

# 一叶兰的快速繁殖技术研究

谢 利, 周 欢, 张志胜, 贺一墨, 郭和蓉

(华南农业大学, 广东省植物分子育种重点实验室, 广东 广州 510642)

**摘 要:**以一叶兰无菌苗幼叶为外植体, 研究了一叶兰愈伤组织诱导、分化和生根的影响因素。结果表明:基本培养基、放置方式、外植体大小、植物生长调节剂和活性炭对一叶兰愈伤组织的诱导有显著影响, 将叶片切割为  $0.5\text{ cm}^2$ , 水平接入  $1/2\text{ MS} + \text{TDZ } 3.0\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.10\text{ mg/L} + \text{柠檬酸 } 0.10\text{ g/L}$  培养基中 45 d, 愈伤组织诱导率最高, 为 31.25%; 培养方式、切割处理、TDZ 和继代次数对一叶兰的芽分化有显著影响, 将愈伤组织转接到  $1/2\text{ MS} + \text{TDZ } 3.00\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.10\text{ mg/L} + \text{柠檬酸 } 0.10\text{ g/L}$  培养基中, 分化率为 114.81%; NAA 浓度和活性炭对生根影响显著, 在  $1/2\text{ MS} + 6\text{-BA } 0.10\text{ mg/L} + \text{NAA } 1.00\text{ mg/L} + \text{活性炭 } 1.00\text{ g/L}$  培养基中培养 30 d, 生根率为 39.26%。

**关键词:**一叶兰; 快速繁殖; 愈伤组织; 诱导; 分化; 生根

**中图分类号:**Q 81 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0080-04

一叶兰(*Aspidistra elatior*)属百合科蜘蛛抱蛋属多年生常绿草本植物, 又名蜘蛛抱蛋或箬叶。一叶兰叶形优美, 叶长可达 70 cm, 终年常绿, 鲜叶采下后, 保绿时间长, 是重要的切叶植物<sup>[1]</sup>; 可有效吸收甲醛, 释放醛类、酯类等植物挥发物, 还是良好的室内盆栽植物<sup>[2-4]</sup>; 通常采用分株繁殖, 但繁殖速度慢, 而且长期分株繁殖, 会使植株染上病毒, 降低品种品质, 通过组织培养手段和方法能够达到快速、高效繁殖的目的。周勇等<sup>[5]</sup>以根状茎为外植体对一叶兰的离体培养快繁技术进行了研究, 但对影响愈伤组织诱导、分化和生根过程中的各因素相互影响缺乏系统的研究。该试验以一叶兰无菌苗的幼叶为外植体, 系统地研究了影响一叶兰愈伤组织诱导、分化和生根的因素, 以期建立一叶兰的工厂化繁殖技术体系提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料一叶兰取自华南农业大学农场。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 消毒方法** 取一叶兰的嫩芽, 在自来水下冲洗 2~3 min, 再用无菌水冲洗 2~3 次。在超净工作台上用 75%酒精消毒 30 s 或 1 min 后, 再用 0.1%升汞溶液消毒 8、10、12、15 min, 无菌水洗涤 5 次, 然后接种到

$\text{MS} + 6\text{-BA } 1.5\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.1\text{ mg/L} + \text{AC } 0.2\text{ g/L} + \text{蔗糖 } 30\text{ g/L} + \text{卡拉粉 } 7.5\text{ g/L} + \text{CW } 100\text{ g/L}$  培养基中培养获得一叶兰无菌苗。

**1.2.2 愈伤组织的诱导** 以一叶兰无菌试管苗的叶片为外植体, 分别接种到不同研究内容的培养基上, 每瓶接种 4 片, 8 瓶为 1 次重复, 共重复 3 次。在温度为  $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、持续散射光照的培养室中培养 45 d, 记录形成愈伤组织的叶片数和褐化叶片数, 计算诱导率和褐化率。基本培养基的优化: 选择 MS、 $1/3\text{ MS}$  (大量减为  $1/3$ , 其余不变)、 $1/2\text{ MS}$  (大量减为  $1/2$ , 其余不变) 3 种培养基, 均附加 6-BA 1.50 mg/L、NAA 0.10 mg/L、AC 0.2 g/L、蔗糖 30 g/L、卡拉粉 7.5 g/L 和 CW 100 g/L。外植体放置方式和切割大小: 将一叶兰无菌苗叶片切割为  $0.30\text{ cm}^2$  和  $0.50\text{ cm}^2$  2 种大小, 水平和竖直 2 种旋转方式接入培养基中。植物生长调节剂浓度和配比的选择: 设置了 TDZ、NAA、6-BA 和 2,4-D 不同浓度和配比的 2 种培养基, 分别是: NAA 0.25 mg/L + 6-BA 1.50 mg/L + 2,4-D 0.05 mg/L 和 TDZ 3.00 mg/L + NAA 0.10 mg/L 及不添加任何植物生长调节剂。柠檬酸与活性炭: 在  $1/2\text{ MS} + \text{TDZ } 3.00\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.10\text{ mg/L} + \text{蔗糖 } 30\text{ g/L} + \text{卡拉粉 } 7.5\text{ g/L} + \text{CW } 100\text{ mL/L}$  的培养基中, 分别添加柠檬酸 0、0.10、0.20 g/L、活性炭 0、0.10、0.20 g/L。

**1.2.3 愈伤组织的分化** 将诱导获得的愈伤组织块分别接种到不同研究内容的培养基上, 每瓶接种 2 块, 15 瓶为 1 次重复, 共重复 3 次, 培养室条件同上, 30、60 d 后记录芽分化数(芽高于 0.5 cm), 计算芽分化率。培养方式: 设置固体培养和固液交替培养(液体培养 30 d 后转

**第一作者简介:**谢利(1974-), 女, 博士, 讲师, 研究方向为花卉遗传育种及组织培养。E-mail:xieli@scau.edu.cn.

**责任作者:**郭和蓉(1964-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事花卉栽培等工作。E-mail:guoherong@scau.edu.cn.

**基金项目:**农业部“948”资助项目(2008-Z19)。

**收稿日期:**2013-09-23

入固体培养基中培养 30 d)2 种方式。其中液体培养基为 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+柠檬酸 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+CW 100 mL/L,液体培养基中添加卡拉粉 7.5 g/L 为固体培养基。切割方式:设置愈伤组织块不切分和切分(一分为二)2 种方式,均接入 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L 的培养基中。TDZ 浓度:将不切分的愈伤组织块接入到添加不同浓度(0.00、0.30、3.00、4.00、5.00 mg/L)TDZ 的培养基中。继代次数:将不切分的愈伤组织块接入到 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L 的培养基中进行继代培养,继代时间为 30 d 继代 5、6、7、8 次。

1.2.4 根分化 选取芽高约 1.5 cm 左右的材料接入到含不同浓度 NAA 和活性炭的培养基中,其中 NAA 浓度为 1.00、1.20、1.50 mg/L,活性炭浓度为 0.20、1.00 mg/L。每瓶接种 3 株苗,10 瓶为 1 次重复,共重复 3 次,培养室条件同上,观察试管苗长势及生根情况,30 d 后记录根分化数,计算生根率和平均根数。

## 2 结果与分析

### 2.1 消毒方式对一叶兰无菌苗的影响

由表 1 可见,不同消毒方式的芽成活率均很低。其中 75%酒精 1 min+0.1% HgCl<sub>2</sub> 12 min 消毒方式的芽成活率最高,成活的芽均发育成无菌苗(图 1a~c)。

表 1 消毒方式对一叶兰无菌苗的影响

消毒方式	接种数 /个	污染数 /个	成活数 /个	污染率 /%	成活率 /%
75%酒精 30 s+0.1% HgCl <sub>2</sub> 8 min	30	30	0	100.00	0.00
75%酒精 1 min+0.1% HgCl <sub>2</sub> 8 min	36	35	0	97.22	0.00
75%酒精 1 min+0.1% HgCl <sub>2</sub> 10 min	60	58	1	96.67	1.67
75%酒精 1 min+0.1% HgCl <sub>2</sub> 12 min	55	52	3	94.55	5.45
75%酒精 1 min+0.1% HgCl <sub>2</sub> 15 min	62	57	2	91.94	3.23

### 2.2 影响一叶兰叶片愈伤组织诱导的因素

将一叶兰无菌苗叶片接种在培养基上,30 d 左右叶基部开始膨大,45 d 左右开始出现肉眼可见的愈伤组织(图 1d~f)。

#### 2.2.1 基本培养基对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

由表 2 可知,基本培养基对一叶兰叶片愈伤组织的诱导影响显著。1/2 MS 基本培养基的诱导率最高,为 20.83%;MS 基本培养基的诱导率最低。褐化率随基本培养基中大量元素浓度的降低而降低。

表 2 基本培养基对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

基本培养基	诱导率/%	褐化率/%
MS	10.42±1.04 b	26.04±2.08 a
1/2 MS	20.83±2.08 a	16.67±2.76 b
1/3 MS	18.75±3.61 ab	14.58±2.08 b

2.2.2 放置方式对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响 由表 3 可知,外植体放置方式对愈伤组织诱导率和褐化率的影响显著,叶片平放有利于愈伤组织的诱导,诱导率为 25.00%。

表 3 外植体放置方式对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

叶片放置方式	诱导率/%	褐化率/%
水平放置	25.00±1.80 a	12.50±1.80 b
竖直放置	13.54±2.08 b	20.83±2.08 a

注:培养基为 1/2 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+AC 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L。表 4 同。

#### 2.2.3 外植体大小对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

由表 4 可知,外植体大小对愈伤组织的诱导有显著影响,将一叶兰无菌苗叶片切割成 0.50 cm<sup>2</sup> 时更有利于愈伤组织的诱导。

表 4 叶片大小对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

叶片大小/cm <sup>2</sup>	诱导率/%	褐化率/%
0.30	16.67±2.76 b	28.13±1.80 a
0.50	27.08±1.04 a	11.46±1.04 b

2.2.4 植物生长调节剂对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响 由表 5 可知,植物生长调节剂的种类和浓度对叶片愈伤组织的诱导率影响显著。培养基中添加 TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L 时,愈伤组织的诱导效果最好;培养基中添加 NAA 0.25 mg/L+6-BA 1.50 mg/L+2,4-D 0.05 mg/L 次之。不添加任何植物生长调节剂时诱导率仅为 8.52%,这可能是由于材料经过一段时间培养后,体内有一定激素的积累造成。

表 5 植物生长调节剂对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

TDZ/mg·L <sup>-1</sup>	NAA/mg·L <sup>-1</sup>	6-BA/mg·L <sup>-1</sup>	2,4-D/mg·L <sup>-1</sup>	诱导率/%
0.00	0.00	0.00	0.00	8.52±0.98 c
0.00	0.25	1.50	0.05	14.81±0.37 b
3.00	0.10	0.00	0.00	24.81±0.98 a

注:培养基为 1/2 MS+AC 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L。

2.2.5 柠檬酸和活性炭对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响 由表 6 可知,柠檬酸和活性炭对叶片愈伤组织的诱导率和褐化率有显著影响。培养基中添加柠檬酸 0.10 g/L,愈伤组织诱导率最高,且褐化率最低;培养基中添加 AC 0.10 g/L 的诱导效果次之,但褐化率较高。浓度相同时,添加柠檬酸的褐化率低于活性炭。这说明在一叶兰叶片愈伤组织诱导培养过程中,柠檬酸对褐化的抑制效果更好。

表 6 柠檬酸和活性炭对一叶兰叶片愈伤组织诱导的影响

柠檬酸/g·L <sup>-1</sup>	AC/g·L <sup>-1</sup>	诱导率/%	褐化率/%
0.00	0.00	20.83±1.04 bc	32.29±2.76 a
0.10	0.00	31.25±1.80 a	15.63±3.13 c
0.20	0.00	16.67±2.76 c	18.75±1.80 bc
0.00	0.10	25.00±1.80 ab	26.04±2.76 ab
0.00	0.20	15.63±3.61 c	26.04±1.04 ab

## 2.3 影响一叶兰愈伤组织分化的因素

2.3.1 培养方式对一叶兰愈伤组织分化的影响 由表 7 可知,培养方式对愈伤组织块芽分化有一定影响,固液交替培养的芽分化率显著高于固体培养方式时的芽分化率。

表 7 培养方式对一叶兰叶片愈伤组织块芽分化的影响

培养方式	芽分化率/%	褐化率/%
固体培养	5.21±0.60 b	11.81±1.25 a
固液交替培养	11.46±1.04 a	11.11±0.35 a

2.3.2 切割方式对一叶兰愈伤组织分化的影响 由表 8 可知,将整块和一分二的愈伤组织接入培养基中,二者之间的芽分化率差异不显著,但褐化率差异显著。说明不切分处理有利于减轻愈伤组织块的褐化。

表 8 切割方式对一叶兰叶片愈伤组织芽分化的影响

丛芽处理方式	芽分化率/%	褐化率/%
切分	8.89±1.70 a	10.00±0.64 a
不切分	12.96±0.98 a	6.30±0.37 b

## 2.3.3 TDZ 浓度对一叶兰愈伤组织块芽分化的影响

由表 9 可知,将整块愈伤组织接入 TDZ 浓度不同的培养基上,各处理中愈伤组织的芽分化率存在差异。TDZ 浓度为 3.00 mg/L 时,芽分化率最高;TDZ 浓度过低不利

于愈伤组织的芽分化;TDZ 浓度在 3.00~5.00 mg/L 之间时,一叶兰叶片愈伤组织的芽分化差异不明显。

表 9 TDZ 浓度对一叶兰叶片愈伤组织块芽分化的影响

TDZ/mg · L <sup>-1</sup>	芽分化率/%
0.00	3.70±0.37 c
0.30	6.67±0.64 b
3.00	17.78±0.64 a
4.00	15.93±1.61 a
5.00	15.19±0.74 a

注:培养基为 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L。

2.3.4 继代次数对一叶兰愈伤组织分化的影响 同一愈伤组织块经切除芽和褐化部分后进行继代(图 1-g)。随着继代次数的增加,芽分化率显著增加,见表 10。继代第 8 次时,芽较多、整齐且芽点较多(图 1-h),芽分化率为 193.33%,显著高于前 3 次继代的芽分化率。

表 10 继代次数对一叶兰叶片愈伤组织块芽分化的影响

继代次数	芽分化率/%	芽分化长势
第 5 次	66.67±22.22 c	芽少,芽点也少
第 6 次	114.81±16.97 b	芽较多,不整齐,芽点少
第 7 次	135.00±5.00 b	芽较多,整齐,芽点较多
第 8 次	193.33±5.77 a	芽较多,较整齐,芽点较多

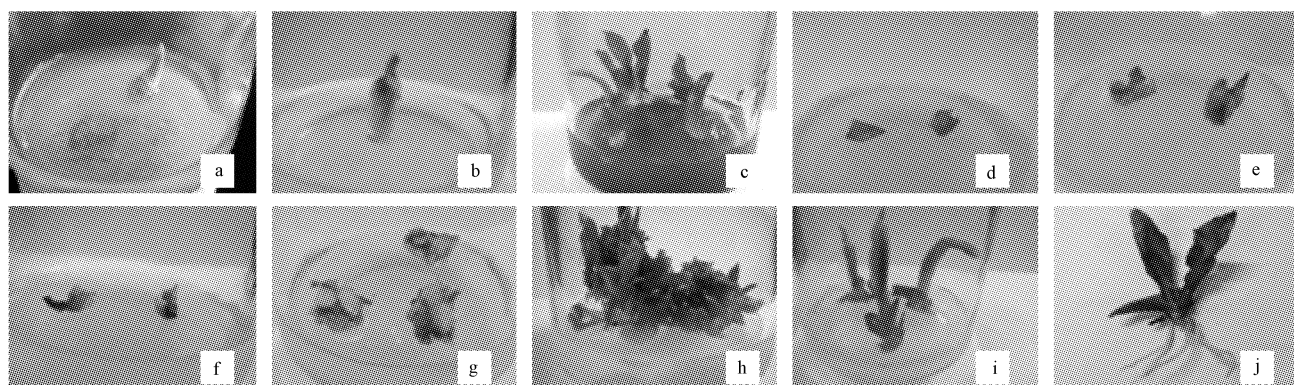


图 1 一叶兰的快速繁殖

注:a:进行诱导的一叶兰幼芽;b:诱导后叶慢慢展开的芽;c:芽经培养后形成的无菌苗;d:进行愈伤组织诱导的无菌苗叶片;e:30 d 后叶基部膨大的叶片;f:45 d 后出现愈伤组织的叶片;g:切除芽和褐化部分进行继代培养的愈伤组织;h:继代第 8 次后的愈伤组织块;i:进行根分化培养 30 d 后的试管苗;j:添加 1.00 g/L 活性炭进行根分化培养 30 d 后待移栽的试管苗。

## 2.4 NAA 浓度和活性炭浓度对一叶兰生根的影响

2.4.1 NAA 浓度对一叶兰生根的影响 NAA 浓度对一叶兰生根率和平均根数有影响。由表 11 可知,NAA 浓度在 1.00~1.50 mg/L 范围内一叶兰的生根率均较低,当其浓度为 1.20 mg/L 时生根率最高,为 21.22%,平均根数为 1.33 条。各处理中试管苗的长势较好,1 个月以后苗高都能达到 4 cm 以上(图 1-i)。

2.4.2 活性炭浓度对一叶兰生根的影响 由表 12 可知,活性炭浓度对一叶兰生根率和平均根数影响显著,生根率随活性炭浓度的增加而显著升高,其中以添加活

表 11 NAA 浓度对一叶兰组培苗生根的影响

NAA /mg · L <sup>-1</sup>	6-BA /mg · L <sup>-1</sup>	生根率 /%	平均根数 /条	试管苗长势
0.00	0.00	2.11±0.58 b	0.50±0.29 b	根少,苗弱,苗高约 2 cm
1.00	0.10	19.00±2.59 ab	0.67±0.33 ab	根少,苗较壮,苗高>4 cm
1.20	0.10	21.22±3.35 a	1.33±0.17 ab	根少但粗壮,苗较壮,苗高>4 cm
1.50	0.10	16.78±0.40 a	1.50±0.29 a	根少但粗壮,苗壮,苗高>4 cm

注:1/2 MS+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L。



表 12 活性炭浓度对一叶兰组培苗生根的影响

AC/g·L <sup>-1</sup>	生根率/%	平均根数/条	试管苗长势
0.00	2.22±0.64 c	1.50±0.29 c	根少且细,苗弱
0.20	18.89±0.64 b	2.59±0.05 b	根少但粗壮,苗较壮
1.00	39.26±1.61 a	4.13±0.07 a	根较多且粗壮,苗壮

注:培养基为 1/2 MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 1.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L。

性炭 1.00 g/L 的处理生根效果最好,生根率达 39.26%,平均根数为 4.13 条,且根多而壮(图 1-j)。这说明活性炭对无根苗的生根有显著的促进作用,对生根数也有一定的影响。

### 3 结论与讨论

无菌外植体的获得是开展组织培养快速繁殖的基础。该研究表明,由于一叶兰根茎上的芽长期埋在基质中,带菌较多,较难消毒,致使无菌外植体的获得率很低。如何进一步提高无菌外植体的获得率有待进一步研究。

基本培养基、外植体大小和放置方式、植物生长调节剂、柠檬酸和活性炭浓度等对一叶兰叶片愈伤组织的诱导影响明显。基本培养基是影响外植体褐化和初代培养效果的重要因素,降低培养基的无机盐浓度可减轻褐变<sup>[6]</sup>。在植物组织培养时,外植体大小是影响其脱分化的重要因素。该试验发现外植体大小对愈伤组织的诱导有一定影响,该结果与前人在蝴蝶兰叶片<sup>[7]</sup>、甘薯茎尖<sup>[8]</sup>和黄瓜子叶<sup>[9]</sup>的研究结论一致。将一叶兰无菌苗叶片切成 0.50 cm<sup>2</sup> 大小,水平接入 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+柠檬酸 0.1 mg/L 的培养基上培养,愈伤组织的诱导率最高。

愈伤组织的培养方式、切割方式和 TDZ 浓度对一叶兰愈伤组织块分化的影响明显。固液交替培养有利于丛生芽的分化,通过振荡液体,可确保最大的气相表面,造成较好的通气条件,并能使材料与液体充分接触,更充分地吸收营养,使其生长更快。这一研究结果与孙志栋等<sup>[10]</sup>的研究结果相似。将诱导获得的愈伤组织整

块接入 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+柠檬酸 0.1 mg/L 的培养基上,继代 8 次后芽分化率可达 193.33%。

活性碳在植物组织培养中被广泛应用,因其强大的吸附能力,可抑制植物组织中酚类物质产生,减轻褐变老化现象。该研究发现,NAA 和活性炭浓度对一叶兰根分化的影响明显,提高活性炭的浓度对生根有显著促进作用。将高约 1.5 cm 的芽接入添加 1.00 g/L 活性炭的 1/2 MS+6-BA 0.10 mg/L+NAA 1.20 mg/L+蔗糖 30 g/L+卡拉粉 7.5 g/L+CW 100 mL/L 培养基上,生根率可达 39.26%。

在建立一叶兰快速繁殖技术体系的过程中,发现褐化现象都比较严重,添加柠檬酸虽然可以降低褐化率,但仍然得不到控制;另外,在生根壮苗阶段,苗生长较快,而生根却比较缓慢。这些问题都有待进一步的研究。

### 参考文献

- [1] 王元军. 观叶植物蜘蛛抱蛋的栽培[J]. 北方园艺, 2005(1):7.
- [2] 许桂芳. 7 种观赏植物对甲醛的净化效果及生理响应[J]. 中国农学通报, 2012, 28(19):266-269.
- [3] Dingle P, Tapsell P, Hu S. Reducing Formaldehyde Exposure in Office Environments Using Plants[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2000, 64(2): 302-308.
- [4] 冯青, 高群英, 张汝民, 等. 3 种百合科植物挥发物成分分析[J]. 浙江农林大学学报, 2011, 28(3):513-518.
- [5] 周勇, 雷强军, 刘良宏. 一叶兰的组织培养和快速繁殖[J]. 科协论坛, 2008(7):72.
- [6] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社, 1997:150-156, 234-241.
- [7] 黄磊, 陈之林, 吴坤林, 等. 切割方式和外植体大小对蝴蝶兰叶片诱导类原球茎的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(3):261-266.
- [8] 唐君, 赵冬兰, 刘亚菊. 外植体对甘薯茎尖培养与植株再生的影响[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4):121-122, 131.
- [9] Nawab A, Robert M S, Walter E S. Regeneration of *Cucumis sativus* from cotyledons of small explants [J]. Hort Sci, 1991, 26(7):925-927.
- [10] 孙志栋, 陈惠云, 葛红, 等. 中国春兰组织培养初探[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(1):20-21.

## Research on Micropropagation Technology of *Aspidistra elatior*

XIE Li, ZHOU Huan, ZHANG Zhi-sheng, HE Yi-mo, GUO He-rong

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642)

**Abstract:** Using young leaves of *Aspidistra elatior* as explant, the induction, bud differentiation and root differentiation of the callus of *Aspidistra elatior* were studied. The results showed that the basic medium, inoculation manner, size of explant, plant growth regulator, citric acid and active carbon significantly influenced the induction of callus. The induction rate was highest (31.25%) when leaf segments of 0.5 cm<sup>2</sup> were horizontally inoculated on the medium of 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+citric acid 0.10 g/L for 45 days. Culture method, cutting treatment, TDZ and the number of subculture significantly affected the differentiation rate of bud. The bud differentiation rate was the highest (114.81%) when callus cultured in 1/2 MS+TDZ 3.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L+citric acid 0.1 g/L. NAA and active carbon significantly influenced root differentiation. When the buds cultured in 1/2 MS+6-BA 0.10 mg/L+NAA 1.00 mg/L+active carbon 1.00 mg/L for 30 days, the root differentiation rate was 39.26%.

**Key words:** *Aspidistra elatior*; rapid propagation; callus; induction; differentiation; root differentiation