

# Perbanyak Lili Arumsari Menggunakan Media Generik secara *In Vitro*

(*Propagation of Lily Arumsari using Generic Media through In Vitro Culture*)

Ridho Kurniati<sup>1\*</sup>, Fauziah Khairatunnisa<sup>2</sup>, dan Reni Indrayanti<sup>2</sup>

Diterima 2 Juni 2020/Disetujui 6 Agustus 2020

## ABSTRACT

*Lily was usually propagated using MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with plant growth regulator and hormone. The important concerns in mass propagation and seed production of lily for industries are cheap, easy and low cost medium. This study's objective was to find out of generic media to substitute MS medium and to decrease the cost of mass propagation of lily in vitro. Three substitutions medium were Vitagrow, Growmore, Gibril, and G-60. Bulbs of lily Arumsari varieties were used as materials. Complete Random Design with a single factor was used in the experimental design. The treatments were type of generic in vitro medium (Vitagrow, Growmore, Gibril, and G-60), consisting of three replication and 20 units per repetition and five bulbs per unit of repetition. The parameter observed was the total number of leaves and roots, length of leaves and roots, and bulb growth percentage. Growmore medium showed a better result than others in total number of leaves (50,67), length of leaves (1,6 cm), length of roots (0,312 cm) and percentage of bulb growth (100%). The highest total number of roots was achieved in G-60 medium.*

*Keywords: bulb, explants, mass, production, seed*

## ABSTRAK

Perbanyak lili secara *in vitro* umumnya menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan zat pengatur. Salah satu perhatian penting dalam produksi benih lili untuk skala masal dan produksi benih lili untuk industri adalah diperlukan media yang murah, mudah dan mampu menekan biaya produksi. Tujuan penelitian adalah mendapatkan media generik yang mudah, murah dan efisien untuk menggantikan media MS dan menurunkan biaya perbanyak lili *in vitro*. Media yang digunakan adalah pupuk daun komersial dengan merek dagang *Vitagrow*, *Growmore*, *Gibril*, dan *G-60*. Umbi lili varietas Arumsari digunakan sebagai sumber eksplan perbanyak secara *in vitro*. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu jenis media kultur generik. Setiap perlakuan media terdiri dari 3 ulangan, dengan 20 unit satuan percobaan tiap ulangan dan setiap unit terdiri dari 5 buah umbi. Parameter yang diamati meliputi jumlah daun, panjang daun, panjang dan jumlah akar dan persentase tumbuh umbi. Media *Growmore* merupakan media terbaik untuk menghasilkan jumlah daun terbanyak (50,67 daun), panjang daun terpanjang (1,6 cm), panjang akar serta (0,31 cm) persentase tumbuh tertinggi (100%). Jumlah akar terbanyak diperoleh pada media *G-60*.

Kata kunci: benih, eksplan, masal, produksi, umbi

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung, Jl. Raya Ciharang-Pacet Cianjur

<sup>2</sup>Univeristas Negeri Jakarta, Jl. Pemuda No. 10 Rawangmangu Jakarta Timur

E-mail : Fildzaku@yahoo.co.id (\*penulis korespondensi)

## PENDAHULUAN

Lili (*Lilium* sp.) dikenal tanaman hias bernilai ekonomis tinggi dan memiliki potensi dikembangkan di Indonesia. Tanaman ini terdiri dari 100 spesies, dengan lebih dari 10.000 varietas dihasilkan melalui kegiatan pemuliaan (Younis *et al.*, 2014). Habitat asli lili berasal dari Eurasia dan benua Amerika Utara. Kebanyakan spesies lili berasal dari Asia (Cina, Korea dan Jepang) (Pekkapelkonen, 2005). Lili tumbuh di dataran Mediterania dan Asia Barat. Penyebaran bunga lili meliputi wilayah Eropa dan daerah Mediterania Utara, sebagian besar wilayah Asia, Jepang, India, dan Filipina Selatan, (Timmermann, 2004). Distribusi penyebarannya juga mencapai Asia Tenggara, Amerika Utara dan Eropa yang dikembangkan sejak abad 19 (Younis *et al.*, 2014)

Lili dibudidayakan untuk produksi umbi, tanaman pot dan taman, serta bunga potong (Straathof, 1994; Younis *et al.*, 2014). Di Cina, umbi lili (*Lilium speciosum* var. *gloriosoides*) diproduksi dan dibudidayakan untuk dimanfaatkan sebagai obat (Chang *et al.*, 2000). Kandungan antioksidan senyawa steroid saponin, glycoalkaloid serta phenolic glyceride yang terdapat pada lili berpotensi sebagai obat (Mammadov *et al.*, 2017)

Kebutuhan umbi lili di Indonesia cukup tinggi, sedangkan ketersediaan benih masih terbatas dan mengandalkan impor dari negara lain. Impor umbi lili yang meningkat dari tahun ke tahun, berdampak terhadap tingginya biaya produksi (Kurniati *et al.*, 2014). Pengembangan lili didukung teknologi perbanyakannya menjadi salah satu alternatif suplai kebutuhan benih dalam negeri.

Kultur *in vitro* merupakan metode alternatif untuk produksi masal *bulblet* lili dan pemeliharaan plasma nutfah lili bebas penyakit. Produksi *bulblet* lili secara *in vitro* menggunakan eksplan sisik umbi, daun, *cotyledon*, batang, petal, sepal, *penducel*, *pedicels*, *stamen* dan *ovary*. Jenis eksplan yang paling banyak produktif ialah sisik umbi (Kapoor dan Singh, 2014). Eksplan sisik umbi dan perbanyakan klonal lainnya mampu menghasilkan tanaman yang identik dengan tanaman asalnya (George, 2008).

Beberapa penelitian perbanyakan *in vitro* lili yang telah berhasil dilakukan antara lain perbanyakan lili dengan eksplan daun (Lingfei

*et al.*, 2009), akar (Kumar *et al.*, 2008), umbi (Rice *et al.*, 2011), filamen (Kurniati *et al.*, 2014) dan sisik umbi (Pekkapelkonen, 2005). Perbanyakan melalui embrio somatik daun juga dilakukan pada *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss (Bakshaie *et al.*, 2010) dan *Drimiopsis kirkii* Baker (Lan *et al.*, 2009). Perbanyakan lili dengan eksplan petal berhasil dikembangkan pada tiga kultivar lili diantaranya 'Frutty Pink', 'Sorbon' dan 'Purple Diamond'. Stadia perkembangan tunas bunga D2 dengan diameter tunas bunga 2.15 cm dan panjang bunga 7 cm kultivar 'Frutty Pink' lebih responsif dibanding kultivar 'Sorbon' dan 'Purple Diamond' dalam media induksi kalus (Kurniati *et al.*, 2012).

Teknik *in vitro* yang dikembangkan tersebut mampu meningkatkan multiplikasi dalam waktu singkat, mampu menyediakan bahan tanaman bebas virus dan penyakit lainnya, meningkatkan kualitas dan jumlah tanaman (Gochhayat *et al.*, 2020). Teknologi terbaru *genome editing* juga dilakukan pada *Lilium pumilum* dengan CRISPR/cas 9 pada kalus embriogenik sebagai reseptornya, untuk tujuan peningkatan dan perbaikan karakter gen fungsional lili (Yan *et al.*, 2019).

Media perbanyakan lili secara *in vitro* yang umum digunakan ialah media MS (Murashige dan Skoog, 1962) dengan modifikasi hormon dan zat pengatur tumbuh. Media ini memiliki ketersediaan nutrisi makro dan mikro yang lengkap untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman, namun demikian dinilai masih memiliki keterbatasan apabila diaplikasikan untuk skala masal dan industri. Keterbatasan tersebut anatara lain bahan media harus impor sehingga harganya mahal dan perlu waktu lama untuk pemesanan dan pengirimannya. Faktor tersebut menjadi kendala bagi petani untuk produksi lili secara masal melalui kultur *in vitro*. Salah satu cara yang dilakukan untuk menekan biaya produksi yaitu perbanyakan *in vitro* dengan substitusi media MS menggunakan media generik yang mudah, murah dan memiliki kandungan nutrisi yang diperlukan tanaman secara seimbang dan baik. Substitusi media MS yang digunakan ialah pupuk daun ataupun zat pengatur tumbuh.

Media generik umumnya menggunakan jenis pupuk yang mengandung unsur makro N, P, dan K dan zat pengatur tumbuh. Jenis pupuk yang digunakan yaitu pupuk daun

Growmore dan Vitagrow. Zat pengatur tumbuh yang digunakan Gibril dari kelompok Giberelin. Unsur makro yang terkandung pada *Growmore* memiliki rasio unsur N: P: K (32:10:10) dan *Vitagrow* kandungan unsur N: P dan K nya (20:20:20)

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan media generik sebagai pengganti media dasar MS dengan menggunakan pupuk daun dan zat pengatur tumbuh. Diharapkan hasil penelitian ini dapat membantu masyarakat dalam perbanyakan tanaman bunga lili secara masal yang lebih murah dan mudah pengerjaannya.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung. Bahan untuk perbanyakan lili ialah umbi lili varietas ‘Arum Sari’. Umbi diperoleh dari tanaman di rumah plastik, dan disterilisasikan serta dikultur pada media MS tanpa hormon. Umbi yang telah steril ditanam pada media perlakuan. Media perlakuan yang digunakan meliputi media G.60 (MS + gula 60 g L<sup>-1</sup> sebagai kontrol), *Vitagrow*, *Gibril* dan *Growmore* sebagai media generik untuk substitusi media MS (Gambar 1).

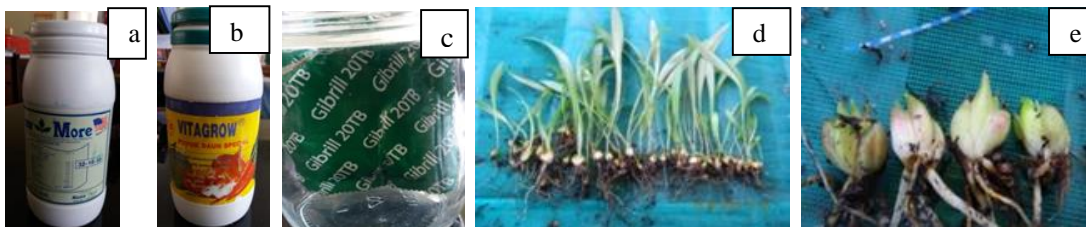
Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu jenis media generik, terdiri 4 macam perlakuan media antara lain media G.60 (MS+ gula 60 g L<sup>-1</sup>), *Vitagrow* (*Vitagrow* 2 g L<sup>-1</sup> + gula 2 g L<sup>-1</sup>), *Gibril* (*Gibril* 2 g L<sup>-1</sup> + gula 2 g L<sup>-1</sup>), *Growmore* (*Growmore* 2 g L<sup>-1</sup> + gula 2 g L<sup>-1</sup>) (Gambar 1). Setiap perlakuan diulang 3 kali, setiap ulangan memiliki 20 unit satuan percobaan dan setiap unit terdiri dari 5 buah umbi, sehingga total terdapat 1.200 satuan percobaan.

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah daun, panjang daun (cm), panjang akar (cm) dan jumlah akar serta persentase tumbuh umbi (%). Jumlah daun dihitung satu minggu setelah kultur dan selanjutnya dilakukan pengamatan tiap minggunya. Panjang daun, diukur pada eksplan umbi dengan panjang daun terpanjang, pengamatan dilakukan satu minggu setelah kultur dan selanjutnya diamati dan diukur setiap minggu sekali. Panjang akar diukur pada eksplan umbi lili dengan akar terpanjang satu minggu setelah kultur, dan selanjutnya dilakukan setiap satu minggu sekali. Jumlah akar dihitung satu minggu setelah kultur dan selanjutnya dilakukan pengamatan setiap satu minggu sekali.

Persentase tumbuh umbi, dihitung banyaknya jumlah umbi yang tumbuh membentuk tunas dan daun dibagi jumlah total umbi. Pengamatan dilakukan satu minggu setelah tanam, dan selanjutnya dilakukan setiap minggu sekali. Analisis data pengamatan dan percobaan diolah menggunakan program SPSS. Beda antar perlakuan diuji dengan uji beda nyata DMRT pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbanyakan lili dengan eksplan umbi lili secara *in vitro* untuk skala masal dan industri memerlukan teknologi yang efektif dan efisien. Efisiensi dapat dilakukan dengan menekan biaya produksi, diantaranya menggunakan media generik sebagai pengganti media MS yang mengandung hara makro dan mikro serta zat pengatur tumbuh. Hasil percobaan menunjukkan respon positif dari eksplan diperoleh pada beberapa parameter yang diamati, yaitu:



Gambar 1. Pupuk generik sebagai substitusi media MS. Pupuk daun Growmore (a), Vitagrow (b) dan Gibril-20TB (c) sebagai media dasar perbanyakan lili secara *in vitro*, umbi lili sebagai eksplan kultur *in vitro* (d dan e).

### Panjang daun

Perbanyak umbi lili secara *in vitro* pada media generik menunjukkan respon tumbuh yang sama dengan media G-60. Meskipun kandungan unsur hara makro dan mikro yang terdapat pada media generik tidak selengkap kandungan hara yang ada pada media MS. Kandungan unsur N, P dan K yang terdapat pada media generik memenuhi kebutuhan tumbuh umbi lili secara *in vitro*, sehingga media ini dapat dijadikan sebagai media substitusi untuk perbanyak lili secara *in vitro*.

Penggunaan media *Growmore* berpengaruh nyata terhadap panjang daun kultur lili (Gambar 2). Panjang daun yang terbentuk pada media *Growmore* dua kali lipat panjangnya dibandingkan panjang daun lili pada media *Vitagrow*. Meskipun *Growmore* dan *Vitagrow* keduanya mengandung pupuk, namun memberikan pengaruh yang berbeda. *Growmore* memiliki kandungan unsur N yang lebih sesuai bagi pembentukan daun pada kultur umbi lili. Keuntungan menggunakan media generik tersebut antara lain murah, mudah diperoleh dan mudah aplikasinya. Respon umbi lili pada media generik dan media kontrol (G-60) menunjukkan pertumbuhan pada panjang (Gambar 2) dan jumlah daun (Gambar 3).

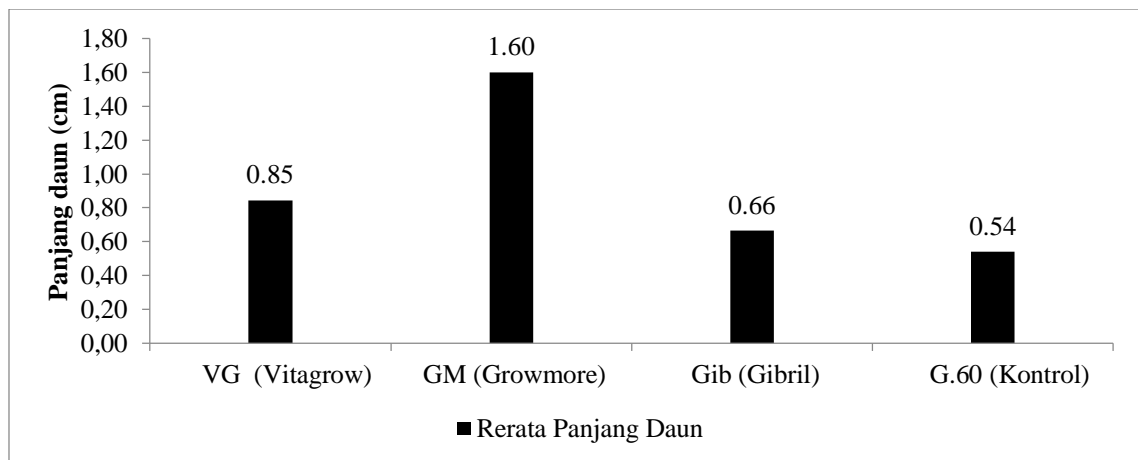
Eksplan umbi lili menunjukkan respon terbaik untuk panjang daun (1.6 cm) (Gambar 2) dan jumlah daun (50.67) pada media *Growmore* (Gambar 3). Pembentukan daun dan perkembangannya lebih ditentukan oleh ketersediaan unsur N. Pada media

*Growmore* mengandung N:P:K (32:10:10) memberikan pengaruh terbaik untuk pembentukan daun lili. Nitrogen merupakan unsur penting bagi pertumbuhan tanaman yang diserap dalam bentuk  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NO}_3^-$  (Liu *et al.*, 2014). Pupuk ini berperan dalam penyediaan dan fasilitasi penyerapan unsur hara, serta memacu pertumbuhan tanaman, menekan & mengurangi cekaman biotik & abiotik (Husen, 2020).

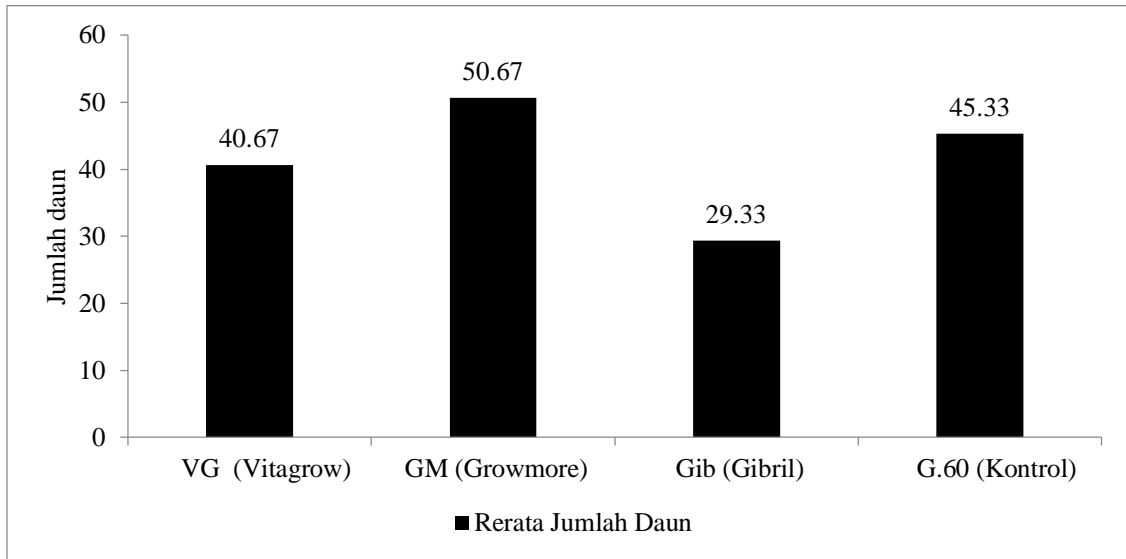
### Jumlah Daun

Media substitusi pada *kultur in vitro* lili dengan pupuk daun dan zat pengatur tumbuh memberikan pengaruh positif terhadap jumlah daun. Jumlah daun yang diperoleh pada media *Growmore* 1.5 kali lebih banyak dibandingkan dengan media *Gibrill* yang mengandung *Giberelin* dan 1.2 kali lebih banyak dibandingkan media kontrol. Peningkatan jumlah daun pada media *Growmore* ini diduga disebabkan kandungan unsur N sesuai dengan kebutuhan N pada tanaman lili.

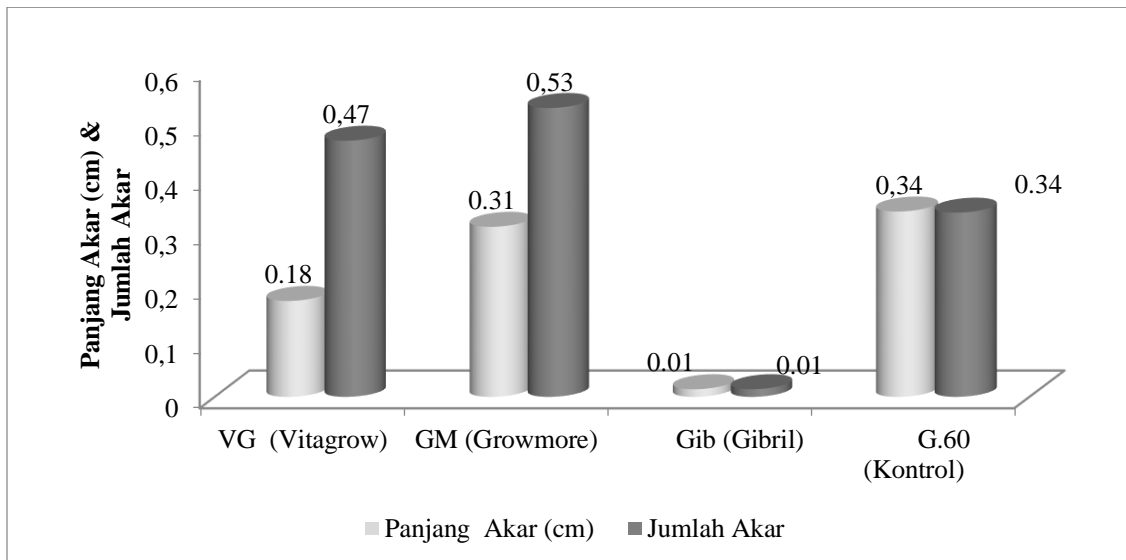
*Growmore* dan *Vitagrow*, keduanya merupakan pupuk yang mengandung N, namun berbeda dalam konsentrasinya. Pupuk N tersebut diserap secara langsung oleh tanaman atau dikonversi dalam berbagai macam bentuk melalui proses oksidasi. Kelebihan nitrogen akan hilang dalam bentuk ion atau gas melalui penguapan dan denitrifikasi/ reduksi nitrat menjadi gas nitrogen. Nitrat digunakan sebagai akseptor elektron alternatif dalam respirasi *an aerobic* direduksi menjadi gas-gas nitrogen ( $\text{N}_2$ , NO atau  $\text{N}_2\text{O}$ ) (Liu *et al.*, 2014).



Gambar 2. Respon panjang daun (cm) lili varietas Arumsari pada beberapa media perlakuan (satu bulan setelah kultur).



Gambar 3. Respon jumlah daun lili varietas Arumsari pada beberapa media perlakuan (satu bulan setelah kultur).



Gambar 4. Rerata jumlah akar dan panjang akar (cm) lili varietas Arumsari pada beberapa media perlakuan (satu bulan setelah kultur).

**Jumlah dan panjang akar**

Media substitusi dengan *Growmore* dan *Vitagrow* menunjukkan pengaruh positif dan hasil terbaik untuk jumlah akar lili. Peningkatan jumlah akar pada media *Growmore* 1.13 kali lebih banyak dibandingkan media *Vitagrow* dan meningkat 1.5 kali lebih banyak dibandingkan media kontrol (Gambar 4). Peningkatan jumlah akar pada media *Growmore*, disebabkan kandungan unsur N, P dan K yang mendukung untuk pertumbuhan lili. Pada media kontrol-

G.60 kandungan unsur hara tidak selengkap media *Growmore*.

Panjang akar lili varietas Arumsari terpanjang diperoleh pada media G.60 (0.34 cm), media yang mengandung 60 g L<sup>-1</sup> gula (Gambar 4). Pembentukan akar ini banyak dipengaruhi oleh unsur kalium dan pospor.

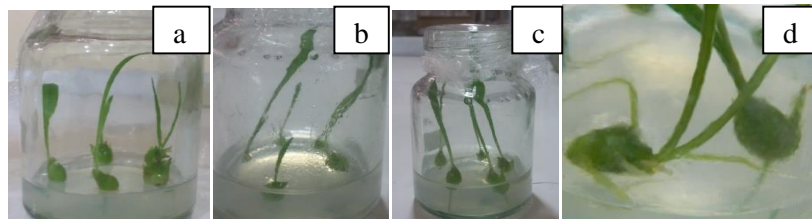
Perkembangan umbi pada media *Growmore* (Gambar 6) memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan *Vitagrow* (Gambar 5). Meskipun kedua medianya dapat digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan lili dari umbi dan mendukung

regenerasi umbi menjadi plantlet sempurna, namun ukuran umbi dan ukuran plantlet yang dihasilkan berbeda.

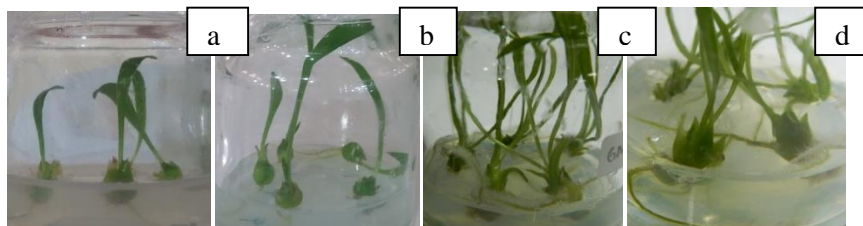
Media yang mengandung giberelin memberikan pengaruh berbeda dengan media *Growmore* dan *Vitagrow*. Ukuran umbi pada media yang mengandung giberelin lebih kecil, demikian juga ukuran plantlet dan daunnya (Gambar 7). Hormon giberelin mengikuti jalur *mevalonic acid* (MVA) yang terdapat di sitoplasma. Pada jalur MVA, dihasilkan tiga fitohormon yang berkompetisi yaitu giberelin (GA), abscisic acid (ABA), dan sitokinin (zeatin dan 2ip). Dengan demikian, *Growmore* dan *Vitagrow* yang mengandung pupuk berbeda dengan zat pengatur tumbuh (Giberelin). Perbedaan ini terdapat pada konsentrasi yang diperlukan tanaman. Fitohormon diperlukan tanaman dalam konsentrasi kecil atau sedikit, sedangkan unsur

hara atau pupuk diperlukan dalam konsentrasi tinggi dan akan ditranslokasikan oleh tanaman.

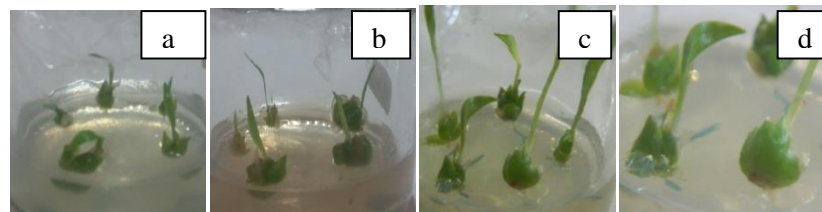
Hasil ini dapat dibandingkan dengan penelitian Youssef *et al.* (2019), bahwa kebanyakan *in vitro* dengan media MS dilengkapi zat pengatur tumbuh TDZ, 2,4-D dan picloram dengan konsentrasi yang bervariasi menghasilkan organogenesis tunas bervariasi, pembentukan kalus yang berdiferensiasi menjadi embrio hingga tunas, serta diameter umbi terbesar dengan penambahan sukrosa 120 g L<sup>-1</sup> dan 3 atau 6 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol. Media yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh tersebut tentu berdampak terhadap tunas maupun umbi lili bila dibandingkan dengan penggunaan pupuk daun. Namun bila ditinjau dari biaya produksi, maka penggunaan pupuk sebagai media generik berpengaruh terhadap penurunan biaya produksi.



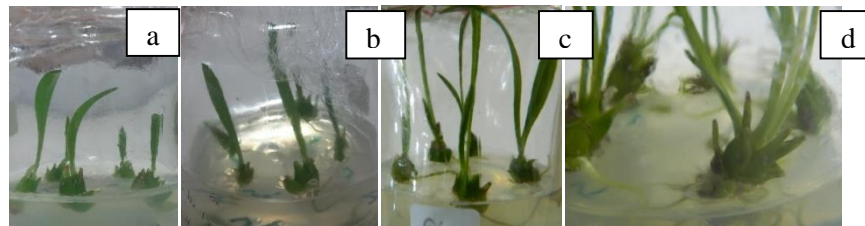
Gambar 5. Respon eksplan lili varietas Arumsari pada media *Vitagrow*, 7 hari setelah kultur HSK (a), 14 HSK (b), 21 HSK (c) dan 3 bulan setelah kultur (BSK) (d).



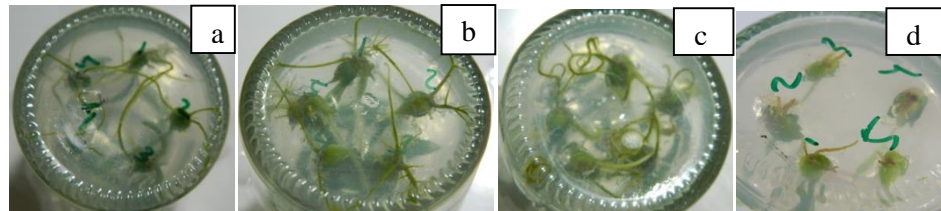
Gambar 6. Respon eksplan lili varietas Arumsari pada media *Growmore*, 7 hari setelah kultur (HSK) (a), 14 HSK (b), 21 HSK (c) dan 3 bulan setelah kultur (BSK) (d).



Gambar 7. Respon eksplan lili varietas Arumsari pada media Giberelin, 7 hari setelah kultur (HSK) (a), 14 HSK (b), 21 HSK (c) dan 3 bulan setelah kultur (BSK) (d).



Gambar 8. Respon eksplan lili pada media G-60, 7 hari setelah kultur (HSK) (a), 14 HSK (b), 21 HSK (c) dan 3 bulan setelah tanam (BSK) (d).



Gambar 9. Perakaran umbi lili varietas Arumsari pada media *Vitagrow* (a), *Growmore* (b), G-60 (c), Gibberelin (d) 3 bulan setelah kultur (BSK).

Untuk ketegaran daun dan plantlet, eksplan yang ditanam pada media G.60 terlihat lebih tegar dan kuat (Gambar 8). Penggunaan gula  $60 \text{ g L}^{-1}$  diduga memberikan cukup unsur karbon yang berpengaruh terhadap ketegaran daun dan plantlet. Gula dalam bentuk sukrosa maupun glukosa dengan konsentrasi tinggi berpengaruh terhadap perbesaran diameter umbi. Penambahan sukrosa  $120 \text{ g L}^{-1}$  pada media MS menghasilkan diameter lili oriental cv. “Starfighter” yang terbaik (Youssef *et al.*, 2019).

Unsur N yang terdapat pada pupuk *Growmore* dan *Vitagrow* di dalam media kultur jaringan langsung diserap oleh tanaman, hal ini berbeda dengan unsur N pada media tanah yang dipengaruhi penyerapannya oleh mikroba untuk selanjutnya diubah menjadi  $\text{NO}_3^-$  dan  $\text{NH}_4^+$ . Bila  $\text{NH}_4^+$  tinggi akan bersifat toksik terhadap sel tanaman.

### KESIMPULAN

Media *Growmore* merupakan media terbaik untuk menghasilkan jumlah daun terbanyak, panjang daun terpanjang, panjang akar serta persentase tumbuh tertinggi pada kultur umbi lili. Jumlah akar terbanyak diperoleh pada umbi lili yang ditanam pada media G-60. Kandungan kecukupan hara pada media generik mampu mencukupi kebutuhan

hara tanaman lili sehingga dapat digunakan sebagai media alternatif dan substitusi media dasar MS.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bakshaie, M., M. Babalar, M. Mirmasoumi, A. Kaligi. 2010. Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss an endangered species. *Plant Cell.Tissue Organ.Cult.* 102:229-35.
- Husen, E. 2020. Prospek pengembangan agen hayati pemacu tumbuh tanaman dan pengendali cekaman biotik dan abiotic menghadapi perubahan iklim. Makalah Seminar “Pengaplikasian Bioteknologi untuk Pelestarian Lingkungan”. Balai Penelitian Tanah.
- George, E.F. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3<sup>rd</sup> edition. Springer.29-64.
- Gochhayat, A.A., S. Beura, S. Rout. 2020. *In vitro* protocol for propagation hybrid Lilium cv. Fangio. *Indian Journal of Natural Sciences*, 10(61).

- Kamo, K., B.H. Han. 2012. Optimized growth and plant regeneration for callus of liliium longiflorum "Nellie White". Floriculture and Ornamental Biotechnology. 2: 94-98.
- Kapoor, M., A. Singh. 2014. *In vitro* regeneration and bublet production in Asiatic Liliium. Bionature, 34(1): 15-20.
- Kumar, S., V. Chaudhary, J.T Kanwar. 2008. Bulblet regeneration from *in vitro* roots of Oriental lily hybrid. J. Fruit. Ornam.Plant Res. 16:353-60.
- Kurniati, R., A. Purwito, G. Wattimena, B. Marwoto, Supenti. 2012. Induksi kalus tiga kultivar lili dari petal bunga pada beberapa jenis media. J. Hort. Indonesia 3(1):17-23.
- Kurniati, R. 2014. Induksi keragaman genetik lili untuk merakit varietas resisten terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. lili secara *in vitro*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 100 hal.
- Lan, T.H., P.I. Hong, C.C. Huang, W.C. Chang, C.S Lin. 2009. High frequency direct somatic embryogenesis from leaf tissue of *Drimiopsis kirkii* Baker (giant squill). In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 45:44-7
- Lingfei, X., F. Wang, M. Dong. 2009. Plant regeneration from *in vitro* culture leaves of Lanzhou lili (*Lilium davidii* var. Unicolor). Sci. Hortic. 119: 458- 461.
- Liu, W.C., Y. Sung, Bo. Ching Chen, H Yu-lai. 2014. Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Int. J. Environ. Res. Public Health.1(4): 4427-4440.
- Mammadov, T., N. Deniz, Rakhimsanova, O. Kilicarslan, R. Mammatov. 2017. Studies on liliium species. Int. J. Sec. Metabolite. 4(1): 47- 60.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant.15:473-495.
- Pekkapelkonen, V. 2005. Biotechnology Approach in Lily (Lilium) Production. Faculty of science. Departement of Biology. University of Oulu Finlandia. 63 P.
- Ren, T., J. Wang, Q. Chen, F. Zhang, S. Lu. 2014. The effects of manure and nitrogen fertilizer applications on soil organic carbon and nitrogen in a high-input cropping system. PLoSONE9 (5): e97732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097732>
- Rice, L.J., J.F. Finnie, van Staden. 2011. In vitro bublet production of Brunsvigia undulate from twin scale. Science Direct s. Afr. J. Bot. 77:305-12.
- Timmerman, A. 2004. "500 Essential Garden Plants". Rebo International b.v Lisse, The Netherlands.
- Yan, R, Z. Wang, Y. Ren, H. Li, N. Liu, H. Sun. 2019. Establishment of efficient genetic transformation systems and application of CRISPR/cas 9 genome editing technology in liliium pumilum DC. fisch and liliium longiflorum white heaven. Int. J. Mol. Scie. 20: 2920, doi: 10.3390/ijms20/22920.
- Yang, L., Wang, X. Su, Y. Yang, Y. Zhou, M. He. 2020. Expression of *Lilium pumilum* *SHORT VEGETATIVE PHASE* gene in transgenic *Nicotiana tabacum* delays flower bud differentiation. Eur. J. Hortic. Sci. 85(4): 242–247
- Younis, A., Y.J. Hwang, K. Byung Lim. 2014. Classical vs. Modern genetic and Breeding approaches for Lily (Lilium) Crops Improvement: A Review). Flower Res. J. 22(2): 39- 47. <http://dx.doi.org/10.11623/frj.2104.22.2.1>.



Youssef, N.M., S.A. Shaaban, Z.F. Ghareeb,  
L.S. Taha. 2019. In vitro bulb formation  
of direct and indirect regeneration of  
lilium orientalis cv. "Starfighter" plants.  
Bull. Natl. Rest. Cent. 43:221.  
<https://doi.org/10.1186/s42269.019-0246.z>.