

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.07.014

万寿菊杂交 F₁ 代组织培养快速繁殖体系的建立

邱雅琼, 牛向丽, 汪雯静, 于洋, 段鹏, 谢昱欣

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:万寿菊(*Tagetes erecta*)是提取天然色素的主要植物资源和应用广泛的园艺栽培植物,通过杂交培育的 F₁ 代具有性状优良的花球但难以结籽获得后代植株。文章以3个万寿菊品种‘Juwang’‘Taishan’‘Discovery’为材料进行 F₁ 代组织培育,采用带腋芽茎段为外植体分析不同培养基、植物激素配比等条件对不同品种万寿菊植株再生的影响。结果表明:3种万寿菊最佳培养基及其组成为 MS、1.00 mg/L 6-苄基嘌呤(6-BA)、0.05 mg/L 萘乙酸(NAA)、30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂,其中‘Juwang’较易诱导再生芽,在添加滤纸处理后再生率可达到 94.44%,玻璃化率降至 5.60%,添加 0.2 g/L 特美汀可抑制茎段内生菌的生长;3种万寿菊最佳生根培养基及其组成为 1/2MS、0.1 mg/L 吲哚乙酸(IAA)、30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂,再生苗根系发达,生根率达到 100%。该研究建立了3种万寿菊的高效组织培养再生体系,可为价格昂贵的优质万寿菊品种的快速繁殖及其遗传改良提供研究依据。

关键词:万寿菊;组织培养;带腋芽茎段;再生苗;快速繁殖

中图分类号:Q943.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2025)07-0951-06

Establishment of tissue culture and rapid propagation system for hybrid F₁ of *Tagetes erecta*

QIU Yaqiong, NIU Xiangli, WANG Wenjing, YU Yang, DUAN Peng, XIE Yuxin

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Marigold (*Tagetes erecta*) is a major plant resource for natural pigments extraction and also a widely used plant for horticulture cultivation. The hybrid F₁ displays advantaged curds but it is difficult to set seeds for offsprings. In this study, three cultivars of *Tagetes erecta*, Juwang, Taishan and Discovery, were used for F₁ plantlet tissue culture. Their stem segments with axillary buds were selected as explants to detect the effects of media with different phytohormone combinations on these varieties of *Tagetes erecta*. The results showed that Juwang was easier to induce regenerated shoots, and the optimal induction medium was MS, 1.00 mg/L 6-BA, 0.05 mg/L NAA, 30 g/L sucrose and 8 g/L agar to indicate 94.44% of regeneration rate and 5.60% of vitrification rate after adding filter paper. The addition of 0.2 g/L timentin could inhibit the growth of endophyte in stem segments. The optimal rooting medium was 1/2MS, 0.1 mg/L IAA, 30 g/L sucrose and 8 g/L agar to indicate 100% of rooting rate and well-developed roots in regenerated plantlets. In the present study, an efficient tissue culture regeneration system was established in three marigold cultivars, which will provide a research basis for rapid propagation and genetic improvement in expensive high-quality marigold materials.

Key words: marigold (*Tagetes erecta*); tissue culture; stem segment with axillary bud; regenerated plantlet; rapid propagation

收稿日期:2023-04-12;修回日期:2023-08-29

基金项目:安徽省科技创新平台重大科技资助项目(202305a12020030)

作者简介:邱雅琼(1998—),女,安徽宿州人,合肥工业大学硕士生;

牛向丽(1971—),女,河南周口人,博士,合肥工业大学研究员,硕士生导师,通信作者,E-mail:niu_xiangli@163.com.

万寿菊(*Tagetes erecta*)是一种具有药用、园艺应用和观赏价值的菊科一年生草本植物^[1-2],其培育品种的绚丽重瓣花球富含叶黄素,是提取天然色素的优质材料,均被作为预防和治理光敏性疾病、癌症等多种疾病的药物^[3-4],同时也广泛用于园艺种植。这种草本植物由于含有生物活性化合物,并具有杀菌、杀虫活性,被用于作物套种、间种^[5]。此外,万寿菊可作为一种潜在的土壤修复植物,修复重金属砷、镉等污染区域^[6]。万寿菊的品种培育常以观赏价值、色素含量为主要目标,利用不育系所获 F₁ 代植株表型优异,但种子价格昂贵,且成熟植株的花球重瓣繁复但缺乏雌雄蕊结构难以结籽。利用组织培养技术繁殖万寿菊可在短期内以较低成本获取大量无菌苗,而且不受生长季节限制,并能保持原有品种的优良性状^[7-9]。因此,建立简易、高效的万寿菊组培再生体系,对其种质资源的保存、优良品种推广和遗传改良具有重要意义和实用价值。

目前,万寿菊离体繁殖的研究多集中在外植体类型和植物激素调配等方面。其中,通过间接诱导胚轴途径^[10-11]获得万寿菊再生植株的效率较低,而以叶片^[2-3,12-13]、带腋芽茎段^[14-16]为外植体可获得较高效的再生体系。但已有研究主要以万寿菊不育系为研究材料,且再生芽成苗率偏低、再生周期长、易玻璃化等问题尚未解决。

本文以株高、单花产量及花瓣色素等农艺性状适用于万寿菊花天然色素提取的‘Juwang’、花色绚丽用于园艺栽培的‘Taishan’、带腋芽茎段的‘Discovery’为外植体,检测不同激素组合对万寿菊再生的影响,以期建立高效再生体系用于万寿菊优异杂交 F₁ 材料的繁育保存与研究应用。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 植物材料

万寿菊(*Tagetes erecta* L.)‘Juwang’(株高 100~120 cm、蜂窝状橘红色花球)‘Taishan’(株高 30~40 cm、蜂窝状橙黄色花球)均购于赤峰鑫卉园艺有限责任公司;‘Discovery’(株高 30~40 cm、蜂窝状金黄色花球)F₁ 代种子购于泛美种子 公司。

1.1.2 试剂

组织培养所用植物激素、有机物、微量元素均购于美国 Sigma 公司;MS(Murashige and Skoog)培养基购于美国 Phytotech 公司;其他常规

试剂均为国外原装或国产分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 万寿菊无菌苗的培养

分别选取‘Juwang’‘Taishan’和‘Discovery’饱满成熟种子,去除种毛,用无菌水浸泡 30 min,在超净工作台中以 75%乙醇振荡消毒 1~2 min;去除乙醇后再以 15%次氯酸钠振荡灭菌 15~20 min,无菌水清洗 6~9 次;将种子放置于灭菌滤纸上晾干,分别接种于 1/2MS、MS 培养基中,每皿 10 粒,重复 6 皿,侧放以尽量充分接触培养基,25 °C 暗培养,3 d 时统计出芽率;在约 5 d 待万寿菊长出完整子叶时,剪去其幼根及种皮(多褶皱易导致杂菌污染),再放置于培养瓶中;待无菌苗第 3~第 5 对叶完全舒展时,剪取 0.5~1.0 cm 带腋芽茎段作为再生外植体进行组织培养。

1.2.2 万寿菊内生菌的抑制情况

从‘Juwang’和‘Discovery’无菌组培苗剪取的组织段在培养过程中会在基部出现内生细菌生长现象,通过实验室常用抗生素的筛选预试,发现特美汀(Timentin)可抑制其生长。将万寿菊带腋芽茎段分别置于添加 0、0.1、0.2、0.3 g/L 特美汀的 MS 培养基中,每组 3 个重复,每个重复 24 个外植体,在 2 000 lx 光照 14 h/d、25 °C 条件下培养,持续观察内生菌的生长抑制情况。

1.2.3 万寿菊带芽茎段再生组织的诱导

采用 MS 为基础培养基,以 30 g/L 蔗糖提供主要碳源、0.2 g/L 特美汀抑制内生菌生长,加入不同质量浓度细胞分裂素 6-苄基嘌呤(6-BA)和生长素萘乙酸(NAA),检测不同植物激素组合(MS₀~MS₆培养基)对 3 个品种万寿菊带腋芽茎段的植株再生的影响。其中:MS₀培养基未添加 6-BA 和 NAA;MS₁培养基为 MS 中添加 0.50 mg/L 6-BA 和 0.10 mg/L NAA;MS₂培养基为 MS 中添加 1.00 mg/L 6-BA 和 0.50 mg/L NAA;MS₃培养基为 MS 中添加 2.00 mg/L 6-BA 和 0.20 mg/L NAA;MS₄培养基为 MS 中添加 1.50 mg/L 6-BA 和 0.50 mg/L NAA;MS₅培养基为 MS 中添加 1.00 mg/L 6-BA 和 0.10 mg/L NAA;MS₆培养基为 MS 中添加 1.00 mg/L 6-BA 和 0.05 mg/L NAA。每个品种培养 3 皿,每皿放置组培材料 8 个,在 25 °C、2 000 lx 光照 14 h/d 条件下培养。所有实验均重复 3 次,培养 14~21 d 后统计腋芽再生率。

1.2.4 滤纸对再生腋芽玻璃化的影响

将‘Juwang’‘Taishan’‘Discovery’带芽茎段

分别置于表面放置无菌滤纸的 MS₀ 培养基上,每个品种重复 3 皿,每皿 8 个外植体,在 25 °C、2 000 lx 光照 14 h/d 条件下培养。实验重复 3 次,培养 14 d 后统计腋芽再生率和玻璃化率。

1.2.5 万寿菊的生根与移栽

当再生芽上茎叶长至 2~3 cm 时,在超净台中以无菌镊子将其取下置于生根培养基中。生根培养基以 1/2MS 为基本培养基中,均加入 30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂、0.2 g/L 特美汀,添加不同质量浓度(0、0.1、0.5、1.0 mg/L)的植物生长素吲哚乙酸(IAA),分别为 T₀~T₃ 培养基,进行生根处理。每种处理重复 10 瓶,每瓶接种 3 株小苗,在 25 °C、2 000 lx 光照 14 h/d 条件下培养 7 d 后统计再生苗生根率;然后对生长健壮的小苗进行炼苗、移栽,实验重复 3 次,每个品种万寿菊共移栽 20 株,14 d 后统计成活率。

1.3 数据分析

采用最小显著极差法以 SPSS 软件进行差异显著性分析,数值以平均值±标准差表示;不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 万寿菊种子的发芽率

将万寿菊‘Juwang’‘Taishan’‘Discovery’种子以 75%乙醇、15%次氯酸钠表面消毒后分别置于 1/2MS、MS 培养基中,3~4 d 均能发芽,发芽率见表 1 所列。根据发芽率实验结果可知,1/2MS 培养基用于‘Juwang’‘Taishan’发芽,MS 为‘Discovery’发芽培养基,以获得无菌苗。

表 1 不同 MS 培养基对 3 种万寿菊种子发芽率的影响

培养基	发芽率/%		
	‘Juwang’	‘Taishan’	‘Discovery’
1/2MS	(96.67±0.52)	(90.00±0.89) ^a	(65.00±0.83) ^b
MS	(95.00±0.54)	(66.67±1.21) ^b	(90.00±0.63) ^a

2.2 特美汀对万寿菊内生菌的抑制作用

由于从万寿菊无菌苗剪取的组织在培养过程中发现有内生菌生长现象,本文通过实验室常用抗生素的筛选预试,发现特美汀可抑制该内生菌的生长。进一步取‘Juwang’和‘Discovery’2 种万寿菊的带腋芽茎段分别置于含有 0、0.1、0.2、0.3 g/L 特美汀的 MS 培养基,其生长情况如图 1 所示。由图 1 可知,特美汀对万寿菊内生菌有明显抑制作用,当其质量浓度增至 0.2、0.3 g/L 时,

外植体长至生根阶段没有内生菌生长,且对万寿菊没有影响,植物材料生长状态良好。因此可通过在培养基中加入 0.2 g/L 特美汀以抑制内生菌生长,避免其对万寿菊组培材料的影响。

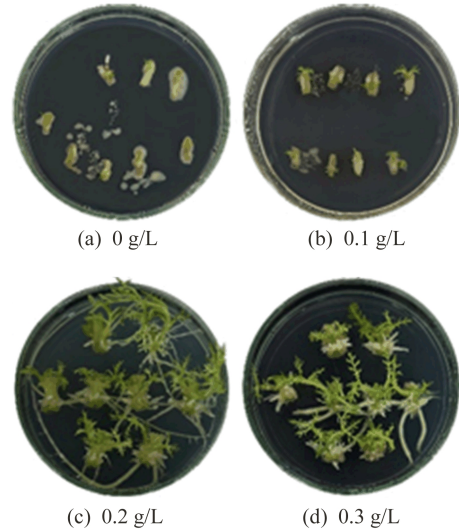


图 1 不同质量浓度特美汀对‘Juwang’内生菌的抑制情况

2.3 激素比对万寿菊茎段腋芽诱导的影响

将‘Juwang’的带芽茎段分别置于 MS₀~MS₆ 培养基中,其生长情况如图 2 所示。3 种万寿菊在 MS₀ 培养基中的生长情况如图 3 所示。不同培养基对 3 种万寿菊腋芽组织再生的影响见表 2 所列。

由图 2、图 3 和表 2 可知:MS₀ 诱导腋芽的再生率分别为 47.92%、38.89%、35.42%,再生苗为黄绿色,生长正常;在 MS₁、MS₂、MS₃、MS₄ 中诱导的 3 种万寿菊的腋芽再生率均低于 MS₀,再生体较小且黄化,诱导慢,极易玻璃化;诱导 3 种万寿菊腋芽再生率最高的均为 MS₀ 培养基,分别为 72.22%、63.19%、59.03%,再生苗生长良好,健壮且更易伸长。因此,最适于万寿菊带腋芽茎段的培养基及其组成为 MS、1.00 mg/L 6-BA、0.05 mg/L NAA、30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂。

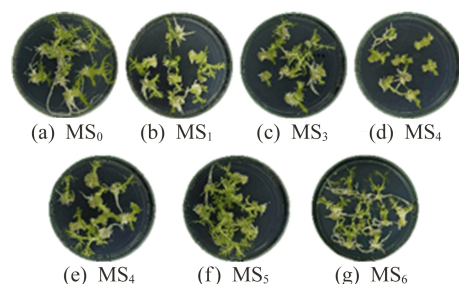


图 2 ‘Juwang’在不同培养基中的生长情况

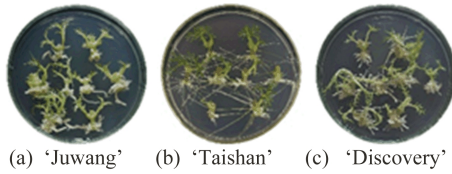


图 3 3 种万寿菊在 MS₆ 培养基中的生长情况

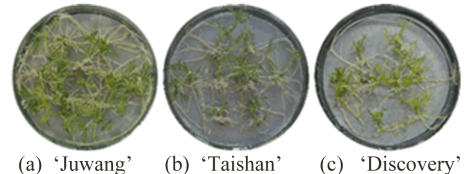


图 4 3 种万寿菊在加滤纸的 MS₆ 上的生长情况

表 2 不同培养基对 3 种万寿菊的腋芽组织再生的影响

培养基	再生率/%		
	'Juwang'	'Taishan'	'Discovery'
MS ₀	(47.92±3.32) ^b	(38.89±2.91) ^{ab}	(35.42±2.00) ^{bc}
MS ₁	(42.36±2.33) ^c	(36.11±2.05) ^b	(33.33±1.58) ^c
MS ₂	(39.58±2.23) ^c	(29.86±1.99) ^{bc}	(24.31±1.90) ^{cd}
MS ₃	(29.86±1.72) ^c	(13.89±1.39) ^c	(13.89±1.48) ^d
MS ₄	(45.14±2.39) ^{bc}	(31.25±1.94) ^{bc}	(27.08±1.73) ^{cd}
MS ₅	(65.97±2.46) ^{ab}	(52.78±2.19) ^{ab}	(50.69±1.76) ^{ab}
MS ₆	(72.22±2.30) ^a	(63.19±1.69) ^a	(59.03±1.51) ^a

2.4 滤纸对腋芽组织再生及玻璃化的影响

在组织培养研究中发现,一些植物材料在添加滤纸的培养基上生长时可减少其再生组织的玻璃化。为降低万寿菊腋芽再生组织的玻璃化,本文研究了'Juwang'、'Taishan'、'Discovery'腋芽再生组织在添加滤纸的 MS₆ 培养基上的生长情况,如图 4 所示;'Juwang'在未添加滤纸的 MS₆ 培养基上的玻璃化苗和添加滤纸的 MS₆ 培养基上的正常再生苗如图 5 所示。

由图 4、图 5 可知,滤纸的添加抑制了再生组织玻璃化,使玻璃化率分别由 22.92%、31.25%、34.03%降低至 5.60%、12.50%、17.37%,由此对 3 种万寿菊腋芽的再生均起到促进作用,使再生率分别可达 94.44%、77.78%、72.22%,再生组织生长健壮、叶色浓绿、畸形少,持续培养可发育为正常植株。

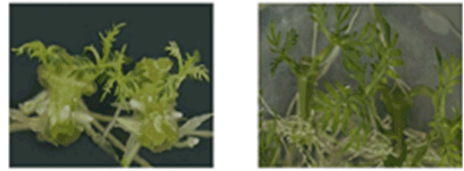


图 5 'Juwang'在 MS₆ 培养基上的生长苗

2.5 IAA 对万寿菊再生组织生根的影响

将 3 种万寿菊生长至 2~3 cm 的腋芽再生组织分别置于添加不同质量浓度 IAA 的生根培养基中,'Juwang'的生长情况如图 6 所示,7 d 后统计 3 种万寿菊的生根率,见表 3 所列。

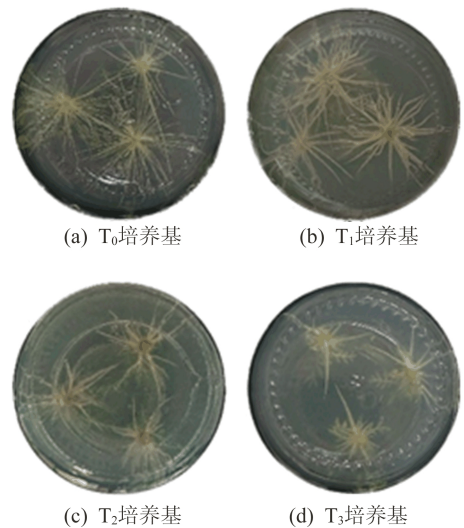


图 6 不同培养基中'Juwang'的根系再生情况

表 3 不同质量浓度 IAA 的 1/2MS 培养基对 3 种万寿菊再生组织生根的影响

培养基	$\rho(\text{IAA})/(\text{mg/L})$	生根率/%			再生根的形态
		'Juwang'	'Taishan'	'Discovery'	
T ₀	0	(97.78±0.58) ^{ab}	(91.11±1.55) ^a	(88.89±0.58) ^a	极细、长,分支较多
T ₁	0.1	100.00 ^a	(93.33±1.00) ^a	(91.11±1.15) ^a	粗、长,分支多
T ₂	0.5	(77.78±1.53) ^b	(77.78±1.53) ^{ab}	(73.33±1.73) ^a	较粗、短,分支少
T ₃	1.0	(53.33±1.00) ^c	(51.11±2.52) ^b	(48.89±1.53) ^b	较粗、极短,分支少

实验结果表明,IAA 对再生不定根有明显影响。相同时间内,'Juwang'、'Taishan'、'Discovery'再生苗在 T₁ 培养基中发根较快,生根率分别为 100.00%、93.33%、91.11%,且根系相对粗壮、分支多。因此可选择 0.1 mg/L 用于诱导 3 种万

寿菊再生组织根系的生成,在生长约 7 d 即可形成茁壮根系。将生根后的万寿菊完整植株小苗经炼苗后移栽至营养土中,遮阴、保湿培养 14 d 后幼苗的移栽成活率在 95% 以上。

再生植株的形态发育与野生型无差异,能正

常开花,遗传性状稳定。以‘Juwang’为例,组培苗的再生过程如图 7 所示。

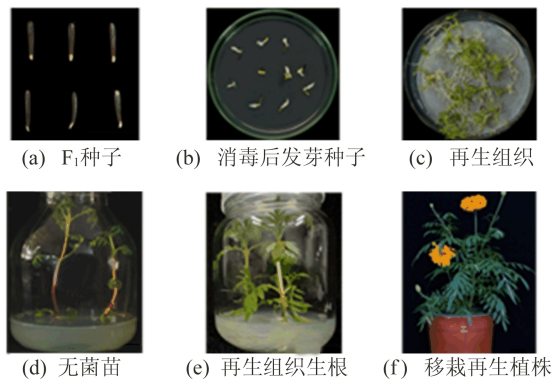


图 7 ‘Juwang’组织培养再生过程

2.6 内生细菌的鉴定

本文对万寿菊‘Juwang’和‘Discovery’组培过程中所发现的内生细菌经分离纯化,16S rDNA 扩增与测序鉴定,发现此内生菌为单一菌种,其测定序列在 NCBI 数据库中进行 Blast 比对,如图 8 所示。结果发现,该菌株与已报道的根癌农杆菌 (*Agrobacterium fabrum*) 菌株 2788 序列 (CP116684) 完全一致。在铁皮石斛^[17]、葡萄^[18]、桃树^[19] 等宿主中也分离出土壤杆菌属内生菌,说明其可能广泛分布于各种植物中,但在万寿菊中的分布并不多见。在组培过程中,该内生菌的生长可以被特美汀所抑制,降低其对组织再生的影响,而它与开放环境中生长的万寿菊之间存在的互作、制衡关系还有待进一步研究。

Agrobacterium fabrum strain 2788 chromosome Linear, complete sequence
Sequence ID: [CP116684.1](#) Length: 2018508 Number of Matches: 2

Range 1: 777106 to 778527 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Pre](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2627 bits(1422)	0.0	1422/1422(100%)	0/1422(0%)	Plus/Minus
Query 3	GGCTCAGAACGACCGTGGCGGAGGCTTAACACATGCAAGTCGAAGCCCGCAAGGGG	62		
Sbjct 778527	GGCTCAGAACGACCGTGGCGGAGGCTTAACACATGCAAGTCGAAGCCCGCAAGGGG	778468		
Query 63	AGTGGCAGAGGGGTGAGTAAACCGGTGGGAATCTACCCATCTCTGCGGAATAGCTCGGA	122		
Sbjct 778467	AGTGGCAGAGGGGTGAGTAAACCGGTGGGAATCTACCCATCTCTGCGGAATAGCTCGGA	778408		
Query 123	AACCTGGAATTAATACCGCATACCGCCCTACGGGGGAAAGATTATCGGGGATGGATGAGCC	182		
Sbjct 778407	AACCTGGAATTAATACCGCATACCGCCCTACGGGGGAAAGATTATCGGGGATGGATGAGCC	778348		
Query 183	CGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGTTAAAGGCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGGT	242		
Sbjct 778347	CGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGTTAAAGGCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGGT	778288		
Query 243	CTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACAGGGCCCAACTCTACGGGAGGCGAG	302		
Sbjct 778287	CTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACAGGGCCCAACTCTACGGGAGGCGAG	778228		
Query 303	CAGTGGGGAAATTTGGACATGGGGCAAGCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAATGA	362		
Sbjct 778227	CAGTGGGGAAATTTGGACATGGGGCAAGCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAATGA	778168		

图 8 内生菌菌株 16S rDNA 扩增测序片段的 Blast 比对结果

3 讨 论

在万寿菊的组培研究中,文献[20]发现叶片在添加 0.5 mg/L NAA 和 1.0 mg/L 6-BA 的 MS 培养基中不定芽再生率最高,为 47.9%;文献

[21]以万寿菊‘钻石’雄性不育株系的幼嫩叶片和子叶为外植体进行离体快繁,添加 0.8 mg/L IAA 和 0.6 mg/L 6-BA 的 MS 培养基对不定芽的直接诱导率为 45.8%;文献[22]分析认为 1.5 mg/L 6-BA 与 5.0 mg/L GA₃ 激素组合最适于下胚轴再生,再生率为 66.6%;文献[13]以 40 个不同基因型万寿菊叶片为外植体,发现黄色‘里程碑’为最佳再生基因型,最适再生培养基为 MS+0.2 mg/L 细胞分裂素噻苯隆 (TDZ)+0.5 mg/L 生长素吲哚丁酸 (IBA),再生率达 70%。在本工作预实验中,以万寿菊‘Juwang’的真叶、下胚轴在 6-BA 和 NAA 激素组合中均未能直接诱导形成不定芽,因此以带腋芽茎段为最适外植体。这可能是由于品种材料的遗传差异或激素种类不同导致的。此外,本实验使用的带芽茎段外植体无需愈伤组织诱导、不定芽分化、增殖等步骤,从获取无菌苗至移栽组培苗大约共需 35 d,可节省 1~2 个月的组培时间。

外源生长激素对植物形态结构分化的调控作用实际上是重新调整了内源生长素和细胞分裂素的平衡^[23]。一般将细胞分裂素和生长素按一定比例组合,可有效实现愈伤组织、不定芽或根的诱导,两者的不同配比控制着离体细胞的分裂、再分化及植物形态的形成^[24-25]。多数万寿菊组培中采用 6-BA 与 NAA^[15-16,20,26]、6-BA 与 IAA^[2,12,20,27]或 6-BA 与 GA₃^[12,22] 组合诱导再生芽。本文探讨了 6 种 6-BA 与 NAA 组合对 3 个品种万寿菊带芽茎段组织再生的影响,结果发现 MS 培养基中添加 1.00 mg/L 6-BA 和 0.05 mg/L NAA 为最佳激素组合,与文献[28]在铁线莲‘水晶喷泉’带芽茎段中的实验结论基本一致。此外,通过放置滤纸不仅提高了腋芽再生率,而且有效降低了再生芽的玻璃化率。这种作用可能是滤纸降低了外植体与培养基接触面的水势,并减缓外植体对无机营养物质吸收速率,从而降低了再生苗的玻璃化。

再生苗的生根是再生体系建立中的重要环节,只有诱导形成强健发达的根系,才能确保组培苗的移栽成活。文献[7]研究表明,低质量浓度的 IAA 和 1/2MS 培养基能有效促进再生苗的生根。本实验通过对比加入不同质量浓度 IAA 的生根情况,发现 1/2MS 中加入 0.1 mg/L IAA、30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂是本实验 3 种万寿菊的最佳生根培养基。此外,再生苗在生根培养基中约 20 d 后能长成为具有 3~5 对侧芽的幼苗,将

这些侧芽切下继续置于 MS₀ 中继续培养,即可确保快速繁殖体系有充足的外植体,并相较于种子发苗节省更多时间。

4 结 论

本研究通过对适于提取色素的‘Juwang’和适于园艺栽培的‘Taishan’‘Discovery’万寿菊杂交 F₁ 代进行组织培养实验,建立了简易高效的再生体系,可用于优良性状万寿菊的快速繁殖。我国万寿菊品种培育起步较晚,优良种质资源主要来源于国外,所售种子价格昂贵,常以 10 元/g 计。万寿菊的组织培养不仅可快速获取大量具有相同性状的新个体,也可用于不育系亲本的种质繁育保存,并进一步用于遗传改良。目前,万寿菊遗传转化体系还处在探索阶段,影响其转化效率的因素有很多,其中高效稳定的再生体系是构建遗传转化系统的关键。

[参 考 文 献]

- [1] 鲁海菊,施玉梅,潘柳君,等. 万寿菊内生真菌 WZ2 菌株形态鉴定及生物学特性[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(11): 2606-2609.
- [2] NUOENDAGUL A, NARUSHIMA M, UESUGI M, et al. *In vitro* regeneration and agrobacterium-mediated transformation of male-sterile marigold (*Tagetes erecta* L.) [J]. Plant Biotechnol, 2017, 34(2): 125-129.
- [3] DELGADO-VARGAS F, PAREDES-LÓPEZ O. Correlation of HPLC and AOAC methods to assess the all-trans-lutein content in marigold flowers[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1996, 72(3): 283-290.
- [4] GRANADO F, OLMEDILLA B, GIL-MARTÍNEZ E, et al. Lutein ester in serum after lutein supplementation in human subjects[J]. British Journal of Nutrition, 2007, 80(5): 445-449.
- [5] VANEGAS P E, VALDEZ-MORALES M, VALVERDE M E, et al. Particle bombardment, a method for gene transfer in marigold[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2006, 84(3): 359-363.
- [6] CHINTAKOVID W, VISOOTTVISETH P, KHOKIAT-TIWONG S, et al. Potential of the hybrid marigolds for arsenic phytoremediation and income generation of remediators in Ron Phibun District, Thailand[J]. Chemosphere, 2008, 70(8): 1532-1537.
- [7] 吴丽芳,赵艳,廖春方,等. 万寿菊雄性不育系离体快繁体系的建立[J]. 南方农业学报, 2019, 50(9): 2029-2035.
- [8] 郑杰,李素琴,黄红梅. 万寿菊组织培养体系的建立[J]. 北方园艺, 2012(6): 111-114.
- [9] KURIMELLA R K. Standardization of rapid multiplication protocol in petaloid male sterile lines of African marigold (*Tagetes erecta*) through *in vitro* culture[J]. Indian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 87(10): 1295-1302.
- [10] ESPINOZA P E V, BENITEZ-GARCIA I, PERALTA A L L, et al. Somatic embryogenesis from leaf explants of *Tagetes erecta* L. [J]. Plant Biotechnol, 2017, 34(4): 187-192.
- [11] KUMAR A, SINGH S K, SHARMA S K, et al. Comparison of seed-derived with micropropagated male-sterile plants of *Tagetes erecta* L. for F1 hybrid seed production [J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2015, 79(2): 260-266.
- [12] 赵子刚,曾丽,唐克轩,等. 色素万寿菊叶片再生体系的建立及优化[J]. 园艺学报, 2010, 37(4): 655-660.
- [13] 王亚琴,韦陆丹,王文静,等. 万寿菊再生体系的建立及优化[J]. 植物学报, 2020, 55(6): 749-759.
- [14] 邹永梅,黄雪芳. 万寿菊的组织培养和瓶苗开花研究[J]. 江苏林业科技, 2005(6): 17-19.
- [15] 伍亚平,唐道城. 万寿菊雄性不育系离体保存及快繁体系的建立[J]. 北方园艺, 2013(1): 116-118.
- [16] 魏晓梅,吴丽芳. 色素万寿菊雄性不育植株的快速繁殖[J]. 北方园艺, 2021(2): 53-59.
- [17] 章华伟,钟超群. 铁皮石斛内生细菌的分离和初步鉴定[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(8): 1811-1813.
- [18] 赵萍,雷晨瑶,夏文旭,等. 酿酒葡萄根内生菌根瘤土壤杆菌的筛选方法及其应用: CN106635907A[P]. 2017-05-10.
- [19] 李昱佳. 拮抗根瘤土壤杆菌的桃内生细菌的筛选鉴定[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [20] VANEGAS P, CRUZ-HERNÁNDEZ A, VALVERDE M, et al. Plant regeneration via organogenesis in marigold[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2002, 69(3): 279-283.
- [21] 张华丽,赵剑颖,张睿鹏,等. 万寿菊杂交亲本的离体培养[J]. 西北植物学报, 2011, 31(12): 2545-2550.
- [22] GUPTA V, UR RAHMAN L. An efficient plant regeneration and agrobacterium-mediated genetic transformation of *Tagetes erecta* [J]. Protoplasma, 2015, 252(4): 1061-1070.
- [23] 逯锦春,曹丽娜,佟冠杰,等. 大花银莲花愈伤组织诱导及再生体系的建立[J]. 植物学报, 2022, 57(2): 217-226.
- [24] 蒋彧,何俊蓉,袁宁,等. 植物生长调节剂对彩色马蹄莲形态建成的影响及生理生化指标测定[J]. 西南农业学报, 2010, 23(1): 184-187.
- [25] PAL S. Role of plant growth regulators in floriculture: an overview[J]. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2019, 8(3): 789-796.
- [26] KUMAR K R, SINGH K P, JAIN P K, et al. Influence of growth regulators on callus induction and plant regeneration from anthers of *Tagetes spp.* [J]. Indian Journal of Agricultural Sciences, 2018, 88(6): 970-977.
- [27] 赵鹏雪. 万寿菊类胡萝卜素合成途径关键基因 PSY 和 CCS 的克隆及其再生体系的建立[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2018.
- [28] 韩芯,高露璐,王淑安,等. 铁线莲‘水晶喷泉’茎段组培再生体系的建立[J]. 分子植物育种, 2023, 21(23): 7826-7833.

(责任编辑 闫杏丽)