

# 麝香百合胚性愈伤组织状态的调整与植株再生

王杰<sup>1, 2</sup>, 刘国锋<sup>1\*</sup>, 包满珠<sup>1</sup>, 黄莉<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070; <sup>2</sup>中国科学院武汉植物园, 武汉 430074)

**摘要:** 采用麝香百合假鳞茎诱导出的胚性愈伤组织, 从氯化钴、ABA、蔗糖浓度以及光照条件等 4 个方面对胚性愈伤组织的状态进行调整, 并进行了植株再生研究。结果表明: 0.05  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的氯化钴有利于提高体细胞胚的比例和愈伤组织的颗粒性, 0.01 和 0.02  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的氯化钴有利于愈伤组织体积增大和增殖系数提高; 随着 ABA 浓度提高, 对胚性愈伤组织的长势、干湿程度、增殖体积和增殖系数的抑制效果逐渐明显, 但对胚性愈伤组织比例和颗粒性的抑制效果不显著; 光培养条件下, 90 和 60  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖对麝香百合胚性愈伤组织的比例和颗粒性都有较好的影响, 但在暗培养条件下, 仅 60  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖的效果较好; 光培养和暗培养对胚性愈伤组织的干湿程度和颗粒性都没有显著的影响; 1  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  活性炭和基本培养基对愈伤组织的再生具有显著影响。综合以上结果, 麝香百合胚性愈伤组织的最佳增殖方式为采用光培养, 培养基为 MS + NAA 5.4  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + TDZ 0.4  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  +  $\text{CoCl}_2$  0.05  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖 60  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 胚性愈伤组织再生植株的适宜培养基为 MS + 活性炭 1  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**关键词:** 百合; 胚性愈伤组织; 体细胞胚; 再生

**中图分类号:** S 682.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 12-1795-08

## Adjustment of the Status of Embryogenic Callus and Plant Regeneration of *Lilium longiflorum*

WANG Jie<sup>1, 2</sup>, LIU Guo-feng<sup>1\*</sup>, BAO Man-zhu<sup>1</sup>, and HUANG Li<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture and Forestry Sciences, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; <sup>2</sup>Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** In this paper, the effects of different concentrations of  $\text{CoCl}_2$ , ABA, sucrose and the condition of illumination on the status of embryogenic callus that induced from pseudo-bulblet of *Lilium longiflorum* were studied, the embryogenesis and plant regeneration of embryogenic callus were also investigated. The results showed that the proportion of somatic embryos and granularity of the callus could be increased by using  $\text{CoCl}_2$  with the concentration of 0.05  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , while 0.01 and 0.02  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{CoCl}_2$  are beneficial to the increase of callus volume and proliferation coefficient. Some negative effects on growth potential, water content, volume and proliferation coefficient of embryogenic callus were observed when the concentration of ABA was gradually increased, while proportion and granularity of embryogenic callus were not affected by different ABA concentrations. Culturing in light, the positive effects of 60  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  or 90  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose on proportion and granularity of embryogenic callus were observed, while only 60  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose has positive effects when cultured at dark. Furthermore, the water content and granularity of embryogenic callus were not affected by light condition. Plant regeneration of embryogenic callus was affected by 1  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  active carbon and the basic medium used. Considering all factors in present study, the results demonstrated that the most appropriate condition for the proliferation of embryogenic callus was using MS medium supplemented with 5.4  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

收稿日期: 2008 - 06 - 04; 修回日期: 2008 - 08 - 12

基金项目: 国家 '863' 计划项目 (2006AA100109)

\*通讯作者 Author for correspondence (E-mail: gfluo@mail.hzau.edu.cn)

NAA,  $0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ,  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{CoCl}_2$  and  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose and culture under light; and the optimum medium for embryogenesis and plant regeneration of embryogenic callus was MS basal medium supplemented with  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  active carbon and  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  source

**Key words:** *Lilium longiflorum*; embryogenic callus; somatic embryo; regeneration

关于麝香百合 (*Lilium longiflorum*) 植株再生研究的报道已有很多, 采用的外植体有鳞片 (Gupta et al, 1979; Nightingale, 1979; Stimart & Ascher, 1981; Tanimoto & Matsubara, 1995)、叶片 (Stenberg et al, 1977; Nimi, 1986; Bacchetta et al, 2003)、花药 (Qu et al, 1988)、花丝 (Arzate-Fernández et al, 1997)、茎段 (Nhut, 1998)、花托 (Nhut, 2003) 以及起源于各个器官的薄片细胞层 (Nhut et al, 2001) 等。在体胚再生方面, Haensch (1996) 利用不同百合杂交种的鳞片, Tribulato 等 (1997) 利用麝香系列百合 ‘雪皇后’ 品种的柱头和花梗, Nhut 等 (2002) 利用麝香百合假鳞茎的薄片, 均获得了较好的体细胞胚。但在体胚状态的调整方面, 目前只有 Nhut 等 (2006) 利用液体培养的方式对麝香百合的体胚进行过状态调整。体胚的状态对遗传转化以及相关研究具有重要意义。作者通过调整体细胞胚的状态, 来减少体胚的退化并提高再生率。

## 1 材料与方法

试验于 2006 年 5 月到 2007 年 4 月在华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室进行, 试验材料均采自华中农业大学实验基地。

### 1.1 麝香百合胚性愈伤组织的诱导与增殖

采用麝香百合 (*Lilium longiflorum*) 无菌苗叶柄和叶片再生出小鳞茎, 参照 Nhut 等 (2002) 的方法, 将无菌苗假鳞茎切成  $0.8 \sim 1.0 \text{ mm}$  的小薄片, 置于 MS + NAA  $5.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + TDZ  $1.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养上, 光照培养 [温度 ( $25 \pm 1$ ) , 光照  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 光强度  $2000 \text{ lx}$ ] 40 d 后, 诱导出带有部分体细胞胚的愈伤组织, 将其接种到同样的培养基上进行增殖培养, 每 40 d 更换 1 次培养基。

### 1.2 胚性愈伤组织状态的调整

以诱导的胚性愈伤组织为材料, 以 MS + NAA  $5.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + TDZ  $0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  为基本培养基, 采用双因素试验设计 (蔗糖浓度与光照; ABA 与光照; 氯化钴与光照), 每处理培养 30 个约  $2 \text{ mm}^3$  的愈伤团, 3 次重复, 培养 60 d。

对培养 60 d 后愈伤团的状态进行观察和记录。(1) 增殖体积: 增殖后愈伤团的平均体积 / 发生增殖的愈伤团增殖前的平均体积。(2) 增殖系数: 增殖后的总体积 / 接种时愈伤团的个数。(3) 胚性愈伤组织比例: 每个愈伤团上胚性愈伤百分比的平均值。(4) 颗粒性: 4 级, 颗粒性最好, 直径  $>0.5 \text{ mm}$ , 紧密; 3 级, 颗粒性较好, 细小, 直径  $<0.5 \text{ mm}$ , 紧密; 2 级, 颗粒性弱, 细小, 直径  $<0.5 \text{ mm}$ , 紧密; 1 级, 颗粒性差, 表面呈瘤状突起, 每个突起直径都达  $1 \text{ mm}$  以上。(5) 长势: 4 级, 最旺盛; 3 级, 旺盛; 2 级, 较旺盛; 1 级, 最弱。(6) 干湿程度: 4 级, 表面干燥; 3 级, 表面较干燥; 2 级, 表面湿润; 1 级, 水渍状, 发粘。

### 1.3 胚性愈伤组织的细胞学观察

对胚性愈伤组织进行石蜡切片 (王灶安, 1992), 在体视显微镜下观察, 以期找到百合胚性愈伤组织发育的各个阶段。

### 1.4 胚性愈伤组织的植株再生

以增殖后状态较好的胚性愈伤组织为材料, 分别以 MS +  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  活性炭、 $1/2$  MS +  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  活性炭和 MS 为培养基进行体胚诱导及植株再生试验。每处理设 5 次重复, 每重复接种 10 个约  $0.5 \text{ cm}^3$

的愈伤团。

培养 60 d后, 对愈伤组织的再生情况进行观察和记录。(1) 再生率: 长出再生苗的愈伤团个数 / 接种愈伤团的总个数; (2) 再生芽的数量: 每个重复 (10个愈伤团) 再生出的芽总数; (3) 再生芽的质量: 4级, 生长旺盛, 健壮, 颜色翠绿; 3级, 生长一般, 颜色翠绿; 2级, 生长较慢, 颜色浅绿; 1级, 长势很弱, 发黄。

## 2 结果与分析

根据试验设计作了 3个双因素分析, 其中氯化钴与光照、ABA与光照两组因素, 没有交互作用; 而蔗糖浓度与光照条件在胚性愈伤的颗粒性、胚性愈伤比例上存在着交互作用。

### 2.1 氯化钴对胚性愈伤组织状态的影响

从表 1可以看出, 不同浓度的氯化钴除了对麝香百合胚性愈伤组织的长势无影响外, 对其它性状均有影响, 其中较高浓度的氯化钴 ( $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对胚性愈伤组织的比例和颗粒性具有明显的促进作用, 胚性愈伤组织的比例可达 85%以上, 颗粒性很明显 (图 1); 但对胚性愈伤组织的体积增长、增殖系数以及干湿程度的促进作用不如较低浓度的氯化钴 ( $0.02$  或  $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 明显。在较低浓度氯化钴 ( $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的培养基上, 胚性愈伤组织表面干燥, 增殖体积和增殖系数都在 10以上, 而在较高浓度氯化钴 ( $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的培养基上, 愈伤颗粒的表面比较湿润, 并附带少量水渍状的愈伤团, 增殖系数和增殖体积也仅有前者的 1/2左右。

表 1 氯化钴对麝香百合胚性愈伤组织性状的影响

Table 1 The effects of  $\text{CoCl}_2$  on embryogenic callus status of *Lilium longiflorum*

$\text{CoCl}_2 /$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	长势 Growing status	胚性愈伤组织比例 Proportion of embryogenic callus	干湿程度 Humidity	颗粒性 Granularity	增殖体积 Proliferation volume	增殖系数 Proliferation coefficient
0.01	2.83 $\pm$ 0.98a	0.55 $\pm$ 0.26b	3.00 $\pm$ 0.41a	1.67 $\pm$ 0.52b	10.83 $\pm$ 5.85a	10.67 $\pm$ 5.89a
0.02	2.83 $\pm$ 0.75a	0.27 $\pm$ 0.24c	2.33 $\pm$ 0.41b	2.33 $\pm$ 0.52a	10.83 $\pm$ 4.92a	10.83 $\pm$ 4.92a
0.05	2.33 $\pm$ 0.52a	0.88 $\pm$ 0.04a	3.17 $\pm$ 0.55b	2.50 $\pm$ 0.55a	6.67 $\pm$ 2.59b	6.67 $\pm$ 2.58b

注: 同一栏中不同小写字母代表不同处理间存在  $P=0.05$  水平的显著性差异。下同。

Note: Means followed by different letters within the same column are significantly different at  $P=0.05$ . The same below.

### 2.2 ABA对胚性愈伤组织状态的影响

由表 2可见, 对于胚性愈伤组织的长势、干湿程度、增殖体积和增殖系数, 随着 ABA 浓度的增加, 抑制效果越明显。在较高浓度 ABA ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 培养基上, 胚性愈伤组织长势比较弱, 增殖体积和增殖系数为 7.50 和 6.06, 愈伤颗粒表面比较湿润, 附有少量的水渍状愈伤团, 而在较低浓度 ( $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下, 情况与之相反; ABA 浓度的变化对胚性愈伤组织比例和颗粒性没有显著性影响。

表 2 ABA对麝香百合胚性愈伤组织性状的影响

Table 2 The effects of ABA on embryogenic callus status of *Lilium longiflorum*

ABA / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	长势 Growing status	胚性愈伤组织比例 Proportion of somatic embryos	干湿程度 Humidity	颗粒性 Granularity	增殖体积 Proliferation volume	增殖系数 Proliferation coefficient
10.0	2.25 $\pm$ 0.71b	0.73 $\pm$ 0.30a	2.75 $\pm$ 0.87b	3.25 $\pm$ 1.04a	7.50 $\pm$ 2.67c	6.06 $\pm$ 2.46b
1.0	2.75 $\pm$ 0.46a	0.49 $\pm$ 0.42a	3.50 $\pm$ 0.53a	3.13 $\pm$ 0.35a	8.75 $\pm$ 2.31b	8.75 $\pm$ 2.31a
0.1	3.00 $\pm$ 0.00a	0.52 $\pm$ 0.36a	3.00 $\pm$ 0.00ab	2.63 $\pm$ 0.64a	10.00 $\pm$ 0.00a	10.00 $\pm$ 0.00a

### 2.3 蔗糖浓度与光照条件对愈伤组织状态的影响

蔗糖浓度和光照条件对百合愈伤组织状态的影响存在交互作用。从表 3可以看出, 光培养条件

下, 高浓度的蔗糖对麝香百合胚性愈伤组织的比例和颗粒性都有较好的促进作用; 而在暗培养条件下, 较低浓度蔗糖的效果要优于较高浓度。综合蔗糖与光照两个因素, 光照与蔗糖浓度在  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的条件下培养效果最好。

表 3 蔗糖浓度与光照条件对麝香百合胚性愈伤组织性状的影响

Table 3 The effects of sucrose concentration and illumination on embryogenic callus status of *Lilium longiflorum*

光照条件 Illumination	蔗糖浓度 / ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Sucrose concentration	颗粒性 Granularity	胚性愈伤组织比例 Proportion of somatic embryos
光培养 Cultured in light	30	$2.50 \pm 0.71\text{bc}$	$0.40 \pm 0.14\text{b}$
	60	$4.00 \pm 0.00\text{a}$	$0.92 \pm 0.03\text{a}$
	90	$4.00 \pm 0.00\text{a}$	$0.90 \pm 0.00\text{a}$
暗培养 Cultured in dark	30	$3.33 \pm 0.58\text{bac}$	$0.77 \pm 0.25\text{a}$
	60	$3.67 \pm 0.58\text{ba}$	$0.87 \pm 0.06\text{a}$
	90	$2.33 \pm 1.54\text{c}$	$0.27 \pm 0.25\text{b}$

## 2.4 光照条件对愈伤组织状态的影响

从表 4 可以看出: 对比光培养与暗培养, 麝香百合胚性愈伤组织的长势、胚性愈伤组织比例、体积增长、增殖系数等指标均有显著差异。

光培养条件下胚性愈伤组织的长势为 3.1 级, 明显优于暗培养条件下的 2.2 级; 光培养条件下愈伤组织的体积增长和增殖系数都可保持在 12.0 以上, 暗培养条件下都只有 6.0 左右; 而两种培养方式对胚性愈伤组织的干湿程度和颗粒性的影响无显著性差异。

表 4 光照条件对百合胚性愈伤组织性状的影响

Table 4 The effects of illumination on embryogenic callus status of *Lilium longiflorum*

光照 Illumination	长势 Growing status	胚性愈伤组织比例 Proportion of somatic embryos	干湿程度 Humidity	颗粒性 Granularity	增殖体积 Proliferation volume	增殖系数 Proliferation coefficient
光培养 Cultured in light	$3.11 \pm 0.78\text{a}$	$0.69 \pm 0.36\text{b}$	$2.78 \pm 0.50\text{a}$	$2.00 \pm 0.44\text{a}$	$12.78 \pm 4.41\text{a}$	$12.67 \pm 4.50\text{a}$
暗培养 Cultured in dark	$2.22 \pm 0.44\text{b}$	$0.98 \pm 0.25\text{a}$	$2.89 \pm 0.50\text{a}$	$2.33 \pm 0.53\text{a}$	$6.11 \pm 2.20\text{b}$	$6.11 \pm 2.20\text{b}$

## 2.5 胚性愈伤组织的植株再生

从表 5 可以看出, 3 种培养基在胚性愈伤组织的再生率和再生芽数量上均表现出显著性差异, 其中 MS+活性炭  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  培养基上再生率和再生芽数分别为 0.54 和 8.80, 均明显优于 MS 和  $1/2 \text{ MS} +$  活性炭  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  培养基; 但 3 种培养基在再生芽质量上没有表现出明显的差异性。

表 5 不同培养基对百合胚性愈伤组织再生植株的影响

Table 5 The effects of different media on plant regeneration of embryogenic callus of *Lilium longiflorum*

培养基 Media	活性炭 / ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Active carbon	再生率 The rate of plant regeneration	再生芽数量 The number of regenerating shoots	再生芽质量 The quality of regenerating shoots
MS	1	$0.54 \pm 0.11\text{a}$	$8.80 \pm 4.08\text{a}$	$3.00 \pm 0.71\text{a}$
$1/2 \text{ MS}$	1	$0.36 \pm 0.12\text{b}$	$5.20 \pm 1.10\text{b}$	$3.20 \pm 0.84\text{a}$
MS	0	$0.32 \pm 0.08\text{b}$	$5.00 \pm 1.58\text{b}$	$2.40 \pm 1.14\text{a}$

观察结果 (图 1 和图 2) 表明, 百合体胚的发育起源于各个原胚阶段 (图 2, B), 经历了球形胚、心形胚、子叶形胚等胚的发育阶段 (图 1, A~C); 体胚在发育过程中可直接再生成小芽 (图 1,

D) 或小鳞茎 (图 1, E, F)。体胚再生的幼苗 (图 1, G) 经生根 (培养基为 MS + 活性炭  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )、炼苗后, 移栽到土壤中生长良好 (图 1, H)。

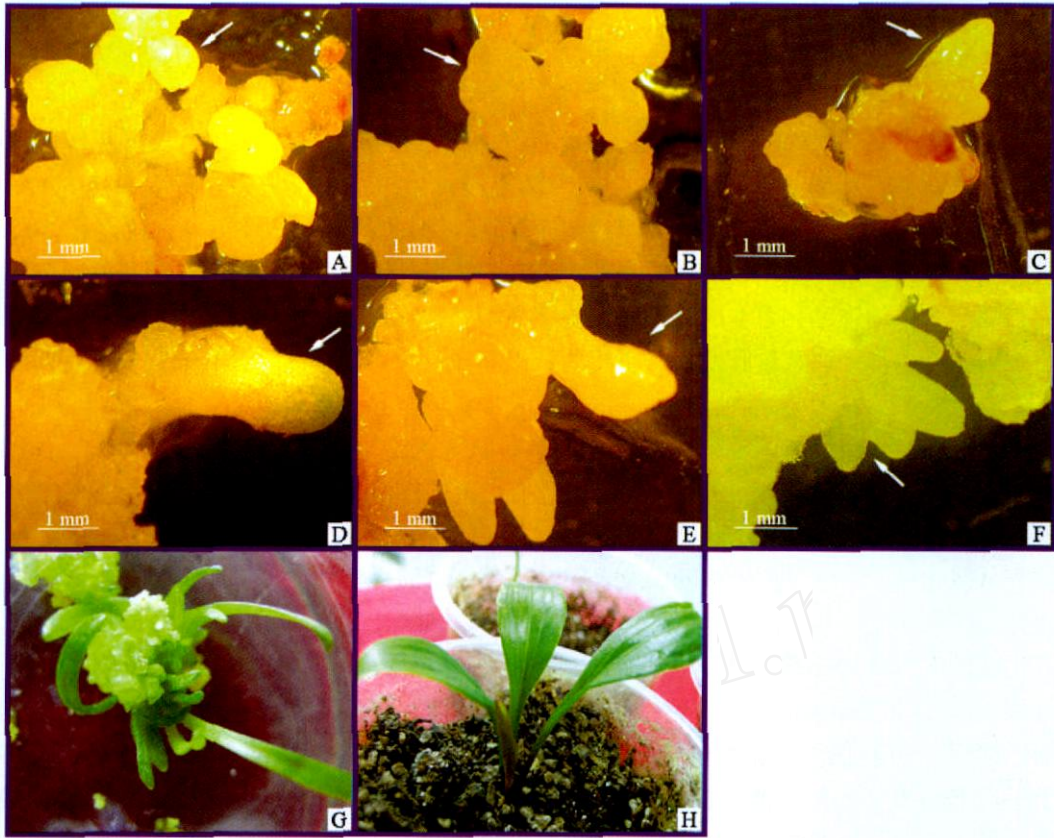


图 1 麝香百合的体细胞胚及植株再生

A: 球形胚; B: 心形胚; C: 子叶形胚; D: 体胚直接再生的小芽; E: 胚直接再生的小鳞茎; F: 经过子叶形胚阶段后的小鳞茎;  
G: 体胚再生得到的幼苗; H: 移植到土壤中生长 2 个月的再生小苗。

Fig. 1 Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Lilium longiflorum*

A: Globular-shaped embryoid; B: Heart-shaped embryoid; C: Cotyledonary embryoid; D: Bud germinated directly from somatic embryogenesis;  
E: Small bulblet germinated directly from somatic embryogenesis; F: Germinated shoot after cotyledonary embryoid stage;  
G: Germinated seedlings from somatic embryogenesis; H: Regenerated plantlets after 2 months transplanted in soil.

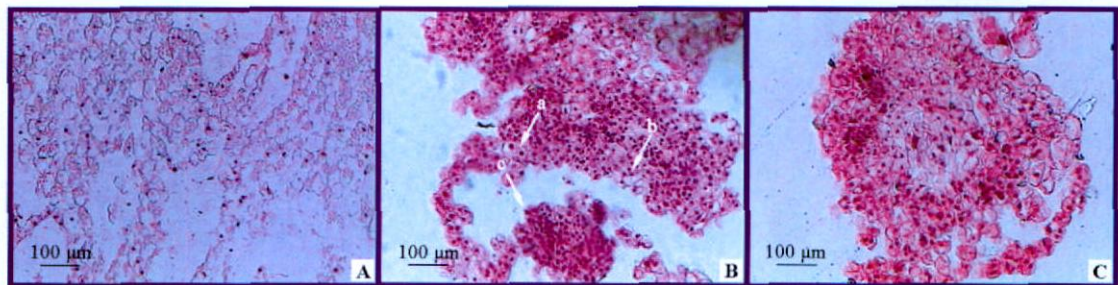


图 2 麝香百合胚性愈伤组织的发生

A: 非胚性愈伤组织; B: 胚性愈伤组织 (a: 单细胞原胚; b: 二细胞原胚; c: 胚性愈伤组织内的多细胞团); C: 球形胚。

Fig. 2 Development of embryogenic callus

A: Non-embryogenic callus; B: Embryogenic callus (a: Proembryo cell; b: Two-cell proembryo;  
c: Embryogenic callus containing many cells); C: Globular-shaped embryoid.



综合以上试验结果, 可以确定百合胚性愈伤组织最佳增殖培养基为 MS+NAA  $5.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + TDZ  $0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + CoCl<sub>2</sub>  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 最佳再生培养基为 MS+活性炭  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 3 讨论

本研究中参照 Nhut等 (2002) 的方法, 利用百合假鳞茎的横切薄片初步诱导出胚性愈伤组织并对其状态进行了调整; 利用麝香百合的叶片和叶柄直接再生出小鳞茎, 并且再生率达到 85%以上。Nhut等 (2002) 利用百合种球的顶芽快繁出无菌苗, 再对无菌苗进行茎段培养, 使之在茎段的叶腋处长出假鳞茎, 假鳞茎的繁殖系数和生产周期有一定的局限性。通过假鳞茎的薄片培养, 平均每个薄片可以获得 2.7 个体细胞胚, 但本研究中体细胞胚在增殖和继代过程中退化严重, 因此笔者进行了胚性愈伤组织的状态调整, 调整后胚性愈伤组织的数量和质量均有所提高, 并且能在较长时期内保持生长状态 (表 1, 表 3)。

关于百合胚性愈伤组织的调整, Nhut等 (2006) 认为无论是液体培养还是固体培养, 在装有 20 mL 培养基的 250 mL 锥形瓶中接种 0.5 g 的胚性愈伤组织进行培养, 效果较好, 胚性愈伤组织的颗粒性和比例都有一定程度的提高。

本研究从氯化钴、ABA、蔗糖浓度以及光照条件 4 个方面进行研究, 证明了其对胚性愈伤组织调整的有效性。

在氯化钴浓度为  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的条件下, 麝香百合胚性愈伤组织的比例和颗粒性都得到了有效提高 (表 1), 这与 Roustan等 (1989) 在胡萝卜上的研究一致。这可能是  $\text{Co}^{2+}$  作为一种直接的乙烯抑制剂, 抑制了 ACC 循环中乙烯的产生 (Merritt et al, 2001); 而 Phiksof-Hadas等 (1996) 则认为由于  $\text{Co}^{2+}$  的存在, 乙烯不能干扰多胺的合成,  $\text{Co}^{2+}$  可以通过促进多胺的合成而提高体细胞胚的发生频率。另一方面, 较高浓度的氯化钴对胚性愈伤组织的干湿程度、体积增长和增殖系数有一定的抑制作用, 可能是较高浓度的钴元素和氯离子对植物细胞产生了毒害作用。

ABA 能引起植物器官和细胞过早衰老, 刺激乙烯合成, 引起脱落 (Stange & Osborne, 1988)。本试验中, ABA 浓度越高, 对百合胚性愈伤组织长势、干湿程度、增殖体积和增殖系数的抑制作用就越明显, 符合对 ABA 作用的传统认识。另外, 内源 ABA 作为正的调节因子在种子胚发育期间起着重要作用, 可使胚正常发育成熟并抑制过早萌发 (Quatrano & Raikhel, 1986)。虽然 ABA 对本试验中麝香百合胚性愈伤组织比例和颗粒性的影响无显著差异, 但在胡萝卜体细胞胚的发育过程中有一定的积极作用, ABA 能促进体细胞胚的成熟 (Kiyosue et al, 1992; Jiménez & Bangerth, 2001; Thi & Pleschka, 2005), 改变体细胞胚的状态 (Bhaskaran & Smith, 1990)。ABA 的这种作用在单子叶植物上表现得比较明显, 如 Li 和 Qu (2002) 对狗牙根的研究, Guiderdoni 等 (1995) 对甘蔗的研究等, 证明了这一点。

一般认为, 较高浓度的蔗糖能有效提高植物细胞的渗透压, 改善体细胞胚的颗粒性和干湿程度, 防止水渍化的发生。Charrière等 (1999) 的研究表明, 蔗糖含量由  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  调整到  $120 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  之后, 24 h 内可以观察到半支莲愈伤状态分化的转变。本试验采用  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的蔗糖浓度结合光照培养取得了较好的效果 (表 3), 并观察到体细胞胚的发育全过程 (图 1, 图 2)。

光照条件 (光强、光质和光周期等) 对外植体分化生长有很大的影响, 前人的研究表明, 有的材料适合暗培养, 有的则适合光培养, 而暗光更有利于愈伤组织的诱导形成 (曹孜义和刘国民, 1999)。本试验中, 光培养对麝香百合胚性愈伤组织长势、体积增长、增殖系数有显著的促进作用, 但对胚性愈伤组织的颗粒性和干湿程度无显著影响, 这与高永超等 (2007) 对地钱的研究结果和文涛等 (2007) 对虎杖的研究结果一致。

总之, 本试验通过对麝香百合胚性愈伤组织状态的调整, 获得了状态良好的体细胞胚, 有利于麝香百合的再生与快繁, 并减少畸形苗的发生, 同时为研究百合遗传转化等提供了良好的材料。

## References

- Arzate-Fernández A M, Nakazaki T, Okumoto Y, Tanisaka T. 1997. Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anther in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.). *Plant Cell Rep*, 16: 836 - 840.
- Bacchetta L, Remotti P C, Bernardini C, Saccardo F. 2003. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of *Lilium*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 74: 37 - 44.
- Bhaskaran S, Smith R H. 1990. Regeneration in cereal tissue culture: A review. *Crop Sci*, 30: 1328 - 1337.
- Cao Zi-yi, Liu Guo-min. 1999. Practical plant tissue culture technological tutorial. Lanzhou: Gansu Science Technology Press: 238. (in Chinese)
- 曹孜义, 刘国民. 1999. 实用植物组织培养技术教程. 兰州: 甘肃科学技术出版社: 238.
- Charrière F, Sotta B, Miginiac E, Hahne G. 1999. Induction of adventitious shoots or somatic embryos on *in vitro* cultured zygotic embryos of *Helianthus annuus*: Variation of endogenous hormone levels. *Plant Physiol Biochem*, 37: 751 - 757.
- Gao Yong-chao, Wang Jia-ning, Qiu Wei-zhong, Chi Jian-guo, Sha Wei, Zhang Han. 2007. Effects of different light and plant growth substances on the induction and decomposition of callus of *Marchantia polymorpha*. *Shandong Science*, 20 (4): 37 - 43. (in Chinese)
- 高永超, 王加宁, 邱维忠, 迟建国, 沙伟, 张晗. 2007. 不同光照和植物生长物质对地钱愈伤组织诱导及分化的影响. *山东科学*, 20 (4): 37 - 43.
- Guideroni E, Mout B, Eksomtrame T, Paulet F, Feldmann P, Glaszmann J C. 1995. Somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum species*) // Bajaj Y P S ed. Somatic embryogenesis and synthetic seed I. Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 31. Berlin: Springer: 92 - 113.
- Gupta P, Shama A K, Chaturvedi H C. 1979. Multiplication of *Lilium longiflorum* Thunb. by aseptic culture of bulb-scales and their segments. *Indian J Exp Biol*, 16: 940 - 942.
- Haensch K T. 1996. Plant regeneration through somatic embryogenesis in different genotypes of *Lilium* hybrids. *Gartenbauwissenschaft*, 61: 214 - 218.
- Jiménez V M, Bangerth F. 2001. Endogenous hormone levels in explants and in embryogenic and non-embryogenic cultures of carrot. *Physiol Plant*, 111: 389 - 395.
- Kiyosue T, Nakajima M, Yamaguchi I, Satoh S, Kamada H, Harada H. 1992. Endogenous levels of abscisic acid in embryogenic cells, non-embryogenic cells and somatic embryos of carrot (*Daucus carota* L.). *Biochem Physiol Pflanzen*, 188: 343 - 347.
- Li L, Qu R. 2002. *In vitro* somatic embryogenesis in turf-type bermudagrass: Roles of abscisic acid and gibberellic acid, and occurrence of secondary somatic embryogenesis. *Plant Breed*, 121: 155 - 158.
- Merritt F, Kemper A, Tallman G. 2001. Inhibitors of ethylene synthesis inhibit auxin-induced stomatal opening in epidermis detached from leaves of *Vicia faba* L. *Plant Cell Physiol*, 42: 223 - 230.
- Nhut D T. 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo-bulblet culture. *Plant Cell Rep*, 17: 913 - 916.
- Nhut D T. 2003. The control of *in vitro* direct main stem formation of *Lilium longiflorum* derived from receptacle culture, and rapid propagation by using *in vitro* stem nodes. *Plant Growth Regulation*, 40: 179 - 184.
- Nhut D T, Hanh N T M, Tuan P Q, Nguyet L T M, Tran N T H, Chinh N C, Nguyen N H, Vinh D N. 2006. Liquid culture as a positive condition to induce and enhance quality and quantity of somatic embryogenesis of *Lilium longiflorum*. *Sci Hort*, 110: 93 - 97.
- Nhut D T, Le B V, de Silva J T, Aswath C R. 2001. Thin cell layer culture system in *Lilium*: Regeneration and transformation perspectives. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 37: 516 - 523.
- Nhut D T, Le B V, Minh N T, de Silva J T, Fukai S, Tanaka M, van K T T. 2002. Somatic embryogenesis through pseudo-bulblet transverse thin cell layer of *Lilium longiflorum*. *Plant Growth Regulation*, 37: 193 - 198.
- Nightingale A E. 1979. Bulblet formation on *Lilium longiflorum* Thunb. 'Nellie White' by foliar spray applications of PBA. *HortScience*, 14: 67 - 68.
- Nimi Y. 1986. Application of leaf segment culture to *in vitro* bulblets production of six *Lilium* species. *Acta Bot*, 35: 189 - 194.
- Philosoph-Hadas S, Meir S, Rosenberger I, Halevy A H. 1996. Regulation of the gravitropic response and ethylene biosynthesis in gravistimulated snapdragon spikes by calcium chelators and ethylene inhibitors. *Plant Physiol*, 110: 301 - 310.
- Qu Y, Mok M C, Mok D W S, Stang J R. 1988. Phenotypic and cytological variation among plants derived from anther cultures of *Lilium longiflorum*. *In Vitro Cell Dev Biol*, 24: 471 - 476.

- Quatrano R S, Raikhel N V. 1986. Localization of wheat-gem agglutinin in developing wheat embryos and those cultured in abscisic acid. *Planta*, 168: 433 - 444.
- Roustan J P, Latche A, Falloot J. 1989. Stimulation of *Daucus carota* somatic embryogenesis by inhibitors of ethylene synthesis: Cobalt and nickel. *Plant Cell Rep*, 8 (3): 182 - 185.
- Stange L, Osborne D J. 1988. Cell specificity in auxin- and ethylene-induced 'supergrowth' in *Riella helicophylla*. *Planta*, 175: 341 - 347.
- Stenberg N G, Chen C H, Ross J G. 1977. Regeneration of plantlets from leaf cultures of *Lilium longiflorum* Thunb. *Proc SD Acad Sci*, 56: 152 - 158.
- Stinart D P, Ascher P D. 1981. Foliar emergence from bulblets of *Lilium longiflorum* as related to *in vitro* generation temperatures. *J Am Soc Hortic Sci*, 106: 446 - 450.
- Tanimoto S, Matsubara Y. 1995. Stimulating effect of spermine on bulblet formation in bulb-scale segments of *Lilium longiflorum*. *Plant Cell Rep*, 15: 297 - 300.
- Thi L T, Pleschka E. 2005. Somatic embryogenesis of some *Daucus* species influenced by ABA. *J Appl Bot Food Qual*, 79: 1 - 4.
- Tribulato A, Remotti P C, Loffle H J M, van Tuyl J M. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Lilium longiflorum* Thunb. *Plant Cell Rep*, 17: 113 - 118.
- Wang Zao-an. 1992. *Botanical Microtechnique*. Beijing: China Agriculture Press. 47. (in Chinese)
- 王灶安. 1992. 植物显微技术. 北京: 中国农业出版社: 47.
- Wen Tao, Liang Li, Zeng Yang, Yu Xiao. 2007. Effect of different illumination on callus of *Polygonum cuspidatum*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 32 (13): 1227 - 1280. (in Chinese)
- 文涛, 梁莉, 曾杨, 喻晓. 2007. 不同光照强度对虎杖愈伤组织的影响. *中国中药杂志*, 32 (13): 1227 - 1280.

## News

# “第三届全国柿生产和科研进展研讨暨 中国园艺学会柿分会成立大会”在广西恭城召开

2008年10月17—20日,由“中国园艺学会柿分会筹备委员会”主办,广西壮族自治区恭城瑶族自治县人民政府承办,北京汇源集团桂林生态果业有限公司、恭城汇坤农产品有限公司、桂林联发食品有限公司协办的“第三届全国柿生产和科研进展研讨暨中国园艺学会柿分会成立大会”在桂林市恭城瑶族自治县隆重召开。来自京、闽、粤、桂、冀、豫、鄂、湘、苏、赣、鲁、晋、陕、川、辽、津、云、浙等18个省(市、自治区)柿生产、教学、科研、企业和政府等部门的正式代表200余人参加了本次会议。

本次会议主题为“有机生产、多元化产品开发和严重病虫害防治”,24个大会专题报告围绕国内外柿业发展现状和趋势、安全生产技术体系创新、多元化产品开发、顶腐病和炭疽病的综合防治、冰冻灾后恢复等5个专题进行了重点研讨。自由讨论阶段研讨了目前我国柿产业发展新经验、特色柿资源调查及利用、柿相关病虫害防治、新型安全柿果保鲜剂应用、柿果加工工艺及其重要功能成分开发等新理念。与会代表还重点就柿炭疽病发病机理及柿棉蚧有效防治技术展开热烈讨论。与会代表发言踊跃、气氛热烈、会议取得了预期效果。

根据中国园艺学会第十届第6次常务理事扩大会议的批复,本届会议还成立了“中国园艺学会柿分会”(简称“柿分会”)。与会代表讨论通过了“柿分会”章程,选举出理事长、荣誉理事长各1人、副理事长6人、常务理事21人和理事59人。华中农业大学园艺林学学院罗正荣教授当选为“柿分会”首届理事长,西北农林科技大学王仁梓研究员当选为“柿分会”荣誉理事长。杨勇(西北农林科技大学)、龚榜初(中国林业科学院亚热带林业研究所)、冷平(中国农业大学)、章镇教授(南京农业大学)、丁向阳(河南省林业科学院)、王文江(河北农业大学)当选为副理事长。“柿分会”挂靠华中农业大学,秘书处设在该校园艺林学学院,张青林博士任秘书长。

中国园艺学会柿分会秘书处

2008年10月30日