

除虫菊组织培养研究进展

张守路 陈流军 王守期 刘清波*
(湖南农业大学生物科学技术学院,湖南长沙 410128)

摘要 除虫菊是菊科的多年生草本植物,不仅是一种美丽的观赏花卉,也是一种天然杀虫植物。本文主要对除虫菊组织培养过程中外植体和培养基的选择、外植体消毒及培养条件、植物生长调节剂影响等方面进行综述,并在此基础上对除虫菊组培的发展前景进行了展望,以期对除虫菊的组织培养提供参考。

关键词 除虫菊;组织培养;外植体;植物生长调节剂

中图分类号 S567.239 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2018)14-0147-02

Research Progress on Tissue Culture of *Pyrethrum cinerariifolium*

ZHANG Shou-lu CHEN Liu-jun WANG Shou-qi LIU Qing-bo*

(College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan 410128)

Abstract *Pyrethrum cinerariifolium* is a perennial herbaceous plant of the compositae family. It is not only a beautiful ornamental flower, but also a natural insect killer. This article mainly discussed the *Pyrethrum cinerariifolium* tissue culture explant, the choice of medium, disinfection of explant and culture conditions, effect of plant growth regulator were summarized. On this basis, *Pyrethrum cinerariifolium* development was prospected, so as to provide references for tissue culture of *Pyrethrum cinerariifolium*.

Key words *Pyrethrum cinerariifolium*; tissue culture; explant; plant growth regulator

除虫菊(*Pyrethrum cinerariifolium*)是菊科多年生宿根草本植物,是一种美丽的观赏花卉,同时也是一种古老的天然杀虫植物^[1]。除虫菊具有安全无污染、抗药性强、无残留等特点^[2]。随着人们环保意识和健康意识的增强,除虫菊酯的应用备受青睐。但由于受到品种退化等因素的制约,除虫菊干花的产量和质量下降,不能满足人们的生活和生产需求,为了提高除虫菊酯的产量,满足市场需要,通过组织培养等方式进行优良品种选育、快速繁殖和有效保存,已成为解决这一问题的有效途径。

1 外植体的选取

1.1 外植体类型

在植物再生体系建立的过程中,外植体的选择至关重要。不同的外植体对植物再生能力的影响不同,外植体选取不仅影响培养的难易,而且有时甚至影响分化的程度和器官类型^[3]。李小六等^[4]和刘科新等^[5]利用除虫菊尚未张开的花蕾作为外植体,利用花托培养得到绿色的愈伤组织;王彩云等^[6]先以除虫菊种子为外植体培育得到无菌苗,再以顶端幼嫩的叶片为外植体成功诱导出芽;Miyazaki等^[7]以茎段为外植体,建立了高效再生体系,再生率达80%以上;吴沿友等^[8]用种子培育出幼苗后以胚轴为外植体成功进行了芽诱导,此外还用茎尖诱导出了新芽,进而诱导成脱毒苗;陈宗莲等^[9]选用优良无性系的芽条为外植体直接诱导出芽。因此,花蕾、种子、叶片、顶芽、茎段、茎尖、芽条、幼苗的下胚轴等材料均可作为除虫菊组织培养的外植体,其中诱导效果较好的外植体为芽条,用芽增殖的方法是不通过愈伤组织再分化的途径,有利于保持植物的遗传稳定性^[10]。而以花蕾为外植体诱导出的不定芽要经过愈伤组织的脱分化和再分化,通过这种途径得到的植株发生变异较多^[11]。

1.2 外植体生长状况

外植体的生理状态对其再生能力也有很大的影响,总

体来说,生理状态年轻、来源于生命活动活跃或生长潜力大的组织和器官的细胞更有利于培养^[12]。另外,不同生长环境下的外植体诱导的结果也可能不同。Joseph等^[13]以除虫菊叶片、叶柄诱导形成的愈伤组织进行培养,发现只有从幼苗形成的愈伤在培养基上有芽的形成;陈宗莲等^[14]的研究表明,选择10月至翌年3月的除虫菊母株上的芽条或花蕾诱导愈伤组织较易成功。

2 基本培养基的选择

除虫菊所采用的基本培养基主要为MS、1/2 MS。谢庆华等^[15]通过试验证明,以MS为基本培养基进行芽诱导、芽继代培养,芽诱导率较高,且丛生芽、苗生长健壮,以MS培养基生根培养,10 d内生根率可达到90%~100%,而且生根速度快,根系较发达。张军云等^[16]试验结果与谢庆华等^[15]相似,但生根培养基为1/2 MS,通过正交试验发现B5、N6培养基进行继代培养容易使叶片枯死至全株死亡;刘 蓁等^[17]研究发现除虫菊试管苗在未添加生长激素的MS、1/2 MS、B5 3种不同的培养基中均能生根,但以1/2 MS培养基生根效果为最佳;Yasuo等^[18]发现,MS与White 2种基本培养基在除虫菊愈伤诱导率上没有显著差异,但李 琰等^[19]发现MS培养基有利于子叶、真叶和下胚轴愈伤组织的诱导和生长,而White培养基对根外植体的诱导有利。

3 外植体消毒及培养条件

张 强等^[20]认为用10%次氯酸钠对除虫菊种子消毒处理30 min效果较好,发芽率达62.22%,污染率仅为3.33%;除虫菊幼苗用0.1% HgCl₂消毒处理4 min效果较好,幼苗成活率达90%。而于 娅等^[21]发现用10%的次氯酸钠对带叶柄的嫩叶进行消毒处理效果好,消毒时间为8 min时成活率最高。刘 蓁等^[22]采用3种方法对外植体进行消毒,分别为用次氯酸钠溶液消毒、用0.1%升汞溶液消毒、复合消毒法(即先用次氯酸钠再用升汞溶液消毒)。

培养条件的研究多为糖类、温度、光照、pH值等方面。糖类是离体培养的植物细胞所必须的,既可以作为碳源,又

* 通信作者

收稿日期 2018-04-07

可以维持渗透压^[23]。董建新等^[24]发现蔗糖对除虫菊细胞生长的影响很大,随蔗糖质量浓度增加,愈伤组织净生长量减小,褐变开始时间提前;25~27℃为最适温度;光照强度定为2500 lx,光照时间为12 h/d时,适合愈伤组织的培养;在pH值为5.8时,愈伤组织总生长量和日均生长量最大^[4]。

4 植物生长调节剂的影响

植物生长调节剂在培养基中的使用种类及使用量对试验结果有重大影响^[25]。

4.1 芽诱导培养

吴沿友等^[6]研究表明,不同激素配比诱导芽及芽丛的能力不同,最适芽诱导的培养基为MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,芽数多且同时产生愈伤组织;谢庆华等^[15]研究结果显示,诱导芽的分化个数随着在MS培养基中6-BA激素浓度的增加而增加,而较低浓度的NAA与高浓度6-BA配合使用时,芽的分化个数最多。

4.2 愈伤组织的诱导培养

李琰等^[19]通过试验得出,不同器官外植体诱导愈伤组织的最适植物生长调节剂组合不同,子叶为1 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L KT、真叶为1~2 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L KT、根为0.5 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L 6-BA或KT;而下胚轴在1~2 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L 6-BA、0.5~1.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L KT、1 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA、0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L KT、0.5 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L 6-BA或KT均可100%诱导愈伤组织。

4.3 芽继代增殖培养

谢庆华等^[15]在加入6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L的培养基中芽的增殖倍数为6.2倍,苗生长健壮,是较好的扩增培养基;刘蓁等^[17]首次用正交试验对除虫菊的快繁培养基进行了筛选,得出6-BA的浓度不高于0.5 mg/L、NAA浓度为0.3 mg/L时有利于芽的生长。

4.4 生根诱导培养

吴沿友等^[6]认为1/2 MS+0.5 mg/L IBA是除虫菊生根的较适培养基;谢庆华等^[15]采用MS+0.5 mg/L NAA培养基在10 d内的生根率可达到90%~100%,而且生根速度快,根系较发达;张军云等^[16]研究了适合除虫菊生根的最佳培养基配方为1/2 MS+0.5 mg/L NAA。刘蓁等^[17]通过在1/2 MS培养基中添加不同浓度生长素,认为低浓度的IAA能促进试管苗生根。

5 展望

组培技术应用于除虫菊的快繁与无性系离体保存,是今后名贵植物品种保存的新途径,同时可以试图采用细胞工程的手段,从除虫菊的愈伤组织或细胞内直接提取除虫菊酯,提高生产效率^[26]。除虫菊一般以种子与扦插繁殖为主,

繁殖系数低,而且浪费资源,易染病虫害。除虫菊组织培养的建立与完善使其在短时间内繁殖大量优质种苗成为现实,在此基础上利用基因工程技术可进行除虫菊品种改良的相关研究,这将极大地促进除虫菊商业化的发展,并产生较大的经济、社会和生态效益。

6 参考文献

- [1] 李振芳.除虫菊种子辐射效应及其组织培养研究[D].武汉:华中农业大学,2007.
- [2] 张丽芳,魏明,刘卫民,等.除虫菊组培快繁及栽培技术研究[J].云南农业科技,2007(2):22-24.
- [3] 孔令芳.除虫菊组织培养与遗传转化体系建立的研究[D].武汉:华中农业大学,2009.
- [4] 李小六,李艳梅,陈超,等.除虫菊愈伤组织的诱导与继代培养[J].唐山师范学院学报,2005(2):1-3.
- [5] 刘科新,朱者舍,李仙.除虫菊组织培养方法[P].云南:CN102783418A,2012-11-21.
- [6] 王彩云,孔令芳,毛静,等.离体培养除虫菊再生植株的方法及专用培养基[P].湖北:CN101578959,2009-11-18.
- [7] MIYAZAKI S, TASHIRO Y, SHIMADA T. Tissue culture of *Chrysanthemum morifolium* Ramat: I Cultivar differences in organ formation[J]. *Agric Bull Saga Univ*, 1976, 40: 31-44.
- [8] 吴沿友,张平夫.除虫菊组织培养研究[J].贵州科学,1995(3):28-30.
- [9] 陈宗莲,侯岁稳,俞宏渊.除虫菊组培快速繁殖和种质保存技术[P].云南:CN1178067,1998-04-08.
- [10] 陈正华.木本植物组织培养及其应用[M].北京:高等教育出版社,1986.
- [11] 裘文达.菊花名种“绿牡丹”组织培养快速繁殖研究[J].浙江农业大学学报,1982,18(1):89-90.
- [12] 谢从华,柳俊.植物细胞工程[M].北京:高等教育出版社,2004.
- [13] JOSEPH S H, KUEH. Production of chrysanthemum acid and pyrethrins by tissue cultures of *Chrysanthemum cinerariaefolium* [J]. *Plant Cell Report*, 1985, 4: 118-119.
- [14] 陈宗莲,侯岁稳,俞宏渊.除虫菊的组织培养[J].云南植物研究,1998(3):101-104.
- [15] 谢庆华,李竹英,王平华,等.优良除虫菊品种:“云除一号”组织培养研究[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005(5):59-61.
- [16] 张军云,马文彬,瞿观,等.除虫菊组织培养快繁技术研究[J].西南农业学报,2010,23(3):989-992.
- [17] 刘蓁,高山林.白花除虫菊组织培养研究[J].药物生物技术,2005(6):370-374.
- [18] YASUO FUJII, KYOKO SHIMIZU. Regeneration of plants from achenes and petals of *Chrysanthemum coccineum* [J]. *Plant Cell Reports*, 1990, 8: 625-627.
- [19] 李琰,冯晓涛,易晓华,等.除虫菊愈伤组织诱导研究[J].西北农业学报,2007(6):217-221.
- [20] 张强,李琰,张兴.除虫菊组织培养中种子及幼苗消毒方法研究[J].陕西农业科学,2007(2):27-28.
- [21] 于娅,屈玲.除虫菊高效再生体系的建立[J].北方园艺,2012(24):135-139.
- [22] 刘蓁,高山林,岳磊,等.白花除虫菊繁殖技术[P].江苏:CN1915001,2007-02-21.
- [23] 李志勇.细胞工程[M].2版.北京:科学出版社,2010.
- [24] 董建新,马志卿,李广泽,等.除虫菊愈伤组织的诱导和继代[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2004(3):77-79.
- [25] 王蒂.植物组织培养[M].北京:中国农业出版社,2004.
- [26] 党小琳.除虫菊组织培养研究进展[J].科技展望,2016,26(21):90.

(上接第146页)

要的。

4 参考文献

- [1] 张善红,顾克锁.美国红栎扦插育苗技术[J].河北林业科技,2003,27(4):52.
- [2] 张文健,郑红建.美国红栎的快速繁育技术[J].林业实用技术,2004,9(9):20.

- [3] 王刚,刘建敏.美国红栎育苗技术[J].现代农村科技,2013(20):52.
- [4] 连兆煌.无土栽培技术与原理[M].北京:中国农业出版社,1994.
- [5] 康红梅,张启翔,唐菁.栽培基质的研究进展[J].土壤通报,2005,36(1):124-130.
- [6] 姚建忠.美国红栎组培苗嫩枝扦插育苗试验[J].山西林业科技,2009,38(1):29-30.
- [7] 彭少兵,孟颖光,何西凤.不同药剂处理对金叶接骨木扦插生根的影响[J].西北林学院学报,2010,25(1):95-96.