

王景飞,符瑞侃,任军方,等. 濒危水生植物水角的离体培养技术[J]. 江苏农业科学,2019,47(3):110-113.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.03.027

濒危水生植物水角的离体培养技术

王景飞,符瑞侃,任军方,黄 赛,吕德任,梁定民,戚华沙

(海南省农业科学院热带园艺研究所/海南省特种经济植物种质资源创新利用重点实验室,海南海口 571100)

摘要:为建立有效的水角离体培养技术,以水角的种子和茎段诱导出不定芽,采用单因素方差分析和 Duncan's 多重比较法比较不同处理间的差异性,研究糖类、pH 值、细胞分裂素和生长素对水角生长状况的影响。结果表明,以种子为外植体,0.1% HgCl_2 消毒 8 min 进而诱导,出现污染率 30%,褐化率 20%,萌芽率 68%,芽点数 5.07 个;适宜的增殖培养条件为蔗糖 30.00 g/L, pH 值为 6 和 6-BA 1.00 mg/L,增殖系数均为比较组中的最优值;NAA 0.20 mg/L 较适合水角生根壮苗,根数达 6.42 条,最长根长 9.33 cm,株高 10.37 cm,茎粗 0.31 cm。水角的离体培养技术探索将有效加快种苗快繁,为濒危水生植物水角的种质保存提供技术基础。

关键词:水角;离体培养;不定芽;增殖系数

中图分类号: S682.320.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)03-0110-04

水角 [*Hydrocera triflora* (L.) Wight. et Arn.] 是凤仙花科水角属下的一年生水生草本,是单属单种植物^[1]。该植物泽生、直立、草本;叶狭,互生;花左右对称^[2-3],呈粉红色。水角生长于海拔 100 m 的地区,多生在湖边、沼泽湿润地及水稻田中,分布在印度、泰国、印度尼西亚、柬埔寨、越南、斯里兰卡、马来西亚、老挝以及我国等地。据《中国植物志》记载,在我国大陆,水角仅分布于海南(陵水、三亚)^[1]。由于环境变化,水角分布范围十分狭窄,处于地区性绝灭状态(RE)级别^[4-5]。水角具有巨大的科研价值、园艺价值和生态价值。由于水角现仅有零星分布,处于原始的自生自灭状态,因此,深入探索研究水角资源的离体培养技术,对于水角种质保存具有重大意义。

目前关于水角的研究极少,特别是水角的离体培养技术尚未见报导。种子繁殖为凤仙花科花卉资源的主要繁殖方式^[6],但有些凤仙花仅产生少量的种子或种子活力低,因而采用扦插和组织培养等营养繁殖方式进行繁殖。凤仙花科的离体培养技术目前在生产中较少应用,佟凤芹等对凤仙花茎段培养与快速繁殖技术的研究发现,凤仙花茎段可诱导产生大量不定芽,诱导率达 100%,在继代培养过程中,增殖系数大,适合于种苗快速繁殖^[7];王越等采用大旗瓣凤仙花的茎上侧芽进行组培培养与快速繁殖,增殖系数在 3.50~4.00 之间,生根率为 100%^[8];刘涛等对新几内亚凤仙离体快速繁殖技术研究的结果发现,在 MS+2.00 mg/L 6-BA+0.20 mg/L NAA 中培养,顶芽萌发早,生长快,在继代培养中,增殖系数达 6.00,在诱导生根阶段,生根率达 100%^[9];向太和等开展了凤仙花离体培养再生植株在试管内诱导开花的研究,芽和根诱导分化在 MS+3.00 mg/L 6-BA+0.50 mg/L NAA 培养

基中进行,开花诱导的适宜培养基为 MS+1.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA^[10]。本研究以水生花卉凤仙花科水角植物作为试验材料,研究了水角离体外植体获得、芽诱导培养、芽增殖培养及生根壮苗培养,旨在建立水角的离体繁殖技术体系,为其进一步开发利用及资源保护提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用材料取自海南省海口市新坡镇下市村边路旁水沟里及边沿湿地,坐标:110°20'40"E,19°47'3.7"N。试验所需的 KT、ZT、TDZ、IBA、IAA、6-BA 及 NAA 均购自上海伯奥生物科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体取材 采集整株水角样本连泥带水装进水桶里,带回试验地点栽培管理,待接种时取用。采集植株上深褐色的成熟种子,装进采集袋里密封放置在冰箱保鲜层备用。

1.2.2 外植体消毒和芽诱导培养 选择生长良好的植株,以茎段及种子作为外植体,茎段带芽长 5 cm,种子用纱布包好,均用自来水冲洗干净,放置于洗洁精溶液中摇荡 3 min,再用自来水冲洗。沥干水后,在超净工作台上,用无菌水冲洗 2 次,75% 乙醇处理 15 s,用 0.10% HgCl_2 浸泡、摇晃,分别设置 5、8、15 min 3 种时间处理,无菌水冲洗 5 次。茎段以茎节为中心,切取组织 1 cm。每袋接 1 个外植体,每个处理接种 15 袋,重复 3 次。芽诱导培养基为 1.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA(除试验设计需要,其余试验均添加蔗糖 30.00 g/L, pH 值为 6),30 d 后统计污染率、褐化率及萌芽率和芽点数。

1.2.3 糖种类对水角增殖培养的影响 以 MS+1.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA 作为培养基,进行 30.00 g/L 的麦芽糖、蔗糖及葡萄糖的糖种类筛选对比试验。设置每袋接 3 个单芽(种子诱导出的芽,下同),每个处理接 6 袋,重复 3 次。以增殖系数为主,侧芽生长状况、有无愈伤、株高、顶枯数(顶端枯萎)及根数为辅助参考评价指标。30 d 后

收稿日期:2018-08-19

基金项目:海南省自然科学基金(编号:20163089)。

作者简介:王景飞(1980—),男,海南澄迈人,园艺师,主要研究方向为植物资源收集与利用研究。E-mail:1844159566@qq.com。

通信作者:戚华沙,硕士,助理研究员,主要研究方向为植物组织培养研究与开发利用。E-mail:957620320@qq.com。

记录每个样本的相关数据并进行统计。

1.2.4 蔗糖浓度对水角增殖培养的影响 以 MS + 1.00 mg/L 6-BA + 0.10 mg/L NAA 作为培养基, 设 10.00、20.00、30.00、40.00、50.00、80.00 g/L 6 个梯度处理。设置每袋接 3 个单芽, 每个处理接 6 袋, 重复 3 次。以增殖系数为主, 侧芽生长状况、有无愈伤、株高、顶枯数及根数为辅助参考评价指标。30 d 后记录每个样本的相关数据并进行统计。

1.2.5 pH 值对水角增殖培养的影响 以 MS + 1.00 mg/L 6-BA + 0.10 mg/L NAA 作为培养基, 设 pH 值为 4、5、6、7、8 进行对比试验。设置每袋接 3 个单芽, 每个处理接 6 袋, 重复 3 次。以增殖系数为主, 侧芽生长状况、有无愈伤、株高、顶枯数及根数为辅助参考评价指标。30 d 后记录每个样本的相关数据并进行统计。

1.2.6 不同细胞分裂素对水角增殖培养的影响 以 MS 作为基本培养基, 对 6-BA、KT、ZT 及 TDZ 4 种细胞分裂素进行对比试验, 浓度均为 1.00 mg/L。设置每袋接 3 个单芽, 每个处理接 6 袋, 重复 3 次。以增殖系数为主, 侧芽生长状况、有无愈伤、株高、顶枯数及根数为辅助参考评价指标。30 d 后记录每个样本的相关数据并进行统计。

1.2.7 不同 6-BA 浓度对水角增殖培养的影响 以 MS + 0.10 mg/L NAA 作为培养基, 对 6-BA 浓度进行对比试验, 设 0.20、0.60、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00 mg/L 7 个梯度处理。设置每袋接 3 个单芽, 每个处理接 6 袋, 重复 3 次。以增殖系数为主, 侧芽生长状况、有无愈伤、株高、顶枯数及根数为辅助参考评价指标。30 d 后记录每个样本的相关数据并进行统计。

1.2.8 不同的生长素种类对水角生根培养的影响 以 MS 作为基本培养基, 对 NAA、IBA 和 IAA 3 种生长素进行对比试

验, 浓度均为 0.50 mg/L。设置每袋接 3 个单芽, 每个处理接 6 袋, 重复 3 次。以根数、最长根长、株高及茎粗为考核评价指标。30 d 后记录每个样本的相关数据并进行统计。

1.2.9 不同 NAA 浓度对水角生根培养的影响 以 MS 作为基本培养基, 对不同 NAA 浓度进行对比试验, 设置 0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20 mg/L 6 个梯度处理。设置每袋接 3 个单芽, 每个处理接 6 袋, 重复 3 次。以根数、最长根长、株高及茎粗为考核评价指标。30 d 后记录每个样本的相关数据并进行统计。

统计方法: 污染率 = 污染数/接种数 × 100%; 褐化率 = 褐化数/接种数 × 100%; 萌芽率 = 萌芽数/接种数 × 100%; 增殖系数 = 不定芽总数/接种数; 根数 = 根总数/接种数; 顶枯数 = 顶枯总数/接种数; 芽点数 = 芽点总数/接种数。

数据处理使用 Excel 2010 进行整理、统计和制表; 用 SPSS 18.0 软件对试验数据进行单因素方差分析和 Duncan's 多重比较法比较不同处理间的差异性。

2 结果与分析

2.1 外植体消毒和芽诱导

由表 1 可知, 0.1% HgCl₂ (加 2 滴吐温) 3 个时间梯度处理对 2 种外植体消毒效果不同。以茎段为外植体, 5 min 处理污染率最高, 为 100%, 其次是 8 min 处理, 污染率为 60%, 15 min 处理的污染率低至 30%, 且 3 个处理间差异显著; 从褐化率来看, 5 min 处理褐化率最低, 为 10%, 与其他 2 个处理差异显著; 从萌芽率来看, 8 min 处理的萌芽率最高, 达 30%, 与其他 2 个处理差异显著; 从芽点数来看, 8 min 处理的芽点数最高, 为 4.05 个, 与 5 min 处理差异不显著。综合分析认为, 适合水角茎段消毒的时间为 8 min。

表 1 茎段消毒效果和芽诱导培养

编号	消毒时间 (min)	污染率 (%)	褐化率 (%)	萌芽率 (%)	芽点数 (个)
1	5	100a	10b	20b	3.58a
2	8	60b	50a	30a	4.05a
3	15	30c	70a	0c	0b

注: 同列数值后不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著。下表同。

以种子为外植体, 综合 4 个考核指标, 最佳的处理时间为 8 min, 污染率 30%, 褐化率 20%, 萌芽率 68%, 芽点数为 5.07 个。方差分析结果表明, 8 min 与 15 min 处理间的污染率差异不显著; 从褐化率及萌芽率来看, 8 min 处理与 5 min 处理

的褐化率差异不显著, 与 15 min 处理差异显著, 8 min 处理的萌芽率与其他 2 个处理差异显著; 从芽点数来看, 各处理的芽点数数量次序表现为 8 min > 5 min > 15 min, 三者间差异不显著(表 2)。

表 2 种子消毒效果和芽诱导培养

编号	消毒时间 (min)	污染率 (%)	褐化率 (%)	萌芽率 (%)	芽点数 (个)
1	5	80a	20b	20b	4.50b
2	8	30b	20b	68a	5.07a
3	15	30b	80a	10b	3.25c

综合考虑分析, 在消毒时间上, 茎段和种子均 8 min 消毒效果最好; 在外植体选择上, 种子易萌芽且长势好, 较适合作为外植体进行消毒诱导。

2.2 不同糖种类对水角增殖的影响

从表 3 看出, 不同糖种类对水角增殖的影响效果不同。

麦芽糖处理的增殖系数为 4.80, 无愈伤, 茎顶黄化较严重, 平均每株顶枯数 0.83 条, 且出现较多的根系, 平均每株有 1.70 条, 平均株高为 5.47 cm; 葡萄糖处理的增殖系数为 5.90, 有愈伤, 茎顶黄化较严重, 平均每株顶枯数 0.77 条, 平均根数达 0.90 条, 平均株高为 4.75 cm; 蔗糖处理的增殖系数为 6.13,

无愈伤,茎顶黄化少,平均每株顶枯数 0.40 条,平均根数达 0.90 条,平均株高为 6.00 cm。由方差分析结果可知,蔗糖与葡萄糖处理的增殖系数差异不显著,考虑到蔗糖的价格实惠,且培养出来的茎节多,茎顶黄化少,无愈伤形成,因此,蔗糖为水角增殖适宜培养的糖种类。

表 3 不同种类糖对水角增殖的影响

糖种类	增殖系数	生长状况
麦芽糖	4.80b	无愈伤,顶枯较多,根较多
葡萄糖	5.90ab	有愈伤,顶枯较多,根少
蔗糖	6.13a	无愈伤,顶枯少,根少

2.3 不同蔗糖浓度对水角增殖的影响

从表 4 看出,不同蔗糖浓度对水角增殖的影响呈现相关性。10.00~30.00 g/L 蔗糖浓度范围内,随着蔗糖浓度升高,水角不定芽增殖系数逐渐增加,且颜色逐渐加深,长势渐好,可见在一定范围内,30.00 g/L 蔗糖对水角不定芽增殖有明显的促进作用;30.00~80.00 g/L 蔗糖浓度范围内,随着蔗糖浓度升高,水角不定芽增殖系数逐渐降低,说明较高和较低浓度蔗糖不利于水角的增殖培养。方差分析的结果表明,20.00~50.00 g/L 蔗糖浓度范围内,4 个处理间增殖系数差异不显著。30.00 g/L 蔗糖处理出现茎段节点多,叶绿,生长势好,因此,水角增殖最佳蔗糖浓度为 30.00 g/L。

表 4 不同蔗糖浓度对水角增殖的影响

蔗糖浓度 (g/L)	增殖系数	生长状况
10.00	4.00b	芽细,淡黄,顶枯较多,根多
20.00	5.90a	芽细,淡黄,顶枯较多,根较多
30.00	6.80a	芽粗,叶绿,茎节多,顶枯较少,根少
40.00	6.07a	芽粗,叶绿,顶枯较多,根多
50.00	5.73a	芽细,叶较窄,叶黄绿,顶枯较多,根多
80.00	3.93b	芽细,叶较窄,叶黄绿,顶枯少,根少

表 6 不同细胞分裂素对水角增殖的影响

细胞分裂素种类	增殖系数	生长状况
6-BA	5.40a	无愈伤,不定芽状况好,芽粗,色绿,茎节长,顶枯数较少,根少
KT	3.44b	有愈伤,不定芽状况中等,茎徒长,顶枯较多,根较多
ZT	3.47b	有愈伤,不定芽状况偏差,茎长,顶枯数适中,有根
TDZ	5.24a	有愈伤,不定芽状况良好,芽细,色淡,茎较短,顶枯数较多,根少

2.6 不同 6-BA 浓度对水角增殖的影响

由表 7 可知,不同 6-BA 浓度对水角不定芽的增殖影响极大。空白对比处理不定芽增殖系数为 4.73,没有形成侧芽,丛生状,茎直立徒长,平均株高达 9.15 cm;6-BA 0.20 mg/L 处理的增殖系数 6.03,少有侧芽形成,茎徒长,平均株高为 10.30 cm,根少,平均每株的根数为 3.00 条;6-BA 0.60 mg/L 处理的增殖系数 6.23,不定芽状况偏差,平均株高为 8.15 cm,基部长根多,平均每株的根数为 2.50 条;6-BA 1.00 mg/L 处理不定芽增殖系数最高,达 8.00,不定芽状况好,芽粗,绿色,平均株高为 6.30 cm,长根相对较少,平均每株的根数为 0.90 条,与其他 7 个处理间的不定芽增殖系数差异不显著;6-BA 1.50 mg/L 处理不定芽增殖系数为 7.20,不定芽状况中等,芽偏细,平均株高为 5.55 cm,平均每株的根数为 0.80 条;6-BA 2.00 mg/L 处理不定芽增殖系数 5.50,

2.4 不同 pH 值对水角增殖的影响

从表 5 可知,不同 pH 值对水角增殖的影响效果不同。增殖系数介于 2.73~6.25 之间,pH 值为 6 处理的增殖系数最高,达 6.25。除 pH 值为 4 处理,其他 4 个处理的增殖系数差异不显著,增殖系数介于 4.10~6.25 之间;pH 值为 6 处理水角芽粗,叶绿,茎长,顶枯多,根多,因此,适宜水角培养的 pH 值为 6。

表 5 不同 pH 值对水角增殖的影响

pH 值	增殖系数	生长状况
4	2.73b	芽细,黄化,茎短,根较多
5	4.10a	芽细,淡黄,茎较短,顶枯较多,根多
6	6.25a	芽粗,叶绿,茎长,顶枯多,根多
7	5.17a	芽粗,叶绿,茎长,顶枯多,根多
8	4.97a	芽细,淡黄,茎短,顶枯较少,根多

2.5 不同细胞分裂素对水角增殖的影响

从表 6 可看出,不同细胞分裂素对水角增殖有不同的影响。6-BA 处理不定芽增殖系数达 5.40,无愈伤,不定芽状况好,芽粗,顶枯数较少,茎节长,平均株高达 3.62 cm,根较少,平均每株的根数为 0.71 条;KT 处理不定芽增殖系数为 3.44,不定芽状况适中,芽细,淡黄,茎徒长,平均株高为 4.17 cm,根多,平均每株的根数为 1.22 条;ZT 处理不定芽增殖系数为 3.47,不定芽状况偏差,芽细,微黄,平均株高为 3.58 cm,基部发根多,平均每株的根数为 1.19 条;TDZ 处理不定芽增殖系数为 5.24,不定芽状况良好,有愈伤,芽细,色偏黄,茎较短,平均株高为 1.48 cm,发根相对较少,平均每株的根数为 0.09 条。方差分析结果显示,6-BA 处理不定芽增殖系数与 TDZ 处理间的差异不显著,与 KT 处理及 ZT 处理间的差异达到显著水平。综合比较分析认为,选用 6-BA 作为增殖激素时,水角的增殖系数最高,芽的生长势好,芽粗壮,无愈伤,节点多,因此,6-BA 较适宜做为水角增殖的细胞分裂素。

不定芽状况中等,芽细,平均株高为 5.10 cm,根少,平均每株的根数为 0.60 条;6-BA 2.50 mg/L 处理不定芽增殖系数为 5.22,不定芽状况中等,芽偏细,平均株高为 4.05 cm,平均每株的根数为 0.37 条;6-BA 3.00 mg/L 处理不定芽增殖系数为 4.80,不定芽状况中等,芽细,平均株高为 4.64 cm,根少,平均每株的根数为 0.30 条。

综合分析显示,当 6-BA 浓度为 1.00 mg/L 时,水角不定芽增殖系数最高;6-BA 0~1.00 mg/L 处理,增殖系数呈上升趋势,6-BA 1.00~3.00 mg/L 处理,增殖系数呈下降趋势;在培养中发现,植株根数与浓度呈反相关性。所以,6-BA 1.00 mg/L 为适宜的 6-BA 处理水角增殖的浓度。

2.7 不同生长素对水角生根的影响

由表 8 可知,不同生长素种类对水角的生根效果不同。3 种生长素种类处理间的根数差异达到显著性水平,分别为

表 7 不同 6-BA 浓度对水角增殖的影响

6-BA 浓度 (mg/L)	增殖系数	生长状况
0	4.73d	没有生长侧芽,茎徒长高,部分顶枯,根多
0.20	6.03c	少有不定芽,茎徒长高,顶枯较多,根多
0.60	6.23c	不定芽状况差,茎徒长,顶枯较多,根多
1.00	8.00a	不定芽状况良好,芽粗,绿色,茎节点多,有顶枯,根少
1.50	7.20b	不定芽状况中等偏差,芽偏细,茎节点多,有顶枯,根少
2.00	5.50d	不定芽状况中等偏差,芽偏细,茎节点多,有顶枯,根少
2.50	5.22d	不定芽状况中等偏差,芽偏细,茎节点多,有顶枯,根少
3.00	4.80d	不定芽状况中等偏差,芽偏细,茎节点多,有顶枯,根少

表 8 不同生长素对水角生根的影响

生长素种类	根数 (条)	最长根长 (cm)	株高 (cm)	茎粗 (cm)
NAA	6.22a	7.99a	6.23a	0.19a
IBA	4.70c	2.84c	2.06c	0.13b
IAA	5.48b	3.53b	4.25b	0.17a

6.22、4.70、5.48 条。从最长根长来看,3 个处理的最长根长介于 2.84 ~ 7.99 cm,其中 NAA 处理的最长根最长,达 7.99 cm,与其他 2 个处理间差异显著。从株高来看,各处理株高在 2.06 cm 及以上,其中 NAA 处理的株高最高,为 6.23 cm。从茎粗来看,NAA 处理的茎较粗壮,生长势为 NAA>IAA>IBA。综合比较分析认为,适合水角根系发育的生长素种类为 NAA。

2.8 不同 NAA 浓度对水角生根的影响

由表 9 可知,不同 NAA 浓度对水角的生根效果差异较大。0.20 ~ 0.80 mg/L NAA 4 种处理间的根数差异不显著,分别为 6.42、6.40、6.36、6.07 条,与 1.00、1.20 mg/L NAA 处理差异显著,1.00 mg/L NAA 处理的根数最少,为 3.59 条。从最长根长来看,6 个处理的最长根长介于 4.44 ~ 9.33 cm,其中 0.20 mg/L NAA 处理的最长根最长,达 9.33 cm,与其他 5 个处理间差异显著,高浓度 NAA 处理的最长根长表现出抑制效果,低至 4.44 cm。从株高来看,各处理株高在 5.08 cm 及以上,其中 0.20 mg/L NAA 处理的株高最高,为 10.37 cm。从茎粗来看,NAA 处理的茎粗随着浓度的升高,表现出反相关性。综合比较分析认为,适合水角根系发育的 NAA 浓度为 0.20 mg/L。

表 9 不同 NAA 浓度对水角生根的影响

NAA 浓度 (mg/L)	根数 (条)	最长根长 (cm)	株高 (cm)	茎粗 (cm)
0.20	6.42a	9.33a	10.37a	0.31a
0.40	6.40a	8.83bc	6.92b	0.25b
0.60	6.36a	8.00bc	7.33b	0.20bc
0.80	6.07a	8.27bc	6.27b	0.15c
1.00	3.59b	5.08d	5.08b	0.12cd
1.20	4.15b	4.44d	5.78b	0.10d

3 结论

本研究对水角进行了外植体的离体培养研究。结果表

明,茎段和种子均在 0.10% HgCl₂ 下消毒 8 min 效果最优,茎段消毒和芽诱导的效果分别为污染率 60%,褐化率 50%,萌芽率 30%,一个外植体的平均芽点数为 4.05 个;种子消毒和芽诱导的效果分别为污染率 30%,褐化率 20%,萌芽率 68%,一个外植体的平均芽点数 5.07 个;综合考虑分析,在外植体选择上,种子数量多,易消毒,且萌芽率高,长势好,因此,种子较适合作为外植体进行消毒和诱导。在增殖方面,适宜的增殖培养条件为蔗糖浓度为 30.00 g/L,pH 值为 6 和 6-BA 1.00 mg/L,增殖系数均为比较组中的最优值,其中以 MS+0.10 mg/L NAA 作为培养基,添加 1.00 mg/L 6-BA,增殖系数达 8.00。在生根方面,进行了 NAA、IBA 和 IAA 3 种生长素种类处理的对比,结果表明,适合水角根系发育的生长素种类为 NAA;在 NAA 不同浓度的筛选中,以 0.20 mg/L 为最佳激素浓度选择,根数达到 6.42 条,最长根长为 9.33 cm,株高为 10.37 cm,茎粗为 0.31 cm,能够达到生根壮苗的效果。

参考文献:

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,2004.

[2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴:第二册[M]. 北京:科学出版社,1983:748.

[3] 陈焕镛,张肇骞. 海南植物志:第一卷[M]. 北京:科学出版社,1964:418.

[4] 中国生物多样性红色名录——高等植物卷[M]. 北京:环境保护部,中国科学院,2013.

[5] 王景飞,吕德任,黄 赛,等. 海南省濒危水生植物水角的资源现状及调查分析[J]. 中国园艺文摘,2017,33(12):67-69.

[6] 周修任,王华新,李进华,等. 凤仙花科花卉资源研究现状及展望[J]. 湖北农业科学,2015,54(2):266-269.

[7] 佟凤芹,栾 岚. 凤仙花茎段培养与快速繁殖[J]. 辽宁师专学报,2006,8(3):107-108.

[8] 王 越,刘 燕. 大旗瓣凤仙花的组培培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2008,44(3):510.

[9] 刘 涛,陈 伟. 新几内亚凤仙离体快速繁殖技术研究[J]. 山东理工大学学报,2003,17(1):103-106.

[10] 向太和,王利琳. 凤仙花离体培养再生植株并试管内开花[J]. 杭州师范学院学报,2005,4(4):293-294.