

网纹草离体组织培养研究进展

邹金美¹, 陆銮眉¹, 张惠秀²

(1. 闽南师范大学生物学院, 漳州 363000; 2. 福建省漳浦金蕙园艺有限公司 363200)

摘要: 从网纹草离体组织培养的意义、外植体处理、影响因素、以及在诱变育种中的作用等方面进行了综述, 分析了网纹草离体组织培养的优势、潜力和当前存在的问题及解决的方法, 并提出今后的研究方向。

关键词: 网纹草; 离体; 组织培养; 综述

中图分类号: Q943.1;S682.1+90.36

文献标识码: A

文章编号: 1006—2327—(2017) 04—0047—04

网纹草 *Fittonia verschoffeltii*, 为爵床科网纹草属多年生常绿草本植物, 原产于南美秘鲁、厄瓜多尔等地, 植株低矮, 呈匍匐状蔓生^[1]。网纹草植株小巧玲珑, 姿态轻盈; 叶背面上具银白色或红色的网状叶脉, 网状脉呈红色者称红网纹草, 呈银白色者叫白网纹草, 其叶脉清晰, 纹理匀称, 具有独特的观赏价值, 是深受人们喜爱的小型观叶植物。网纹草在园艺上应用可追溯到 19 世纪后期, *Fittonia albivenis* 和 *Fittonia gigantean* 几乎同时被引种到英国和比利时, 此后多个种陆续被引种到欧洲, 园艺学家选育了形态各异的栽培品种, 因此网纹草得以在欧美大量推广^[2,3]。我国在 20 世纪 70 年代才开始从国外引种网纹草, 90 年代小批量生产, 现在南方栽培较为广泛, 北方也开始室内栽培^[4]。由于网纹草在中国的栽培历史不长, 对其在组织培养方面的研究起步较晚, 本文对网纹草离体组织培养的研究情况进行了综述, 以为相关科研工作者提供参考。

1 网纹草离体组培的意义

网纹草通常采用扦插与分株的方法繁殖, 华南地区全年均能育苗, 北方冬季气温低较导致不易发根, 只适合在春夏两季育苗。由于常规繁殖一个芽繁殖一棵苗, 繁殖系数较低, 且易受季节和环境限制, 难以满足市场需求, 也可能影响母株观赏性。而利用组培技术能快速繁殖种苗, 可在短期内获得大量整齐一致的植株, 满足商品化生产。网纹草的组培快繁 20 世纪 80 年代就有开始, 其中陈志红 (1987)^[5]对白网纹草的试管苗进行了诱导, 之后也有不同的科研人员对网纹草开展了研究 (如陈超 2003^[6]), 但其技术体系还不够成熟, 相关的研究还在不断探索中。此外, 组培技术结合诱变育种可以创新种质, 而网纹草有关这方面的研究还极少, 有必要将两者结合研究, 为网纹草的种质创新提供新途径。

2 网纹草离体培养外植体的选择和处理

2.1 外植体的选择

植物的苗龄、取样时期和取样部位都可能影响其组培快繁的效果。陈志红等 (1987)^[5]曾取成年的网纹草叶片沿中脉纵切后, 进行离体培养, 诱导率偏低约 10%; 潘杰等 (2005)^[7]和徐洁兰 (2007)^[8]将茎尖周围幼叶剥去, 切取长度 0.1 cm 的茎尖进行培养; 冯林剑 (2006)^[4]在白网纹草离体培养时, 取用当年新生的幼嫩枝条作为外植体, 并剪成 1 cm 左右的单芽茎段进行启动培养; 而李思颖 (2013)^[9]则将顶端的茎尖和带有 2 片叶子及一小部分茎的茎段分开接种在不同组合的培养基中, 茎尖 (出芽率 66.7%) 和茎段 (85.7%) 一周出芽率都相对较高。由此就目前而言, 网纹草离体培养外植体的选择由最初的叶片发展到取用茎段和茎尖进行培养, 诱导效率明显升高, 而对一株植物而言, 茎段的数量远比茎

基金项目: 福建省科技计划引导项目: 新优地被植物的筛选应用及其 SCAR 分子标记技术 (2014N0028) 资助;

漳州市科技局项目: 新优网纹草的选育和标准化盆栽技术研究 (ZZ2016ZD31)。

作者简介: 邹金美 (1972-), 闽南师范大学生物学院, 副教授。

尖多, 结合考虑外植体的来源情况, 幼嫩的茎段更适合作为网纹草离体组培的外植体首选类型。

2.2 外植体的灭菌处理

植物组织培养是否能够成功, 与其外植体的消毒灭菌处理紧密相关, 是组培诱导再生植株关键的第一步。尤其是对网纹草而言, 还要特别注意是否有消毒液的残留问题, 因为网纹草茎叶表面密被绒毛。

潘杰等(2005)^[7]先用 70%酒精溶液浸泡白网纹草 30 s 后, 用 0.1%升汞溶液浸泡 6—8 min, 然后再用 0.05%升汞溶液浸泡 4 min, 处理后的茎尖污染率较低为 20%。梁明勤等(2007)^[10]研究了土霉素对网纹草组织培养污染菌的抑菌作用, 结果表明, 添加 20~30 mg/L 的土霉素, 污染菌至少降低 25%, 可见其对杂菌的生长有一定的抑制作用, 而成活率提高 10%以上。徐洁兰(2007)^[8]红网纹草的组培快繁研究中认为以 0.05%升汞溶液+适量吐温-80 消毒 8 min, 再用无菌水彻底冲洗 8 次的效果最好, 材料没有发生污染, 而且成活率达到了 91.8%。范诸平等(2015)^[11]对红网纹草组培外植体消毒方法进行了研究, 结果显示适合红网纹草叶片外植体的次氯酸钠和升汞浓度分别为 2%和 0.1%; 在正交试验中, 茎段与叶片污染率相同, 均低于顶芽, 最佳的消毒方法是将茎段外植体在 2%的次氯酸钠中消毒 5 min, 再在 0.1%的升汞中消毒 5 min, 污染率和死亡率最低为 0, 存活率最高达 100%, 是适宜红网纹草的最佳消毒灭菌方式。

3 影响网纹草组织培养的因素

3.1 生长激素及浓度对网纹草组培不定芽诱导的影响

在植物的组织培养中, 通常会添加生长激素类物质并配以不同的浓度组合, 诱导促进植物组织发生愈伤组织、不定芽或不定根。潘杰等(2005)^[7]和陈超等(2003)^[6]对白脉网纹草进行了组培快繁, 结果表明细胞分裂素和生长素以一定配比加入培养基中, 其不定芽的诱导率显著高于单独使用细胞分裂素, 筛选出的激素组合是: 6-BA 0.1 mg.L⁻¹ + IBA 0.1 mg.L⁻¹。徐洁兰(2007)^[8]和杨承勇等(2000)^[12]分别对红网纹草和白网纹草进行了组培快繁, 结果表明 MS + 0.5 mg.L⁻¹ 6-BA + 0.05 mg.L⁻¹NAA 是红网纹草理想的丛芽增殖培养基, 白网纹草在 MS + BA 0.5 mg.L⁻¹ + NAA 0.1 mg.L⁻¹ 培养基上可产生大量丛生芽, 这充分说明在一定浓度范围内, 细胞分裂素的浓度高于生长素的浓度时, 有利于网纹草丛生不定芽的发生。

3.2 生长激素及浓度对网纹草丛生芽增殖的影响

植物组织培养获得不定芽后, 转接到丛生芽增殖培养基中, 也要求添加一定的生长激素类物质并配以一定的浓度组合, 才能有良好的增殖效果。杨承勇等(2000)^[12]在诱导网纹草丛生不定芽增殖时发现, 少量 NAA 可促进丛生芽的增殖, 超过一定量后继续增加 NAA 的浓度反而不利于其丛生芽的增殖, 其结果是在 MS + 6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.1 mg.L⁻¹ 的培养基上, 丛生芽的增殖效果最佳, 增殖系数达到 5.6。徐洁兰(2007)^[8]在红网纹草增殖培养中, 当固定 NAA 浓度为 0.2 mg.L⁻¹ 时, 设不同的 6-BA 浓度时, 增殖系数变化不大, 为 1~1.3; 而当 6-BA 浓度为 0.5 mg.L⁻¹, 设定 NAA 的浓度梯度时发现, 不定芽分化明显, 当 NAA 浓度为 0.05 mg.L⁻¹ 时, 增殖效果最好, 繁殖系数高达 6.8。由此可见, 红网纹草不定芽的增殖培养中加入少量的 NAA, 有促进的作用, 但 NAA 用量过高则反而抑制其增殖率, 这与杨承勇的研究结果基本一致。潘杰等(2005)^[7]在对网纹草继代增殖培养时, 认为培养基 MS + 6-BA 0.1 mg.L⁻¹ + IBA 0.1 mg.L⁻¹ 诱导丛生芽增殖效果最好, 形成的幼苗健壮; 而增加 NAA 时, 幼苗生长较高, 但丛生芽增殖效果不明显, 部分丛生苗有顶端优势现象。冯林剑等(2006)^[4]培养基 MS + 6-BA 0.1 mg.L⁻¹ + IBA 0.1mg.L⁻¹ 的芽平均增值数为 3.5, 且生长粗壮, 叶色浓绿, 为最佳培养基, 同时认为添加一定浓度的 IBA 对白网纹草增值效果优于 NAA, 这与红网纹草的丛生芽增殖略有不同, 不同的原因有待进一步研究探讨。

3.3 生长激素及浓度对网纹草不定芽生根的影响

植物组培中添加生长素与细胞分裂素有一定的规律,一般是两者比值小于 1 有利于诱导不定芽,比值大于 1 更有利于生根,单独使用生长素也可以促进不定芽生根。杨承勇等(2000)^[12]发现适量添加 NAA 可促进白网纹草幼苗生根, NAA 在 0.1~0.01 mg.L⁻¹ 的浓度范围内,对生根的促进效果相近,以 0.1 mg.L⁻¹ 略好,如再增加 NAA 的浓度,则对生根的促进效果反而减弱,且明显抑制根的伸长;还发现降低 MS 浓度不利于幼芽的长高,但有效地促进了根数的增加和根的生长。陈超等(2003)^[6]在白网纹草的生根诱导中,采用 1/2MS + NAA 0.1 mg.L⁻¹,蔗糖也减半为 15 g.L⁻¹,开始长出不定根,生根率高达 100%。刘庆等(2004)^[13]对白网纹草的组培快繁进行了研究,结果表明 NAA 浓度在 0.1~0.01 mg.L⁻¹ 时不定根的效果好,长势健壮整齐,最利于白网纹草组培苗诱导不定根的培养基是 1/4MS,不定根诱导率最高达 93.3%。冯林剑等(2006)^[4]在 1/2MS 培养基中添加 NAA 0.2 mg.L⁻¹,不定根诱导率达 97.5%,生根效果也最好,将该培养基中的蔗糖换成白砂糖则对白网纹草生根的影响不大。综上所述,二分之一或四分之一的 MS 作为基本培养基诱导不定根,说明低无机盐浓度有利于网纹草组培苗根的产生和生长,因此网纹草生根诱导可以考虑适当降低培养基无机盐浓度。

3.4 光照对网纹草组培的影响

对于组织培养实验,培养基种类、添加的激素种类及浓度组合等始终是研究重点,但试验同时还受光照时间、光照强度、光质和培养温度等客观因素影响。李谦盛(2012)^[14]对 12 个网纹草品种的光合光响应曲线进行了报道,为网纹草组培光强的设定提供了一定的理论基础。但网纹草组培过程中的光效应研究得极少,仅有蒋如敏等(1988)^[15]对白脉网纹草茎段培养中的光因子效益进行了研究,利用不同的光质对白网纹草无菌组培苗进行了处理,通过观测比较组培苗生长的生物重量、侧芽数和叶片数的情况,结果发现红光的诱导效应虽然优于黑暗处理,但不如白光的效应强;并证实了 652 nm 波峰的红光对白网纹草茎段离体培养有抑制作用。试验没有对除红光以外的其他波段的彩色光进行研究,因此还有必要对其它的光质对网纹草组培苗的影响进行进一步的研究,以便探明适合于白脉网纹草离体培养诱导成苗的有利光源。

4 组培在网纹草诱变育种中的应用

组织培养过程中由于添加生长激素类物质,成为一种诱因,从而导致一定的突变发生,而如果结合诱变育种,即在培养基中添加一定种类及一定浓度的化学诱变剂,则可以较大程度的提高诱变率。陈超等(2003)^[6]对白网纹草的化学诱变与快速繁殖进行了研究,在培养基中加入化学诱变剂 NaN₃,处理浓度 1 mmol.L⁻¹ 对白网纹草试管苗进行诱变处理,结果发现经过诱变处理的网纹草中出现 0.59% 的大叶变异株,诱变率较低,诱变株成熟叶片叶面积比原品种增加 5 倍以上,且具茎软下垂的特点,而且诱变获得的新品系能够稳定遗传。王燕等(2015)^[16]在组培增殖方式对网纹草嵌合性状稳定性的影响实验中,以周缘嵌合体网纹草为试验材料,对不同增殖方式下组培苗嵌合性状的稳定性进行了比较分析,发现以茎段诱导腋芽增殖的网纹草的稳定性高,以丛生芽增殖时网纹草的嵌合性状发生了变异,变异率达到 21.32%;通过叶片组织解剖学观察结果表明,母本嵌合体茎尖分生组织中红和绿 2 种细胞谱系的细胞层排布在丛生不定芽再生过程中发生了改变,这很可能是导致网纹草新类型嵌合体产生的原因,这为新类型网纹草的诱变培育和种质创新提供了新方法和新思路。

5 存在问题与前景展望

5.1 外植体材料有待拓宽

到目前为止,大部分科研人员在开展网纹草的组培研究中,采用的外植体一般是茎段和顶芽,极少有其它的外植体来源,叶片仅有一两篇有涉及,虽然朱张生(2014)^[17]认为用网纹草的叶片为外植体做

组培较难诱导丛生苗,但没有对网纹草叶片和其它的外植体进行详尽的比较研究,而未见有其它外植体组培再生体系建立报道,因此尚不能排除有比茎段和茎尖更好的外植体来源。此外科研人员在选择材料来源时,经常以白网纹草为试验材料,而较少以红网纹草为试验材料,而其实红网纹草比白网纹草有更强的抗逆性,因此在网纹草组培中,很有必要对外植体来源开展进一步研究,拓宽材料范围,提高组培繁殖系数,建立系统的网纹草组织培养再生体系。

5.2 网纹草组培结合诱变育种研究有待深入

网纹草具银白色或红色的网状脉,具有很高的观赏价值,叶色叶型多样,利用组培结合诱变育种很有可能获得不同叶型或叶色的新类型。迄今为止,只有陈超等(2003)^[6]和王燕等(2015)^[16]对网纹草组培结合诱变有初步的研究,但仅从继代培养中进行初步的诱变处理和组培增殖方式进行了探讨,研究还不够深入系统,因此有必要将网纹草的组培技术和诱变育种结合研究,进一步探讨合适的激素和诱变剂的种类及浓度之间的关系,找到适合进行网纹草诱变育种的培养基组合和诱变条件,以及如何快速鉴别选择以获得遗传上的诱发突变体等,从而快速将该技术直接应用于遗传和育种实践中,加速网纹草的种质创新进程,具有极高的研究价值和实践意义。

参考文献

- [1]杨玉想.室内珍品网纹草的栽培与应用[J].河北林业科技,2010,(6):90-91.
- [2]Brummitt R K. Proposal(477) to Conserve the Name 8069 *Firronia Coemans* over *Adelaster Lindley* ex Veitch(Acanthaceae)[J].Taxon,1978,(27):307-309.
- [3]Brummitt R K.*Firronia Adelaster*[J].Botanical Magazine,1980,(182):156-168.
- [4]冯林剑,梁明勤,申顺先.白网纹草组织培养快繁研究[J].河南科技学院学报(自然科学版),2006,34(2):36-38.
- [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):37-41.
- [6]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.
- [7]潘杰,吕俊英,苗红梅.白网纹草丛生芽诱导技术研究[J].信阳农业高等专科学校学报,2005,15(2):69-70.
- [8]徐洁兰.红网纹草的组培快繁研究[J].安徽农业科学,2007,35(13):3846,3897.
- [9]李思颖.探究不同浓度激素对白网纹草组培增殖的影响[J].中学生物学,2013,29(11):44-45.
- [10]梁明勤,梁新安,申顺先,等.土霉素对白网纹草组织培养中污染菌的抑制作用[J].河南农业科学,2007,(4):96-98.
- [11]范诸平,王立雪,张彦妮.红网纹草组织培养外植体消毒方法研究[J].天津农业科学,2015,21(8):115-119.
- [12]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.
- [13]刘庆,张小玲,唐征,等.白网纹草的组培快繁研究[J].温州农业科技,2004,(3):68-71.
- [14]李谦盛,邓敏.12个网纹草品种的光合光响应曲线[J].上海农业学报,2012,28(1):128-130.
- [15]蒋如敏,倪德祥.白脉网纹草茎段培养中的红光效应[J].自然杂志,1988,11(6):477-488.
- [16]王燕,汪一婷,等.组培增殖方式对网纹草嵌合性状稳定性的影响[J].植物学报,2015,50(3):372-377.
- [17]朱张生.网纹草繁殖与管理[J].中国花卉园艺,2014,(18):27-28.