

露水草愈伤组织的诱导及分化研究

邱璐¹, 罗春梅², 王波¹, 李艳华², 萧凤回³, 郑才智¹, 黄静¹, 周银燕¹

(1. 楚雄师范学院生化系, 云南楚雄 675000; 2. 云南省楚雄农业学校, 云南楚雄 675000; 3. 云南农业大学, 云南昆明 650201)

摘要: 以露水草的种子为外植体, 以 10% 次氯酸钠为消毒剂, 以 20~30 min 为消毒时间建立无菌苗具有最好效果; MS 培养基较适合露水草愈伤组织的形成和芽的分化; 以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 的激素组合诱导露水草的种子和茎形成愈伤组织, 并分化成芽具有较好效果, 露水草的根、叶形成愈伤组织的能力较差; 露水草的种子、茎段易于诱导形成不定芽; KT、6-BA 对露水草不定芽的形成是必要的, 其效果明显优于 ZT 和 2-ip, 以 MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 或 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的激素组合诱导露水草的种子、茎段形成不定芽具有较好效果。

关键词: 露水草; 组织培养; 愈伤组织; 不定芽

中图分类号: S567.23+9.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)02-0158-04

露水草又名珍珠露水草 (*Cyanotis arachnoidea* C. B. Clarke), 是鸭跖草科兰耳草属的多年生宿根草本, 是提取昆虫 β -蜕皮激素的优良原料, 是迄今发现含 β -蜕皮激素最多的资源植物。其 β -蜕皮激素的含量达全草干重的 1.2%, 地下部分 β -蜕皮激素含量达干重的 2.9%^[1]。 β -蜕皮激素 (β -ecdysone) 又称 20-羟基蜕皮甾酮 (20-hydroxyecdysterone), 其分子式 $C_{27}H_{44}O_7$, 分子量 480^[2]。它能促进昆虫化蛹, 缩短蚕龄, 促进蚕吐丝, 提高蚕丝的质量与产量。它还能抑制昆虫进食, 可作为选择性杀虫剂。经药理与临床研究, β -蜕皮激素具有补虚除湿、舒筋活血的功效。《滇南本草》中记载“治一切虚症, 阳痿无子, 采服之”; 《昆明民间常用草药》中记载“发汗除湿, 清阴热”^[3]。它还能促进人体内蛋白质尤其是肝脏蛋白的合成, 可以排除体内胆固醇的积累, 抑制血糖上升, 还有降血压的作用^[1]。另外还用于化妆品中, 有防皱嫩肤的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

露水草的种子及茎段均采自楚雄农校药园。

1.2 方法

1.2.1 不同外植体、消毒剂、消毒时间对无菌苗建立的影响 以 MS 为基本培养基, 以 KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为激素配比, 以刚采摘的露水草成熟种子、叶片、去叶幼嫩茎段为外植体, 10% 次氯酸钠 (NaClO) 消毒, 设置消毒时间为 15、20、25、30 min; 0.2% $HgCl_2$ 消毒, 设置消毒时间为 2、2.5、3、3.5、4 min, 以筛选出最佳的外植体部位、最佳消毒剂种类及消毒时间。消毒后用无菌水冲洗 5~8 次, 茎、叶直接接种, 种子用无菌水浸泡 5~10 h 后接种。消毒剂消毒前均用洗涤剂清洗种子 5 min, 再用流水冲洗 5 min。

1.2.2 不同基本培养基对愈伤组织诱导的影响 以露水草无菌种子为材料, 以 6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 为激素种类及配比, 以 MS、1/2MS 为对照, 以筛选出最佳基本培养基。接种后暗处理 30 d 进行统计 (以下同)。

1.2.3 不同外植体部位对愈伤组织诱导的影响 以 MS 为基本培养基, 以 6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 为激素种类及配比, 以露水草无菌种子及无菌苗的根、茎、叶为材料, 对露水草的种子、根、茎、叶形成愈伤组织的能力进行比较。

1.2.4 不同激素种类及对比对愈伤组织诱导的影响 以种子为外植体, 以 MS 为基本培养基, 设置 7 组不同种类及配比的激素进行对比, 以筛选出最佳激素种类及配比。第 1 组: 2,4-D 1.5 mg/L; 第 2 组: 2,4-D 1.5 mg/L+6-BA 1.5 mg/L; 第 3 组: 2,4-D 1.5 mg/L+KT 1.5 mg/L; 第 4 组: 2,4-D 1.5 mg/L+ZT 1.5 mg/L; 第 5 组: 2,4-D 1.5 mg/L

收稿日期: 2006-09-08

基金项目: 云南省中药现代化科技产业专项; 楚雄州政府资助项目。

作者简介: 邱璐 (1965—), 女, 四川人, 硕士, 副教授, 主要从事植物组织培养及转基因研究工作。Tel: (0878) 3100507; E-mail: qiu55@vip.sina.com。

+2-ip 1.5 mg/L;第6组:2,4-D 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L;第7组:6-BA 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L。

1.2.5 不同浓度的6-BA与NAA对愈伤组织诱导的影响 以叶为外植体,以MS为基本培养基,设置4组不同的6-BA与NAA浓度进行比较,以筛选出最佳6-BA与NAA浓度。第1组:6-BA 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L;第2组:6-BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L;第3组:6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L;第4组:6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L。

1.2.6 不同外植体部位对不定芽形成的影响 以MS为基本培养基,以KT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L为激素种类及配比,以露水草无菌种子及无菌苗的根、茎、叶为材料,对露水草的种子、根、茎、叶形成不定芽的能力进行比较。接种后给予7 d时间的暗处理,然后光照,光照强度2 000 lx,培养温度21~26℃。接种后30 d统计(以下同)。

1.2.7 不同激素种类及配比对不定芽形成的影响

以种子为外植体,以MS为基本培养基,设置6组不同种类及配比的激素进行对比,以筛选出最佳激素种类及配比。第1组:6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L;第2组:KT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L;第3组:ZT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L;第4组:2-ip 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L;第5组:6-BA 1.0 mg/L;第6组:不加任何激素的MS。

2 结果

2.1 不同外植体、不同消毒剂、不同消毒时间对无菌苗建立的影响

表1 不同外植体、消毒剂、消毒时间对无菌苗建立的影响

消毒剂	消毒时间 (min)	种子				茎段				叶			
		未污染数 (粒)	萌发数 (粒)	无菌率 (%)	萌发率 (%)	未污染数 (个)	萌发数 (个)	无菌率 (%)	萌发率 (%)	未污染数 (个)	萌发数 (个)	无菌率 (%)	萌发率 (%)
10% NaClO	15	12	10	60	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	18	16	90	80	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	19	18	95	90	1	1	5	5	1	1	5	5
	30	20	19	100	95	2	2	10	10	2	2	10	10
0.2% HgCl ₂	2.0	14	5	70	25	4	3	20	15	5	3	25	15
	2.5	16	4	80	20	7	4	35	20	7	4	35	20
	3.0	18	3	90	15	10	9	50	45	8	7	40	35
	3.5	20	2	100	10	16	3	80	15	15	3	75	15
	4.0	20	1	100	5	19	1	95	5	18	2	90	10

注:种子、茎段、叶接种数均为20。

对表1的无菌率及成活率统计分析结果显示,以种子作外植体,10% NaClO消毒30 min与0.2% HgCl₂消毒2 min的无菌率差异不显著, $u_c = 1.724 < u_{0.05}, P > 0.05$;但萌发率差异极显著, $u_c = 9.434 > u_{0.01}, P < 0.01$ 。说明以露水草种子为外植体,以10% NaClO消毒20~30 min明显优于0.2% HgCl₂消毒2 min。以茎段作外植体,10% NaClO消毒30 min与0.2% HgCl₂消毒3 min的无菌率差异极显著, $u_c = 3.688 > u_{0.01}, P < 0.01$;萌发率差异也极显著, $u_c = 3.161 > u_{0.01}, P < 0.01$ 。0.2% HgCl₂对茎段的消毒效果明显优于10% NaClO消毒30 min。以叶作外植体,10% NaClO消毒30 min与0.2% HgCl₂消毒3 min的无菌率差异极显著, $u_c = 2.634 > u_{0.01}, P < 0.01$;萌发率差异显著, $u_c = 2.108 > u_{0.05}, P < 0.05$ 。0.2% HgCl₂对叶的消毒效果明显优于10% NaClO消毒30 min。试验还发现以露水草茎段、叶为外植体建立无菌苗,虽然0.2% HgCl₂作为消毒剂明显优于10% NaClO,但消毒效果仍然较差,无菌率及萌发率均较低。10% NaClO对露水草的茎段、叶几乎无消毒效果。

2.2 不同基本培养基对愈伤组织诱导的影响

在MS培养基上不仅愈伤形成时间早,而且愈伤诱导率高(95%),愈伤长势旺。而在1/2MS培养基上虽愈伤诱导率也较高(90%),但愈伤形成时间晚,愈伤长势不如MS。对表2的愈伤组织诱导率进行统计分析结果显示, $u_c < u_{0.05}, P > 0.05$,说明MS与1/2MS的愈伤诱导率差异不显著。但从愈伤组织形成时间和愈伤组织的长势来看,MS培养基明显优于1/2MS培养基。

2.3 不同外植体部位对愈伤组织诱导的影响

露水草的种子、茎在MS+6-BA 1.0 mg/L +

NAA 1.0 mg/L上易于形成愈伤组织,且愈伤组织易于分化成芽,不定芽数高达4~6个。表3的统计

表 2 不同基本培养基对愈伤组织诱导的影响

基本培养基	形成愈伤的时间(d)	愈伤诱导率(%)	愈伤长势
MS	7	95	++++
1/2MS	12	90	+++

注:愈伤长势,“++++”表示最好,“+++”表示较好,“++”表示好,“+”表示一般,“-”表示差(以下同)。

表 3 不同外植体对愈伤组织诱导的影响

外植体	愈伤形成时间(d)	愈伤诱导率(%)	愈伤长势	愈伤颜色	不定芽形成数(个)
种子	7	100	++++	黄色	5~6
根	16	13	+	黄色	0
茎	9	100	++++	黄色	4~5
叶	13	19	+	黄色	0

结果, $\chi^2 = 290.39 > \chi_{0.01}^2 = 11.34$, $P < 0.01$, 说明不同外植体部位形成愈伤组织的能力差异极显著, 种

子、茎形成愈伤组织的能力较强, 根、叶形成愈伤组织的能力较差。其中, 种子与茎之间, 根与叶之间差异不显著, $u_c < u_{0.05}$, $P > 0.05$ 。

2.4 不同激素种类及对比对愈伤组织诱导的影响

露水草种子易形成愈伤组织, 第 1~7 组培养基均能诱导露水草种子形成愈伤组织, 且形成率均较高。对表 4 的愈伤组织诱导率进行统计分析, 结果显示, $\chi^2 = 44.66 > \chi_{0.01}^2 = 16.81$, $P < 0.01$, 说明不同激素种类及对比对愈伤组织诱导的影响差异极显著。第 7 组培养基 MS + 6 - BA 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L 诱导露水草形成愈伤组织有显著优势, 其愈伤诱导率高, 长势最佳, 呈黄绿色, 能分化形成不定芽。第 1~6 组培养基能形成愈伤组织, 但愈伤组织长势不佳, 且未观察到不定芽分化形成(表 4)。

表 4 不同激素种类及对比对愈伤组织诱导的影响

组号	培养基	愈伤形成时间(d)	愈伤诱导率(%)	愈伤长势	愈伤颜色	不定芽形成数(个)
1	MS + 2,4 - D 1.5 mg/L	15	100	+	黄色	0
2	MS + 2,4 - D 1.5 mg/L + 6 - BA 1.5 mg/L	10	80	++	黄色	0
3	MS + 2,4 - D 1.5 mg/L + KT 1.5 mg/L	11	84	++	黄色	0
4	MS + 2,4 - D 1.5 mg/L + ZT 1.5 mg/L	10	85	++	黄色	0
5	MS + 2,4 - D 1.5 mg/L + 2 - ip 1.5 mg/L	11	86	++	黄色	0
6	MS + 2,4 - D 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L	12	100	+	黄色	0
7	MS + 6 - BA 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L	7	95	++++	黄绿色	4~5

2.5 不同浓度 6 - BA 与 NAA 对愈伤组织诱导的影响

第 1~4 组浓度均能 100% 诱导露水草种子形成愈伤组织, 但愈伤组织的长势及分化形成不定芽的效果各不相同。随 6 - BA 与 NAA 浓度的升高,

愈伤组织的生长速度越快, 长势也越好。当浓度为 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L 时愈伤的长势最好, 超过该浓度, 如 6 - BA 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L 时, 愈伤组织长势有所下降, 分化形成的不定芽数也有所减少(表 5)。

表 5 不同浓度 6 - BA 与 NAA 对愈伤组织诱导的影响

组号	培养基	愈伤形成时间(d)	愈伤诱导率(%)	愈伤长势	愈伤颜色	不定芽形成数(个)
1	MS + 6 - BA 1.5 mg/L + NAA 1.5 mg/L	7	100	++++	黄绿色	5~6
2	MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L	8	100	++++	黄绿色	6~7
3	MS + 6 - BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L	9	100	+++	黄绿色	3~4
4	MS + 6 - BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L	10	100	++	黄绿色	2~3

2.6 不同外植体对不定芽形成的影响

露水草的种子、茎易于形成不定芽, 且不定芽的长势较好。叶形成不定芽的能力较差, 露水草的根未观察到直接分化形成的不定芽(表 6)。

2.7 不同激素种类及对比对不定芽形成的影响

第 2 组培养基 MS + KT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 可作为首选配方, 它对露水草不定芽的形成及

表 6 不同外植体对不定芽形成的影响

外植体	形成不定芽的时间(d)	形成不定芽数(个)	不定芽长势
种子	10	7	++++
根	0	0	
茎	7	6	++++
叶	20	1~2	+

根、茎、叶的生长发育效果最好,苗的长势最好、最健壮。另外,第1组培养基 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 苗的长势及增殖系数虽不如第2组培养基,但也有较好效果。ZT、2 - ip 诱导露水草不定芽的效果均不如 KT 和 6 - BA,而且差异显著。

表7 不同激素种类及配比对不定芽形成的影响

组号	培养基	形成不定芽数(个)	苗高(cm)	叶宽(cm)	叶色	根数(条)	根长度(cm)	苗的长势
1	MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	6	3.5	0.35	绿紫色	1~2	0.5~0.6	++++
2	MS + KT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	7	6.0	0.40	绿色	7~8	1.0	++++
3	MS + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	3	3.0	0.30	绿紫色	2	0.5	+++
4	MS + 2 - ip 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	2	2.5	0.20	绿紫色	1	1.0	+++
5	MS + 6 - BA 1.0 mg/L	1	1.5	0.10	绿色	1~2	0.1	+
6	MS	1	3.0	0.15	绿色	1	1.0	++

3 讨论

露水草全株密被白色丝状毛,地上部分有发达的莲座状基生叶,花排列密集,植株匍匐状生长,离地面近,易被泥土污染,而且含有内生细菌、真菌。因此,以露水草根、茎、叶、花等做外植体难以消毒彻底,无菌苗成功率较低。一般以露水草种子为外植体效果较好。由于露水草种子较小,种皮较薄,对 HgCl₂ 较为敏感,一般不用 HgCl₂ 消毒,而以 10% NaClO 消毒 20~30 min 效果最好。

2,4 - D 对露水草愈伤组织的形成并非必要,这与林如辉使用 KT、2,4 - D 或 NAA 配比对露水草愈伤组织生长不利的试验结果相似^[4]。本试验中,不论 2,4 - D 单独使用,还是与 6 - BA、KT、ZT、2 - ip、NAA 组合使用,诱导愈伤的效果均不理想。2,4 - D 在诱导很多植物形成愈伤组织中起着重要的不可替代的作用,但 2,4 - D 对胎儿发育不利,对动物和人的神经中枢有严重损伤作用,造成孕妇畸胎,其次还阻碍植物次生代谢产物形成,影响愈伤组织分化成苗^[5]。而本试验结果说明,6 - BA 与 NAA 组合诱导露水草愈伤组织形成明显优于 2,4 - D,这有利于减少 2,4 - D 的使用,有利于中药材次生代谢产物形成,有利于愈伤组织进一步分化成苗,有利于中药材的无公害生产。

KT、6 - BA 诱导露水草不定芽的形成、增殖、生长是必要的,其效果明显优于 ZT 及 2 - ip。KT 能较好地促进露水草不定芽生长,促进叶快速生长,叶色浓绿,具有较好的保绿作用,其苗高及叶宽均有较大优势,增殖系数也较高。6 - BA 促进露水草苗生长、叶增宽、保绿效果及芽的增殖虽不如 KT,但苗较

第5组培养基只有细胞分裂素 6 - BA 1.0 mg/L,没有加生长素,虽种子发芽较快,但长势极差,苗矮,叶细,种子萌发成苗后生长几乎停滞。第5组培养基比第6组不加任何激素的 MS 长势还差(表7)。

为健壮,长势较好,带有正常的紫色,且增殖系数也较高。从降低成本的角度考虑,可用 6 - BA 代替 KT。ZT、2 - ip 促进露水草生长及增殖的效果不如 KT、6 - BA。

在植物组织培养中,细胞分裂素具有促进芽生长的作用,生长素具有促进根生长的作用,但两者需配合协调使用^[6]。本试验中,在只有细胞分裂素 6 - BA,没有生长素的培养基中,虽种子发芽较快,但苗矮、叶细,苗的生长几乎停滞,长势极差,比在不加任何激素的 MS 培养基上长势还差。说明没有生长素,细胞分裂素不能促进芽生长,相反会严重抑制茎、叶生长。因为生长素能诱导细胞壁酶合成,增加细胞壁的可塑性,促使原生质的黏度下降,流动性增强,对水和溶质的透性提高,促进营养物质进入细胞,从而促进纵向伸长生长。细胞分裂素具有促进细胞分裂和横向生长的作用,但没有生长素,细胞壁不能松弛,其横向及纵向生长都不可能实现^[7]。

激动素/生长素的克分子比例决定着组织是生根还是生芽,比值高时,诱导芽的形成;两者的克分子浓度大致相等时,愈伤组织生长而不分化;比值小时,即生长素浓度相对大于激动素时,开始有长根的趋势^[5]。但本试验中,等浓度的 6 - BA 与 NAA 组合不仅能较好诱导露水草愈伤组织形成,而且能较好促进露水草愈伤组织分化成苗。本试验结果与在灯盏花、贯叶连翘等中药材组织培养研究中的试验结果相同^[8]。

本试验结果为露水草的离体快速繁殖、次生代谢研究及遗传转化研究奠定了基础。

濒危植物珙桐 ISSR-PCR 反应体系的建立

李雪萍^{1,2}, 何正权¹, 陈发菊^{1,2}, 梁宏伟¹, 姚伟¹, 李凤兰²

(1. 三峡大学生物技术研究中心, 植物天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 湖北宜昌 443002;

2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要: 以珙桐叶片为材料, 通过单因子试验分别研究了退火温度、*Taq* DNA 聚合酶用量、dNTP 浓度、 Mg^{2+} 浓度、引物浓度和模板 DNA 浓度对 ISSR-PCR 反应的影响, 建立了适宜于珙桐 ISSR 分析的扩增体系, 即 25 μ l 的反应体系中: 模板 DNA 20 ng, Mg^{2+} 1.5 mmol/L, 引物 0.6 μ mol/L, dNTP 0.20 mmol/L, *Taq* DNA 聚合酶 1.5 U。

关键词: 珙桐; ISSR; 反应体系; 优化

中图分类号: S792.990.04 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)02-0162-04

珙桐 (*Davidia involucrata* Baill.) 为珙桐科珙桐属落叶大乔木, 我国特有的单型孑遗植物, 属第三纪古热带植物区系的残余种, 被列为国家一级保护植物^[1]。珙桐天然分布在贵州、湖南、湖北、陕西、四川、云南及甘肃 7 省, 分布范围较窄, 资源量较少, 仅限于一些边远山区人迹罕至之处^[2]。珙桐素有“中国活化石”之称, 在植物系统发育和地史变迁上有很高的研究价值, 对珙桐进行研究, 可以为有效保护和合理利用珙桐提供必要的科学依据。

简单重复序列区间扩增多态 (ISSR) DNA 分析是由 Zietkiewicz 等^[3]于 1994 年建立的一项新的 DNA 标记技术。它结合了 SSR 和 RAPD 技术的优点, 不仅操作简单、所需 DNA 量少、不需预知研究对象的基因组序列, 而且稳定性高。因此, ISSR 近年

来已迅速应用于品种鉴定、种质资源和遗传多样性的研究, 并作为构建遗传图谱的工具^[4-8]。但至今未见将 ISSR 技术应用于珙桐相关研究的报道。

本研究对影响 ISSR-PCR 扩增体系的相关因素进行优化筛选, 建立了适于珙桐的简单、高效、稳定的 ISSR 反应体系, 为进一步开展珍稀濒危植物珙桐遗传多样性的 ISSR 分析奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

试验材料均采自神农架地区, 取其幼叶于冰壶中带回实验室, 置于 -70 °C 超低温冰箱中保存备用。

1.2 基因组 DNA 的提取与检测

参考邹喻苹等^[9]介绍的 CTAB 法, 稍做改良后提取珙桐的总 DNA^[10]。在紫外可见光分光光度计 (HITACHI U-2800) 上, 于波长 260 nm 处测定其光吸收值, 计算 DNA 浓度。用含有 EB 的 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 自动凝胶成像系统 (BIO-RAD) 观察拍照。

11.

- [5] 林如辉, 刘美龙, 彭丽萍, 等. 露水草愈伤组织培养的研究[J]. 1999, 20(4): 39-40.
- [6] 潘瑞炽. 植物组织培养[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 2003: 60-68.
- [7] 曹宗巽, 吴相钰. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1984: 278-289.
- [8] 邱璐, 瞿礼佳, 罗春梅, 等. 灯盏花遗传转化中组织培养系统的研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(1): 19-22.

收稿日期: 2006-10-17

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (编号: 2006ABA201)。

作者简介: 李雪萍 (1981—), 女, 河南洛阳人, 博士生, 从事植物生物多样性研究。E-mail: lxx_p_98000@163.com。通讯作者: 何正权, 博士, 硕士。Tel: (0717) 6397188; E-mail: zhq_he@ctgu.edu.cn。

(上接第 167 页)

参考文献:

- [1] 朱向东, 安银岭. 从露水草中提取 β -蜕皮激素的研究[J]. 西华林学院学报, 2003, 23(2): 23-25.
- [2] 王锦亮, 阮德春, 程治英, 等. 露水草中 20-羟基蜕皮甾酮的动态变化[J]. 云南植物研究, 1996, 18(4): 459-464.
- [3] 谭成玉, 王金辉, 李锐, 等. 露水草的化学成分[J]. 药学报, 2003, 38(10): 760-762.
- [4] 谢启昆. 药用植物组织培养[M]. 上海: 科学出版社, 1986: 10-