



田鑫,钟程,刘姍. 外源 H_2O_2 对湖北百合试管苗玻璃化及抗氧化系统的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2021(4): 17-24.

外源 H_2O_2 对湖北百合试管苗玻璃化及抗氧化系统的影响

田鑫,钟程,刘姍

(凯里学院 大健康学院, 贵州 凯里 556011)

摘要:为控制湖北百合离体保存及试管苗玻璃化,以贵州省凯里市丁扒山的湖北百合为材料,通过不同配方培养基和 H_2O_2 浓度处理诱导湖北百合玻璃化发生,并测定其生理指标变化。结果表明:不同培养基配方对湖北百合玻璃化发生没有影响。外源 H_2O_2 会诱导湖北百合试管苗的玻璃化,随着外源 H_2O_2 浓度的增加玻璃化程度逐渐明显。在不同浓度外源 H_2O_2 处理下,湖北百合玻璃化苗的玻璃化率、POD 活性、MDA 含量随外源 H_2O_2 浓度的增加呈现上升趋势;湖北百合玻璃化苗的生长量、SOD 活性、CAT 活性随外源 H_2O_2 浓度的增加呈现下降趋势。湖北百合玻璃化苗的气孔保卫细胞变形,气孔下陷明显,不同浓度处理间下陷程度没有显著差异,凹陷率随着外源 H_2O_2 浓度增加呈上升趋势;气孔张开率随外源 H_2O_2 浓度增加不断下降,气孔闭合率随外源 H_2O_2 浓度增加呈先下降后上升的趋势,对照组的气孔开度显著高于中高浓度处理,3 个低中高浓度外源 H_2O_2 处理组之间的气孔开度没有显著差异;高浓度处理气孔密度显著低于对照组,但低中浓度与对照组气孔密度没有显著差异。

关键词:湖北百合;玻璃化;外源 H_2O_2 ;气孔

湖北百合 (*Lilium henryi* Baker) 为百合科 (Liliaceae) 百合属 (*Lilium* L.) 的多年生草本植物^[1]。湖北百合利用价值极高,鳞茎可鲜食,根可入药,花具有观赏价值^[2]。贵州凯里自然环境优越,百合资源丰富,主要分布有野百合和湖北百合^[3]。

百合种球的培育方法主要有分球繁殖、鳞片繁殖和组织培养,但繁殖系数小、所需时间长,因此大多采用组培鳞茎培养^[4]。组织培养中玻璃化现象表现为植株矮小,叶片皱缩反卷,颜色亮绿色呈玻璃质感,愈伤组织出现鲜绿水渍状^[5-7],玻璃化苗会对增殖、分化、生根、移栽产生不利影响^[8]。在薄荷^[9]、枸杞^[10]、铁线莲^[11] 的玻璃化研究中发现人为提供的培养基和培养条件不利于组培苗生长,会导致试管苗玻璃化现象。不同培养条件对

百合科植物玻璃化影响较大,高浓度 6-BA 对酸樱桃苗容易产生玻璃化,增加培养温度或降低培养基硬度^[12]。红叶石楠的玻璃化比率也显著增加^[13]。洋桔梗试管苗玻璃化的产生与培养基配方中蔗糖、琼脂的含量以及培养温度有一定影响^[14]。芦荟组培发现高 Ca^{2+} 和 K^+ 浓度会提高玻璃化率^[15]。观察蓝莓^[16]、石竹^[17]、黄冠梨^[18] 玻璃化苗的叶片发现,无栅栏组织,气孔数量减少且变形,叶片的液泡化程度高^[19]。干物质含量降低,光合能力及生长发育迟缓^[20-21]。大蒜试管苗在外源 H_2O_2 处理下出现玻璃化现象,且玻璃化率随着外源 H_2O_2 的浓度增加而增加^[22-23]。而外源 H_2O_2 胁迫湖北百合玻璃化的研究鲜见报道,本试验通过外源活性氧对湖北百合正常苗的处理,为探讨湖北百合的玻璃化现象提供一定的基础。湖北百合玻璃化苗和正常苗的生理对比,为湖北百合离体保存以及试管苗玻璃化的控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本次试验选用贵州省凯里市丁扒山(坐标为 $26^{\circ}31.9588\text{ N}$, $107^{\circ}52.8003\text{ E}$, 海拔 $1\,025\text{ m}$) 的野生湖北百合,取两年生健壮、无病虫害、生长状

收稿日期:2020-11-30

基金项目:贵州省教育厅青年人才项目“野生湖北百合与龙牙百合杂交选育的研究”(黔教合 KY 字[2020]188);凯里学院校级规划课题(Z1702);凯里学院博士专项课题(BS201403);凯里学院博士专项课题(BS201812);贵州省教育厅本科教学工程建设项目“凯里学院农林大学生创新创业训练中心”(20161113017);凯里学院大学生创新项目“孢子甘蓝优良品种引种评价研究”(202010669008);凯里学院大学生创新项目“间作薄荷对白菜虫害的影响”(202010669054)。

第一作者:田鑫(1983—),男,博士,副教授,从事植物遗传育种研究。E-mail:tianxin_china@163.com。

态良好中外部的鳞片作为组培试材。

1.2 方法

1.2.1 培养基配方 共设 3 个培养基处理,配方详见表 1。

表 1 培养基配方				
配方	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	蔗糖/g	琼脂/g
1	1.0	0.2	30	7
2	1.0	0.5	30	7
3	0.5	0.5	50	8

1.2.2 材料处理 选取无病虫害的中外部鳞茎,清洗干净后,用 75% 的酒精消毒 30 s,无菌水冲洗,再用 0.1% 的升汞消毒 6~10 min,无菌水冲洗数次。将鳞片剪成 5 mm² 的小块均匀接种于表 1 培养基中,置于温度 25 ℃、光照 12 h·d⁻¹、光强 2 000 lx 条件下培养。取初代培养中生长一致、无污染的试管苗(株高为 1.0 cm)接种在对应的配方中,采用配方对照,每瓶接 3 个外植体,30 瓶为一组,重复 3 次,观察不同配方间试管苗生长的差异。

取初代生长一致的试管苗(株高约为 1.0~1.5 cm)接种在表 1 的培养基配方 3 中,用 1,4 和 9 mmol·L⁻¹ 过氧化氢(hydrogen peroxide)对试管苗进行处理,对照组为不添加外源 H₂O₂ (0 mmol·L⁻¹),每瓶接 1 株,90 瓶为一组,重复 3 次。培养条件同上,30 d 后观察统计不同 H₂O₂ 浓度对百合试管苗玻璃化现象的影响,并计算玻璃化率。

玻璃化试管苗百分率(%)=(培养 30 d 后的玻璃化苗数/试管苗总数)×100

待百合诱导成较大的植株(约继代培养 90 d),将百合叶片用指甲油印迹法^[23]处理,在显微镜下观察玻璃化苗与正常苗的气孔差异,每个处理取 5 张叶片,每张叶片观察 3 个视野,测量气孔的长度、宽度和密度等相关数据。对湖北百合叶片的过氧化物酶活性(POD)、过氧化氢酶活性(CAT)、丙二醛含量(MDA)和超氧化物歧化酶活性(SOD)进行测定^[24-25],重复 3 次。

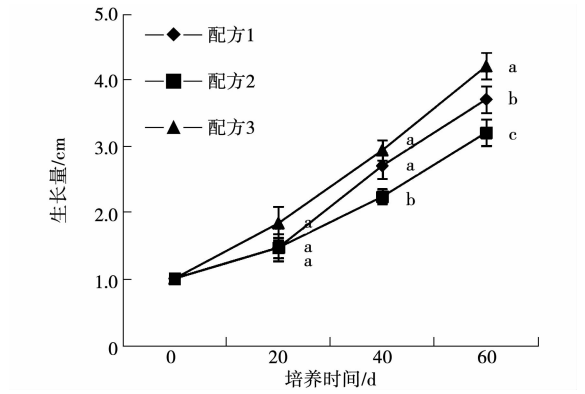
气孔开度:气孔中部最大宽度。气孔密度:视野气孔数量/视野面积。气孔变形系数:中部缝隙宽/气孔长。不同气孔所占比率:张开率=正常张开气孔/气孔总数;闭合率=闭合气孔/气孔总数;凹陷率=凹陷气孔/气孔总数。

1.2.3 数据分析 试验数据采用 Excel 2013 进行统计,用 SPSS 23.0 软件对试验数据进行 SNK 检验分析。

2 结果与分析

2.1 不同配方对百合试管苗生长的影响

对湖北百合试管苗的生长量进行组间方差分析表明,配方 3 的生长量显著高于配方 1 和配方 2。通过图 1 可以看出,20 d 之前,配方间没有明显差异;40 d 配方 2 的生长量显著低于配方 1 和配方 3,配方 1 和配方 3 没有明显差异;60 d 3 组配方间差异显著。3 个配方均未出现玻璃化现象。



注:不同字母为经 SNK 检验在 0.05 水平上差异显著。下同。

图 1 不同培养基配方对湖北百合试管苗生长量的影响

湖北百合试管苗生长形态详见图 2,其中配方 1 和配方 3(图 2a、c、d、f)的叶片质地厚实硕大,颜色呈正常绿色,配方 3 比配方 1 和配方 2 生长较好。配方 2(图 2b、e)的植株出现茎秆矮小、植株萎缩、叶片枯黄等现象。

2.2 不同浓度外源 H₂O₂ 对百合试管苗玻璃化的影响

如图 3 所示,玻璃化苗的叶片皱缩沿下表皮内卷,叶片颜色呈油亮透明状绿色(图 3f、g、h、j、k、l);正常苗叶片展开,颜色为绿色(图 3e、i)。

经过组间方差分析得出,不同外源 H₂O₂ 浓度处理的百合试管苗生长量变化存在显著差异,各处理生长量表现为 0 mmol·L⁻¹>1 mmol·L⁻¹>4 mmol·L⁻¹>9 mmol·L⁻¹,表明外源 H₂O₂ 对百合试管苗的生长有抑制作用,浓度越高,抑制作用越明显。由图 4 可知,继代培养的试管苗初始形态相同,在培养 5 d 时不同浓度间生长量没有显著

性差异;培养 15 和 20 d 时,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的生长量显著高于 4 和 9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,且与低浓度处理组没有显著差异,4 和 9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组之间没有显著差异;培养 25 d 时,0 和 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组之间没有显著差异,但显著高于 4 和 9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处

理组,4 和 9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组之间没有显著差异。培养 30 d 时,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组显著高于 4 和 9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组,但 0 和 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组之间没有显著差异,4 和 9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组之间没有显著差异(图 4)。

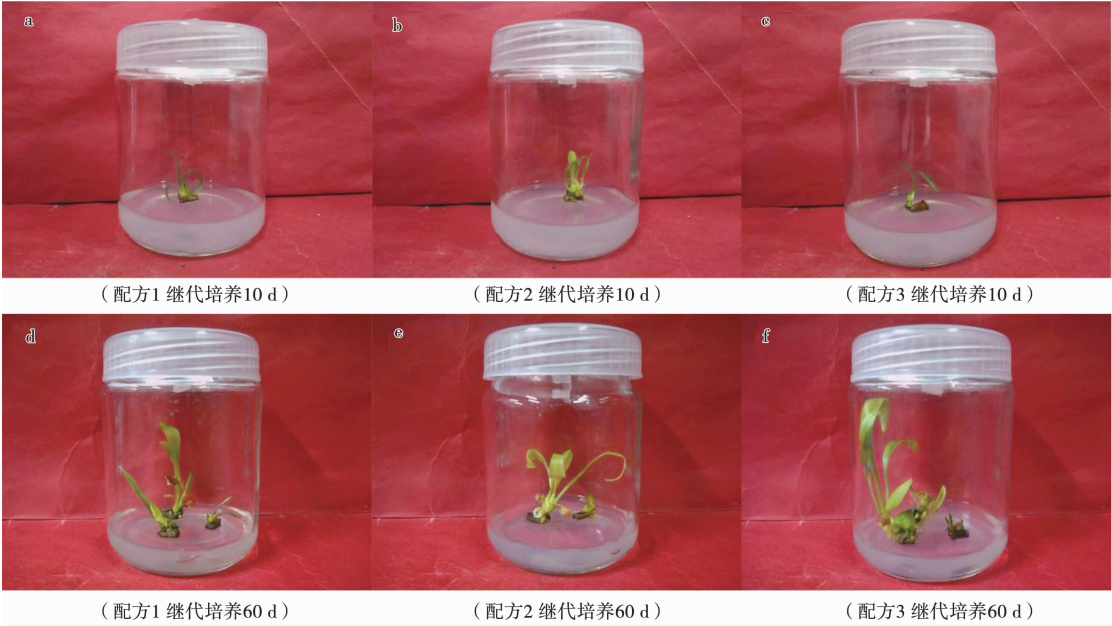
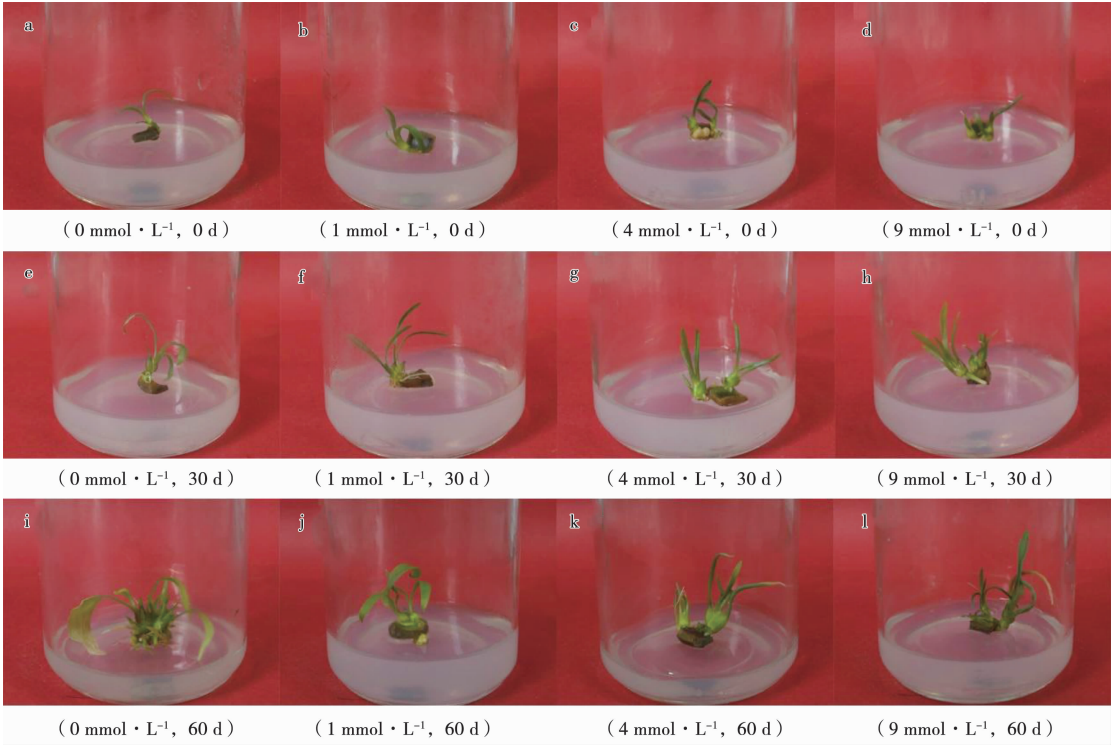


图 2 不同培养基配方对湖北百合继代培养试管苗形态的影响



注:括号中左侧表示外源 H_2O_2 浓度,右侧表示继代培养时间。

图 3 外源 H_2O_2 处理对湖北百合试管苗形态的影响

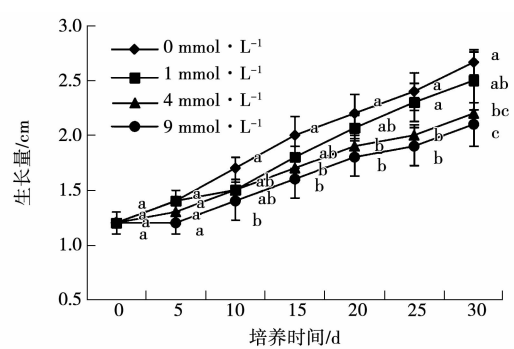


图4 外源 H_2O_2 处理对湖北百合生长量的影响

由图5可以看出,湖北百合试管苗的玻璃化苗数随着继代时间的延长不断增加,通过不同浓度过氧化氢处理组间方差分析可知,玻璃化率为 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} > 4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} > 1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} > 0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。培养5 d时开始各浓度间存在显著差异;高浓度4和 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 在培养10~15 d时达到最大增加速度。

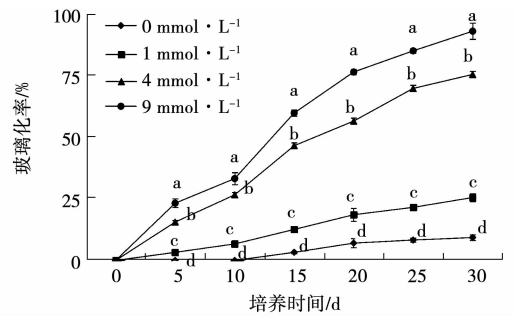
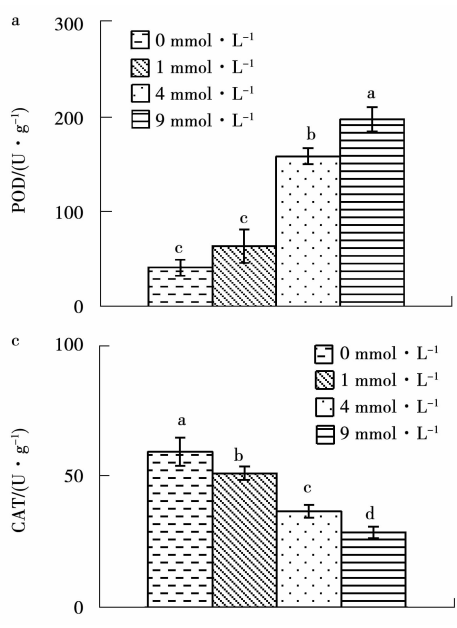


图5 外源 H_2O_2 处理对湖北百合试管苗玻璃化率的影响



2.3 玻璃化苗和正常苗的生理指标比较

2.3.1 POD活性 由图6a可以看出,湖北百合玻璃化苗随着外源 H_2O_2 浓度的增加 POD活性存在显著差异。 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 过氧化氢处理组的 POD活性显著高于其他处理组,为 $197.22\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,正常苗($0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)和低浓度玻璃化苗处理组($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)之间酶活性没有显著差异, $4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 POD活性居于1和 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理之间,且与二者差异显著。

2.3.2 SOD活性 由图6b可以看出,湖北百合玻璃化苗随着外源 H_2O_2 浓度的增加 SOD活性存在显著差异。正常苗($0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)的 SOD活性显著高于4和 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的玻璃化苗,但与 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的玻璃化苗无显著差异, $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的 SOD活性最低,为 $107.484\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, $4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的 SOD活性居于1和 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理之间,且与二者差异显著。

2.3.3 CAT活性 由图6c可以看出,湖北百合玻璃化苗随着外源 H_2O_2 浓度的增加 CAT活性存在显著差异,其中 $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的 CAT活性最低,为 $28.65\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,正常苗($0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)的 CAT活性最高,为 $59.58\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,不同浓度外源 H_2O_2 处理 CAT活性表现为 $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} > 1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} > 4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} > 9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

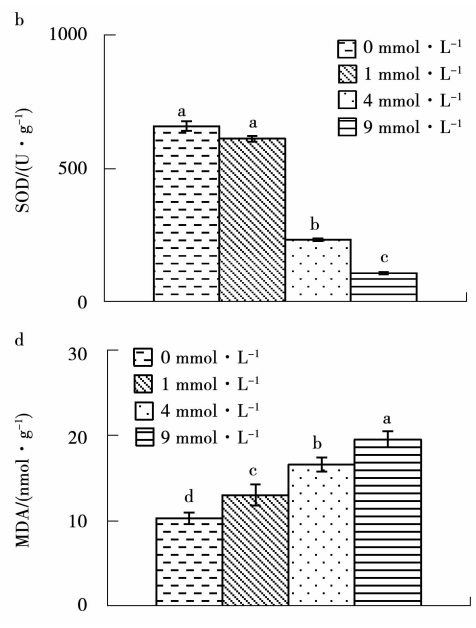


图6 外源 H_2O_2 处理对湖北百合玻璃化苗和正常苗生理指标的影响

2.3.4 MDA 含量 由图 6d 可以看出,湖北百合试管苗随着外源 H₂O₂ 浓度的增加 MDA 含量存在显著差异,玻璃化苗的 MDA 含量均比正常苗高。不同浓度外源 H₂O₂ 处理 MDA 含量表现为 9 mmol·L⁻¹ > 4 mmol·L⁻¹ > 1 mmol·L⁻¹ > 0 mmol·L⁻¹。

2.4 玻璃化苗和正常苗的气孔观察

2.4.1 气孔形态 由图 7 可知,正常苗(a)和玻璃化苗(b、c、d)的保卫细胞状态差异明显,正常苗的气孔具有正常的肾形保卫细胞且气孔结构完整;玻璃化苗的气孔中部有闭合现象,因本试验采用印迹法,印迹膜上气孔中部闭合表明气孔下部产生孔下室,气孔下陷显著、保卫细胞发育异常。

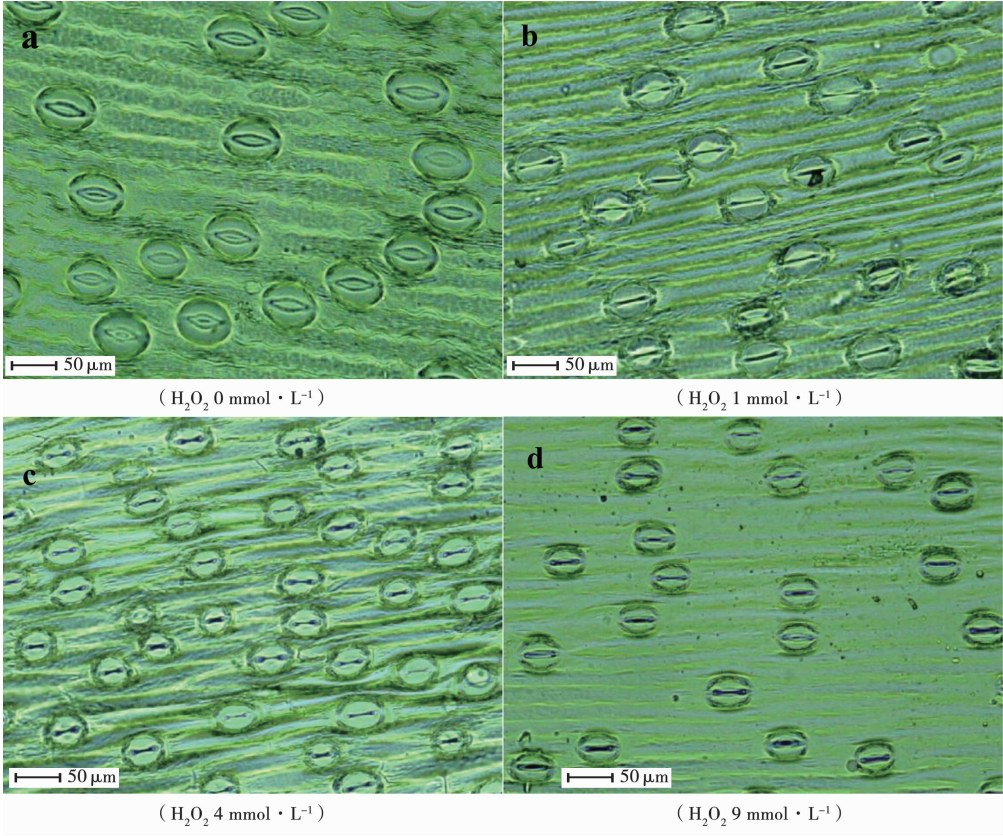
2.4.2 气孔开度 图 8a 为测定气孔开度的大小,对照组(0 mmol·L⁻¹)的气孔开度与 1 mmol·L⁻¹ 没有显著差异,但显著高于 4 和 9 mmol·L⁻¹,3 个处理组之间的气孔开度没有显著差异。

2.4.3 气孔密度 气孔密度是指叶片下表皮每平

方毫米的气孔个数^[26]。由图 8b 可以看出,玻璃化苗与正常苗的气孔密度变化,对照组(0 mmol·L⁻¹)的气孔密度显著高于 9 mmol·L⁻¹,且与 1 和 4 mmol·L⁻¹之间气孔密度没有显著差异。

2.4.4 气孔变形系数 由图 8c 可以看出,不同浓度外源 H₂O₂ 处理的湖北百合玻璃化苗气孔变形系数没有显著差异,气孔变形程度都在 0.15~0.20,说明玻璃化苗的气孔变形程度不大。

2.4.5 不同状态气孔所占比率 由图 8d 可以看出,不同外源 H₂O₂ 浓度间的气孔比率的变化。气孔张开率随外源 H₂O₂ 浓度增加不断下降,各浓度间的气孔张开率有显著差异性,表现为 0 mmol·L⁻¹ > 1 mmol·L⁻¹ > 4 mmol·L⁻¹ > 9 mmol·L⁻¹;气孔闭合率随外源 H₂O₂ 浓度增加呈先下降后上升的趋势,在 4 mmol·L⁻¹ 时气孔闭合率达到最低;气孔凹陷率随着外源 H₂O₂ 浓度增加呈上升趋势,0 mmol·L⁻¹ 时气孔凹陷率为 0,在 H₂O₂ 处理浓度为 4 和 9 mmol·L⁻¹ 时达到最高且趋于平稳。



注:所有图片均为 10×20 显微镜下百合试管苗叶片的下表皮气孔形态。

图 7 正常苗和玻璃化苗叶片显微结构比较

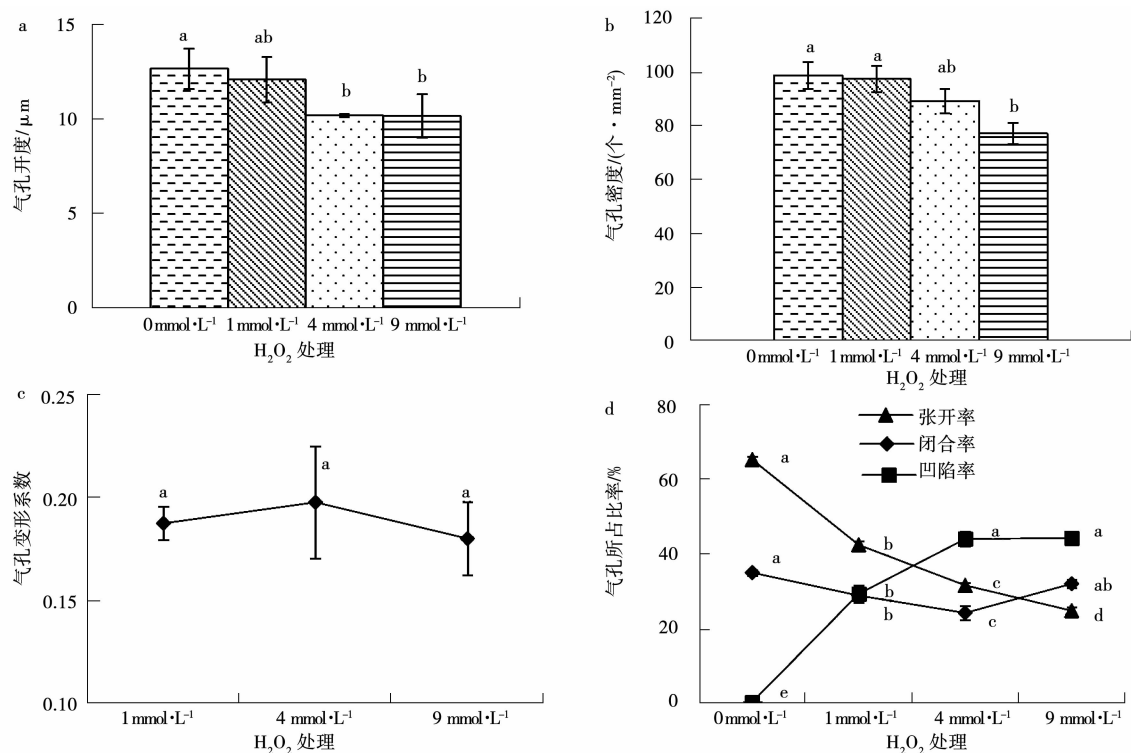


图8 正常苗和玻璃化苗叶片气孔比较

4 结论与讨论

4.1 玻璃化形态及发生原因

研究发现,湖北百合玻璃化苗叶片玻璃质感呈透明状绿色、常皱缩反卷,在植株生长中存在一定劣势,新陈代谢减缓,生长停滞。利用这一特性,在适宜玻璃化苗的组培条件下,玻璃化能够用于保护种质资源,这与菊花^[27]、香石竹^[28]的研究结果一致。试管苗玻璃化发生的原因多样,如外植体、组培条件、光照、温度、培养基成分等原因^[29]。本试验表明外源 H₂O₂ 对湖北百合试管苗玻璃化的发生有密不可分的联系,外源 H₂O₂ 胁迫会使湖北百合试管苗产生玻璃化,在一定范围内,外源 H₂O₂ 浓度越高,玻璃化率越大,这与孙丹^[30]、张琳等^[31]、靳慧卿等^[32-33] 得出的结论一致。试验中培养基配方的不同对试管苗的玻璃化没有明显诱导作用,但已有研究表明,在草莓^[34]、鸡冠花^[35]、枸杞^[36] 等植物中均有明显影响,在湖北百合试管苗玻璃化发生的原因中鲜见报道。本次试验中配方 2 的湖北百合试管苗出现叶片黄化、生长缓慢等现象但并未出现玻璃化现象,推测可能是由于配方间的激素浓度差异或者组培条件未达到使之玻璃化的程度,具体有待考证。

4.2 玻璃化苗与正常苗的生理差异

SOD 是生物体中重要的抗氧化酶,可以催化超氧阴离子自由基歧化成氧和过氧化氢,阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,具有抗氧毒性、抗衰老等作用^[37]。试验表明湖北百合玻璃化苗 1 mmol·L⁻¹ 与正常苗的 SOD 活性没有差异,4 和 9 mmol·L⁻¹ 的 SOD 活性较正常苗(0 mmol·L⁻¹)低,说明外源 H₂O₂ 浓度梯度对湖北百合玻璃化苗 SOD 活性存在差异,随着外源 H₂O₂ 浓度的增高,SOD 活性逐渐减小。

POD 广泛存在于植物细胞中,是植物体的重要组成成分,参与各种生理代谢活动,它与呼吸作用、光合作用和生长素的氧化等都有关系^[38]。POD 是一种重要的 IAA 侧链氧化酶,具有氧化分解 IAA 的功能,能将促进植物细胞伸长的 IAA 分解,也有研究表明 POD 活性的增加会导致细胞伸长减少^[39-41]。长酥油草叶伸长区过氧化物酶活性进行研究时也发现,过氧化物酶活性升高后细胞停止伸长^[42]。试验表明玻璃化苗(1 mmol·L⁻¹)的 POD 活性与正常苗无显著差异,玻璃化苗(4 和 9 mmol·L⁻¹)的 POD 活性较正常苗高,说明外源 H₂O₂ 浓度梯度对湖北百合玻璃化苗 POD 活性存在差异,随着外源 H₂O₂ 浓度的增高,POD 活性逐

渐增高。推测高浓度处理组 POD 活性升高,氧化分解降低 IAA 含量,造成玻璃化苗的细胞伸长减少,从而导致玻璃化苗生长缓慢和组织结构的畸变、形态异常畸变。

CAT 可以催化过氧化氢氧化分解,使细胞避免过氧化氢的毒害,是生物防御体系中重要酶^[43]。本试验表明湖北百合玻璃化苗的 CAT 活性低于正常苗,说明外源 H_2O_2 浓度会导致湖北百合氧化损伤。MDA 含量是判定植物细胞膜的受损程度的一个依据^[44]。试验表明湖北百合玻璃化苗的 MDA 含量较正常苗高,玻璃化苗的 MDA 含量高于正常苗,表明玻璃化苗的细胞膜受到氧化损伤,这与吕敏等^[16]得到的研究结果一致,且随着外源 H_2O_2 浓度的增加细胞膜受损程度越大。

4.3 玻璃化苗的气孔结构

与正常苗相比,玻璃化苗的气孔凹陷变形和保卫细胞发育不完全与多数植物的玻璃化苗呈现的结果一致^[18-20]。叶片的气孔开度与光合作用和蒸腾作用有密切联系^[45],试验表明玻璃化苗(外源 H_2O_2 浓度 4 和 9 $mmol \cdot L^{-1}$)与正常苗的气孔开度存在差异,说明外源 H_2O_2 会影响湖北百合试管苗的生长发育。气孔是植物进行水分和气体交换的重要媒介,气孔密度可以作为反映植物对环境适应性的依据,气孔密度越大,对环境的适应性越强^[46]。试验结果表明随着外源 H_2O_2 浓度的增加,外源 H_2O_2 浓度 4 和 9 $mmol \cdot L^{-1}$ 处理的湖北百合玻璃化苗气孔密度与正常苗有显著差异。试验中正常苗无气孔凹陷现象,说明气孔凹陷是玻璃化苗的特有现象,在一定范围内,随着外源 H_2O_2 浓度的增加,气孔凹陷率呈上升趋势。本次试验仅对玻璃化苗与正常苗的气孔结构差异做出初步分析,对于引起它们气孔结构差异的原因还有待探究。

综上所述,外源 H_2O_2 浓度会对湖北百合造成玻璃化现象,且随着浓度的增加,玻璃化程度越大;湖北百合正常苗与玻璃化苗的生理指标存在差异,在不同浓度外源 H_2O_2 处理下,POD 活性和 MDA 含量随外源 H_2O_2 浓度的增加呈现上升趋势;SOD 和 CAT 活性随外源 H_2O_2 浓度的增加呈现下降趋势;湖北百合玻璃化苗的气孔细胞发育不完全,保卫细胞变形气孔凹陷。

参考文献:

[1] 中国植物志编纂委员会. 中国植物志(第十四卷·百合

科)[M]. 北京:科学出版社,1980.

- [2] 蒋瑶,陈文波,周朝伟,等. 野生湖北百合不定芽诱导及再生植株的建立[J]. 黑龙江农业科学,2016(10):13-16.
- [3] 徐有娣,熊文斌,钟程. 凯里地区野生百合资源农艺性状研究[J]. 凯里学院学报,2013(6):56-60.
- [4] 段志坤. 龙牙百合的引种与扩繁[J]. 科学种养,2019(6):28-31.
- [5] 陈兵先,黄宝灵,吴成群,等. 植物组织培养试管苗玻璃化现象研究进展[J]. 林业工程学报,2011,25(1):1-5.
- [6] 热娜古丽·吐鲁洪,惠浩亮,刘甜甜,等. 植物组织培养中褐变和玻璃化及污染的治理研究[J]. 黑龙江农业科学,2019(11):154-157.
- [7] 孙庆春,郑成淑,丰震. 菊花玻璃化苗与正常苗的生理特性比较[J]. 山东农业科学,2009(5):45-47.
- [8] 朱新霞,孙黎,陶春萍. 甜瓜离体再生继代培养中玻璃化现象的研究[J]. 西北植物学报,2006(7):1468-1472.
- [9] 王小敏,李维林,赵志强,等. 不同培养条件对薄荷试管苗玻璃化现象的影响[J]. 植物资源与环境学报,2006(3):51-54.
- [10] 罗青,张曦燕,李晓莺,等. 不同培养条件对枸杞组培苗玻璃化的影响[J]. 安徽农业科学,2008(22):9400-9401,9528.
- [11] 袁佳,胡恒康,方炎明,等. 不同培养条件对铁线莲不定芽增殖及玻璃化的影响[J]. 西北植物学报,2011(2):401-406.
- [12] 高红兵,唐晓杰,孟庆繁. 高浓度 6-BA 诱导酸樱桃苗的玻璃化苗内源激素含量变化[J]. 林业科学研究,2006,19(4):488-490.
- [13] 杨雪,吴国盛,范加勤. 红叶石楠试管苗玻璃化影响因子及其克服技术研究[J]. 江西农业大学学报,2009,31(5):906-910.
- [14] 龚明霞,陈小凤,方锋学,等. 洋桔梗试管苗玻璃化原因及恢复的研究[J]. 西南农业学报,2009,22(6):1718-1721.
- [15] 丰锋,李洪波,谢建英. 芦荟组织培养中试管苗玻璃化的发生与防止[J]. 西南农业大学学报,2001(5):449-451.
- [16] 吕敏,夏秀英,徐品三,等. 蓝莓玻璃化试管苗的显微结构及生理生化特性变化[J]. 植物生理学报,2014(4):453-460.
- [17] 高弘扬,夏秀英,张静雪,等. 石竹玻璃化苗的显微结构及气孔运动特性[J]. 植物生理学报,2015(5):686-694.
- [18] 常有宏,张玉娇,李晓刚,等. ‘黄冠’梨正常试管苗与玻璃化苗生理生化及超微结构的比较研究[J]. 园艺学报,2011(2):225-232.
- [19] 李娅莉,张健,潘远智. 观赏植物组织培养过程中玻璃化现象与解决措施进展[J]. 四川农业大学学报,2004(3):278-282.
- [20] 孙庆春,郑成淑,丰震. 菊花玻璃化苗与正常苗的生理特性比较[J]. 山东农业科学,2009(5):45-47.
- [21] 杨芸,吴震,李翠花,等. 外源 H_2O_2 胁迫对大蒜试管苗玻璃化的影响[J]. 西北植物学报,2007,27(8):1637-1642.
- [22] 田洁. 大蒜试管苗玻璃化发生的生理机制及 microRNAs 分析[D]. 南京:南京农业大学,2015.
- [23] 黄新敏. 几种切花的气孔特征及其采后调控研究[D]. 广

- 州:仲恺农业工程学院,2013.
- [24] 赵晓东. 小白菜耐热生理生化指标及遗传多样性的研究[D]. 南昌:江西农业大学,2013.
- [25] 朱志国,季晓莲. 百合鳞茎形成的生理生化研究[J]. 中国农学通报,2015(10):138-141.
- [26] 谷丽佳,王文和,赵西宁. 百合叶表皮微形态观察[J]. 北京农学院学报,2010(4):25-31.
- [27] 张艳秋,屈连伟,苏君伟,等. 菊花茎尖玻璃化法超低温保存技术研究[J]. 北方园艺,2016(5):128-132.
- [28] 张晓宁. 香石竹种质资源水滴玻璃化法超低温保存技术研究[D]. 武汉:华中农业大学,2011.
- [29] 赵一鸣,隋宝凤,张欣燕,等. 组织培养中玻璃化现象的研究进展[J]. 国土与自然资源研究,2019(6):68-74.
- [30] 孙丹. 内源 H_2O_2 变化对石竹玻璃化的影响及控制[D]. 大连:大连理工大学,2018.
- [31] 张琳,蒋芳玲,熊超超,等. 外源 H_2O_2 作用下大蒜试管苗活性氧代谢的变化及对 AsA 的响应[J]. 园艺学报,2011(9):1707-1716.
- [32] 靳慧卿,蒋芳玲,张琳,等. 外源 H_2O_2 对大蒜试管苗玻璃化及活性氧代谢动态变化的影响[J]. 江西农业学报,2010(6):53-57.
- [33] 靳慧卿. 外源 H_2O_2 和 AsA 对大蒜试管苗玻璃化及内源活性氧代谢特征的影响[D]. 南京:南京农业大学,2010.
- [34] 丰锋,陈厝边. 草莓离体培养中玻璃化的发生及克服措施研究[J]. 西南大学学报(自然科学版),2007(4):78-82.
- [35] 周俊辉,陈志强,余卓玲,等. 鸡冠花离体培养中的玻璃化现象及其控制的初步研究[J]. 江西农业学报,2006(4):88-90.
- [36] 卢兴霞,柴慈江,张婷,等. 枸杞试管苗玻璃化影响因素的研究[J]. 北方园艺,2014(18):103-106.
- [37] 陆耀良. 超氧化物歧化酶得生物学作用及其酶活性得检验方法[J]. 中国公共卫生,1995,11(6):281-343.
- [38] 于芬,丁雨龙. 毛竹竹秆基本组织发育过程中过氧化物酶的超微定位[J]. 云南植物研究,2010(2):127-133.
- [39] Dencheva A, Klisurska D. Interaction between peroxidase- and IAA oxidase in the course of growth and differentiation of plant cells[J]. Physiologie Vegetale, 1982, 20(3): 385-394.
- [40] Dencheva A, Klisurska D. Comparison of some kinetic parameters of peroxidase and IAA oxidase in the course of growth and differentiation of plant cells[J]. Biologia Plantarum, 1986, 28(2): 105-113.
- [41] Lee T T. Role of phenolic inhibitors in peroxidase mediated degradation of indole-3-acetic acid[J]. Plant Physiology, 1977, 59: 372-375.
- [42] MacAdam J W, Nelson C J, Sharp R E. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone[J]. Plant Physiology, 1992, 99: 872-878.
- [43] 刘云芬,王薇薇,祖艳侠,等. 过氧化氢酶在植物抗逆中的研究进展[J]. 大麦与谷类科学,2019(1):5-8.
- [44] 曹天旭,朴炫春,廉美兰,等. 满天星试管玻璃化苗与正常苗的比较研究[J]. 黑龙江农业科学,2009(5):86-88.
- [45] 李刚. 温室切花百合气孔导度、蒸腾速率及光合速率模拟研究[D]. 南京:南京农业大学,2012.
- [46] 侯琚,肖菲菲,张延龙,等. 中国野生百合叶表皮特征及系统学意义[J]. 西北植物学报,2015(8):1560-1573.

Effects of Exogenous H_2O_2 on Vitrification and Antioxidant System of *Lilium henryi* Baker Test-tube Seedlings

TIAN Xin, ZHONG Cheng, LIU Shan

(College of Comprehensive Health, Kaili University, Kaili 556011, China)

Abstract: In order to control the preservation and vitrification of *Lilium henryi* Baker seedlings *in vitro*, the vitrification of *Lilium henryi* Baker seedlings in Dingpashan, Kaili City, Guizhou Province was induced by different medium and H_2O_2 concentration, and the changes of its physiological indexes were measured. The results showed that the vitrification of *Lilium henryi* Baker was not affected by different medium formulas. Exogenous H_2O_2 could induce the vitrification of lily *in vitro*, and the vitrification degree was gradually obvious with the increase of exogenous H_2O_2 concentration. Under different concentrations of exogenous H_2O_2 , the vitrification rate, POD activity and MDA content of *Lilium henryi* Baker vitrification seedlings increased with the increase of exogenous H_2O_2 concentration. The growth, SOD activity and CAT activity of lily vitrified seedlings decreased with the increase of exogenous H_2O_2 concentration. The stomatal guard cells of *Lilium henryi* Baker vitrified seedlings were deformed, and the stomatal subsidence was obvious. There was no significant difference in the degree of subsidence among different concentrations, and the sag rate increased with the increase of exogenous H_2O_2 concentration. The stomatal opening rate decreased with the increase of exogenous H_2O_2 concentration, and the stomatal closure rate decreased first and then increased with the increase of exogenous H_2O_2 concentration. The stomatal opening rate of the control group was significantly higher than that of the medium-high concentration treatment, and there was no significant difference in the stomatal opening among the three low-medium-high concentration exogenous H_2O_2 treatment groups. Stomatal density of high concentration treatment was significantly lower than that of control group, but there was no significant difference between low and medium concentration treatment and control group.

Keywords: *Lilium henryi* Baker; vitrification; exogenous H_2O_2 ; stomata