维普资讯 http://www.cqvip.com

经济林研究 2005,23 (4):48-50
Nonwood Forest Research

猪笼草组培快繁技术

吴雪松[1],李 江[2],钟青凤[1],吴雪枫[1]
(1.吉安市林业科学研究所,江西 吉安 343011;2.江西省林业科学院,江西 南昌 330032)

[摘 要] 猪笼草具节茎段经消毒处理后接种到MS+6-BA3.0 mg/L+NAA0.1 mg/L+Vc50 mg/L的培养基中,诱导出侧芽;切取侧芽带1~2个节的茎段接入1/8MS+6-BA0.8 mg/L+NAA0.1 mg/L培养基中,诱导愈伤组织和芽并继代培养,扩繁2.5~3.0倍。继代3~5次后取高度大于3 cm具2个节的芽,切顶芽在1/8MS+6-BA0.05 mg/L+IAA0.1 mg/L芽增殖培养基中培养。具节茎段则先在1/8MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L培养基中培养,待其抽出侧芽后再转入芽增殖培养基中培养,繁殖倍数可扩增1.5倍。将继代培养芽丛中具2个节的芽接到1/4MS+NAA0.2 mg/L+IAA0.5 mg/L+活性炭500 mg/L培养基中,30 d生根率可达75%;炼苗20 d左右移栽,成活率85%以上。

[关键词] 猪笼草;组织培养;培养基;分段增殖
[中图分类号] S688.9;S604+.3 [文献标识码] A [文章编号] 1003-8981(2005)04-0048-03

Tissue Culture and Fast Propagation in *Nepenthes Alata*

WU Xue-Song[1],LI Jiang[2],ZHONG Qing-Feng[1],WU Xue-Feng[1]
(1. Forestry Institute of Ji'an, Ji'an 343011, Jiangxi, China;
2. Forestry Academy of Jiangxi Province, Nanchang 330032, Jiangxi, China)

Abstract: The lateral buds could be inducted in the MS media added 3.0 mg/L6-BA, 0.1 mg/L NAA and 50 mg/L Vc, with sterilized and knurled stem sections of *Nepenthes Alata*. The stem sections with 1~2 burls from the lateral buds were cultured in fresh 1/8 MS media added 0.8 mg/L 6-BA and 0.1 mg/L NAA, and when the multiply rate (MR value) was up to 2.5~3.0 times, the process would be repeated, and so did it about 3~5 times. Then, the lateral buds more than 3 cm high with 2 burls were cultured in the 1/8MS media added 0.05 mg/L 6-BA, 0.01 mg/L IAA. The stem sections with burls were cultured in the 1/8 MS added 0.5 mg/L 6-BA and 0.1 mg/L NAA, till lateral buds geminated. The new lateral buds were cultured as the anterior buds. The MR value would be up to 1.5 times. After the buds with 2 burls were cultured in the 1/4MS added 0.2 mg/L NAA, 0.5 mg/L IAA and 500 mg/L active carbon, the rate of rootage could get to 70% after 30days, and the survival rate were more than 85% after the seedlings trained for 20 days were transplanted.

Key words: *Nepenthes Alata*; tissue Culture; medium, Subsection Multiplication

猪笼草 *Nepenthes Alata* 又名猪仔草,为猪笼草科猪笼草属植物,多年生草本。其瓶状叶笼着生于由叶中脉延长的卷须末端。笼口具红晕,口上有盖。笼面幼时黄绿色,长成时红褐色,笼长可达30 cm,其形态美丽诱人,是食虫植物中倍受青睐的新潮观赏品种[1]。

1789年英国从原产地引种猪笼草,主要在欧洲著名植物园内栽培观赏。19世纪末至20世纪初开始育种改良。20世纪中叶,育种、繁殖和生产开始形成产业化,并成为家庭观赏植物。国内在广东等地有野生种分布,很少开发利用[1]。其繁殖主要采用扦插和压条,繁殖速度慢,远不能满足人们美化生活的需要。通过组培技术,可使植物得以快速大量繁殖[2~8]。为使这一珍奇观赏食虫植物走入千家万户,笔者对其组培快繁技术进行了研究,获得了大量组培生根苗,并已进入产业化生产阶段。

[收稿日期] 2005-07-11
[作者简介] 吴雪松(1972-)男,江苏武进人,助理工程师,主要从事花卉苗木组织培养工作。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 试验材料和方法

取国外2年生猪笼草植株茎段,用自来水洗净叶片着生处泥沙,再冲洗30 min以上。以70%的酒精浸润0.5 min,无菌水冲洗2~3次。再用20%的次氯酸钠消毒12~15min,无菌水冲洗2~3次。然后用0.1%的升汞消毒8~12min,无菌水冲洗3~4次,接种至MS+6-BA3.0 mg/L+IAA1 mg/L+Vc50 mg/L的培养基中。20 d后侧芽开始萌动,50~60 d侧芽长约3 cm,切取侧芽带1~2个节的茎段作外植体接种到培养基中。

愈伤组织和芽诱导培养基及增殖培养基均采用1/8MS培养基,生根培养基为1/8MS或1/4MS培养基。以上培养基均含蔗糖3%,卡拉胶0.75%,pH值6.0,培养温度26~28℃,光照10~12 h/d,光强1 000~1 500 lx。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织和芽的诱导

将备好的无菌外植体茎段以1~2个节为1个增殖单位接种到诱导培养基中。20 d茎段基部出现愈伤组织,28 d叶腋出现腋芽,35 d后形成带愈伤块的芽丛。试验结果见表1。

表1 愈伤组织和芽诱导试验结果

激素配比/(mg·L⁻¹)	处理总数	出芽数	出芽率/%	形成愈伤团块数	比率/%
CK	60	3	5	0	0
KT1.0+NAA0.1	60	36	60	42	70
2-ip1.0	60	27	45	3	5
6-BA0.3+NAA0.1	60	45	75	48	80
6-BA0.8+NAA0.1	60	60	100	51	85
6-BA0.8+NAA0.3	60	60	100	60	100

从表1可知:猪笼草对6-BA比KT和2-ip更敏感,表中KT和2-ip所使用浓度虽较6-BA高,但其出芽率却更低;6-BA浓度以0.8 mg/L为好;适当添加NAA有利其形成愈伤组织,但浓度不可过高,否则在继代培养时易出现变异(见表3)。

2.2 芽的增殖

将初代培养形成的小芽丛分为2~3个芽团,转入增殖培养基Ⅰ中,各处理见表2。以30 d为1周期继代1次,每个芽团继代1次可产生2~3个子芽。但是,6-BA的浓度越高,变异机率越高。变异表现为:芽簇生且较少明显不定芽抽出或者所抽不定芽叶形狭尖,严重者叶笼笼盖缩小甚至无盖,或者出现多个顶芽且都扭曲变形,导致植株停止高生长。因此,为了增加其扩繁倍数而又减少变异,试验采取将较大不定芽分段增殖的方法。在继代3~5次后,分别进行如下处理:(1)团块稳定在增殖培养基Ⅰ中培养,并将扩繁倍数控制在1.5~2.0倍;(2)取高度大于3 cm具2个节的芽,切顶芽在增殖培养基Ⅰ中培养,具节茎段在增殖培养基Ⅱ(见表3)中培养,待其抽出侧芽后再转入增殖培养基Ⅰ中,使其维持旺盛的高生长,长成具节芽后再分段生产,扩繁倍数可扩增1.5倍,如此循环。据观察:(1)中愈伤组织所抽之芽在续代10~12次后,芽明显瘦弱且叶片狭尖,出现变异症状。而(2)中所抽之芽继代16~18次后芽依然粗壮且叶片正常,变异机率明显降低。

表2 芽在增殖培养基Ⅰ各处理中的生长表现

激素配比/(mg·L⁻¹)	接种数/团	总芽数/个	有效芽/个	变异芽/个	增殖系数	芽丛生长表现
CK	50	112	112	0	1.12	有明显不定芽抽出,高生长明显,叶片正常,但芽数较少。
6-BA0.01+IAA0.01	50	157	157	0	1.57	有明显不定芽抽出,高生长明显,叶片正常,芽数较多且较粗壮。
6-BA0.05+IAA0.01	50	186	186	0	1.86	有明显不定芽抽出,高生长明显,叶片正常,芽数多且较粗壮。
6-BA0.1+IAA0.01	50	235	164	71	2.35	芽数多且小,呈簇生状,所抽芽较多叶片呈显狭尖,芽较瘦弱,芽形差。
6-BA0.5+IAA0.01	50	287	132	155	2.87	芽数多且小呈簇生状,所抽芽叶片多呈狭尖,芽较瘦弱且芽质量差,芽形差。
KT0.1+IAA0.01	50	177	155	22	1.77	有明显不定芽抽出,高生长明显,少量叶片略显狭尖,芽数较多且较粗壮。
2-ip0.1+IAA0.01	50	143	143	0	1.43	有明显不定芽抽出,高生长明显,叶片正常,但芽数较少。

由表2可知芽增殖培养以1/8MS+6-BA0.05 mg/L+IAA0.01 mg/L较好,增殖系数较高且芽表现正常。

维普资讯 http://www.cqvip.com

由表3可知茎段抽芽培养以1/8MS+6-BA0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L较好，所抽侧芽多且对继代培养没有影响。

表3 带1个节之茎段在增殖培养基Ⅰ各处理中的抽芽表现

6-BA /(mg·L⁻¹)	NAA /(mg·L⁻¹)	接种数/个	抽侧芽茎段/个	比率/%	抽出时间及芽的生长表现
0	0	50	8	16	35 d后有侧芽抽出，侧芽转入增殖培养基Ⅰ后表现正常，但抽芽太少。
0.1	0.1	50	21	42	25～28 d后有侧芽抽出，侧芽转入增殖培养基Ⅰ后表现正常，但抽芽较少。
0.5	0.1	50	43	86	20～22 d后有侧芽抽出，侧芽转入增殖培养基Ⅰ后表现正常，且抽芽较多。
1.0	0.1	50	50	100	20～22 d后有侧芽抽出，侧芽转入增殖培养基Ⅰ后，叶片多呈狭尖。
0.5	0.3	50	46	92	20～22 d后有侧芽抽出，但侧芽转入增殖培养基Ⅰ后，有少量叶片呈狭尖。

2.3 根的诱导

将经过继代培养的芽，挑选3 cm以上具2个节的粗壮单个顶芽，接入培养基中培养，15～18 d后芽开始生根，30 d后有70%的芽生出2～3条长0.5 cm左右的根。一般来讲，降低MS培养基中元素含量有利生根，但笔者曾多次试验使用1/8MS+NAA0.2 mg/L+IAA0.5 mg/L+活性炭500 mg/L，其生根效果均比1/4MS培养基差。具体不同培养基生根情况见表4。

表4 不同培养基生根情况

培养基	NAA /(mg·L⁻¹)	IAA /(mg·L⁻¹)	活性炭 /(mg·L⁻¹)	处理数/株	生根比率/%	生根时间和情况
1/8MS	0.2	0.5	500	100	35～40	25 d后根开始长出，40 d后生根比率为40%左右。有1～2条长0.5 cm左右的根。
1/4MS	0.2	0.5	500	100	70～75	15～18 d后芽开始生根，30 d后有70%的芽生出2～3条长0.5 cm左右的根。
1/4MS	0.5	0.5	500	100	70～75	15～18 d后芽开始生根，30 d后有70%的芽生出2～3条长0.5 cm左右的根。切口处膨大，部分有愈伤组织，不利移栽。

2.4 移植

将已生根的小苗放入荫棚内炼苗18～25 d，使其充分木质化，叶色浓绿，将小苗取出，洗去培养基移栽入1/3椰糠+2/3泥炭土的基质中，注意保温保湿，小苗很快正常生长，成活率85%以上。

4 结论

(1)猪笼草的组织培养，其培养基的选择：初代培养以1/8MS+6-BA0.8 mg/L+NAA0.1 mg/L为好；继代培养以1/8MS+6-BA0.05 mg/L+IAA0.01 mg/L和1/8MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L为好。生根培养基则以1/4MS+NAA0.2 mg/L+IAA0.5 mg/l+活性炭500 mg/L为好。

(2)在猪笼草继代培养中，采取顶芽和茎段分段增殖、茎段增殖转换培养基的方法，是扩大繁殖倍数，降低变异机率，提高苗木质量，形成大批量生产能力的有效途径。

(3)一般来讲，降低MS培养基中各元素的含量有利生根。但在猪笼草组培中，1/8MS不论在生根时间，还是生根率方面与1/4MS相比均相差甚远，其原因尚待进一步探讨。

[参 考 文 献]

[1] 王意成.新潮花卉养护和欣赏[M].南京：江苏科学技术出版社，2002.
[2] 陈正华.木本植物组织培养及其应用[M].北京：高等教育出版社，1986.
[3] 谭文澄，戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京：中国林业出版社，1991.
[4] 张庆华，黄文奎，蔡丽萍，等.黑荆树组织培养繁殖技术的研究[J].经济林研究，1993，11(1)：33－36.
[5] 康 明，张树婷.香椿组织培养与快速繁殖的研究[J].经济林研究，1993，11(2)：69－72.
[6] 周国英.猕猴桃的几种组织培养快繁技术[J].经济林研究，1997，15(1)：45－46.
[7] 周丽华，许冲勇，曾 雷，等.紫玉兰组织培养繁殖研究[J].经济林研究，2002，20(4)：37－38.
[8] 宋锋惠，李 康，史彦江.阿月浑子组织培养及快速繁殖技术研究[J].经济林研究，2002，20(4)：45－47.