

doi: 10.11937/bfyy.20173200

多肉植物玉扇组培快繁体系的建立

熊丙全¹, 田进², 廖相建¹, 郑雪莲², 邓科君²

(1. 成都农业科技职业学院 园林园艺分院, 四川 成都 611130;

2. 电子科技大学 生命科学与技术学院, 四川 成都 610054)

摘要: 以多肉植物玉扇为试材, 研究了外植体选择、培养基激素配比对玉扇组织培快繁的影响, 以期优化玉扇的组织培养条件, 建立适宜于工厂化育苗的玉扇组培快繁技术体系。结果表明: 以玉扇的根颈横切片作为外植体效果最佳, 玉扇最佳诱导愈伤组织培养基为 $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$; 最佳分生茎叶培养基为 $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$; 最佳生根培养基为 $MS + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 。

关键词: 多肉植物; 玉扇; 快繁技术

中图分类号: S 682.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2018)07-0072-06

玉扇(*Haworthia truncata*) 属百合科十二卷属小型肉质植物的软叶品种, 学名截形十二卷, 是一种珍稀名贵观赏植物, 原产南非开普省^[1]。玉扇外形奇特且可爱, 具有极高的观赏价值, 能吸收辐射, 有较好的环保价值, 深受广大消费群众的喜爱。目前生产上多采用传统的嫁接、扦插(根插、叶插、芽插)、分株等方法获得成品植株, 但植株生长缓慢, 培养时间长, 且受取材及培养条件的影响较大, 无法满足市场需求而导致其价格居高不下^[2-3]。通过组织培养技术可以实现玉扇的离体快繁, 缩短其生产周期。已有研究表明, 以玉扇的花茎、叶片、侧芽作为外植体, 通过具有特定激素配比的培养基培养, 均能诱导出根、叶等器官, 但不同外植体的诱导效应存在差异, 取材不当影响

组培成功率; 另外从诱导分化的整个周期来看, 目前的培养体系需 3 个月的培养时间, 与传统方法所用周期相差不大^[4-5]。为解决玉扇组织培养过程中存在的成活率低、培养周期长等问题, 该研究针对组织培养过程中的外植体选择、培养基激素配比进行研究, 以期优化玉扇的组织培养条件, 建立适宜于工厂化育苗的玉扇组培快繁技术体系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试多肉植物玉扇由电子科技大学生命科学与技术学院植物基因组工程实验室提供。6-苄基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、6-糖基氨基嘌呤(KT)、噻苯隆(TDZ)及MS培养基所需各种化合物, 均购自成都市科龙化工试剂厂。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的筛选

采用 $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 为基本培养基(MS培养基中加入3%白砂糖、0.7%琼脂、pH 6.0); 分别取玉扇的叶片、根尖、根颈组织, 将其分为横切组织和纵切组织, 每类组织接3瓶, 每瓶接3块组织。在愈伤组织生

第一作者简介: 熊丙全(1976-), 男, 四川新都人, 硕士, 副教授, 高级农艺师, 现主要从事园艺植物及药用植物栽培技术等研究工作。E-mail: 45973177@qq.com.

责任作者: 邓科君(1977-), 女, 重庆人, 博士, 副教授, 现主要从事植物生物技术应用等研究工作。E-mail: dengkj@uestc.edu.cn.

基金项目: 四川省高等职业教育创新发展行动计划园林园艺生产性实训基地建设资助项目(XM2-35)。

收稿日期: 2017-10-12

长5、10、15 d时观察外植体的变化情况,测定愈伤组织的大小。

培养方法及条件: 外植体表面灭菌,经自来水流水冲洗5 min后,75%酒精浸洗30 s,再用0.1%升汞溶液处理10 min,随后用无菌蒸馏水冲洗4~5次。将经过消毒处理的材料均匀切成0.25 cm²左右的小块置于培养皿中,将外植体随机接入培养基中,接种完成后在无菌培养间培养,培养温度为(25±2)℃,光照12 h·d⁻¹,光照强度2 000 lx^[8]。

1.2.2 诱导愈伤组织培养基的筛选

以玉扇根颈组织横切片为外植体,以MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA为基本培养基,分别添加0.0、0.5、1.0、1.5、2.0 mg·L⁻¹的KT、TDZ、6-BA,每处理均接种3瓶,每瓶接3块。在外植体生长5、10、15 d时观察外植体的变化情况,测定愈伤组织的大小。培养方法与条件同1.2.1。

1.2.3 诱导分化生茎培养基的筛选

以玉扇愈伤组织为外植体,MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA为基本培养基,分别添加0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg·L⁻¹ 6-BA,在愈伤组织生长5、15、30 d时观察愈伤组织的变化及诱导茎叶生长情况,测定茎叶大小。

1.2.4 生根培养基的筛选

以1.2.3阶段诱导出的已分化茎叶植株进行生根培养,以MS为基本培养基,分别添加0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg·L⁻¹ NAA,在愈伤组织生长5、15、30 d时分别观察植株生根的情况,测定根的大小。

1.3 项目测定

在无菌条件下,采用直尺测量愈伤组织、茎叶及根的大小。

1.4 数据分析

采用Excel 2007、SPSS 17.0软件对试验数据进行分析。数据以平均值±标准误差表示,采用邓肯氏法进行多重比较($P=0.05$)分析。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对愈伤组织的诱导效应

由图1可知,经过愈伤组织诱导培养基诱导

培养后,玉扇叶片纵切片几乎无变化,而叶片横切片、根尖纵切片组织诱导培养10 d时仍无变化,诱导培养15 d之后,愈伤组织长度为0.55 cm,出现少量愈伤组织,难以高效诱导愈伤组织;根尖横切片、根颈纵切片、根颈横切片在诱导培养10 d后膨大泛黄,均有愈伤组织形成,其中根颈横切片的诱导效应明显高于其它组织,诱导培养10 d后外植体长度为0.60 cm,诱导培养15 d后为0.75 cm,均显著高于同阶段根尖横切片和根颈纵切片的外植体长度。从图2可以看出,以玉扇根颈组织作为外植体,经过诱导培养后,外植体均明显膨大泛黄,成功诱导出愈伤组织,且根颈组织横切片诱导愈伤组织的效应明显优于根颈纵切片。

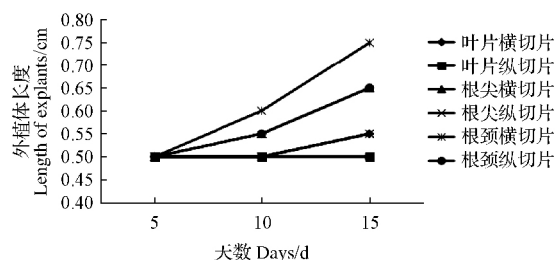


图1 不同外植体对愈伤组织的诱导效应

Fig. 1 Effect of different explants on induction of callus efficiency

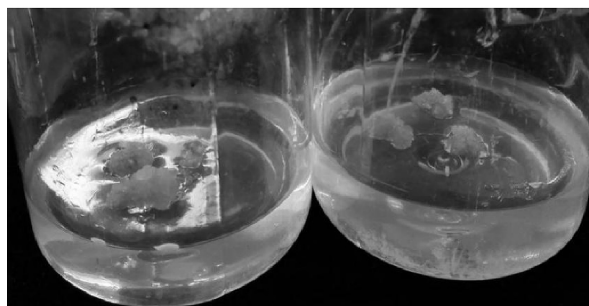


图2 根颈横切片(左)与根颈纵切片(右)外植体诱导的愈伤组织

Fig. 2 Callus induced by transverse section of root neck (left) and longitudinal section of root neck (right)

2.2 不同激素浓度对玉扇组培各阶段的影响

2.2.1 不同激素浓度对外植体长度的影响

由表1、图3可知,经过不同激素配比的愈伤

组织诱导培养基诱导培养后,不同浓度的 KT、6-BA均能诱导玉扇外植体形成愈伤组织,且外植体长度明显高于对照;诱导培养 10 d 后外植体均膨大泛黄,呈颗粒状聚集,诱导培养 5 d 时则无明显变化,说明愈伤组织一般在诱导培养 10 d 左右产生,且愈伤组织随培养天数增加逐渐增多;比较

不同浓度 KT、6-BA 的诱导效应,其中以 6-BA 浓度为 1.0 mg · L⁻¹时,诱导愈伤组织的效果最佳,诱导培养 15 d 外植体长度达到 0.75 cm,显著高于 6-BA 其它浓度处理,也显著高于 KT 最佳浓度的诱导效应。不同浓度的 TDZ 则未能诱导形成愈伤组织,外植体长度几乎无变化。

表 1 不同激素浓度对外植体长度的影响
Table 1 Effect of different hormone concentrations on length of callus cm

编号 No.	添加激素种类 Hormone types	激素浓度 Hormone concentration/(mg · L ⁻¹)	天数 Days/d		
			5	10	15
CK	KT	0.0	0.50 ± 0.02a	0.50 ± 0.02a	0.53 ± 0.01a
KT-1		0.5	0.50 ± 0.01a	0.53 ± 0.02a	0.58 ± 0.02b
KT-2		1.0	0.50 ± 0.03a	0.55 ± 0.02a	0.60 ± 0.02b
KT-3		1.5	0.50 ± 0.02a	0.58 ± 0.01b	0.65 ± 0.02c
KT-4		2.0	0.50 ± 0.02a	0.53 ± 0.03a	0.58 ± 0.02b
TDZ-1	TDZ	0.5	0.50 ± 0.03a	0.50 ± 0.03a	0.50 ± 0.03a
TDZ-2		1.0	0.50 ± 0.01a	0.50 ± 0.01a	0.50 ± 0.01a
TDZ-3		1.5	0.50 ± 0.02a	0.50 ± 0.02a	0.50 ± 0.02a
TDZ-4		2.0	0.50 ± 0.02a	0.50 ± 0.02a	0.50 ± 0.02a
BA-1	6-BA	0.5	0.50 ± 0.03a	0.53 ± 0.01a	0.63 ± 0.02c
BA-2		1.0	0.50 ± 0.01a	0.60 ± 0.01b	0.75 ± 0.02d
BA-3		1.5	0.50 ± 0.02a	0.58 ± 0.01b	0.65 ± 0.02c
BA-4		2.0	0.50 ± 0.01a	0.52 ± 0.02a	0.56 ± 0.02a

注:外植体的初始长度为 0.50 cm。
Note: The initial length of the explant is 0.50 cm.

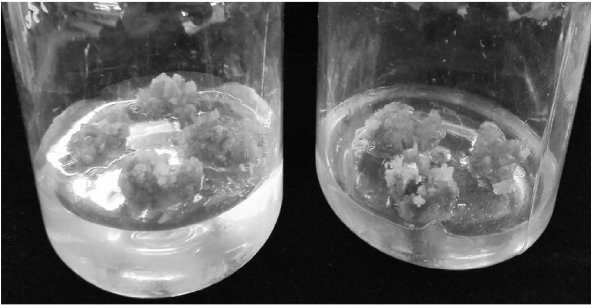


图 3 6-BA(左)和 KT(右)在最佳浓度时诱导产生的愈伤组织
Fig. 3 Callus induced by 6-BA and KT hormones at the optimum concentration

2.2.2 不同浓度 6-BA 对茎叶组织高度的影响
由表 2、图 4 可知,添加不同浓度 6-BA 均能诱导出茎叶组织,且随 6-BA 浓度增加诱导效果越明显,诱导培养 30 d 时除 0.5 mg · L⁻¹6-BA 浓度处理与对照差异不显著外,其它浓度处理均显著高于对照;当 6-BA 浓度为 2.0 mg · L⁻¹时茎叶

组织诱导效果达最佳,为 1.45 cm,显著高于其它浓度处理。由表 2 还可知,诱导生茎的效果与培养时间有关,诱导培养 5 d 时愈伤组织几乎无变化;诱导培养 15 d 后,有丛生芽产生。

表 2 不同浓度 6-BA 对茎叶组织高度的影响
Table 2 Effect of different concentration 6-BA on height of stem and leaf tissue cm

编号 No.	激素浓度 Hormone concentration/(mg · L ⁻¹)	天数 Days/d		
		5	15	30
CK	0.0	0.00 ± 0.00a	0.30 ± 0.03a	0.70 ± 0.01a
BA-2.1	0.5	0.00 ± 0.00a	0.30 ± 0.04a	0.90 ± 0.04ab
BA-2.2	1.0	0.00 ± 0.00a	0.38 ± 0.02ab	1.05 ± 0.03b
BA-2.3	1.5	0.00 ± 0.00a	0.45 ± 0.03b	1.20 ± 0.02bc
BA-2.4	2.0	0.05 ± 0.01a	0.55 ± 0.02b	1.45 ± 0.03d
BA-2.5	2.5	0.03 ± 0.02a	0.48 ± 0.01b	1.30 ± 0.02c

注:愈伤组织分化生成茎和叶,茎叶组织的初始高度为 0.00 cm。
Note: Callus are differentiated the stem and leaf, initial height of the stem and leaf tissue is 0.00 cm.



注: 6-BA 浓度从左至右依次为 1.5 、 2.0 、 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: Concentration of 6-BA from left to right are $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

图4 愈伤组织诱导生茎 30 d 情况

Fig. 4 Callus induction of stem 30 days situation

2.2.3 不同浓度 NAA 对根组织长度的影响

由表3、图5可知,经不同浓度 NAA 诱导玉扇茎叶组织分化生根,当浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,诱导生根的效果最佳,根系长度明显高于对照及其它浓度处理。随 NAA 浓度增加诱导生根效应逐渐减弱,当浓度达到 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 时不再诱导生根。由表3还可知,NAA 浓度不同诱导玉扇茎叶组织生根的时间也有差异,当 NAA 浓度为 0.1 、 0.2 、 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,诱导培养 5 d 即有根系产生;诱导培养到 15 d 时,其它浓度及对照也有根系产生,但明显低于前者;而诱导培养到 30 d 时,根系生长速度减缓,基本达到上限,此时根系长度多在 3.0 cm 左右。

表3 不同浓度 NAA 对根组织长度的影响

Table 3 Effect of different concentration NAA on length of root tissue

编号 No.	激素浓度 Hormone concentration $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	天数 Days / d			cm
		5	15	30	
CK	0.0	$0.00 \pm 0.00a$	$0.50 \pm 0.01a$	$2.65 \pm 0.02b$	
NAA-2.1	0.1	$0.30 \pm 0.02b$	$1.60 \pm 0.03c$	$3.10 \pm 0.03c$	
NAA-2.2	0.2	$0.20 \pm 0.03b$	$1.10 \pm 0.04b$	$2.85 \pm 0.03b$	
NAA-2.3	0.3	$0.10 \pm 0.02b$	$0.80 \pm 0.03ab$	$2.65 \pm 0.01b$	
NAA-2.4	0.4	$0.00 \pm 0.00a$	$0.35 \pm 0.02a$	$1.10 \pm 0.03a$	
NAA-2.5	0.5	$0.00 \pm 0.00a$	$0.00 \pm 0.00a$	$0.00 \pm 0.00a$	

注: 根的初始长度为 0.00 cm 。

Note: Initial length of the root is 0.00 cm .



注: NAA 浓度从左至右分别为 0.4 、 0.3 、 0.2 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Note: Concentration of NAA from left to right are $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

图5 不同浓度 NAA 诱导生根情况

Fig. 5 Rooting induced by different concentration NAA

3 讨论

十二卷属植物组织培养中对外植体的选择非常关键,已有研究表明,十二卷属玉露组培快繁的最佳外植体是花序^[7-9];而玉扇的春生花茎、叶片作为外植体,进行愈伤组织诱导,在20 d之后均得到了少量愈伤组织,其中春生花茎不易生长、且样本太少,因此不适宜作为快速繁殖体系的外植体材料^[4-9]。该试验以玉扇叶片、根尖、根颈组织为外植体进行愈伤组织诱导培养,结果表明除了叶片纵切片作为外植体诱导效率极低外,其它组织均有一定效果,能诱导愈伤组织产生,比较而言以根颈横切片为外植体,其诱导效应最佳。

通过对玉扇各阶段培养基配方进行对比试验,确定了愈伤组织诱导、茎叶分化及生根阶段的最佳培养基,诱导玉扇愈伤组织的最佳培养基配方为 $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$;诱导分化生茎的最佳培养基为 $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$;诱导生根的最佳培养基为 $MS + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 。李劼等^[4]采用6-BA、NAA、IBA 3种外源激素及孙涛等^[9]采用6-BA分别配制愈伤诱导启动培养基,20 d后获得了少量小球状愈伤组织,而采用该试验愈伤组织诱导培养基配方,诱导培养约10 d即有愈伤组织产生,15 d便能够得到较为明显的愈伤组织。李劼等^[4]研究发现,玉扇诱导生茎阶段的培养时间为20 d,30 d后获得大量丛芽。该试验中采用的诱导生茎培养基配方,培养15 d就获得较明显的丛生芽;李劼等^[4]在诱导生根阶段培

养20 d得到较好的完整植株,而采用该试验的生根培养基,诱导培养5 d即有根系产生,培养15 d就可形成完整植株。由此可见,采用该试验各阶段的最佳培养基进行玉扇组织培养,能节省约20 d的培养时间,不到2个月即可获得完整植株。

综上所述,该研究筛选获得了玉扇组织培养的最佳外植体及各培养阶段的最佳培养基配方,建立了多肉植物玉扇的组培快繁技术体系,研究结果能有效提高愈伤组织诱导成功率、缩短种苗生产周期,为玉扇工厂化育苗提供了试验依据,具有较好的应用前景。

参考文献

- [1] 铭钰. 玉扇: 叶面如玉形似扇 [J]. 花木盆景, 2011(8): 16-18.
- [2] 翟恒华, 李耿, 李权生. 十二卷属植物的生长环境与光照条件 [J]. 黑龙江农业科学, 2012(10): 80-81.
- [3] 夏时云, 韩伟, 丁亮. 一种用于增加十二卷属多肉植物组织繁殖速度的专用培养基及组培方法: CN201510502501.4 [P]. 2015-08-14.
- [4] 李劼, 张静, 卢涛. 玉扇的快速繁殖 [J]. 中国科技信息, 2008(12): 78.
- [5] 孙涛, 李德森. 截形十二卷的组织培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(6): 586.
- [6] 常梅, 郑一强. 植物组织培养技术 [M]. 沈阳: 辽宁民族出版社, 2013.
- [7] 仇琨. 珍稀多肉植物种质资源组培保存及快速繁殖技术 [J]. 中国园艺文摘, 2016, 32(7): 164-165.
- [8] 郭生虎, 朱永兴, 关雅静. 百合科十二卷属玉露的组培快繁关键技术研究 [J]. 中国农学通报, 2016, 32(34): 85-89.

Establishment of Tissue Culture and Rapid Propagation System of *Haworthia truncata*

XIONG Bingquan¹, TIAN Jin², LIAO Xiangjian¹, ZHENG Xuelian², DENG Kejun²

(1. Department of Landscape Gardening, Chengdu Agricultural College, Chengdu, Sichuan 611130; 2. School of Life Sciences and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu, Sichuan 610054)

Abstract: *Haworthia truncata* was taken as test material, effects of selection of explants and proportion of hormone in culture medium of tissue culture of *Haworthia truncata* were studied. In order to optimize the tissue culture conditions of *Haworthia truncata*, this test established a tissue culture and rapid propagation system that was suitable for industrial seedling rearing. The results showed that

doi: 10.11937/bfy.20173113

油用牡丹 *FAD2* 基因的生物信息学分析

陈 为, 张 琳

(洛阳理工学院 环境工程与化学学院, 河南 洛阳 471000)

摘 要: 以油用牡丹“凤丹”(*Paeonia ostii*) 为试材, 采用生物信息学方法, 对调控多不饱和脂肪酸合成的关键酶 ω -6 脂肪酸脱氢酶(Fatty acid desaturase, *FAD2*) 基因进行生物信息学分析, 以期为进一步研究 *PoFAD2* 基因调控牡丹多不饱和脂肪酸合成提供参考。结果表明: 油用牡丹 3 个 *FAD2* 蛋白被聚类到了 3 个分支, 预示着这 3 个基因存在功能上的差异。其中 *PoFAD2-1* cDNA 全长 1 695 bp, 编码 383 个氨基酸。 *PoFAD2-1* 无信号肽结构, 是非分泌型蛋白, 有 3 个 *FAD2* 特有的组氨酸保守区和 4 个跨膜结构域, 亚细胞定位预测该基因定位于内质网, 与目前所报道的其它物种的 *FAD2-1* 一致。

关键词: *FAD2*; 牡丹; 生物信息学

中图分类号: S 685.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2018)07-0077-05

牡丹是一种多年生落叶灌木, 牡丹籽油中饱和脂肪酸含量超过 90%, 其中油酸约占 21%, 亚油酸(ω -6 脂肪酸) 约占 26%, α -亚麻酸(ω -3 脂肪酸) 高达 45%, 是最健康的木本坚果油^[1]。牡丹籽油的质量取决于亚油酸和亚麻酸的比例和含

量, 而位于内质网的 ω -6 脂肪酸脱氢酶(*FAD2*) 是合成多不饱和脂肪酸的第一步, 对亚油酸和亚麻酸的合成起着关键作用。因此研究油用牡丹 *FAD2* 基因对油类作物分子育种具有重要意义。

迄今为止, 有大量的 *FAD2* 基因家族成员被克隆出来并被深入研究。尽管在拟南芥中只发现了一个拷贝^[2], 但是在大多数物种基因组中 *FAD2* 却是一个复杂的基因家族。如大豆中有 5 个 *FAD2* 基因, 分属于 2 个 *FAD2* 异构体(*FAD2-1* 和 *FAD2-2*)^[3], 其中 *FAD2-1* 在种子中高表达, 控制种子高油酸含量, 而 *FAD2-2* 在种子和营养组织均有表达, 但与种子油酸含量无关^[4-6]。在棉花中也有 4 个 *FAD2* 基因, 其中 *FAD2-1* 在花芽和种子中特异表达, 与种子中亚油酸的积累相关, 而 *FAD2-2*、*FAD2-3*、*FAD2-4* 在所有组织均表达^[7]。*FAD2* 在脂肪酸修饰中具

第一作者简介: 陈为(1981-), 男, 博士, 讲师, 现主要从事牡丹育种及油脂合成分子机理等研究工作。E-mail: pardy@hotmail.com.

责任作者: 张琳(1985-), 女, 博士, 讲师, 现主要从事牡丹育种及油脂合成分子机理等研究工作。E-mail: zlhelen@163.com.

基金项目: 河南省科技厅 2017 年科技攻关(农业) 资助项目(172102110103); 河南省教育厅 2016 年高等学校重点科研资助项目(16A180030); 洛阳理工学院高层次人才科研资助项目(2014BZ02, 2014BZ03)。

收稿日期: 2017-10-30

transverse section of root neck of *Haworthia truncata* was the best as the explant in callus induction stage. The best media for each stages were as follows: the best medium for callus induction was MS + 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.1 mg · L⁻¹ NAA, the best medium for inducing stem and leaf was MS + 2.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.1 mg · L⁻¹ NAA, the best medium for inducing root was MS + 0.1 mg · L⁻¹ NAA.

Keywords: succulent plant; *Haworthia truncata*; rapid propagation technology