

洋水仙 Arkle 离体快速繁殖体系的建立

孙晓梅, 孙 琪, 杨宏光, 崔文山, 王亚斌

(沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866)

【摘要】 【目的】初步构建洋水仙的组培快繁体系,为洋水仙种球工厂化生产奠定基础。【方法】以洋水仙品种 Arkle 为试验材料,选用其叶片、花茎及鳞茎的不同部位作为外植体,以 MS、1/2 MS 和 1/4 MS 为基本培养基,分别添加不同质量浓度的 α -萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、6-苄基腺嘌呤(6-BA)和活性炭(AC),研究不同外植体以及不同培养基对小鳞茎诱导、增殖及生根的影响。【结果】以带鳞茎盘的双鳞片作外植体效果较好,鳞片部位以鳞茎外层鳞片的培养效果较好;较适宜的初代培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L;较适宜的增殖培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L,其诱导率可达 668.00%;适宜小鳞茎的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+1 g/L AC,其生根率可达到 80%。【结论】鳞片分化小鳞茎存在着部位效应;6-BA 和 NAA 组合对小鳞茎的诱导和增殖有良好效果;1/2 MS 与一定浓度的 NAA 和 AC 组合有利于生根。

【关键词】 洋水仙;初代培养;增殖培养;生根培养

【中图分类号】 S682.2⁺1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)03-0173-06

Construction of rapid micropropagation system via *in vitro* culture for *Narcissus* cv. Arkle

SUN Xiao-mei SUN Qi, YANG Hong-guang, CUI Wen-shan, WANG Ya-bin

(Forestry College, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China)

Abstract: 【Objectives】 The aim of this study was to establish a *Narcissus* rapid tissue culture system initially and lay a certain foundation for factory production of *Narcissus* bulbs propagation. 【Method】 We studied the effects of different explants and different media on bulblets induction, multiplication and rooting with *Narcissus* cv. Arkle as experimental material, its leaves, scapes and different parts of bulbs as explants, MS, 1/2 MS and 1/4 MS, with different mass concentrations of the NAA, IBA, 2,4-D, 6-BA and AC as the basic media. 【Result】 This study demonstrated that twin-scale with basal plate was more suitable explant and the cultivation effect of external layer scale was better. The more appropriate medium for primary culture was MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L. The proliferation medium was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L, its induction rate being 668%. The rooting rate of the bulblets reached 80% on the medium of 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+1 g/L activated carbon. 【Conclusions】 There was positive effect on scale differentiation to bulblets. The combination of 6-BA and NAA had favourable effects on induction and multiplication of bulblets. 1/2 MS with a certain concentration of NAA and AC was beneficial to rooting.

Key words: *Narcissus*; primary culture; multiplication culture; rooting culture

洋水仙是从欧洲引入我国的水仙新品种的统称,为石蒜科水仙属多年生草本植物。国内引进的

* [收稿日期] 2009-08-24

[基金项目] 沈阳市科技攻关项目(1071146-3-00)

[作者简介] 孙晓梅(1970—),女,山东昌邑人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事园林植物遗传育种研究。

E-mail: xiaomei7280@126.com

洋水仙种球目前多用于冬季促成栽培,是近年来年宵花卉市场上的新兴球根花卉。洋水仙为一萼一花,一般没有香味;大部分品种副花冠呈喇叭状,且多为黄色,因而又泛称为“喇叭水仙”或“黄水仙”。水仙的繁殖以分球繁殖为主,繁殖系数小。利用组织培养技术不仅能保持原品种的优良特性,而且可以在短时间内获得大量的再生植株。目前,国内有关水仙组织培养研究已有大量文献报道^[1-6],但这些研究主要是针对中国水仙进行的,对于引进种的研究鲜见报道。为此,本研究以洋水仙 Arkle 的叶片、花茎、鳞茎作为外植体,系统探讨了不同取材部位、不同培养因子组合,对其小鳞茎诱导、增殖、生根情况的影响,以期为洋水仙的快速、周年工厂化育苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验所用的洋水仙种球均从荷兰进口,品种为 Arkle,2007-09 种植于沈阳农业大学温室内。a-萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、6-苄基腺嘌呤(6-BA)、活性炭(AC)购自沈阳农业大学设备科。

1.2 方法

1.2.1 外植体的准备 先去除鳞茎干枯鳞叶及根系,切去鳞茎顶部 1/2,将剩余部分纵向切割成 4 份,用自来水冲洗 6 h,体积分数 75%乙醇消毒 30 s,1 g/L 升汞消毒 8 min,无菌水冲洗 4~6 次。幼叶及花梗选择健康的部位,用清水洗净后切成小段,流水冲洗 6 h 后,用 1 g/L 的升汞消毒 5 min,无菌水冲洗 4~6 次。鳞片切成 8 mm×8 mm 的小块,幼叶及花梗切成长约 8 mm 的小段,备用。

1.2.2 初代培养 将准备好的外植体接种到以 MS 为基本培养基,分别加入不同质量浓度 NAA、IBA、2,4-D 和 6-BA 的培养基中培养。每处理重复

3 次,每重复接种 30 瓶。

1.2.3 增殖培养 选取初代诱导产生的试管籽球(直径≥0.5 cm),在无菌操作台上,切去顶端绿色叶片和基部褐化的愈伤组织,对半纵切(两个半球均需带鳞茎盘)后,接种到以 MS 为基本培养基,分别添加不同质量浓度 AC、6-BA 和 NAA 的培养基中培养。每处理重复 3 次,每重复接种 30 瓶。

1.2.4 生根培养 当再生的小鳞茎直径长到 1 cm 左右时,及时从基部切下(每个均带鳞茎盘),然后转入不同的生根培养基上进行生根培养。生根培养基以 MS、1/2 MS、1/4 MS(大量元素依次降低)为基本培养基,分别加入一定质量浓度的 NAA 或 AC。每处理重复 3 次,每重复接种 30 瓶。

1.2.5 培养条件 培养基中含蔗糖 30 g/L、琼脂 7 g/L,pH 值 5.8。培养条件为:温度(25±1)℃,每天光照 12 h,光照强度 1 500 lx。每处理重复 3 次,每重复接种 30 瓶。

1.2.6 数据处理 统计分化出的小鳞茎个数和分化外植体数,计算诱导率、生根率和分化率。诱导率=(分化出的小鳞茎个数/接种外植体数)×100%;分化率=(分化外植体数/接种外植体数)×100%;生根率=(生根外植体数/接种外植体数)×100%。

试验数据采用 DPS 统计分析软件进行处理,用邓肯氏新复极差法检验各处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对 Arkle 初代诱导的影响

以带鳞茎盘的双鳞片为外植体,将其接种到不同激素配比的培养基中,7 d 左右鳞片开始变厚,双鳞片张开,在鳞片的切口处形成毛绒状物质;30 d 左右,在 2 个鳞片之间的鳞茎盘基部陆续出现白色小突起(图 1);50 d 左右,白色突起逐渐长成小鳞茎(图 2)。60 d 后统计相关数据并进行方差分析,结果见表 1。

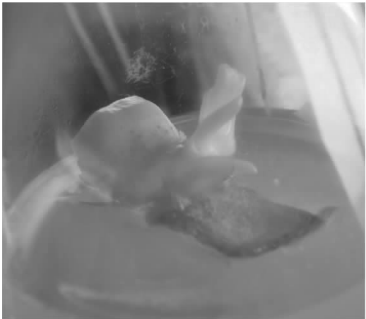


图 1 Arkle 带鳞茎盘的双鳞片的初代培养(30 d)
Fig. 1 30-day primary culture of Arkle twin-scale with basal plate (30 d)

图 2 Arkle 带鳞茎盘的双鳞片诱导出的小鳞茎
Fig. 2 Bulblets induced by twin-scale with basal plate of Arkle

表 1 不同激素配比对 Arkle 初代诱导的影响

Table 1 Effects of different hormone combinations on initial culture of *Narcissus* cv. Arkle

处理 Treatment	激素质量浓度/(mg·L ⁻¹) Hormone concentration				诱导率/% Induction rate
	6-BA	NAA	IBA	2,4-D	
1	1	0.3	0.1	0	135.4
2	1	0.5	0.2	0.1	95.6
3	1	1.0	0.3	0.2	42.4
4	2	0.3	0.2	0.2	188.6
5	2	0.5	0.3	0	203.5
6	2	1.0	0.1	0.1	158.4
7	3	0.3	0.3	0.1	223.6
8	3	0.5	0.1	0.2	287.6
9	3	1.0	0.2	0	304.3
K ₁	91.133	182.533	193.800	214.400	t=1 639.4
K ₂	183.500	195.567	196.167	159.200	
K ₃	271.833	168.367	156.500	172.867	
R	180.700	27.200	39.667	55.200	

注:外植体为带鳞茎盘的双鳞片。

Note:Explants were twin-scale with basal plate.

由表 1 中不同激素水平的极差值(R)可以看出,6-BA 的 R 值最大,说明在 Arkle 初代培养阶段,6-BA 的影响效应最大;随着 6-BA 质量浓度的升高,诱导率基本呈上升趋势。4 个因素对小鳞茎诱导率的影响顺序为 6-BA>2,4-D>IBA>NAA。通过比较 K 值可知,最适宜 Arkle 初代诱导的培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L。

2.2 不同类型外植体对 Arkle 初代诱导的影响

将 Arkle 的不带鳞茎盘的双鳞片、不带鳞片的鳞茎盘、花茎、叶片、带鳞茎盘的双鳞片接种在MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L培养基上培养,结果见表 2。从表 2 可以看出,以叶片和带鳞茎盘的双鳞片为外植体,愈伤组织诱导率较高,均超过了 30%,其中叶片的愈伤组织诱导率达到了 36.7%,其愈伤组织诱导结果见图 3。带鳞

茎盘的双鳞片诱导出小鳞茎的比例最高,达到 83.3%,平均每块外植体能产生 5.16 个小鳞茎,与其他外植体相比差异显著。该结果说明带鳞茎盘的双鳞片是比较理想的外植体。



图 3 Arkle 叶片诱导的愈伤组织

Fig.3 Callus induction of Arkle leaves

表 2 Arkle 不同器官诱导产生愈伤组织及小鳞茎数量的比较

Table 2 Effects of different organs of Arkle on callus inducement and bulblet regeneration

外植体 Explant	接种数 No. of explants	形成愈伤组织的 外植体 Explant inducing callus		诱导出小鳞茎的 外植体 Explant regenerating bulblets		小鳞茎总数 No. of bulblets induced	平均产生 小鳞茎数 No. of bulblets per explant
		数量 No.	比例/% Percent	数量 No.	比例/% Percent		
双鳞片 Twin-scale	30	4	13.3 c	2	6.7 c	5	2.50 b
鳞茎基盘 Basal plate	30	2	6.7 d	5	16.7 b	7	1.40 c
花茎 Flower stalk	30	0	0.0 e	0	0.0 d	0	0.00 d
叶片 Leaf	30	11	36.7 a	0	0.0 d	0	0.00 d
带鳞茎盘的双鳞片 Twin-scale with basal plate	30	10	33.3 b	25	83.3 a	129	5.16 a

注:同列数据后标不同小写字母者表示采用邓肯氏新复极差法检验在 0.05 水平上差异显著。表 3 和 5 同。

Note:Different small letters within a column indicated significant difference at $P<0.05$ by Duncan's multiple range tests. The same as table 3 and table 5.

2.3 不同部位带鳞茎盘的双鳞片对 Arkle 初代诱导的影响

选取 Arkle 健康的鳞茎,取其外层、中层、内层带鳞茎盘的双鳞片,分别接种在 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L 培养基

上培养,5 d 左右双鳞片向外分开;30 d 后外层和中层的鳞片上陆续有芽产生,但内层上并无芽产生;40 d 后内层才陆续开始产生芽。培养 60 d 后,观察统计各部位鳞片分化小鳞茎的个数,计算分化率,结果见表 3。

表 3 Arkle 不同部位带鳞茎盘双鳞片对小鳞茎诱导的影响

Table 3 Effects of Arkle different positions of twin-scale with basal plate on bulblets induction

部位 Position	接种数 No. of incubation	分化数 No. of differentiation	分化率/% Differentiation rate	平均分化小鳞茎数 Mean bulblet per explant
外层 External layer	40	40	100.0	5.1 a
中层 Middle layer	40	38	95.0	4.8 a
内层 Internal layer	40	25	62.5	2.8 b

从表 3 可以看出,Arkle 不同部位带鳞茎盘双鳞片形成小鳞茎的能力有较大差异,分化率以外层最高,达到 100%;中层次之,分化率为 95.0%;内层最差,分化率仅为 62.5%。外层鳞片分化小鳞茎的平均数量最多(5.1 个),中层与外层差异不显著,内层最少(2.8 个),其与中、外层差异显著。产生差异的原因可能是外、中层鳞片比较成熟,长得肥厚,贮存的营养比较丰富,因此有利于小鳞茎的形成。

2.4 不同培养基对 Arkle 增殖培养的影响

当小鳞茎直径长到 1.5 cm 时,将其顶部鳞叶切去,然后将小鳞茎沿纵轴切成 1/2 大小进行培养。20 d 左右小鳞茎鳞片之间靠近基盘的部位开始萌发小芽;60 d 左右形成小鳞茎(图 4),此时统计相关数

据,结果见表 4。

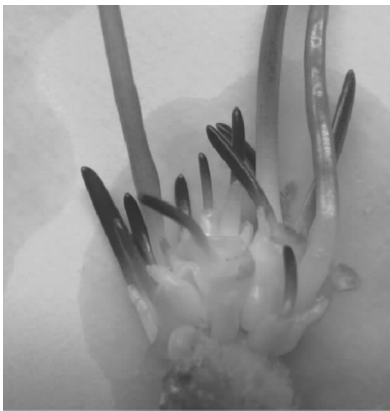


图 4 Arkle 小鳞茎的增殖培养

Fig. 4 Multiplication culture of Arkle bulblets

表 4 不同培养基对 Arkle 增殖培养的影响

Table 4 Effects of different media on multiplication culture of *Narcissus* cv. Arkle

处理 Treatment	因素 Factor				诱导率/% Induction rate
	AC/(g · L ⁻¹)	6-BA/(mg · L ⁻¹)	NAA/(mg · L ⁻¹)	空闲因子 Idle factor	
1	0	1.0	0.1	1	320.00
2	0	1.5	0.3	2	668.00
3	0	2.0	0.5	3	368.32
4	1	1.0	0.3	3	320.12
5	1	1.5	0.5	1	327.00
6	1	2.0	0.1	2	200.00
7	2	1.0	0.5	2	200.45
8	2	1.5	0.1	3	425.32
9	2	2.0	0.3	1	209.36
K ₁	452.107	280.190	315.107	285.453	t=3 038.57
K ₂	282.373	473.440	399.160	356.150	
K ₃	278.377	259.227	298.590	371.253	
R	173.730	214.213	100.570	85.800	

由表 4 中极差分析结果可知,3 个因素对 Arkle 增殖培养影响大小的顺序依次为 6-BA>AC>NAA,最佳继代培养基为:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L,其诱导率可达 668.00%。

AC 对小鳞茎的增殖有一定抑制作用,但对小

鳞茎体积的增大有一定促进作用(图 5)。在添加了 AC 的培养基中,虽然分化的小鳞茎数量较少,但小鳞茎的周径较大(图 6)。在添加 AC 的培养基中,1 周左右,基部有不定根发生,且在添加 1 g/L AC 的培养基中,生根数量最多。

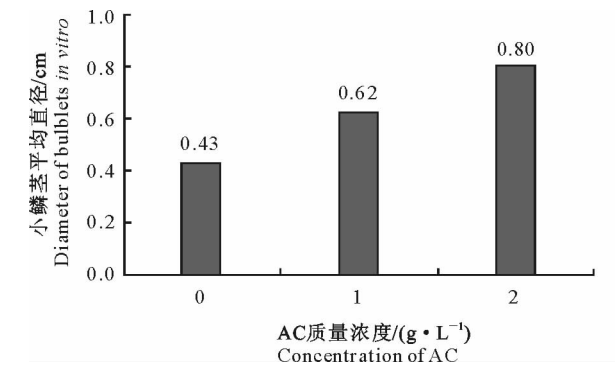


图 5 不同质量浓度 AC 对诱导出的 Arkle 小鳞茎直径的影响

Fig. 5 Effects of activated carbons with different concentrations on diameters of Arkle bulblets after inducing

2.5 不同培养基对 Arkle 小鳞茎生根的影响

小鳞茎接入生根培养基后,1 周左右可在小鳞茎的基部观察到小突起。从表 5 可以看出,在附加 NAA 0.1 mg/L 的 1/2 MS 培养基中,小鳞茎的生根率较高。相同培养基中附加 1 g/L 的 AC 对生根



图 6 添加 AC 增殖培养基中分化出的 Arkle 小鳞茎

Fig. 6 Arkle bulblets differentiated from multiplication medium with the activated carbon

率没有显著影响,但可以显著增加每个小鳞茎的生根数。综合以上结果可以得出,适宜小鳞茎的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+1 g/L AC,其生根率可达 80%。生根的 Arkle 小鳞茎见图 7。

表 5 不同培养基对 Arkle 小鳞茎生根的影响

Table 5 Effects of different media on induction of Arkle bulblets radicating

处理 Treatment	培养基 Medium	小鳞茎数 No. of bulblets	生根小鳞茎数 No. of rooting bulblets	平均每个小鳞茎的生根数 Rooting number per bulblet	生根率/% Rooting rate
1	MS	20	6	1.2 e	30 d
2	1/2 MS	20	9	2.4 bc	45 c
3	1/4 MS	20	7	1.7 cde	35 d
4	MS+NAA 0.1 mg/L	20	12	1.4 de	60 b
5	1/2 MS+NAA 0.1 mg/L	20	17	2.6 b	85 a
6	1/4 MS+NAA 0.1 mg/L	20	11	2.1 bcd	55 b
7	1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+1 g/L AC	20	16	3.5 a	80 a



图 7 生根的 Arkle 小鳞茎

Fig. 7 Rooted bulblets of Arkle bulblets

3 讨 论

在培养基中,常根据培养材料和培养目的不同

而添加一种或几种植物生长调节物质。在洋水仙 Arkle 的初代培养中,小鳞茎的诱导率与激素种类及其质量浓度有很大关系,这方面的相关报道较多,但在激素种类的选择与用量上存在较大差异^[2-6]。本研究结果表明,细胞分裂素 6-BA 在这一过程中起着主导作用,当其质量浓度为 3.0 mg/L 时,附加以一定质量浓度的生长素 NAA,可以得到较高的诱导率。本研究中 2,4-D 对小鳞茎的形成有抑制作用,与庄晓英^[7]报道的结果不同,这可能与所选用的水仙品种不同有关。

水仙可以用作外植体的部位很多,如花茎、叶片、鳞茎等^[7-11]。本研究发现,外层的带鳞茎盘的双鳞片是洋水仙离体培养的首选材料。洋水仙外植体的选择应视具体情况而定,由于洋水仙是秋植球根花卉,秋冬季节鳞茎的养分大部分在地上部分生长过程中消耗殆尽,因此若用其作外植体,分化速度会

很慢,此时可以考虑其他外植体,如子房^[11];在春夏季节,鳞茎贮存了充足的养分,此时选择鳞茎作外植体最佳。

在继代培养中,关于 AC 对增殖起抑制作用还是促进作用一直存在争议^[12-14]。在本试验中,AC 虽然抑制了小鳞茎的增殖,但对小鳞茎体积的增大起到了一定的促进作用;同时 AC 可以促进小鳞茎生根,这与王俐等^[15]的报道一致。

4 结 论

以洋水仙 Arkle 外层的带鳞茎盘的双鳞片作为外植体形成小鳞茎的速度较快且数量多,繁殖系数比较高。在洋水仙的快速繁殖体系中,较适宜的初代培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L;较适宜的增殖培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L,其诱导率可达 668.00%;适宜小鳞茎的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+1 g/L AC,其生根率可达到 80%。

[参考文献]

[1] 张永春,褚霞,李玉秀,等. 崇明水仙试管鳞茎人工诱变技术初探 [J]. 上海农业学报,2006,22(3):68-69.
Zhang Y C, Zhu Y X, Li Y X, et al. The preliminary study on mutagenizing test-tube bulbs of *Narcissus tazetta* var. *Chinensis* [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2006, 22(3): 68-69. (in Chinese)

[2] 叶祖云,郑丽萍,贺静,等. 中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *Chinensis*)基因转化受体系统的建立 [J]. 云南大学学报:自然科学版,2001,23(3):235-237.
Ye Z Y, Zheng L P, He J, et al. The establishment of gene transformation system on *Narcissus tazetta* var. *Chinensis* [J]. Journal of Yunnan University: Natural Science Edition, 2001, 23(3): 235-237. (in Chinese)

[3] 胡毅敏,阙国宁. 普陀水仙优良新品种组培繁殖技术研究 [J]. 林业科学研究,1991(2):23-26.
Hu Y M, Que G N. The tissue culture technique of new species of *Putuo narcissus* [J]. Forest Research, 1991(2): 23-26. (in Chinese)

[4] 谢嘉华,袁建军. 中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *Chinensis*)的组织培养 [J]. 生物学杂志,2002,19(3):30,36.
Xie J H, Yuan J J. Tissue culture of *Narcissus tazetta* var. *Chinensis* [J]. Journal of Biology, 2002, 19(3): 30, 36. (in Chinese)

[5] 王国明,陈红华. 自然光照下普陀水仙的组织培养 [J]. 植物生理学通讯,2003,39(6):629.

Wang G M, Chen H H. Tissue culture of *Narcissus tazetta* var. *Chinensis* under natural illumination [J]. Plant Physiology Communications, 2003, 39(6): 629. (in Chinese)

[6] 杨柳燕. 崇明水仙试管成球及离体脱毒技术的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2008.
Yang L Y. Research about development of bulblets and virus-free *in vitro* of Chongming Daffodil (*Narcissus tazetta* var. *Chinensis*) [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2008. (in Chinese)

[7] 庄晓英. 中国水仙遗传转化及离体诱变体系的研究 [D]. 浙江杭州: 浙江大学, 2005.
Zhuang X Y. Study on genetic transformation and *in vitro* irradiation system of *Narcissus tazetta* [D]. Hangzhou, Zhejiang: Zhejiang University, 2005. (in Chinese)

[8] 熊莉君,李小方,王洋,等. 崇明水仙不同外植体分化能力与鳞茎增大初探 [J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 2008(6): 104-109.
Xiong L J, Li X F, Wang Y, et al. Differentiation of different explants and enlargement of tissue culture bulb of narcissus at Chongming (*Narcissus tazetta* var. *Chinensis*) [J]. Journal of East China Normal University: Natural Science Edition, 2008(6): 104-109. (in Chinese)

[9] 栾爱业. 中国水仙不同花器官离体培养和鳞茎盘 EMS 离体诱变的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
Luan A Y. A Study on *in vitro* culture of several floral organs and in mutation with EMS on Bulb of *Narcissus tazetta* L. var. *Chinensis* Roem [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008. (in Chinese)

[10] 郭建辉,沈明山,陈丽萍,等. 中国水仙种脱毒苗的筛选 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2002, 41(6): 815-818.
Guo J H, Shen M S, Chen L P, et al. Screen of virus-eliminated seedlings of *Narcissus tazetta* var. *Chinensis* Roen [J]. Journal of Xiamen University: Natural Science Edition, 2002, 41(6): 815-818. (in Chinese)

[11] Malik M. Comparison of different liquid/solid culture systems in the production of somatic embryos from *Narcissus* L. ovary explants [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2008, 94: 337-345.

[12] Capuana M, Giannini R, Lambardi M. Micropropagation of mature plants of *Cyperus* [J]. Acta Hortical, 1991, 289: 91.

[13] Mohamed-Yaseen Y. Micropropagation of *Psidium* L. by using explant of seedling [J]. HortSci, 1992, 27(6): 692.

[14] Bach A. Effect of AC on *in vitro* propagation of *Iris* [J]. Biological Science, 1988, 36(4/6): 107.

[15] 王俐,杨德,龙春林. 中国水仙的离体培养及植株再生 [J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(5): 616-618.
Wang L, Yang D, Long C L. Tissue culture of the *Narcissus tazetta* var. *Chinensis* [J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2004, 19(5): 616-618. (in Chinese)