

多肉植物通用组织培养体系构建及其解剖结构特征

文梦奇¹, 唐映红^{1,3*}, 赵灿材¹, 伍茗¹, 郑伊倩¹, 罗璐¹, 陈建荣^{2*}

¹湖南文理学院生命与环境科学学院, 常德 41500; ²长沙学院生物与化学工程学院, 长沙 410022; ³中国农业科学院麻类研究所, 长沙 410205

摘要 多肉植物具有形态多样性、高附加值和强抗逆性, 但其产业化进程受制于分株性状分离与增殖缓慢、种间差异显著、组培参数难以跨类群通用等瓶颈。因此, 本研究选择 2 个科 3 个属的多肉植物(红宝石(*Paeonia suffruticosa* 'Hongbao')、赤鬼城(*Crassula fusca*)和鼠尾掌(*Disocactus flagelliformis*)), 研究其叶或茎通用的外植体消毒法、不定芽分化、不定芽生根(传统和开放式组培法)和移栽的组织培养体系, 以及采用冰冻切片法分析组培苗与盆栽苗叶或茎的解剖结构特征。最通用叶或茎分化芽、芽生根培养基分别为 MS+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.8 mg·L⁻¹ NAA (诱导率达 95%以上)、MS+4.0 mg·L⁻¹ IBA+2.0 mg·L⁻¹ NAA+0.4 mg·L⁻¹ KT (开放式培养时添加 0.3 mL·L⁻¹ S206, 生根率达 90%以上); 最通用移栽基质为草炭土:沙子=2:1 (v/v), 成活率达到 99%以上。此外, 3 种多肉植物组培苗的上表皮厚度均显著低于实生苗, 仅有鼠尾掌维管束面积远小于实生苗, 但维管束数量组培苗占据优势。为结合生理结构特征、构建跨类群通用高效快繁体系和开发低成本且有效的污染防控技术提供坚实的理论支撑与实践参考。

关键词 红宝石, 赤鬼城, 鼠尾掌, 组织培养, 解剖结构

1

多肉植物是一类适应干旱环境的植物, 具有很强的抗逆性, 凭借其形态多样性与高附加值(王少翠等, 2022; 冯贤云等, 2022; Kalicharan et al., 2023), 已成为观赏植物市场的重要品类。但其产业化进程受制于繁殖系数低、增殖速度慢、雌雄异熟、种子量小、优良性状分离以亲本特性不易保存等瓶颈(王少翠等, 2022; 周晓静等, 2023), 难以满足现代农业生产的需求。传统的繁殖方法, 如叶插和分株, 通常会导致性状分离, 并且增殖速率较慢, 从而难以满足规模化生产的具体需求。植物组织培养技术为突破这一困境提供了新路径, 其不仅能实现种质资源高效保存与珍稀品种快速繁殖, 还可满足园林绿化与出口贸易对标准化种苗的需求(周晓静等, 2023)。然而, 多肉植物组培研究起步较晚, 我国现阶段仍聚焦于培养基优化及培养条件探索(卢兴霞等, 2014); 另外多肉植物种间差异性显著, 单一品种的组培参数难以跨类群通用(周晓静等, 2023), 这导致快速繁殖体系的构建复杂度大幅增加, 目前尚未建立起具有普遍适用性的技术体系。当前研究亟须向多学科深度整合转型, 如结合生理(Marasek-Ciolakowska et al., 2021)、生化(Fradera-Soler et al., 2022)及分子生物学

¹ 收稿日期: 2025-08-27; 接受日期: 2025-12-06

基金项目: 国家自然科学基金委青年基金(No.32401931)和湖南省创新计划资助项目(No.2021RC1013)

* 通讯作者。E-mail: yinghongtang2019@163.com; z20080849@ccsu.edu.cn

(Guerrero et al., 2019; Lu et al., 2024)解析组培障碍的形成机制已有少量报道, 开发低成本防控污染技术、建立跨类群通用的组培方案、加速优良种苗产业化应用等仍然严重缺乏。

景天科(*Crassulaceae*)作为多肉植物中的重要科属之一, 在园艺领域具备较为广泛的应用价值。例如, 拟石莲花属的红宝石(*Echeveria* × *Sedeveria* 'Pink Rubby'), 属于小型品种, 其叶片颜色具有多变性(李尊洋等, 2020; 伍茗等, 2023)。然而, 红宝石为引进品种, 在栽培过程中表现出较弱的适应性(陈艺荃等, 2024)。又如青锁龙属的赤鬼城(*Crassula fusca* 'herre'), 具有株型美观、叶色艳丽的特点(壹号图编辑部编著, 2019)。尽管已有关于景天科多肉植物组织培养的相关报道, 但针对赤鬼城组织培养的研究却极为匮乏。多数多肉植物种类还具有一定的药用价值, 如仙人掌科(*Cactaceae*)和景天科植物可用于清热解毒等。此外, 仙人掌科植物在沙漠生态系统的维护中发挥着积极作用(Guerrero et al., 2019), 常于温室或大田进行大规模种植。然而, 长期的无性繁殖导致仙人掌科物种感染病毒, 出现轻度花叶图案、坏死等症状, 严重影响其产量, 例如鼠尾掌(*Aporocactus flagelliformis*) (Park et al., 2021)。因此, 构建仙人掌科植物的组织培养体系, 对于其脱毒育苗以及优良品种的繁育具有至关重要的意义。

本研究通过系统梳理多肉植物组培技术研究进展与核心挑战, 选择2个科的3个不同属的多肉植物, 即红宝石、赤鬼城和鼠尾掌, 研究其叶或茎通用的外植体消毒法、分化不定芽、不定芽生根的组织培养体系; 采用开放式组织培养方法培养生根组培苗, 并进行移栽以获得最适的通用移栽基质。此外, 通过冰冻切片法分析组培苗与盆栽苗叶或茎的解剖结构特征, 揭示组培苗与盆栽苗在生理结构上的差异。以期结合多肉植物的生理结构特征, 构建跨类群通用的组织培养体系, 开发低成本防控污染技术, 推动产业升级, 为相关研究提供理论支撑与实践参考。

1 植物材料

植物材料为景天科拟石莲花属品种红宝石(*Echeveria* × *Sedeveria* 'Pink Rubby')和青锁龙属品种赤鬼城(*Crassula fusca* 'herre')及仙人掌科鼠尾掌属品种鼠尾掌(*Aporocactus flagelliformis*), 均购自湖南省常德市丹洲多肉植物园, 然后种植于湖南文理学院生物园(经度 111.68, 纬度 29.05)进行栽培和日常管理, 夏季高温和冬季低温时将多肉植物放置在大棚中培养, 其它时间放置在露天培养。本试验选择春天生长健壮的多肉植物, 以红宝石和赤鬼城顶端幼嫩叶, 鼠尾掌顶端、长约 2–3 cm 的幼茎为外植体。

2 培养基成分与培养条件

2.1 培养基成分

以不同 MS 为基本培养基, 其中分化培养基中含 $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂、生根培养基中含 $8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂, 均含 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖, pH 值为 5.8, 121°C 灭菌 20 分钟后分装。

2.2 外植体消毒

在超净工作台上, 首先将外植体用 75%乙醇浸泡 30 秒, 接着用 2%次氯酸钠浸泡 10 分钟, 然后用无菌蒸馏水快速冲洗 3–4 次, 最后用滤纸吸干外植体表面水分。完成上述步骤后, 将外植体接入 MS 培养基中。7 天后观察污染情况, 并计算污染率。

2.3 愈伤组织和不定芽分化培养基的筛选

将上述未受污染且长势相近的叶或茎接入分化培养基中, 进行 3 次重复实验, 接种时将叶或茎的基部妥善插入培养基中。分化培养基采用正交表 $L_9(3^4)$ 设计 3 因素 3 水平的正交试验, 分别为不同基本培养基(MS、1/2MS 和 1/4MS), 不同浓度 6-BA (2 、 3 和 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 不同浓度 NAA (0 、 0.4 和 $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。每 30 天继代 1 次, 培养 60 天后记录叶或茎分化形成愈伤组织并分化出不定芽的情况, 统计不定芽的个数。

2.4 不定芽生根培养基的筛选

将上述长势基本一致的不定芽接入生根培养基中, 3 次重复。生根培养基采用正交表 $L_8(4\times 2^4)$ 设计 1 因素 4 水平和 3 因素 2 水平混合的正交试验, 分别为不同浓度 IBA (0.4 、 2 、 4 和 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 不同浓度 NAA (0 和 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 不同浓度 KT (0.4 和 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 不同基本培养基(MS 和 1/2MS)。每 30 天继代 1 次, 培养 60 天后记录和统计不定芽的生根情况, 计算生根率。

2.5 炼苗与移栽

先在最优生根培养基中添加 $0.3 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ S206 杀菌剂(江西万年创新组培技术应用研究所)、采用开放式组织培养方式进行生根培养以获得组培苗, 同时以传统组织培养方式的组培苗为对照。然后选取生根培养 60 天后根系健壮、长势良好和一致的生根组培苗, 依次经恒温 26°C 开瓶炼苗 3 天、室温开瓶炼苗 4 天后, 拔出组培苗, 洗净根部黏着的培养基, 用 50%多菌灵浸泡 15 秒, 用清水洗净自然晾干后, 分别移栽至已灭菌的 3 组不同配比培养基中培养: I: 珍珠岩:沙子=5:1 (v/v); II: 草炭土:沙子=2:1 (v/v); III: 珍珠岩:草炭土=1:3 (v/v), 2 次重复。移栽 30 天后统计组培苗的成活率。

2.6 实生苗和组培苗解剖结构观察

供试材料为 MS+ $4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA+ $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA+ $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT 生根培养基培养 60

天组培苗新鲜的叶或茎。赤鬼城和红宝石选取顶端以下的第 3 片叶作为材料, 鼠尾掌选取顶端以下的茎作为材料, 同时以室外培养 60 天的实生苗作为对照, 比较二者在解剖结构上的差异。在此过程中, 叶或茎被精细小刀切割成 0.5 mm 的小段后, 随即沉浸于 1% PFA 固定液中, 持续 4–12 小时。之后, 轻轻吸去多余固定液, 将样本置于包埋盒内, 用普通胶水(王心可等, 2021)妥善包埋, 再经过冰冻切片机(Leica CM1860UV)进行冰冻切片处理, 制成 20 μm 的薄片。然后, 采用番红固绿进行对染, 并以中性树脂封片。最后, 在倒置显微镜(Leica DM3000LED)下观察其解剖结构, 在显微镜上转接尼康 z50 相机进行拍照记录, 最后采用 Image 测量统计。

2.7 培养条件

在组织培养中, 温度控制在 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$, 相对湿度维持在 70%–80%。外植体在分化形成愈伤组织前需进行 30 天的避光培养, 以促进愈伤组织的形成。后续培养阶段, 光周期为 14 小时光照/10 小时黑暗, 光照强度为 2000 Lx 以促进器官分化; 而在生根培养阶段, 光周期同样为 14 小时光照/10 小时黑暗, 但光照强度应提高至 3000 Lx 以促进根系和叶的发育。

2.8 数据统计与分析

试验数据通过 Excel Office 软件进行系统化整理, 折线图和柱状图采用 GraphPad Prism 8 软件制作, 所有图片均利用 Adobe Illustrator 2020 软件进行可视化处理。采用 SPSS 26.0 软件对试验数据进行统计分析, 并应用新复极差法(Duncan)对处理后的数据进行显著性差异的多重比较, 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), “*”表示差异显著($P < 0.05$), “**”表示差异极显著($P < 0.01$), “ns”表示差异不显著($P > 0.05$)。上述所需的计算公式分别为: 污染率(%) = 污染叶数/接种总叶数 $\times 100\%$, 生根率(%) = 生根不定芽数/接种不定芽数 $\times 100\%$, 成活率(%) = (成活苗数/总苗数) $\times 100\%$ 。

3 结果与讨论

3.1 外植体处理与消毒

对 3 种多肉植物外植体进行清洗和消毒后, 经过 7 天的培养, 由表 1 可知, 红宝石、赤鬼城和鼠尾掌的染菌率分别约为 13.89%、16.67%和 5.56%, 平均染菌率为 10.90%, 这表明所采用的消毒方法有效保持了外植体无菌状态, 对 3 种多肉植物的消毒效果较好。

表 1 3 种多肉植物外植体的污染情况(培养 10 天, 平均值 \pm 标准误)

Table 1 Pollution situation of three succulent plants (cultivation for 10 days, means \pm SE)

Sample	Repeat I		Repeat II		Pollution rate (%)
	Number of	Number of	Number of	Number of	

	inoculated explants	contaminated explants	inoculated explants	contaminated explants	
<i>Echeveria</i> × <i>Sedeveria</i> 'Pink Ruby'	54	8	54	7	13.89 ± 0.93
<i>Crassula fusca</i>	54	10	54	8	16.67 ± 1.85
<i>Aporocactus flagelliformis</i>	54	2	54	4	5.56 ± 1.85

3.2 诱导多肉植物叶或茎分化形成愈伤组织和不定芽

3.2.1 不同因素对诱导叶或茎分化不定芽的影响

将单个叶或茎接种于含有不同因素的培养基中进行分化培养后,结果显示,各因素对诱导分化的影响存在差异。基本培养基由 MS、1/2MS 到 1/4MS 对 3 种叶或茎分化效果的趋势一致,不同基本培养基之间均具有显著差异($P<0.05$),且 MS 分化出不定芽的效果最好(图 1A)。不同浓度 6-BA 对 3 种叶或茎分化效果的趋势一致,不同浓度之间均具有极显著差异($P<0.01$),均以 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 分化出不定芽的效果最好(图 1B)。不同浓度 NAA 对 3 种叶或茎分化效果的趋势不一致,且最佳浓度也不一样,对赤鬼城叶的分化效果呈先上升后下降的趋势,对红宝石叶和鼠尾掌茎的分化效果均呈上升趋势(图 1C),但不同 NAA 浓度之间均具有显著差异($P<0.05$)。根据研究,赤鬼城叶在 3 种不同因素下表现出的不定芽再生能力均高于其它 2 种多肉植物。

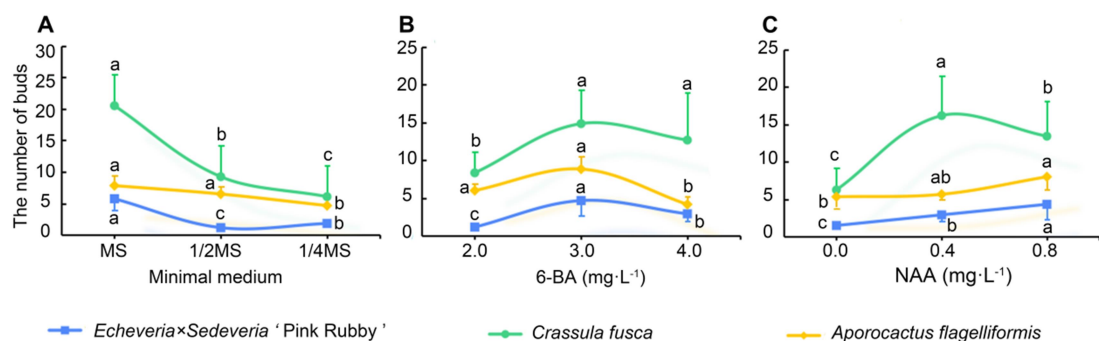


图 1 不同因素对 3 种多肉植物叶或茎分化不定芽的影响

(A)–(C) 分别表示基本培养基、6-BA 和 NAA 对分化不定芽的影响; 6-BA: 6-苄氨基腺嘌呤; NAA: 萘乙酸。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。

Figure 1 Effects of different factors on leaf/stem differentiating of adventitious buds, and adventitious buds rooting of three succulent plants

(A)–(C) indicate the effects of minimal medium, 6-BA and NAA on differentiating of adventitious buds, respectively. 6-BA: N-(Phenylmethyl)-9H-purin-6-amine; NAA: 1-Naphthaleneacetic acid. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$), the same below.

3.2.2 基本培养基、6-BA 和 NAA 组合对诱导叶或茎分化不定芽的影响

将 3 种多肉植物叶或茎接种在由基本培养基、6-BA 和 NAA 组合的 9 种培养基中进行分化培养, 60 天后统计不定芽个数(表 2)。结果显示, 不同因素之间产生互作效应(表 S1)

($P < 0.01$), 在组合 2 培养基中红宝石叶分化不定芽的个数显著高于其他组合(伍茗等, 2023), 可分化出约 11 个不定芽; 赤鬼城叶在组合 2 和 3 培养基中分化不定芽的个数显著高于其它组合, 可分化出约 28–32 个不定芽; 鼠尾掌茎在组合 2、3、5 和 7 培养基中分化不定芽的个数较多且无显著差异, 可分化出约 7–13 个不定芽。因此, 综合不同因素及其组合的分化效果, 得出 3 种多肉植物叶或茎分化不定芽的最适通用培养基为组合 2, 即 $MS+3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA。在此最适培养基中诱导 3 种多肉植物分化, 其分化具有一致性(图 2), 且分化率可达 95%以上, 平均不定芽个数达 15 个。在组织培养的初期, 即 20 天后, 观察到所有多肉植物叶片基部均成功诱导出愈伤组织。随着培养时间的延长至 40 天, 叶片继续分化, 愈伤组织体积增大; 特别是红宝石品种, 其愈伤组织开始分化出芽。到了 60 天时, 3 种多肉植物的愈伤组织均分化出一定数量的不定芽。继续培养至 90 天, 3 种多肉植物的愈伤组织近乎完全分化, 萌生出大量翠绿的不定芽, 其中红宝石品种的部分不定芽叶片边缘还点缀着淡粉色。

表 2 不同因素组合对 3 种多肉植物叶或茎分化不定芽的影响(培养 60 天, 平均值 \pm 标准误)

Table 2 Effects of different factor combinations on leaf/stem differentiating of adventitious buds of three succulent plants (cultivation for 60 days, means \pm SE)

Group	Minimal medium	6-BA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NAA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	The number of adventitious buds		
				<i>Echeveria</i> × <i>Sedeveria</i>	<i>Crassula fusca</i>	<i>Aporocactus flagelliformis</i>
				'Pink Rubby'		
1	MS	2	0	1.00 \pm 0.25 d	2.00 \pm 1.00 c	4.00 \pm 0.50 c
2	MS	3	0.8	10.75 \pm 0.25 a	27.50 \pm 1.50 a	12.50 \pm 1.00 a
3	MS	4	0.4	5.50 \pm 0.50 b	32.00 \pm 2.00 a	7.00 \pm 1.00 abc
4	1/2MS	2	0.4	1.25 \pm 0.25 c	12.50 \pm 2.50 b	6.00 \pm 1.00 bc
5	1/2MS	3	0	1.25 \pm 0.25 c	13.00 \pm 2.00 b	10.00 \pm 0.50 ab
6	1/2MS	4	0.8	1.00 \pm 0.00 d	2.25 \pm 0.25 c	3.50 \pm 1.00 c
7	1/4MS	2	0.8	1.25 \pm 0.25 c	10.50 \pm 0.50 b	8.00 \pm 1.00 ab
8	1/4MS	3	0.4	2.00 \pm 1.00 c	4.00 \pm 1.00 c	4.00 \pm 1.00 c
9	1/4MS	4	0	2.25 \pm 1.25 c	3.75 \pm 1.25 c	2.00 \pm 1.00 d

不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。6-BA 和 NAA 同图 1。

Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$). 6-BA and NAA are shown in Figure 1.

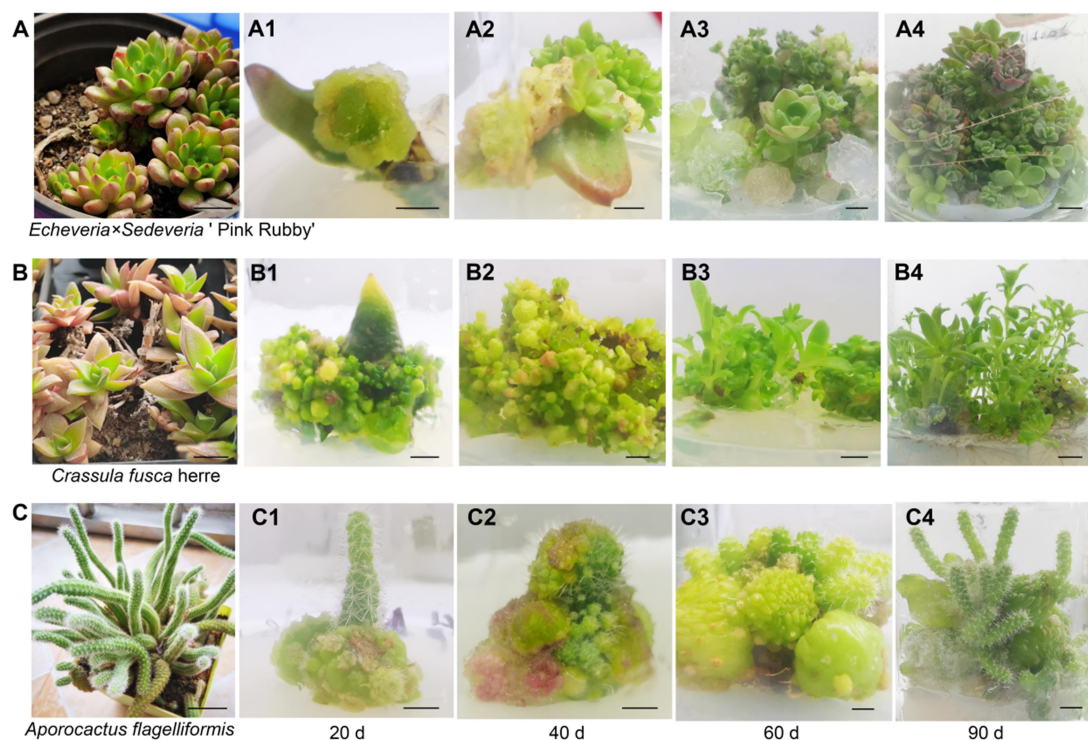


图 2 3 种多肉植物叶或茎分化形成愈伤组织和不定芽的情况

(A) 红宝石; (B) 赤鬼城; (C) 鼠尾掌; (A1)–(C1) 培养 20 天; (A2)–(C2) 培养 40 天; (A3)–(C3) 培养 60 天; (A4)–(C4) 培养 90 天。Bars=1 cm

Figure 2 Formation of callus tissue and adventitious buds of leaf/stem of three succulent plants

(A) *Echeveria*×*Sedeveria* 'Pink Rubby'; (B) *Crassula fusca*; (C) *Aporocactus flagelliformis*; (A1)–(C1) 20 days of culture; (A2)–(C2) 40 days of culture; (A3)–(C3) 60 days of culture; (A4)–(C4) 90 days of culture. Bars=1 cm

3.3 诱导多肉植物不定芽生根

3.3.1 不同因素对诱导不定芽生根的影响

将 3 种多肉植物的不定芽接种在由不同因素组成的培养基中进行不定芽生根培养, 结果显示不同因素对诱导不定芽生根的影响不同。基本培养基和 IBA 不同水平之间对 3 种多肉植物不定芽生根均无显著差异(表 S2) ($P>0.05$); NAA 不同水平之间对 3 种多肉植物不定芽生根均有极显著差异($P<0.01$), 且趋势一致, 均是随着 NAA 浓度的增加生根率呈上升趋势, 以 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 的生根率较高(图 3A); 不同的是 KT 不同水平之间对红宝石不定芽生根无显著差异, 但对赤鬼城和鼠尾掌不定芽生根有显著差异($P<0.05$), 且诱导生根率趋势一致(图 3B), 随着 KT 浓度的升高生根率下降, 以 $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT 的生根率较高; 在不同浓度 NAA 和 KT 的影响下, 鼠尾掌的生根率均高于其他两种多肉植物。

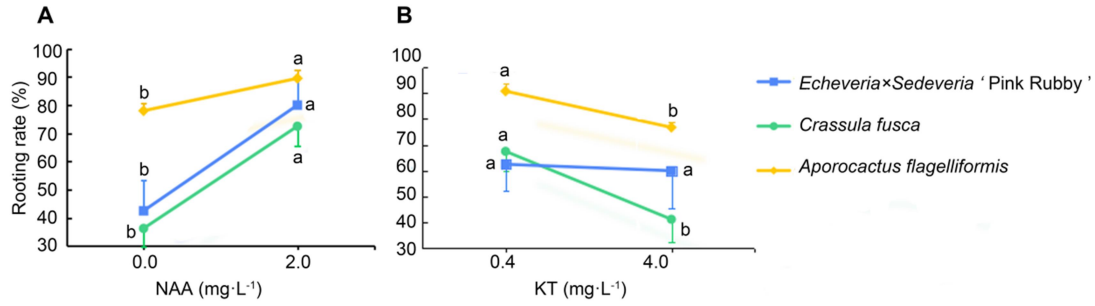


图 3 不同因素对 3 种多肉植物不定芽生根的影响

(A), (B) 分别表示 NAA 和 KT 对不定芽生根的影响。NAA: 萘乙酸; KT: 激动素。不同小写字母表示差异显著。

Figure 1 Effects of different factors on adventitious buds rooting of three succulent plants

(A), (B) indicate the effects of NAA and KT on adventitious buds rooting, respectively. NAA: 1-Napht-haleneacetic acid; KT: Kinetin. Different lowercase letters indicate significant differences.

3.3.2 基本培养基、IBA、NAA 和 KT 组合对诱导不定芽生根的影响

将 3 种多肉植物不定芽接种在由基本培养基、IBA、NAA 和 KT 组合的 8 种培养基中进行生根培养, 60 天后统计不定芽的生根率(表 3)。结果显示, 不同因素之间产生互作效应的只存在于红宝石不定芽的生根诱导中(伍茗等, 2023)(表 S2), 在组合 1、2、4 和 6 培养基中, 红宝石不定芽展现出较高的生根率, 且各组合间无显著差异, 生根率稳定在 70%–100%之间; 组合 1、4、6 和 8 培养基中赤鬼城不定芽的生根率较高且构成互不显著群, 生根率约为 55%–90%; 值得注意的是, 在组合 6 和 8 培养基中, 鼠尾掌不定芽的生根率不仅较高, 且相互间无显著差异, 生根率高达 94%–100%, 这一生根率明显高于其他组合培养基中的生根率。因此, 综合不同因素及其组合的分化效果得出 3 种多肉植物不定芽生根的最适通用培养基为组合 6, 即 $MS+4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}+2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}+0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KT}$, 在此培养基中诱导 3 种多肉植物不定芽生根, 培养 60 天的生根率可达 90%以上, 且可有效壮苗, 红宝石和赤鬼城叶片边缘均由绿色转为淡粉色(图 4A–C)。

表 3 不同因素组合对 3 种多肉植物不定芽生根的影响(培养 60 天, 平均值±标准误)

Table 3 Effects of different factor combinations on adventitious buds rooting of three succulent plants (cultivation for 60 days, means ± SE)

Group	Minimal medium	IBA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	KT (mg·L ⁻¹)	Rooting rate (%)		
					<i>Echeveria</i> × <i>Sedeveria</i> 'Pink Rubby'	<i>Crassula fusca</i>	<i>Aporocactus flagelliformis</i>
1	1/2MS	0.4	0	0.4	70.00±10.00 abc	55.00±9.00 abc	85.00±3.00 b
2	MS	0.4	2	4	80.00±4.00 ab	50.00±0.00 bc	83.00±3.00 b
3	MS	2	0	0.4	40.00±1.00 bc	45.00±5.00 bc	84.00±4.00 b
4	1/2MS	2	2	4	100.00±10.00 a	70.00±12.00 ab	81.00±1.00 b
5	1/2MS	4	0	4	20.00±2.00 c	25.00±5.00 c	72.00±2.00 c

6	MS	4	2	0.4	100.00±0.00 a	90.00±10.00 a	100±0.00 a
7	MS	8	0	4	40.00±4.00 bc	20.00±10.00 c	71.00±1.00 c
8	1/2MS	8	2	0.4	40.00±20.00 bc	80.00±10.00 ab	94.00±4.00 a

IBA: 吲哚丁酸。NAA 和 KT 同图 3。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

IBA: 3-indolebutyric acid. NAA and KT are the same shown in Figure 3. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

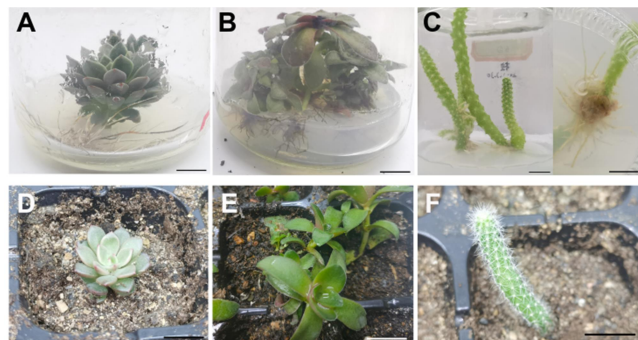


图 4 3 种多肉植物的不定芽生根和组培苗移栽情况

(A)–(C) 分别表示红宝石、赤鬼城和鼠尾掌不定芽生根; (D)–(F) 分别表示移栽培养 70 天后的红宝石、赤鬼城和鼠尾掌苗。Bars=1 cm

Figure 4 Rooting of adventitious buds and transplantation of tissue culture plantlets of three succulent plants

(A)–(C) Represent the rooting of adventitious buds of *Echeveria* × *Sedeveria* 'Pink Rubby', *Crassula fusca* and *Aporocactus flagelliformis*, respectively; (D)–(F) Represent the seedlings of *Echeveria* × *Sedeveria* 'Pink Rubby', *Crassula fusca* and *Aporocactus flagelliformis* after 70 days of transplanted culture, respectively. Bars=1 cm

3.4 不同基质组合对多肉植物组培苗移栽成活的影响

结果显示(图 5), 红宝石在 3 种基质中的成活率具有显著差异, 在草炭土与沙中的成活率最高; 赤鬼城和鼠尾掌在 3 种基质中的成活率无显著差异。在草炭土与沙组合的基质中培养 70 天后, 开放式组织培养方式的 3 种多肉组培苗的成活率均达到 99%以上, 均显著高于传统组织培养方式(平均 89%), 且长势喜人(图 4D–F)。因此综合考虑, 选择草炭土:沙子=2:1 (v/v)作为 3 种多肉植物最适宜的通用移栽基质, 并且选用开放式组织培养方式的组培苗进行移栽。

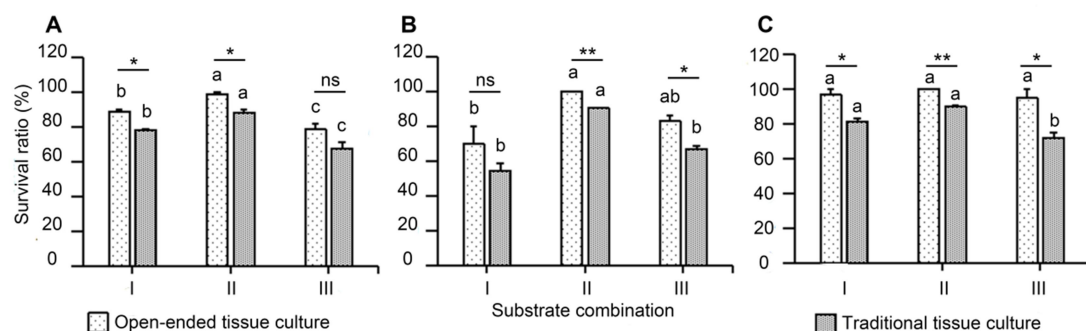


图 5 3 种多肉植物组培苗移栽成活情况(培养 70 天)

(A) 红宝石; (B) 赤鬼城; (C) 鼠尾掌。I: 珍珠岩:沙=5:1 (v/v); II: 草炭土:沙=2:1 (v/v); III: 珍珠岩:草炭土=1:3 (v/v)。* $P<0.05$; ** $P<0.01$; ns: 差异不显著

Figure 5 Transplantation survival of tissue culture plantlets of three succulent plants (cultivation for 70 days)

(A) *Echeveria* × *Sedeveria* 'Pink Rubby'; (B) *Crassula fusca*; (C) *Aporocactus flagelliformis*; I: Perlite: Sand=5:1 (v/v); II: Grass charcoal soil: sand=2:1 (v/v); III: Perlite: grass charcoal soil =1:3 (v/v). * $P<0.05$; ** $P<0.01$; ns: No significant

3.5 组培苗和实生苗叶或茎解剖结构的比较

由图 6 可知, 鼠尾掌(图 6A–F)、红宝石(图 6G–L)和赤鬼城(图 6M–R)组培苗与实生苗的解剖结构中均发现了上表皮和维管束, 维管束被染成了紫红色, 且 3 种多肉植物组培苗的解剖结构与实生苗存在差异(表 4)。红宝石和赤鬼城组培苗叶的上表皮厚度均显著低于实生苗, 但维管束面积无显著差异; 而鼠尾掌组培苗茎的上表皮厚度、导管面积和维管束面积均显著低于实生苗; 此外, 鼠尾掌组培苗的维管束面积远小于实生苗, 但维管束数量组培苗占据优势。

表 4 组培苗和实生苗叶或茎解剖结构的比较(平均值±标准误)

Table 4 Comparison of anatomic structure of leaf and stem between tissue culture plantlets and wild seedlings (means ± SE)

Sample	Tissue	Wild seedlings	Tissue culture plantlet
<i>Aporocactus flagelliformis</i>	Epidermal thickness (μm)	8.49±0.27 a	8.56±0.28 b
	Vessel area (μm^2)	8667.47±1303.37 a	318.69±31.44 b
<i>Echeveria</i> × <i>Sedeveria</i> 'Pink Rubby'	Vascular bundle area (μm^2)	20338.25±2390.55 a	944.044±124.29 b
	Epidermal thickness (μm)	24.69±0.90 a	19.03±0.68 b
<i>Crassula fusca</i>	Vascular bundle area (μm^2)	57025.16±30640.48 a	23425.47±15480.99 a
	Epidermal thickness (μm)	23.25±0.89 a	27.57±0.72 b
	Vascular bundle area (μm^2)	10838.90±4190.73 a	1547.67±278.14 a

不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

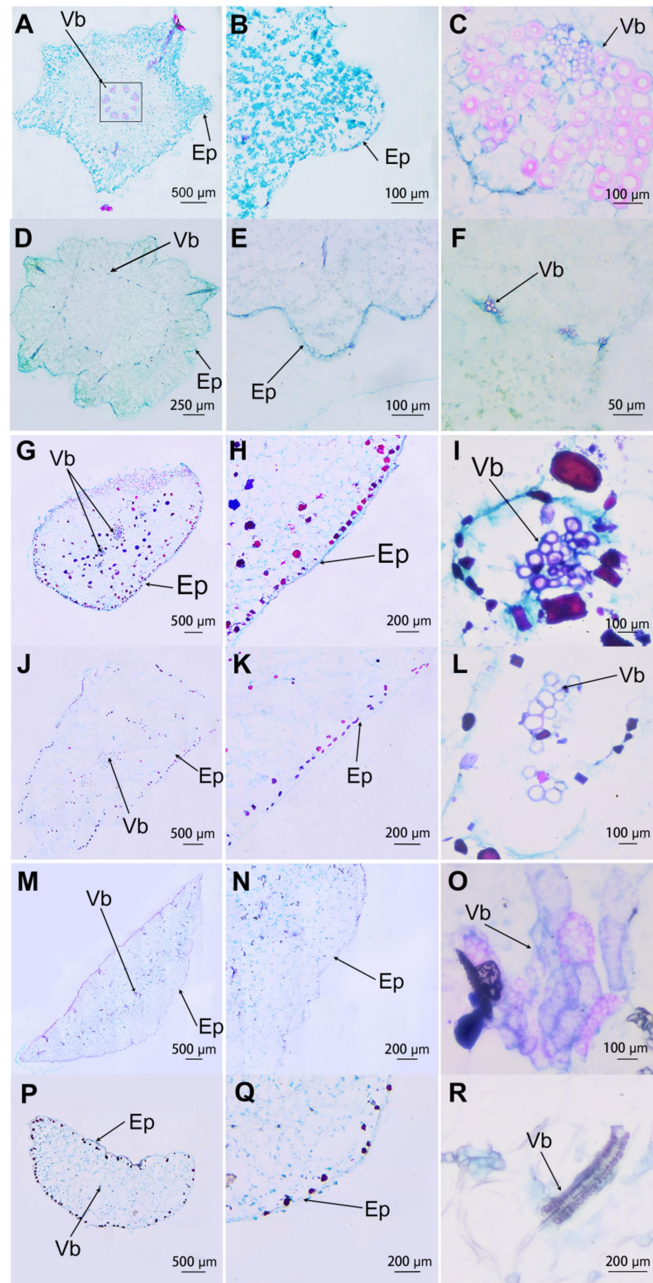


图6 组培苗和实生苗叶或茎解剖结构比较

(A)–(C) 鼠尾掌实生苗, B和C为A的局部扩大图; (D)–(F) 鼠尾掌组培苗, E和F为D的局部扩大图; (G)–(I) 红宝石实生苗, H和I为G的局部扩大图; (J)–(L) 红宝石组培苗, K和L为J的局部扩大图; (M)–(O) 赤鬼城实生苗, N和O为M的局部扩大图; (P)–(R) 赤鬼城组培苗, Q和R为P的局部扩大图。Vb: 维管束; Ep: 上表皮

Figure 6 Anatomical structure comparison of leaf and stem between tissue culture and wild seedlings
(A)–(C) *Aporocactus flagelliformis* wild seedlings, B and C are local expansions picture of A; **(D)–(F)** *Aporocactus flagelliformis* tissue culture plantlet, E and F are local expansions picture of D; **(G)–(I)** *Echeveria*×*Sedeveria* 'Pink Rubby' wild seedlings, H and I are local expansions picture of G; **(J)–(L)** *Echeveria*×*Sedeveria* 'Pink Rubby' tissue culture plantlet, K and L are local expansions picture of J; **(M)–(O)** *Crassula fusca* wild seedlings, N and O are local expansions picture of M; **(P)–(R)** *Crassula fusca* tissue culture plantlet, Q and R are local expansions picture of P; Vb: Vascular bundle; Ep: Epidermal thickness

3.6 讨论

外植体的消毒是多肉植物组织培养预处理的关键步骤,常见的消毒剂为乙醇、次氯酸钠、升汞溶液及新洁尔灭等。乙醇较为常见,且一般与其他消毒剂配合使用。升汞溶液可使蛋白质变性,消毒效果极好,但对环境不友好且需进行回收处理,前期大多数多肉植物外植体消毒采用此法(张淑红等, 2019; 陈伟等, 2021)。次氯酸钠具有强氧化性,消毒能力强,但易对材料造成破坏,需控制好其浓度和消毒时间,大多数多肉植物外植体采用 2%次氯酸钠消毒 10 分钟的效果较好(闫金国等, 2020)。本研究采用 2%次氯酸钠消毒 10 分钟可使 3 种多肉植物平均染菌率低至 10%,消毒效果较好。

本研究选取生长年龄较低的(李玥莹等, 2022)、创伤较小的叶或茎进行诱导分化,以减少玻璃化程度,增强外植体活力(卫俨等, 2018)。周晓鹿等(2007)发现对皂质芦荟(*Aloe saponaria*)外植体接种初期进行暗培养对抑制愈伤组织的褐化能起到关键的作用。本研究利用叶片诱导愈伤组织形成的前 30 天进行避光培养,大大增加了愈伤组织的分化能力(李玥莹等, 2022),减小了褐化的可能性。柴清东等(2018)发现黑王子(*Echeveria 'Black Prince'*)叶片的分化能力由强到弱分别为基部>中部>顶部,本研究选取整片幼嫩叶或茎作为外植体,基部最先形成愈伤组织,然后继续分化扩大至中部和顶部,与其研究结果基本一致。

黄利辉等(2016)采用培养基配方为 $MS+0.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}+2.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ AC}+2.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}$ 对景天科多肉植物姬胧月(*Graptosedum 'Bronze'*)、新玉缀(*Sedum morganianum var. burrito*)、虹之玉(*Sedum \times rubrotinctum*)的诱导率分别为 100%、91.7%和 83.3%,证实这种培养基配方对以上多肉植物的快速繁殖具有一定的可操作性和可靠性,培育景天科多肉植物的过程中, NAA 和 6-BA 等植物生长调节剂配比对愈伤组织的诱导较为关键,在后续试验中,依据这些参数调整培养基中的植物生长调节剂配比,将有效减轻试验人员的工作负担。秦杨(2016)以景天科植物初恋(*Echeveria 'Huthspinke'*)、白牡丹(*Graptoveria 'Titubans'*)、冬美人(*Pachyveria 'Pachyphytoides'*)叶片为外植体,获得最佳不定芽诱导培养基统一为 $MS+3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ ZT}$,但这 3 种景天科植物生根培养基不统一。值得注意的是,质量浓度过高的 NAA 会使得幼芽玻璃化(李玥莹等, 2022)。因此,本研究选择通过不同基本培养基添加 6-BA 和低浓度 NAA 进行叶或茎的诱导分化,研究结果显示,在 $MS+3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ 培养基条件下,红宝石、赤鬼城和鼠尾掌 3 种多肉植物的叶或茎分化出的不定芽效果最优,诱导率高达 95%,平均每株达 15 个不定芽,芽体鲜绿,相比陈伟等(2021)对红宝石叶的诱导率(83.3%)更高,相比黄利辉等(2016)景天科(约 9 个)、福娘(*Cotyledon orbiculata var. oblonga*) (邱小芳, 2017) (约 8 个)等平均不定芽

数显著增加,和秦杨(2016)所用 6-BA 浓度一致,在已有研究基础上,我们进一步优化了培养基配方,有效解决了褐化和玻璃化问题。不添加 6-BA 有利于百合科寿锦(*Haworthia retusa* × *cooperi* 'Variegata')愈伤组织进行分化产生不定芽(王燕等, 2017),本研究结果与其不一致,本研究得到的分化不定芽配方是否适合百合科等其它科多肉植物的分化还有待进一步研究。除生长调节剂外,光强度是提高再生能力的另一个重要因素(Chen et al., 2019)。本研究将生根培养的光照条件从 2000 Lx 提高到 3000 Lx,红宝石和赤鬼城的叶片边缘则转为淡粉色,这与李尊洋等(2020)对红宝石的研究结果一致。本研究得到的不定芽生根最通用培养基为 MS+4.0 mg·L⁻¹ IBA+2.0 mg·L⁻¹ NAA+0.4 mg·L⁻¹ KT,生根率可达 90%以上,这与大部分已报道的生根培养基不一致,且其它研究显示不同品种多肉的生根培养基基本是不同的(秦扬, 2016; 张小芳, 2018; 陈伟等, 2021),相比陈伟等(2021)研究中红宝石培养 40 天生根率为 70%,效果更好。

炼苗移植是多肉植物组织培养的最后阶段,保障多肉植物在快速繁殖方式下再生植株的存活率,同时维持其原有品相,是炼苗移植过程中需要注意的重点(李玥莹等, 2022)。目前,对组织培养的研究通常集中在植物生长调节剂的对比对愈伤组织的诱导分化影响上,而忽略了该技术在生产生活中的应用(李玥莹等, 2022)。因此,本研究通过采用开放式组织培养法优化了移栽所需生根组培苗的培养技术,精简了组织培养的步骤,在保证更高移栽成活率(达到 99%),高于其它景天科的移栽成活率,如劳尔(*Sedum clavatum*) 90% (刘芳等, 2016)、松塔景天(*Sedum nicaeense*) 94% (胡颖慧等, 2014)、红宝石 75% (陈伟等, 2021)、或其它科多肉(如大苍角殿(*Bowiea volubilis*) 85%) (吴霞等, 2020)等),同时降低了多肉植物大规模培养的难度和成本(开放式组织培养无需高温高压灭菌),保证该技术能够在商业化生产中推广使用。

本研究利用冰冻切片技术,可以有效地分析组培苗与盆栽苗叶或茎的解剖结构特征,该技术具有简便、高效和易操作的优点,且在进行多肉植物冰冻切片时,考虑采用过程最为简便、适用性最广的新鲜材料直接包埋切片,使用普通胶水代替 OCT 包埋剂进行冰冻切片,胶水冻结后与 OCT 包埋剂切片效果差别不大,但普通胶水价格低廉、购买方便(王心可和郭庆梅, 2021)。上表皮作为植物体的最外层,保护植物免受外界环境的侵害,组培苗与室外实生苗的生长环境差异显著,组培苗因长期处于受控环境而显得娇嫩,抗性相对较低,导致其表皮厚度均匀,相比之下,实生苗的表皮厚度则呈现出不均匀的特点,且实生苗表皮厚度均显著高于组培苗,与慈竹(*Bambusa emeiensis*)扦插苗对环境适应能力增强的过程中叶片增厚的结果一致(金点坤等, 2023)。维管束是植物体内输送水分和养料的重要结构,本研

究在解剖结构中发现, 组培苗相较于实生苗维管束数量多、分布排列松散, 可能是因为组培苗的生长环境为高湿的适宜环境, 水分、养分充足, 疏导组织和机械组织随之简化(党裳霓等, 2021)。通过对不同栽培条件下勃氏甜龙竹苗(*Dendrocalamus brandisii*)叶片解剖结构的观察, 证实了组培苗抗逆境能力弱, 必须经过炼苗驯化才能移栽, 炼苗驯化的过程其实就是组织解剖结构逐渐适应环境的过程(金点坤等, 2023)。所以, 必须通过炼苗来提高多肉植物组培苗对外界环境的适应性, 以达到提高移栽成活率的目的。

此外, 本研究选择的 3 种多肉植物多样化, 涉及 2 个科 3 个属、3 种颜色种、杂交种和原种、草本和亚灌木、叶和茎, 即红宝石为景天科拟石莲花属杂交的草本多肉植物, 秋冬季节变红或者夏天变绿; 赤鬼城为景天科青锁龙属亚灌木多肉植物, 叶长且窄, 新叶绿色, 老叶紫红色; 仙人掌科的鼠尾掌为变态茎细长匍匐且全年绿色(壹号图编辑部编著, 2019), 这进一步使得本研究所建立的跨类群通用培养方法更加完善和全面。

综上所述, 本研究建立了 2 个科 3 个属的跨类群通用组织培养体系, 外植体消毒方法可使染菌率低至 10%, 通过添加 6-BA 和低浓度 NAA 的培养基对叶或茎分化不定芽的诱导率高达 95%, 生根培养基的生根率可达 90%以上, 培养基在已有研究报道基础上得到了极大地优化, 但是本研究在后续工作中应增加更高浓度的 NAA, 用于观察 NAA 对生根影响的趋势是否“随着 NAA 浓度的增加生根率呈现持续上升趋势”。初期暗培养条件的设置有效抑制愈伤组织的褐化, 同时大大增加愈伤组织的分化能力, 生根培养的光照条件从 2000 Lx 提高到 3000 Lx, 有效促进多肉植物根系和叶的发育。本研究通过采用开放式组织培养法无需高温高压灭菌, 精简了移栽所需生根组培苗的培养步骤, 降低了大规模培养的难度和成本, 并保证更高移栽成活率(达 99%), 促进了该技术在商业化生产中的推广使用。本研究建立的冰冻切片技术采用普通胶水包埋, 价格低廉、简便且易操作, 组培苗与盆栽苗叶或茎的解剖结构特征的分析也证实了必须通过炼苗来提高多肉植物组培苗对外界环境的适应性, 以达到提高移栽成活率的目的。然而, 多肉植物在分类上隶属 100 余科、10 000 余种, 本研究仅仅涉及其中 2 个科 3 个属建立跨类群通用组织培养体系, 因此, 后续采用本研究建立的通用组织培养体系、开放式组织培养方法和解剖结构法应用到其他更多的多肉植物品种研究中。

作者贡献声明

文梦奇: 完成解剖结构实验、图表制作并撰写论文; 赵灿材: 完成开放式组织培养和移栽并分析数据; 伍茗: 完成红宝石实验; 郑伊倩: 完成赤鬼城实验; 罗璐: 完成鼠尾掌实验; 陈建荣: 指导

试验设计、数据分析和论文写作;唐映红:构思并设计试验,指导数据分析和论文写作,提供基金支持。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests: The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献

Chai QD, Chen MZ, Fan ZB, Bai YL, Wang FY, Liu BL (2018). Research on tissue culture system for succulent plant *Echeveria* 'Black Prince'. *Journal of Qufu Normal University (Natural Science Edition)* **44**, 91–94. (in Chinese with English Abstract).

柴清东, 陈明真, 范之斌, 白艳丽, 王凤云, 刘柏玲 (2018). 多肉植物黑王子组织培养体系的研究. 曲阜师范大学学报(自然科学版) **44**, 91–94.

Chen W, Zeng F, Zhao GH (2021). Rapid propagation of *Seddera* pink ruby by tissue culture. *Fujian Agricultural Science and Technology* **52**, 33–38. (in Chinese).

陈伟, 曾凡, 赵光辉 (2021). 多肉植物红宝石组织培养快繁技术. 福建农业科技 **52**, 33–38.

Chen YM, Huang JZ, Hou TW, Pan IC (2019). Effects of light intensity and plant growth regulators on callus proliferation and shoot regeneration in the ornamental succulent *Haworthia*. *Botanical Studies* **60**, 10.

Chen YQ, Luo YH, Wu JS, Lin B, Ye XX (2024). Construction and application of evaluation system for Crassulaceae germplasms. *Fujian Journal of Agricultural Sciences* **39**, 320–329. (in Chinese).

陈艺荃, 罗远华, 吴建设, 林兵, 叶秀仙 (2024). 景天科多肉植物品种资源评价体系构建及应用. 福建农业学报 **39**, 320–329.

Dang NS, Gao RM, Shi XD, Zhang YQ, Li YH (2021). Construction of regeneration system from seed and anatomical structure of tissue culture seedling in *Dioscorea nipponica*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* **41**, 585–594. (in Chinese).

党裳霓, 高润梅, 石晓东, 张雨晴, 李红月 (2021). 穿龙薯蓣种子离体再生体系构建及其组培苗解剖结构特征. 西北植物学报 **41**, 585–594.

- Edited by the No.1 image editorial department** (2019). Complete Encyclopedia of Succulent Plants. Nanjing: Jiangsu Phoenix Science Press. pp. 140–141+183. (in Chinese).
- 壹号图编辑部编著 (2019). 多肉植物完全图鉴. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社. pp. 140–141+183.
- Feng XY, Xie L** (2022). Analysis of cultivation and market value of succulent plants. *Guizhou Agricultural Mechanization* (1), 30–32. (in Chinese).
- 冯贤云, 谢淋 (2022). 多肉绿植培育及市场价值分析. 贵州农机化 (01), 30–32.
- Fradera-Soler M, Grace OM, Jorgensen B, Mravec J** (2022). Elastic and collapsible: current understanding of cell walls in succulent plants. *Journal of experimental botany* **73**, 2290–2307.
- Guerrero PC, Majure LC, Cornejo-Romero A, Hernandez-Hernandez T** (2019). Phylogenetic relationships and evolutionary trends in the cactus family. *The Journal of Heredity* **110**, 4–21
- Huang LH, Wang YS, Weng FF, Luo L, Zhang TY, Wang X** (2016). Establishment of callus induction system for succulent plants in Crassulaceae. *South China Agriculture* **10**, 59–62. (in Chinese).
- 黄利辉, 王艺胜, 翁飞凤, 罗璐, 张天翼, 汪秀 (2016). 景天科多肉植物愈伤组织诱导体系的建立. 南方农业 **10**, 59–62.
- Hu YH, Ma CX, Liang XL** (2014). Tissue culture and rapid propagation of *Sedum nicaeense*. *Forest By-Product and Speciality in China* (2), 3–6. (in Chinese).
- 胡颖慧, 马春祥, 梁孝莉 (2014). 松塔景天组织培养与快速繁殖的研究. 中国林副特产 (2), 3–6.
- Jin DK, Lv Z, Wang SG, Long H, Zhang C, Wang CH** (2023). Comparison of anatomical structure of six bamboo species cotyledon organs. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)* **47**, 109–120. (in Chinese).
- 金点坤, 吕卓, 王曙光, 龙昊, 张冲, 王声翰 (2023). 6 种竹子叶器官的解剖结构比较. 南京林业大学学报(自然科学版) **47**, 109–120.
- Kalicharan B, Naidoo Y, Van Staden J** (2023). Ethnopharmacology and biological activities of the Aizoaceae. *Journal of Ethnopharmacology* **303**, 115988.

Liu F, Tang YH, Yuan YM, Guo QQ, Shen F, Chen JR (2016). Tissue culture of the succulent plant *Sedum clavatum*. *Chin Bull Bot* **51**, 251–256. (in Chinese).

刘芳, 唐映红, 袁有美, 郭清泉, 沈帆, 陈建荣 (2016). 多肉植物劳尔的组织培养. 植物学报 **51**, 251–256.

Li YY, Zhao YJ, Luan NJ, Wu TY, Pan RJ (2022). Research progress of tissue culture of succulent plants in Crassulaceae. *Rural Science and Technology* **13**, 70–73. (in Chinese).

李玥莹, 赵云杰, 栾宇佳, 吴天洋, 潘汝佳 (2022). 景天科多肉植物组织培养研究进展. 乡村科技 **13**, 70–73.

Li ZY, Liu H, Liu X, Wang HY, Lu SM, Kong LJ (2020). Effects of light intensity on leaf color and crown width of *Echeveria* 'Pink Rubby'. *Modern Horticulture* **43**, 26–28. (in Chinese).

李尊洋, 刘贺, 刘璇, 王红玉, 卢姝梦, 孔令婧 (2020). 光照强度对‘红宝石’多肉叶片呈色及冠幅的影响. 现代园艺 **43**, 26-28.

Lu JH, Li SH, Deng S, Wang MG, Wu YH, Li M, Dong JS, Lu SH, Su CL, Li GF, Lang ZB, Zhu JK (2024). A method of genetic transformation and gene editing of succulents without tissue culture. *Plant Biotechnology Journal* **22**, 1981–1988.

Lu XX, Chai CJ, Zheng T, Shi YS, Luo JX (2014). Study on the vitrification of *Cotoneaster hjelmqvistii* plantlet *in vitro*. *Northern Horticulture* (18), 103–106. (in Chinese).

卢兴霞, 柴慈江, 张婷, 史燕山, 骆建霞 (2014). 柃子试管苗玻璃化影响因素的研究. 北方园艺 (18), 103–106.

Marasek-Ciolakowska A, Dziurka M, Kowalska U, Góraj-Koniarska J, Saniewski M, Ueda J, Miyamoto K (2021). Mode of action of 1-naphthylphthalamic acid in conspicuous local stem swelling of succulent plant, bryophyllum calycinum: relevance to the aspects of its histological observation and comprehensive analyses of plant hormones. *International Journal of Molecular Sciences* **22**, 3118.

Park CH, Song EG, Ryu KH (2021). A multiplex pcr assay for the simultaneous detection of five potexviruses infecting cactus plants using dual-priming oligonucleotides (dpos) primers. *Journal of Virological Methods* **298**, 114280.

- Qin Y** (2016). Studies on tissue culture and plant regeneration of three *genus* of Crassulaceae. Master's thesis. Yinchuan: Ningxia University. pp. 1–37. (in Chinese).
- 秦扬** (2016). 景天科三个属植物组培体系的建立与植株再生研究. 硕士学位论文. 银川: 宁夏大学. pp. 1–37.
- Qiu XF** (2017). Establishment of regeneration systems of several meaty plants. Master's thesis. Taiyuan: Shanxi Agricultural University. pp. 2. (in Chinese).
- 邱小芳** (2017). 几种多肉植物离体再生体系的建立. 硕士学位论文. 太原: 山西农业大学. pp. 2.
- Wang SC, Du HH, Dai XY, Liu J, Li ZT, Ren XB** (2022). Research progress on tissue culture of succulent plants in China. *Journal of Hebei North University (Natural Science Edition)* **38**, 25–29+37. (in Chinese).
- 王少翠, 杜欢欢, 戴希尧, 刘婕, 李占台, 任喜波** (2022). 我国多肉植物组织培养研究进展. 河北北方学院学报(自然科学版) **38**, 25–29+37.
- Wang XK, Guo QM** (2021). Applications of cryo-sectioning in higher plants. *Plant Physiology Journal* **57**, 1047–1054. (in Chinese).
- 王心可, 郭庆梅** (2021). 冰冻切片技术在高等植物中的应用. 植物生理学报 **57**, 1047–1054.
- Wang Y, Mou HJ, Lü YP, Li HY, Wang YT, Chen JP** (2017). In vitro regeneration and industrial micropropagation of *Haworthia retusa*×*cooperi* cv. 'Variegata'. *Chinese Bulletin of Botany* **52**, 331–336. (in Chinese with English Abstract).
- 王燕, 牟豪杰, 吕永平, 李海营, 汪一婷, 陈剑平** (2017). 寿锦的离体植株再生及组培产业化增殖. 植物学报 **52**, 331–336.
- Wei Y, Li ML, Zhu ML** (2018). Research progress in *in vitro* regeneration of succulent plants. *Biotic Resources* **40**, 308–313. (in Chinese).
- 卫俨, 李梅兰, 朱木兰** (2018). 多肉植物离体再生研究进展. 生物资源 **40**, 308–313.
- Wu M, Tang YH, Luo L, Zheng YQ, Xie DN, He YY** (2023). Establishment of the rapid reproduction system of *Sedeveria* 'Pink Ruby'. *Journal of Hunan University of Arts and Science (Science and Technology)* **35**, 51–55. (in Chinese).
- 伍茗, 唐映红, 罗璐, 郑伊倩, 谢丹妮, 何奕奕** (2023). 多肉植物红宝石快速繁殖体系的建立. 湖南文理学院学报(自然科学版) **35**, 51–55.

- Wu X, Shangguan XX** (2020). Establishment of regeneration system of succulent plant *Bowiea volubilis*. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences* **48**, 1557–1560+1592. (in Chinese).
- 吴霞, 上官小霞 (2020). 多肉植物大苍角殿再生体系的建立. *山西农业科学* **48**, 1557–1560+1592.
- Yan JG, Wang AP, Zhao ZM, Kong LN** (2020). Establishment of tissue culture system for Crassulaceae succulent plant of *Echeveria purpusorum*. *Jiangxi Agriculture* (6), 38+40. (in Chinese).
- 闫金国, 王大鹏, 赵著梅, 孔丽娜 (2020). 景天科多肉植物大和锦组织培养体系的建立. *江西农业* (6), 38+40.
- Zhang SH, Lu CZ, Shi LC, Gao JH, Jia FF, Ma L** (2019). Techniques of tissue culture with *Dicrocaulon Ramulosum* (L. Bolus) Ihenf. *Heilongjiang Agricultural Sciences* (3), 21–24. (in Chinese).
- 张淑红, 吕聪真, 石林成, 高金红, 贾方方, 马丽 (2019). 枝干番杏组织培养技术. *黑龙江农业科学* (3), 21–24.
- Zhang XF** (2018). Study on rapid propagation of seven succulent plants. Master's thesis. Daqin: Heilongjiang Bayi Agricultural University. pp. 107. (in Chinese).
- 张小芳 (2018). 七种多肉植物的快繁研究. 硕士论文. 大庆: 黑龙江八一农垦大学. pp. 107.
- Zhou XJ, Zhou J, Qu Y, Jiang TT, Zhou LX, Qiao YX, Jiang YH** (2023). Tissue culture and application of succulent plants. *Anhui Nongxue Tongbao* **29**, 47–49. (in Chinese).
- 周晓静, 周静, 翟研, 姜婷婷, 周力行, 乔永旭, 蒋亚华 (2023). 多肉植物的组织培养及应用. *安徽农学通报* **29**, 47–49.
- Zhou XL** (2007). A primary study on reducing browning of callus induced from *Aloe saponaria* Haw callus. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* **29**, 539–544. (in Chinese).
- 周晓鹿 (2007). 降低皂质芦荟诱导愈伤组织褐化的初步研究. *江西农业大学学报* **29**, 539–544.

Establishment of a Universal Tissue Culture System and Anatomical Structure Characteristics of Succulent Plants

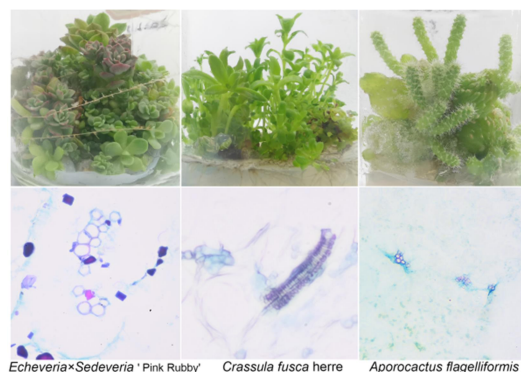
Mengqi Wen¹, Yinghong Tang^{1,3*}, Cancan Zhao¹, Min Wu¹, Yiqian Zheng¹, Lu Luo¹, Jianrong Chen^{2*}

¹College of Life and Environmental Science, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China; ²College of Biological and Chemical Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China; ³Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, China

INTRODUCTION: Succulent plants have morphological diversity, high added value, and strong stress resistance. However, the industrialization of these plants encounters obstacles such as the challenge of isolating propagation traits, sluggish proliferation rates, marked interspecific variations, and the intricacies involved in generalizing tissue culture parameters across different groups.

RATIONALE: Therefore, the three succulent plants (*Echeveria*×*Sedeveria* 'Pink Rubby', *Crassula fusca*, and *Aporocactus flagelliformis*) from two families and three genera were selected as experimental materials in this study. The investigation of the universal tissue culture system has been conducted, including procedures for disinfecting leaf/stem explants, differentiating adventitious buds, rooting adventitious buds (using traditional and open tissue culture methods), and transplanting. The anatomical structure characteristics of leaf/stem in tissue culture plantlets and potted seedlings were analyzed by frozen section method.

RESULTS: The result revealed that the optimal medium for leaf/stem differentiation adventitious bud was MS supplemented with 3.0 mg·L⁻¹ 6-BA and 0.8 mg·L⁻¹ NAA, achieving an induction rate of over 95%. For adventitious bud rooting, the optimal medium of MS with 4.0 mg·L⁻¹ IBA, 2.0 mg·L⁻¹ NAA, and 0.4 mg·L⁻¹ KT, further enhanced with an additional 0.3 mg·L⁻¹ S206 in open tissue culture, resulted in a rooting rate exceeding 90%. The optimal universal transplanting substrate was a mix of grass charcoal soil and sand at a ratio of 2:1 by volume, resulting in a survival rate exceeding 99%. In addition, the epidermal thickness of tissue cultured plantlets of three succulent plants were significantly thinner than that of wild seedlings. Only the vascular bundle area of *Aporocactus flagelliformis* was much smaller than that of wild seedlings, but the number of vascular bundles of tissue cultured plantlets was significantly higher than that of wild seedlings.



Tissue culture plantlet and their anatomical structure of three succulent plants.

CONCLUSION: These findings offer theoretical underpinning and practical guidance for establishing an efficient cross-group propagation system leveraging physiological structural traits, advancing cost-effective pollution prevention and control solutions, and facilitating industrial advancement.

Key words *Echeveria* × *Sedeveria* 'Pink Rubby'; *Crassula fusca*; *Aporocactus flagelliformis*; tissue culture; anatomical structure

*Authors for correspondence. E-mail: yinghongtang2019@163.com; z20080849@ccsu.edu.cn

通讯作者简介

唐映红, 湖南文理学院生命与环境科学学院副教授, 博士, 湖南省植物生理与分子生物学学会理事, 主要研究方向为植物资源与应用。主持国家、省、市项目共 4 项, 发表学术论文 20 余篇(其中组织培养相关论文 10 余篇), 授权发明专利 7 余项, 获得省自然科学奖三等奖 1 项, 出版教材 1 部, 指导省、校级大学生创新创业项目共 4 项, 指导省、校级挑战杯大学生创业竞赛分别获铜奖 1 项、一等奖 2 项。