

## 利用生物反应器进行香水百合培养研究

李玲莉<sup>1</sup>, 刘华敏<sup>1</sup>, 孔立生<sup>2</sup>, 韦冠吾<sup>1</sup>, 汤丽红<sup>1</sup>

(1. 重庆市风景园林科学研究院 城市园林绿化工程技术中心, 重庆 401329;

2. 维多利亚大学 森林生物学中心, 维多利亚市, 加拿大 V8W 3N5)

**摘要:**以香水百合的鳞片愈伤组织为试验对象进行生物反应器培养研究。结果表明:生物反应器在暗光条件下,气流量为  $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  时更有利于百合鳞片愈伤组织的正常生长,最佳诱导和增殖培养基为含有  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MS 培养基,最佳固体分化培养基为含有  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MS 培养基。相对于固体培养而言,生物反应器增加了小仔球的分化能力;避免不适气流量引起的组织褐化是影响培养物最佳生长发育的关键因子之一。

**关键词:**香水百合;生物反应器;液体培养

**中图分类号:**S682.265

**文献标志码:**A

**文章编号:**1001-7461(2014)01-0089-06

### Cultures of Perfume Lily *in vitro* with Airlift Bio-reactors

LI Ling-li<sup>1</sup>, LIU Hua-min<sup>1</sup>, KONG Li-sheng<sup>2</sup>, WEI Guan-wu<sup>1</sup>, TANG Li-hong<sup>1</sup>

(1. Urban Landscape Engineering Technology Research Center, Chongqing Landscape and Gardening Research Institute,

Chongqing 401329, China; 2. Centre for Forest Biology, University of Victoria, Victoria, BC, Canada V8W 3N5)

**Abstract:** Calli were induced from bulb scales of perfume lily, and then cultured in airlift bio-reactors. The best growth of calli was achieved with air supplement of  $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  air-flow for these bioreactors in darkness. The optimum medium for both callus induction and bulking up was liquid MS medium supplemented with  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA. Bulblets differentiated and grew after callus tissue was transferred onto semi-solid MS medium containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA and  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA. Compared with semi-solid culture, bulblet differentiation was enhanced significantly in airlift bioreactors. It was essential to avoid tissue browning by using optimum air-flow rates for the best growth and development of plant tissue in the bioreactor.

**Key words:** perfume lily; airlift bioreactor; liquid culture

百合(*Lilium brownii*)作为吉祥之花,素有百年好合之意而深受人们喜爱。香水百合为百合中的女王,因其香气宜人,更为鲜切花中之精品,送人之首选。目前,国内大量学者对香水百合的组织培养快速繁殖技术研究也取得了相当丰硕的成果,主要采用鳞叶<sup>[1-6]</sup>为外植体,在含有不同浓度植物生长调节剂的 MS 固体培养基中诱导产生再生植株。

生物反应器作为一种液体培养模式,广泛用于青霉素、动植物细胞、高等真菌、藻类等方面的规模化培养<sup>[7-8]</sup>,很少用于植物器官的培养。加拿大维多

利亚大学 L. S. Kong<sup>[9]</sup>等研发的生物反应器属于气泡式系统,除具有该系统的共同优点外,还具有可靠,易于操作安装,经济实用等特点。气泡式生物反应器已开始用于植物的体细胞胚胎再生,如美洲栗树(*Castanea dentata*)<sup>[9]</sup>,葡萄(*Vitis vinifera*)<sup>[10]</sup>和栓皮栎(*Quercus variabilis*)<sup>[11]</sup>。本研究引入该生物反应器对香水百合中木门(Conca D'or)和罗宾娜(Robina)2个品种进行液体增殖培养研究。并基于前期固体培养基的试验结果,进一步优化生物反应器的气流量、光培养条件、培养物的诱导

收稿日期:2013-06-20 修回日期:2013-09-13

基金项目:重庆市科学技术委员会国际科技合作计划项目“利用生物反应器进行百合脱毒快繁研究”;重庆市科技计划项目“科技平台与基地建设”(cstc2011pt-gc80019)。

作者简介:李玲莉,女,博士,高级园林工程师,研究方向:植物栽培及规模化育苗。E-mail:lingli009@163.com

与增殖等方面条件。以期建立香水百合的液体培养快繁体系,为香水百合的液体规模化繁育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以前期试验获得木门和罗宾娜的无菌材料为试验对象,主要为鳞片诱导产生的愈伤组织。

### 1.2 方法

试验以生物反应器培养和固体分化培养相对应的方式进行。以重约 0.5 g 的鳞片愈伤组织为试验对象,接入 500 mL 培养液的生物反应器中,分别在 20、40、100、200 mL·min<sup>-1</sup> 和 500 mL·min<sup>-1</sup> 气流量下进行气流量的筛选。在确定最佳气流量后,分别进行光培养条件(光培养或暗培养)、不同质量浓度 BA(0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>) 和 NAA(0、0.1、0.5 mg·L<sup>-1</sup>) 的筛选,以上所有试验中,液体培养基为蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>、pH 值 5.8 的 MS 培养基。液体培养试验结束后对成活培养物的平均净重和增重比进行记录,并将各处理的培养物整个接种于含有 BA 0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>, NAA 0、0.1、0.5 mg·L<sup>-1</sup>, 蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>、pH 值为 5.8 的 MS 固体分化培养基。3 个月后分别对固体分化培养基中各培养物的生长及分化表现进行观察。所有试验均重复 3 次。

### 1.3 培养条件

以上所有培养基均在 1.05 kg·cm<sup>-2</sup> 和 121 ℃ 的条件下,灭菌 20 min。培养物的光照时间为 16 h·d<sup>-1</sup>,光照强度为 50 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,温度为(24±2)℃。

### 1.4 数据处理与分析

试验采用 Excel 对数据进行处理,然后用 SPSS13.0 进行方差分析。试验中观察指标的计算公式为:

$$\text{增重比} = \frac{\text{培养结束后培养物的平均重量}}{\text{接入的愈伤组织平均重量}} \quad (1)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 气流量对培养物生长的影响

2.1.1 培养物在生物反应器中的生长表现 气流量对愈伤组织的生长影响较大,但未达到显著水平,各处理接入的愈伤组织重量均未达到显著性水平,其重量基本一致(表 1)。

愈伤组织在生物反应器中培养 28 d 后,培养物增重明显并有明显的器官化,培养物的重量未随气流量的增大而增加。当气流量为 40 mL·min<sup>-1</sup> 时,培养物的平均净重达到最大值(1.527 g),增重比为 3.15;当气流量为 20 mL·min<sup>-1</sup> 时,培养物的平均净

重为所有处理的最小值(0.459 g),增重比为 1.08;当气流量增大为 100、200 mL·min<sup>-1</sup> 和 500 mL·min<sup>-1</sup> 时,培养物的平均净重和增重比未表现出明显的规律性变化。结合方差分析发现,不同气流量对培养物的平均净重无显著差异(表 1)。

表 1 气流量对生物反应器中培养物生长的影响

Table 1 Effects of air-flow rates on plant tissue growth in airlift bioreactors

处 理	气流量/ (mL·min <sup>-1</sup> )	愈伤组织 平均重量/g	培养物 平均净重/g	增重比
1	20	0.425±0.085 a	0.459±0.142 a	1.08
2	40	0.485±0.035 a	1.527±0.990 a	3.15
3	100	0.447±0.027 a	1.013±0.083 a	2.27
4	200	0.666±0.024 a	1.119±0.351 a	1.68
5	500	0.486±0.024 a	1.125±0.055 a	2.31
显著性		p=0.068	p=0.652	

试验发现随着气流量的增大,生物反应器中的剩余培养液体积表现出明显的递减趋势,培养液的颜色由透明无色逐渐变为黄褐色。处理 1 中,培养物有芽和根的两极分化。其中芽表现为乳白色,并有多片叶的分化,结构紧实丰满;根表面有绒毛状黑色代谢产物覆盖,透过表面可见黄褐色的根表面。处理 2 中,培养物有明显的叶片和根分化,但未见芽的分化。处理 5 黄褐色的培养液中,培养物主要表现为叶的膨大生长,根分化不明显,未见芽的分化。

由此可见,虽然处理 1 中培养物的平均净重为各试验的最低值(0.459 g),但其新生组织具有较完整的分生组织和两极结构。

2.1.2 固体培养基中的分化表现 将各处理中的新生培养物接种于固体分化培养基中,结果表明生物反应器中不同处理下的培养物表现差异较大。

随着培养物的培养条件由弱光液体转为强光固体,培养物由乳白色转变为深绿色,在原有分化的基础上进一步分化出器官。培养 3 个月后,观察发现处理 1 中的所有培养物均分化出生长健壮的小仔球。原有的根进一步伸长生长形成具有根毛的黄褐色粗壮根,原有的叶片逐渐伸长生长为正常叶片,叶柄基部进一步分化出大量小仔球。其他处理中,培养物的体积随培养时间的延长而增大,并伴有大量愈伤化和玻璃化现象,有效器官分化数量极少。

结合生物反应器和固体分化培养基中的试验结果和试验观察,当生物反应器的气流量为 20 mL·min<sup>-1</sup> 时,能有效避免褐化对培养物的影响,分化出生长表现正常的无菌苗。

### 2.2 光条件对培养物生长的影响

2.2.1 培养物在生物反应器中的生长表现 不同光条件下,愈伤组织的初始接种重量未达到显著差

异,说明不同处理的愈伤组织的初始接入重量基本一致。愈伤组织在生物反应器中培养 28 d 后,不同光条件对培养物的平均净重无显著影响。暗培养条件下,培养物的平均净重约为 1.896 g,光培养条件下,培养物的平均净重约为 1.028 g,两者之间差异不显著(表 2)。

表 2 光条件对培养物生长的影响  
Table 2 Effects of light conditions on plant tissue growth in airlift bioreactors

处理	培养条件	愈伤组织	培养物	增重比
		平均重量/g	平均净重/g	
1	暗培养	0.379±0.064 a	1.896±0.322 a	4.999
2	光培养	0.421±0.071 a	1.028±0.934 a	2.439
显著性		<i>p</i> =0.683	<i>p</i> =0.362	

结合生长表现,发现暗培养条件更适合百合愈伤组织的生长。暗培养中培养物的颜色呈嫩绿色,叶柄表面光滑,伴有根的分化;光培养中培养物的玻璃化、愈伤化及褐化现象严重,颜色呈深绿色,极少有嫩黄绿色的愈伤组织出现,叶柄上有绒毛状突起,未见根的分化。

2.2.2 固体培养基中的分化表现 培养物接入固体培养基 3 个月后,观察发现在相同的固体培养条件下,不同光条件对培养物的后期生长表现起决定性作用。暗培养条件下的培养物已经分化出大量生长表现正常的小仔球,并伴有根和叶片的伸长生长。而且从培养物上切取的组织在固体培养基中,其伤口处均可膨大形成愈伤组织,并诱导产生大量小仔球;相对而言,光培养条件下培养物的生长表现与暗培养条件下相差甚远。仅表现为愈伤组织体积的增大,无器官和小仔球分化。

在愈伤组织的初始接种重量基本一致的前提下,暗培养条件下培养物的增重比为 4.999,约为光培养的 2 倍(表 2),并在固体分化培养基中分化出大量小仔球,可见暗培养条件下更适合百合愈伤组织的生长。

2.3 小仔球分化

培养物接种于含有不同浓度植物生长调节剂的固体培养基中,随着培养时间的延长,各处理中培养物的体积不断增大,愈伤化现象明显,并不断分化出小仔球。3 个月后,对其生长和分化情况进行记录。由表 3 知,所有处理中的培养物均有不同程度的玻璃化现象,小仔球的分化数量也表现出较大差异。随着 BA 浓度的增加,培养物和分化小仔球的玻璃化现象逐渐严重。当 BA 浓度为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物和分化小仔球的玻璃化现象极少;当 BA 浓度逐渐增大为 1.0 mg · L<sup>-1</sup>和 2.0 mg · L<sup>-1</sup>时,其玻璃化现象也逐渐严重。

表 3 含不同浓度植物生长调节剂的固体分化培养基对小仔球分化的影响

Table 3 Effects of semi-solid medium supplemented with plant growth regulators of different concentrations on bulblet differentiation

处理	BA/(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	玻璃化	小仔球数量
1	0.5	0.0	极少	少
2	0.5	0.1	极少	较多
3	0.5	0.5	极少	多
4	1.0	0.0	少	较多
5	1.0	0.1	少	较多
6	1.0	0.5	多	较多
7	2.0	0.0	多	少
8	2.0	0.1	多	少
9	2.0	0.5	多	较多

但是,小仔球的分化数量并未随 BA 和 NAA 的浓度变化有较明显的规律性。处理 3 中,当 BA 浓度和 NAA 浓度均为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>时,小仔球的分化数量最多,伴有宽大叶片和根的正常生长,且极少有玻璃化现象发生。其他处理中,培养物多表现为大量深绿色愈伤组织的生长,小仔球的分化数量相对较少。

2.4 培养物的诱导和增殖

2.4.1 不同浓度植物生长调节剂的培养液对培养物生长的影响 将鳞片愈伤组织接种于含有不同浓度 BA 和 NAA 的培养液中,3 个月后,对培养物的生长和分化情况进行观察,结果见表 4。根据极差 *R* 值判断,各处理中初始接入的鳞片愈伤组织重量基本一致;NAA 对培养物平均净重和增重比的影响大于 BA,表现为培养物平均净重极差 *R<sub>N</sub>* (30.525) > *R<sub>B</sub>* (26.842),增重比 *R<sub>N</sub>* (38.119) > *R<sub>B</sub>* (34.713)。

由表 4 可知,随着 BA 浓度的增加,培养物的平均净重和增重比表现出先增大后减小的趋势。当 BA 质量浓度为 1.0 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的平均净重达到最大值(49.804 g),增重比为 62.605;当 BA 质量浓度为 2.0 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的平均净重为 32.654 g,增重比为 33.976。可见,当 BA 质量浓度为 1.0 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的重量可获得最大值,BA 浓度大于或小于该值,均不利于培养物的生长。

随着 NAA 质量浓度的增加,培养物的平均净重表现出先增大后减小,净增比则表现为逐渐增加的趋势。当 NAA 质量浓度为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的平均净重为 42.763 g,增重比达到最大值(56.925);当 NAA 质量浓度为 0.1 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的平均净重达到最大值(46.591 g),净增比为 48.742。可见,NAA 质量浓度为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的生长可达最大值。

表 4 含不同浓度植物生长调节剂的培养液对培养物生长的影响

Table 4 Effects of types and concentrations of plant growth regulators on liquid cultures in bioreactors

处理	BA/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	NAA/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	愈伤组织 平均重量 /g	培养物 平均净重 /g	增重比
1	0.5	0.0	0.887	18.031	20.321
2	0.5	0.1	0.823	25.896	31.453
3	0.5	0.5	0.782	24.958	31.902
4	1.0	0.0	0.796	18.491	23.221
5	1.0	0.1	1.055	34.114	32.346
6	1.0	0.5	0.732	96.805	132.248
7	2.0	0.0	0.907	11.674	12.876
8	2.0	0.1	0.968	79.762	82.427
9	2.0	0.5	0.985	6.526	6.625
总和	BA	$K_1$	2.493	68.885	83.675
		$K_2$	2.583	149.411	187.814
		$K_3$	2.859	97.961	101.928
	NAA	$K_1$	2.590	48.197	56.417
		$K_2$	2.846	139.772	146.225
		$K_3$	2.499	128.289	170.775
平均	BA	$x_1$	0.831	22.962	27.892
		$x_2$	0.861	49.804	62.605
		$x_3$	0.953	32.654	33.976
	NAA	$x_1$	0.863	16.066	18.806
		$x_2$	0.949	46.591	48.742
		$x_3$	0.833	42.763	56.925
极差	BA	$R$	0.122	26.842	34.713
	NAA	$R$	0.115	30.525	38.119

综合分析,当 BA 质量浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 质量浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,培养物的平均净重可达到最大值。结合试验设计,该处理即正交处理中的处理 6,其培养物的平均净重为 96.805 g,增重比为 132.248,均为各处理中的最大值。

培养物的生长和分化表现随植物生长调节剂的浓度和配比有较大差异(图 1)。处理 1 中,培养物呈象牙白色,原有鳞片愈伤组织上分化出小仔球,小仔球具有完整的叶,叶表面光滑,鲜有大量愈伤组织分化;处理 3 中,培养物呈鲜绿色,原有鳞片愈伤组织上有新生叶的分化及生长,但随着培养时间的延长,新生叶愈伤化,叶表面产生大量嫩黄色愈伤组织;处理 5 中,培养物呈鲜绿色,原有鳞片愈伤组织上有新生叶的分化及伸长生长,叶表面有类似于须状组织产生,随着培养时间的延长,未进一步分化生长为小仔球;处理 9 中,培养物呈暗黄色,原有鳞片愈伤组织上有新生叶的分化及生长,但随着培养时间的延长,叶片逐渐愈伤化,形成结构紧凑、质地坚硬的愈伤组织。

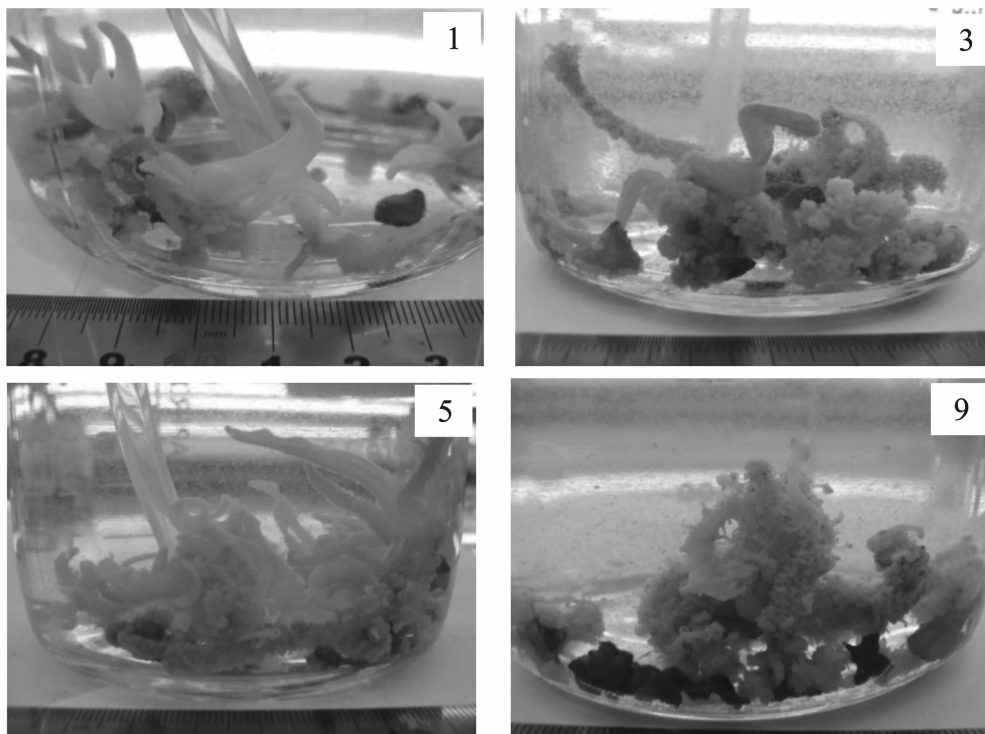


图 1 不同浓度植物生长调节剂培养液中培养物的生长及分化表现

Fig. 1 Tissue growth and differentiation in liquid media supplemented with plant growth regulators of different concentrations

2.4.2 固体培养基中的分化表现 将称重后的培养物接种于含有  $\text{BA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $\text{NAA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MS 固体分化培养基中(图 2),1 个月后,观察发现处理 1 中培养物上分化出大量生长健壮的小仔

球,且小仔球已分化出颜色深绿的新生叶,叶片生长正常;处理 3 中,培养物的愈伤组织大量生长,老愈伤组织呈深绿色或褐色,新生愈伤组织呈嫩绿色或黄绿色,但极少有小仔球分化。

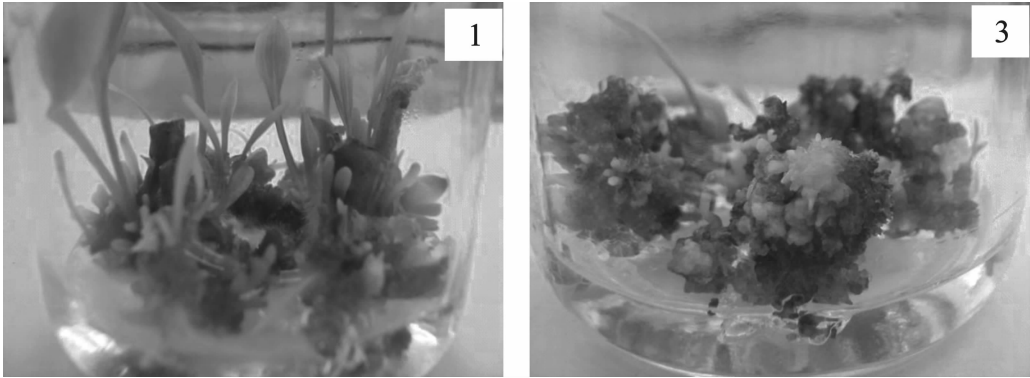


图 2 分化培养基中培养 1 个月时培养物的生长表现

Fig. 2 Tissue growth and differentiation cultures were kept in differentiation medium for one month

培养 3 个月后,各处理中培养物的生长表现见表 5 和图 3。处理 1 中,小仔球生长健壮,伸长生长明显,叶片长至瓶口处,长约 5 cm,根系发达;处理 3 中,愈伤组织呈黑绿色,小仔球非常瘦小,长势较弱,并伴有大量细小叶片的分化,叶片高不足培养瓶的 1/2,约 3 cm;处理 5 中,黑绿色愈伤组织大量生长,其上分化出非常细小的叶片,叶片长约 1 cm;处理 9 中,主要为深黑绿色愈伤组织的大量生长,偶有小仔球的分化,叶片长约 1 cm。

表 5 不同处理培养物在固体分化培养基中的生长情况

Table 5 Performance of in vitro cultures with various treatments in differentiation medium

处理	BA/(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	生长表现
1	0.5	0.0	生长健壮,叶片颜色油绿,长约 5 cm,小仔球分化数量非常多,分化出大量粗壮的不定根。
2	0.5	0.1	叶色较绿,叶片长约 4 cm,小仔球分化数量多,分化出较多细根。
3	0.5	0.5	叶色较绿,叶片长约 3 cm,小仔球分化数量较多,分化出较多细根。
4	1.0	0.0	叶色黄绿,叶片长约 3 cm,少有小仔球和不定根的分化。
5	1.0	0.1	叶色黄绿,叶片长约 1 cm,多为深绿色愈伤组织,少有小仔球和不定根的分化。
6	1.0	0.5	叶色黄绿,叶片长约 2.5 cm,分化出较少小仔球,无不定根。
7	2.0	0.0	叶色黄绿,叶片长约 1 cm,,极少有不定根分化。
8	2.0	0.1	叶色黄绿,叶片长约 1 cm,分化出较多小仔球,极少有不定根分化。
9	2.0	0.5	叶色黄绿,叶片长约 1 cm,多为深黑绿色愈伤组织,偶有小仔球和不定根分化。

总之,结合培养液和固体分化培养基中的生长表现,当培养液中 BA 质量浓度为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>时,培养物的增殖速度虽然较慢,但在后期固体分化培养中可高效分化产生大量生长健壮的小仔球。因此,BA 质量浓度为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>作为培养物诱导和增殖的最佳培养基。

3 结论与讨论

百合鳞片愈伤组织在生物反应器中的最佳气流量为 20 mL · min<sup>-1</sup>。暗条件下有利于培养物的正常生长。最佳固体分化培养基为含有 BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>和 NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>的 MS 培养基。培养物的最佳诱导和增殖培养基为含有 BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>的 MS 培养基。

相对于固体培养而言,利用生物反应器进行百合培养增加了小仔球分化的部位,即无需从仔球剥离的叶柄基部和叶片顶端组织。在固体培养基中,叶柄如未从仔球剥离,经诱导培养后,其基部很难分化出小仔球;叶片顶端组织在诱导培养基中很难成

活,亦无诱导愈伤组织和小仔球的可能。然而在生物反应器中,叶柄基部(无需从母体切离)和叶片顶端组织经诱导培养后,均可在固体分化培养基中分化出生长正常的小仔球。

目前,学者多致力于固体培养基中,植物生长调节剂的浓度、种类等因素对百合组织培养的影响<sup>[12-14]</sup>。然而在生物反应器中,除了植物生长调节剂的影响外,气流量大小引起的褐化是决定培养物生长发育的关键因子。试验中发现,随着气流量的增大,加速了生物反应器中的水分蒸发,增加了培养液中的氧气含量,加剧了培养物的氧化。从而导致培养液中溶剂体积的逐渐减少和褐化颜色的明显加深,说明培养液中溶质和次生代谢物浓度的增加,从而加剧了培养物的生理胁迫,直接影响其新陈代谢途径和生长表现。

参考文献:

[1] 何家涛,王会. 百合离体培养与植株再生体系的建立[J]. 江西农业学报, 2007, 19(4): 30-32.

- HE J T, WANG H. Isolated cultured and establishment of plantlet regeneration system of *Lilium* spp [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2007, 19(4): 30-32. (in Chinese)
- [2] 苏琛. 香水百合再生体系的建立[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(7): 3906-3907, 3911.
- SU C. Establishment of the regeneration system from stem of *Lilium* spp [J]. Journal of Anhui Agri. Sci., 2012, 40(7): 3906-3907, 3911. (in Chinese)
- [3] 潘佑找, 陈香丽, 胡琼, 等. 香水百合的组织培养技术研究[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(17): 46, 95.
- [4] 李冰华, 金晓玲, 刘雪梅. 香水百合鳞片组织培养再生体系的建立[J]. 江苏农业科学, 2008(4): 83-85.
- [5] 阮少宁, 杨华, 梁一池, 等. 香水百合组织培养的试验研究[J]. 福建林学院学报, 2001, 21(2): 142-145.
- RUAN S N, YANG H, LIANG L C, et al. Study on tissue culture of lily [J]. Journal of Fujian College of Forestry, 2001, 21(2): 142-145. (in Chinese)
- [6] 徐小玉, 张凤银. 两个百合品种鳞茎诱导正交试验[J]. 北方园艺, 2010(2): 163-165.
- XU X Y, ZHANG F Y. Orthogonal design on bulb induction of two lily varieties [J]. Northern Horticulture, 2010(2): 163-165. (in Chinese)
- [7] 唐江伟, 吴振强. 新型生物反应器结构研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27(5): 146-152.
- TANG J W, WU Z Q. Advances in bioreactor structure innovation and related studies [J]. China Biotechnology, 2007, 27(5): 146-152. (in Chinese)
- [8] 凌华, 黄惠琴, 鲍时翔. 植物生物反应器研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2002, 22(5): 21-26.
- LING H, HUANG H Q, BAO S X. Progress in transgenic plant as bioreactor [J]. Journal of Chinese Biotechnology, 2002, 22(5): 21-26. (in Chinese)
- [9] KONG L, TULL R, HOLTZ C T, et al. Application of airlift bioreactors for highly efficient genetic transformation of *American chestnut* [C]// NELSON C D. Proceedings of the 31st Southern Forest Tree Improvement Conference. Biloxi, MS, 2011: 102.
- [10] TAPIA E, SEQUEIDA A, CASTRO A, et al. Development of grapevine somatic embryogenesis using an air-lift bioreactor as an efficient tool in the generation of transgenic plants [J]. J. Biotechnol, 2009, 139: 95-101.
- [11] JIM NEZ J A, ALONSO B L, ZQUEZ N L, et al. Influence of culture vessel characteristics and agitation rate on gaseous exchange, hydrodynamic stress, and growth of embryogenic cork oak (*Quercus suber* L.) cultures [J]. In vitro Cell Dev. Biol. - Plant, 2011, 47: 578-588.
- [12] 付文奇, 杜双田, 陈建科, 等. NAA 和 2, 4-D 对东方百合组织培养的影响 [J]. 西北林学院学报, 2008, 23(2): 83-86.
- FU W Q, DU S T, CHEN J K, et al. Effects of NAA and 2, 4-D on oriental lily scale and leaflet culture [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(2): 83-86. (in Chinese)
- [13] 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.
- GUO M, LIU Y L, WANG Y J, et al. In vitro plantlet rooting and transplanting of *Lilium asiatic* hybrid [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2010, 25(2): 76-79. (in Chinese)
- [14] 侯娜, 郭军战, 王港, 等. 东方百合 (*Lilium oriental*) 组织培养研究 [J]. 西北林学院学报, 2008, 23(3): 120-122.
- HOU N, GUO J Z, WANG G, et al. Tissue culture of *Lilium oriental* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(2): 120-122. (in Chinese)

(上接第 88 页)

- [12] 杨先泉, 姚丽君, 倪苏. TDZ 对非洲紫罗兰叶外植体细胞胚发生的效应 [J]. 西南农业学报, 2010, 23(6): 2030-2033.
- YANG X Q, YAO L J, NI S. Effect of thidiazuron on somatic embryogenesis of African violets leaf explants [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010, 23(6): 2030-2033. (in Chinese)
- [13] 任继文, 雷颖. 金丝桃组织培养再生体系的建立 [J]. 西北林学院学报, 2010, 25(3): 90-92.
- REN J W, LEI Y. Establishment of tissue culture regeneration system of *Hypericum monogynum* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2010, 25(3): 90-92. (in Chinese)
- [14] 刘丹. 农杆菌介导 ASACC 基因转化苹果的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2004, 23-24.
- [15] 周俊彦, 郭扶兴. 苯基脲衍生物的细胞分裂素活性 [J]. 植物生理学通讯, 1990(4): 7-13.
- ZHOU J Y, GUO F X. Cytokinin activity of phenylurea derivatives [J]. Plant Physiology Communication, 1990(4): 7-13 (in Chinese)
- [16] 徐晓峰, 黄学林. TDZ: 一种有效的植物生长调节剂 [J]. 植物学通报, 2003, 20(2): 227-237.
- XU X F, HUANG X L. TDZ: An efficacious plant growth regulator [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2003, 20(2): 227-237. (in Chinese)