



计高凡,续言,林双,等.尾叶紫薇毛状根遗传转化体系的建立[J].江西农业大学学报,2026,48(4):1112-1124.
Ji G F,Xu Y,Lin S,et al.Establishment of genetic transformation system of hairy root in *Lagerstroemia caudata*[J].Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis,2026,48(4):1112-1124.

尾叶紫薇毛状根遗传转化体系的建立

计高凡,续言,林双,蔡乐宇,蔡明*

(北京林业大学 园林学院/林木资源高效生产全国重点实验室/花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室/国家花卉工程技术研究中心,北京 100083)

摘要:【目的】尾叶紫薇(*Lagerstroemia caudata*)是千屈菜科紫薇属中少数具有显著芳香特性的木本观赏植物,是挖掘紫薇花香合成与调控分子机制、开展香花育种研究的重要种质资源。然而,紫薇属植物高效遗传转化体系的缺失,制约了尾叶紫薇基因功能的快速验证与分子育种进程。发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)介导的毛状根遗传转化体系具有操作简便、周期短、转化成功率高的优势,但尚未在尾叶紫薇中建立相关体系。本研究旨在筛选影响发根农杆菌转化的关键参数,建立尾叶紫薇高效毛状根遗传转化体系,并结合可视化报告基因 *RUBY* 实现阳性毛状根的快速筛选,为尾叶紫薇及紫薇属植物的基因功能研究与种质创新提供可靠的技术平台。【方法】以尾叶紫薇为材料,对预培养时间、菌液侵染浓度、侵染与共培养时间及乙酰丁香酮(AS)浓度等关键参数进行筛选,通过 *RUBY* 报告基因介导的甜菜红素显色反应进行肉眼观察与筛选,结合 PCR 及 RT-PCR 技术对转基因毛状根进行分子鉴定,以验证 *RUBY* 基因的整合与转录表达情况。【结果】筛选获得尾叶紫薇毛状根诱导的最适条件为以尾叶紫薇叶片为外植体,采用发根农杆菌 K599 菌株,菌液侵染浓度 $OD_{600}=0.6$ 、侵染时间 20 min、共培养 1 d、重悬液中添加 200 $\mu\text{mol/L}$ 乙酰丁香酮,毛状根转化率最高达 77.80%。*RUBY* 报告基因的成功表达使阳性转基因毛状根呈现肉眼可辨的红色表型,简化了筛选流程。PCR 检测证实 *RUBY* 基因已完整整合至转基因毛状根基因组中;RT-PCR 结果进一步表明,*RUBY* 基因在转录水平成功表达。整个转化及鉴定流程可在 30 d 内高效完成。【结论】本研究首次成功建立了发根农杆菌介导的尾叶紫薇高效毛状根遗传转化体系,并验证了 *RUBY* 报告基因在其中的可视化筛选效果,为深入解析尾叶紫薇花香形成机制、加速优良性状定向改良提供了可靠技术平台,对紫薇属植物的转基因育种及基因功能研究也具有重要意义。

关键词:尾叶紫薇;遗传转化;发根农杆菌;毛状根;*RUBY*

中图分类号:S682.32;Q943.2 文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2286(2026)04-1112-13

CSTR:32399.14.auj.2026090



Establishment of genetic transformation system of hairy root in *Lagerstroemia caudata*

Ji Gaofan, Xu Yan, Lin Shuang, Cai Leyu, Cai Ming*

(School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, National Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing Key Laboratory of Flower Germplasm Innovation and Molecular Breeding, National Flower Engineering Research Center, Beijing 100083, China)

收稿日期:2026-03-03 修回日期:2026-04-30 接受日期:2026-05-08

基金项目:国家自然科学基金项目(31500574)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China(31500574)

作者简介:计高凡,硕士生,orcid.org/0009-0004-9348-9964,18346145898@163.com; *通信作者:蔡明,教授,博士生导师,主要从事园林植物与观赏园艺研究,orcid.org/0000-0003-3367-9972,mingcai82@bjfu.edu.cn。

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取 CC BY-NC-ND 协议

Abstract: [Objective] *Lagerstroemia caudata* is a rare woody ornamental plant in the genus *Lagerstroemia* (Lythraceae) that exhibits pronounced floral fragrance, making it a valuable germplasm resource for elucidating the molecular mechanisms underlying scent biosynthesis and regulation, as well as for advancing aromatic breeding programs. However, the lack of an efficient genetic transformation system in *Lagerstroemia* species has severely impeded the rapid functional validation of genes and the progress of molecular breeding in *L. caudata*. Although *Agrobacterium rhizogenes*-mediated hairy root transformation offers advantages of operational simplicity, short experimental duration, and high transformation efficiency, a corresponding system has yet to be established for *L. caudata*. This study aims to optimize the critical parameters influencing *A. rhizogenes*-mediated transformation, establishing a highly efficient hairy root genetic transformation system for *L. caudata*, and incorporate the visual reporter gene *RUBY* to enable rapid screening of positive transgenic roots, thereby providing a reliable technical platform for gene functional studies and germplasm innovation in *L. caudata* and related crape myrtle species. [Method] With *L. caudata* leaf explants as subjects, key parameters, including pre-culture duration, bacterial infection concentration (OD_{600}), infection and co-cultivation time, and acetosyringone (AS) concentration, were systematically optimized. Visual screening of transgenic hairy roots was facilitated by *RUBY*-mediated betalain pigmentation. Molecular characterization via PCR and RT-PCR was further conducted to verify the genomic integration and transcriptional expression of the *RUBY* expression cassette. [Result] The optimal conditions for hairy root induction in *L. caudata* were determined as follows: leaf explants infected with *A. rhizogenes* strain K599 at a bacterial density of $OD_{600}=0.6$ for 20 min, followed by co-cultivation for 1 day in a resuspension medium supplemented with 200 $\mu\text{mol/L}$ acetosyringone. Under these optimized parameters, the highest hairy root transformation efficiency reached 77.80%. The successful expression of the *RUBY* reporter gene conferred a distinct red phenotype to positive transgenic hairy roots, which was readily discernible by the naked eye, thereby streamlining the screening workflow. PCR analysis confirmed the intact integration of the *RUBY* cassette into the hairy root genome, and RT-PCR further demonstrated successful transcriptional expression of the *RUBY* gene. The entire process, from induction to molecular identification, was efficiently completed within 30 days. [Conclusion] This study successfully established, for the first time, a highly efficient *A. rhizogenes*-mediated hairy root genetic transformation system for *L. caudata* and validated the efficacy of the *RUBY* reporter gene for visual screening. This system provides a robust technical platform for in-depth mechanistic dissection of floral fragrance formation and for accelerating the targeted improvement of desirable traits in *L. caudata*. Moreover, it is significant for transgenic breeding and gene functional research in *Lagerstroemia* species.

Keywords: *Lagerstroemia caudata*; genetic transformation; *Agrobacterium rhizogenes*; hairy root; *RUBY*

【研究意义】紫薇(*Lagerstroemia indica*)是千屈菜科(Lythraceae)的落叶灌木或小乔木,其树形雅致、树干斑驳光滑,夏秋时节繁花持续绽放,具有极高的观赏价值,是重要的夏季木本观花植物^[1]。此外,其体内积累的萜类、黄酮、多酚等天然次生代谢产物,也使其在药用研究领域展现出重要价值^[2-3]。尾叶紫薇(*L. caudata*)为紫薇属的野生种,遗传背景简单且再生能力较强^[4],不仅具备上述优良特性,也是紫薇属中少有的具有明显芳香气味的种质资源^[5-6],是挖掘紫薇花香等重要性状及功能基因的理想材料,在种质创新与香花育种中具有巨大开发潜力。紫薇属植物的传统育种方法周期长、效率低,且其花色、花香、抗性等优良性状的遗传机制尚未明确解析,这在一定程度上制约了其新品种的选育与产业化进程^[7]。【前人研究进展】随着紫薇属物种(紫薇 *L. indica*、大花紫薇 *L. speciosa*)^[8-9]的基因组与转录组数据相继解析,大量与花型^[10]、花色^[11-12]、花香合成^[5]及逆境响应^[13]等重要性状相关的候选基因已被鉴定。通过生物信息学挖掘的基因资源,亟需高效的遗传转化体系进行功能验证,以加速紫薇属植物的分子育种进程。遗传转化是验证基因功能、实现性状定向改良的核心技术,但紫薇属植物普遍存在遗传转化效率低、再生体系不完善、基因型依赖性强等难题,严重制约其转化体系构建^[14]。目前紫薇基因工程研究主要采用根癌农

杆菌介导的遗传转化方法^[15-17],该方法存在试验周期长、转化率低的问题。【本研究切入点】发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)可通过伤口感染宿主植物,将 Ri 质粒上的 T-DNA 整合至植物基因组,并诱导伤口处形成毛状根^[18-19]。该方法具有操作简便、试验周期短、转化成功率高等优势,可在前期筛选出转基因毛状根并对相关基因进行功能验证,尤其适用于次生代谢途径等相关基因的功能验证^[20],但在紫薇遗传育种中的应用鲜有报道。发根农杆菌介导的遗传转化系统已成功应用于杨树(*Populus alba* × *P. glandulosa*)^[21]、苹果(*Malus domestica*)^[22]、猕猴桃(*Actinidia chinensis* Planch.)^[23]及胡桃属(*Juglans* spp.)^[24]等多种木本物种,为其建立了简单高效的遗传转化体系。可视化报告基因 *RUBY* 的出现进一步提升了转基因植株的筛选效率,该系统可将酪氨酸转化为红色甜菜色素,无需抗生素筛选即可通过裸眼高效识别阳性转化组织和器官^[25],在植物遗传转化体系构建中极具潜力,可实现尾叶紫薇阳性毛状根的快速形态学鉴定。【拟解决的关键问题】本研究以尾叶紫薇盆栽苗叶片为外植体,筛选并分析影响发根农杆菌转化的关键因素,确定体系最适条件,结合可视化报告基因 *RUBY* 构建发根农杆菌介导的尾叶紫薇毛状根转化体系,为尾叶紫薇的基因功能研究及种质创新提供可靠技术平台。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究使用的植物材料为尾叶紫薇盆栽苗,选取植株茎尖顶端向下第 2~4 对完全展开的幼嫩叶片作为外植体,采摘时间为当年 4—5 月,采自北京林业大学植物科学中心。植株生长状态良好,通过温室调控生长条件,可实现全年持续供应所需植物材料。35S:*RUBY* 载体购于淼灵质粒平台,发根农杆菌 K599 购于上海唯地生物科技有限公司。



图 1 尾叶紫薇幼嫩叶片

Fig.1 Young leaves of *L. caudata*



RB: T-DNA 区段右边界; *CaMV35S-pro*: 花椰菜花叶病毒 35S 启动子; *RUBY*: 合成开放阅读框 *RUBY*; *NOS-pro*: 农杆菌胭脂碱合成酶基因启动子; *Hyg*: 潮霉素抗性筛选标记基因; *NOS-ter*: 农杆菌胭脂碱合成酶基因终止子; LB: T-DNA 区段左边界; *Spe*: 壮观霉素抗性筛选标记基因。

RB: Right border of T-DNA region; *CaMV35S-pro*: Cauliflower mosaic virus 35S promoter; *RUBY*: Synthetic open reading frame *RUBY*; *NOS-pro*: *A. tumefaciens* nopaline synthase gene promoter; *Hyg*: Hygromycin resistance screening marker gene; *NOS-ter*: *Agrobacterium tumefaciens* nopaline synthase gene terminator; LB: Left border of T-DNA region; *Spe*: Spectinomycin resistance screening marker gene.

图 2 植物表达载体 35S:*RUBY* 的结构

Fig.2 Structure of plant expression vector 35S:*RUBY*

1.2 外植体消毒

取尾叶紫薇室内盆栽苗新鲜的幼嫩叶片,置于流水下冲洗 1~2 h,在超净工作台内,先用 75% 乙醇浸泡 30 s,无菌水冲洗 2 次;再用 2% NaClO 溶液浸泡处理 10 min,其间持续轻微摇晃以确保叶片充分消毒;之后用无菌水冲洗 5 次,置于干燥的无菌滤纸上晾干至表面无明显水渍,即可用于毛状根诱导试验。

1.3 侵染菌液的制备

从-80℃冰箱中取出保存的携带35S:*RUBY*载体的发根农杆菌K599菌液,在超净工作台上用枪头蘸取少量菌液,划线接种于含50 mg/L壮观霉素(spectinomycin, Spe)和50 mg/L链霉素(streptomycin, Str)的LB固体培养基,置于28℃黑暗条件下倒置培养2~3 d,直至菌种复苏。挑取复苏的单克隆菌落,接种于含50 mg/L Spe和50 mg/L Str的1 mL LB液体培养基中,置于200 r/min摇床中,28℃培养12~16 h。待菌液浑浊后,吸取适量菌液转接至含50 mg/L Spe和50 mg/L Str的50 mL LB液体培养基中,于28℃、200 r/min摇床中继续培养12~16 h。取2~3 mL菌液测定其OD₆₀₀值。将活化后的农杆菌菌液以5 000 r/min离心10 min,弃去上清液,收集菌体。使用经高温灭菌的重悬液(1/2 MS+30 g/L蔗糖,pH 5.8~6.0),加入乙酰丁香酮(acetosyringone, AS)并轻微振荡使菌体与重悬液混合均匀,重悬至所需浓度。

1.4 尾叶紫薇毛状根遗传转化正交试验设计

为优化尾叶紫薇毛状根的高效遗传转化条件,本研究采用L₁₆(4⁵)正交试验设计(表2),对预培养时间、菌液浓度、侵染时间及共培养时间4个影响遗传转化的关键因素进行优化。各因素均设置4个水平:预培养时间为0 d、2 d、4 d和6 d;菌液浓度(OD₆₀₀)为0.2、0.4、0.6和0.8;侵染时间为5 min、10 min、15 min和20 min;共培养时间为1 d、2 d、3 d和4 d。本试验共设置16个处理组,每个处理4次重复,每次重复接种30片叶片;在叶片侵染30 d后统计毛状根的转化率。

转化率计算公式为:诱导出的*RUBY*阳性毛状根的外植体数/外植体总数×100%。

1.5 乙酰丁香酮浓度对尾叶紫薇毛状根遗传转化的影响

在正交试验筛选出的最优组合基础上,本研究进一步设置5个处理组以筛选重悬液中AS的适宜浓度,AS浓度梯度分别为0、100、200、300、400 μmol/L(表3)。每个处理组设置4次重复,每重复接种30片叶片;叶片侵染30 d后统计毛状根转化率,据此确定AS的适宜浓度。

1.6 尾叶紫薇毛状根的诱导

选择大小一致、状态健康的尾叶紫薇叶片,在超净工作台上完成消毒处理后,切除叶片尖端,将叶片中脉划伤,叶背朝下平铺于培养基上,置于暗室进行预培养[温度(25±2)℃,黑暗条件]。随后在超净工作台上,将预培养后的叶片放入无菌的100 mL锥形瓶中,倒入重悬菌液。锥形瓶封口后置于经遮光处理的摇床上,在28℃、100 r/min的条件下振荡侵染,确保叶片与菌液充分接触。侵染完成后,将叶片铺于滤纸上吸干多余菌液,接种至共培养基上,置于暗室进行共培养[温度(25±2)℃]。共培养结束后进行除菌处理:用200 mg/L头孢霉素溶液浸泡共培养后的外植体10 min,再用无菌水冲洗2次,置于灭菌滤纸上自然晾干,随后接种到含100 mg/L头孢霉素的发根培养基中,置于培养室暗培养[温度(25±2)℃,黑暗条件]。

预培养培养基:1/2 MS+30 g/L蔗糖+8 g/L琼脂;共培养培养基:1/2 MS+0.5 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L IBA+30 g/L蔗糖+8 g/L琼脂;发根培养基:1/2 MS+0.5 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L IBA+30 g/L蔗糖+8 g/L琼脂+100 mg/L Cef。

1.7 转基因毛状根观察及鉴定

*RUBY*报告基因成功表达后,在可见光下肉眼即可观察到红色表型。通过表型观察筛选出呈红色的毛状根,以野生型不定根作为对照,将其置于经灭菌处理的研钵中研磨成粉末,提取总DNA并进行PCR检测。使用*RUBY*报告基因的特异性引物进行PCR扩增,若扩增产物出现大小与预期一致的目的条带,则判定为阳性毛状根。PCR反应体系为12.5 μL 2×Taq Mix、1 μL *RUBY*-F引物、1 μL *RUBY*-R引物、1 μL DNA模板、9.5 μL ddH₂O。PCR扩增程序设定为94℃预变性2 min;随后进行35个循环,每个循环包括94℃变性30 s、55℃退火30 s、72℃延伸30 s;循环结束后72℃延伸2 min,最后4℃保存。使用1×TAE缓冲液制备1.0%琼脂糖凝胶,将PCR扩增产物与5 000 bp DNA Marker分别上样至凝胶加样孔,在1×TAE电泳缓冲液中以160 V恒定电压电泳,最后通过紫外凝胶成像系统观察并采集图像。

为进一步验证*RUBY*基因整合的完整性,分别设计针对*RUBY* 3个组成基因(*CYP76AD1*、*DODA*、*GT*)的特异性引物,以转基因毛状根基因组DNA为模板进行PCR扩增,并以35S:*RUBY*质粒作为阳性对照,反应体系及程序同上。若电泳检测显示3个基因均出现预期条带,则表明*RUBY*表达盒已完整整合至基因组中。

为在转录水平验证 *RUBY* 基因的表达情况,提取转基因及野生型毛状根的总 RNA,经无 RNase 的 DNase I 于 37 ℃处理 30 min 以去除残留基因组 DNA,并以 35S:*RUBY* 质粒作为阳性对照。取 1 μg 总 RNA,使用逆转录试剂盒合成 cDNA(+RT 组),同时设置不加逆转录酶的阴性对照(-RT 组)。以 cDNA 为模板,使用 *RUBY* 基因特异性引物进行 PCR 扩增,并以尾叶紫薇 *EF-1α* 基因(预期产物约 180 bp)作为内参基因,PCR 程序同上。若+RT 组样品出现预期的 *RUBY* 条带且 -RT 组无条带,同时内参基因在所有+RT 组样品中均已扩增,-RT 组无条带,则表明检测结果来源于 RNA 转录本,而非基因组 DNA 污染。

上述 PCR 和 RT-PCR 试验所用引物序列见表 1。

表 1 PCR 及 RT-PCR 的引物序列
Tab.1 Primers used for PCR and RT-PCR

引物名称 Primer name	引物序列(5' to 3') Primer sequence(5' to 3')
35S: <i>RUBY</i> -F	CGACACTCTCGTCTACTCCAA
35S: <i>RUBY</i> -R	GCGGTAATCTTGCGGAAGTT
CYP76AD1-F	CGATACCACATCCTCCACATTC
CYP76AD1-R	GGACCTGCTTGATTCTCTCTT
DODA-F	TTGCGAGAAAGGTGGAAGAG
DODA-R	GGATACATGAGCATGAGTGGA
GT-F	GGCATCGAGAACACCGATAAG
GT-R	GCTGAAATGCCTGGAGATGTA
EF-1α-F	GA CTGTGCTGTGCTCATC
EF-1α-R	GTGGCATCCATCTTGTTG

1.8 数据统计与分析

采用 Excel 2010 和 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析,并借助 Duncan's 多重比较法进行差异显著性检验;通过极差分析确定影响指标的主导因素;分析过程中对所有百分数均进行反正弦转换,使用 Origin Pro 2018 绘制柱状图。

2 结果与分析

2.1 预培养时间、菌液浓度、侵染时间和共培养时间对毛状根转化率的影响

研究通过正交试验对预培养时间、菌液浓度、侵染时间及共培养时间进行优化,培养 30 d 后统计毛状根诱导情况(表 2、图 3 和图 4),并以毛状根转化率为主要评判指标,对正交试验结果开展方差分析、多重比较分析与极差分析,最终筛选出最优的遗传转化条件组合。

以毛状根转化率为主要评判指标,正交试验的 16 个处理组合中,处理 4 和处理 7 的转化率显著高于其他处理,分别为 77.50% 和 76.67%(表 2)。为明确各因素对转化率的影响程度及统计学意义,对试验数据进行方差分析和极差分析。

方差分析结果(表 3)显示,菌液浓度、预培养时间和侵染时间对毛状根转化率均具有极显著影响($P<0.001$),其中菌液浓度的影响最大($F=29.179$),在 3 个显著因素中作用最强;其次为预培养时间($F=21.410$)和侵染时间($F=16.330$)。共培养时间的影响在本试验范围内未达到显著水平($P=0.107$),表明在试验设置的范围内,其对转化率无实质性影响。

在直观分析中,极差(R 值)的大小反映了各因素水平变化对转化率影响的强弱。由表 2 中的极差值(R 值)可知,4 个因素对转化率影响的主次顺序为菌液浓度($R=13.96$)、预培养时间($R=12.71$)、侵染时间($R=12.29$)和共培养时间($R=4.38$)。菌液浓度的极差最大,与方差分析中各因素的 F 值排序结果一致,证实菌液浓度为本试验体系中的主导因素。

在此基础上,通过比较各因素水平的转化率均值(k)(图 3),确定各因素的最优水平:预培养时间以 0 d($k_1=62.50\%$)最佳;菌液浓度以 $OD_{600}=0.6$ ($k_3=62.92\%$)最佳;侵染时间以 20 min($k_4=63.96\%$)最佳;共培养时间虽以 1 d($k_1=57.50\%$)略高,但各水平间差异较小,其水平选择可在 1~4 d 灵活调整。

表 2 不同处理组合对尾叶紫薇毛状根转化率的影响
Tab.2 Effects of different treatment combinations on transformation efficiency hairy root of *L. caudata*

处理组合 Treatment combination	预培养时间/d Pre-culture time	菌液浓度(OD ₆₀₀) Bacterial solution	侵染时间/min Infection time	共培养时间/d Co-culture time	毛状根转化率/% Hairy root efficiency
1	0	0.2	5	1	57.50±7.39 ^{cd}
2	0	0.4	10	2	48.34±1.92 ^{def}
3	0	0.6	15	3	66.67±4.71 ^b
4	0	0.8	20	4	77.50±5.69 ^a
5	2	0.2	10	3	52.50±5.00 ^{def}
6	2	0.4	5	4	49.17±6.87 ^{def}
7	2	0.6	20	1	76.67±7.20 ^a
8	2	0.8	15	2	62.50±5.69 ^{bc}
9	4	0.2	15	4	39.17±1.67 ^g
10	4	0.4	20	3	54.17±5.00 ^{cde}
11	4	0.6	5	2	54.17±3.19 ^{cde}
12	4	0.8	10	1	51.67±5.77 ^{def}
13	6	0.2	20	2	47.50±3.19 ^{efg}
14	6	0.4	15	1	44.17±5.00 ^{fg}
15	6	0.6	10	4	54.17±8.77 ^{cde}
16	6	0.8	5	3	55.83±6.87 ^{cde}
k1	62.50	49.58	54.17	57.50	
k2	60.21	48.96	51.67	53.12	
k3	49.79	62.92	53.13	57.29	
k4	50.42	61.88	63.96	55.00	
R	12.71	13.96	12.29	4.38	

不同字母表示不同处理间基于反正弦转换后数据的 Duncan’s 多重比较差异显著($P<0.05$)。k1~k4 分别表示各因素在水平 1~4 时的毛状根转化率均值;R 为各因素四水平平均值的极差。

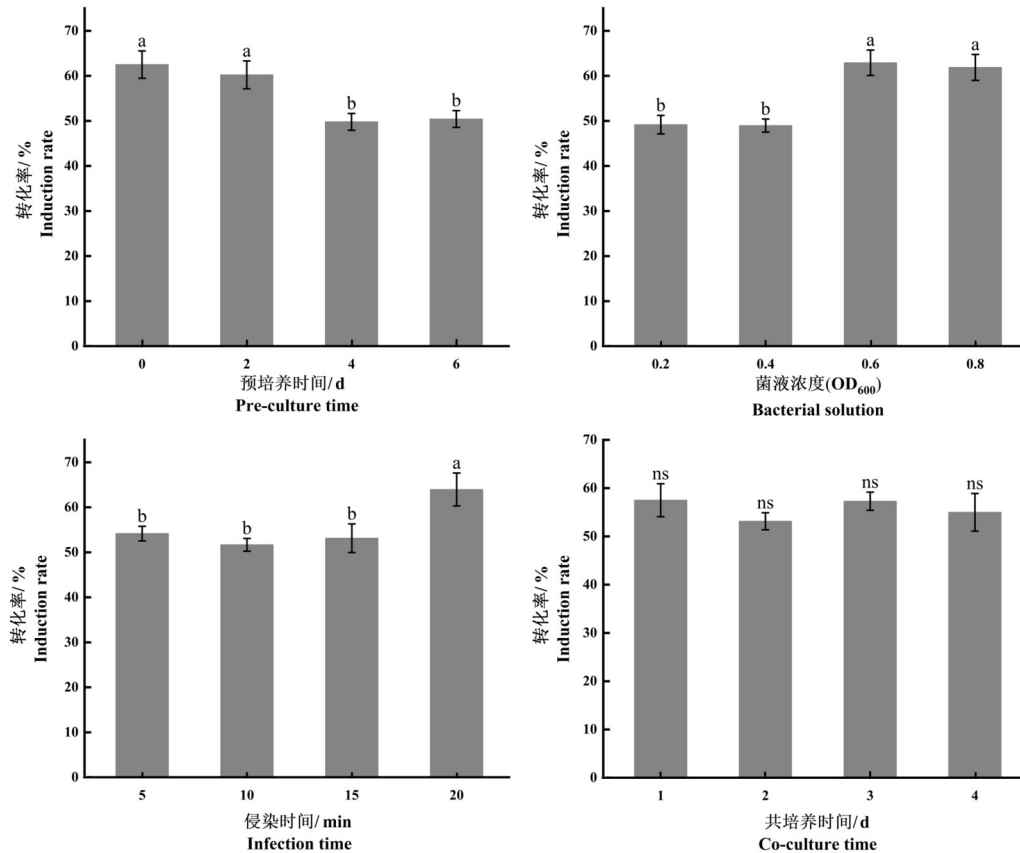
Different letters indicate significant differences in Duncan’s multiple comparison analysis of data transformed by inverse sine function among treatments($P<0.05$).The same applies below.k1~k4 represent the mean transformation efficiency of each factor at levels 1~4;R denotes the range for each factor.

表 3 尾叶紫薇毛状根转化率正交试验方差分析
Tab.3 Analysis of variance for hairy root transformation efficiency in *L. caudata* orthogonal experiment

变异来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	显著性 Significance
预培养时间/d Pre-culture time	0.227	3	0.076	21.410	$P<0.001$
菌液浓度 OD ₆₀₀ Bacterial concentration	0.310	3	0.103	29.179	$P<0.001$
侵染时间/min Infection time	0.173	3	0.058	16.330	$P<0.001$
共培养时间/d Co-culture time	0.023	3	0.008	2.140	$P=0.107$
误差 Error	0.180	51	0.004		
总计 Total	46.663	64			
修正后总计 Corrected total	0.914	63			

$R^2=0.802$ (调整后 $R^2=0.756$),因变量为百分比数据,在进行方差分析前已进行反正弦转换以满足方差齐性假设。

$R^2=0.802$ (adjusted $R^2=0.756$).The dependent variable is percentage data, which underwent an inverse sine transformation prior to analysis of variance to meet the homogeneity of variance assumption.

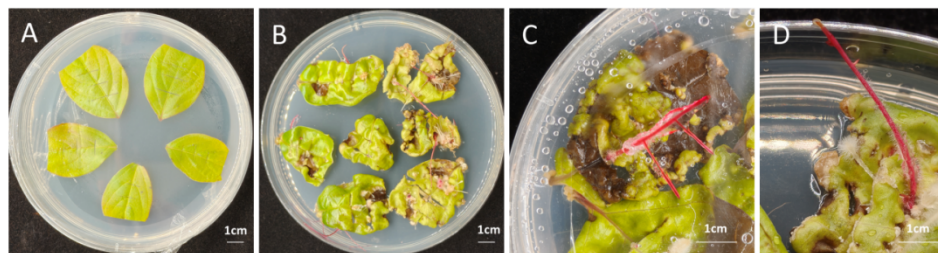


不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

The different lowercase letter indicated significant difference ($P < 0.05$).

图 3 各因素不同水平对尾叶紫薇毛状根转化率的均值(k)比较

Fig.3 Mean values(k) of hairy root transformation efficiency at different levels of each factor in *L. caudata*



A: 接种 0 d 叶片状态; B: 接种 30 d 叶片状态; C~D: 转基因毛状根状态。

A: Leaf status at 0 days post-inoculation; B: Leaf status at 30 d post-inoculation; C~D: Transgenic hairy root status.

图 4 尾叶紫薇毛状根遗传转化试验

Fig.4 Genetic transformation of hairy roots in *L. caudata*

综合方差分析和极差分析结果,可确定理论上的最优组合为预培养 0 d+菌液浓度 $OD_{600}=0.6$ +侵染 20 min+共培养 1 d。上述理论最优组合虽未包含在 16 个试验组中,但与处理 7(预培养 2 d+ $OD_{600}=0.6$ +侵染 20 min+共培养 1 d,转化率 76.67%)仅在预培养时间上存在差异。处理 7 为实际试验中的最高转化率组,而预测组合选择了转化率均值更高的 0 d 预培养时间,理论上可获得更优或等效的结果。考虑到预培养时间虽为极显著因素 ($P < 0.001$),但其 k_1 与 k_2 差异微小(62.50% 和 60.21%),实际操作中可直接采用不预培养的条件(0 d)以简化流程。

2.2 乙酰丁香酮浓度对紫薇毛状根转化率的影响

不同 AS 浓度对毛状根转化率具有显著影响(表 4)。转化率随 AS 浓度增加呈现先升高后下降的趋势:当 AS 浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 时,毛状根转化率最高达 77.80%,显著高于其他处理;而当浓度升至 300 $\mu\text{mol/L}$ 时,转化率显著下降。结果表明,AS 浓度过高可能对植物细胞产生毒性,进而抑制转化过程。

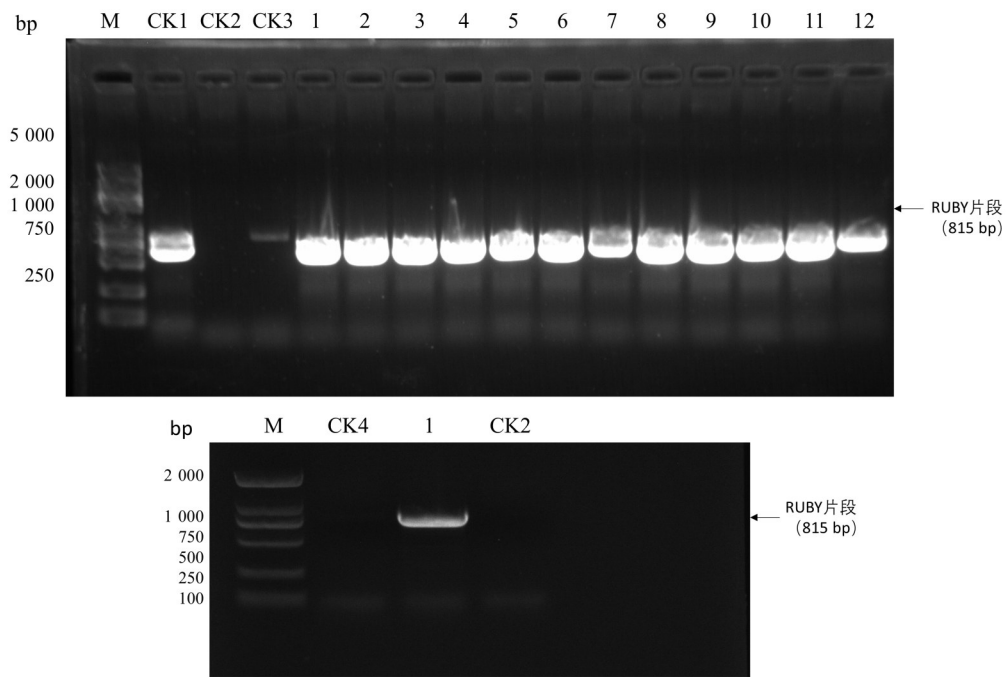
表 4 不同 AS 浓度对尾叶紫薇毛状根的影响
Tab.4 Effects of different AS concentrations on the hairy root of *L. caudata*

处理 Treatment	AS 浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) AS concentration	毛状根转化率/% Hairy root transformation efficiency
1	0	61.11±5.09 ^b
2	100	66.68±6.67 ^b
3	200	77.80±5.75 ^a
4	300	45.56±1.39 ^c
5	400	36.67±3.77 ^c

不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
The different lowercase letter indicated significant difference($P<0.05$).

2.3 转基因毛状根的观察与鉴定

RUBY 报告基因的红色表达可通过裸眼直接观察(图 4),据此可通过表型鉴定筛选出转基因毛状根。为进一步验证 *RUBY* 报告基因是否成功整合至毛状根基因组,侵染 30 d 后,筛选并统计裸眼可见的红色毛状根,取样进行 PCR 检测:提取 12 个红色毛状根样本、1 个侵染后未见明显红色的根系样本及 1 个野生型根样本的总 DNA,以 35S:*RUBY* 质粒为阳性对照,使用 *RUBY* 报告基因的特异性引物进行 PCR 鉴定。结果显示,12 个红色毛状根样本均能扩增出与 35S:*RUBY* 质粒一致的条带,而空白对照无条带(图 5),这表明 *RUBY* 基因已成功转化尾叶紫薇毛状根,且已整合至毛状根基因组中。



M₁: 5 000 bp DNA Ladder; M₂: DL 2 000 Plus DNA Marker; CK1: 35S:*RUBY* 质粒; CK2: ddH₂O; CK3: 侵染后未见明显红色的毛状根; CK4: 野生型毛状根; 1~12: 红色毛状根。

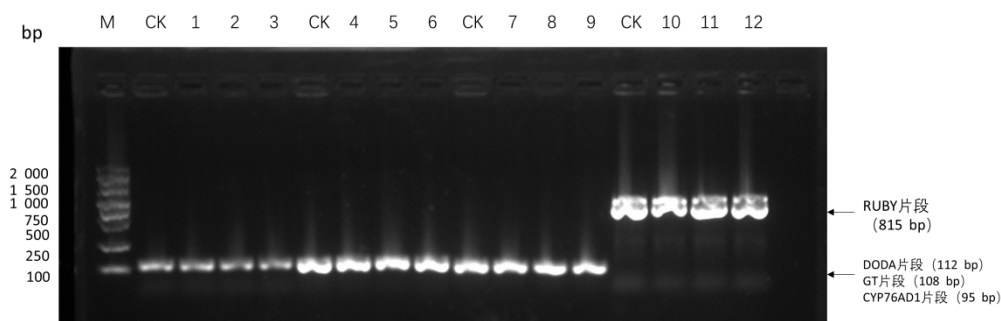
M₁: 5 000 bp DNA Ladder; M₂: DL 2 000 Plus DNA Marker; CK1: 35S:*RUBY*; CK2: ddH₂O; CK3: Infected hairy roots with no distinct red; CK4: Wild type; 1~12: Transgenic red roots.

图 5 尾叶紫薇毛状根 PCR 检测
Fig.5 PCR detection of transgenic hairy roots of *L. caudata*

为进一步验证 *RUBY* 表达盒在转基因毛状根中的整合完整性,分别设计针对 *RUBY* 3 个组成基因(*CYP76AD1*、*DODA* 和 *GT*)的特异性引物,以 3 个独立转基因毛状根系基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增,以 35S:*RUBY* 质粒为阳性对照。电泳结果(图 6)显示,所有转基因样品与阳性对照均能扩增出与预期大小一致的特异性条带(*CYP76AD1*: 112 bp; *DODA*: 108 bp; *GT*: 95 bp; *RUBY*: 815 bp),表明 *RUBY* 表达盒的 3 个基因均已完整整合至尾叶紫薇基因组中,未发生大片段丢失或重排。

为在转录水平上验证 *RUBY* 基因的表达情况,并排除基因组 DNA 污染干扰,进一步开展了 RT-PCR 分析。结果(图 7)显示,所有转基因毛状根样品(+RT)与 35S:*RUBY* 质粒阳性对照均能扩增出预期的 *RUBY* 条带,而对应的 -RT 对照及野生型样品均无条带;内参 *EF-1 α* 在所有植物样品+RT 泳道中均一扩增, -RT 对照和 35S:*RUBY* 质粒对照中无条带,证明 RNA 样品无基因组 DNA 残留。以上结果表明, *RUBY* 基因在转基因毛状根中成功转录为 mRNA,并在翻译水平积累甜菜红素,使转基因根系呈现明显红色。

此外,侵染后未见明显红色的根系(图 5 中 CK3)在基因组 PCR 检测中,于 35S:*RUBY* 质粒对应位置扩增出微弱的目的条带。该结果从分子水平证实该根系基因组中已整合 *RUBY* 报告基因序列,其本质为转基因毛状根,而非未转化的不定根。其表型不显红色的原因推测可能为:*RUBY* 表达盒整合拷贝数过低;转录或翻译水平发生基因沉默;甜菜红素合成通路中的底物供应不足,导致色素积累未达肉眼可视阈值。类似的不显色转基因事件在 *RUBY* 报告系统应用中也有报道^[25]。鉴于此类微弱表达根系在筛选效率与表型稳定性方面难以满足后续试验要求,本研究的转化率统计仅将肉眼可见的红色毛状根纳入阳性样本,肉眼未见明显红色的根系不计入阳性统计结果。

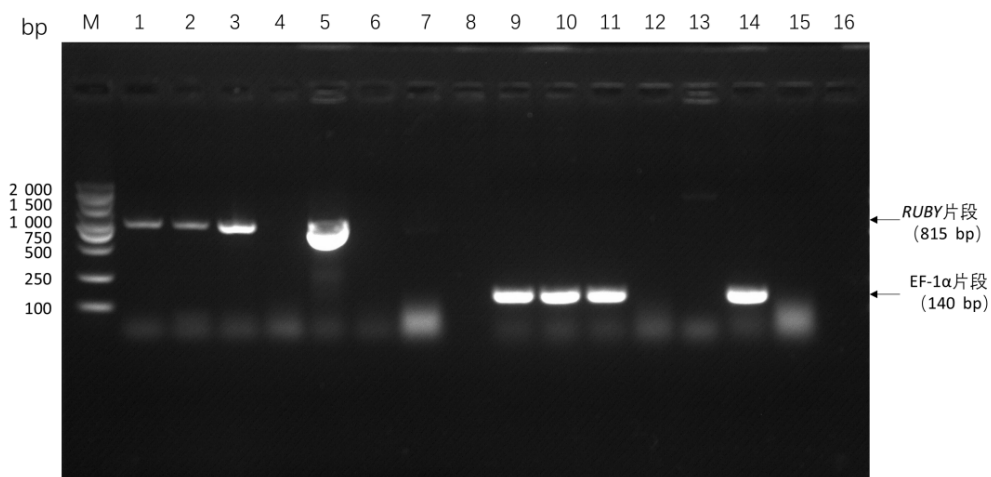


M: DL 2 000 Plus DNA Marker; 1~3、4~6、7~9、10~12: 转基因毛状根系; CK: 35S:*RUBY* 阳性质粒; *CYP76AD1*、*DODA*、*GT* 和 *RUBY* 分别扩增出 112 bp、108 bp、95 bp 和 815 bp 的特异性条带。

M: DL 2 000 Plus DNA Marker; 1~3、4~6、7~9、10~12: Transgenic hairy root lines; CK: 35S:*RUBY* positive plasmid; Specific bands of expected sizes (*CYP76AD1*: 112 bp; *DODA*: 108 bp; *GT*: 95 bp and 815 bp) were amplified from all transgenic lines.

图 6 转基因毛状根中 *RUBY* 3 个组成型基因的 PCR 检测

Fig.6 PCR detection of three component genes of the *RUBY* cassette in transgenic hairy roots



M: DL 2 000 Plus DNA Marker; 1~3、9~11: 转基因毛状根 cDNA(+RT); 4、12: 转基因毛状根 RNA(-RT); 5、13: 35S:*RUBY* 质粒(阳性对照); 6、14: 野生型根 cDNA(+RT); 7、15: 野生型毛状根 RNA(-RT); 16: ddH₂O。

M: DL 2 000 Plus DNA Marker; 1~3、9~11: Transgenic hairy root cDNA(+RT); 4、12: Transgenic hairy root RNA(-RT); 5、13: 35S:*RUBY* plasmid(positive control); 6、14: Wild-type hairy root cDNA(+RT); 7、15: Wild-type hairy root RNA(-RT); 16: ddH₂O.

图 7 RT-PCR 分析转基因毛状根中 *RUBY* 基因的转录表达

Fig.7 RT-PCR analysis of *RUBY* transcriptional expression in transgenic hairy roots

3 讨论与结论

农杆菌介导的植物转化系统是近年来应用最为广泛的植物基因工程技术手段之一^[19]。对于生长周期较长的木本植物而言,传统根癌农杆菌介导的遗传转化方法存在周期长、效率低的问题;而发根农杆菌介导的毛状根遗传转化系统,能够在较短时间内快速获得转基因毛状根,可直接用于基因功能的验证工作。毛状根具备生长速度快、遗传稳定、生物合成能力强、激素自养、栽培成本低等优势,其体系能够重现植物成熟根系乃至地上器官原有的代谢合成途径,已被证实是次生代谢物合成的有效平台^[26]。已有研究将该毛状根遗传转化体系应用于萜类^[27-28]等次生代谢物合成相关基因的功能验证。这一技术体系对紫薇药用价值的开发以及花香性状形成机制的研究具有重要意义。

然而,木本植物诱导毛状根的难度高于草本植物。这是因为草本植物细胞木质化程度较低,受伤时更易分泌酚类与糖类化合物,对Ri质粒的敏感性也强于木本植物^[26]。但是在适宜的诱导条件下,木本植物同样能建立稳定的转化体系:木本曼陀罗(*Datura arborea*)^[29]在 $OD_{600}=0.6$ 、预培养2 d、共培养3 d的条件下,毛状根诱导率最高,可达83.0%;光皮桦(*Betula luminifera*)^[30]叶片在1/2 MS培养基中预培养2 d、侵染20 min、AS浓度为400 $\mu\text{mol/L}$ 时,毛状根转化率为36.4%;桃(*Prunus persica*)^[31]在 $OD_{600}=0.8$ 的菌液中浸泡30 min为最佳转化条件,最高转化率达63.6%。毛状根的转化效率受外植体类型、预处理方式、菌液浓度、侵染与共培养时间、侵染液添加物、植物激素等多种因素影响。因此,筛选最佳转化条件对于木本植物成功建立高效的遗传转化体系至关重要。

研究表明,菌液浓度与侵染时间会直接影响农杆菌侵染效率。当菌液浓度过低或侵染时间较短时,农杆菌与植物伤口的接触机会减少,菌体在植物细胞上的附着率较低,不能充分侵染外植体;而菌液浓度过高或处理时间过长则会过度感染植物,导致外植体褐化死亡,还会给除菌带来困难。因此,在选择菌液浓度与侵染时间时,需要根据实际情况平衡转化效率与外植体存活率。在柳树(*Salix matsudana*)^[32]、杨树^[21]等木本植物中, OD_{600} 值为0.6~0.8、侵染15~20 min是常见的处理范围,本研究也验证了这一结论。在尾叶紫薇毛状根诱导试验中发现,菌液 OD_{600} 值是最主要的影响因素,正交试验结果显示,当菌液 OD_{600} 值为0.6或0.8、侵染时间为20 min时,毛状根转化率显著高于其他处理组合;但当菌液 OD_{600} 值达到0.8时,叶片褐化程度加重,叶片除菌处理后污染率升高,毛状根转化率开始下降。因此,对于尾叶紫薇毛状根诱导试验,菌液 OD_{600} 值为0.6、侵染20 min是最佳处理组合。

将外植体在遮光条件下进行一段时间的预培养能够促进细胞分裂,提高易转化细胞的比例^[26]。但与部分植物在遗传转化时需进行预培养以提高毛状根诱导率不同,本研究发现尾叶紫薇在不进行预培养或短时间预培养条件下转化效率更高。在试验过程中观察发现,未进行预培养的叶片在接种较长时间后褐化面积依然较小,发出的毛状根粗壮且分枝多,生长速度快。推测尾叶紫薇叶片本身伤口分泌酚类物质的能力较强,且采摘后的新鲜叶片处于其最佳侵染生理状态,其叶片无须预培养或进行短于2 d的短期预培养,可作为毛状根诱导试验的外植体用于侵染试验。

此外,在培养基中添加外源激素、酚类化合物、金属离子等化学诱导剂,可有效提高毛状根的诱导率^[26]。其中,外源激素能够调节受体植物细胞内各类酶的合成与活性,杨靖^[33]在建立党参(*Codonopsis pilosula*)毛状根遗传转化体系时发现,在培养基中添加1-萘乙酸(NAA)可显著提升党参的毛状根诱导效率;汪炜檬等^[34]通过加入IBA和铵离子对棉花(*Gossypium hirsutum*)毛状根诱导培养基进行优化,在两者浓度优化完成情况下,两者结合的培养基明显缩短了毛状根诱导时间,毛状根诱导周期与对照相比缩短了1周;Karthik等^[35]发现NAA与IBA共同使用对黄瓜(*Cucumis sativus*)毛状根的诱导效果最佳。结合上述研究结论与预试验结果,本研究在培养基中加入0.5 mg/L 2,4-D与0.1 mg/L IBA,提高了毛状根的诱导率与生长速度。同时,RUBY报告基因的引入可通过肉眼筛选阳性毛状根,确保在获得大量阳性毛状根的前提下,毛状根转化率的真实性与可靠性。当发根农杆菌侵染植物时,植物伤口部位的细胞会合成乙酰丁香酮(AS)等酚类化合物,这些物质作为信号分子可激活发根农杆菌的VIR基因,提高毛状根的诱导率与遗传转化效率^[26]。本研究对AS浓度进行了梯度试验,结果显示:在重悬菌液中添加200 $\mu\text{mol/L}$ AS可显著提升毛状根转化率;但是当AS浓度升至300 $\mu\text{mol/L}$ 时,转化率显著下降。这表明

在一定范围内,AS浓度的增加可促进尾叶紫薇毛状根的诱导,而浓度过高则可能对植物细胞产生毒性,反而抑制转化过程。

本研究采用发根农杆菌介导法,以尾叶紫薇叶片为外植体,筛选出尾叶紫薇毛状根的最适遗传转化条件:当菌液浓度 OD_{600} 值为0.6、侵染时间为20 min、共培养1 d,并在重悬液中加入 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ 乙酰丁香酮时,毛状根转化率最高可达77.80%。体系引入*RUBY*可视化报告基因,实现了转基因阳性毛状根的快速肉眼筛选,PCR和RT-PCR检测证实,*RUBY*报告基因完整整合至转基因毛状根基因组,并在转录水平成功表达。从叶片诱导生根到转基因结果鉴定,整个流程可在30 d内完成,能够在较短时间内实现毛状根的稳定转化。后续研究将聚焦于尾叶紫薇花香形成机制,借助该体系为紫薇属植物基因功能研究提供可靠技术平台,为紫薇分子育种与性状改良工作的发展奠定基础。

参考文献 References:

- [1] 王敏,宋平,任翔翔,等.紫薇资源与育种研究进展[J].山东林业科技,2008(2):66-68.
Wang M, Song P, Ren X X, et al. Recent advances in *Lagerstroemia indica* resources and breeding[J]. Shandong Forestry Science and Technology, 2008(2): 66-68.
- [2] Sweetey S P, Rupok T A, Parvin M S, et al. Exploring the anticancer and antioxidant properties of *Lagerstroemia speciosa* bark extract via phytochemical and molecular docking analysis[J]. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2025, 23(3): 100553.
- [3] Yue Z W, Xu Y, Cai M, et al. Floral elegance meets medicinal marvels: traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of the genus *Lagerstroemia* L.[J]. Plants, 2024, 13(21): 3016.
- [4] Nowakowska M, Pavlovic Z, Nowicki M, et al. *In vitro* regeneration from leaf explants of *Helianthus verticillatus*, a critically endangered sunflower[J]. Plants, 2024, 13(2): 285.
- [5] Xu Y, Zhang H, Wu Y J, et al. Functional characterization of *LcTPS1* and *LcTPS14* explains the biosynthesis of citronellol, citronellal and linalool in *Lagerstroemia caudata*[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 209: 118033.
- [6] Cai M, Xu W, Xu Y, et al. Analysis of spatial-temporal variation in floral volatiles emitted from *Lagerstroemia caudata* by headspace solid-phase microextraction and GC-MS[J]. Molecules, 2023, 28(2): 478.
- [7] 文雯,倪龙杰,王金凤,等.紫薇种质资源和杂交育种研究进展[J].园艺学报,2025,52(11):3121-3138.
Wen W, Ni L J, Wang J F, et al. Germplasm and research progress in hybrid breeding of *Lagerstroemia* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2025, 52(11): 3121-3138.
- [8] Qin B, Sun K D, Huang X. The complete chloroplast genome of *Lagerstroemia loudonii* Teijsm. & Binn. (Lythraceae), an ornamental tree with medicinal value[J]. Mitochondrial DNA Part B, Resources, 2022, 7(7): 1240-1242.
- [9] Wan Z T, Zheng T C, Cai M, et al. Chromosome-level genome assembly of banaba (*Lagerstroemia speciosa* L.) [J]. Scientific Data, 2024, 11(1): 1228.
- [10] Wan Z T, Qin B, Lin M, et al. Genome-wide analysis of *MADS-box* genes reveals their roles in floral organ development in *Lagerstroemia* [J]. Scientia Horticulturae, 2025, 339: 113887.
- [11] Qiao Z Q, Chen Y, Wang X M, et al. Genome assembly and multiomic analyses reveal insights into flower and bark colors of *Lagerstroemia excelsa* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 220: 109482.
- [12] Bai M Z, Li Z B, Huang J K, et al. Genome-wide characterization of the *CYP450* gene family of *Lagerstroemia indica* and its functional role in anthocyanin biosynthesis[J]. Ornamental Plant Research, 2025, 5: e030.
- [13] Qin J, Hou X Y, Wang H Z, et al. Comparative genomic analysis reveals expansion of the *DnaJ* gene family in *Lagerstroemia indica* and its members response to salt stress[J]. Genetica, 2024, 152(2): 101-117.
- [14] 周芳伟,徐梁,石从广,等.植物高效遗传转化体系研究进展[J].南京林业大学学报(自然科学版),2026(2):1-28.
Zhou F W, Xu L, Shi C G, et al. Research progress on efficient genetic transformation systems in plants[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2026(2): 1-28.
- [15] 王琰.紫薇不同花色种质资源的杂交育种与遗传转化体系的建立[D].武汉:华中农业大学,2024:85.
Wang Y. Hybrid breeding of crape myrtle germplasm resources with different flower colors and establishment of genetic

- transformation system[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2024:85.
- [16] 邵雯雯. 紫薇叶色变化规律及‘紫精灵’遗传转化体系的构建[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2022:47-48.
- Shao W W. Changes of leaf color of crape myrtle and construction of genetic transformation system of ‘Zi Jingling’ [D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology, 2022:47-48.
- [17] 陈满丽, 王鹏, 吕芬妮, 等. 紫薇腋芽高效遗传转化技术体系构建[J]. 分子植物育种, 2022, 20(4):1191-1197.
- Chen M L, Wang P, Lü F N, et al. Construction of high-efficiency genetic transformation system of *Lagerstroemia indica* based on axillary buds[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(4):1191-1197.
- [18] Tepfer D. Transformation of several species of higher plants by *agrobacterium rhizogenes*: sexual transmission of the transformed genotype and phenotype[J]. Cell, 1984, 37(3):959-967.
- [19] Gutierrez-Valdes N, Häkkinen S T, Lemasson C, et al. Hairy root cultures: a versatile tool with multiple applications[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:33.
- [20] 赵书君, 赵凯歌, 杨建峰, 等. 发根农杆菌诱导毛状根合成次生代谢物的研究及应用[J]. 分子植物育种, 2023, 21(22):7554-7565.
- Zhao S J, Zhao K G, Yang J F, et al. Research and application of synthesis of secondary metabolites in hairy roots induced by *Agrobacterium rhizogenes*[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(22):7554-7565.
- [21] 焦阳, 乔静, 曾智新, 等. 84K 杨组培苗高效毛状根遗传转化体系构建[J]. 林业科学, 2026, 62(1):122-132.
- Jiao Y, Qiao J, Zeng Z X, et al. Construction of an efficient hairy root genetic transformation system in 84K poplar tissue culture seedlings[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2026, 62(1):122-132.
- [22] 王玉珠. 发根农杆菌介导苹果毛状根遗传转化体系的建立[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2023:32.
- Wang Y Z. Establishment of *Agrobacterium rhizogenes* mediated hairy root genetic transformation system in *Malus domestica* [D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2023:32.
- [23] 梁静. 发根农杆菌 K599 介导的猕猴桃遗传转化体系的建立和优化[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2024:39-42.
- Liang J. Establishment and optimization of *Agrobacterium rhizogenes* K599-mediated genetic transformation system in kiwi-fruit[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2024:39-42.
- [24] McGranahan G H, Leslie C A, Uratsu S L, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation of walnut somatic embryos and regeneration of transgenic plants[J]. Nature Biotechnology, 1988, 6(7):800-804.
- [25] He Y B, Zhang T, Sun H, et al. A reporter for noninvasively monitoring gene expression and plant transformation[J]. Horticulture Research, 2020, 7(1):802-805.
- [26] Zhu Y T, Zhu X, Wen Y, et al. Plant hairy roots: induction, applications, limitations and prospects[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 219:119104.
- [27] Qiu Y Y, Yang H, Wu Q W, et al. Hairy root establishment and diterpenoid production in *Scutellaria barbata* [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2026, 124:105162.
- [28] Hwang C, Yan S, Choe Y, et al. Efficient hairy root induction system of *Astragalus membranaceus* and significant enhancement of astragalosides via overexpressing *AmUGT15*[J]. Plant Cell Reports, 2024, 43(12):285.
- [29] 杨雪清. 木本曼陀罗毛状根诱导及其植株再生[D]. 重庆: 西南大学, 2007:26-27.
- Yang X Q. Hairy root induction and plant regeneration of *Datura arborea* L. [D]. Chongqing: Southwest University, 2007:26-27.
- [30] 刘雪羽, 杜笑雪, 陈思源, 等. 发根农杆菌介导的光皮桦毛状根高频诱导体系及遗传转化[J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(3):495-505.
- Liu X Y, Du X X, Chen S Y, et al. *Agrobacterium rhizogenes* mediated high frequency hairy root induction system and genetic transformation in *Betula luminifera*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2021, 29(3):495-505.
- [31] 张思佳, 吴凡颖, 李小珊, 等. 桃毛根转化体系的建立与优化[J]. 北京农学院学报, 2024, 39(3):63-68.
- Zhang S J, Wu F Y, Li X S, et al. Establishment and optimization of peach hairy root transformation system[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2024, 39(3):63-68.
- [32] 刘源. ‘鲁早柳1号’组培快繁及发根农杆菌介导的遗传转化体系的建立[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023:59.
- Liu Y. Rapid propagation of ‘Luhanliu No.1’ by tissue culture and establishment of genetic transformation system mediated

- by *Agrobacterium rhizogenes* [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2023: 59.
- [33] 杨靖. 党参毛状根转化体系建立及基于党参全基因组 *SPL* 家族鉴定与 *CpSPL10* 功能研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2020: 16-17.
- Yang J. Establishment of a hairy root transformation system for *Codonopsis pilosula* and genome-wide identification and functional study of *CpSPL10* in *SPL* family [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2020: 16-17.
- [34] 汪炜檬, 魏云晓, 唐云霓, 等. 棉花发根农杆菌转化体系的建立及生根优化 [J]. 中国农业科学, 2025, 58(8): 1479-1493.
- Wang W M, Wei Y X, Tang Y N, et al. Establishment and rooting optimization of *Agrobacterium rhizogenes* transformation system in cotton [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2025, 58(8): 1479-1493.
- [35] Karthik S, Sathish S, Sahayarayan J J, et al. *Meta*-topolin enhances regeneration and *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in radish (*Raphanus sativus* L.) [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 2022, 58(5): 806-815.

(责任编辑: 刘俊峰)



第一作者简介: 计高凡, 硕士生, 研究方向为园林植物应用与园林生态, 目前专注于尾叶紫薇遗传转化体系的建立和 *LcCPT5* 基因功能研究的课题方向。爱好植物识别分类和动植物野外摄影, 个人兴趣与专业发展关系密切, 在学习中不断获得乐趣和自我提升。



通信作者简介: 蔡明, 教授, 博士。长期从事园林植物种质资源发掘与创新利用研究, 重点关注重要观赏性状(花香、花色、花型等)形成机制与调控利用。主持国家重点研发计划、国家自然科学基金等科研课题5项, 系统揭示了尾叶紫薇花香形成的分子机制, 利用尾叶紫薇开展杂交育种, 培育出首批远缘杂交香花紫薇新品种, 相关成果获国家科技进步奖二等奖。以通信作者在《Horticulture Plant Journal》《Industrial Crops & Products》等期刊发表多篇论文, 获国家发明专利及国际专利授权。形成了“分子机制解析、特异新品种培育、资源高值化利用”的系统性研究思路。