北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

# ‘回归’百合组织培养再生体系的建立

姜婧瑶 吕博妍 骆远方 高雪 贾桂霞

# Establishment of tissue culture and regeneration system for *Lilium* ‘Regression’

Jiang Jingyao, L ü Boyan, Luo Yuanfang, Gao Xue, Jia Guixia

引用本文:
姜婧瑶, 吕博妍, 骆远方, 高雪, 贾桂霞. ‘回归’百合组织培养再生体系的建立[J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(6):123–129. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250078
Jiang Jingyao, L ü Boyan, Luo Yuanfang, Gao Xue, Jia Guixia. Establishment of tissue culture and regeneration system for *Lilium* ‘Regression’[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(6):123–129. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250078

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250078

---

**您可能感兴趣的其他文章**
**Articles you may be interested in**

马尾松优良种源高效组培育苗技术体系构建
Establishment of an effective protocol for cultivation of tissue cultured seedlings in *Pinus massoniana* superior provenance
北京林业大学学报, 2020, 42(6): 43–51. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20190396

杂种枫香组织培养再生研究
Tissue culture regeneration of hybrid *Liquidambar styraciflua* × *L. formosana*
北京林业大学学报, 2018, 40(8): 42–49. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20170443

高产优质毛白杨良种组培繁育体系构建
Construction of tissue culture breeding system of high yield and quality species in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2019, 41(7): 121–127. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20180428

杉木体细胞胚胎发生胚性愈伤组织诱导条件的优化
Optimization of induction conditions for embryogenic callus of somatic embryogenesis in *Cunninghamia lanceolata*
北京林业大学学报, 2020, 42(2): 79–86. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20190196

气动生物反应器油松胚性愈伤增殖体系的建立研究
Enhancement of embryogenic callus proliferation in Chinese pine (*Pinus tabuliformis*) by airlift bioreactor
北京林业大学学报, 2019, 41(11): 37–43. https://doi.org/10.13332/j.1000–1522.20190221

杂交枫香胚性愈伤组织遗传转化体系研究
*Agrobacterium tumefaciens*–mediated transformation of hybrid sweetgum embryogenic callus
北京林业大学学报, 2021, 43(8): 9–17. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210032

DOI:10.12171/j.1000−1522.20250078

# ‘回归’百合组织培养再生体系的建立

姜婧瑶　吕博妍　骆远方　高　雪　贾桂霞
（北京林业大学园林学院，花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室，国家花卉工程技术研究中心，城乡生态环境北京实验室，林木花卉遗传育种教育部重点实验室，北京 100083）

**摘要:【目的】**‘回归’百合具有极高的经济价值和观赏价值，建立其高效的组织培养体系至关重要。本研究旨在结合鳞片的高效性和叶片的可持续性优势，构建‘回归’百合愈伤组织途径的再生体系，为其遗传转化和新品种选育提供技术支撑。**【方法】**以百合‘回归’鳞片和叶片为外植体，筛选最适的愈伤组织诱导培养基；探究不同 6-BA 浓度对不定芽分化的影响，不同蔗糖浓度对小鳞茎膨大的影响，不同活性炭浓度对生根的影响，并开展组培苗移栽试验。**【结果】**(1)适宜‘回归’百合鳞片的愈伤组织诱导培养基为 MS＋1.0 mg/L PIC＋0.5 mg/L TDZ，诱导率为(60.98 ± 13.90)%，愈伤组织面积达(0.62 ± 0.23)$cm^2$；适宜‘回归’百合叶片的愈伤组织诱导培养基为 MS + 2.0 mg/L PIC + 0.2 mg/L TDZ，诱导率为(36.83 ± 1.89)%，愈伤组织面积为(0.34 ± 0.08)$cm^2$。不同外植体间愈伤组织形成与发育存在差异，鳞片外植体诱导愈伤组织的效果更好。(2)含有 1.0 mg/L 6-BA 与 0.2 mg/L NAA 的 MS 培养基对愈伤组织不定芽分化具有较优效果，其愈伤分化率为 100%，芽再生系数为 8.20 ± 0.60。(3)在 MS 培养基中添加 90 g/L 蔗糖可促进小鳞茎质量增长；在根系发育阶段，含 2 g/L 活性炭和 0.2 mg/L NAA 的 MS 培养基为最适生根培养基，移栽成活率高达 96.00%。**【结论】**本研究成功构建‘回归’百合愈伤组织高效诱导和再生体系，实现了从愈伤组织诱导到成苗移栽的全周期优化，研究结果将为‘回归’百合遗传转化和新品种推广奠定基础。

**关键词：**百合；愈伤组织；植物生长调节剂；组织培养；植株再生
**中图分类号：**S682.2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1000−1522(2025)06−0123−07
**引文格式：**姜婧瑶，吕博妍，骆远方，等. ‘回归’百合组织培养再生体系的建立［J］. 北京林业大学学报，2025，47(6)：123−129. Jiang Jingyao, Lü Boyan, Luo Yuanfang, et al. Establishment of tissue culture and regeneration system for *Lilium* ‘Regression’[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(6): 123−129.

## Establishment of tissue culture and regeneration system for *Lilium* ‘Regression’

Jiang Jingyao　Lü Boyan　Luo Yuanfang　Gao Xue　Jia Guixia
(School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing Key Laboratory of Ornamental Plant Germplasm Innovation & Molecular Breeding, National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Beijing 100083, China)

**Abstract:** ［**Objective**］ The *Lilium* ‘Regression’ has extremely high economic and ornamental values. Establishing an efficient tissue culture system for it is of great importance. This study aims to integrate the high efficiency of scales and the sustainability of leaves to construct a regeneration system for *Lilium* ‘Regression’ via the callus tissue pathway, providing technical support for its genetic transformation and new variety breeding. ［**Method**］ Using scales and leaves of *Lilium* ‘Regression’ as explants, the optimal

**收稿日期:** 2025−03−06　**修回日期:** 2025−03−26
**基金项目:** 国家自然科学基金项目(32301657)，国家重点研发计划项目(2019YFD1000400)。
**第一作者:** 姜婧瑶。主要研究方向：花卉种质资源与遗传育种。Email: jingyaojiang@126.com　地址：100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学园林学院。
**责任作者:** 高雪，博士，讲师。主要研究方向：园林植物种质资源收集与育种。Email: gaoxue@bjfu.edu.cn　地址：同上。贾桂霞，教授。主要研究方向：花卉种质创新与育种。Email: gxjia@bjfu.edu.cn　地址：同上。
**本刊网址:** http://j.bjfu.edu.cn; http://journal.bjfu.edu.cn

callus induction medium was screened. The effects of different 6-BA concentrations on adventitious bud differentiation, different sucrose concentrations on bulblet swelling, different activated carbon concentrations on rooting were investigated, and tissue culture seedling transplantation experiments were carried out. [**Result**] (1) The suitable callus induction medium for scales of 'Regression' lily was MS + 1.0 mg/L PIC + 0.5 mg/L TDZ, with an induction rate of (60.98 ± 13.90)% and a callus area of (0.62 ± 0.23) $cm^2$. The suitable callus induction medium for leaves of 'Regression' lily was MS + 2.0 mg/L PIC + 0.2 mg/L TDZ, with an induction rate of (36.83 ± 1.89)% and a callus area of (0.34 ± 0.08) $cm^2$. There were differences in callus formation and development between different explants, among which the scale explants had better effects on callus induction. (2) The MS medium containing 1.0 mg/L 6-BA and 0.2 mg/L NAA had optimal effects on adventitious bud differentiation from callus, with a callus differentiation rate of 100% and a bud regeneration coefficient of 8.20 ± 0.60. Adding 90 g/L sucrose to the MS medium promoted the mass growth of bulblets. In root development stage, the MS medium containing 0.2 mg/L NAA and 2 g/L activated carbon was the optimal rooting medium, and the transplantation survival rate was as high as 96.00%. [**Conclusion**] This study successfully established an efficient induction and regeneration system for callus tissue of *Lilium*'Regression', achieving full-cycle optimization from callus induction to seedling transplantation. The research results will lay foundation for genetic transformation and new variety promotion of *Lilium*'Regression' .

**Key words:** lily; callus; plant growth regulators; tissue culture; plant regeneration

百合属(*Lilium*)是兼具观赏价值与经济价值的重要球根花卉，其种质创新和高效繁殖技术始终是产业焦点[1]。由北京林业大学以麝香百合(*L. longiflorum*)与台湾百合(*L. formosanum*)杂交选育而成的'回归'百合(*L.* 'Regression')，具有花大洁白、耐热性强等优良特性，且能在播种后一年内完成开花周期，显著区别于通常需 2～3 年完成生殖生长的常规百合品种，是攻克百合属植物繁殖周期长难题的理想研究材料。然而，传统的分球繁殖方式存在周期长、病毒积累导致代际退化等弊端[2−3]。因此，构建适配其特有生理特征的组织培养再生体系，对实现其产业化至关重要。

百合组织培养有多种途径，包括器官直接发生型[4]、器官间接发生型[5]、胚状体发生型[6]和原生质体途径[7]。在器官间接发生型途径中，接种材料首先脱分化形成愈伤组织，再分化出芽点，最终形成完整的小植株。虽然该途径比器官直接发生型耗时更长，但在其中间环节可以获得大量的愈伤组织，而愈伤组织是百合遗传转化的优质受体材料[8]。构建'回归'百合的愈伤组织再生体系，能借助其快速生长特性获取大量受体材料，对探究植物的生长发育和遗传变异规律以及开展遗传育种等相关研究具有重要意义。

目前，多个百合品种中已建立以鳞片为主导的外植体系统，但激素选择策略因基因型差异而有所不同。在生长素调控方面，亚洲百合(*L. mackliniae*)鳞片在 2.0 mg/L 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)条件下诱导愈伤组织效果最好[9]；而南川百合(*L. rosthornii*)鳞片在添加 0.5 mg/L picloram(PIC)和 1.0 mg/L NAA(1-naphthaleneacetic acid)的 MS(Murashige and Skoog)培养基上，愈伤组织诱导率可达 78.89%[10]。值得注意的是，PIC 诱导的愈伤组织在培养中表现出更稳定的形态特征，不会迅速分化为不定芽[11]。在细胞分裂素调控方面，卷丹百合(*L. lancifolium*)鳞片在 0.4 mg/L TDZ(Thidiazuron)和 0.2 mg/L NAA 的条件下，愈伤组织诱导率为 65.57%[12]；陈龙等[13]发现添加 TDZ 可使诱导出的愈伤组织显著增长。因此，本试验拟采用 PIC(0.5～2.0 mg/L)与 TDZ(0.2、0.5 mg/L)组合，参考南川百合 PIC-NAA 体系的高效性和卷丹百合 TDZ-NAA 体系的分化可控优势，探索'回归'百合愈伤组织诱导的最适培养基。

此外，尽管鳞片外植体再生效率较高，但其取材受限于鳞茎发育周期，且剥离操作易损伤组培苗。相比之下，无菌苗叶片具有取材方便、再生速度快、对母株伤害小等优势。野百合(*L. brownii*)的无菌苗叶片在添加 0.45 μmol/L 2,4-D 或 0.44 μmol/L 6-BA 的 MS 培养基中，愈伤组织诱导率为 3.68%[14]。尽管前人已证实无菌苗叶片可诱导出愈伤组织，但其诱导率还有待优化提高。因此，本研究选择'回归'百合鳞片与叶片为材料，构建愈伤组织途径的再生体系，旨在结合鳞片的高效性和叶片的可持续性优势，为遗传转化等研究提供材料，并为商业化种苗规模化生产引用提供重要参考。

# 1　材料与方法

## 1.1　植物材料

本试验分别以百合新品种‘回归’百合组培苗的鳞片和叶片为外植体材料，开展愈伤组织诱导研究。培养条件设置为(25 ± 1) ℃ 恒温条件，光周期采用 16 h 光照与 8 h 黑暗交替循环，光照强度设置为 36 μmol/($m^2$·s)。

## 1.2　研究方法

### 1.2.1　鳞片与叶片愈伤组织诱导

选取生长健壮的‘回归’百合组培苗，从其小鳞茎上切取基部叶片(1.0 cm)和鳞片(0.5 $cm^2$)作为外植体。愈伤诱导培养基采用 MS 基本培养基(蔗糖 30 g/L，琼脂 7 g/L)，试验设计为双因子全因子组合，其中 PIC 设置 4 个浓度梯度(0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L)，TDZ 设置 2 个浓度梯度(0.2、0.5 mg/L)，共 8 种处理组合。培养基 pH 值用 1 mol/L NaOH 调至 5.8，灭菌条件为 121 ℃ 高压灭菌 15 min。每个处理组设置 10 个重复样本，单瓶接种 5 个外植体，40 d 后计算愈伤组织诱导率(形成愈伤组织的外植体数与未受污染的外植体总数的百分比)。利用 ImageJ 软件(v1.53t)来获取愈伤组织的最大投影面，测量愈伤组织面积，重复 3 次后取平均值。观察并记录不同外植体在最适培养基条件下愈伤组织的形成与发育变化。

### 1.2.2　愈伤组织不定芽诱导

将诱导得到的愈伤组织切割成 1.0 cm × 1.0 cm 的块状，转接至 MS 分化培养基(30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂，pH 值为 5.8)，植物激素采用单因子完全随机设计，设置 6-BA 4 个等距浓度梯度(0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L)，配合添加固定浓度 0.2 mg/L 的 NAA，共 4 种处理组合。每个处理组设置 10 瓶重复，单瓶接种 3 块愈伤组织，培养 40 d 后计算愈伤分化率(产生不定芽的愈伤组织块数与无菌外植体总数的百分比)和芽再生系数(各处理组不定芽总数与该组愈伤组织块数比值)。观察并记录最适不定芽诱导培养基条件下愈伤组织的生长和分化现象。

### 1.2.3　小鳞茎膨大培养

当不定芽发育至株高 2 ~ 3 cm，具 3 ~ 4 片叶时，将其小鳞茎接种至含不同浓度(30、60、90 g/L)蔗糖的 MS 培养基中，黑暗条件下进行膨大培养。共设 3 个处理，每处理 10 瓶，每瓶 3 个小鳞茎。接种前记录小鳞茎鲜质量，培养 40 d 后更换培养基继续培养，80 d 后再次测定鲜质量，并计算小鳞茎膨大系数(培养终止时鲜质量与初始接种鲜质量的比值)。

### 1.2.4　再生苗生根培养

将不同膨大培养基中培养 80 d 的小鳞茎均分后，转接至含不同浓度(0、1、2 g/L)活性炭与 NAA (0.2 mg/L)的 MS 生根培养基中。共设 3 个处理，每组处理 10 瓶，单瓶接种 3 个小鳞茎。培养 40 d 后，测定生根率(具新生根系的小鳞茎数与接种小鳞茎总数的百分比)、根数和根长等根系发育参数。

### 1.2.5　组培苗移栽

生根培养 40 d 后，将组培苗置于室温炼苗 3 d，流水轻柔冲洗去除残留琼脂，修剪茎叶至鳞茎顶部。组培再生苗最终移栽至泥炭、蛭石与珍珠岩按体积比 1∶1∶1 配制的三元复合基质中，保持湿度 70% ~ 90%，温度约 20 ℃，35 d 后统计移栽成活率(成苗植株数与移植总株数的百分比)。

## 1.3　统计分析

使用 Excel 2020 软件进行数据处理，并用 SPSS 27.0 软件对各数据进行显著性和多重比较分析(Duncan 法)。文中涉及的百分比数据，先进行反正弦转换，再进行后续的数据分析。

# 2　结果与分析

## 2.1　不同外植体和培养基对愈伤组织诱导的影响

以鳞片为外植体的愈伤诱导效率大多高于叶片(表 1，表 2)。其中，在 A4 培养基(MS + 1.0 mg/L PIC + 0.5 mg/L TDZ)条件下鳞片愈伤组织诱导效率较高，为(60.98 ± 13.90)%，且在此条件下愈伤组织面积较大，为(0.62 ± 0.23) $cm^2$，因此认为 A4 培养基为诱导‘回归’百合鳞片愈伤组织的最适培养基(表 1)。而 A7 培养基(MS + 2.0 mg/L PIC + 0.2 mg/L TDZ)在叶片的愈伤组织诱导率和愈伤组织面积方面效果均较优(表 2)，为‘回归’百合叶片愈伤组织诱

**表 1　不同浓度 PIC 和 TDZ 组合处理对百合鳞片愈伤组织诱导的影响**

Tab. 1　Effects of different PIC and TDZ treatments on callus induction of bulb scales

| 培养基编号 | PIC/(mg·$L^{-1}$) | TDZ/(mg·$L^{-1}$) | 愈伤组织诱导率/% | 愈伤组织面积/$cm^2$ |
|---|---|---|---|---|
| A1 | 0.5 | 0.2 | 56.38 ± 3.79ab | 0.36 ± 0.11bc |
| A2 | | 0.5 | 63.91 ± 6.42a | 0.14 ± 0.02c |
| A3 | 1.0 | 0.2 | 52.16 ± 13.68ab | 0.48 ± 0.07ab |
| A4 | | 0.5 | 60.98 ± 13.90a | 0.62 ± 0.23a |
| A5 | 1.5 | 0.2 | 44.06 ± 1.47ab | 0.52 ± 0.09ab |
| A6 | | 0.5 | 42.02 ± 16.96b | 0.60 ± 0.10ab |
| A7 | 2.0 | 0.2 | 24.66 ± 2.83b | 0.40 ± 0.13ab |
| A8 | | 0.5 | 31.77 ± 1.46ab | 0.40 ± 0.10ab |

注：不同字母表示不同处理间存在显著差异($P < 0.05$)。下同。

**表 2 不同浓度 PIC 和 TDZ 组合处理对百合叶片愈伤组织诱导的影响**

Tab. 2 Effects of different concentrations of PIC and TDZ combined treatments on induction of callus tissue in lily leaves

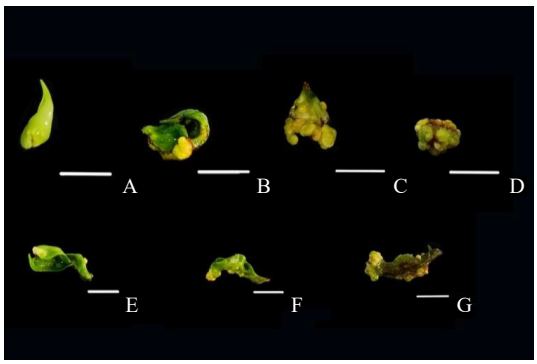
| 培养基编号 | PIC/(mg·L$^{-1}$) | TDZ/(mg·L$^{-1}$) | 愈伤组织诱导率/% | 愈伤组织面积/cm$^2$ |
|---|---|---|---|---|
| A1 | 0.5 | 0.2 | 23.79 ± 1.35de | 0.26 ± 0.04b |
| A2 | | 0.5 | 28.71 ± 3.15bcd | 0.50 ± 0.39ab |
| A3 | 1.0 | 0.2 | 20.17 ± 1.88e | 0.32 ± 0.12ab |
| A4 | | 0.5 | 29.86 ± 1.30bc | 0.73 ± 0.38a |
| A5 | 1.5 | 0.2 | 25.69 ± 1.86cd | 0.23 ± 0.12b |
| A6 | | 0.5 | 14.50 ± 1.19f | 0.28 ± 0.04b |
| A7 | 2.0 | 0.2 | 36.83 ± 1.89a | 0.34 ± 0.08ab |
| A8 | | 0.5 | 32.43 ± 2.56ab | 0.33 ± 0.05ab |

导最适培养基。

基于以上结果，观察鳞片和叶片在最适培养基条件下愈伤组织的形成与发育变化。叶片鳞片在 A4 培养基条件培养 8 d 后，切口下端开始膨大，呈现淡黄色半透明状(图 1A)；15 d 后切口处形成淡黄色愈伤组织(图 1B)，25 d 后逐渐覆盖切口(图 1C)，40 d 时明显增殖成簇状(图 1D)。与鳞片相比，叶片在 A7 培养基中愈伤组织诱导进程相对迟缓：培养 15 d 后叶柄上端出现膨大卷曲(图 1E)，25 d 时叶基部分化出多个浅黄色愈伤组织，主要集中于切口部位(图 1F)，40 d 时颜色逐渐由浅黄转为黄绿色(图 1G)。以上结果表明，不同外植体间愈伤组织形成与发育存在显著差异，相对于叶片，鳞片外植体的诱导愈伤组织的速度更快。

### 2.2 6-BA 浓度对不定芽再生的影响

在 0.5 mg/L 或 1.0 mg/L 6-BA 与 0.2 mg/L NAA 组合条件下，愈伤组织再生率均为 100%，考虑到 1.0 mg/L 6-BA 中芽再生系数更高(8.20 ± 0.60)，综合认为 B2 培养基(0.2 mg/L NAA＋1.0 mg/L 6-BA)为最适不定芽再生培养基(表 3)。在 B2 培养基中，愈伤组织转接 10 d 后，其表面持续分化新芽点(图 2C)；培养 15 d 时芽点逐渐发育为不定芽，此阶段新生芽点较少(图 2D)；25 d 后芽体颜色转亮绿，高约 1 cm(图 2E)；培养至 40 d 时芽体最高达 2 ~ 3 cm，并形成多片新叶，呈现小鳞茎雏形(图 2F)。




A ~ D 表示在 A4 培养基中鳞片分别培养 8 d、15 d、25 d、40 d；E ~ G 表示在 A7 培养基中叶片分别培养 15 d、25 d、40 d。标尺为 1 cm。

图 1 不同外植体在最适培养基中愈伤组织诱导

Fig. 1 Callus induction of different explants in optimal medium

### 2.3 蔗糖浓度对小鳞茎膨大的影响

90 g/L 高浓度蔗糖(C3)处理下(图 6C)，培养 40 d 后小鳞茎膨大系数为 3.53 ± 0.20，显著高于 30 g/L 低蔗糖浓度处理(C1)；培养 80 d 后，C3 培养基条件下小鳞茎膨大系数为 8.57 ± 0.80，显著高于 30 g/L 和 60 g/L 蔗糖处理(表 4)。以上结果表明，蔗糖对小鳞茎质量增长具有促进作用，且添加 90 g/L 蔗糖有利于小鳞茎的膨大培养(图 3)。

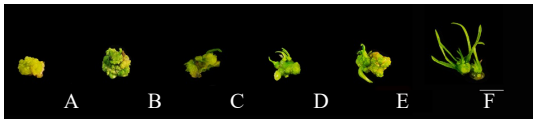
### 2.4 活性炭浓度对生根与移栽的影响

小鳞茎在不同生根培养基中均能形成根系，其中添加 2 g/L 活性炭的培养基(D3)在根数和根长方面均优于其他处理，根长尤其表现出显著优势，D3 中的植株生长健壮且根系密集(表 5，图 4)。

**表 3 不同浓度 6-BA 与 NAA 组合配比对百合愈伤组织分化的影响**

Tab. 3 Effects of combination ratios of different concentrations of 6-BA and NAA on callus differentiation

| 培养基编号 | NAA/(mg·L$^{-1}$) | 6-BA/(mg·L$^{-1}$) | 愈伤分化率/% | 芽再生系数 |
|---|---|---|---|---|
| B1 | 0.2 | 0.5 | 100.00 ± 0.00a | 7.06 ± 1.47ab |
| B2 | | 1.0 | 100.00 ± 0.00a | 8.20 ± 0.60a |
| B3 | | 1.5 | 95.47 ± 2.27a | 4.53 ± 0.18bc |
| B4 | | 2.0 | 81.93 ± 2.33b | 3.60 ± 0.12c |




A ~ F 表示在 B2 培养基中愈伤组织分化诱导 0 d、5 d、10 d、15 d、25 d 和 40 d。标尺为 1 cm。

图 2 百合愈伤组织在最适培养基中分化状态

Fig. 2 Differentiation status of lily callus tissue in the optimal culture medium

**表 4 蔗糖浓度梯度对百合离体小鳞茎形态建成的影响**

Tab. 4 Effects of sucrose concentration gradients on morphological construction of detached lily bulbs

| 培养基编号 | 蔗糖/(g·L$^{-1}$) | 40 d后膨大系数 | 80 d后膨大系数 |
|---|---|---|---|
| C1 | 30 | 2.77 ± 0.08b | 4.31 ± 0.40b |
| C2 | 60 | 3.03 ± 0.26ab | 5.58 ± 0.09b |
| C3 | 90 | 3.53 ± 0.20a | 8.57 ± 0.80a |




A～C 为不定芽在培养基 C1～C3 内膨大培养结果。标尺为 1 cm。

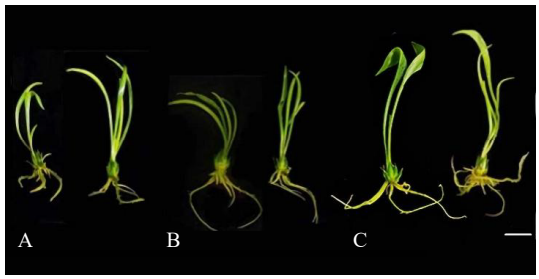
图 3　不同蔗糖浓度对小鳞茎膨大的影响

Fig. 3　Effects of different concentrations of sucrose on expansion of small bulbs

**表 5　活性炭添加对百合组培苗根系发育和移栽成活的影响**

Tab. 5　Effects of activated carbon addition on bulb rooting and survival of bulb transplanting

| 培养基编号 | 活性炭/(g·L$^{-1}$) | 根数 | 根长/cm | 移栽数量 | 成活率/% |
|---|---|---|---|---|---|
| D1 | 0 | 4.62 ± 0.17a | 3.39 ± 0.10b | 25 | 88.00 |
| D2 | 1 | 5.19 ± 0.39a | 3.55 ± 0.27b | 25 | 96.00 |
| D3 | 2 | 5.24 ± 0.21a | 4.15 ± 0.06a | 25 | 96.00 |




A～C 为小鳞茎在培养基 D1～D3 内生根培养结果。标尺为 1 cm。

图 4　不同浓度活性炭对百合生根的影响

Fig. 4　Effects of different activated carbon concentrations on lily rooting

将 D3 处理的组培苗移栽至泥炭、蛭石、珍珠岩(体积比为 1∶1∶1)基质中，培养 5～15 d 后基质表面萌发新绿叶(图 5A)；首片新叶出现约 5 d 后可见第 2 片叶(图 5B)；35 d 后仅少数叶片黄化萎蔫，且植株长势旺盛(图 5C)，移栽成活率达 96%(表 5)；二次分株移栽后仍能正常生长(图 5D、E)，表明其具备良好的栽培适应性。以上结果说明在生根培养基中添加 2 g/L 活性炭更有利于百合小鳞茎的生根培养和后期组培苗的移栽培养。

## 3　讨　　论

‘回归’百合因其独特的一年生开花特性，成为解决百合繁殖周期长难题和加速育种进程的优良新材料，兼具极高的观赏价值与经济价值。因而，建立适配其特性的高效组织培养再生体系至关重要。本研




A. 移栽 5 d 后；B. 移栽 10 d 后；C. 移栽 35 d 后；D. 累计移栽 45 d 后；E. 累计移栽 60 d 后。

图 5　百合组培苗移栽后的生长发育阶段特征

Fig. 5　Characteristics of growth and development stages of tissue-cultured seedlings after transplanting

究以‘回归’百合鳞片与叶片为实验材料，成功建立了基于愈伤组织的高效诱导和再生体系，实现了从愈伤组织诱导到成苗移栽的全周期优化。该体系不仅为‘回归’百合的遗传转化、生长发育机制解析提供了有力的材料支持，也为其新品种选育推广和产业化发展奠定了坚实基础。

### 3.1　外植体类型对愈伤组织形成的影响

百合属植物组织培养可利用鳞片、叶片、花丝和花瓣等多种外植体，外植体类型是诱导培养成功的关键因素[15]。尽管从理论上讲，植物的所有部位均可用于愈伤组织诱导，但不同组织器官在离体培养中存在显著差异，其选择策略需兼顾再生效率与产业化可行性[16]。本研究中，‘回归’百合的鳞片愈伤组织诱导率显著高于叶片，这与‘Tiger Wood’百合[17]中鳞片对 TDZ 更敏感的结果一致。尽管本试验中叶片的诱导效率相对较低，但其诱导率已显著高于野百合[14]，这表明以叶片为外植体进行愈伤组织诱导是可行的，且其产业化价值值得关注。一方面，取材自组培苗幼叶可避免因鳞片剥离导致的母株损伤(本试验中叶片取材后母株存活率为 100%)；另一方面，百合组培苗的叶片生长速度快于鳞片再生速度，利用叶片外植体可实现周年化生产。本研究结果为建立“鳞片－叶片”双外植体再生组培体系提供了重要依据。

### 3.2 植物生长调节剂的调控作用

植物生长调节剂的配比是组织培养体系构建的核心调控因子。与已报道的麝香百合(1.5 mg/L PIC + 0.2 mg/L NAA)[16]和宜昌百合(0.5 mg/L TDZ + 1.5 mg/L NAA + 0.2 mg/L 2,4-D)[18]的现有方案相比，本试验通过 PIC－TDZ 培养基在‘回归’百合中实现了鳞片和叶片的双途径愈伤组织诱导。结果表明，PIC－TDZ 体系不仅可高效诱导愈伤组织形成，且在培养过程中愈伤组织并未立即分化为不定芽，表明该体系兼具高效性与分化可控性。但该体系在其他百合品种中的普适性仍需进一步验证。在分化阶段，本研究发现，MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA 组合可使愈伤组织再生率达 100% 且芽再生系数高达 8.20 ± 0.60，优于高浓度(2.0 mg/L)6-BA 处理。这与梨(*Pyrus communis*)[19]、新几内亚凤仙(*Impatiens hawkeri*)[20]等植物中高浓度细胞分裂素抑制芽分化的结论相符，推测过量的 6-BA 可能通过激活细胞程序性死亡或干扰内源激素平衡来抑制器官发生。

### 3.3 不同浓度蔗糖和活性炭对百合再生体系建成的影响

蔗糖既是碳源也是渗透调节物质。本试验中，添加 90 g/L 蔗糖使 80 d 后小鳞茎膨大系数显著增加，这与‘宝兴’百合(*L. duchartrei*)[21]和东方百合(*L.* Oriental hybrid ‘Double surprise’)[22]研究结果一致。高浓度蔗糖通过提高培养基的渗透势，促进小鳞茎中贮藏物质的积累；然而，当蔗糖浓度超过临界值时，可能会导致细胞脱水或代谢紊乱[23]。本实验中未观察到褐化现象，说明‘回归’百合具有较强的渗透胁迫耐受性。

百合属植物根系的形态建成过程表现出典型的负向光性特征，前人研究[24]证实，活性炭的添加可模拟根系生长所需的避光需求。柯义强等[25]通过量化分析，确立 1/2 MS 培养基 + 0.5 mg/L NAA + 3 mg/L 6-BA + 2 g/L 活性炭组合为兰州百合的最佳生根体系。兰州百合作为二倍体野生种，其低营养需求特性使其更适合 1/2 MS 培养基。而‘回归’百合作为杂交种，其快速生长特性需要 MS 培养基提供更高的氮磷供给。因此，本试验选择 MS 作为基本培养基，结果显示，培养基中添加活性炭对“回归”百合品种的生根进程具有促进作用，并有助于提升移栽阶段的植株存活率。结合前人研究[25]推断，活性炭的吸附效应可有效降低培养基中内源抑制物质的浓度，进而优化离体生根效率。但需关注的是，活性炭对培养基成分的吸附作用并不具备选择性，过量添加活性炭可能导致生长调节物质与抑制成分被同步吸附，进而对生根过程产生负面影响。

## 4 结　　论

本研究针对百合属植物存在繁殖周期长、种质易退化等问题，为建立高效的组织培养体系，利用植物组织培养方法，开展了百合新品种‘回归’的愈伤组织诱导、再生及成苗移栽等研究。研究得到以下结论。

(1)明确了‘回归’百合鳞片和叶片的最适愈伤组织诱导条件。鳞片最适愈伤组织诱导培养基为 MS + 1.0 mg/L PIC + 0.5 mg/L TDZ，叶片最适愈伤组织诱导培养基为 MS + 2.0 mg/L PIC + 0.2 mg/L TDZ 。

(2)筛选出高效的愈伤组织再生培养基。MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA 培养基可使愈伤组织再生率达 100%，芽再生系数达 8.20 ± 0.60，提高了繁殖效率。

(3)优化了小鳞茎膨大及生根移栽条件。90 g/L 蔗糖可提升小鳞茎膨大系数，结合含 2 g/L 活性炭的生根培养基，使移栽成活率达 96%，实现了从愈伤组织诱导到成苗移栽的全周期优化。

研究结果将为解决百合属植物繁殖周期长、种质退化等问题提供关键技术支撑，也为其遗传转化及分子育种奠定实验基础。未来可进一步探索该组织培养体系在其他百合品种中的适用性，并结合分子生物学技术，加快百合优质种质创新与品种改良进程。

## 参 考 文 献


[1] 杜方. 百合属的起源、分类及资源多样性 [J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(4): 68−79.
Du F. Origin, classification and resource diversity of *Lilium*[J]. Journal of China Agricultural University, 2023, 28(4): 68−79.

[2] 徐蕴晨. 新铁炮百合童期向成年期转变形态变化与分子机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2023.
Xu Y C. The morphological change and molecular mechanism of vegetative phase change in *Lilium formolongi* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2023.

[3] Gong H, Dusengemungu L, Lü P, et al. Advancements in lily viruses management: challenges and solutions in elimination and detection[J]. Horticulturae, 2023, 9(7): 790.

[4] Mehbub H, Akter A, Akter M A, et al. Tissue culture in ornamentals: cultivation factors, propagation techniques, and its application[J]. Plants, 2022, 11(23): 3208.

[5] Akbary R, Golkar P. Elicitation of medicinally-valuable secondary metabolites, enzymatic, and antioxidant activity using chitin and yeast extract in callus cultures of *Ammi visnaga* L.[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2023, 154(3): 689−702.

[6] Avila-Victor C M, Ordaz-Chaparro V M, Arjona-Suárez E D J, et al. In vitro mass propagation of coffee plants (*Coffea arabica* L. var. *colombia*) through indirect somatic embryogenesis[J]. Plants,

2023, 12(6): 1237.

[7] Zaranek M, Pérez-Pérez R, Milewska-Hendel A, et al. Efficient and rapid system of plant regeneration via protoplast cultures of *Fagopyrum esculentum* Moench[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2023, 154(3): 673−687.

[8] 刘彬. 细叶百合 *LpNAC*6 基因抗逆功能分析及其遗传转化体系优化 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2021.
Liu B. Analysis of stress resistance function of *LpNAC*6 gene and optimization of genetic transformation system in *Lilium pumilum* [D]. Harbin: Harbin Northeast Forestry University, 2021.

[9] Sahoo M R, Devi M P, Dasgupta M, et al. An efficient protocol for in vitro regeneration and conservation of Shirui lily (*Lilium mackliniae* sealy): a lab-to-land approach to save the rare endangered Asiatic lily species[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2018, 54(6): 701−710.

[10] Fu Y Y, Liang X M, Zhang H, et al. Establishment of an efficient regeneration system and in vitro polyploid induction based on the bulblet centre in *Lilium rosthornii* Diels[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2024, 60(4): 508−522.

[11] 李岳. 巨球百合离体再生和遗传转化研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
Li Y. Studies on in vitro regeneration and genetictransformation of *Lilium brownii* var. *giganteum* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017.

[12] 刘彦珍, 郜新强, 张元臣, 等. 植物激素和光暗培养条件对卷丹百合再生体系的影响 [J]. 南方农业学报, 2021, 52(5): 1300−1309.
Liu Y Z, Gao X Q, Zhang Y C, et al. Effects of plant hormones and light or dark culture conditions on the regeneration system of *Lilium lancifolium* Thunb[J]. Journal of Southern Agriculture, 2021, 52(5): 1300−1309.

[13] 陈龙. 百合 (*Lilium*) 鳞茎薄层胚性愈伤组织诱导及再生植株遗传稳定性鉴定 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2013.
Chen L. Direct somatic embryogenesis from bublet thin cell layers of *Lilium* and assessment of genetic stability in regenerants by ISSR [D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2013.

[14] Wu Y, Ma Y D, Li Y, et al. Plantlet regeneration from primary callus cultures of *Lilium brownii* F. E. Br. ex Miellez var. *giganteum* G. Y. Li & Z. H. Chen, a rare bulbous germplasm[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2019, 55(1): 44−59.

[15] 刘娜. 两种百合体细胞胚高效再生与遗传转化体系优化 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.
Liu N. The high-efficiency generation of somatic embryos and optimization of genetic transformation system of two lily varieties [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2022.

[16] Yan R, Wang C X, Wang J X, et al. High-efficiency somatic embryogenesis techniques for different hybrids of cut lilies[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2020, 143(1): 145−157.

[17] 李雪艳, 严瑞, 张静, 等. 东方百合 Tiger Woods 离体快繁技术体系的建立 [J]. 沈阳农业大学学报, 2016, 47(6): 654−660.
Li X Y, Yan R, Zhang J, et al. Establishment of an in vitro rapid propagation system in oriental lily tiger woods[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2016, 47(6): 654−660.

[18] 张璐, 潘远智, 刘柿良, 等. 宜昌百合胚性愈伤组织诱导及植株再生体系的研究 [J]. 植物研究, 2019, 39(3): 338−346, 357.
Zhang L, Pan Y Z, Liu S L, et al. Embryonic callus induction and plant regeneration of *Lilium leucanthum*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2019, 39(3): 338−346, 357.

[19] Liu Q, Yang Y J, Liu J L, et al. Establishment of regeneration system of *Pyrus* and the genetic stability analysis of regenerated population[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2023, 152(1): 215−228.

[20] Zhang D, Wei J, Zhou M, et al. Efficient plant regeneration system for new guinea impatiens (*Impatiens hawkeri* W. Bull) CV. ‘Violet’ and ‘Scarlet Bronze Leaf’[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2022, 149(3): 549−561.

[21] 陈姝男. 宝兴百合组织培养和试管鳞茎膨大研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2018.
Chen S N. Study on tissue culture and development of tube bubls in *Lilium duchartrei* [D]. Ya’an: Sichuan Agricultural University, 2018.

[22] 孙红梅, 王锦霞, 段鑫, 等. 重瓣东方百合 Double surprise 离体快繁技术体系的建立 [J]. 沈阳农业大学学报, 2015, 46(4): 391−397.
Sun H M, Wang J X, Duan X, et al. Establishment of an in vitro rapid propagation system in oriental lily “Double surprise” [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2015, 46(4): 391−397.

[23] 王佳丽, 刘慧欣, 岳康杰, 等. 毛建草组培苗生根条件的优化 [J/OL]. 草业科学, 2025: 1−17. [2025−06−17]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/62.1069.s.20250114.0926.002.html.
Wang J L, Liu H X, Yue K J, et al. Optimization of rooting conditions for the tissue culture of *Dracocephalum rupestre* seedlings [J/OL]. Pratacultural Science, 2025: 1−17. [2025−06−17]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/62.1069.s.20250114.0926.002.html.

[24] 白瑞琴, 赵会敏, 吕美叶, 等. 利用响应面法优化食用百合不定芽诱导生根的研究 [J]. 内蒙古农业大学学报 (自然科学版), 2023, 44(4): 14−19.
Bai R Q, Zhao H M, Lü M Y, et al. Optimization of adventitious bud induction and rooting of edible lily by Box-Behnken response surface methodology[J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition), 2023, 44(4): 14−19.

[25] 柯义强, 郭鹏辉, 马洪鑫, 等. 兰州百合组培快繁体系的构建 [J]. 浙江农业学报, 2020, 32(6): 1000−1008.
Ke Y Q, Guo P H, Ma H X, et al. Rapid propagation system establishment of Lanzhou lily[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2020, 32(6): 1000−1008.

（责任编辑　赵田芸
责任编委　戴思兰）