

怀菊花脱毒苗与非脱毒苗生长发育及产量品质的比较研究

李明军^{1,2}, 张文芳¹, 田莹¹, 赵喜亭^{1,2}, 张晓丽^{1,2}, 职秋艳³

(1.河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007;2.河南省道地药材保育及利用工程技术研究中心;
绿色药材生物技术河南省工程实验室,河南 新乡 453007;3.焦作市鑫诚怀药有限公司,河南 焦作 454950)

摘要:对怀菊花(*Chrysanthemum morifolium* Ramat.)脱毒苗与非脱毒苗的生长发育、产量和品质进行了比较研究.结果显示,脱毒株系的株高、冠幅、分枝数、叶绿素含量、产量和有效药用成分含量均高于非脱毒苗,其中脱毒株系 YD5J6 最优,与非脱毒株系相比,产量增加 25.17%,绿原酸、木樨草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸的含量分别提高 2.784%、19.374%和 25.662%.脱除病毒可显著地改善怀菊花的生长发育,使其光合能力增强、产量提高、品质改善.筛选出的高产优质脱毒株系对怀菊花脱毒种苗的规模化生产及大面积推广应用具有重要的意义.

关键词:怀菊花;脱毒苗;生长发育;产量;品质

中图分类号:Q945

文献标志码:A

怀菊花(*Chrysanthemum morifolium* Ramat.)是菊科菊属的一种多年生草本植物,为我国著名的“四大怀药”之一,主产于河南省焦作市温县、武陟、沁阳等地(古怀庆府地区).它药食兼优,在药用方面具有散风清热,平肝明目,清热解毒之功效,可用于风热感冒,头痛眩晕,目赤肿痛,眼目昏花等^[1],其药用成分绿原酸具有一定的抗肿瘤作用^[2].

菊花在生产中长期进行营养繁殖,病毒感染严重^[3-4].我们实验室前期的研究发现怀菊花感染的病毒为番茄不孕病毒(Tomato aspermy virus, TAV)^[5],该病毒会导致怀菊花出现碎花、矮缩和扭曲等症状,造成植株生长不良、产量下降、品质变差.

针对怀菊花生产中出现的问题,我们利用茎尖培养技术获得了怀菊花脱毒苗并建立了脱毒快繁技术体系^[6].本文报道的是怀菊花脱毒苗与非脱毒苗在大田的生长表现、生理生化变化以及产量和品质的比较,筛选高产优质的脱毒株系,为怀菊花脱毒种苗的规模化生产及大面积推广应用奠定基础.

1 材料与方法

1.1 试验材料

以怀菊花脱毒株系 YD5J2, YD5J6 和非脱毒株系 YD5 二代苗为试验材料.脱毒试管苗种植大田后 11 月初收获,第二年基部萌发丛生芽,4 月份将丛生芽分离种植后即二代苗.

1.2 试验地点

焦作市温县徐堡镇亢村怀菊花种植基地.

1.3 试验方法

试验田分为 3 个小区,每小区面积为 667 m²,株距和行距为 45 cm×40 cm,密度为每亩 3 500 株.二代怀菊花脱毒苗与非脱毒苗均于 4 月中旬移栽,以怀菊花优质、高产的栽培管理技术进行种植、管理,定期除杂草,保持田间干净,确保实验田内怀菊花生长的环境与栽培管理条件一致.

收稿日期:2018-02-01;修回日期:2018-06-01.

基金项目:国家自然科学基金(81274019);国家中医药行业科研专项(201407005-08);河南省创新型科技人才队伍建设工程(C20130037).

作者简介(通信作者):李明军(1962-),男,河南温县人,河南师范大学教授,博士,研究方向:药用植物生物技术及应用, E-mail:limingjun2002@263.net.

在7—10月,每月中旬下午相同时间测定株高、冠幅,采集二代苗相同位置的叶片,用丙酮乙醇混合液比色法^[7]进行叶绿素a和叶绿素b含量测定。

在11月初(收获期),选取脱毒株系和非脱毒株系长势良好的二代苗各75株(5点取样法,每点15株),统计单株的分枝数和花头数,测定花的鲜质重和干质重,计算亩产量。采摘的鲜花经鼓风干燥箱50℃4h、70℃2h后进行干质重的称量。

有效药用成分绿原酸、木樨草苷、3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸的含量采用2015年版《中华人民共和国药典》的方法进行测定^[1]。

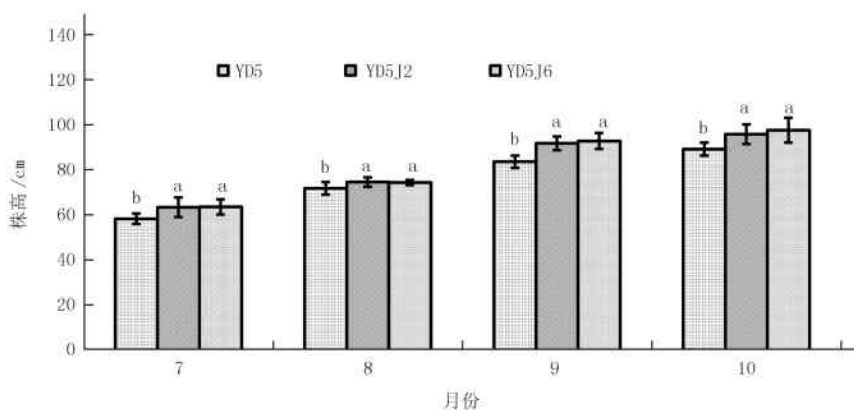
1.4 数据处理

实验数据采用Excel 2013、SPSS 13.0进行统计分析,不同小写字母表示在0.05水平上有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗生长发育的比较

脱毒苗与非脱毒苗的株高、冠幅、分枝数的比较见图1、图2和表1。YD5J6和YD5J2两个脱毒株系株高在7—10月、冠幅在8—10月均显著高于非脱毒株系YD5,7月份时脱毒株系的冠幅与非脱毒株系间没有显著性差异(图1、图2)。怀菊花脱毒后分枝数明显增加,脱毒株系YD5J6单株分枝数最多,平均可达103个,且脱毒株系YD5J6显著高于脱毒株系YD5J2和非脱毒株系YD5,脱毒株系YD5J2与YD5之间没有显著性差异(表1)。



YD5J2和YD5J6为脱毒苗,YD5为非脱毒苗,下同。

图1 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗大田株高的比较

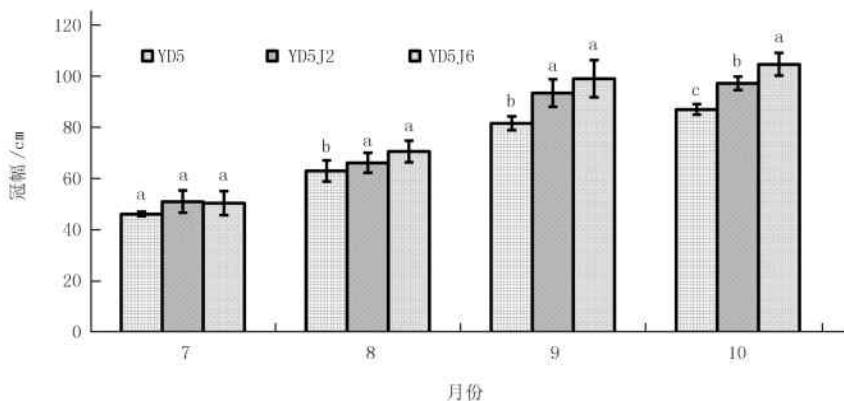


图2 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗大田冠幅的比较

2.2 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗叶绿素含量的比较

由图3可知,各个株系的叶绿素a含量均于8月份时达到最高值。除了9月份脱毒株系YD5J2与对照之

间没有显著性差异外,其余月份不同脱毒株系叶绿素 a 含量均显著高于对照.脱毒株系 YD5J6 在各时间点上均高于脱毒株系 YD5J2,且 8、9、10 月达到显著性差异,8 月份增幅最高可达 28.79%.

由图 4 可知,怀菊花不同脱毒株系叶绿素 b 含量均高于非脱毒株系,且脱毒株系 YD5J6 相对于非脱毒株系增幅最大,8 月份时增幅高达 64.74%,其余 7、9、10 月增幅分别为 44.37%、31.87%、28.34%,4 个月份均达到显著性差异;在 9、10 两个月份,脱毒株系 YD5J2 与非脱毒株系 YD5 之间没有显著性差异,其余两个月份均有显著性差异;同一月份中,脱毒株系 YD5J6 均显著高于 YD5J2.

由图 3 和图 4 可知,脱毒株系 YD5J6 在营养生长期叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均最大,其中在 8 月份含量最高,总叶绿素含量最大.

2.3 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗大田产量的比较

脱毒株系 YD5J6 和 YD5J2 单株花头数、鲜质量、干质量及亩产量均高于非脱毒株系 YD5,且两个脱毒株系

的产量均显著高于非脱毒株系 YD5,亩产干质量较对照 YD5 分别提高 25.17%和 24.15%(表 2).

表 2 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗大田产量的比较(平均值±标准误)

株系	单株花头数/个	单株花鲜质量/g	单株花干质量/g	亩产鲜质量/kg	亩产干质量/kg
YD5	528.91±132.40b	733.05±172.47b	88.08±22.58b	256 5.66±603.64b	308.29±79.02b
YD5J2	623.00±163.50ab	885.98±212.88a	109.35±26.19a	310 0.94±745.08a	382.74±91.67a
YD5J6	705.64±146.81a	899.50±224.29a	110.25±28.14a	314 8.25±785.01a	385.88±98.50a

2.4 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗有效药用成分含量的比较

如表 3 所示,脱毒株系 YD5J6 的木樨草苷和 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量显著高于对照,增幅分别高达 19.374%和 25.662%,脱毒株系 YD5J2 的 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量显著高于对照,增幅为 22.464%,而两个脱毒株系绿原酸含量与对照之间没有显著性差异.两个脱毒株系中 YD5J6 的有效药用成分含量最高,即品质最佳.

表 1 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗分枝数的比较(平均值±标准误)

株系	分枝数/个
YD5	76.00±27.38b
YD5J2	85.09±22.92b
YD5J6	103.29±22.18a

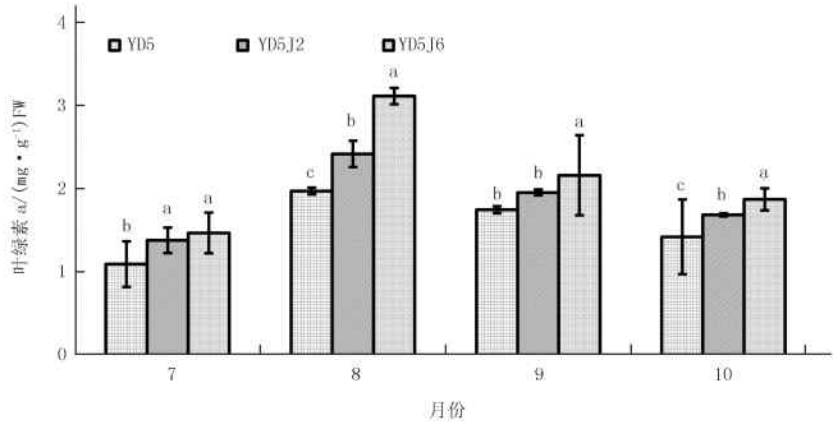


图 3 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗叶绿素 a 含量的比较

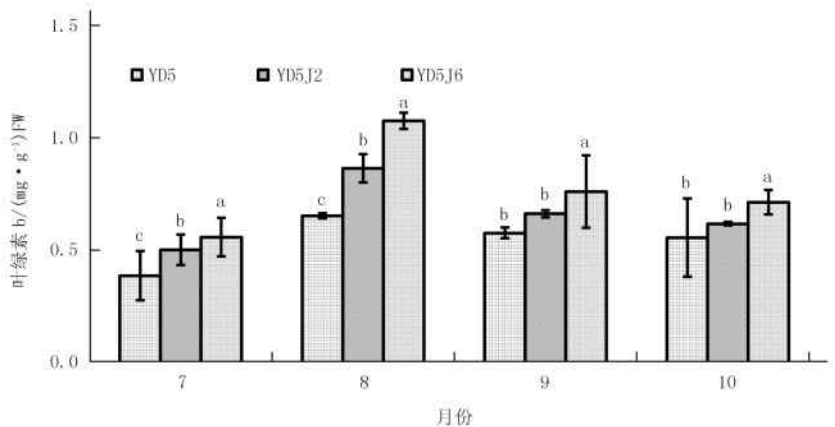


图 4 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗叶绿素 b 含量的比较

表 3 怀菊花脱毒苗与非脱毒苗药用成分含量(质量分数)的比较

株系	绿原酸含量/%	增幅/%	木樨草苷含量/%	增幅/%	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量/%	增幅/%
YD5	0.502 9±0.519a	—	0.102 2±0.208b	—	1.608 2±0.682b	—
YD5J2	0.513 5±0.042a	2.108	0.101 2±0.220b	—	1.969 4±1.383a	22.460
YD5J6	0.516 9±0.223a	2.784	0.122 0±0.252a	19.374	2.020 9±1.224a	25.662

3 讨 论

病毒感染会严重影响植物的形态,脱除病毒后能使其种性恢复,改善生长发育.王小刚等的研究表明,脱毒薄荷(*Mentha haplocalyx*)的农艺性状(株高、叶面积、茎粗等)均优于未脱毒薄荷^[8];黄晓梅等对大葱(*Allium fistulosum* L.)的研究也证实脱毒有利于增加植株的株高、最大叶片长度、叶片数及假茎茎粗^[9];丹参(*Salvia miltiorrhiza*)脱毒后的株高与未脱毒的株高有极显著差异^[10];罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)脱毒苗生长旺盛,叶片数多且叶色浓绿宽大,非脱毒苗长势弱,叶片褪绿,与脱毒苗有很大差别^[11];脱毒杭菊(*Chrysanthemum morifolium*)的农艺特征(叶片宽大,叶色浓绿)优于未脱毒杭菊^[12];怀地黄(*Rehmannia glutinosa*)脱毒苗的株高、冠幅等在生长期均高于非脱毒苗^[13].我们研究组前期的研究表明,怀菊花一代脱毒苗在大田生长过程中株高和冠幅均高于非脱毒苗^[6],本研究结果进一步表明怀菊花二代脱毒苗的分枝数和各月对应的株高、冠幅均大于非脱毒苗,且达到显著性差异.可见脱毒能有效改善植株的生长发育,为产量的提高奠定了基础.

植物感染病毒后会对叶绿体结构、数量造成一定的伤害,致使叶绿素含量降低,而脱除病毒后可降低对叶绿体的伤害,使叶绿素含量提高,进而提高植物的光合速率^[14-15].刘芬等研究表明,百合(*Lilium davidi* var. *unicolor* cotton)脱毒后叶绿素含量在不同发育期均比未脱毒苗高^[16];王丽花等研究发现香石竹(*Dianthus caryophyllus* L.)脱毒后叶绿素 a 和叶绿素 b 含量极显著高于非脱毒苗^[17];张晓丽等研究表明怀地黄脱毒苗光合色素含量及净光合速率均高于非脱毒苗,且差异显著^[13];本研究结果也表明怀菊花两个脱毒株系的叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均显著高于非脱毒株系,总叶绿素含量提高,光合速率提高,从而合成更多有机物.

病毒的感染可导致植物的产量显著下降.研究表明,脱毒后的甘薯(*Dioscorea esculenta*)^[18-20]、果蔗(*Saccharum officinarum*)^[15,21]、丹参^[10]的产量显著提高;大葱脱毒后单株质量极显著优于未脱毒大葱,增产 30% 以上^[9];人参果(*Solanum muricatum*)脱毒后单果质量及亩产量较普通扦插苗都有提高^[22];脱毒杭菊较未脱毒杭菊的花朵大,其单株花头数是未脱毒杭菊的 1.50 倍,单株的平均鲜质量比未脱毒的平均鲜质量提高近一半^[12];脱毒怀地黄的产量显著增加^[13];“滁菊”脱毒苗的单株花数、单株质量分别比非脱毒苗高 21.2%、24.0%^[23];马铃薯(*Solanum tuberosum*)的脱毒种薯比自然留种能增产 50%^[24];本实验结果也显示,怀菊花二代脱毒苗产量均高于非脱毒苗,其中脱毒株系 YD5J6 最高,亩产增幅最大,可达 25.17%.以上结果表明,病毒脱除后,能有效地促进植株的生长,分枝数增多,株高、冠幅增大,并减少对叶绿体的伤害,提高叶绿素含量,使其光合面积增大、光合速率提高,光合产物形成的更多,从而使其产量显著提高.病毒的侵染对药用植物的有效成分也有重要的影响.已有研究表明,脱毒杭菊绿原酸的含量比未脱毒杭菊花提高 36.5%,脱毒杭菊木樨草苷含量比未脱毒杭菊提高了 115%^[12];脱毒“早小洋菊”、脱毒“小洋菊”中总黄酮和绿原酸含量均高于未脱毒常规苗^[25];脱毒怀地黄品质指标与非脱毒怀地黄之间均有显著性差异,部分指标差异性达到极显著水平,其活性成分之一的梓醇的含量提高了 32.90%^[13];“滁菊”脱毒苗的品质显著优于非脱毒苗^[23];本研究也表明,怀菊花脱毒株系有效药用成分木樨草苷和 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸含量显著高于未脱毒株系.可见病毒的侵染可影响植物体内代谢产物的合成,脱毒后可使其合成代谢途径正常运行,从而提高药用植物有效成分的含量,使其品质得以改善.

通过对形态、生理、产量和品质进行比较研究,筛选出 YD5J6 为高产、优质的脱毒株系,运用已建立的怀菊花脱毒种苗繁育技术体系,可使规模化生产的脱毒种苗在怀药产区以及适宜菊花生长的地区得以大面积推广应用.

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版[M].一部.北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 张建勇,崔宏春,江和源,等.杭菊和怀菊主要功能成分的比较[J].安徽农业科学,2010,38(24):13049-13051.
- [3] 吴红芝,孔宝华,陈海如,等.侵染菊花的番茄不孕病毒的鉴定及其外壳蛋白基因的克隆[J].中国病毒学,2002,17(2):145-148.
- [4] Lin M J, Chang C A, Chen C C, et al.. Occurrence of *Chrysanthemum virus b* in taiwan and preparation of its antibody against coat protein expressed in bacteria[J].植物病理学会刊,2005,14(3):191-202.
- [5] Zhao X T, Liu X X, Hong B. Characterization of tomato aspermy virus isolated from chrysanthemum and elucidation of its complete nucleotide sequence[J]. Acta Virologica, 2015, 59(2):204.
- [6] 周颖媛. 怀菊花脱毒快繁技术及脱毒苗大田适应性研究[D]. 新乡:河南师范大学,2014.
- [7] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [8] 王小刚,高山林,白雨,等.薄荷脱病毒苗的农艺性状和有关生理指标的测定[J].药物生物技术,2003,10(2):92-95.
- [9] 黄晓梅,陈典.脱毒大葱农艺性状的研究[J].北方园艺,2003(4):54-55.
- [10] 谢晓亮,温春秀,刘铭,等.脱毒丹参比较评价研究[C]//全国药用植物及植物药学术研讨会,2010.
- [11] 吴群英,李伯林,李景云,罗汉果脱毒苗大田性状研究[J].绿色科技,2013(2):46-48.
- [12] 赵庆年,郅慧,周嘉琳,等.脱毒杭菊的农艺性状和药材品质的研究[J].药物生物技术,2015(6):505-508.
- [13] 张晓丽,李萍,周彩云,等.怀地黄脱毒种苗大田生长性状及产量品质[J].植物学报,2017,52(4):474-479.
- [14] 康小晓.脱毒马铃薯扦插苗生根素组分及其生理生化效应分析[D].杨陵:西北农林科技大学,2012.
- [15] 潘大仁,许莉萍,罗俊,等.果蔗脱毒对光合作用及产量的效应[J].福建农林大学学报(自然科学版),2001,30(3):320-323.
- [16] 刘芬,董铁,李红旭,等.脱毒兰州百合农艺性状研究[J].北方园艺,2007(7):146-148.
- [17] 王丽花,吴学尉,杨秀梅,等.香石竹斑驳病毒(CarMV)脱除对几种生理指标的影响[J].植物生理学报,2012(3):247-250.
- [18] 陈石品.脱毒甘薯不同世代的农艺性状与产量表现[J].福建农业科技,2000(4):19-20.
- [19] 文彤明,刘迪.甘薯脱毒苗产业化生产新技术及其产量、品质分析[J].江苏农业科学,2013,41(8):109-111.
- [20] 李晓青,赵海红,张晓申,等.不同脱毒甘薯品种的生理与产量变化研究[J].农业科技通讯,2013(8):99-101.
- [21] 戴友铭,李松,余坤兴,等.果蔗拔地拉种性恢复试验研究[J].南方农业学报,2008,39(1):26-29.
- [22] 刘金蓉,吕生全.人参果脱毒苗在生产中的推广应用[J].农业科技通讯,2011(10):154-155.
- [23] 吴丹,宋爱萍,史亚东,等.‘滁菊’病毒脱除及脱毒苗品质分析[J].南京农业大学学报,2017,40(6):983-992.
- [24] 袁正仿,张苏锋,王广铭,等.马铃薯脱毒种薯的工厂化生产研究[J].信阳师范学院学报:自然科学版,2003,16(1):83-84.
- [25] 刘辉辉.杭白菊病毒病原鉴定及脱毒苗生物学性状与品质性状分析[D].杭州:浙江大学,2015.

Comparative study on the growth, glower yields and quality between the TAV-free and the control seedlings of *Chrysanthemum Morifolium* Ramat.

Li Mingjun^{1,2}, Zhang Wenfang¹, Tian Ying¹, Zhao Xiting^{1,2}, Zhang Xiaoli^{1,2}, Zhi Qiuyan³

(1.College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2.Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs in Henan Province; Engineering Laboratory of Green Medicinal Plant Biotechnology in Henan Province, Xinxiang 453007, China; 3.Jiaozuo City Xin Cheng Huai Medicine Co Ltd, Jiaozuo 454950, China)

Abstract: In this study, the growth and the flower yields and quality were detected among the TAV-free and the control seedlings. The results showed that the plant height, crown width, branch number, chlorophyll contents, flower yields and effective medicinal ingredients in the TAV-free strains were higher than those in the controls. YD5J6 was the best among the TAV-free strains as indicated by the flower yields, contents of chlorogenic acid, luteoloside, 3,5-dicaffeoylquinic acid increasing by 25.17%, 2.784%, 19.374% and 25.662% compared to the controls, respectively. Removing TAV could obviously enhance the growth and photosynthetic capacity of *C. morifolium* Ramat resulting in increase of flower yields and quality. The results are of great significance for the large-scale production and application of *C. morifolium* Ramat.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium* Ramat.; TAV-free plantlets; growth and development; yield; quality