

崔均涛, 刘凤民, 张伟丽. 索邦和西伯利亚百合的离体再生体系建立 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(3): 51-56.

## 索邦和西伯利亚百合的离体再生体系建立

崔均涛<sup>1</sup>, 刘凤民<sup>2</sup>, 张伟丽<sup>3</sup>

(1. 仲恺农业工程学院园艺园林学院, 广东 广州 510225; 2. 仲恺农业工程学院教学科研基地, 广东 广州 510225; 3. 仲恺农业工程学院农业与生物学院, 广东 广州 510225)

**摘要:**【目的】确定索邦(Sorbonne)和西伯利亚(Siberia)百合的离体再生体系适合的诱导培养基、增殖培养基、生根培养基以及最佳转化受体系统。【方法】选用索邦和西伯利亚百合的鳞茎球作为外植体, 比较它们在添加不同激素配比的培养基中的生长状况, 得出两种百合诱导愈伤组织和不定芽、继代增殖、诱导生根培养基和对卡那霉素敏感的最适条件。【结果】索邦百合最佳诱导培养基是MS+2,4-D 1.5~2.0 mg/L, 西伯利亚百合最佳诱导培养基为MS+2,4-D 1.0~1.5 mg/L; 两种百合的最佳继代增殖培养基均为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 两种百合的最佳生根培养基为1/2MS+NAA 0.2 mg/L、1/2MS+IBA 0.2 mg/L; 筛选转化植株时, 质量浓度为150 mg/L的卡那霉素足以抑制非转化细胞或细菌的生长。【结论】为东方百合品种种球工厂化生产及遗传转化再生体系充实理论依据。

**关键词:** 东方百合; 受体系统; 遗传转化; 组织培养

中图分类号: S682.2+9

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X(2019)03-0051-06

## Establishment of *in vitro* Regeneration System of *Lilium* Sorbonne and Siberia

CUI Juntao<sup>1</sup>, LIU Fengmin<sup>2</sup>, ZHANG Weili<sup>3</sup>

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China; 2. Teaching and Research Base, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China; 3. College of Agriculture and Biology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

**Abstract:**【Objective】The suitable induction medium, proliferation medium, rooting medium and the optimal transformation receptor system were determined for the *in vitro* regeneration systems of *Lilium* Sorbonne and Siberia.【Method】The bulbs of Sorbonne and Siberia were used as explants to compare their growth status in the medium with different hormone ratios. And the optimal conditions of callus and adventitious bud induction, subculture proliferation, induction/rooting medium and kanamycin sensitivity were obtained.【Result】The best induction medium for Sorbonne was MS+2,4-D 1.5-2.0 mg/L, while the best induction medium for Siberia was MS+2,4-D 1.0-1.5 mg/L. The optimal subculture proliferation medium for the two *Lilium* species was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L. The optimal rooting media for the two *Lilium* species were 1/2MS+NAA 0.2 mg/L and 1/2MS+IBA 0.2 mg/L, respectively. When screening transformed plants, kanamycin at a mass concentration of 150 mg/L was sufficient to inhibit the growth of non-transformed cells or bacteria.【Conclusion】The theoretical basis was provided for the industrialized production and genetic transformation and regeneration system of *Lilium* oriental varieties.

**Key words:** *Lilium* Oriental; receptor system; genetic transformation; tissue culture

收稿日期: 2019-01-07

基金项目: 2017年度广东省本科高校高等教育教学改革项目(285)

作者简介: 崔均涛(1995—), 男, 在读硕士生, 研究方向为园林植物应用, E-mail: 791379415@qq.com

通信作者: 张伟丽(1969—), 女, 博士, 教授, 研究方向为植物逆境生理与分子生物学、植物抗病分子机理,

E-mail: zhangweili7218@163.com

【研究意义】索邦 (Sorbonne) 和西伯利亚 (Siberia) 百合均属于东方百合杂种系, 为百合中的名贵品种群, 由于其花色丰富、气味芳香而深受人们喜爱, 成为近年国内外市场热销的花卉种类之一, 栽培面积也日益增长, 在切花生产中的地位也越来越重要。百合主要靠分球繁殖, 繁殖系数低, 传统的鳞茎球繁殖方法繁殖速度缓慢, 而离体培养繁殖速度快, 有利于工厂化和规模化生产<sup>[1]</sup>。利用组织培养技术, 既能脱毒、又能加快其生长发育周期, 从而更好地利用其经济价值和开发其潜力<sup>[2]</sup>。【前人研究进展】近年来, 国内学者对多种百合进行离体培养研究<sup>[3-8]</sup>, 随着东方百合在市场上越来越受欢迎, 对东方百合的离体研究也逐渐增多<sup>[9-12]</sup>。龙彬等<sup>[13]</sup>研究表明, 株洲红东方百合的组培苗在  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下冷藏 40 d 为最佳并有助于炼苗成功。农艳丰等<sup>[14]</sup>研究了东方百合甜梦品种花器官的组织培养, 结果表明花器官中子房最容易诱导愈伤组织, 花柱、花药次之, 花托为最难诱导愈伤组织。目前东方百合的离体培养研究取得较大进展, 如针对索邦, 不同研究所报道的适宜培养基配方不同。梁芳等<sup>[15]</sup>认为, 索邦百合最佳增殖培养基是 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, 愈伤组织诱导最佳培养基是 MS+IBA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, 分化培养最佳培养基是 MS+NAA 0.3 mg/L+TDZ 0.1 mg/L+KT 0.2 mg/L; 西伯利亚百合在 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 培养基中愈伤组织的诱导和增殖最佳, 分化培养最佳培养基是 MS+IBA 1.0 mg/L+KT 0.5 mg/L; 以上两个品种最佳生根培养基均为 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.01 mg/L。闫海霞等<sup>[16]</sup>研究表明, 提伯 (Tiber)、索邦和西伯利亚等 3 种东方百合愈伤诱导和分化的适宜培养基为 MS, 最适增殖培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, 最适生根培养基为 MS+IBA 0.1 mg/L。【本研究切入点】目前东方百合的离体培养研究虽然取得较大进展, 但是索邦、西伯利亚两种东方百合遗传转化再生系统研究仍较少<sup>[17-18]</sup>。【拟解决的关键问题】确定索邦和西伯利亚百合的离体再生系统适合的诱导培养基、增殖培养基、生根培养基以及最佳转化受体系统, 建立稳定、高效的索邦和西伯利亚百合的离体再生体系。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为索邦百合和西伯利亚百合的无菌鳞茎球, 购自中国芊卉种苗公司。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体灭菌** 取百合鳞茎球先经流水冲洗 2 h, 冲洗干净后把鳞片叶剥下, 选取分化能力最强、与鳞茎盘相连的下部柔嫩鳞片叶, 剔除菌斑及瑕疵; 用 75% 酒精浸泡 30 s、无菌水漂洗后放入 0.1%  $\text{AgCl}_2$  (0.02% 吐温) 中浸泡 5~8 min, 再用无菌水漂洗 5 次, 滤纸吸干水分, 切成 3 mm × 3 mm 小块作外植体, 背面朝下接种在培养基上。在人工控制培养室中培养, 先暗培养 7 d, 培养温度 22~26  $^{\circ}\text{C}$ , 光照度 2 000~2 200 Lx, 光照 12 h/d。

**1.2.2 愈伤组织及芽诱导培养基筛选** 以 MS 为培养基, 共设置 11 个不同的激素浓度组合, 包括 2,4-D (0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L)+6-BA 0.2 mg/L、2,4-D (1.0、1.5、2.0 mg/L)、6-BA (2.0、1.5、1.0、0.5 mg/L)+NAA 0.2 mg/L。然后附加蔗糖 3%、琼脂 0.55%~0.65%, pH 调至 5.8, 培养 120 d, 观察其生长状况, 60 d 统计启动率, 120 d 统计植株出芽频率、有效外植体平均出芽数和出苗平均高度。

**1.2.3 继代增殖培养基筛选** 接种 60~90 d 后诱导培养基中已长出大量愈伤组织和芽丛, 将愈伤组织和丛芽切割成 0.5 cm × 0.5 cm 小块, 接入附加有不同激素配比(包括 2,4-D 1.5 mg/L、2,4-D 1.0 mg/L、6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L) 的 MS 培养基上, 定期观察两个品种在 3 个继代培养基中的生长状况, 并统计芽增殖倍数、芽平均高度和生长势。

**1.2.4 根诱导培养基筛选** 将苗高 3 cm 以上且基部鳞茎球达到直径 3 mm 的无菌苗, 移至附加不同激素配比(包括 NAA 0.1、0.2、0.3 mg/L, IBA 0.1、0.2 mg/L) 的 1/2MS 培养基中, 40 d 后统计生根数、根长和生长势。

**1.2.5 炼苗移栽** 待苗基部鳞茎球发育至直径达 3 mm 时, 即可敞开瓶口在培养室中炼苗。1 周后, 用流动水清洗干净根系上的培养基, 移入喷洒过 0.2% 达克宁的基质(沙:花肥:椰糠为 1:1:1) 中, 温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ , 平均光照 2 000 Lx, 每天光照 12 h, 15 d 后再移入花盆或大田中生长。

**1.2.6 抗生素敏感实验** 在获得最适合两种百合诱导增殖生根培养基的基础上, 设 5 个卡那霉素浓度梯度 (0、50、75、100、150 mg/L)。30 d 后统计褐化率, 观察发芽表现, 筛选转化植株时卡那霉素的浓度。

## 2 结果与分析

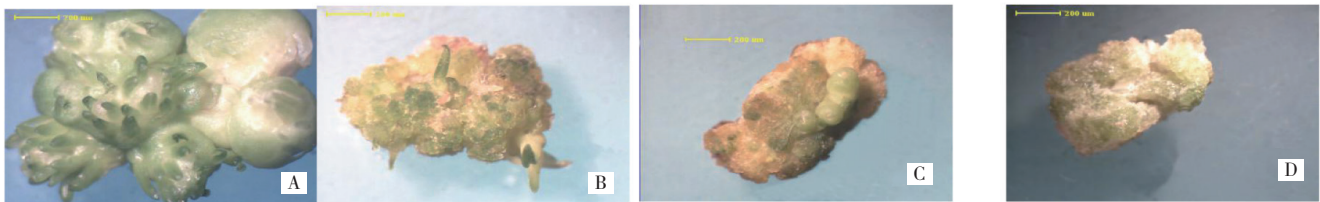
### 2.1 不同激素配比对百合愈伤组织诱导的影响

百合鳞片块接入培养基中约 15 d 左右, 鳞片颜色由白色变成绿色, 接种 20 d 时鳞片表面及切口处出现白色及浅绿色突起, 即出现了黄绿色愈伤组织, 主要集中在不定芽上。每个鳞片上有数个突起, 接种 40~45 d 时突起部位长出绿色芽丛, 且鳞片基部出现愈伤组织并逐渐增大, 至接种 70~80 d 时芽丛继续长高, 而基部愈伤组织在生长的同时又出现新的芽点及芽丛。继续培养至 120 d, 可确定培养基各阶段的诱导及伸长芽的效率。

从表 1 可以看出, 接种 60 d 时, 索邦和西伯利亚在 H4、H5、H11 培养基上的启动率均高于其他培养基, 百合在各诱导培养基中的愈伤及芽生长情况见图 1。接种 120 d 时, 在 H1~H3 等 3 种培养基中, 两种百合的植株出芽频率和有效外植体平均出芽数均相对较低, 甚至出芽数为 0。在 H4 培养基中, 索邦百合虽然植株出芽频率为 100%, 但其有效外植体平均出芽数较低。两种百合的植株出芽频率和有效外植体平均出芽数均相对较低, 甚至出芽数为 0。而 H5、H6、H7 培养基中百合的有效外植体出芽数均大于 5 且出芽频率都为 100%, 表明单独使用 2,4-D 效果更好。索邦在 H5、H6 培养基中长出鳞茎球, 西伯利亚在 H6、H7 培养基中也长出鳞茎球。H11 培养中, 百合的各项测定指标均显著高于 H8、H9、H10、H11 等 4 种培养基。综上所述, 索邦的最适芽诱导和伸长培养基是 MS+2,4-D 1.0~2.0 mg/L、

表 1 不同激素配比对百合愈伤组织诱导的影响  
Table 1 Effects of different hormone ratios on callus induction of *Lilium*

编号 No.	激素配比 Hormone ratio	60d 启动率 Activation rate of 60 days (%)		植株出芽频率 Frequency of plant budding (%)		有效外植体平均出芽数 Average budding number of effective explants		出苗平均高度 Average height of emergence (cm)	
		索邦	西伯利亚	索邦	西伯利亚	索邦	西伯利亚	索邦	西伯利亚
		Sorbonne	Siberia	Sorbonne	Siberia	Sorbonne	Siberia	Sorbonne	Siberia
H1	2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L	0	21.43	0	21.50	0	0.75	0	0
H2	2,4-D 1.5 mg/L +6-BA 0.2 mg/L	6.25	0	25.00	15.25	0	0	0	0
H3	2,4-D 1.0 mg/L +6-BA 0.2 mg/L	18.18	10	37.50	32.35	0	0	0	0
H4	2,4-D 0.5 mg/L +6-BA 0.2 mg/L	46.67	55.24	100	52.50	0.89	0.93	1.67	1.35
H5	2,4-D 2.0 mg/L	62.50	45.50	100	100	5.17	4.25	7.31	6.15
H6	2,4-D 1.5 mg/L	20.00	25.00	100	100	5.71	5.25	5.34	4.85
H7	2,4-D 1.0 mg/L	33.33	32.25	100	100	6.86	7.15	4.30	5.62
H8	6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	30.00	21.50	100	42.15	10.80	7.32	0	0
H9	6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L	33.33	15.38	100	36.80	0.60	0.55	2.00	1.00
H10	6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	6.67	6.75	100	34.50	0	0	0	2.00
H11	6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L	41.67	38.55	100	100	8.57	6.53	3.80	3.95



A: 索邦在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基中; B: 索邦在 MS+2,4-D 2.0 mg/L 培养基中;  
C: 索邦在 MS+2,4-D 0.5 mg/L +6-BA 0.2 mg/L 培养基中; D: 西伯利亚在 MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L 培养基中  
A: Sorbonne in MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L medium; B: Sorbonne in MS+2,4-D 2.0 mg/L medium  
C: Sorbonne in MS+2,4-D 0.5 mg/L +6-BA 0.2 mg/L medium; D: Siberia in MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L medium

图 1 索邦和西伯利亚百合在不同诱导培养基中的愈伤组织及芽生长情况

Fig. 1 Callus and bud growth of Sorbonne and Siberia in different induction medium

MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 西伯利亚的最适芽诱导和伸长培养基为 MS+2,4-D 1.0~1.5 mg/L、MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

## 2.2 不同激素对比对百合丛芽继代增殖的影响

由表 2 可知, 在 MS+2,4-D 1.5 mg/L 培养基中, 索邦和西伯利亚百合的增殖倍数最高、分别为 2.76 和 4.51, 且芽平均高度也最高、分别为 5.03 和 5.17, 但两种百合的长势均比 MS+6-BA 0.5 mg/L +NAA 0.2 mg/L 培养基中植株差。西伯利亚百合在 MS+2,4-D 1.5 mg/L 培养基中虽然分化出大

量愈伤组织, 但芽有畸形现象。而在 MS+6-BA 0.5 mg/L +NAA 0.2 mg/L 培养基中, 百合苗较壮且没有畸形, 芽与愈伤组织的密度也较合适。试验中还发现, 两种百合培养一个周期后, 西伯利亚百合在仅含有 2,4-D 的培养基中丛芽发生玻璃化现象, 说明 2,4-D 对西伯利亚百合的抑制分化作用更明显。综合生长状况, 我们认为在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 中, 两种百合繁殖出的愈伤组织和丛芽更健壮、密度也更合适。

表 2 不同激素对比对百合丛芽继代增殖的影响  
Table 2 Effects of different hormone ratio on subculture proliferation of *Lilium* cluster buds

激素配比 Hormone ratio	芽增殖倍数 Multiplication multiple of buds		芽平均高度 Average height of buds (cm)		生长势 Growth potential	
	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia
	2,4-D 1.5 mg/L	2.76	4.51	5.03	5.17	中等强度, 芽密度大
2,4-D 1.0 mg/L	2.30	3.08	4.06	5.04	中等强度, 芽密度大	愈伤好多, 芽密度大, 有畸形芽
6-BA 0.5 mg/L +NAA 0.2 mg/L	2.74	2.22	3.11	4.83	强健壮, 芽密度适合无畸形	强健壮, 芽密度适合无畸形

## 2.3 不同激素对比对百合根诱导及移栽的影响

由表 3 可知, 索邦和西伯利亚的根诱导培养基试验结果比较一致, 在添加 NAA 0.1~0.3 mg/L 的 MS 培养基中, MS+NAA 0.2 mg/L 中百合的平均根长度显著高于其他两种培养基, 索邦和西伯利亚分别为 1.13、3.70, 平均生根数次于 MS+NAA 0.3 mg/L 培养基, 且植株生长势好、根系粗壮。虽然 MS+NAA 0.3 mg/L 培养基中百合平均生根数最高,

但是植株生长势相对于其他两种培养基较为弱。MS+IBA 0.1 mg/L 培养基中百合的各项指标均显著高于 MS+IBA 0.2 mg/L, 且植株生长势好、根系粗壮。综合生根数、平均根长度和植株生长势, 效果较好的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.2 mg/L、1/2MS+IBA 0.2 mg/L, IBA 和 NAA 对促进百合生根效果相仿。

表 3 不同激素对比对百合根诱导及移栽的影响  
Table 3 Effects of different hormone ratios on the rooting induction and transplanting of *Lilium*

激素配比 Hormone ratio	平均生根数 Average number of root		平均根长 Average length of root (cm)		生长势 Growth potential	
	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia
NAA 0.1 mg/L	0.56	0.62	0.15	0.15	健	健
NAA 0.2 mg/L	1.00	1.15	1.13	3.70	健	健
NAA 0.3 mg/L	1.50	3.00	0.14	0.14	中等健	中等健
IBA 0.1 mg/L	2.33	2.05	0.14	0.15	弱	弱
IBA 0.2 mg/L	5.00	5.33	1.63	3.34	健	健

## 2.4 卡那霉素抗性筛选

从表 4 可以看出, 随着卡那霉素质量浓度的升高, 两种百合褐化率上升、发芽数减少, 外植体的生长和分化受到不同程度的影响。当卡那霉素质量浓度较低时, 两种百合发芽正常, 当卡那

霉素质量浓度为 150 mg/L 时, 两种百合褐化率分别高达 100% 和 98%, 无芽发生且芽呈黑褐色。可见, 卡那霉素质量浓度越高, 两种百合均表现为发芽减少并呈萎缩趋势, 150 mg/L 浓度能起到抑制未转化细胞的效果。

表 4 百合鳞片对卡那霉素的抗性  
Table 4 Resistance of *Lilium* scales to Kanamycin

卡那霉素质量浓度 Mass concentration of Kanamycin (mg/L)	接种天数 Inoculation days (d)	褐化率 Browning rate (%)		发芽表现 Budding performance	
		索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia	索邦 Sorbonne	西伯利亚 Siberia
0	30	1.25	1.20	大量芽发生, 芽色深绿	大量芽发生, 芽色深绿
50	30	12.75	16.25	有芽发生, 芽稍发红	有芽发生, 芽稍发红
75	30	37.50	39.20	少量芽发生, 芽红色	少量芽发生, 芽红色
100	30	86.50	81.75	少量芽发生, 芽发红	少量芽发生, 芽发红
150	30	100	98.00	无芽发生, 芽为黑褐色已死亡	无芽发生, 芽为黑褐色已死亡

### 3 讨论

#### 3.1 不同激素配比对百合丛芽的影响

通过对索邦和西伯利亚百合离体快繁结果表明, 在促进愈伤组织的诱导、继代增殖、生根培养中, 生长调节剂的选择及其浓度都会影响芽的生长。同时发现索邦和西伯利亚在添加 2,4-D 的 MS 培养基中出芽效果更好, 说明在适宜浓度下单独使用 2,4-D 比组合使用 6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 对百合丛芽持续生长的效果更明显, 但其综合生长状况却不及组合激素发挥稳定。因此, 单独使用 2,4-D 对百合分化芽的生长状况比再加入 6-BA 强, 这与前人试验结果<sup>[19]</sup>相一致。在组合激素培养基中百合幼苗更加健壮, 不易发生玻璃化现象。此外, 本试验还观察到的 6-BA 在愈伤组织分裂中的作用, 6-BA 浓度过高 (2.0 mg/L) 会导致百合出苗长势变差, 相对适宜的 6-BA 浓度为 0.5 mg/L。我们认为, 6-BA 和 NAA 在百合增殖和生根中的作用是协同的, 任意一种浓度过高或过低后会导致植株生长不良, 两者比例合适时才能发挥最大效果。

#### 3.2 百合转基因研究、抗生素对百合的敏感影响

目前, 采用农杆菌介导法进行百合转基因研究中, 大多采用的是在室外生长的鳞片叶进行消毒, 然后与农杆菌共同培养<sup>[20]</sup>, 此法的最大缺点是污染率高, 表面消毒对供试材料具有一定伤害, 从而造成褐化, 最终导致转化率降低。而本研究采用组织培养的方式, 将鳞片叶直接作为基因转化受体材料, 建立直接分化再生系统, 此法的优势在于取材不受季节和气候的影响, 且没有外植体污染问题, 从而提升了转化效率。

唐东芹等<sup>[21]</sup>认为, 在基因转化过程中百合外植体不能连续被分割, 且在筛选培养基时抗生素会使有切口的外植体褐化并导致死亡, 因此要保证外植体的完整性。说明百合再生能力强且适合

离体培养, 若以鳞片为外植体, 其直接分化率高、分化周期短且分化能力强, 是外植体稳定来源之一。卡那霉素的使用能有效抑制非转化细胞或细菌的生长, 并且不影响转化细胞的生长效果, 但转化筛选时必须保证外植体的完整性, 防止伤口恶化。鳞片叶再生过程中, NAA 和 6-BA 组合对鳞片叶再生效果好, 且分化率高, 可作为良好的受体。

### 4 结论

本研究以百合鳞茎片为外植体, 比较了不同诱导培养基、增殖培养基、生根培养基的诱导、继代增殖、生根效果。结果表明, 索邦百合的最佳诱导培养基是 MS+2, 4-D 1.5~2.0 mg/L, 西伯利亚百合是 2, 4-D 1.0~1.5 mg/L; 两种百合的最佳继代培养基均为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 最佳生根培养基均为 1/2MS+NAA 0.2 mg/L、1/2MS+IBA 0.2 mg/L。以百合鳞茎片为受体系统而筛选转化植物时, 卡那霉素最佳质量浓度为 150 mg/L。本研究确定了两种百合的离体再生体系的技术参数, 诱导培养开始 7 d 为暗培养, 诱导培养基中培养 60~90 d 后, 分割芽丛或新形成的小鳞茎片后接入继代培养基中继代 45 d, 再生根培养 40~50 d, 当芽苗高度达 3 cm 且新形成鳞茎球直径达 3 mm 时, 炼苗 7 d, 然后移至基质 (沙: 花肥: 椰糠为 1:1:1) 生长 15 d 后移入花盆或大田中生长。本研究结果可为东方百合品种球工厂化生产及遗传转化再生体系提供充实理论依据。

#### 参考文献 (References):

- [1] 黄惠英. 东方百合的离体培养[J]. 甘肃农业大学学报, 2000(4): 450-453, 464. doi:10.13432/j.cnki.jgsau.2000.4.016.  
HUANG H Y. Culture of lily *in vitro* [J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2000(4): 450-453, 464. doi:10.13432/j.cnki.jgsau.2000.4.016.

- [2] 周春华, 尤超, 陈凝华. 百合组织培养研究进展[J]. 北方园艺, 2013(14): 193-195.  
ZHOU C H, YOU C, CHEN N H. Research advances on tissue culture of *Lilium brownie* [J]. *Northern Horticulture*. 2013(14):193-195.
- [3] 宛淑艳, 柳美红. 铁炮百合快速繁殖技术研究[J]. 广东农业科学, 2013, 40(23): 31-34. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2013.23.009.  
WAN S Y, LIU M H. Study on the rapid propagation of *Lilium formolongi* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*. 2013, 40(23):31-34. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2013.23.009.
- [4] 常琳, 杜方, 王丽婷, 李兴桃, 张鲜艳, 樊俊苗. 金石和伯爵百合鳞茎诱导及膨大研究[J]. 山西农业科学, 2018, 46(8): 1279-1281, 1370.  
CHANG L, DU F, WANG L T, LI X T, ZHANG X Y, FAN J M. Study on bulblet induction and enlargement of Golden Stone and Album Lily [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2018, 46(8):1279-1281, 1370.
- [5] 李彪, 莫鸿伟, 卜顺法, 汤桂钧, 黄雪龙. 百合优质种球的无性繁殖技术研究[J]. 上海农业科技, 2018(5): 93-94.  
LI B, MO X W, BU S F, TANG G J, HUANG X L. Study on asexual propagation technology of Lily high quality germ balls [J]. *Shanghai Agricultural Science and Technology*, 2018(5):93-94.
- [6] 王丽婷. 百合组培苗鳞茎诱导及膨大研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2017.  
WANG L T. Study on bulb induction and expansion of Lily by tissue culture [D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2017.
- [7] 仇硕, 唐凤鸾, 夏科, 李秀娟, 赵志国, 蒋庆鸿, 赵健. 龙牙百合增殖培养及鳞茎生长发育研究[J]. 广东农业科学, 2017, 44(4): 61-66. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2017.04.010.  
CHOU S, TANG F L, XIA K, LI X J, ZHAO Z G, JIANG Q H, ZHAO J. Propagation culture and bulbs development of *Lilium brownii* var. *viridulum* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, 44(4):61-66. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2017.04.010.
- [8] 王雅楠, 薛莉, 雷家军. 新疆百合鳞片离体培养研究[J]. 东北农业大学学报, 2017, 48(4): 30-35. doi:10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2017.04.005  
WANG Y L, XUE L, LEI J J. Study on culture *in vitro* of scales in *Lilium martagon* var. *pilosiusculum* [J]. *Journal of North-east Agricultural University*, 2017, 48(4): 30-35. doi:10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2017.04.005.
- [9] 吴昀. 基于离体模式体系的百合小鳞茎发生发育机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.  
WU Y. The mechanisms of Lily bulblet initiation and development based on the *in vitro* model system [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016.
- [10] 于雪, 张铭芳, 封紫, 袁晓娜, 贾桂霞. 6个东方百合品种的染色体核型分析[J]. 广东农业科学, 2012, 39(10): 137-140, 144. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2012.10.041.  
YU X, ZHANG M F, FENG Z, YUAN X N, JIA G X. Karyotype analysis on 6 cultivars of Oriental Lilies [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(10):137-140, 144. doi: 10.3969/j.issn.1004-874X.2012.10.041.
- [11] 郑洁, 王有国, 崔光芬, 王祥宁, 蒋亚莲, 马璐琳, 段青, 杜文文, 贾文杰. 东方百合可育品种及其不育突变体花药形成的细胞学观察[J]. 西南农业学报, 2015, 28(3): 1246-1250. doi: 10.16213/j.cnki.scjas.2015.03.061.  
ZHENG J, WANG Y G, CUI G F, WANG X N, JIANG T L, MA L L, DUAN Q, DU W W, JIA W J. Cytological observation of anther formation of *Lilium* 'Oriental Hybrids' normal line and male sterile mutant line [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*. 2015, 28(3):1246-1250. doi: 10.16213/j.cnki.scjas.2015.03.061
- [12] 朱庆松, 徐函兵, 刘秀青. 东方百合索邦高效再生体系的建立[J]. 现代园艺, 2018(15): 7-10. doi: 10.14051/j.cnki.xdyy.2018.15.003.  
ZHU Q S, XU H B, LIU X Q. Establishment of Sorbonne regeneration system of Oriental Lily [J]. *Xiandai Horticulture*, 2018(15):7-10. doi:10.14051/j.cnki.xdyy.2018.15.003.
- [13] 龙彬, 廖晓珊, 郑思乡, 龚建华, 邓雅文. 株洲红东方百合种球繁育技术[J]. 湖南农业科学, 2018(7): 5-7. doi: 10.16498/j.cnki.hnnykx.2018.07.002.  
LONG B, LIAO X S, ZHENG S X, GONG J H, DENG Y W. Breeding technology of Oriental Lily of Zhuzhou Red [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2018(7):5-7. doi:10.16498/j.cnki.hnnykx.2018.07.002.
- [14] 农艳丰, 杨美纯, 宁云芬, 周珊. 东方百合“甜梦”花器官组织培养再生植株研究[J]. 农业研究与应用, 2016(1): 1-6.  
NOG Y F, YANG M C, NIGN Y F, ZHOU S. Study on tissue culture and regeneration of floral organ of Oriental *Lilium* "Sweet dreams" [J]. *Agricultural Research and Application*, 2016(1):1-6.
- [15] 梁芳, 蒋素华, 崔波, 李霞. 两种东方系百合组织培养快繁技术[J]. 河南科学, 2017, 35(2): 209-213.  
LIANG F, JIANG S H, CUI B, LI X. Tissue culture and rapid propagation of two *Lilium* Oriental Hybrid [J]. *Henan Science*, 2017, 35(2):209-213.
- [16] 闫海霞, 蒋月喜, 邓杰玲, 黄昌艳, 王晓国, 何荆洲, 卜朝阳. 3种东方百合离体培养[J]. 南方农业学报, 2016, 47(6): 889-894. doi:10.3969/j.issn.2095-1191.2016.06.889.  
YAN H X, JIANG Y X, DENG J L, HUANG C Y, WANG X G, HE J Z, PU Z Y. *In vitro* culture for 3 varieties of Oriental Lily [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(6):889-894. doi: 10.3969/j.issn.2095-1191.2016.06.889.
- [17] 辛轶. 东方百合‘贝尼尼’体细胞胚的诱导及蓝色基因遗传转化的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.  
XIN T. Studies on somatic embryogenesis and genetic transformation with blue gene of oriental Lily 'BERNINI' [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2012.
- [18] 崔祺. 花青素合成调节基因 Bi/C1 转化东方百合‘索邦’的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.  
CUI Q. Transformation of *Lilium* Oriental Hybrid 'Sorbonne' with anthocyanin regulatory gene Bi/C1 [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2014.
- [19] 马惠, 郭扶兴, 周俊彦, 罗新谈. 百合叶片愈伤组织的诱导和植株再生[J]. 植物生理学报, 1992(4): 284.  
MA H, GUO F X, ZHOU J Y, LUO X T. Callus induction and plant regeneration in young leaves of *Lilium concolor* [J]. *Plant Physiology Communications*, 1992(4):284.
- [20] 余桂红, 马鸿翔, 周森平, 黄益洪, 陆维忠. 百合农杆菌介导的遗传转化受体系统的建立[J]. 江西农业学报, 2004(2): 15-19. doi:10.19386/j.cnki.jxnyxb.2004.02.004.  
YU G H, MA H X, ZHOU M P, HUANG Y H, LU W Z. Establishment of acceptor system of agrobacterium-mediated transformation of Lily [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2004(2):15-19. doi:10.19386/j.cnki.jxnyxb.2004.02.004.
- [21] 唐东芹, 钱虹妹, 黄丹枫, 唐克轩. 百合基因转化直接分化受体系统的建立[J]. 江苏农业科学, 2003(3): 48-51. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2003.03.019.  
TANG D Q, QIAN H M, HUANG D F, TANG K X. Establishment of direct differentiation receptor system for Lily gene transformation [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2003(3):48-51. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2003.03.019.