

除虫菊组培快繁及栽培技术研究

张丽芳, 魏明, 刘卫民, 王艺, 邹万君

(昆明市农业科学研究所, 云南 昆明 650213)

摘要: 本研究主要是利用组织培养技术对新引进的除虫菊3个优良品系进行组培快繁和种质保存, 并对除虫菊大田栽培管理技术进行了探索。结果表明: 在MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基上, 除虫菊茎尖、茎段均能很好地诱导出新芽, 再用同样培养基多次继代增殖, 转入1/2MS+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L生根培养基培养, 出瓶假植, 直至定植到大田, 用了7个多月时间, 繁殖出6万多苗, 经大田栽培后, 不仅成功达到了本研究的目的, 还为除虫菊的产业化开发作了一定的技术储备。

关键词: 除虫菊; 组织培养; 茎尖培养; 快繁; 培养基

除虫菊 (*Pyrethrum Cinerariaefolium* Trex.) 是一种多年生草本菊科植物, 原产欧洲的南斯拉夫达尔马提亚群岛, 现世界各地均有分布。除虫菊是目前世界上唯一集约化种植的杀虫植物, 从其花头中提取的除虫菊酯是迄今发现的不污染环境、对人畜等哺乳动物安全无毒、对害虫迅速击倒而不易产生抗药性、在植物和土壤中无残留的高效天然杀虫剂。云南省自20世纪30、40年代引种除虫菊, 因各种原因未能形成产业。随着人们生活水平的提高及对环境保护意识的增强, 对天然植物杀虫剂的需求量越来越大, 除虫菊的开发利用作为一项重要的农业可持续发展技术将会得到各界重视。云南的生态和地理环境符合除虫菊的生长条件, 是除虫菊的适宜种植区, 由于长期以来, 种植规模较小, 缺乏高含量的优良品种, 除虫菊的开发没有突破性进展。1999年云南省优质农产品开发服务中心(原云南省除虫菊开发中心)从肯尼亚引进除虫菊优良品种种子3份, 经栽培试验和成分分析, 结果证明, 肯尼亚除虫菊不仅产量高, 适应性强, 抗病耐寒, 且除虫菊酯含量均超过1.2%, 但由于引进种子的数量有限, 经栽培后收获的种子萌发率低, 甚至不能萌发, 对扩大种植规模和产业化发展影响很大。为了解决上述问题和保持所引进品种的优良性状, 采取组织培养技术是最科学的手段。我们通过多年的试验与研究, 已取得了非常显著的成效。

1 材料与方法

1.1 材料

从肯尼亚引进的种子经栽培后, 每个品种选出适应性强、植株长势好、无病虫害的健康单株, 为降低初代培养的污染率, 把所选的3个单株移栽于花盆中并放置于温室内, 每周喷2~3次多菌灵, 进行1个多月的预培养, 取植株的茎尖、茎段等作为外植体材料。

1.2 方法

将选取的外植体用软毛刷逐个轻轻刷洗后, 再用自来水冲洗20~30分钟, 然后置于无菌操作台上, 用75%酒精浸泡10秒, 用无菌水漂洗2次, 再用HgCl₂浸泡消毒10分钟, 用无菌水冲洗5~8次, 每次3~5分钟, 最后用无菌滤纸吸干, 并切下茎尖下端、茎段两端被药液所伤的0.5 cm长的部分, 取1.0~1.5 cm长的茎尖或茎段接到事先准备好的初代培养基上, 每个培养基接1~2个外植体。

1.3 基本培养基

以MS为基本培养基, 每个配方除了添加不同种类和浓度的激素外(见表1), 还分别添加食用白糖3%, 琼脂0.6%~0.7%, pH值为5.8~6.0。

1.4 培养条件

培养室温度22~28℃, 光照强度1 800~2 200 Lux, 光照时间12小时/天。

2 结果与分析

2.1 初代培养基调配及结果分析

培养基调配主要是生长素和细胞分裂素比例的调节。把经消毒灭菌后的外植体接种于表1所列的不同

培养基上,经15~20天的培养,结果在不加任何激素的MS培养基上,外植体不分化;在单独加6-BA的培养基上不定芽分化慢,数量少;在单独加NAA的培养基上外植体褐变、坏死;而在MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L的培养基上,外植体分化最快,分化苗数量多,生长健壮,愈伤组织紧密呈绿色,说明该配方比较适于外植体的诱导(见表1)。另外,本研究选用茎尖和茎段作外植体,茎尖比茎段更易分化,分化成苗的数量也较多;而茎段较容易褐变,且相对较难灭菌(见表2)。

2.2 继代培养、壮苗培养及结果分析

将初代培养诱导得到的长势正常的不定芽切割下来,转入培养基MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L中,培养20~25天,增殖倍数达4~6倍,芽长2~5 cm,叶色浓绿,长势健壮,表明该培养基配方比较适于继代增殖。经过多次继代后,苗的基数达到了相当的数量。为了获得健壮的组培苗和使生根过程更容易,在转入生根培养基之前,最好把苗转入不加任何激素的MS培养基上壮苗培养15~20天。

2.3 生根培养基调配及结果分析

经继代和壮苗培养后,将苗高3 cm以上,生长健壮的丛生芽单个切下,转入不同的生根培养基中(见表3),附加食用白糖2%、琼脂0.6%,经过15~20天培养,苗基部长出许多白色辐射根,通过比较不同的生根培养基,以培养基1/2MS+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2

表1 外植体在不同培养基上诱导分化情况

培养基(mg/L)	诱导分化情况
MS(CK)	不分化。
MS+6-BA 0.2	不定芽分化慢、数量少,无愈伤组织。
MS+6-BA 0.5+NAA 0.2	不定芽分化稍慢,长少量愈伤组织,苗长势中等。
MS+6-BA 1+NAA 0.2	不定芽分化速度快、数量多、生长健壮;愈伤组织紧密,呈绿色。
MS+6-BA 1.5+NAA 0.2	不定芽数量多、细弱、颜色浅;叶片卷曲,呈水晶状;愈伤组织多且疏松,呈浅绿色。
MS+6-BA 0.5+NAA 0.1	不定芽分化较慢,苗长势中等。
MS+6-BA 0.5+NAA 0.3	不定芽分化慢,易形成愈伤组织。
MS+6-BA 0.5+NAA 0.5	不分化。
MS+NAA 0.5	外植体褐变,坏死。

mg/L最佳,生根率100%,每苗均有3~8条根。

3 主要栽培技术

3.1 移栽技术

3.1.1 移苗移栽

在生根培养基上培养15~20天,95%以上的苗均已生根,根长0.8~1 cm,将生根瓶苗搬到温室,在散射自然光下,揭开瓶盖炼苗3~5天后,取出瓶中小苗,

表2 不同外植体初代培养结果

品种代号	外植体数(个)		污染数(个)	死亡数(个)	无菌苗数(个)	无菌苗率(%)
P1	茎尖	20	5	0	15	75
	茎段	20	9	4	7	35
P2	茎尖	20	8	2	10	50
	茎段	20	11	7	2	10
P3	茎尖	20	7	1	12	60
	茎段	20	6	5	9	45

表3 不同生根培养基的培养效果

培养基(mg/L)	接种株数(株)	生根株数(株)	生根率(%)	小苗长势情况
1/2MS	100	69	69	叶色浓绿,生长慢,生根迟,根系弱。
1/2MS+NAA 0.5	100	87	87	每苗2~5条根,生根较慢,小苗长势中等。
1/2MS+NAA 0.5+IBA 0.2	100	100	100	每苗3~8条根,根系粗壮,叶片坚挺,叶色深绿,生长快,生根早。

洗去附在根上的培养基,假植在塑料穴盘或营养杯中,基质为过筛的腐质土和砂壤土(比例为2:1),并用多菌灵或百菌清消毒。为了提高移栽成活率,移栽后加盖小拱棚和遮阳网,以保湿和避免阳光直射,培育10~15天,96%以上的苗已成活,苗高达5~6 cm,此时可喷施1次0.1%的磷酸二氢钾,以后每周浇1次0.25%的复合肥水,生长40~50天后就可以定植于大田中。

3.1.2 穴盘苗定植

定植前按一般整地的方法,精耕细作,筑畦开沟,按40 cm×60 cm株行距挖穴,每穴施少量堆肥或烧土为基肥,使苗成活后迅速生长。定植时间宜选在下午4:00时以后或阴天,以利于缓苗快。定植时挤出穴盘或营养杯中的小苗,连土植入已开挖好的穴中,每穴植1株,栽植深度以根部埋入土中为宜,太浅雨水冲刷土壤,根部露出,难以成活;太深心芽陷入土中,易使叶黄而枯萎。定植后要浇透水,以后根据情况浇水直至成活。

3.2 定植后的管理技术

3.2.1 中耕除草

定植成活后,应及时中耕除草,以疏松土壤,使土中空气流通,根部充分发育。以后每年春花和夏秋花收获后,各中耕除草1~2次,并将沟里的土培于植株四周,以免根系露出。

株四周,以免根系露出。

3.2.2 肥水管理及病虫害防治

合理施肥和适时追肥是获得高产的重要因素,除虫菊定植成活后,施1次肥,以后结合中耕除草,施适量的氮磷钾肥。除虫菊耐旱怕涝,但太旱花朵细小,影响产量,所以有浇灌条件的地方,2~4月灌水3~4次。雨季要及时排水,防止积水造成烂根死苗。除虫菊是一种抗逆性很强的植物,很少发生虫害。病害以立枯病、黑茎病、缩叶病为主,前两种病害是由于土壤酸性过重、雨水过多、排水不良造成,后一种病害是由于天气干旱、施肥过多而引起,一旦发生上述病害,应立即把病株拔除烧毁,并采取相应措施,减轻危害程度。

3.3 干花的采收与干燥

除虫菊定植后1年开花,可有少量收获,第2,3年丰收,以后逐年减退。花的采收时间和采收方式直接影响除虫菊干花的产量和质量,根据多年的试验结果,采花时间一般选在晴天上午或下午4:00时以后,尽量避开中午太阳光较强的时间。另外,采收花的标准为花头半开放或开放2/3,这样的花除虫菊含量最高。除虫菊鲜花采收后,应放置于阴凉通风的条件下干燥,防止霉烂。

(上接第21页)

经多次分离和对比观察,在改良PDA培养基、改良CYM培养基平板上均长出菌丝体,移接到改良CYM培养基上取得纯培养。

2.3 菌丝平面培养观察

2.3.1 培养特征

菌丝体在改良CYM培养基上生长快,约10天长满直径为9 cm的培养皿,表现为纤细、灰白的绒毛状菌丝体,培养后期菌丝贴在斜面上形成一层菌皮,移接时很容易割断。

2.3.2 菌丝对温度的要求

皱盖钟菌菌丝适宜生长的温度范围比较宽,菌丝在15~33℃均能生长,26℃是皱盖钟菌菌丝的最适生长温度,此时菌丝生长速度达到最大值,其次是31℃、21℃、33℃、15℃菌丝生长速度依次减慢。菌丝生长状况最好的温度是26℃左右,虽然生长速度有所下降,但是菌丝在此时生长势最好,菌落整齐、健壮。

2.3.3 菌丝的显微观察

挑取菌丝制作成乳酸酚棉蓝水浸片观察,菌丝有

横隔,有少数菌丝梢部形成粒状的分生孢子,无锁联合现象。

3 讨论

皱盖钟菌作为一种有待开发的珍稀野生食用菌,其市场前景广阔,但其生物学特性、遗传育种和驯化栽培研究在国内外报道甚少,有待深入研究,以便开发利用这一珍贵的种质资源。

参考文献:

- [1] 戴芳澜.中国真菌总汇[M].北京:科学技术出版社,1979.
- [2] 卯晓岚.中国大型真菌[M].郑州:河南科学技术出版社,2000.
- [3] Michael Jordan.The Great Encyclopedia of Mushroom[M].Konemann VerlagsgesellschaftimBH, Germany.1998, 227.
- [4] 李荣春.黄伞菌丝营养特性研究[J].食用菌学报,2001,8(1):19~23.