能力最强, 但其形成鳞茎系数不及中层, 这是因为内层鳞片营养物质积累最少, 基部面积最小, 不能为分化提供充足的能量。外层营养物质积累最多, 基部面积最大, 但分化能力不强。

### 2.2 外植体切割段数和部位对鳞茎形成的影响

从表 2 可知, 将中层外植体鳞片切割成 1 (整个鳞片)、2、3、4、6 段, 其增殖率逐渐升高, 以横切成 6 段繁殖系数最高, 切割成 8、12 段的繁殖系数则迅速降低。切割数越多, 形成的鳞茎越小。结果表明以中层鳞片平均横切 6 小段为最佳。同一中层鳞片的不同部位繁殖系数不同, 以带基部的鳞片最高, 中部次之, 顶端最低, 差异明显 (表 3)。这与屈姝存等<sup>[5]</sup>所报道的结果一致。转绿率也有一定差别, 但没有明显规律性。

### 2.3 鳞片颜色变化与物质转化的关系

试验结果表明, 无论是在无菌或有菌条件下, 鳞片在培养过程中颜色会发生明显变化, 且非常有规律, 即乳白色 4~7 d, 浅黄色约 15 d, 浅紫色 (鳞片开始萌动, 形成小芽点) 约 25 d, 绿紫色 (芽点形成小鳞茎) 约 45 d, 然后鳞片干枯、鳞茎增大并开始抽出心叶。冰冻切片观察发现, 小鳞茎发生的最早部位是正对鳞片主脉维管束的内表皮, 其次是侧脉维管组织, 可能与维管束是水肥和营养物质的运输系统有关, 越靠近输导组织的部位越先获得营养。鳞片发生颜色变化的同时, 内部物质含量也发生明显改变。由浅黄变为绿紫色, 叶绿素含量极显著增加, 淀粉和可溶性糖含量逐渐降低 (表 4)。说明叶绿素合成、光合作用与鳞茎形成有关, 淀粉和可溶性糖含量下降, 是因为鳞茎的形成需要能量, 这和屈姝存等报道<sup>[5]</sup>愈伤组织分化不定芽初期淀粉含量降低相似。通过观察鳞片颜色变化可判断鳞片能否萌动, 鳞茎形成到哪一阶段及鳞片内发生的生理变化。

表 1 鳞片发育程度对鳞茎形成的影响

Table 1 Effects of scales with different physiological age on bullet formation

| 鳞片<br>Scale | 转绿率<br>Rate of greening<br>(%) | 鳞茎直径<br>Diameter of<br>bullet (mm) | 繁殖系数<br>Propagation<br>coefficient |
|-------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 外层 Outside  | 40.0 ±2.9 aA                   | 5.87 ±0.33 aA                      | 2.27 ±0.25 aA                      |
| 中层 Middle   | 66.7 ±2.3 bB                   | 5.60 ±0.15 aA                      | 3.94 ±0.45 bA                      |
| 内层 Interior | 90.9 ±1.7 cC                   | 3.53 ±0.20 bB                      | 2.60 ±0.14 aA                      |

注: 大写字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 小写为差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Note: The capitals mean 0.01 significant level, the lowercases mean 0.05 significant level. The same below.

表 2 外植体切割方式对鳞茎形成的影响

Table 2 Effect of the cutting ways of explants on bullet formation

| 切割段数<br>No. of cutting | 繁殖系数<br>Propagation coefficient | 鳞茎直径<br>Diameter of bullet (mm) |
|------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1                      | 3.94 ±0.46 aA                   | 5.60 ±0.15 aA                   |
| 2                      | 5.17 ±0.06 bB                   | 4.85 ±0.45 abAB                 |
| 3                      | 6.50 ±0.30 cC                   | 4.51 ±0.05 bB                   |
| 4                      | 11.10 ±0.56 dD                  | 4.12 ±0.07 cC                   |
| 6                      | 11.50 ±0.20 dD                  | 4.07 ±0.41 cdCD                 |
| 8                      | 0.50 ±0.01 eE                   | 3.37 ±0.25 dD                   |
| 12                     | 0.33 ±0.25 eE                   | 1.24 ±0.14 eE                   |

表 3 同一鳞片不同部位对鳞茎形成的影响

Table 3 Effect of different part of the same scale on bullet formation

| 鳞片部位<br>Part of scale | 转绿率<br>Rate of greening<br>(%) | 萌动率<br>Rate of sprouting<br>(%) | 繁殖系数<br>Propagation<br>coefficient |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| (1)                   | 59.95 ±1.57 aA                 | 82.50 ±2.58 aA                  | 3.23 ±0.021 aA                     |
| (2)                   | 68.14 ±1.06 bB                 | 76.10 ±1.35 bAB                 | 2.44 ±0.095 bB                     |
| (3)                   | 38.46 ±0.96 cC                 | 69.23 ±2.54 cB                  | 1.67 ±0.17 cC                      |
| (4)                   | 42.86 ±1.41 dC                 | 48.89 ±2.87 dC                  | 1.57 ±0.12 cC                      |
| (5)                   | 53.49 ±2.55 eA                 | 36.90 ±2.96 eD                  | 1.86 ±0.28 cC                      |
| (6)                   | 60.61 ±1.53 aA                 | 6.06 ±2.17 fE                   | 0.15 ±0.01 dD                      |

表 4 不同培养时期鳞片颜色变化与物质转化关系

Table 4 The relationship between scale color changes in different culture stages and substance transformation

| 鳞片颜色<br>Color of scale | 叶绿素含量<br>Chlorophyll content<br>(mg g <sup>-1</sup> ) | 淀粉含量<br>Starch content<br>(%) | 可溶性糖<br>Sugar content<br>(%) |
|------------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| 乳白 Milky white         | 0.1028 ±0.0190 aA                                     | 23.72 ±1.39 aA                | 0.1811 ±0.1650 aA            |
| 浅黄 Pale yellow         | 0.1245 ±0.0091 aA                                     | 23.06 ±1.26 aA                | 0.1721 ±0.0081 bB            |
| 浅紫 Pale purple         | 0.2345 ±0.0253 bB                                     | 21.85 ±0.84 aA                | 0.1182 ±0.0118 cC            |
| 绿紫 Green purple        | 0.3273 ±0.0298 cC                                     | 21.68 ±0.83 aA                | 0.1020 ±0.0131 cC            |

## 2.4 P、K与试管鳞茎形成关系

培养 1 个月，2 倍、4 倍 P、K 含量培养基中的繁殖系数、鳞茎直径、100 粒鳞茎质量、根长等均好于 1 倍培养基（表 5）。在高 P、K 培养基中连续培养 2 个月有几个方面的好处：增加繁殖系数；

提高鳞茎质量（质量增加明显，根系发育良好），利于鳞茎移栽和出苗<sup>[1,2]</sup>，易移栽成活；减少 1 次继代，节约人力成本，尤其适用于生产；充分利用培养基营养，据余沛涛等研究，MS 培养基的氮、磷消耗慢，培养 25 d 后还有 30 % 和 50 % 以上。

表 5 培养基 P、K 含量对鳞茎形成的影响

Table 5 Effect of P and K content in the medium on bullet formation

| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 培养时间<br>Time (month) | 繁殖系数<br>Propagation coefficient | 鳞茎直径<br>Bullet diameter (mm) | 100 粒鳞茎质量<br>100-bullets mass (g) | 根数<br>No. of root | 根长<br>Root length (cm) |
|---------------------------------|----------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------|------------------------|
| ×1                              | 1                    | 3.33 ±0.21 aA                   | 4.07 ±0.13 aA                | 3.38 ±0.31 aA                     | 4.1 ±0.40 aA      | 1.20 ±0.20 aA          |
|                                 | 2                    | 3.52 ±0.02 aA                   | 4.63 ±0.42 aA                | 3.94 ±0.10 aA                     | 6.4 ±0.30 aA      | 6.67 ±0.40 aA          |
| ×2                              | 1                    | 3.10 ±0.27 aA                   | 4.30 ±0.19 abA               | 3.52 ±0.20 aA                     | 3.97 ±0.42 abA    | 1.48 ±0.32 abA         |
|                                 | 2                    | 6.17 ±0.03 bB                   | 4.80 ±0.04 aA                | 5.62 ±0.08 bB                     | 9.13 ±0.85 bB     | 8.87 ±0.40 bB          |
| ×4                              | 1                    | 3.7 ±0.26 aA                    | 4.69 ±0.21 bA                | 3.81 ±0.09 aA                     | 5.60 ±0.53 bA     | 1.82 ±0.28 bA          |
|                                 | 2                    | 7.7 ±0.35 cC                    | 5.20 ±0.36 aA                | 7.33 ±0.18 cC                     | 12.80 ±0.89 cC    | 10.40 ±0.85 cB         |

## 参考文献：

- 王爱勤，周岐伟，何龙飞，等. 百合试管内结鳞茎的研究. 广西农业大学学报，1998，17（1）：71～75
- 王爱勤，何龙飞，周琼，等. 百合试管苗的移栽对比试验. 广西农业生物科学，1999，18（3）：187～189
- 叶燕萍编. 植物生理实验技术. 南宁：广西大学，2002. 143 页
- 中国科学院上海植物生理研究所，上海市植物生理学会主编. 现代植物生理学实验指南. 北京：科学出版社，1999. 95～96
- 屈妹存，刘先明，周朴华，等. 百合鳞片细胞形态发生中生理生化特性研究. 生命科学研究，1998，2（4）：288～294

## 新书推荐

## 《中国果树志 杏卷》

《中国果树志 杏卷》由全国 71 个单位 80 余名专家历时 23 年的编撰，2003 年 12 月终于问世了。这是世界首部系统研究杏树的科技专著，全书共 114 万字，彩图 300 幅，专述了中国杏树的起源、传播、演化、栽培历史、地理分布和生产现状，以及杏树的生物学特性、栽培技术要点、贮藏与加工技术等，全书共记载描述和评价了杏的品种资源 1643 个，充分反应了我国杏属资源的多样性和开发利用的潜力。

（张加延）

购书者请汇款（165 元，含邮费）至：北京中关村南大街 12 号，

中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部，邮编 100081。