



综述 Reviews

萱草属植物繁殖方法及遗传转化研究进展

段连峰^{1,2}, 李颖³, 董燕⁴, 王泽隆^{1,2}, 艾昕瑶^{1,5}, 杨希婷^{1,5}, 潘欣⁵, 于守超², 李俊^{1,*}¹北京市园林绿化科学研究院, 绿化植物育种北京市重点实验室, 北京100102²聊城大学农学与农业工程学院, 山东聊城252059³山东英才学院, 济南250104⁴中国花卉协会, 北京100102⁵成都理工大学地理与规划学院, 成都610059

*通信作者(lily.23@126.com)

摘要: 萱草属植物(*Hemerocallis* L.)作为世界三大宿根花卉之一, 具有极高的观赏、食用、药用和文化价值。然而, 萱草新优品种在园林中的应用与推广进展缓慢。本文概述萱草主要繁殖方法, 重点从品种、外植体、培养条件、基本培养基、植物生长物质等方面对萱草组织培养的研究进展进行了综述, 同时总结了萱草遗传转化的研究成果, 并讨论组织培养及遗传转化中存在的问题和展望, 以期为萱草繁殖及育种的进一步研究提供参考依据。

关键词: 萱草属; 繁殖; 组织培养; 遗传转化

Research progress on propagation method and genetic transformation of daylily (*Hemerocallis* L.)DUAN Lianfeng^{1,2}, LI Ying³, DONG Yan⁴, WANG Zelong^{1,2}, AI Xinyao^{1,5}, YANG Xiting^{1,5}, PAN Xin⁵, YU Shouchao², LI Jun^{1,*}¹Beijing Academy of Forestry and Landscape Architecture, Beijing Key Laboratory of Greening Plants Breeding, Beijing 100102, China²Agriculture Science and Engineering School, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059, China³Shandong Yingcai University, Jinan 250104, China⁴China Flower Association, Beijing 100102, China⁵College of Geography and Planning, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China

*Corresponding author (lily.23@126.com)

Abstract: As one of the three major perennial flowers in the world, daylily (*Hemerocallis* L.) has high ornamental, edible, medicinal and cultural values. However, less progress was achieved in the application and promotion of new varieties of daylily in landscaping. In this paper, the main propagation methods of daylily were summarized. The research progress of tissue culture of daylily was reviewed from the aspects of variety, explants culture conditions, basic medi-

收稿 2024-05-28 修定 2024-09-18

资助 北京市科委科技计划(Z201100008020004)、北京市财政项目(11000023T000002090527)、北京市园林绿化青年创新人才托举工程(KJCX202328)、绿化植物育种北京市重点实验室开放课题(YZZD202403)、聊城大学风景园林学科建设基金(319462212)和山东绿城市政园林工程有限公司横向课题(R23WD63)。

um, and plant growth substances. At the same time, the research results of genetic transformation of daylily were summarized, and the problems and prospects in tissue culture and genetic transformation were discussed in order to provide reference for further research on reproduction and breeding of daylily.

Key words: *Hemerocallis* L.; propagation; tissue culture; genetic transformation

萱草属植物(*Hemerocallis* L.)原属于百合科(Liliaceae), 2016年APG IV分类系统将萱草属植物划分到阿福花科(Asphodelaceae; Szewczyk等2019)。萱草是世界三大宿根花卉之一, 具有极高的观赏、食用、药用、文化价值。通常以点缀、丛植、群植、片植或与其他植物混合搭配等方式应用于园林景观之中, 因其花色丰富、花型多样、花期长, 在园林中常作为重要的观花、观叶花卉。萱草还是食药兼具的绿色蔬菜, 富含糖类、蛋白质、维生素等多种营养物质(曹熙和杨大伟2021), 具有抗抑郁、抗菌、抗肿、抗氧化、杀虫、镇静、催眠等多种药理活性(Li等2021)。此外, 中国作为世界萱草属植物的自然分布中心, 有着约3 000年的栽培历史, 萱草在中国传统文化中有忘忧、宜男多子、孝亲的寓意(管怡雯2023)。

目前, 在美国萱草协会登录的品种已超9万个(Keene等2020)。近年来, 我国萱草新品种选育工作在花径、花色、花型、花眼和花瓣等方面均取得了不菲的成果(段连峰等2023)。然而, 繁殖技术的滞后发展限制了新优萱草品种在园林中的应用与推广。本文介绍了萱草繁殖方法, 重点突出了萱草组织培养的研究进展, 同时综述了萱草遗传转化的研究成果, 旨在为萱草新品种繁殖和育种提供一定的理论参考。

1 萱草主要繁殖方法

1.1 种子繁殖

由种子繁殖得到的实生苗, 具有根系发达、抗性强等优点, 在园林植物繁育中占有重要的地位, 但种子繁殖的成苗率较低, 在一定程度上限制了该方法的应用。近年来, 对萱草种子繁殖的研究多集中在萱草种子的休眠机制、储藏条件、发芽条件等方面。

目前, 普遍认为萱草种子具有休眠特性, 但对种子休眠产生的原因有不同看法。Griesbach和

Voth (1957)认为休眠是由种子未完成生理后熟所导致的。孙颖等(2019)发现采现播处理后发芽率也可达到80%以上, 未完成生理后熟可能不是导致萱草种子休眠的原因。马翠青(2014)发现, 随着储藏时间的延长, 萱草种子的含水量不断下降, 发芽率不断降低, 认为休眠可能是由种皮含水量降低导致的种皮硬化引起的。为提高发芽率, 部分学者对萱草种子的储存条件和发芽条件进行了探索。何琦和高亦珂(2011)发现萱草种子在低温湿润的储藏条件下, 发芽率最高, 为98.89%, 发芽快且整齐。Kim等(2016)进一步研究表明, 萱草种子仅在低温条件下储藏, 发芽率和发芽势提高不明显。可见, 萱草种子在湿润的储藏条件下, 一定的冷处理可提高其发芽的稳定性。付宝春等(2021)发现光照条件对萱草种子发芽的影响较小, 温度条件影响显著, 最佳的发芽温度为20~25℃。张奕等(2021)探究了沼液和水杨酸(salicylic acid, SA)浸种对种子发芽的影响, 沼液浸种提高了萱草种子发芽率, 稀释500倍的浓缩沼液浸种效果最佳, 而使用的SA浸种与对照无显著差异。Kim等(2023)发现赤霉素溶液浸种可提高萱草种子发芽率和发芽速度。

此外, 萱草属植物为兼性异交(赵天荣等2013), 有些品种自交亲和性很低, 在10%以下(Lü等2022), 同时自交后代性状变异明显(罗新凯等2020), 因此, 种子繁殖通常用于杂交及新品种选育。

1.2 分株繁殖

分株繁殖是将萱草根状茎侧芽形成的株丛分割后培育成苗的方式, 一般在3月中旬和10月中下旬进行分株, 每3~5年分株1次, 且分株不及时会影响植株长势, 导致花量减少、花茎减小(李黎等2021a)。朱华芳等(2007)研究表明春季萱草新芽露出土面是最佳的分株时间, 切分合理, 当年即可开花。赵天荣等(2015)对比了12种萱草品种的分蘖能力, 发现不同品种分株1年后繁殖系数差异明显, 仅3个品种的繁殖系数可达到15以上, 且多倍体植

株的繁殖系数相对较低,可见分株繁殖虽然操作简便,但繁殖系数较低。Leclerc等(2006)研究发现在花期对叶面喷施植物生长物质,可提高植株的分蘖能力,这一结果对萱草分株繁殖具有经济意义,但仍需要在更大的田块尺度上进行验证。

分株繁殖操作简便,是萱草属植物繁殖的主要方法,尤其是数量较少的萱草新品种,初期的人工繁殖仍依靠分株繁殖(高亦珂等2014),但其繁殖系数较低。为进一步提高繁殖系数,王本辉和饶晓明(2001)在解剖镜下观察了萱草属植物的根状茎结构,发现一年生根状茎一般有1个顶芽、1个侧芽及5~18个隐芽,利用根状茎的这种生长习性,在分株繁殖的基础上提出了根状茎芽块繁殖法,繁殖系数提高了11~17倍。Xie等(2022)研究发现氮肥的施加量在芽块繁殖过程中起重要作用。目前,芽块繁殖多应用于食用萱草黄花菜的生产中,在观赏萱草中应用较少。

1.3 扦插繁殖

扦插繁殖是利用萱草花葶苞片内侧芽培育成苗的方式,一般在萱草花期后进行繁殖。王本辉和韩秋萍(2007)进一步对比了不同扦插方式及不同基质对出芽率和成活率的影响,发现花葶剪截促芽后再进行扦插,出芽率和成活率均达到80%以上,由于草木灰具有杀菌保水的作用,与田园土混合后作为扦插基质在一定程度上可以提高出芽率和成活率。朱华芳等(2007)进一步对比了萱草不同品种的扦插生根率,发现不同品种间差异较大。因此,扦插繁殖更适合于花葶产生较多侧芽的萱草品种,可作为分株繁殖的一种有效补充(韩志平和张海霞2019)。

1.4 组织培养

萱草属植物组织培养研究的早期报道是Chen和Holden (1972)、Heuser和Apps (1976)分别在1972年和1976年以食用萱草黄花菜及其杂交品种‘Chipper Cherry’的叶片和花瓣成功得到了组培苗。国内起步稍晚,最早的报道是1980年周朴华等(1980)对食用萱草‘长咀子花’的研究,1984年倪新和马毓(1984)对观赏萱草‘月影’等26个品种的研究,取得了初步进展。此后,萱草组织培养的研究才不断增多,近年来主要集中在研究品种、外植体、培养条件、基本培养基和植物生长物质等方面。

1.4.1 品种

在组织培养过程中,品种间存在着明显的差异(表1),可能是影响组织培养的首要因素(赵梓安等2020)。王荣梅等(2019)以14个萱草品种的短缩茎为外植体直接诱导不定芽,发现2个品种未能诱导出不定芽。Matand等(2021b)进一步研究了19个萱草品种苞片的再生潜力,发现苞片的再生潜能同样较强具有基因型依赖性。毕晓颖和王宁(2012)在对‘金娃娃’等17个萱草品种的花茎培养中,发现不同品种出愈率和分化率差异显著,其中‘金娃娃’萱草的出愈率和分化率均最高。李秀华等(2009)以6个市场畅销的大花萱草品种花茎为外植体的研究中进一步发现出愈率、分化率和平均出芽数没有绝对的对对应关系,可能与各品种生长状态、内源激素水平及所使用外源生长物质浓度有关。

1.4.2 外植体

根据已有报道,可供作为萱草组织培养的外植体类型丰富,包括根段、根状茎、茎尖、花茎、花梗、花托、花瓣、花丝、子房、叶片等(表1)。王晓娟等(2005)对比了叶片、根段、茎尖、子房和花药诱导愈伤组织的差异,发现茎尖诱导愈伤组织效果最好,其次是子房和花药,叶片和根段均不能诱导出愈伤组织。柏文琴等(2012)对比了根段、花茎、茎尖、叶片、花托、花瓣和子房在初代培养的诱导效果,发现茎尖可直接诱导出不定芽,诱导率最高;花茎、花托和子房均可诱导愈伤组织,诱导率分别为86.7%、40.0%和29.4%;叶片、根段和花瓣无法诱导出愈伤组织。左高雅(2022)发现,花茎的不同位置也存在差异,诱导率随高度的升高而上高,上部花茎效果最好。褚焕宁(2017)进一步研究发现以分支结节部位为界,分枝处以上花茎诱导效果比分枝处以下花茎诱导效果好。Matand等(2021a)研究发现,自同一花蕾中,子房的再生潜力最高,子房与花被再生潜力可能存在一定的联系。可见在生殖器官中,花托、花被的再生潜能较低,子房的再生潜能较高;而在营养器官中,叶片、根段的再生潜能较低,茎尖和花茎的再生潜能较高,是比较理想的外植体。

1.4.3 培养条件

钟瑞洁(2018)对比正常光照和蓝光对组织培

表1 部分萱草属植物的外植体选择与初代培养
Table 1 Explant selection and primary culture of some daylily

品种	外植体	再生途径	初代培养基	诱导率/%	参考文献
‘Baltimore oriole’ ‘大同黄花’	根段	/	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	0 (干枯死亡)	柏文琴等2012
	茎尖	器官直接发生	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	43.80	柏文琴等2012
	短缩茎	器官直接发生	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	88.89	王荣梅等2019
	花葶	器官间接发生	MS+2.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	97.78 (出愈率)	
‘新发中秋花’ ‘香宝’	Y型花梗	器官间接发生	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	85.67 (分化率)	左高雅2022
	花托	器官间接发生	MS+2.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+2.0 mg·L ⁻¹ 2,4-D+0.3 mg·L ⁻¹ NAA (诱导培养基)	62.10 (出愈率)	钟瑞洁2018
			MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ GA (分化培养基)	81.28 (出愈率)	
			MS+1.0 mg·L ⁻¹ 2,4-D+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	78.21 (分化率)	高淑滢和高亦珂2009
‘金娃娃’	内层花瓣	器官间接发生	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 2,4-D+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	25.00 (出愈率)	高淑滢和高亦珂2009
	花丝	/	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 2,4-D+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	0 (仅膨大变形)	高淑滢和高亦珂2009
‘茄子花1号’ ‘三月花’	幼芽	器官直接发生	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.3 mg·L ⁻¹ NAA	98.70	李黎等2021b
	未受精子房	器官间接发生	MS+2.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+3%蔗糖	54.00 (出愈率)	褚焕宁2017
	幼嫩叶片	器官间接发生	MS+2.0 mg·L ⁻¹ 2,4-D+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA (诱导培养基)		
			MS+2.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ IBA (分化培养基)	86.67 (出愈率)	
				80.00 (分化率)	王静等2019

“/”表示参考文献中未明确指出,下表同此。

养过程的影响,发现蓝光有利于愈伤组织增殖,正常光照更有利于愈伤组织的分化。刘伟超等(2019)发现相比于常用的荧光灯源,不同LED红蓝光组合可通过影响叶绿素、可溶性糖和蛋白质的合成影响增殖培养、生根培养,红蓝光质比1:1有利于增殖培养,6:4有利于生根培养,同时红蓝光质比7:3、光照强度为 $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 还可提高试管苗品质(尚文倩等2017)。此外,宋阳等(2007)发现一定时间的暗培养可以促进愈伤组织的形成,但其机理尚不明确。

1.4.4 基本培养基

供试萱草的品种不同,实验的侧重点不同,并且采用不同的外植体,故所选用的基本培养基有所差异。在已报道的萱草组织培养研究中一般采用MS培养基作为初代培养和继代培养的基础培养基,以1/2MS培养基作为生根培养的基础培养基,并有研究者研究了不同培养基对萱草组织培养的影响。如韩志平等(2021)对比了MS、1/2MS、 N_6 、1/2 N_6 等4种培养基对初代培养诱导率的影响,发现MS培养基的诱导率最高,为87.5%,不定芽长势最好。钟瑞洁(2018)在心叶组织培养中使用SH培养基作为初代培养的基础培养基,发现45 d有愈伤组织出现,但是生根困难。张西英等(2023)研究MS、1/2MS、1/3MS等3种基本培养基对花葶愈伤组织诱导的影响,发现随着无机盐浓度的减少,愈伤组织诱导率增加,硝氮减为 $200\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 可增加愈伤组织的诱导形成。杨丽莉等(2012a)对比了MS、 B_5 、 N_6 等3种基本培养基对继代培养的影响,发现 B_5 培养基比MS培养基更适宜长期继代繁殖, N_6 培养基最差,不适宜萱草的继代培养。

1.4.5 植物生长物质

初代培养是不定芽产生的过程(表1),在这一过程中植物生长物质的种类及浓度尤为重要(Philips和Garda 2019)。王静等(2019)通过正交实验对比了不同浓度6-BA、2,4-D对初代培养的影响,发现6-BA和2,4-D组合使用对愈伤组织的诱导效果非常理想,启动率近70%、诱导率达86.67%,诱导出的愈伤组织呈黄绿色、结构紧密,且6-BA对出愈率的影响更大。Li等(2010)进一步发现6-BA为 $2.0\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时诱导率最高,超过这一浓度后,诱导率

随着浓度增加而降低。6-BA和IBA的配合使用诱导率相对较低,但分化率相对较高(赵玉芬等2011)。KT可在某种程度上替代6-BA的诱导作用,但是形成的愈伤组织略呈褐色,表面光滑,质地松散(Fitter和Krikorian 1981)。TDZ在较低的浓度下即可诱导不定芽分化,其单独使用的效果要显著高于TDZ和6-BA的组合,同时,在一定程度上可以跨越基因型(Matand等2020)。Chen等(2006)发现单独添加PAC时,花葶可成功诱导出绿黄色致密愈伤组织并分化出芽,不添加时仅形成黄白色松散愈伤组织,不能分化出芽。

继代培养过程中不定芽的增殖和生长受到细胞分裂素和生长素含量的控制,6-BA的浓度往往是不定芽增殖的决定因素,因此增殖培养常单独使用6-BA或与NAA、IBA、2,4-D等组合使用(表2)。单独使用6-BA时, $2.0\sim 3.0\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的增殖效果较好(杨丽莉等2012b)。与生长素组合使用时,高浓度的生长素和细胞分裂素组合更有利于不定芽的增殖。例如 $2.0\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA与 $0.1\sim 0.2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA组合的增殖率可达95%以上,比单独使用6-BA要高(王荣梅等2019)。但6-BA浓度过高,外植体会出现不同程度的玻璃化现象、叶黄死亡(李黎等2021b)。此外,6-BA和NAA组合时,不定芽主要通过愈伤组织分化出不定芽的方式增殖,试管苗矮小、叶宽,分切后单苗基部粗大,对后期的生根不利;6-BA和IBA的培养基上,芽丛的基部可以直接形成不定芽,试管苗高、叶窄、生长整齐,有利于后期生根培养(Zuo等2021)。

萱草作为一种草本植物相对于木本植物更易生根(黄涛和祝遵凌2021),但是在不添加植物生长调节剂的培养基中进行生根培养,其生根率很难超过50% (Matand等2021b)。王静等(2019)对比了NAA、IBA和IAA 3种生长素对‘三月花’的影响,发现NAA诱导生根效果更好。这一结论与陈曦和刘志洋(2020)的研究一致。钟瑞洁(2018)发现生根效果随NAA的添加量呈先增后降的趋势,超过 $1\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后根部会有愈伤组织的形成,抑制根的形成与生长,同时发现NAA与IBA配合使用相对于单一使用NAA效果更好。王荣梅等(2019)尝试用NAA配合6-BA进行生根培养,发现生根效果比单一使

表2 部分萱草属植物的不定芽继代和生根培养
Table 2 Subculture and rooting culture of adventitious buds of some daylily

品种	增殖培养基	增殖系数	生根培养基	诱导率/%	参考文献
‘粉美人’	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.004 mg·L ⁻¹ TDZ+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	2.90	1/2MS+0.4 mg·L ⁻¹ IBA+20 g·L ⁻¹ 蔗糖	95.00	吕秀立等2022
‘金娃娃’	MS+2.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ NAA	9.00	/	/	李黎等2021b
‘32-1’	MS+2.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ NAA	3.47	1/2MS+1.0 mg·L ⁻¹ NAA+2 g·L ⁻¹ AC	100.00	王艺程2019
‘莎蔓’	MS+3.0 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ IBA	6.40	1/2MS+0.4 mg·L ⁻¹ NAA+20 g·L ⁻¹ 蔗糖	100.00	杨丽莉等2012b
‘大同黄花’	/	/	MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA	90.00	Zuo等2021
‘三月花’	/	/	1/2MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA	93.33	王静等2019
‘无名粉’	/	/	1/2MS+0.4 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ CCC	100.00	张洁茹等2014

用NAA差很多,可见细胞分裂素并不适合生根培养。张洁茹等(2014)发现NAA配合CCC能显著提高生根率,同时提高组培苗品质。王艺程等(2019)研究不同浓度的NAA和活性炭对生根的影响,发现NAA有利于根数的增加,活性炭有利于根长的增加,且无畸形根的产生。

2 遗传转化体系

2.1 农杆菌介导法

农杆菌介导法是植物遗传转化最常用的方法之一,由于萱草品种多由杂交而来,遗传背景复杂,同时,萱草作为单子叶植物不是农杆菌的天然寄主,相关研究起步较晚。随着农杆菌介导法逐渐成熟及新品种选育的需要,利用农杆菌介导法进行萱草遗传转化逐渐取得了一定的进展(表3)。

高洁(2012)首次构建了萱草遗传转化体系,成功得到了11株转基因萱草,转化率为10%。郑楠等(2015)进一步探索不同农杆菌种类对萱草遗传转化的影响,发现相比于GV103和LBA4404,使用EHA105侵染萱草愈伤组织时,出芽率相对较高,为25.68%,同时发现在侵染液和共培养的培养基中加入AS可提高转化率,缩短共培养时间。王艺程(2023)对萱草叶片进行活体转化,未出现明显表型变化,推测可能是由于花椰菜花叶病毒的35S (CaMV35S)启动子在单子叶植物中表达较弱导致的。刘颖竹(2020)首次使用CRISPR/Cas9技术构建载体,通过农杆菌介导法转化萱草,但转化率仅1.4%,同时还疑似出现脱靶现象,由于缺少基因组数据,未能明确是否脱靶。目前,大部分研究得到了转基因植株,并未达到表型观察阶段,仅有刘一霏(2016)对通过农杆菌介导法遗传转化得到的萱草进行抗盐碱胁迫实验,发现转基因植株的叶绿素含量下降幅度更明显、电解质渗出量更稳定,抗盐碱能力得到提高。此外,陈颖(2023)自制一种萱草组织侵染装置,简化了萱草遗传转化过程中侵染流程,减少了受体的染菌风险。

2.2 花粉管道法

倪迪安等(2020)首次通过花粉管通道技术将HfGLXI-1基因导入‘斯特拉’萱草中,获得5株阳性转基因萱草,但由于种子萌发率较低,转化率仅

表3 部分农杆菌介导法转化萱草的转化条件
Table 3 Partial *Agrobacterium*-mediated transformation conditions of daylily

品种	转化受体	菌株及菌液浓度	培养时间	抗生素	检测方法	转化效率/%	参考文献
萱草	愈伤组织	EHA105; OD ₆₀₀ =0.1	预培养: 2 d 侵染: 20 min 共培养: 3 d	125 mg·L ⁻¹ Kan、 400 mg·L ⁻¹ Cef	手提式紫 外灯	10.0	高洁2012
‘红三角’	愈伤组织	EHA105; OD ₆₀₀ 为0.1~0.3	预培养: 3 d 侵染: 5 min 共培养: 2~3 d	50 mg·L ⁻¹ 卡那霉素、 12.5 mg·L ⁻¹ 利福平	PCR	1.4	刘颖竹2020
大苞萱草	愈伤组织	EHA105; OD ₆₀₀ =1.0	侵染: 15 min 共培养: 15 d	300 mg·L ⁻¹ Cef、 400 mg·L ⁻¹ 草铵膦	PCR	7.6	刘一霏2016

0.39%。谭雨馨(2022)进一步将上述得到的转基因萱草与其他萱草品种杂交研究其杂交后代对重金属锌的耐受性,发现转基因萱草在胁迫3、5和7 d的株高均显著高于对照,对重金属锌耐受性更高。

2.3 基因枪法和电击法

Aziz等(2003)以将*bar*基因通过基因枪法转入‘金娃娃’胚性愈伤组织,成功获得转基因萱草植株。张馨悦(2020)进一步探究了基因枪转化花粉的可行性,发现在其设计的轰击条件下,与对照相比,花粉活力无显著差异,但只有极少数花粉出现穿孔现象,使用基因枪法转化花粉仍需要进一步研究。钟荣(2021)以萱草品种‘斯特拉’成熟花粉为材料,比较了不同电场强度和电击次数对花粉转化率的影响,发现萱草花粉电击转化的最佳参数为1 kV·cm⁻¹、电击3次,为基于萱草花粉电击法转化提供参考。此外,张馨悦(2020)还对萱草花粉磁转染条件进行了探索,发现最适磁性纳米载体与质粒的质量比为1:2,并通过GUS染色检测证实了外源基因已导入萱草花粉细胞,并具有高度稳定的基因表达。

3 研究展望

目前,萱草属植物组织培养经多年研究,在不同品种、不同外植体、不同培养基已经有了一定的基础,由于萱草属植物品种特异性,众多学者的研究结果出现较大差异,尚未建立一个比较完善的组织培养体系,还不能实现萱草的大规模工厂化育苗。同时,萱草遗传转化已有成功的案例,但转化率较低,技术体系仍不成熟。因此,在未来的

工作中,可以从以下几个方面展开: (1)针对一个品种或多个品种开发组培体系,并不断优化和简化其过程和条件,打破萱草常规扩繁方式中的季节和数量限制,实现萱草工厂化育苗。(2)加深萱草属植物再生的研究,通过组织细胞学、分子生物学技术深入探究器官发生型、胚状体发生型等再生过程的细胞谱系和分子机制,并运用到萱草组织培养体系中,从而使萱草组培体系取得新的突破。(3)优化萱草遗传转化体系,提高遗传转化效率。(4)不断探索新的遗传转化方法,建立高效转化、再生的遗传转化体系。

参考文献(References)

Aziz AN, Sauvé RJ, Zhou S (2003). Genetic transformation of *Stella De Oro* daylily by particle bombardment. *Can J Plant Sci*, 83 (4): 873–876

Bai WQ, Yan GQ, Li RY (2012). Comparison of primary culture using different explants of *Hemerocallis hybrida*. *J Hubei Univ Nat Sci*, 34 (1): 89–92 (in Chinese with English abstract) [柏文琴, 闫桂琴, 李瑞艳等(2012). 大花萱草不同外植体初代培养的比较研究. 湖北大学学报(自然科学版), 34 (1): 89–92]

Bi XY, Wang N (2012). Rapid *in vitro* propagation of pedicel explants of *Hemerocallis*. *J Northeast For Univ*, 40 (11): 56–59, 158 (in Chinese with English abstract) [毕晓颖, 王宁(2012). 萱草花茎离体培养与快速繁殖. 东北林业大学学报, 40 (11): 56–59, 158]

Cao X, Yang DW (2021). Identification of polyphenolic compounds in daylily and influence of blanching and storage on their stability. *J Nucl Agric Sci*, 35 (12): 2787–2798 (in Chinese with English abstract) [曹熙, 杨大伟(2021). 黄花菜多酚类化合物的鉴定及漂烫与贮藏对其稳定性的影响研究. 核农学报, 35 (12): 2787–2798]

- Chen CH, Holden DJ (1972). Organogenesis in daylily callus. *Proc S D Acad Sci*, 51: 146–149
- Chen JX, Hall DE, Luca VD (2006). Effects of the growth retardant paclobutrazol on large-scale micropropagation of daylily (*Heimerocallis* spp.). *In Vitro Cell Dev-Pl*, 41 (1): 58–62
- Chen X, Liu ZY (2020). Study on tissue cultivation in six polyploid *Heimerocallis hybrida*. *J Anhui Agric Sci*, 48 (1): 106–110 (in Chinese with English abstract) [陈曦, 刘志洋(2020). 6种多倍体大花萱草组织培养研究. *安徽农业科学*, 48 (1): 106–110]
- Chen Y (2023). Response of daylily Autumn Red to low temperature stress and isolation of pathogen causing leaf blight and screening of controlagents (dissertation). Shanghai: Shanghai Institute of Technology (in Chinese with English abstract) [陈颖(2023). ‘秋红’萱草低温胁迫响应及叶枯病致病菌的分离和杀菌剂筛选(学位论文). 上海: 上海应用技术大学]
- Chu HN (2017). Construction of rapid propagation system and rescue of hybrid embryo on *Heimerocallis* spp. (dissertation). Taigu, Shanxi: Shanxi Agricultural University (in Chinese with English abstract) [褚焕宁(2017). 萱草属植物快繁体系构建及杂种胚拯救研究(学位论文). 山西太谷: 山西农业大学]
- Duan LF, Li Y, Liu XN, et al (2023). Research progress on breeding of new *Heimerocallis* varieties at home and abroad. *J Nucl Agric Sci*, 37 (4): 730–739 (in Chinese with English abstract) [段连峰, 李颖, 刘晓娜等(2023). 国内外萱草新品种选育研究进展. *核农学报*, 37 (4): 730–739]
- Fitter MS, Krikorian AD (1981). Recovery of totipotent cells and plantlet production from daylily protoplasts. *Ann Bot*, 48 (5): 591–597
- Fu BC, Qin GJ, Wang S, et al (2017). Effect of different treatments on seed germination of *Heimerocallis fulva*. *Acta Agric Jiangxi*, 29 (11): 77–80 (in Chinese with English abstract) [付宝春, 秦国杰, 王松等(2017). 不同处理对萱草种子萌芽的影响研究. *江西农业学报*, 29 (11): 77–80]
- Gao J (2012). Optimization of regeneration system and establishment of Agrobacterium-mediated transformation system of daylily (dissertation). Chengdu: Sichuan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [高洁(2012). 萱草再生体系的优化及农杆菌介导的遗传转化体系的建立(学位论文). 成都: 四川农业大学]
- Gao SY, Gao YK (2009). Study on comparison of callus-induction of *Heimerocallis* ‘Stella deoro’ using different explants. Hangzhou: China Horticultural Society Ornamental Horticulture Professional Committee, National Flower Engineering Technology Research Center. Progress in Research on Ornamental Horticulture in China (in Chinese with English abstract) [高淑滢, 高亦珂(2009). ‘金娃娃’萱草不同外植体诱导愈伤组织的比较研究. 杭州: 中国园艺学会观赏园艺专业委员会, 国家花卉工程技术研究中心. 中国观赏园艺研究进展]
- Gao YK, Gao SY, Jia HY, et al (2014). New cultivar series of *Heimerocallis*. *Acta Horti Sin*, 41 (5): 1047–1049 (in Chinese with English abstract) [高亦珂, 高淑滢, 贾贺燕等(2014). 萱草系列新品种. *园艺学报*, 41 (5): 1047–1049]
- Griesbach RA, Voth PD (1957). On Dormancy and Seed Germination in *Heimerocallis*. *Bot Gaz*, 118 (4): 223–237
- Guan YW (2023). Study on the cultural artistic conception of daylily garden landscape——taking the landscape design of daylily garden as an example (dissertation). Shanghai: Shanghai Institute of Technology (in Chinese with English abstract) [管怡雯(2023). 萱草文化意境在园林景观中的表达研究——以萱草专类园景观设计为例(学位论文). 上海: 上海应用技术大学]
- Han ZP, Wang LJ, Zhang HX, et al (2021). Study on tissue culture of stem segments of daylily of Datong. *Seed*, 40 (10): 135–140, 149 (in Chinese with English abstract) [韩志平, 王丽君, 张海霞等(2021). 大同黄花菜茎段组织培养研究. *种子*, 40 (10): 135–140, 149]
- Han ZP, Zhang HX (2019). Review on propagation and seedling technique of daylily. *Hortic Seed*, 39 (1): 25–28, 34 (in Chinese with English abstract) [韩志平, 张海霞(2019). 黄花菜繁殖育苗技术. *园艺与种苗*, 39 (1): 25–28, 34]
- He Q, Gao YK (2011). Effect of different treatments on germination of *Heimerocallis* seed. *Seed*, 30 (7): 94–96 (in Chinese with English abstract) [何琦, 高亦珂(2011). 不同处理下萱草种子萌发研究. *种子*, 30 (7): 94–96]
- Heuser CW, Apps DA (1976). *In vitro* plantlet formation from flower petal explants of *Heimerocallis* cv. Chipper Cherry. *Can J Bot*, 54 (7): 616–618
- Huang T, Zhu ZL (2021). Advances in rooting of tissue culture of Nyctaginaceae. *Mol Plant Breed*, 22 (18): 6160–6169 (in Chinese with English abstract) [黄涛, 祝遵凌(2021). 紫茉莉科植物组培生根研究进展. *分子植物育种*, 22 (18): 6160–6169]
- Keene SA, Johnson TS, Sigler CL, et al (2020). A survey of the floral volatile profiles of daylily species and hybrids. *J Am Soc Horti Sci*, 145 (2): 120–130
- Kim GM, Kwon HC, Rhie YH, et al (2023). Seed dormancy type and germination characteristics in four *Heimerocallis* taxa native to the Korean peninsula. *Flower Res J*, 31 (4): 182–193
- Kim JH, Suh JK, Lee AK (2016). Germination of *Heimerocallis* seeds as influenced by seed development and tempera-

- ture treatments. *Hortic Sci Technol*, 34 (6): 830–839
- Leclerc M, Caldwell CD, Lada RR, et al (2006). Effect of plant growth regulators on propagule formation in *Heimerocallis* spp. and *Hosta* spp. *HortScience*, 41 (3): 651–653
- Li L, Han H, Tang HW, et al (2021a). Study on breeding and cultivation techniques of several perennial flowers in cold regions. *Territory Nat Resour Study*, (4): 95–96 (in Chinese with English abstract) [李黎, 韩辉, 唐焕伟等 (2021a). 几种宿根花卉寒地繁育与栽培技术研究. 国土与自然资源研究, (4): 95–96]
- Li L, Qu YT, Han H, et al (2021b). Effects of plant growth regulators on adventitious bud induction and proliferation of *Heimerocallis fulva*. *For Eng*, 37 (4): 22–26 (in Chinese with English abstract) [李黎, 曲彦婷, 韩辉等 (2021b). 植物生长调节剂对萱草不定芽诱导增殖的影响. 森林工程, 37 (4): 22–26]
- Li S, Cui HL, Wang JY, et al (2021). Qualitative and quantitative analysis on flavonoid distribution in different floral parts of 42 *Heimerocallis* accessions. *Front Plant Sci*, 12: 670506
- Li XH, Du Z, Wu YY, et al (2009). Research on tissue culture regeneration of *Heimerocallis middendorffii*. *Bull Bot Res*, 29 (6): 757–762 (in Chinese with English abstract) [李秀华, 杜贞, 武银玉等 (2009). 大花萱草组培快繁体系的研究. 植物研究, 29 (6): 757–762]
- Li ZW, Mize K, Campbell F (2010). Regeneration of daylily (*Heimerocallis*) from young leaf segments. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 102: 199–204
- Liu WC, Wang Z, He SL, et al (2019). Effects of different red and blue light quality ratios on multiplication and rooting of *Heimerocallis middendorffii* plantlets *in vitro*. *J North For Univ*, 34 (2): 134–139 (in Chinese with English abstract) [刘伟超, 王政, 何松林等 (2019). 不同红蓝光质比对大花萱草组培苗增殖及生根的影响. 西北林学院学报, 34 (2): 134–139]
- Liu YF (2016). The establishment of *Heimerocallis middendorffii* callus induction and *Agrobacterium* mediated genetic transformation system (dissertation). Changchun: Jilin Agricultural University (in Chinese with English abstract) [刘一霏 (2016). 大苞萱草愈伤组织的诱导及农杆菌介导遗传转化体系的建立 (学位论文). 长春: 吉林农业大学]
- Liu YZ (2022). Functional analysis of flowering-related genes in *Heimerocallis* and CRISPR/Cas9 system mediated function knockout of flowering genes (dissertation). Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [刘颖竹 (2022). 萱草成花相关基因功能分析及 CRISPR/Cas9 系统介导成花基因功能敲除研究 (学位论文). 北京: 北京林业大学]
- Luo XK, Luo ZX, Wang L, et al (2020). Study on variation of flowering stalk height and its related traits in seed seedling of *Heimerocallis hybridus* Stella de Oro. *Hubei Agric Sci*, 59 (1): 78–81 (in Chinese with English abstract) [罗新凯, 罗振兴, 王利等 (2020). 金娃娃萱草种子苗花茎高度变异与相关性状研究. 湖北农业科学, 59 (1): 78–81]
- Lü XL, Yu ZQ, Chen XB, et al (2022). Rapid propagation technology and field production of *Heimerocallis fulva* cv. 'Fenmeiren'. *Chin Bull Bot*, 57 (3): 350–357 (in Chinese with English abstract) [吕秀立, 于泽群, 陈香波等 (2022). 粉美人萱草的快繁技术和大田种植. 植物学报, 57 (3): 350–357]
- Lü Y, Gao YK, Cui YX, et al (2022). Interfamily wide hybridization between daylily (*Heimerocallis*, Xanthorrhoeaceae) and lycoris (*Lycoris*, Amaryllidaceae). *Plant Breeding*, 141 (6): 820–827
- Ma CQ (2014). The studies on reproductive biology of *Heimerocallis lilio-asphodelus* Linn (dissertation). Harbin: Northeast Forestry University [马翠青 (2014). 北黄花草 (*Heimerocallis lilio-asphodelus* Linn) 繁殖生物学研究 (学位论文). 哈尔滨: 东北林业大学]
- Matand K, McGowan Z, Li CX (2021a). Shoot organogenesis and pluripotency profile in daylily whole flower bud. *J Biotech Res*, 12: 42–51
- Matand K, Shoemak M, Li CX (2020). High frequency *in vitro* regeneration of adventitious shoots in daylilies (*Heimerocallis* sp) stem tissue using thidiazuron. *BMC Plant Biol*, 20 (1): 31
- Matand K, Shoemake M, Li CX (2021b). *In vitro* daylily (*Heimerocallis* species) bract multiple shoot induction. *Afr J Biotechnol*, 20 (2): 43–50
- Ni DA, Liang J, Gao MY, et al (2020). Daylily glyoxalase gene cloning and pollen-tube pathway transformation. *Plant Physiol J*, 56 (2): 171–179 (in Chinese with English abstract) [倪迪安, 梁锦, 高马也等 (2020). 萱草乙二醛酶基因的克隆及花粉管通道法遗传转化. 植物生理学报, 56 (2): 171–179]
- Ni X, Ma Y (1984). Tissue culture of polyploid daylilies and its propagation. *Acta Horti Sin*, 11 (3): 202–206, 217 (in Chinese with English abstract) [倪新, 马毓 (1984). 多倍体萱草的组织培养及其繁殖. 园艺学报, 11 (3): 202–206, 217]
- Phillips CG, Garda M (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cell Dev-Pl*, 55 (3): 242–257
- Shang WQ, Wang Z, He SL, et al (2017). Effects of light quality ratio and intensity of red/blue light on growth of *Heimerocallis middendorffii* plantlets *in vitro*. *J Northwest A&F Univ (Nat Sci Ed)*, 45 (7): 90–96 (in Chinese with English abstract) [尚文倩, 王政, 何松林等 (2017). 不

- 同红蓝光质比和光照强度对金娃娃萱草试管苗生长的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 45 (7): 90–96]
- Song Y, Lei JJ, Hu XY (2007). Study on *in vitro* culture of *Hemerocallis fulva* stem. North Hortic, (1): 155–156 (in Chinese) [宋阳, 雷家军, 胡新颖 (2007). 萱草花茎离体培养研究. 北方园艺, (1): 155–156]
- Sun Y, Li MY, Liu S, et al (2019). The characteristics of seed germination and the dynamic changes of physiological indexes in *Hemerocallis lilioasphodelus*. Seed, 38 (7): 99–103 (in Chinese with English abstract) [孙颖, 李梦雨, 刘松等(2019). 北黄花菜种子的萌发特点及生理指标动态变化. 种子, 38 (7): 99–103]
- Szewczyk K, Kalemba D, Miazga-Karska M, et al (2019). The essential oil composition of selected *Hemerocallis* cultivars and their biological activity. Open Chem, 17 (1): 1412–1422
- Tan YX (2022). Functional analysis of glyoxalase I in daylily (*Hemerocallis* spp.) (dissertation). Shanghai: Shanghai Institute of Technology (in Chinese with English abstract) [谭雨馨(2022). 萱草乙二醛酶I基因功能分析(学位论文). 上海: 上海应用技术大学]
- Wang BH, Han QP (2007). Experiment on cuttage seedling raising of yellow cauliflower by scape cutting. China Cucurbits Veg, (4): 21–23 (in Chinese) [王本辉, 韩秋萍 (2007). 黄花菜花茎剪截促芽扦插育苗试验. 中国瓜菜, (4): 21–23]
- Wang BH, Rao XM (2001). Propagation technology of rhizome buds of daylily. China Veg, (6): 46 (in Chinese) [王本辉, 饶晓明(2001). 黄花菜根状茎芽块繁殖技术. 中国蔬菜, (6): 46]
- Wang J, Hu DM, Hou J, et al (2012). Study on tissue culture of *Hemerocallis citrine* Baroni ‘March Flower’. J Sichuan Univ (Nat Sci Ed), 56 (1): 167–172 (in Chinese with English abstract) [王静, 胡冬梅, 侯静等(2019). ‘三月花’黄花菜的组织培养研究. 四川大学学报(自然科学版), 56 (1): 167–172]
- Wang RM, Chu HN, Wang JY, et al (2019). Tissue culture and plant regeneration with dwarf stem of *Hemerocallis* plants. J Shanxi Agric Univ (Nat Sci Ed), 39 (3): 23–28 (in Chinese with English abstract) [王荣梅, 褚焕宁, 王金耀等(2019). 萱草属植物短缩茎组织培养及植株再生. 山西农业大学学报(自然科学版), 39 (3): 23–28]
- Wang XJ, Jin L, Chen JK (2005). Study on comparison of callus-induction of *H. hybrida* using different explants. Life Sci Res, 9 (3): 242–246 (in Chinese with English abstract) [王晓娟, 金樑, 陈家宽(2005). 大花萱草不同外植体诱导愈伤组织的比较研究. 生命科学研究, 9 (3): 242–246]
- Wang YC (2023). Cloning of *DWARF14* gene from daylily (*Hemerocallis* spp.) and exploration of its genetic transformation conditions (dissertation). Shanghai: Shanghai Institute of Technology (in Chinese with English abstract) [王艺程(2023). 萱草*DWARF14*基因的克隆及遗传转化条件的探索(学位论文). 上海: 上海应用技术大学]
- Wang YC, Zhang YC, Cai YM, et al (2019). *Hemerocallis fulva*: direct induction of adventitious bud and plant regeneration. Chin Agric Sci Bull, 35 (5): 64–69 (in Chinese with English abstract) [王艺程, 张永春, 蔡友铭等(2019). 大花萱草不定芽直接诱导和植株再生的研究. 中国农学通报, 35 (5): 64–69]
- Xie Y, Chen T, Ren HZ (2022). Rhizome weight and number of sectioning per rhizome determine plantlet growth and propagation rate of *Hemerocallis citrina* Baroni in cutting propagation. Agronomy, 12: 2777
- Yang LL, Wang DP, Zhang X, et al (2012a). Study on tissue culture technique in *Hemerocallis hybridus* ‘Stella de Oro’ using ovary as explants. Chin Agric Sci Bull, 28 (25): 184–190 (in Chinese with English abstract) [杨丽莉, 王德平, 张晓等(2012a). 以子房为外植体的‘金娃娃’萱草组织培养技术的研究. 中国农学通报, 28 (25): 184–190]
- Yang LL, Zhang X, Yang R, et al (2012b). Study on tissue cultivation technique in the *Hemerocallis hybrida* ‘Shaman’. North Hortic, (19): 134–137 (in Chinese with English abstract) [杨丽莉, 张晓, 杨睿等(2012b). 大花萱草‘莎蔓’的组织培养技术研究. 北方园艺, (19): 134–137]
- Zhang JR, Liu XJ, Chen LF, et al (2014). Rooting and transplanting in tissue culture of *Hemerocallis* ‘Nameless Pink’. J North For Univ, 42 (7): 95–99 (in Chinese with English abstract) [张洁茹, 刘晓嘉, 陈丽飞等(2014). 矮壮素对萱草组培苗生根及移栽的影响. 东北林业大学学报, 42 (7): 95–99]
- Zhang XY (2020). *In vitro* germination, storage and genetic transformation of *Hemerocallis fulva* pollen (dissertation). Shenyang: Shenyang Agricultural University (in Chinese with English abstract) [张馨悦(2020). 萱草花粉的离体萌发、贮存及遗传转化研究(学位论文). 沈阳: 沈阳农业大学]
- Zhang XY, Chen SP, Zhang AP, et al (2023). Establishment of tissue culture and propagation technology system of *Hemerocallis grandis*. Mol Plant Breed, 21 (23): 7834–7841 (in Chinese with English abstract) [张西英, 陈双萍, 张爱萍等(2023). 大花萱草组培扩繁技术体系的建立. 分子植物育种, 21 (23): 7834–7841]
- Zhang Y, Chen XF, Guo YL, et al (2021). Effects of different treatments on seed germination of *Hemerocallis citrina* Baroni. Shanxi J Agric Sci, 67 (11): 40–44 (in Chinese with English abstract) [张奕, 陈晓峰, 郭玉磊等(2021). 不同处理对黄花菜种子萌发的影响. 陕西农业科学, 67

- (11): 40–44]
- Zhao TR, Cai JG, Shi YT, et al (2013). Studies on flower structure and breeding system of *Hemerocallis hybridus* cv. ‘Stella de Oro’. *Pratac Sci*, 30 (1): 52–57 (in Chinese with English abstract) [赵天荣, 蔡建岗, 施永泰等(2013). 大花萱草‘金娃娃’的花器结构和繁育系统观察. 草业科学, 30 (1): 52–57]
- Zhao TR, Xu ZH, Huang J, et al (2015). Experiment on main breeding methods of *Hemerocallis fulva*. *J Zhejiang Agric Sci*, 56 (1): 82–85 (in Chinese) [赵天荣, 徐志豪, 黄坚等(2015). 大花萱草主要繁殖方式试验. 浙江农业科学, 56 (1): 82–85]
- Zhao YF, Chu BY, Vin X, et al (2011). Study on tissue culture and plant propagation system of *Hemerocallis hybrida* Hort. cv. Baltim ore oriole. *North Hortic*, (2): 152–155 (in Chinese with English abstract) [赵玉芬, 储博彦, 尹新彦等(2011). 大花萱草工厂化快繁技术研究. 北方园艺, (2): 152–155]
- Zhao ZA, Cao PP, Xiong M, et al (2020). The progress of tissue culture and cultivation of *Iris* L. *Genomics Appl Biol*, 39 (6): 2736–2740 (in Chinese with English abstract) [赵梓安, 曹潘攀, 熊淼等(2020). 鸢尾属植物的组织培养与栽培研究进展. 基因组学与应用生物学, 39 (6): 2736–2740]
- Zheng N, Wang XX, Cao DM (2015). Transformation of gro-bacteria-mediated CHS gene in *Hemerocallis hybrida*. *Chin Hortic Abstr*, 31 (2): 5–11 (in Chinese with English abstract) [郑楠, 王霞霞, 曹冬梅(2015). 农杆菌介导萱草植株CHS基因的转化. 中国园艺文摘, 31 (2): 5–11]
- Zhong R (2021). Cloning and expression analysis of invertaseinhibitor genes of daylily (*Hemerocallis* spp) (dissertation). Shanghai: Shanghai Institute of Technology (in Chinese with English abstract) [钟荣(2021). 萱草转化酶抑制蛋白的克隆和表达(学位论文). 上海: 上海应用技术大学]
- Zhong RJ (2018). “New flower of Mid-Autumn festival” *Hemerocallis in vitro* rapid propagation research (dissertation). Changsha: Hunan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [钟瑞洁(2018). “新发中秋花”萱草离体快速繁殖技术研究(学位论文). 长沙: 湖南农业大学]
- Zhou PH, Hu JJ, Fan HZ (1980). Preliminary study on tissue culture of *Hemerocallis flava* Linn. *J Hunan Agric Univ*, (4): 47–50 (in Chinese) [周朴华, 胡继金, 范鸿芝(1980). 黄花菜(*Hemerocallis flava* Linn)组织培养的初步研究. 湖南农学院学报, (4): 47–50]
- Zhu HF, Hu YH, Qu MT (2007). Studies on propagation technology of *Hemerocallis* horticulture variety. *J Anhui Agric Sci*, 35 (16): 4833–4834 (in Chinese with English abstract) [朱华芳, 胡永红, 瞿蒙滔(2007). 萱草园艺品种繁殖技术研究. 安徽农业科学, 35 (16): 4833–4834]
- Zuo GY (2022). The establishment and application of tissue-culture and rapid propagation system for *Hemerocallis citrina* cv. ‘Datong Huanghua’ (dissertation). Taigu, Shanxi: Shanxi Agricultural University (in Chinese with English abstract) [左高雅(2022). ‘大同黄花’组培快繁体系的建立与应用(学位论文). 山西太谷: 山西农业大学]
- Zuo GY, Li K, Guo YN, et al (2021). Development and optimization of a rapid *in vitro* micropropagation system for the perennial vegetable night lily, *Hemerocallis citrina* Baron. *Agronomy*, 14 (2): 244