

网纹草丛芽诱导与组培快繁体系的建立

赵 欢, 张 黎

(宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:以网纹草“小火焰”、“白天使”2个品种的茎尖和茎段为外植体,研究了不同消毒时间、不同碳源、不同配比的生长调节剂对网纹草丛芽诱导、增殖和生根的影响。结果表明:外植体灭菌 15 min 时污染率最低,“小火焰”、“白天使”茎段污染率分别为 16.7%和 13.3%。“白天使”品种最佳丛芽诱导培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,最佳继代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。“小火焰”品种最佳丛芽诱导培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,最佳继代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,继代培养基中将蔗糖换成白砂糖效果更佳。2个品种的生根培养基均以 1/2MS+IBA 0.1 mg/L 效果较好。

关键词:网纹草;茎段;丛芽增殖;组培快繁

中图分类号:S 681.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)01-0087-03

网纹草(*Fittonia verschaaffeltii*)属爵床科多年生草本植物,又称费通草,原产于南美秘鲁、巴西北部^[1-2]。网纹草姿态轻盈,植株小巧玲珑,呈匍匐状,叶脉清晰,叶色淡雅,纹理匀称,属观叶植物中的小型盆栽植物,深受人们喜爱,是目前在国内与国际十分流行的盆栽小品种。传统的网纹草繁殖方法为扦插或分株繁殖,但繁殖速度较慢。采用组织培养方法,可在短期内获得大量的植株,并可保持母体优良的性状,达到快繁的目的^[3]。国内关于网纹草的组织培养相关研究较少^[4-5],为满足市场需求,建立网纹草组培快繁体系势在必行。现以网纹草的茎尖和茎段为外植体,诱导丛芽增殖,以期网纹草的快速繁殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为网纹草“白天使”(‘White angel’)和“小火焰”(‘Small flame’),取其茎尖和茎段为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒时间筛选 在超净台上将外植体剪成长 10~15 mm、粗 2~4 mm 的小段。放入小烧杯中,倒入 0.1%的升汞溶液灭菌,灭菌时间设 10、13、15 min

3个处理。灭菌后用无菌水冲洗 4 次,接种于 MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L 的培养基中,培养 15 d 后观察污染率。培养温度 24~28℃,光照时间 12 h/d,光照强度 2 000 lx。每处理 300 瓶,每瓶 1 个外植体。

1.2.2 丛生芽诱导培养基筛选 以 MS 为丛生芽启动培养基,添加不同浓度的 6-BA(0.5、1.0、2.0 mg/L)和 NAA(0.05、0.10、0.20 mg/L)。设 A1 为“白天使”品种,A2 为“小火焰”品种。激素配比采用完全随机设计,共 9 个激素处理和 1 个对照处理(CK)。每种培养基接种 30 瓶,每瓶接种 3 个外植体,重复 3 次,培养 60 d,统计丛生芽诱导率并记录芽生长状况。

表 1 试验设计

Table 1	Test design			mg/L
处理号 Treatment number	A	6-BA	NAA	
CK	A1	0	0	
P1	A1	0.5	0.05	
P2	A1	0.5	0.10	
P3	A1	0.5	0.20	
P4	A1	1.0	0.05	
P5	A1	1.0	0.10	
P6	A1	1.0	0.20	
P7	A1	2.0	0.05	
P8	A1	2.0	0.10	
P9	A1	2.0	0.20	
CK	A2	0	0	
P1	A2	0.5	0.05	
P2	A2	0.5	0.10	
P3	A2	0.5	0.20	
P4	A2	1.0	0.05	
P5	A2	1.0	0.10	
P6	A2	1.0	0.20	
P7	A2	2.0	0.05	
P8	A2	2.0	0.10	
P9	A2	2.0	0.20	

第一作者简介:赵欢(1992-),女,硕士研究生,研究方向为园林植物与观赏园艺。E-mail:836986582@qq.com.

责任作者:张黎(1962-),女,硕士,教授,硕士生导师,现主要从事园林植物与观赏园艺等研究工作。E-mail:zhang_li9988@163.com.

基金项目:宁夏科技支撑计划资助项目(2014ZZN09)。

收稿日期:2015-09-27

1.2.3 不同配比生长调节剂对网纹草继代培养的影响 将丛生芽分株或切为 1 cm 左右的茎段,采用完全随机设计。6-BA 设 3 个浓度梯度 0.5、1.0、2.0 mg/L。NAA 设置 3 个浓度梯度 0.05、0.10、0.20 mg/L,共 9 个激素处理加 1 个对照处理(CK)。30 d 后统计未受污染的丛生芽数。

1.2.4 不同碳源对丛生芽增殖的影响 将生长到 3~4 cm 的丛生小芽切割成单株后,接种到含有不同碳源的培养基上。设置 MS 为试验培养基,加入所筛选出的适宜浓度的激素配比,培养基碳源分别为白砂糖和蔗糖,浓度均为 30 mg/L,每瓶接 1 个,接种 30 瓶,重复 3 次,30 d 后观察丛生芽增殖数量。

1.2.5 试管苗生根培养 采用 1/2MS 为基础培养基,试验添加不同浓度的 IBA,浓度梯度分别为 E1(0.0 mg/L)、E2(0.1 mg/L)、E3(0.5 mg/L),每瓶接 1 个,接种 30 瓶,重复 3 次,30 d 后观察生根数量与根长。

1.3 数据分析

采用 Excel 2003、DPS 7.05 软件进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 外植体消毒时间筛选

由表 2 可知,“白天使”和“小火焰”2 个品种的网纹草试管苗随着灭菌时间的增加,污染率逐渐下降,当灭菌时间为 15 min 时污染率降至最低。“白天使”和“小火焰”2 个品种之间有差异,“白天使”的污染率明显低于“小火焰”的污染率。

表 2 污染率统计

灭菌时间 Sterilization time/min	“白天使”“White angel”			“小火焰”“Small flame”		
	接种数	污染数	污染率	接种数	污染数	污染率
	Vaccination number/个	Pollution number/个	Pollution rate/%	Vaccination number/个	Pollution number/个	Pollution rate/%
10	300	70	23.3	300	80	26.7
13	300	60	20.0	300	60	20.0
15	300	40	13.3	300	50	16.7

2.2 丛生芽诱导培养基筛选

由表 3 可知,2 个品种之间差异显著。6-BA 浓度对丛生芽的萌发影响显著,6-BA 浓度 1.0 mg/L 与 2.0 mg/L 之间差异不显著,与 0.5 mg/L 处理浓度差异显著;IBA 浓度对植株萌发影响不显著。由平均芽高得出“白天使”P6 处理与 P1、P2、P3、P4、P5、P7、P8、P9、CK 处理有显著性差异;“小火焰”P8 处理与 P1、P2、P3、P4、P5、P6、P7、P9、CK 处理有显著性差异。综上所述,“白天使”P6 处理为最佳培养基,“小火焰”P8 处理为最佳培养基。

2.3 继代培养生长调节剂浓度筛选

由表 4 可知,2 个品种之间无显著差异,6-BA 与 NAA 不同浓度对比对植株继代丛生芽生长影响显著。

表 3 丛生芽诱导培养基筛选

Table 3 Multiple shoot clumps induction medium filtering

处理号 Treatment number	A	6-BA /(mg · L ⁻¹)	NAA /(mg · L ⁻¹)	出芽率 Budding rate /%	平均芽高 Average shoot high /mm
CK	A1	0.0	0.00	1.78abc	1.85f
P1	A1	0.5	0.05	1.53bc	2.32c
P2	A1	0.5	0.10	1.83abc	1.67h
P3	A1	0.5	0.20	1.33c	1.85f
P4	A1	1.0	0.05	2.11ab	2.00e
P5	A1	1.0	0.10	1.72abc	2.27d
P6	A1	1.0	0.20	2.33a	2.77a
P7	A1	2.0	0.05	1.33c	2.00e
P8	A1	2.0	0.10	1.72abc	2.67b
P9	A1	2.0	0.20	2.06abc	1.77g
CK	A2	0.0	0.00	2.08ab	1.83e
P1	A2	0.5	0.05	1.33c	1.08h
P2	A2	0.5	0.10	2.07abc	2.03d
P3	A2	0.5	0.20	1.69abc	1.67g
P4	A2	1.0	0.05	2.27ab	1.77f
P5	A2	1.0	0.10	1.75abc	2.33b
P6	A2	1.0	0.20	2.28a	1.67g
P7	A2	2.0	0.05	2.42a	2.10c
P8	A2	2.0	0.10	2.42a	2.67a
P9	A2	2.0	0.20	2.21ab	1.67g

注:不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著性。下同。

Note: Different lowercase letters show significant difference at 0.05 level. The same below.

表 4 不同配比生长调节剂浓度对继代培养出芽率的影响

Table 4 Effect of different ratio concentration of growth regulator on budding rate of successive transfer culture

处理号 Treatment number	A	6-BA /(mg · L ⁻¹)	NAA /(mg · L ⁻¹)	出芽率 Budding rate/%
CK	A1	0.0	0.00	1.83e
P1	A1	0.5	0.05	2.20de
P2	A1	0.5	0.10	2.53cde
P3	A1	0.5	0.20	1.81e
P4	A1	1.0	0.05	2.30cde
P5	A1	1.0	0.10	4.30a
P6	A1	1.0	0.20	2.40cde
P7	A1	2.0	0.05	2.65bcde
P8	A1	2.0	0.10	2.60bcde
P9	A1	2.0	0.20	1.98de
CK	A2	0.0	0.00	2.33cde
P1	A2	0.5	0.05	2.11de
P2	A2	0.5	0.10	2.34cde
P3	A2	0.5	0.20	2.10de
P4	A2	1.0	0.05	2.62bcde
P5	A2	1.0	0.10	3.00bcd
P6	A2	1.0	0.20	3.62ab
P7	A2	2.0	0.05	2.47cde
P8	A2	2.0	0.10	3.31abc
P9	A2	2.0	0.20	2.52cde

“白天使”P5 处理与 P1、P2、P3、P4、P6、P7、P8、P9 及 CK 处理之间有显著性差异;P1、P2、P3、P4、P6、P7、P8、P9 及 CK 处理之间差异不显著。“小火焰”P6 处理与 P1、P2、P3、P4、P5、P7、P9、CK 处理之间有显著性差异;P8 处理与 P1、P3 处理之间有显著性差异;P1、P2、P3、P4、P5、P7、P9 及 CK 处理之间差异性不显著。“白天使”继代培养最适配方为 P5,“小火焰”继代培养最适配方为 P6。

2.4 不同碳源对丛生芽增殖的影响

由表 5 可知,“白天使”、“小火焰”以白砂糖为碳源的出芽率与以蔗糖为碳源的出芽率之间均有显著性差异,白砂糖优于蔗糖。

表 5 不同碳源对丛生芽增殖的影响

Table 5 Effect of C source on the multiple shoot clumps

品种 Variety	碳源 C source	出芽率 Budding rate/ %
“白天使” ‘White angel’	白砂糖 White granulated sugar	3.77a
	蔗糖 Sucrose	1.83b
“小火焰” ‘Small flame’	白砂糖 White granulated sugar	4.17a
	蔗糖 Sucrose	2.07b

2.5 生根培养基筛选

由表 6 可知,“白天使”平均根数,E2 处理与 E1、E3 处理之间有显著性差异,E1 处理与 E3 处理之间无显著性差异;“白天使”平均根长,E2 处理与 E1、E3 处理之间有显著性差异,E1 处理与 E3 处理之间有显著性差异。“小火焰”平均根数,E2 处理与 E1、E3 处理之间有显著性差异,E1 处理与 E3 处理之间无显著性差异;“小火焰”平均根长,E2 处理与 E1、E3 处理之间有显著性差异,E1 处理与 E3 处理之间有显著性差异。综上所述,E2 处理为最佳生根培养基。

表 6 不同生根培养基对根性状的影响

Table 6 Effect of different rooting medium on root traits

“白天使”‘White angel’			“小火焰”‘Small flame’		
处理 Treatment	平均根数 Average root number/个	平均根长 Average root length/cm	处理 Treatment	平均根数 Average root number/个	平均根长 Average root length/cm
E1	0.00b	0.00c	E1	0.00b	0.00c
E2	7.33a	4.33a	E2	5.67a	6.00a
E3	1.33b	1.33b	E3	1.33b	1.33b

3 讨论与结论

为建立网纹草组培快繁体系,须选择适宜的外植体

进行芽诱导。杨承勇等^[6]采用叶片、茎段作为外植体进行初代培养,发现从叶片诱导丛生芽的效果差。该试验分别采用茎尖、茎段作为外植体进行初代培养,诱导丛生芽。发现茎尖诱导丛生芽和茎段丛生芽相比较效果较差。这与傅婉华等^[4]采用白网纹草茎尖作为外植体进行初代培养,70 d 后才诱导分化出大量丛生芽的研究结果一致。而 6-BA 与 IBA 对网纹草丛生芽增殖有一定的影响,通过调节不同配比生长调节剂可显著增加网纹草丛生芽诱导、增殖的数量,达到快速繁殖的目的。

网纹草“白天使”、“小火焰”2 个品种外植体灭菌最佳时间为 15 min。“白天使”品种初代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,继代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。“小火焰”品种初代培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,继代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。继代培养基中将蔗糖换成白砂糖效果更佳。网纹草“白天使”、“小火焰”2 个品种最佳生根培养基均为 1/2MS+IBA 0.1 mg/L。

参考文献

- [1] DEWOLF G P. The genus *fittonia* (Acanthaceae) [J]. Bailey, 1970, 17:34-37.
- [2] BRUMMITT R K. Proposal (447) to conserve the name 8069 *fittonia coemans* over *adelaster Indleyex veitch* (Acanthaceae) [J]. Taxon, 1978(2): 307-309.
- [3] 陈超,王桂兰,石洪凌,等. 白网纹草的化学诱变与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(6): 631.
- [4] 傅婉华,李文安. 白网纹草的茎尖培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1988(1): 46.
- [5] 陈志红,李华赐. 白网纹草试管苗的诱导[J]. 植物生理学通讯, 1987(3): 37-38.
- [6] 杨承勇,郑迎冬. 白网纹草的茎段培养和快速繁殖[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2000, 13(1): 15-18.

Establishment of the System of Rapid Propagation and Bud Induction of *Fittonia*

ZHAO Huan, ZHANG Li

(College of Agronomy, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: With *fittonia verschoffeltii* ‘Small flame’, ‘White angel’ two varieties of shoot tips and stem segments as explants, the effect of different disinfection time, different C source, and proportion of growth regulators on explants was researched. The results showed that the contamination rate was the lowest after explants sterilization 15 minutes, and the ‘Small flame’, ‘White angel’ stem segments contamination rate were 16.7% and 13.3%, respectively. The best buds induction medium of the ‘White angel’ was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the optimal subculture medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L. The better variety buds induced culture of ‘Small flame’ was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, and the best performance could be seen when the subculture medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L. Following in the sucrose medium was replaced with sugar better. Two varieties performed well when the rooting medium was 1/2MS+IBA 0.1 mg/L.

Keywords: textured grass; stems; buds proliferation; tissue culture