

王智华,李倩,张素芳,等.花榈木组织培养再生体系的建立及优化[J].江苏农业科学,2024,52(4):50-55.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.007

花榈木组织培养再生体系的建立及优化

王智华,李倩,张素芳,邓小梅,吴蔼民

(华南农业大学林学与风景园林学院,广东广州 510642)

摘要:为建立花榈木的组织培养再生体系,以花榈木种子为外植体,通过不同灭菌组合方式进行消毒处理,研究不同培养基和植物生长调节剂组合对花榈木不定芽诱导、增殖、生根的影响。结果表明:(1)最佳灭菌方式是以种子为外植体,对其进行 75% 乙醇浸泡 30 s + 0.1% HgCl_2 浸泡 6 min 的消毒处理;(2)最适不定芽诱导培养基是改良 MS(加椰汁) + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L,诱导率为 74.96%;(3)最适不定芽增殖培养基是改良 MS(加椰汁) + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L;(4)最适不定根诱导培养基是 1/2 WPM + NAA 0.15 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L,生根率最高达 61.47%。本研究建立花榈木组织培养再生体系,旨在为花榈木种质资源保存和工厂化育苗提供技术指导,同时为花榈木遗传转化研究提供理论基础。

关键词:花榈木;组织培养;再生体系

中图分类号:S722.3⁺7 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0050-05

花榈木(*Ormosia henryi* Prain)又名花梨木,为蝶形花科红豆属常绿乔木,主要分布在东亚地区,主产于我国亚热带地区及泰国、越南等地,为世界著名的珍贵用材树种;但由于砍伐严重且缺乏人工栽培,其天然林资源已近枯竭,花榈木被列为国家二级保护植物^[1]。花榈木因其木结花纹色彩鲜艳且纹理清晰美丽,有微香,木材结构均匀,硬度适中,被广泛用于制作高档家具、雕刻艺术品和装饰品,具有较高的经济价值^[2]。花榈木还是一种极为珍贵的中药材,其根、茎、叶、皮等各树体器官均可入药。由于地域限制等因素,国外学者对花榈木的研究较少,仅在生态环境研究中略有提及^[3]。国内对花榈木的研究大多集中在种子育苗及苗期管理上^[4-8]。由于花榈木原生境遭到破坏,且花榈木种质资源稀少、结实困难且种子萌发较难,为了扩大种群,迫切需要对花榈木野生资源采取保护及人工栽培等措施^[9-10]。因此,建立高效实用的组织培养再生体系刻不容缓。目前对花榈木组织培养的研究已取得一定成效^[2,10-11],但花榈木野生幼苗生长

慢,保存率低,更新比较困难。因此,本研究通过外植体的消毒、培养基及植物生长调节剂的不同组合处理,对花榈木不定芽的诱导、增殖、生根的影响进行研究,旨在建立高效、稳定的花榈木组织培养再生体系,为花榈木种质资源的保存和工厂化育苗提供一定的技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料来源

本试验所用的花榈木种子,来源于江西省赣州市全南县大吉山镇矮岭下和马安村南方向林地以及浙江中国林业科学研究院亚林中心。试验于 2017 年 9 月在华南农业大学林学与风景园林学院实验室开展,试验用茎段来自在恒温 25 ℃、湿度 70%、光照强度 3 000 lx、光照时间 8 h/d 培养箱内种子萌发至第 3 张叶片展开的种子苗。

1.2 无菌材料的获得及外植体的灭菌方法

采用文献[12]中的灭菌方法,在超净工作台内将种子苗放入无菌玻璃瓶中,先用无菌水清洗 3 次,于 75% 乙醇中浸泡 30 s,无菌水冲洗 5 次;随后将其放入 0.1% HgCl_2 中按规定时间进行灭菌处理,无菌水冲洗 5 次。将灭菌处理后的种子幼苗取出,接种于诱导培养基中。

花榈木种子发芽困难,为了能建立更有效的花榈木组培体系,以花榈木种子为外植体,设计 2 种灭

收稿日期:2023-03-27

基金项目:广东省林业科技计划项目(编号:2017KJCX028)。

作者简介:王智华(1998—),女,云南昭通人,硕士研究生,研究方向为林木生物学。E-mail:Wangzhihua148184@163.com。

通信作者:吴蔼民,博士,教授,研究方向为林木生物学。E-mail:wuaimin@scau.edu.cn。

菌处理(表 1)。每种材料每个处理 100 瓶,21 d 后统计污染率、死亡率、存活率。比较不同灭菌处理对进瓶幼苗生长的影响,筛选出最佳的灭菌处理。

表 1 外植体不同灭菌方法设计

处理	灭菌组合
1	种子去壳,75% 乙醇浸泡 30 s +0.1% HgCl ₂ 浸泡 3 min
2	种子不去壳,75% 乙醇浸泡 30 s +0.1% HgCl ₂ 浸泡 6 min

1.3 不定芽诱导培养基的筛选

不定芽诱导培养基是以 MS、改良 MS(加椰汁)、WPM、B5 为基本培养基,分别添加蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L、肌醇 0.1 g/L 再按不同组合附加激素 6-BA 2.0 mg/L、NAA 0.2 mg/L、IBA 0.25 mg/L,pH 值调至 5.8。将无菌种子苗接种于诱导培养基中,共设 8 个处理,每个处理 30 株,重复 3 次,记录生长状况,20 d 后统计不定芽的诱导率。

1.4 增殖培养基的筛选

待诱导培养的不定芽生长至长度为 2~3 cm 时,切下放入增殖培养基中。

1.4.1 基本培养基的筛选 以 MS、1/2MS、改良 MS(加椰汁)、WPM、B5 为基本培养基,均分别添加蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L、肌醇 0.1 g/L、6-BA 2.0 mg/L、NAA 0.2 mg/L,pH 值调至 5.8。每个处理重复 3 次,各 15 瓶,每瓶一丛不定芽,20 d 后统计试验结果。

1.4.2 植物生长调节剂种类与浓度配比的筛选 主要研究 6-BA、NAA 不同浓度组合对花榈木增殖的影响,各因子分别设 4 个水平:6-BA 浓度分别设为 1.0、1.5、2.0、2.5 mg/L,NAA 浓度分别设为 0.08、0.15、0.20、0.25 mg/L。以改良 MS 为基本培养基,在各培养基内均加入蔗糖 30 g/L、肌醇 0.1 g/L、琼脂 6 g/L,pH 值调至 5.8,每个处理 15 瓶,重复 3 次。接种 20 d 后统计花榈木不定芽增殖情况和生长状况。

1.5 生根培养基的筛选

选取增殖培养后生长发育良好且株高大于 1.5 cm 的芽进行生根培养。每瓶接种 1 株,每个处

理接种 20 瓶,重复 3 次。30 d 后统计生根情况。

本试验以 MS、1/2MS、WPM、1/2WPM 为生根基本培养基(均分别添加生长素 IBA 0.5 mg/L、NAA 0.05 mg/L、琼脂 6 g/L、肌醇 0.1 g/L、蔗糖 30 g/L,pH 值调至 5.8),研究不同生根培养基对花榈木生根的影响。进一步统计生长素 IBA、NAA 对花榈木生根率的影响,且分别设 3 个水平:IBA 分别设为 0.2、0.4、0.6 mg/L,NAA 分别设为 0.15、0.10、0.05 mg/L。

1.6 统计分析方法

使用 IBM SPSS Statistics 17 软件和 Excel 2017 进行数据分析,百分数经反正弦转换后进行方差分析。

- 污染率 = 污染的外植体数/接种苗数 × 100%;
- 诱导率 = 诱导出腋芽的无菌外植体数/未污染的外植体个数 × 100%;
- 褐化死亡率 = 褐化死亡的外植体数/接种苗数 × 100%;
- 增殖系数 = 总芽数/接种不定芽数(以芽长 ≥ 0.3 cm 为数据源);
- 生根率 = 生根苗数/接种苗数 × 100%;
- 平均根数 = 所有根数/生根苗数。

2 结果与分析

2.1 不同消毒处理对花榈木组培无菌系建立的影响

由表 2 可知,处理 2 的外植体存活率高达 55%,污染率为 15%;处理 1 的死亡率、污染率都高于处理 2,存活率仅 30%。综上,种子不去壳,用 75% 乙醇浸泡 30 s +0.1% HgCl₂ 浸泡 6 min 处理为最适合花榈木组培无菌系建立的灭菌处理。

2.2 不同培养基及生长素对花榈木不定芽诱导的影响

MS、改良 MS、WPM、B5 这 4 种培养基的方差分析结果(表 3)表明,不同培养基会对花榈木不定芽诱导产生极显著影响($P < 0.01$)。当 4 种培养基以 6-BA 为分裂素,分别添加不同生长素时,花榈木

表 2 不同灭菌处理对花榈木组培无菌系建立的影响

处理	接种数 (株)	污染数 (株)	污染率 (%)	褐化死亡数 (株)	褐化死亡率 (%)	存活数 (株)	存活率 (%)
1	100	32	32	38	38	30	30
2	100	15	15	30	30	55	55

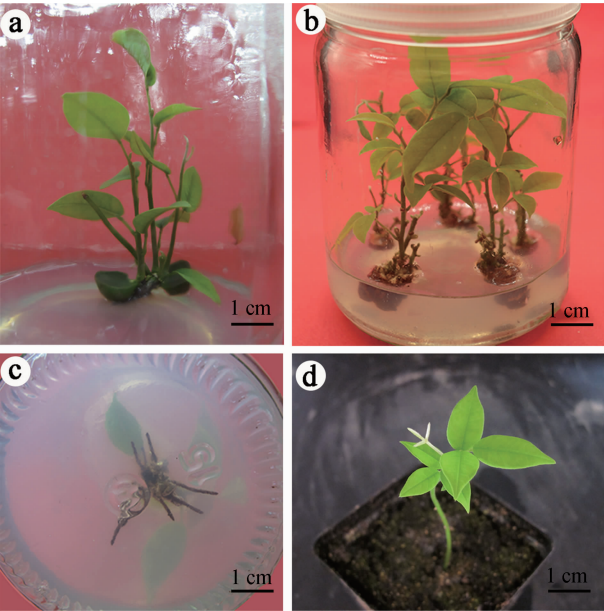
不定芽受到不同的诱导影响。生长素为 NAA 时,花
榈木在改良 MS 培养基中长势最好(图 1 - a),不定
芽生长快,伸长也快,诱导率为 74. 96% ;其次为 MS
培养基,不定芽生长慢,长势一般,诱导率为
64. 38% ;诱导率最低且生长情况最差的是 B5 培养
基,不定芽生长缓慢,甚至出现死亡,诱导率仅为
29. 39% 。生长素为 IBA 时,花榈木同样在改良 MS
培养基中长势最好,诱导率为 70. 79% ;在 WPM 培
养基上诱导率虽有 61. 50% ,但不定芽生长慢,且有
小部分出现玻璃化现象;诱导率最低的依旧是 B5
培养基,诱导率为 51. 94% 且不定芽生长缓慢、泛黄。

综上,改良 MS 培养基为最适合花榈木不定芽诱导的
培养基:改良 MS + 肌醇 0. 1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂
6 g/L + 6 - BA 2. 0 mg/L + NAA 0. 2 mg/L。此外,在
相同的培养基中,不同的激素组合会对不定芽的诱
导产生很大影响(表 3),在 B5、WPM 培养基中,花
榈木在 IBA 作用下不定芽诱导率比在 NAA 中高;在
改良 MS、MS 培养基中,花榈木在 NAA 作用下不定
芽诱导率比在 IBA 中高。因此,本试验所用的 4 种
培养基均能诱导出不定芽,且对不定芽诱导影响的
主次关系整体为改良 MS 培养基 > MS 培养基 >
WPM 培养基 > B5 培养基。

表 3 不同培养基对花榈木不定芽诱导的影响

培养基	6 - BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	IBA 浓度 (mg/L)	生长情况	诱导率 (%)
MS	2. 0	0	0. 25	不定芽生长缓慢	54. 57E
改良 MS	2. 0	0	0. 25	不定芽生长快,长势好	70. 79B
B5	2. 0	0	0. 25	不定芽生长缓慢,不定芽泛黄	51. 94F
WPM	2. 0	0	0. 25	不定芽生长慢,有小部分出现玻璃化	61. 50D
MS	2. 0	0. 2	0	不定芽生长慢,长势一般	64. 38C
改良 MS	2. 0	0. 2	0	不定芽生长快,伸长快,长势好	74. 96A
B5	2. 0	0. 2	0	不定芽生长缓慢,甚至出现死亡	29. 39H
WPM	2. 0	0. 2	0	不定芽生长慢,长势差	36. 20G

注:同列数据后不同大写字母表示在 0. 01 水平上差异显著。表 4 至表 7 同。



a: 改良MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 上诱导出的不定芽;
b: 改良 MS(椰汁)+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.25 mg/L 上增殖的不
定芽; c: 1/2WPM+NAA 0.15 mg/L+IBA 0.2 mg/L 上的生根
效果; d: 移栽成活的再生植株

图1 花榈木组培再生体系的建立过程

2.3 不同培养基及激素组合对花榈木不定芽增殖
的影响

2.3.1 不同培养基对花榈木不定芽增殖的影响
通过花榈木不定芽诱导得到幼苗后,以 MS、1/2MS、
改良 MS、WPM、B5 这 5 种培养基为主要研究对象,
分析其对不定芽增殖的影响。由表 4 可知,不同培
养基处理下花榈木不定芽的增殖系数之间有极显
著差异($P < 0. 01$)。花榈木在改良 MS 培养基上长
势最好,不定芽多且健壮,不定芽伸长比在其他培
养基快,增殖系数为 3. 19,约为 B5 培养基的 2. 5
倍;在 MS 培养基上次之,不定芽较多且不定芽生长
较快,但不定芽伸长效果不明显;在 WPM 培养基上
不仅不定芽少、生长缓慢,甚至出现褐化情况;在 B5
培养基上,不定芽少、愈伤组织较多。综上所述,改良
MS 培养基为最适合花榈木不定芽增殖的基本培养基,
具体为:改良 MS + 肌醇 0. 1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂
6 g/L + 6 - BA 2. 0 mg/L + NAA 0. 2 mg/L。

2.3.2 不同激素组合对花榈木不定芽增殖的影响
方差分析结果表明,不同激素组合对花榈木的增

表 4 不同培养基对花榈木不定芽增殖的影响

培养基	增殖系数	生长状况
MS	2.47B	不定芽较多,生长较快
1/2MS	1.67C	不定芽少,长势一般
改良 MS	3.19A	不定芽多,长势好且健壮,伸长快
WPM	1.08D	不定芽少,生长较慢,偶尔出现褐化
B5	1.29D	不定芽少,偶尔有不定芽伸长,愈伤组织较多

殖系数会产生极显著影响($P < 0.01$)(表 5)。其中,6-BA 为 2.0 mg/L 处理下,NAA 为 0.25 mg/L 时,花榈木增殖效果最佳(图 1-b),增殖系数最高,为 3.59,不定芽整体长势好,生长健壮,茎段伸长很快。6-BA 为 1.0 mg/L 处理下,NAA 浓度为 0.20 mg/L 时,花榈木增殖效果最差,增殖系数仅为 2.10,增殖的不定芽叶片发黄,生长差。6-BA 为 1.0 mg/L 处理下时,增殖系数随 NAA 浓度的增加呈“升—降—升”的趋势;且当 NAA 为 0.15 mg/L 时,增殖系数最高,叶片颜色正常,不定芽健壮,但整体生长慢。6-BA 为 1.5 mg/L 处理下,增殖系数随 NAA 浓度增加呈“升—降—升”的趋势,且当 NAA 为 0.25 mg/L 时,增殖系数最高,为 3.11,增殖不定芽长势好且健壮,叶片绿。6-BA 为 2.0 mg/L 处理下,增殖系数随 NAA 浓度的增加呈“升—降—升”趋势;当 NAA 为 0.25 mg/L 时,增殖系数最高。6-BA 为 2.5 mg/L 处理下,增殖系数随 NAA 浓度的增加呈“升—降—升”的趋势,且当 NAA 为 0.15 mg/L 时,增殖系数最高。

2.4 不同培养基及生长素组合对花榈木生根的影响

2.4.1 不同培养基对花榈木生根效果的影响 方差分析结果表明,不同培养基对花榈木生根率有极显著影响($P < 0.01$)(表 6)。花榈木在 1/2WPM 基本培养基中生根效果最好,生根率为 56.50%,平均根数为 4.98 条,是 WPM 培养基的 2 倍多,出根速度最快,叶片呈绿色,长势良好;在 MS 培养基与 1/2MS 培养基中则无生根迹象,仅形成愈伤组织(表 6)。综上所述,花榈木在 1/2WPM 基本培养基中生根效果最佳。

2.4.2 不同生长素组合对花榈木生根的影响 方差分析结果表明,不同生长素组合对花榈木生根率有极显著影响($P < 0.01$)(表 7)。当培养基中生长素组合为 IBA 0.2 mg/L + NAA 0.15 mg/L 时,花榈木生根效果最佳(图 1-c),生根率高达 61.47%,每

表 5 不同激素组合对花榈木不定芽增殖的影响

6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	增殖系数	生长状况
1.0	0.08	2.65G	叶片少,生长缓慢,有褐化
1.0	0.15	2.66F	叶片颜色绿,生长慢,不定芽健壮
1.0	0.20	2.10H	叶片颜色黄,生长差
1.0	0.25	2.38F	叶片颜色黄,生长缓慢
1.5	0.08	2.75D	不定芽长势好,叶片颜色绿,不定芽健壮
1.5	0.15	3.01C	叶片少,不定芽健壮
1.5	0.20	2.44F	叶片少,长势一般,有愈伤
1.5	0.25	3.11C	不定芽长势好,叶片颜色绿,不定芽健壮
2.0	0.08	2.75D	叶片少,生长较慢,不定芽健壮
2.0	0.15	3.27B	不定芽少,叶片颜色绿
2.0	0.20	2.94D	叶片少,生长较慢,不定芽健壮
2.0	0.25	3.59A	不定芽长势好,健壮
2.5	0.08	2.75E	叶片少,长势一般,有愈伤
2.5	0.15	2.91C	不定芽长势好且健壮,叶片颜色绿
2.5	0.20	2.37I	叶片颜色黄,生长差,有玻璃化
2.5	0.25	2.43F	叶片少,长势一般,有愈伤

表 6 不同培养基对花榈木生根效果的影响

培养基	生根率 (%)	平均根数 (条)	生长状况
MS	0C	0C	基部膨大,出愈伤
1/2MS	0C	0C	叶片发黄,生根慢
WPM	33.14B	2.43B	根细,根诱导慢
1/2WPM	56.50A	4.98A	叶绿,健壮,根多

株苗平均生根数为 4.67 条,根粗壮,根系较长,整体长势好且生长快。IBA 0.4 mg/L + NAA 0.10 mg/L 时,生根效果次之。IBA 0.6 mg/L + NAA 0.15 mg/L 时,花榈木生根率最低,只有 12.75%,每株苗平均根数仅有 1.21 条。进一步分析比较,当培养基中 IBA 浓度 > 0.2 mg/L 且 NAA 浓度 ≤ 0.15 mg/L 时,花榈木生根苗均出现愈伤,导致生根苗长势较差,出根速度缓慢。综上所述,1/2WPM + NAA 0.15 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L 为花榈木最佳生根培养基。

组培苗生根培养 30 d 后,将其放置于 20 ~ 25 ℃ 温度下炼苗 7 ~ 10 d 后,打开瓶盖放置 1 ~ 2 d 使其适应环境,等苗木木质化增强后,移栽入 800 ~ 1 000 倍高锰酸钾溶液消毒处理过的基质(泥炭土:珍珠岩体积比为 3:1)中。为了提高移栽成活率,需在不伤害根系的同时,将黏着在根系上的培养基和松散的愈伤组织清洗干净。移栽成活率高达 85%,苗生长状况良好(图 1-d)。

表 7 不同生长素组合对花榈木生根效果的影响

培养基	IBA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	生根率 (%)	平均根数 (条)	生长状况
1/2WPM	0.2	0.15	61.47A	4.67A	长势较好,根粗壮,长势快
	0.4	0.10	49.90B	3.41B	根较细长,出根较慢,少量愈伤
	0.6	0.05	25.48E	1.71DE	根较短细,出根较慢,大量愈伤
	0.2	0.10	30.81C	2.28CD	根较细小,出根较慢,大量愈伤
	0.4	0.05	27.99D	1.25E	根较短细,出根较慢,大量愈伤
	0.6	0.15	12.75F	1.21E	根较细小,出根较慢,大量愈伤

3 讨论与结论

3.1 讨论

在植物组织培养工作中,无菌外植体的获得非常重要^[13]。花榈木本身种质资源稀少,结实与种子萌发困难,建立有效的灭菌处理体系可以减少种子资源浪费、提高花榈木进瓶率。近年来,国内外学者主要通过休眠破除方法^[14]、种子萌发特性^[8,15]、不同播种育苗方式等来研究对花榈木种子发芽效果的影响^[16],以期提高花榈木种子发芽率,为花榈木组培再生体系的完善提供材料基础。

选择适宜的基本培养基是组织培养成功的关键^[13],不同外植体组织部位所选用的培养基也不同。在本研究中,花榈木不定芽诱导与增殖在改良 MS(加椰汁)培养基中的培养效果均较好;而花榈木不定根的诱导则在 1/2WPM 培养基中生长最好,这与高丽等的研究结果^[2,10]一致,MS 为花榈木不定芽增殖的最佳培养基。

植物生长调节剂在组织培养过程中起到重要作用^[17]。6-BA、IBA 对细胞的分裂分化以及器官的形成起着关键作用;NAA 促进细胞分裂与扩大,诱导形成不定根,促进植物根系生长;不同激素组合均会对植物生长产生显著影响。本研究通过设计各因子的不同水平及不同培养基,获得花榈木不定芽诱导、增殖及不定根诱导的最适培养基及激素组合。

花榈木天然林资源已近枯竭,除了需要人工栽培扩大花榈木种群外,政府也应加强对花榈木种质资源和生境的保护,提高群众对野生资源的保护意识,合理利用自然资源,禁止乱砍滥伐,建立和完善相关法律法规,为花榈木等野生资源发展培育打好人文基础。

3.2 结论

本研究中,花榈木的最佳消毒处理是种子不去

壳,用 75% 乙醇浸泡 30 s + 0.1% HgCl₂ 浸泡 6 min,此处理下种子存活率最高达 55%;花榈木不定芽诱导的最佳培养基组合为改良 MS(加椰汁) + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L,在此培养基下不定芽生长快,诱导率为 74.96%;花榈木最佳增殖培养基:改良 MS(加椰汁) + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L,不定芽整体长势好,茎段伸长很快;花榈木最佳生根培养基为 1/2 WPM + NAA 0.15 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 肌醇 0.1 g/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6 g/L,生根率高达 61.47%,根粗壮,根系较长,整体长势好且生长快。

参考文献:

[1]江昌志. 花榈木育苗技术[J]. 林业实用技术,2004(9):26.
[2]高 丽,李洪林,杨 波. 花榈木胚轴愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 安徽农业科学,2009,37(33):16271-16273.
[3]Tang C Q, Ohsawa M. Ecology of subtropical evergreen broad-leaved forests of Yunnan, southwestern China as compared to those of southwestern Japan[J]. Journal of Plant Research, 2009, 122(3): 335-350.
[4]姜顺邦,韦小丽. 供水量对花榈木苗期耗水、生长和生理的影响及灌溉制度优化[J]. 林业科学,2016,52(10):22-30.
[5]王兴龙,金则新,李建辉,等. 花榈木光合作用日进程及其与环境因子的相关性[J]. 江苏农业科学,2012,40(3):143-147.
[6]张都海,袁位高,陈承良,等. 花榈木人工林生长规律的初步研究[J]. 浙江林业科技,2003,23(3):9-11,27.
[7]段如雁,韦小丽,张 怡,等. 花榈木容器育苗的基质筛选[J]. 林业科技开发,2015,29(4):27-31.
[8]邓 兆,韦小丽,孟宪帅,等. 花榈木种子休眠和萌发的初步研究[J]. 贵州农业科学,2011,39(5):69-72.
[9]安常蓉. 花榈木幼苗根瘤形成过程及调控因素的研究[D]. 贵阳:贵州大学,2017.
[10]桂 平,韦小丽,乔 栋,等. 花榈木组织培养植株再生体系的建立[J]. 种子,2018,37(11):135-139.
[11]乔 栋. 花榈木组织培养技术研究[D]. 贵阳:贵州大学,2016.

张珍华,蒋素华,武 思,等. 马铃薯响应低氮肥胁迫 AP2 转录因子的生物信息分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(4):55-62.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.008

马铃薯响应低氮肥胁迫 AP2 转录因子的生物信息分析

张珍华,蒋素华,武 思,梁 芳,牛苏燕

(郑州师范学院,河南郑州 450044)

摘要:为研究马铃薯(*Solanum tuberosum*) AP2 亚组类转录因子家族对低氮肥胁迫的响应特征,以马铃薯品种 Russet Burbank 为材料,分别种植于氮肥供应充足和不足条件下处理 10 d 后,收取不同处理下的叶片和根构建转录组测序文库,基于转录组测序结果筛选出 AP2 转录因子并对其进行生物信息分析和对低氮肥胁迫的响应分析。结果表明,18 个马铃薯 AP2 转录因子不均匀地分布在 11 条染色体上,且都含有不同数目的保守基序结构,亲缘关系分析发现有 15 个马铃薯 AP2 家族蛋白与拟南芥的 AP2 蛋白聚集在了一起。基于马铃薯转录组数据,发现根中 12 个基因在低氮肥胁迫处理后被抑制性表达,其中 3 个基因显著降低;在叶片中 9 个基因被抑制表达,2 个基因达到了显著性差异。此外,还发现 AP2 转录因子在马铃薯不同组织中的表达水平有很大差异,其中 14 个 AP2 转录因子在根和叶片中的表达量呈显著性差异。根据亲缘关系和功能分析,推测 PGSC0003DMG400027502、PGSC0003DMG400012181 和 PGSC0003DMG400013587 可作为候选的响应氮肥胁迫的关键转录因子,该研究为下一步研究马铃薯 AP2 响应低氮肥胁迫的生物学功能奠定了基础。

关键词:马铃薯;低氮肥胁迫;AP2 转录因子;生物信息学分析;响应

中图分类号:S532.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0055-08

植物在生长发育过程中,总是会遭受到生物和非生物胁迫的影响。有研究表明,转录因子 AP2/ERF、MYB、TCP、bHLH、NAC、WRKY、VOZ、ZEP 和 EIN3 等在植物防御和抵抗逆境胁迫时发挥着关键调控作用^[1-5]。AP2 转录因子是 AP2/ERF 转录因子基因家族的一个亚族,包含 2 个可以与 DNA 结合的 AP2/ERF 结构域。自 Jofuku 等从拟南芥中成功分离出第 1 个 AP2 转录因子之后^[6],越来越多的 AP2 转录因子基因在水稻、玉米、小麦、大麦、苹果、

茶树等模式植物和非模式植物中被报道^[3,7-11]。研究表明,AP2 转录因子可通过响应植物激素如生长素、细胞分裂素、脱落酸、赤霉素、油菜素内酯和乙烯的调节,直接或间接参与种子的发育过程,花、果实、根和侧根等器官的形态建成等植物发育的多个进程^[12-14]。例如,过表达拟南芥 ANT 基因的矮牵牛植株表现为花瓣明显增大,而 PhANT RNAi 表达的矮牵牛植株则表现为 PhANT 基因的表达量降低同时花瓣变小^[14]。此外,有研究证明拟南芥 PLT3、PLT5 和 PLT7 基因突变体植株的侧根数目显著多于野生型植株侧根数目^[15-16]。

AP2 转录因子除了参与植物的形态建成,越来越多的研究证明 AP2 转录因子参与植物的逆境代谢^[17-20]。例如,过表达 AP2 转录因子 FTL1/DDF1 提高了拟南芥植株对多个非生物胁迫包括干旱、高温和寒冷等胁迫的抗性^[18]。在辣椒中,AP2 转录因子 CaDRAT1 通过调节 ABA 的生物合成和信号传

收稿日期:2023-04-21

基金项目:河南省科技攻关项目(编号:202102110167、212102110211);郑州师范学院高层次人才科研启动专项经费(编号:2018)。

作者简介:张珍华(1985—),男,河南林州人,硕士,主要从事生物信息学及作物育种研究。E-mail:zhenhuayuemu@163.com。

通信作者:牛苏燕,博士,讲师,主要从事薯类作物育种及功能基因组学研究。E-mail:niusuyan1234@163.com。

[12]李 倩. 花榈木及木荚红豆组织培养技术初步研究[D]. 广州:华南农业大学,2018.

[13]王育选,任建宏,王鹏丽,等. 五台山野生迎红杜鹃组织培养技术研究[J]. 种子,2017,36(3):122-125.

[14]邓 兆,韦小丽. 珍稀树种花榈木种子休眠破除方法研究[J]. 种子,2016,35(11):1-4.

[15]韦小丽,孟宪帅,邓 兆. 珍稀树种花榈木种子繁殖生态学特性与濒危的关系[J]. 种子,2014,33(1):82-86.

[16]杨 鹏. 花榈木不同播种育苗方式效果研究[J]. 中国林副特产,2011(2):26-27.

[17]赵丽君,王雪芳,张金林,等. 植物组织培养及其在草类植物中的研究和应用[J]. 草业科学,2011,28(6):1140-1148.