

甘肃贝母的组织培养和植株再生研究

张振霞¹, 李彩萍¹, 张秋枚¹, 董婷霞², 詹华强², 郑玉忠¹

(1. 韩山师范学院 生物学系, 广东 潮州 521041; 2. 香港科技大学 生命科学部, 香港 999077)

摘要:以甘肃贝母地下鳞茎为试材,研究了不同消毒方法、不同激素组合对其鳞茎的诱导增殖及植株再生的影响,以期建立甘肃贝母的快速无性繁殖体系。结果表明:用70%乙醇处理15 s,0.1%升汞处理10 min,无菌水洗5次,然后在4℃中冷藏过夜,第2天重复上述灭菌步骤的连续消毒的方式灭菌效果很好,其染菌率为16.7%;诱导鳞茎不定芽的最佳培养基是MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L,出芽率较高,为87.5%,能分化出的绿色健壮的不定芽;继代增殖培养基是MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L,增殖系数达到9;生根的最佳培养基是1/2MS+NAA 0.5 mg/L,生根率90%。该试验基本建立了甘肃贝母植株的再生体系,为其愈伤组织的增殖和完整植株的再生提供了重要的研究基础。

关键词:甘肃贝母;组织培养;鳞茎;增殖

中图分类号:S 567.23⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0080-05

甘肃贝母(*Fritillaria przewalskii* Maxim)为著名的药材“川贝”主要来源之一,入药部位为地下鳞茎,具有清热润肺、化痰止咳等功效^[1]。甘肃贝母野生于高海拔、阳光充足、腐殖质丰富、土壤疏松的山区里,分布于甘肃南部等地区^[2]。贝母在临床中被广泛使用,但正品川贝母资源匮乏,人工栽培很困难,生长周期长,商品药材全靠采挖野生资源,由于连年过度采挖,资源日趋减少并面临枯竭^[3-4]。因此,为了扩大珍贵药源,现利用植物生物技术研究贝母地下鳞茎诱导增殖,以期贝母人工培育提供重要的理论基础,同时为甘肃贝母规模化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试甘肃贝母(*Fritillaria przewalskii*)的地下鳞茎于2012年6月采挖于甘肃甘南地区。

以MS为基本培养基,附加蔗糖30 g/L,琼脂7 g/L, pH 5.8,不同浓度2,4-D、NAA、6-BA等激素。所有培养基均在121℃条件下高压灭菌15 min。

培养室温度(25±1)℃,空气相对湿度50%~60%,光照时间12 h/d,光照强度1 000~1 500 lx。

第一作者简介:张振霞(1975-),女,博士,副教授,现主要从事植物生物技术等研究工作。E-mail:zhangzhenxia2006@gmail.com。

责任作者:郑玉忠(1977-),男,博士,副研究员,现主要从事中药学等研究工作。E-mail:zhengyuzhong@gmail.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81202907)。

收稿日期:2014-01-21

1.2 试验方法

1.2.1 不同消毒方法对甘肃贝母鳞茎的影响 选取白嫩、健康的新鲜贝母地下鳞茎,自来水下冲洗1~2 h,置于超净工作台上进行表面消毒,接种于附加不同浓度6-BA与NAA组合的MS培养基中进行培养,接种7 d后比较染菌率及存活状态,筛选出适合贝母鳞茎外植体的灭菌方式。

1.2.2 不同生长素对甘肃贝母鳞茎诱导培养的影响 选用当年生鳞茎作为外植体,将其切片0.5 cm大小,接种在含有不同浓度生长素和6-BA的诱导培养基中,培养周期为30 d,比较筛选生长素NAA和2,4-D对甘肃贝母鳞茎增殖诱导的影响。

1.2.3 不同细胞分裂素对甘肃贝母鳞茎增殖培养的影响 选用当年生鳞茎作为外植体,将其切成0.5 cm大小,在MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L培养基的基础上,比较细胞分裂素6-BA、KT和TDZ对甘肃贝母鳞茎增殖诱导的影响。

1.2.4 甘肃贝母鳞茎继代培养 将甘肃贝母鳞茎初代培养分化出不定芽进行继代培养,将新生芽一分为二,转移到增殖培养基MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L和MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L中,每种培养基接种50块,比较NAA和6-BA对其继代生长的影响。

1.2.5 甘肃贝母鳞茎诱导生根培养 将生长较一致且健壮的未生根的绿色的鳞芽单株转入生根培养基,培养15 d后统计根数和出根率。

1.2.6 甘肃贝母不定根的诱导增殖 甘肃贝母鳞茎诱

导增殖培养过程中,发现在外植体周围长出许多黄绿色、粗短的不定根。将这种不定根切段 1.0~1.5 cm 长度,接种在不同激素配比的 MS 培养基上,研究不定根的诱导增殖,30 d 后统计结果。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对甘肃贝母外植体的影响

从表 1 可以看出,用 70%乙醇处理 15 s,0.1%升汞处理 10 min,无菌水洗 5 次,然后在 4℃中冷藏过夜,第 2 天重复上述灭菌步骤的连续消毒的灭菌效果比较好,连续 2 次消毒方式更适合于甘肃贝母鳞茎器官的表面灭菌。

表 1 不同消毒方法对甘肃贝母鳞茎的影响

Table 1 Effect of different sterilize methods on bulbs of *F. przewalskii*

消毒方法 Disinfection methods	染菌外植体数/接种数 No. of pollution /No. of explants	染菌率 Pollution rate/%
70%乙醇 10 s,0.05%升汞 10 min,无菌水 5 次	35/42	83.3
70%乙醇 30 s,0.05%升汞 8 min,无菌水 5 次	28/40	70.0
70%乙醇 15 s,10%次氯酸钠 20 min,无菌水 5 次	27/40	67.5
70%乙醇 15 s,0.1%升汞 10 min,无菌水 5 次	23/45	51.1
70%乙醇 15 s,0.1%升汞 10 min,无菌水 5 次, 冰箱 4℃冷藏过夜,第 2 天重复上述灭菌步骤	7/42	16.7

2.2 不同生长素激素配比对贝母鳞茎诱导的影响

甘肃贝母鳞茎切片培养 10 d 左右发现,从贝母外植体切块四周逐渐分化出小的不定芽(图 1、2)。由表 2 可知,培养基中生长素 NAA 和 2,4-D 的浓度不同,对鳞茎诱导效果也不同。NAA 的浓度从 1.0、2.0 mg/L 到 4.0 mg/L 的变化中,新生芽的诱导也更加旺盛密集,同时芽也更加健壮,有些稍带翠绿。但 4.0 mg/L NAA 条件下,新生芽的数量低于 2.0 mg/L NAA 的,而且新生芽健康程度也稍差些。2.0 mg/L 2,4-D 对贝母鳞茎芽诱导也有较好的影响,新生芽长势旺盛;2,4-D 浓度为 4.0 mg/L 时,诱导的芽更细小。可见,生长素 NAA 和 2,4-D 对于贝母鳞茎诱导均有明显的促进作用,其中 MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 的出芽率达 87.5%,新生芽的状态最佳。



图 1 培养 10 d 的贝母鳞茎

Fig. 1 Fritillary bulb of cultured 10 d

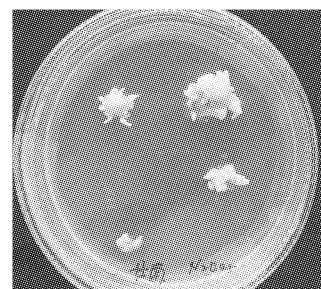


图 2 培养 30 d 的贝母鳞茎

Fig. 2 Fritillary bulb of cultured 30 d

表 2 不同生长素激素对比对贝母鳞茎诱导的影响

Table 2 Effect of different auxin hormones to induced proliferation on bulbs of *F. przewalskii*

NAA /mg · L ⁻¹	2,4-D /mg · L ⁻¹	6-BA /mg · L ⁻¹	出芽块数 /总接种数 No. of bulbs /explants	出芽率 Seedling rate/%	芽的生长状况 Status of bulbs
1.0	—	0.2	15/40	37.5	出芽数中只有 5 个变壮
1.0	—	0.5	17/40	42.5	有 7 个变壮
2.0	—	0.5	35/40	87.5	芽长势旺盛,分生小芽聚在一块,壮芽较多,小芽变绿
4.0	—	0.5	19/35	54.3	其中 9 个芽壮大明显
—	2.0	0.5	23/37	62.2	芽的长势旺盛,芽发绿,其中有 2 个壮大较为明显
—	4.0	0.5	14/40	35.0	芽发绿,抽小芽,其中 5 个大芽
0.5	—	2.0	30/36	83.3	芽的长势旺盛,芽小、过密集,有些稍带翠绿

2.3 不同细胞分裂素对甘肃贝母鳞茎增殖培养的影响

表 3 结果表明,当 NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+TDZ 1.0 mg/L 时,外植体愈伤化,而且边缘泛黄色、单芽质量差,有的还出现畸形、玻璃化等现象;当 NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L 时,芽的长势旺盛,芽硕大,而且边缘泛黄,分化出的新芽出现畸形;而 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 培养基上的诱导效果最佳,出芽率最高,为 83.3%,分化出的不定芽叶色稍带浅绿、有些叶片展开,芽健壮(图 3)。



图 3 继代培养后出现绿芽

Fig. 3 Green buds after subculturing

表 3 不同细胞分裂素对甘肃贝母鳞茎增殖培养的影响

Table 3 Effect of different cytokinin hormones to induce proliferation on bulbs of *F. przewalskii*

NAA /mg · L ⁻¹	6-BA /mg · L ⁻¹	TDZ /mg · L ⁻¹	KT /mg · L ⁻¹	出芽数/总接种数 No. of bulbs/explants	出芽率 Seedling rate/%	芽的生长状况 Growth status of bulbs
0.5	2.0	—	—	30/36	83.3	芽的长势旺盛,芽小、过密集,有些稍带翠绿
0.5	2.0	1.0	—	12/32	37.5	外植体愈伤化,而且边缘泛黄色、单芽质量差,有的还出现畸形、玻璃化等现象
0.5	2.0	—	1.0	4/32	12.5	芽的长势旺盛,芽硕大,而且边缘泛黄,分化芽出现畸形

2.4 不同生长素激素比对甘肃贝母鳞茎继代增殖培养的影响

培养 10 d 后就发现在外植体块长出不少新芽,35 d 后统计芽数,出芽率达 100%。2 种培养基上鳞茎增殖长势极好,长势旺盛,芽大且集中,MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 更优,增殖系数达到 9.00(表 4)。

表 4 不同生长素激素比对甘肃贝母鳞茎继代增殖培养的影响

Table 4 Effect of different auxin hormones to subculture of proliferated on bulbs of *F. przewalskii*

NAA /mg · L ⁻¹	6-BA /mg · L ⁻¹	外植体数 No. of explants/个	出芽数 No. of bulbs/个	增殖系数 Proliferated coefficient	芽的生长状况 Growth status of bulbs
0.5	2.0	46	414	9.00	长势旺盛,芽大,集中
2.0	0.5	42	263	6.26	芽长势旺盛,芽小,底部愈伤化且偏黄

2.5 不同生长素激素比对甘肃贝母鳞茎生根培养的影响

甘肃贝母鳞茎诱导增殖培养过程中,发现在鳞茎外植体周围长出许多黄绿色、长短粗细各异的不定根,可见贝母鳞茎生根相对容易。培养 30 d 后研究发现,NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 和 NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 的培养基中,2 种条件下的生根效率接近,但是前者的根粗壮,鹅黄色;后者中有 9 个外植体的根较细、玻璃化,10 个根粗壮、有侧根;6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 2.0 mg/L 的培养基也能促进生根,只是长出的根均呈现玻璃化;NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+TDZ 1.0 mg/L 的条件下也有 30.43% 的生根率,相比之下根较粗短,也有玻璃化现象。1/2MS 培养基中上添加

NAA、IBA 通常是有利于生根,在该试验中发现,NAA 0.5 mg/L 中,培养 10 d 后,就长出健壮的根,约 90% 的鳞茎生根密集,长势好,同时 6 块鳞茎能不断抽新芽。在 1/2MS+NAA 0.1 mg/L、1/2MS+IBA 0.5 mg/L 和 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L 的条件中,生根效果并不突出。综合比较,贝母鳞茎生根对培养成分的要求不高,试验过程中基本都能生根,但 MS+NAA 0.5 mg/L 的培养基上生根系数最高,长出的根更加健壮,生根速率也快,结果统计见图 4、5 和表 5。

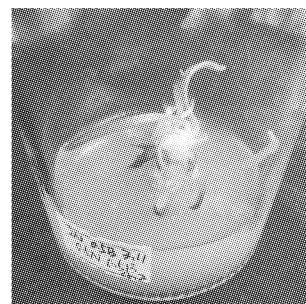


图 4 长大的鳞茎绿芽

Fig. 4 Grown green bulb



图 5 生根培养

Fig. 5 Rooting culture

表 5 不同生长素激素比对甘肃贝母鳞茎生根培养的影响

Table 5 Effect of different auxin hormones to rooting culture on bulbs of *F. przewalskii*

NAA /mg · L ⁻¹	IBA /mg · L ⁻¹	6-BA /mg · L ⁻¹	2,4-D /mg · L ⁻¹	TDZ /mg · L ⁻¹	生根个数/接种数 No. of rooting/explants	生根率 Rooting rate/%	根的生长状况 Growth status of root
0.5	—	2.0	—	—	19/31	61.30	生根率高
2.0	—	0.5	—	—	18/30	60.00	丛生很多粗壮根,鹅黄色,3 个玻璃化
—	—	0.5	2.0	—	22/32	68.75	根呈现玻璃化
0.5	—	2.0	—	1.0	7/23	30.43	根较短粗,鹅黄色,部分玻璃化
0.5	—	—	—	—	27/30	90.00	根壮且修长,生长密集,速度快
0.1	—	—	—	—	4/24	16.70	根细小,短
—	0.5	—	—	—	8/22	36.30	根极短,玻璃化
0.5	0.5	—	—	—	12/24	50.00	根细长

2.6 不同生长素激素配比对甘肃贝母不定根诱导增殖的影响

由表 6 和图 6 可知,在 NAA 1.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L 的培养基上,培养 10 d 后逐渐分化出新的不定根,黄绿色,粗短;NAA 1.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 培养基上的不定根增殖更加明显,长势好,诱导出的新根粗壮;在培养基 NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 中,培养 5 d 后,外植体逐渐变绿,随后逐渐分化出根,继续培养 20 d 后,根又逐渐由绿色变回黄绿色并且逐渐变壮,诱导出的根较长,生根密集。3 种培养基的生根率高,其中 NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 的生根率最佳,高达 88.00%,生根密集,NAA 1.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 诱导出的根最壮。

表 6 不同生长素激素配比对甘肃贝母不定根诱导增殖影响

Table 6 Effect of different auxin hormones to proliferation of adventitious root of *F. przewalskii*

NAA /mg · L ⁻¹	6-BA /mg · L ⁻¹	根数/总接种数 No. of rooting /explants	生根率 Rooting rate/ %	根的生长状况 Status of root
1	0.2	18/25	72.00	新生根较粗且短,长势不太好
1	0.5	18/23	78.26	新生根粗壮且短
2	0.5	22/25	88.00	丛生很多根,根较粗壮



图 6 生根的诱导增殖

Fig. 6 Inducing proliferation of rooting

3 讨论与结论

甘肃贝母的地下鳞茎带菌严重,通常的消毒方法往往难以取得满意的效果。已查阅的资料基本是传统的灭菌方法^[5-8],即采用 70% 的酒精浸泡 30 s,0.1%~0.2% 的 HgCl₂ 处理 5~8 min,无菌水漂洗 5~8 次。该研究采用上述方法,但消毒效果却不甚理想。这主要由于贝母鳞茎通常都是 2~3 枚鳞叶相互合抱,加剧了外植体消毒处理的难度。而调整之后的消毒方法则取得

不错的结果:70% 乙醇浸泡 15 s,50.1% 升汞浸泡 10 min,无菌水清洗 5 次,置于 4℃ 冰箱过夜,第 2 天重复以上步骤的消毒方式,获得外植体的染菌率最低,为 16.7%。

生长素和细胞分裂素的配比对于外植体离体培养的发育方向起到关键作用^[5]。在贝母鳞茎的诱导增殖培养中,王鹤娉等^[6]认为 MS+NAA 2.0 mg/L+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+KT 0.2 mg/L 培养基的诱导效果好,马吉义^[5]指出 MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 培养基上的鳞茎出芽率高,分化出的新芽健壮。该试验在 MS 基本培养基上,采用不同浓度的生长素和不同细胞分裂素处理,结果表明,NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L、NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L、2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 的 3 种组合条件对甘肃贝母鳞茎诱导增殖效果都良好,芽的长势旺盛,其中 NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 的激素组合对甘肃贝母鳞茎的诱导增殖优势更加明显,出芽率达到 87.5%,芽更健壮,绿芽也较多。

该研究发现甘肃贝母鳞茎生根相对容易。在鳞茎增殖诱导过程中,不但生根培养中常用的 NAA、IBA 和 2,4-D 生长素对贝母鳞茎的生根有作用,而且 6-BA、KT 和 TDZ 等细胞分裂素也能诱发生根现象,长出许多黄绿色、长短、粗细各异的不定根,该研究还将诱导出的健壮根切段用不同浓度 NAA 和 6-BA 诱导,发现也极易诱导增殖大量不定根。总体来说,1/2MS+NAA 0.5 mg/L 的培养基上生根系数最高,根更健壮,生根速率也快。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [2] 王书军, 高文远, 于琳, 等. 百合科贝母属药用植物分类研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(16): 1609-1614.
- [3] 李隆云, 周裕书, 代敏, 等. 暗紫贝母鳞茎再生组织培养技术研究[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(2): 78.
- [4] 张寿文, 刘贤旺. 贝母属植物的组织培养研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(2): 187-190.
- [5] 马吉义. 暗紫贝母的组织培养和植株再生[D]. 西宁: 青海师范大学, 2011.
- [6] 王鹤娉, 安力, 陈垣, 等. 岷贝母小鳞茎再生诱导效应的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2009, 44(3): 50-52.
- [7] 高燕, 贺宾, 王艳, 等. 贝母愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 新疆农业科学, 2005, 42(1): 35-37.
- [8] 李余先, 陈凯锋. 平贝母鳞茎离体培养研究[J]. 北方园艺, 2010(3): 121-122.

Study on Tissue Culture and Plant Regeneration of *Fritillaria przewalskii* Maxim

ZHANG Zhen-xia¹, LI Cai-ping¹, ZHANG Qiu-mei¹, DONG Ting-xia², TSIM Karl Wah-keung², ZHENG Yu-zhong¹

(1. Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou, Guangdong 521041; 2. Center for Chinese Medicine R & D, Hongkong University of Science and Technology, Hongkong 999077)

兴安白头翁组织培养与快繁技术研究

王玉娇¹, 杨忠², 赵春莉¹, 董然¹, 赵和祥¹, 顾德峰¹

(1. 吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118; 2. 德惠市农业科技宣传教育中心, 吉林 德惠 130399)

摘要:以兴安白头翁种子无菌苗幼芽为外植体,进行了组织培养与快繁技术研究。结果表明:兴安白头翁种子以 0.1% 氯化汞灭菌的最佳时间为 4 min;种子萌发的最佳培养基为 MS+IAA 0.1 mg/L;兴安白头翁愈伤组织最佳诱导培养基为 MS+2,4-D 0.15 mg/L+6-BA 1.0 mg/L;培养基 MS+IAA 1.0 mg/L+ZT 0.2 mg/L 最适合兴安白头翁愈伤组织不定芽的诱导;1/2MS+NAA 2.0 mg/L 为兴安白头翁的最佳生根培养基;草炭、园土及其等比混合基质对兴安白头翁移栽成活率影响不大,均达 90% 以上。

关键词:兴安白头翁;无菌苗;植物生长激素;组织培养

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0084-04

白头翁(*Anemone chinensis*)属毛茛科多年生草本植物,别名白头草、老姑草等,在吉林、辽宁、河北、黑龙江等省均有分布。白头翁本属植物共有 43 个种,主要分布在欧洲,我国有 11 个种和 1 个变种^[1]。东北地区有 8 种,吉林省分布有白头翁(*Pulsatilla chinensis*)、朝鲜白头翁(*P. cernua*)和兴安白头翁(*P. dahurica*)3 种^[2]。

白头翁的药用价值很高,全草含三萜皂苷,具有清热解毒、凉血止痢等功效^[3-4]。现代医学研究证明,白头翁的乙醇提取物有镇静和抑制肿瘤细胞的作用^[5-6]。白头翁全株有芳香气味,株形美观,淡紫色花序,叶奇形

美,花色绮丽,是一种极具开发潜力的野生花卉,可作为小区绿化的重点花卉品种,与草坪搭配更是锦上添花。

白头翁集药用和观赏双重功效,具有很好的开发前景。但是白头翁生态分布极具局限性,植物资源有限,远远不能满足当今市场的需求量。同时关于白头翁的研究主要集中在药用成分分析及药理两方面,对于白头翁栽培繁殖的研究较少。目前,白头翁仍处于野生状态,人工播种栽培量极少。为了保护白头翁野生资源和满足市场需求,加大对白头翁资源的利用,该试验通过对白头翁的组织培养研究,建立最佳的繁殖体系,以期白头翁进一步开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试外植体均为采自 2013 年 5~6 月长白山兴安白头翁成熟种子萌发的无菌苗幼芽。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的灭菌处理 用不同浓度的 GA 对种

第一作者简介:王玉娇(1987-),女,山东临沂人,硕士研究生,研究方向为园林植物资源与种质创新。E-mail:shuyi79@163.com.

责任作者:顾德峰(1956-),男,博士,教授,现主要从事园林植物资源与种质创新等的教学与科研工作。E-mail:gu_df@163.com.

基金项目:农业部“948”资助项目(2012(Z32));吉林省科技厅资助项目(20100254)。

收稿日期:2014-01-16

Abstract: In order to establish a rapid reproduction system of *Fritillaria przewalskii* Maxim, using bulb of *Fritillaria przewalskii* as material, the sterilization methods were optimized, combination of different plant hormones on the induced proliferation of bulbs from *F. przewalskii* were studied. The results showed that the procedure of optimal sterilization method were that, the materials should be immersed in 70% alcohol for 15 s, immersed in 0.1% mercuric chloride for 10 min, rinsed with sterile water 5 times, place in 4°C for overnight; besides, the procedure should be repeated on the second day. Following above-mentioned steps, contamination rate of the materials was only 16.7%. The optimal culture medium that could induce bulbs of *F. przewalskii* to adventitious buds was MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L, and the induction rate had reached to 87.5%. The best subculture medium was MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L, and the multiplication coefficient was 9. The best rooting medium was 1/2MS+NAA 0.5 mg/L, and the rooting rate was about 90%. The paper had established regeneration system of *F. przewalskii*, which could provide the basic research reference for high-performance seedling methods of *F. przewalskii*.

Key words: *Fritillaria przewalskii* Maxim; tissue culture; bulb; proliferation