一种卷丹高效快繁体系的建立

赵春晓[1,#], 王春艳[1,#], 苏秀红[1,2,*], 尹素改[1,*], 董诚明[1,2]

[1]河南中医药大学, 郑州450046

[2]河南中医药大学呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 郑州450046

摘要: 以卷丹(*Lilium lancifolium*)鳞片为外植体, 研究鳞片不同部位诱导不定芽的能力及植物生长调节剂对卷丹不定芽增殖和生根的影响。结果表明: 卷丹中层下部的鳞片诱导不定芽能力最强, 诱导率为85%; 最适不定芽增殖培养基为MS+0.15 mg·L^{-1}噻苯隆(thifenolone, TDZ), 增殖倍数为6.45, 苗长势良好; 最适生根诱导培养基为1/2MS+0.1 mg·L^{-1}萘乙酸(naphthylacetic acid, NAA), 生根率为100%, 生根数达到8.1; 最佳移栽基质为营养土:园土:珍珠岩=1:1:1, 成活率为85%, 且长势好。

关键词: 卷丹; 组织培养; 不定芽; 增殖; 生根

卷丹(*Lilium lancifolium*)为百合科植物, 以干燥肉质鳞叶入药, 是2015版《中国药典》收载的药用百合之一, 具有养阴润肺, 清心安神的作用, 可治疗阴虚燥咳, 劳嗽咳血, 虚烦惊悸, 失眠多梦, 精神恍惚等症(中国药典委员会2015)。现代药理学研究表明, 卷丹鳞茎含有丰富的皂苷、多糖、生物碱及酚酸等, 具有增强机体免疫(Pan等2017)、抗抑郁(郭秋平2009)、抗肿瘤(李玲等2018; 艾庆燕等2015)、降血糖(Zhang等2014)等作用。此外, 卷丹还有较高的观赏和食用价值。

卷丹常规的繁育方法是将小鳞茎分株繁殖或单鳞片扦插(崔著明2019), 但长期无性繁殖易导致其繁殖力降低、感染病毒严重甚至品种退化, 致使卷丹产量不能满足其生产需求, 严重影响卷丹的质量和经济价值。利用组织培养建立卷丹快速繁殖体系可缩短卷丹繁育周期, 快速大批次生产组培苗, 保护卷丹野生资源, 获得优良品种, 以满足市场需求。近年来虽然有关卷丹组织培养技术的报道很多, 但目前尚未建立一个系统完整的快繁体系, 所得结论存在较大差异。本研究以卷丹鳞茎为实验材料, 对其再生过程进行了系统深入的研究, 以期为卷丹组织培养进一步积累数据资料。

1 材料与方法

1.1 供试材料

实验用卷丹(*Lilium lancifolium* Thunb.)鳞茎采自河南省栾川县, 经河南中医药大学苏秀红教授鉴定为卷丹。

1.2 方法

1.2.1 不同部位鳞片不定芽诱导

去除卷丹鳞茎最外层腐烂、褐化、带病斑的鳞片, 将鳞茎片由外到内依次按照如下原则进行划分: 鳞茎片最外的第1、2层作为外层, 依次向内的第3、4层作为中层, 其余肉质化的鳞片作为内层, 但位于中心的鳞茎片未完全展开, 剥离较为困难, 将之弃除。将分好的鳞茎片分别置于饱和肥皂水中浸泡30 min, 自来水冲洗3 h后在超净工作台上将鳞片置于体积分数为75%酒精中浸泡30 s, 无菌水冲洗3次。之后在质量分数为0.1%升汞溶液中浸泡10 min, 无菌水冲洗5次。用无菌滤纸将表面消好毒的鳞片上的水分吸干, 将鳞茎片分为上、中、下三个部分切割为0.5 cm×0.5 cm左右的方块。切好的鳞茎片分别接种到MS+2 mg·L^{-1} 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)+0.2 mg·L^{-1} NAA+30 g·L^{-1}蔗糖+6 g·L^{-1}琼脂的培养基上, 每3 d观察一次, 30 d后统计诱导率, 不定芽增殖数及污染情况。

1.2.2 不定芽继代增殖

6-BA与NAA结合对不定芽进行继代增殖: 选取长势一致且较好的不定芽, 以MS为基本培养基, 设置不同浓度6-BA (0.5~1.5 mg·L^{-1})与NAA (0.05~0.2 mg·L^{-1})共组成9个处理(培养基编号为B1~B9),

收稿 2019-07-30 修定 2019-10-25

资助 中央引导地方科技发展专项资助项目(2016)。

并列第一作者。

* 共同通讯作者: 苏秀红(suxiuhong80@163.com)、尹素改(yinsugai@163.com)。

探究6-BA与NAA对卷丹不定芽继代增殖的影响, 培养30 d后, 观察不定芽增殖情况。

TDZ对不定芽进行继代增殖: 选取长势一致且较好的不定芽, 以MS为基本培养基, 设置不同浓度TDZ (0~0.3 mg·L^{-1})共组成8个处理(培养基编号为C1~8), 探究TDZ对卷丹不定芽继代增殖的影响, 培养30 d后, 观察不定芽增殖情况。

1.2.3 生根诱导

添加活性炭(activated carbon, AC)诱导生根: 取长势一致, 高约为2~3 cm的不定芽, 以1/2MS为基础培养基, 设置不同浓度NAA (0.05~0.30 mg·L^{-1})、IBA (0.05~0.30 mg·L^{-1})分别添加1 g·L^{-1}活性炭, 共组成6个处理(培养基编号为D1~D6), 30 d后观察植株生根及生长情况, 统计生根数和生根率。

未添加活性炭诱导生根: 取长势一致, 高约为2~3 cm的不定芽, 以1/2MS为基础培养基, 设置不同浓度NAA (0~1 mg·L^{-1})、IBA (0~1 mg·L^{-1}), 共组成9个处理(培养基编号为E1~E9), 各处理均不添加活性炭, 30 d后观察植株生根及生长情况, 统计生根数和生根率。

以上各培养基均添加30 g·L^{-1}蔗糖, 6 g·L^{-1}琼脂粉, pH值调至5.8~6.0; 高温高压下灭菌20 min; 培养条件为温度(24±2)°C, 光照强度48~53 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 光照时间为14 h·d^{-1}。外植体的取材与接种均随机进行, 每瓶4个外植体, 5个重复。

1.2.4 驯化移栽

选取生根后长势较好的卷丹组培苗进行炼苗驯化, 具体步骤如下: 第1天, 将组培苗移至河南中医药大学温室中, 第2天, 解去封口绳, 但不打开封口膜, 炼苗2 d。之后取下封口膜继续驯化4 d; 最后, 用自来水洗净培苗根部的琼脂移栽到3种不同基质中(营养土:珍珠岩=1:1、园土:珍珠岩=1:1、营养土:园土:珍珠岩=1:1:1), 每种基质移栽20株。30 d后观察生长情况, 统计成活率。移栽温室温度为(24±2)°C, 湿度为(50±5)%。

1.3 数据统计分析

初代不定芽诱导率(%)=(诱导出不定芽外植体数/接种外植体数)×100;

外植体污染率(%)=(污染外植体数/接种外植体数)×100;

不定芽增殖倍数=增殖不定芽总数/接种外植体数;

生根率(%)=(生根的不定芽数/接种不定芽总数)×100;

生根数=生根总数/接种不定芽总数;

移栽成活率(%)=(移栽成活株数/移栽总数)×100。

采用Microsoft Excel 2003统计数据, SPSS 23.0软件进行方差分析和多重比较分析(Duncan's法)。

2 实验结果

2.1 不同部位鳞片对不定芽诱导的影响

由表1可知, 不同部位的卷丹鳞片均能诱导出不定芽。鳞茎片接入培养基3 d后其颜色由白变为紫, 而后转为绿色, 10 d左右在切口边缘出现白色米粒状凸起, 15~20 d凸起分化为不定芽(图1)。30 d后统计鳞片不定芽的诱导能力, 可知卷丹鳞茎片诱导能力: 中层>外层>内层; 若同层的鳞片则下部>中部>上部。综合比较发现, 中层下部的鳞片诱导率高(85%)、诱导不定芽多(8.4个), 苗长势健壮, 且污染率相对较低, 故中层下部为卷丹鳞茎片诱导不定芽的最佳部位(表1)。此外, 污染率最高的为外层鳞片、中层与内层污染率低。

2.2 植物生长调节剂种类及浓度对卷丹不定芽增殖的影响

2.2.1 6-BA与NAA对不定芽增殖的影响

由表2可知, 不同浓度6-BA和NAA组合对卷丹不定芽增殖效果不同, 当NAA浓度为0.05 mg·L^{-1}时, 随着6-BA浓度的升高, 不定芽增殖倍数呈上升趋势, 当6-BA浓度为1 mg·L^{-1}, 增殖倍数达到最大, 为1.95倍, 此时新增芽的长势较好, 叶大, 未出现叶片发黄和白化现象(表2)。但总体来看6-BA和NAA组合不定芽增殖率不高, 不定芽长势不佳(图2-A~D), 且当NAA浓度为0.2 mg·L^{-1}时, 卷丹不定芽出现白化现象(图2-E), 但随着6-BA浓度的增大, 白化现象减轻, 白化率由30%降为5%。由此可知, 白化现象与NAA浓度密切相关, 且与6-BA与NAA的比值有一定的关系。

2.2.2 不同浓度TDZ对不定芽增殖的影响

为了进一步探索更适于卷丹不定芽增殖的生

表1 不定芽诱导发生情况

Table 1 The situation of adventitious bud induction

编号	鳞片来源	诱导率/%	诱导不定芽数/个	污染率/%
A1	外层、上部	20.0±11.2^{d}	1.00±0.71^{de}	43.8±37.5^{a}
A2	外层、中部	65.0±28.5^{ab}	8.00±4.30^{abc}	0^{b}
A3	外层、下部	80.0±11.2^{a}	11.00±5.87^{a}	25.0±0.0^{a}
A4	中层、上部	25.0±17.7^{cd}	0.75±0.50^{e}	0^{b}
A5	中层、中部	55.0±37.1^{abc}	5.40±3.97^{bcde}	0^{b}
A6	中层、下部	85.0±13.7^{a}	8.40±2.88^{ab}	0^{b}
A7	内层、上部	37.5±32.3^{bcd}	3.00±2.65^{cde}	0^{b}
A8	内层、中部	60.0±22.4^{ab}	4.60±2.07^{bcde}	0^{b}
A9	内层、下部	75.0±17.7^{a}	6.00±2.55^{bcd}	0^{b}

表中数据为平均值±标准差, 同列数据后不同小写字母表示差异显著(P<0.0.5), 表2~5同此。

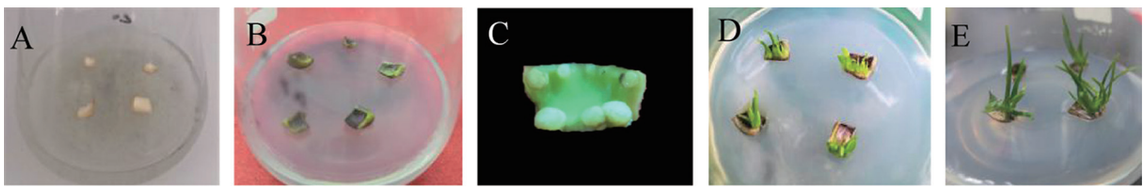

图1 鳞茎片诱导不定芽形成过程

Fig.1 The procedure of adventitious bud induction

A: 接种初期的鳞片(白色); B: 接种3~10 d后的鳞片(鳞片由白色变为紫色和绿色); C: 接种10 d左右切口边缘的白色米粒状凸起; D、E: 鳞片诱导出的不定芽。

表2 6-BA与NAA对不定芽增殖的影响

Table 2 Effects of 6-BA and NAA on adventitious bud proliferation

编号	6-BA/mg·L^{-1}	NAA/mg·L^{-1}	增殖倍数	生长状况
B1	0.5	0.05	1.55±0.48^{abc}	叶片窄, 略短, 叶绿
B2	1.0	0.05	1.95±0.60^{a}	叶片宽且长, 叶绿
B3	1.5	0.05	1.90±0.28^{a}	叶片宽且长, 叶绿
B4	0.5	0.10	1.75±0.40^{ab}	叶片窄, 略长, 发黄
B5	1.0	0.10	1.55±0.27^{abc}	叶片窄, 略短, 发黄
B6	1.5	0.10	1.90±0.45^{a}	叶片窄, 略长, 叶绿
B7	0.5	0.20	1.00±0.31^{c}	叶片窄且短, 发黄, 白化苗多
B8	1.0	0.20	1.20±0.54^{bc}	叶片窄且短, 发黄, 出现白化苗
B9	1.5	0.20	1.35±0.14^{abc}	叶片窄且短, 发黄, 出现少量白化苗

图2 6-BA与NAA不同配比对不定芽增殖的影响

Fig.2 Effects of 6-BA and NAA on adventitious bud proliferation

A: B2, 叶片绿, 健壮; B: B4, 增殖倍数低, 叶片发黄; C: B7, 不定芽矮小, 叶片黄; D: B9, 叶窄且短, 发黄; E: B7~B9, 增殖过程中出现的白化苗。

长调节剂种类及浓度, 本实验又选用不同浓度的TDZ进行不定芽的增殖诱导。由表3可知, 在一定范围内随着TDZ浓度的增加, 不定芽的增殖倍数增大, 当TDZ浓度为0.15 mg·L^{-1}时, 增殖倍数达到最大, 为6.45倍, 且新增不定芽长势好, 叶片多(图3-C)。但当TDZ浓度继续增加时, 不定芽增殖倍数出现下降的趋势, 浓度为0.3 mg·L^{-1}时, 出现白化现象。此外研究发现, 低浓度的TDZ诱导增殖的不定芽会出现生根现象, 说明低浓度的TDZ也有利于卷丹的生根。整体而言, 利用TDZ诱导卷丹不定芽增殖倍数较6-BA与NAA组合高, 芽长势好。

2.3 活性炭与植物生长调节剂对卷丹生根的影响

2.3.1 添加活性炭时IBA、NAA对卷丹不定芽生根的影响

由表4可知, 以1/2MS为基本培养基, 添加1 g·L^{-1}活性炭时IBA与NAA各组均能诱导卷丹不定芽生根, 生根率为25~35%。低浓度NAA诱导生根时, 根细长, 随着NAA浓度升高, 生根率降低, 根变短。IBA浓度为0.15 mg·L^{-1}生根率最高, 但仅为35%, 生根少, 根粗短。添加1 g·L^{-1}活性炭诱导生根, 生根率低, 不定芽出现了发黄和干枯的现象(图4-A和B)。

2.3.2 未添加活性炭时IBA、NAA对卷丹不定芽生根的影响

鉴于上述生根实验效果较差, 考虑到可能与活性炭有关, 故本实验将活性炭去除后进行了卷丹生根的研究。由表5可知, 去除活性炭后, 不同浓度的IBA、NAA对生根均有促进作用。其中, NAA诱导生根效果较好, 当NAA浓度为0.1 mg·L^{-1}时, 生根率为100%, 生根数较高为8.1, 根系发达, 长势较好, 随着NAA浓度的增加, 生根率没有显著的差异, 但生根少、根短及苗的长势较差。与NAA相反, IBA对卷丹的生根效果随着其浓度的增加而增加, 当IBA浓度为1 mg·L^{-1}时, 生根率为100%, 生根数为4.6, 根系发达, 长势较好(图5-C), 此时有利于后续卷丹组培苗的驯化移栽。

2.4 驯化移栽

炼苗的方法和移栽基质直接影响着组培苗的移栽成活率, 培养30 d后, 统计卷丹再生植株在3种不同基质(营养土:珍珠岩=1:1、园土:珍珠岩=

表3 不同浓度TDZ对不定芽增殖的影响

Table 3 Effects of different concentrations of TDZ on adventitious bud proliferation

编号	TDZ/mg·L^{-1}	增殖倍数	生长状况
C1	0	3.90±1.20^{b}	叶窄且短, 有生根
C2	0.01	3.86±1.08^{b}	叶窄, 略长, 生根较多
C3	0.05	3.21±0.87^{b}	叶宽且长, 生根少
C4	0.10	3.97±0.69^{b}	叶宽, 略短, 无生根
C5	0.15	6.45±0.30^{a}	叶宽且长, 无生根
C6	0.20	3.34±0.81^{b}	叶宽, 略长, 无生根
C7	0.25	4.37±0.92^{b}	叶宽且长, 无生根
C8	0.30	3.09±1.20^{b}	叶宽, 略长, 出现1枚白化现象, 无生根

图3 不同浓度TDZ对不定芽增殖的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of TDZ on adventitious bud proliferation

A: C1, 不定芽少, 叶窄且短; B: C4, 不定芽少, 叶宽, 略短; C: C5, 不定芽多, 叶宽且长, 长势好; D: C7, 不定芽略少, 叶宽且长。

表4 添加1 g·L^{-1} AC时植物生长调节剂对不定芽生根的影响

Table 4 Effects of plant growth regulator on rooting of adventitious buds with 1 g·L^{-1} AC

编号	NAA/mg·L^{-1}	IBA/mg·L^{-1}	AC/g·L^{-1}	生根率/%	生根数/条	生长状况
D1	0.05	0	1	30.0±27.3	1.2±1.1	根数少, 细长, 组培苗长势好
D2	0.15	0	1	25.0±17.7	1.0±0.7	根极少且短
D3	0.30	0	1	25.0±17.7	1.2±0.8	根少, 长
D4	0	0.05	1	25.0±20.4	1.0±0.8	根少, 短
D5	0	0.15	1	35.0±13.7	0.7±0.6	根极少, 短
D6	0	0.30	1	25.0±20.4	2.0±0.7	根多, 长

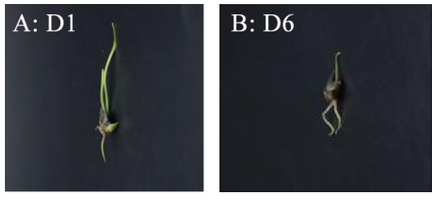

图4 添加1 g·L^{-1} AC时植物生长调节剂对不定芽生根的影响

Fig.4 Effects of plant growth regulator on rooting of adventitious buds with 1 g·L^{-1} AC

A: D1, 根少, 叶片伸长; B: D6, 根略多, 叶片未伸长。

1:1、营养土:园土:珍珠岩=1:1:1)中的成活率, 分别为55%、70%、85%。其中基质配比为营养土:园土:珍珠岩=1:1:1时, 卷丹再生植株叶片较大, 颜色较绿(图6-C)。

3 讨论

3.1 鳞茎不同部位对卷丹不定芽诱导的影响

在植物组织培养过程中, 外植体的选择十分重要, 不同的外植体对组织培养的成败起着至关

表5 未添加AC时植物生长调节剂对不定芽生根的影响

Table 5 Effects of plant growth regulator on rooting of adventitious buds without AC

编号	NAA/mg·L^{-1}	IBA/mg·L^{-1}	生根率/%	生根数/条	生长状况
E1	0	0	65.0±28.5^{b}	1.7±0.4^{cd}	组培苗长势较好, 根少, 较长, 细
E2	0.1	0	100.0^{a}	8.1±2.8^{a}	组培苗长势好, 根多, 略长, 健壮
E3	0.3	0	95.0±11.2^{a}	6.6±2.1^{ab}	组培苗长势好, 根多, 短, 成簇
E4	0.5	0	100.0^{a}	5.8±2.9^{ab}	组培苗长势一般, 根多, 短, 成簇
E5	1.0	0	95.0±11.2^{a}	3.8±0.7^{bc}	组培苗长势一般, 根略少, 极短, 成簇
E6	0	0.1	30.0±11.2^{c}	1.2±0.5^{c}	组培苗长势不好, 根少, 极短
E7	0	0.3	17.0±14.1^{c}	1.5±0.5^{c}	组培苗长势一般, 根少, 成簇
E8	0	0.5	95.0±11.2^{a}	5.3±3.4^{ab}	组培苗长势一般, 根多, 略长, 根系发达
E9	0	1.0	100.0^{a}	4.6±1.9^{b}	组培苗长势好, 根略多, 略长

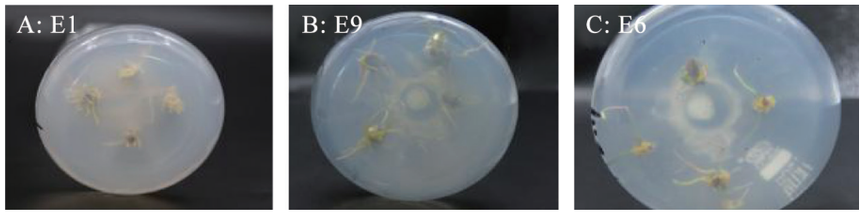

图5 未添加AC时植物生长调节剂对不定芽生根的影响

Fig.5 Effects of plant growth regulator on rooting of adventitious buds without AC

A: E1, 生根多, 较长; B: E9, 根长, 略多; C: E6, 根部膨大, 仅少数生长延长。

图6 不同基质对卷丹移栽成活率的影响

Fig.6 Effect of different substrates on survival rate of *Lilium lancifolium*

A: 叶黄, 苗长势不好(营养土:珍珠岩=1:1); B: 长势一般(园土:珍珠岩=1:1); C: 叶多, 长势好(营养土:园土:珍珠岩=1:1:1)。

重要的作用。卷丹以鳞片为外植体, 其诱导率中层>外层>内层, 下部>中部>上部, 最佳外植体为中层鳞片, 这与前人研究结果一致(杨利平等2013; 石印等2013)。此外, 在诱导过程中, 鳞片的污染率外层>中层和内层, 这可能由于外层鳞片长期暴露于土壤中, 接触到病菌的概率较大, 导致在相同的消毒条件下, 其污染率最高。外层鳞片较高的污染率造成大多数外层鳞片不能使用, 因此可就外层鳞片的消毒条件进行筛选, 得出其最佳消毒条件, 从而使卷丹快速繁殖时取材范围进一步扩大。

3.2 卷丹不定芽增殖中的白化现象

白化是植物组织培养过程中常见的现象, 在禾本科植物组织培养过程中尤为常见(陈季琴2004)。白化现象的发生通常会直接或间接影响高等植物中叶绿素的合成、降解, 从而改变植株叶绿素的含量。植物组织培养中白化现象产生的原因较为复杂, 其中植物生长调节剂的种类和浓度是影响白化苗产生的一个主要因素。谢园园(2014)研究得出0.1~0.4 mg·L^{-1}多效唑可导致非洲菊(*Gerbera jamesonii*)的组培苗出现白化现象, 但随着多效唑的浓度升高, 白化率降低。王敬驹等(1997)研究发现高浓度的2, 4-D会促进粳稻(*Oryza sativa* subsp. Keng)白化苗的发生。陈明波等(2008)认为使用NAA (0.05~1.0 mg·L^{-1})诱导酸浆(*Physalis alkekengi*)不定芽时, 不定芽的白化率较高。此外, 白化苗的发生还与培养温度、培养基中微量元素及蔗糖浓度有关(黄斌1985)。本研究以6-BA与NAA二者组合对卷丹不定芽进行增殖过程中发现, 仅NAA浓度为0.2 mg·L^{-1}时, 卷丹出现白化现象且抑制不定芽生长, 白化率最高达到30%, 但NAA为其他浓度时, 不定芽未出现白化现象, 说明NAA的浓度对卷丹不定芽白化起着决定性的作用, 但NAA在该浓度下, 随着6-BA浓度升高白化率有所降低, 当6-BA/NAA为7.5时, 白化率最低, 为5%。说明二者的比值对卷丹白化也有着一定的影响。进一步研究发现使用TDZ对卷丹不定芽进行增殖时, 白化现象基本消失, 仅当TDZ浓度为0.3 mg·L^{-1}时出现1枚白化的不定芽。总体来看, TDZ作为卷丹不定芽增殖的生长物质, 其整体长势较6-BA与NAA结合好, 因此, 卷丹快繁体系中不定芽增殖时不建议采用6-BA与NAA组合, 可改用TDZ以达到理想效果。但是, 在不定芽增殖的过程中, 蒋瑶(2016)、杨利平等(2013)采用6-BA与NAA组合不定芽并未出现白化现象, 这可能6-BA与NAA二者的浓度与比值有关。此外, 在该过程中, 本实验在MS+1 mg·L^{-1} 6-BA+0.2 mg·L^{-1} NAA的处理中不定芽出现白化现象, 但蒋瑶的研究中在该处理下不定芽未出现白化现象, 这可能与组培过程中微环境的调控等因素有关。

3.3 活性炭对卷丹不定芽诱导生根的影响

不定芽的生根诱导是决定组培苗移栽成活的关键, 也是建立植物快速繁殖体系中重要步骤之一, 以往研究表明在生根培养基中加入活性炭可以提高不定芽的生根率, 如黄晶等(2019)在研究金钗石斛(*Dendrobium nobile*)生根时发现, 添加2 g·L^{-1}活性炭可促进生根, 根长且健壮。陶兴魁等(2019)在蓝莓(*Vaccinium corymbosum*)试管苗生根的培养基中加入2.5 g·L^{-1}活性炭时, 蓝莓根系比较粗壮, 分枝也比较多。胡凤荣(2007)表明活性炭有促进百合(*Lilium*)试管苗生根和壮苗的作用, 但是

本研究发现卷丹生根诱导时, 添加活性炭后却抑制其生根, 最高生根率仅为35%, 生根数为2, 而在不添加活性炭的NAA (0.1 mg·L^{-1})中卷丹生根率高达100%, 生根数为8.1。由上可知, 虽然活性炭可促进多数植物的生根, 但是对卷丹不定芽生根尤为不利, 这可能与活性炭吸附诱导生根的植物生长物质有关, 也可能是活性炭的加入改变培养基的透气性, 但其抑制卷丹生根机理尚不明确, 后期可进一步进行研究。总之, 在卷丹的生根诱导过程中不建议添加活性炭。

参考文献(References)

Ai QY, Zhao YF, Wang AH, et al (2015). Depressant effects of *Lilium lancifolium* on human pulmonary adenocarcinoma cell line A_{549} *in vitro*. Shaanxi Tradit Chin Med, 36 (4): 497–499 (in Chinese with English abstract) [艾庆燕, 赵豫凤, 王爱红等(2015). 卷丹百合体外对肺腺癌A_{549}细胞抑制作用的实验研究. 陕西中医, 36 (4): 497–499]

Chen JQ (2004). Studies on the culture and plant regeneration of perennial ryegrass (dissertation). Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [陈季琴(2004). 多年生黑麦草组培再生体系的研究(学位论文). 北京: 北京林业大学]

Chen MB, Zhao LY, Shang FD (2008). Tissue culture and plantlet regeneration of *Physalis alkekengi* L. J Henan Univ (Nat Sci), 38 (6): 613–617 (in Chinese with English abstract) [陈明波, 赵丽英, 尚富德(2008). 酸浆的组织培养与植株再生. 河南大学学报(自然科学版), 38 (6): 613–617]

Chinese Pharmacopoeia Committee (2015). Chinese Pharmacopoeia (Vo1.1). Beijing: Chinese Medical and Science and Technology Press, 132 (in Chinese) [国家药典委员会(2015). 中国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社]

Cui ZM (2019). Study on cultivation and pest control technology of edible lily. Agric Tech, 39 (8): 121–122 (in Chinese) [崔著明(2019). 食用百合栽培与病虫害防治技术研究. 农业与技术, 39 (8): 121–122]

Guo QP (2009). Studies on quality standard and antidepression effect of *Lilium Brownii* (dissertation). Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (in Chinese with English abstract) [郭秋平(2009). 百合的质量研究及抗抑郁作用探讨(学位论文). 广州: 广州中医药大学]

Hu FR (2007). The wild and artificial germplasm assessment by cytogenetics and mass propagation system establishment in *Lilium* (dissertation). Nanjing: Nanjing Forestry University (in Chinese with English abstract) [胡凤荣(2007). 百合种质资源鉴定与组培快繁技术体系研究(学位论文). 南京: 南京林业大学]

Huang B (1985). Albinism in anther culture of gramineae plants. Hereditas Beijing, 7 (5): 1–5 (in Chinese) [黄斌(1985). 禾本科植物花药培养中的白化现象. 遗传, 7 (5): 1–5]

Huang J, Ye QS (2019). Construction of rapid propagation system of protocorm and seedlings of *Dendrobium nobile*. Guizhou Agr Sci, 47 (5): 105–109 (in Chinese with English abstract) [黄晶, 叶庆生(2019). 金钗石斛原球茎及幼苗快速繁殖体系的构建. 贵州农业科学, 47 (5): 105–109]

Jiang Y, Chen WB, Zhou ZL, et al (2016). Adventitious buds induction and plantlet regeneration of wild *Lilium lancifolium*. Guizhou Agr Sci, 44 (5): 97–102 (in Chinese with English abstract) [蒋瑶, 陈文波, 周增丽等(2016). 野生卷丹不定芽诱导及再生体系的建立. 贵州农业科学, 44 (5): 97–102]

Li L, Liu XD, Zhan JH, et al (2018). A study on the antitumor activity of chemical constituents from *Lilium lancifolium* Thunb. J Hunan Univ Tradit Chin Med, 38 (10): 1133–1136 (in Chinese with English abstract) [李玲, 刘湘丹, 詹济华等(2018). 卷丹百合化学成分抗肿瘤活性研究. 湖南中医药大学学报, 38 (10): 1133–1136]

Pan GF, Xie ZW, Huang SX, et al (2017). Immune-enhancing effects of polysaccharides extracted from *Lilium lancifolium* Thunb. Internatl Immun, 52: 119–126

Shi Y, Xiang YY, Sun M, et al (2013). Establishment of in vitro rapid propagation system of *Lilium leichtlinii*. J Henan Agr Sci, 42 (1): 98–101 (in Chinese with English abstract) [石印, 向圆媛, 孙明等(2013). 大花卷丹离体培养快速繁殖体系的建立. 河南农业科学, 42 (1): 98–101]

Tao XK, Gao GZ, Zhang XT, et al (2019). Application of orthogonal experiment in the screening of blueberry tissue culture medium. J Anhui Eng Univ, 34 (2): 1–5, 50 (in Chinese) [陶兴魁, 高贵珍, 张兴桃等(2019). 正交实验在蓝莓组培培养基筛选过程中的应用. 安徽工程大学学报, 34 (2): 1–5, 50]

Wang JJ, Sun JS, Zhu ZQ, et al (1977). Effects of *in vitro* culture factors on the occurrence of rice pollen white seedlings. Chin Bull Bot, 19 (3): 190–199 (in Chinese) [王敬驹, 孙敬三, 朱至清等(1977). 离体培养因素对水稻花粉白苗发生的影响. 植物学报, 19 (3): 190–199]

Xie YY (2014). Effects of paclobutrazol on multiplication rooting on *in vitro* conservation gerbera (dissertation). Hangzhou: Zhejiang A&F University (in Chinese with English abstract) [谢园园(2014). 多效唑对非洲菊离体保存中增殖及生根的影响(学位论文). 杭州: 浙江农林大学]

Yang LP, Song XH (2013). Tissue culture system construction of *Lilium lancifolium* Thunb. J Hebei Agr Univ, 36 (4): 17–21, 30 (in Chinese with English abstract) [杨利平, 宋

晓宏(2013). 卷丹组培体系的构建. 河北农业大学学报, 36 (4): 17–21, 30]
Zhang T, Gao J, Jin ZY, et al (2014). Protective effects of polysaccharides from *Lilium lancifolium* on streptozotocin-induced diabetic mice. Internatl J Biol Macrom, 65: 436–440

Establishment of a high efficient rapid propagation system of *Lilium lancifolium*

ZHAO Chunxiao[1,#], WANG Chunyan[1,#], SU Xiuhong[1,2,*], YIN Sugai[1,*], DONG Chengming[1,2]

[1]*Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China*
[2]*Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450000, China*

Abstract: Different parts of scales of *Lilium lancifolium* were studied to induce adventitious buds, the results showed that the lower part of the middle layernduce was the best part to induce adventitious buds, the initiation rate was 85% and the number of induced adventitious buds was 8.4. Hormone types and concentrations affected the proliferation and rooting of adventitious buds, the optimum medium for proliferation was MS+0.15 mg·L^{-1} TDZ and the multiplication rate was 6.45. The optimum medium for rooting was 1/2MS+0.1 mg·L^{-1} NAA, the rate of rooting was 100%, and the number of rooting was 8.1. The best substrate for domestication and transplantation was nutrient soil: garden soil: pearlite=1:1:1, and the survival rate was 85%.

Key words: *Lilium lancifolium*; tissue culture; adventitious shoot; proliferation; rooting

Received 2019-07-30 Accepted 2019-10-25
This work was supported by Special Subsidized Projects for Local Science and Technology Development Guided by the Central Government (2016).

#Co-first authors.
*Co-corresponding authors: Sun XH (suxiuhong80@163.com), Yin SG (yinsugai@163.com).