

### 3 结论与讨论

2013-2014 年龙 0632 和九三 6529 纳米处理组培的平均分化频率为 9.3%, 未经纳米处理组培的平均分化频率为 5.4%。纳米处理组培的分化频率与未处理组培的分化频率在不同材料上有差异, 这可能与试材的基因型有关。这一问题正在进一步研究中。但总体来看纳米处理可以提高组培的分化频率。

幼胚组织培养可诱发后代的体细胞无性系变异, 2 份试材经纳米处理组培  $S_1$  主要农艺性状和未处理组培  $S_1$  主要农艺性状的变异系数大都大于相应对照, 表明小麦幼胚经组培,  $S_1$  主要农艺性状发生了不同程度的变异, 与前人的研究结果一致<sup>[2-4]</sup>。

纳米处理可以提高组培  $S_1$  株高和穗长等性状的变异频率, 增加了有益变异株的选择机率。龙 0632 和九三 6529 经纳米处理  $S_1$  的平均入选株率为 7.1%, 而未经纳米处理的平均入选率为 2.7%。可见, 纳米处理对体细胞变异育种是有益的。

研究表明<sup>[15, 18-20]</sup>, 纳米材料制成的纳米器件具有光热性能, 可以吸收自然界中的光波并将其转化为电磁波。这种电磁波能引起水分子共振, 使其分子链发生断裂, 大分子变成小分子团, 分子运动加速, 碰撞机率增加。分子在快速运动和碰撞中发生能量转换, 增加了水的活性, 可活化细胞和组织。经纳米器处理过的水浸种和喷洒植株可促进新陈代谢, 提高酶的活性, 增加生物量。用强功能陶瓷纳米器处理过的水配制培养基进行幼胚组织培养时, 由于纳米处理激活了水分子, 活化了细胞和组织, 并增强了对吸收营养物质的通透性, 这可能是纳米处理可以提高组织培养分化频率, 提高后代变异率的原因。

#### 参考文献:

[1] 梁竹青, 高明尉. 不同小麦基因型对体细胞组织培养的反应[J]. 中国农业科学, 1986(2): 42-48.

[2] Larkin P J. Heritable somaclonal variation in wheat[J]. The-

or Appl Genet, 1984(67): 443-455.

- [3] Pyan S A somaclonal variation in some agronomic and quality characters in wheat[J]. Theor Appl Genet, 1987(74): 77-82.
- [4] 郑企成, 陈英. 植物体细胞无性系变异育种[M]. 南京: 江苏科学出版社, 1999: 34-40.
- [5] 韦彦余, 赵民安, 王晓军. 植物体细胞无性系变异在植物性状改良中的应用[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 763-771.
- [6] 陈军营, 何盛莲, 陈新建, 等. 体细胞无性系变异在小麦育种中的应用[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(2): 112-115.
- [7] 闫文义, 孙光祖, 张月学, 等. 高产优质抗病小麦新品种龙辐麦 8 号的选育及其特性[J]. 麦类作物学报, 1998, 18(6): 14-15.
- [8] 王广金, 孙光祖, 张月学, 等. 优质高产小麦新品种龙辐麦 10 号的选育[J]. 作物杂志, 2001(1): 41-42.
- [9] 张夫道, 赵秉强, 张骏, 等. 纳米材料研究进展与前景[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(2): 254-255.
- [10] 张树清. 纳米技术引导 21 世纪农业革命[J]. 农资科技, 2004(1): 13-14.
- [11] 曹菊. 浅谈纳米技术现代农业中的几点具体应用[J]. 中国果蔬, 2011(3): 43-44.
- [12] 张建军. 正光纳米有机肥在现代农业中的应用与未来展望[J]. 四川农业科技, 2011(2): 45-46.
- [13] 王玉强, 徐录, 丛焕春, 等. 纳米技术在种植业应用初探[J]. 中国农技推广, 2004(1): 41-42.
- [14] 范淑英, 刘遂飞, 吴操亮, 等. 纳米增氧助长器在部分蔬菜上的浸种应用[J]. 长江蔬菜, 2004(12): 40-41.
- [15] 周述波, 贺立静, 贺立红. 纳米处理对糯玉米生长及生理变化的影响[J]. 玉米科学, 2010, 18(1): 87-89, 95.
- [16] 王振江, 罗专溪, 颜昌宙, 等. 纳米氧化锌对绿豆芽生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(4): 619-624.
- [17] 汪玉洁, 郑胤建, 孙光闻. 纳米器件处理对豌豆苗菜生长及品质的影响[J]. 蔬菜, 2013(11): 7-9.
- [18] 陆长梅, 张超英, 温俊强, 等. 纳米材料促进大豆的萌发、生长的影响及其机理的研究[J]. 大豆科学, 2002, 21(3): 168-171.
- [19] 李贵莲, 陈日远, 刘厚诚, 等. 纳米胶片处理对水培生菜生长及生理特性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(5): 656-659.
- [20] 刘安勋, 卢其明, 曹红江, 等. 纳米复合材料对水稻生长发育的影响[J]. 植物营养与肥料科学, 2007, 13(2): 344-347.

# 亚洲百合试管鳞茎诱导

赵家敏, 祁宏英, 李 赟, 张佳美, 尹帮果

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要:**为进一步优化百合离体培养条件,以亚洲百合鳞片为外植体,研究不同鳞片部位、不同激素配比对亚洲百合试管鳞茎诱导的影响。结果表明:鳞茎内层下部分化率最高,鳞茎中层下部鳞片污染率低,是亚洲百合适宜选取的外植体材料。6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>鳞片分化率最高为 75.00%,鳞片分化数最高的激素配比为 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>,分化数为 3.05。在 6-BA 和 NAA 配合使用的情况下,6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>增殖效果最好,增殖数为 13.4 个。百合试管鳞茎膨大的理想激素浓度配比为 MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+ PP<sub>333</sub> 4.0 mg·L<sup>-1</sup>。

**关键词:**亚洲百合;鳞茎;组织培养

中图分类号:S682.2<sup>+</sup>9 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2017)02-0022-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.02.0022

百合(*Lilium* spp.)为世界著名的鲜切花<sup>[1]</sup>,也是我国重要的观赏和药用植物<sup>[2]</sup>,近年来我国百合生产和消费量呈现急剧上升的趋势,市场上百合种球需求量巨大<sup>[3]</sup>。但是目前我国百合生产中的商品种球仍然依赖从荷兰和日本等国家引进,生产成本一直居高不下,严重制约了我国百合生产的发展<sup>[4]</sup>。试管鳞茎培养是百合种球培育的关键技术环节之一,组培苗继代培养多次后容易

收稿日期:2016-01-03  
基金项目:2016 年黑龙江省大学生创新创业训练计划资助项目(201610221047)  
第一作者简介:赵家敏(1995-),女,甘肃省玉门市人,在读学士,从事百合组织培养研究。E-mail:1394323858@qq.com。  
通讯作者:祁宏英(1976-),女,硕士,副教授,从事园艺植物遗传育种研究。E-mail:qihongying1976@163.com。

## Effect of Nano Treatment on the Effect of Tissue Culture on Wheat Young Embryo and Mutation of S<sub>1</sub> Generation

SUN Yan<sup>1</sup>, ZHANG Hong-ji<sup>1</sup>, LIU Dong-jun<sup>1</sup>, LIU Wen-lin<sup>1</sup>, WANG Guang-jin<sup>2</sup>, YANG Shu-ping<sup>1</sup>, LIN Ting-ting<sup>1</sup>

(1. Crop Breeding Institute of Heilongjiang of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Soybean Research Institute of Heilongjiang of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** In order to probe into the effect of nano treatment on effect of tissue culture on wheat young embryo and mutation of S<sub>1</sub> generation, explant medium in use nano treated purified water had been compounded, and comparison explant medium compounded by common purified water from 2013 to 2015. Frequence of induction, frequence of regeneration and mutation of important agricultural characters for S<sub>1</sub> generation were investigated. The results showed that mean frequence of regeneration on treatmented explant medium for materials Long0632 and 93-6529 was 9.3%, and their mean frequence was 5.4% as control. The mean variable coefficient of plant hight, the mean variable coefficient of spike length and the rate of select on treatmented explant medium for materials Long0632 and 93-6529 were 4.7%, 2.1% and 7.1% respectively, and their mean variable coefficient of plant hight, mean variable coefficient of spike length and rate of select were 0.4%, 1.0% and 2.7% respectively as control. The nano treatment could enhance effect of tissue culture for wheat young mebro and mutations of progeny, also can help breeding of wheat somatic mutation.

**Keywords:** wheat; nano treatment; tissue culture; somatic mutation

(该文作者还有赵远玲,单位为黑龙江省农业科学院生物技术研究所)

出现鳞茎发育慢、叶根长势柔弱的现象,严重影响百合的移栽成活。本文通过研究亚洲百合(*Lilium* spp.)不同鳞片部位、不同激素浓度配比对试管鳞茎诱导、增殖及增重量的影响,以期百合离体培养条件的筛选、百合小鳞茎膨大、促进壮苗,去除病毒,提供一定的技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以饱满无病虫害的亚洲百合鳞茎为试验材料。

### 1.2 方法

1.2.1 鳞片不同部位、不同激素配比对亚洲百合试管鳞茎诱导的影响 将挑选好的没有病斑的光滑百合鳞片分成 6 个部位,即最外两层为外层,3~6 层为中层,剩下的为内层<sup>[5]</sup>,再将每一层次分别等分为上、下 2 个部分,先用洗衣粉水洗干净,然后将 6 个部位分别用纱布包裹上放在大烧杯中用流水冲洗 45 min。在超净工作台上将冲洗好的百合鳞茎去除纱布分别放入 6 个无菌三角瓶中,用 75%的酒精浸泡 30 s,然后用 0.1%升汞消毒 15 min,并加入 2 滴延展剂吐温-80,再用无菌水冲洗 6 次,用无菌滤纸吸干水分后备用。在无菌条件下,将消毒好的鳞片切成 0.5 cm×0.5 cm 的小块,内侧接种到附加有不同激素浓度组合的 MS 培养基(蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>,琼脂 0.9%)上,使外植体充分接触培养基。7 d 后统计污染

率,30 d 后统计分化鳞片数、分化率、分化数、鳞茎生长状况。

1.2.2 不同激素配比对百合试管鳞茎增殖的影响 将鳞片上长出的小鳞茎纵切成单芽,转接到继代培养基附加有 NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>,6-BA 分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg·L<sup>-1</sup> 的 MS 培养基(蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>,琼脂 0.9%)上。30 d 后统计其增殖数。

1.2.3 不同激素配比对百合试管鳞茎增重量的影响 将鳞片上长出的小鳞茎纵切成单芽,转接到继代培养基附加有 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>,NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>,PP<sub>333</sub> 分别为 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg·L<sup>-1</sup> 的 MS 培养基(蔗糖 60 g·L<sup>-1</sup>,琼脂 0.9%)上。每瓶接种 8 个单芽,每个处理接种 15 瓶,接种后称重,30 d 再次称重,统计其增重量。

培养温度为 25 ℃左右;每天光照 16 h;光照强度 1 500~2 000 lx。

1.2.4 统计与分析 数据处理分析借助 SPSS 19.0 统计软件完成。

## 2 结果与分析

2.1 鳞片不同部位对百合试管鳞茎诱导的影响 从表 1 可以看出,鳞片不同部位对分化率影响的大小依次为:内下部>中下部>内上部>外下部>中上部>外上部。分化率较高的部位为内下部 85.75%。

表 1 鳞片不同部位对百合试管鳞茎诱导的影响

Table 1 The effect of single scales in different position tissue by <i>Lilium</i> for bulblet induction						
鳞片部位	接种数	分化鳞片数	分化率/%	分化数	污染率/%	生长状况
Scales position	Number of explants	Differentiated scales number	Differentiated rate	Differentiated number	Pollution rate	Growth state
外层上部	42	1	2.38	0.50	57.15	小绿色突起
外层下部	42	14	33.33	1.94	49.09	绿多白少
中层上部	36	12	33.33	3.34	15.63	少量白色
中层下部	36	28	77.78	2.79	15.00	大量绿色
内层上部	27	25	67.57	2.27	0	白色居多
内层下部	41	35	85.37	2.55	0	绿色,致密

鳞片不同部位对分化数影响的大小依次为: 中上部>中下部>内下部>内上部>外下部>外

上部。分化数较高的部位为中上部 3.34,分化率最高的内下部分化数为 2.55,内下部的分化率高但分化数较低;中上部的分化数虽然高但分化率很低。这说明中下部是诱导生芽的重要部位,是百合组织培养中不可缺少的部分。污染率外部>中部>内部,内层鳞片作为外植体没有污染。因此,选择亚洲百合鳞片外植体时,应选取健康且肥厚的鳞片中部为佳。

2.2 不同激素配比与百合试管鳞茎诱导的影响

从表 2 可以看出,不同激素比对分化率影响的大小依次为:处理 4>处理 3>处理 2>处理

1 和 5>处理 6。鳞片分化率最高为 75.00%,激素配比为 6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>,亚洲百合在此培养基上长势好,叶色浓绿。在 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>培养基上产生愈伤组织少,分化成芽的能力弱。

不同激素比对分化数影响的大小依次为(见表 2):处理 6>处理 5>处理 3>处理 4>处理 1>处理 2。鳞片分化数较高的激素配比为 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>,分化数为 3.05。

表 2 不同激素比对百合试管鳞茎诱导的影响

Table 2 Effects of hormone combinations on the induction of bulblets

处理 Treatments	6-BA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	NAA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	接种数 Number of explants	分化鳞片数 Differentiated scales number	分化率/% Differentiated rate	分化数 Differentiated number	污染率/% Pollution rate
1	0.5	0.2	36	23	63.89	2.36	16.88
2	1.0	0.2	33	22	66.67	1.96	6.25
3	2.0	0.2	39	27	69.23	2.58	2.18
4	0.5	0.1	40	30	75.00	2.40	6.25
5	1.0	0.1	36	23	63.89	2.93	27.76
6	2.0	0.1	32	16	50.00	3.05	21.38

2.3 不同激素比对百合试管鳞茎增殖的影响

从表 3 可以看出,随着 6-BA 含量的增加,小鳞茎增殖数,也在增加,当 6-BA 浓度达到 2.0 mg·L<sup>-1</sup>时,小鳞茎增殖数达到最高,但如果 6-BA 含量继续增加,增殖数则出现下降的现象。本试验中在 6-BA 和 NAA 配合使用的情况下,6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>增殖效果最好,增殖数为 13.4。

2.4 不同激素浓度对百合试管小鳞茎增重的影响

从表 4 可以看出,随着 PP<sub>333</sub> 含量的增加,百合试管小鳞茎增重量也在增加,当 PP<sub>333</sub> 含量达到 4.0 mg·L<sup>-1</sup>时,本试验百合小鳞茎增重量达到最高值 2.167 5 g,如果 PP<sub>333</sub> 含量继续增加到 5.0 mg·L<sup>-1</sup>,小鳞茎的增重量为 2.034 9 g,极显著低于 PP<sub>333</sub> 4.0 mg·L<sup>-1</sup>时的小鳞茎增重量。0~

4.0 mg·L<sup>-1</sup>范围内,随着 PP<sub>333</sub> 含量的增加,百合小鳞茎增重量极显著提高,直径明显变粗。浓度过高时,百合鳞茎明显矮化,没有根和叶的出现。本试验中百合试管鳞茎膨大的理想激素浓度配比为 MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+PP<sub>333</sub> 4.0 mg·L<sup>-1</sup>。

表 3 不同激素比对百合小鳞茎增殖的影响

Table 3 Effects of different hormone combinations on proliferation of bulblet

处理 Treatments	6-BA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	NAA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	接种数 Number of explants	增殖数 Proliferation number
1	1.0	0.1	80	6.6
2	1.5	0.1	80	9.0
3	2.0	0.1	80	13.4
4	2.5	0.1	80	10.4
5	3.0	0.1	80	8.2

表 4 不同激素对比对百合小鳞茎增重量的影响

Table 4 Effects of different hormone combinations on increased weight of bulblet				
处理 Treatments	PP <sub>333</sub> / (mg·L <sup>-1</sup> )	6-BA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	NAA/ (mg·L <sup>-1</sup> )	鳞茎增重量/g Increased weight of bulblet
1	0	2.0	0.1	1.1775±0.1600 A
2	1.0	2.0	0.1	1.4261±0.0902 B
3	2.0	2.0	0.1	1.5697±0.0838 C
4	3.0	2.0	0.1	1.8015±0.0311 D
5	4.0	2.0	0.1	2.1675±0.2436 F
6	5.0	2.0	0.1	2.0349±0.1030 E

大写字母代表 0.01 水平差异显著。  
Capital letters represent 0.01 levels of significant difference.

3 结论与讨论

百合试管内结鳞茎是百合种球工厂化生产的一个关键步骤。试管内结鳞茎可以促进壮苗、提高栽植成活率,缩短组培苗在大田的生长周期<sup>[6]</sup>。诱导百合试管鳞茎应该是使鳞茎达到最大生长量,控制叶片的生长量,影响百合鳞茎膨大的因素是多方面的,如在培养基中适当添加 NAA,有利于鳞茎的形成及膨大<sup>[7]</sup>。多效唑能促进诱导和膨大,提高蔗糖浓度和大量元素浓度有利于鳞茎的膨大<sup>[8]</sup>。本实验主要研究了 NAA、6-BA、PP<sub>333</sub> 浓

度对百合鳞茎膨大和增重量的影响,三者配合使用可以使百合鳞茎增重达到较好的效果。百合鳞片不定芽到鳞茎形成和不断膨大的过程中,但试管苗的生长不是随时间均匀生长的,各部分的生长也不是同步的,而是有早晚、快慢变化的;而且即使为其提供充足的养分,试管苗也不是无限生长和膨大的。试管内鳞茎生长动态、发育过程及碳水化合物变化,将在今后的研究进一步探索和完善。

参考文献:

[1] 郭美,刘雅莉,王跃进,等. 亚洲百合试管苗生根移栽的研究[J]. 西北林学院学报,2010,25(2): 76-79.  
[2] 夏晶. 不同倍性百合(*Lilium* spp.) 杂交后代胚挽救及染色体分析[D]. 西南大学,2010: 1430-1432.  
[3] 夏宜平,郑慧俊. 百合商品种球的繁育技术[J]. 花木盆景: 花卉园艺,2003(2): 6-7.  
[4] 马怡迪. 野生百合高效再生体系建立及愈伤组织增殖调控研究[D]. 杭州:浙江大学,2015.  
[5] 祁宏英,徐洪国,张志. 索尔邦百合试管鳞茎的诱导[J]. 北方园艺,2010(10): 180-181.  
[6] 张进忠,韦绍龙,孙嘉曼,等. 兰州百合组培鳞茎发育研究[J]. 广西植物,2016, 36(3): 297-302.  
[7] 张彦妮,李兆婷,张艳波,等. 毛百合试管鳞茎形成和膨大的培养优化[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):74-78.  
[8] 张洁,蔡宣梅,林真,等. 百合试管鳞茎诱导及膨大技术的研究[J]. 福建农业学报,2010,25(3):328-331.

Bulblet Induction *in vitro* of *Lilium* Asiatic Hybrids

ZHAO Jia-min, QI Hong-ying, LI Yun, ZHANG Jia-mei, YIN Bang-guo

(College of Life Science and Agriculture Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

**Abstract:** The Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.) was used as explant to study the effects of different scales and different hormone combinations on the induction of bulblets. The results showed that the differentiation rate of the base part of the inner bulb was the highest, and that the base part of the middle bulb has the lowest pollution rate, which was suitable explant for tissue culture of Asiatic hybrid lily. The best differentiation rate was 75.00% on MS medium supplemented with combinations of 6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> and NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>. And the best differentiation number was 3.05 on MS medium supplemented with combinations of 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup> and NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>. The proliferation rate of bulblet was up to 13.4 on MS medium supplemented with combinations of 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup> and NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>. The best hormone concentration ratio of lily bulb enlargement was MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+PP<sub>333</sub> 4.0 mg·L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *Lilium* Asiatic hybrids; bulblet; tissue culture