

## 观赏凤梨高效离体快繁影响因素的研究

龚明霞<sup>1</sup>, 张志胜<sup>2</sup>, 黎杨辉<sup>3</sup>, 方锋学<sup>4</sup>, 何铁光<sup>1</sup>, 董文斌<sup>1</sup>

(1. 广西农科院 蔬菜研究所, 南宁 530007; 2. 华南农业大学 广东省植物分子育种重点实验室, 广州 510642; 3. 广州花卉研究中心, 广州 510360; 4. 广西甘蔗研究所, 南宁 530007)

**摘要:** 以侧芽为外植体材料, 对其组织培养的各个阶段进行了研究。结果表明: 品种对外植体的污染率、褐变率、芽诱导率及丛生芽增殖倍数均有显著影响; 外源激素的种类和浓度在芽诱导分化、增殖、生根等各个阶段都是主要的影响因素; 外植体在  $1/2MS+NAA 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+6\text{-BA} 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  上, 48 d 后芽开始分化, 诱导率为 40%, 平均芽分化数为 6 个, 诱导分化效果最好; 芽增殖培养阶段, 若培养基中仅含 6-BA, 且浓度在  $0\sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间, 芽增殖倍数随其浓度增大而增大; 若培养基中仅含 NAA, 且其浓度为  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 增殖倍数最大; 培养基中同时添加 6-BA 和 NAA, 比单独添加 6-BA 或 NAA 时, 芽的增殖效果好, 且在  $6\text{-BA} 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MS 培养基上, *G. dissitiflora* 和 *G. 'Claret'* 增殖倍数最大, 分别为 5.24 和 3.84; 在任何相同的培养基上, *G. dissitiflora* 的增殖倍数显著高于 *G. 'Claret'*; 小苗在含有  $NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+IBA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的生根培养基上生长, 生根率可达 91.03%, 平均根数为 5.3 条/株, 生根效果较好。

**关键词:** 观赏凤梨; 离体快繁; 影响因素

**中图分类号:** Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)05-0684-06

## Influencing factors of efficient and rapid propagation *in vitro* of Bromeliads

GONG Ming-Xia<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-Sheng<sup>2</sup>, LI Yang-Hui<sup>3</sup>,  
FANG Feng-Xue<sup>4</sup>, HE Tie-Guang<sup>1</sup>, DONG Wen-Bin<sup>1</sup>

(1. Institute of Vegetable Research, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;  
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 3. Guangzhou Flower Research Center, Guangzhou 510360, China; 4. Guangxi Research Institute of Chemical Industry, Nanning 530001, China)

**Abstract:** This paper, every stage was studied by using lateral buds as explants. The results showed that the variety had remarkable influence on the contamination rate and the browning rate of explants, and the induction rate and the proliferation multiple of tufty buds. The variety and concentration of exogenous hormone were the major influencing factors in every stage such as the bud induction, proliferation and the root induction. In the bud induction stage, it got the best result of induction differentiation, which occurred after 48 days with 40% induction rate and average six buds per explant when they were cultured on  $1/2MS$  basal media supplemented with  $NAA 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $6\text{-BA} 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . In the bud proliferation stage, when the concentration of 6-BA solely supplemented in the media between  $0\sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  was higher, the proliferation multiple was higher. When the concentration of NAA solely supplemented in the media was  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , the proliferation multiple was the highest. It got better proliferation on the media sup-

收稿日期: 2010-11-29 修回日期: 2011-04-30

基金项目: 广东省科技攻关项目 2007B020801003; 广西农业科学院基本科研业务专项[200916(基)]; 广州市招标项目(GZCQ0702FG06054) [Supported by Key Science and Technology Program of Guangxi Province(2007B020801003); the Special Item of Basic Research of Guangxi Agriculture Academy of Agricultural Sciences 200916(basic); Bidding Program of Guangzhou City(GZCQ0702FG06054)]

作者简介: 龚明霞(1979-), 女, 湖北黄冈市人, 硕士, 主要从事组织培养、生物技术育种和栽培等研究, (E-mail)ff9903@126.com。

plemented with both 6-BA and NAA than that on the media supplemented with 6-BA or NAA solely. On MS media supplemented with  $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA and  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA, the proliferation multiple of *G. dissitiflora* and *G. 'Claret'* both got to the top, which was 5.24, 3.84 respectively. On any the same media, the proliferation multiple of *G. dissitiflora* was remarkable higher than that of *G. 'Claret'*. It was better to root when the plantlets grew on 1/2MS media containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA and  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA, and the rooting rate could reach 91.03%, and the average number of the roots was 5.3 piece per plant.

**Key words:** *Bromeliads*; rapid propagation *in vitro*; influencing factors

观赏凤梨是以叶或花作观赏用单子叶凤梨科 (Bromeliaceae) 植物的泛称, 多年生常绿草本。其株型优美, 叶片富有色彩, 花形奇特, 花序色泽艳丽, 是集观花、观叶和观果于一身、美化环境和净化空气于一体的时尚花卉, 观赏期长达数月乃至一年, 是我国年宵花市场主打盆栽花卉之一。目前市场上最受欢迎的是果子蔓属 (*Guzmania*) 和莺歌属凤梨 (*Vriesea*), 需求量特别大。但市场上销售的观赏凤梨中仅有少数是原生种, 大多数为杂交种或选育出来的品种, 不能使用播种法繁殖, 而扦插繁殖速度慢, 不利于规模化生产。在这种形势下进行观赏凤梨离体培养快速繁殖研究, 对我国工厂化生产观赏凤梨种苗以满足市场需求具有重要意义, 同时也是选育新种质、优良种质的推广和保存的一条有效途径。至今虽有少量关于果子蔓属凤梨的组织培养的研究报道 (郑淑萍等, 2005; 桂意云等, 2005), 但果子蔓属凤梨品种繁多, 已经建立起高效的离体快速繁殖体系的品种还不多。根据前人的研究结果, 可用作观赏凤梨离体快速繁殖外植体材料的主要有顶芽 (Arrabal 等, 2002)、侧芽 (Alves 等, 2001; 徐立等, 2000)、茎尖 (Pierik & Sprengels, 1991; 林思诚等, 2005)、叶片 (Vinterhalter & Vinterhatter, 1994)、实生苗 (Rech 等, 2005)、花柄 (Daquinta 等, 1998)。本研究以观赏性状好的果子蔓属种类为材料, 以侧芽为外植体, 系统地研究品种、外源激素等因素对丛生芽分化诱导、丛生芽增殖和芽苗生根的影响, 为优质的观赏凤梨种苗高效的规模化大生产积累资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

供试材料为 *G. 'Claret'*、*G. 'Luna'* 和 *G. dissitiflora*, 由广州花卉研究中心提供。

### 1.2 实验方法

1.2.1 芽的诱导 从观赏凤梨母株上切取 5 cm 以下的侧芽, 在洗洁精溶液中洗去芽体外表的泥土及

老化的组织, 在自来水下冲洗 15 min。去除外层叶片, 在自来水下冲洗 30 min 以上。放入超净工作台, 用 75% 酒精浸泡 30 s, 再用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒 10 min, 不时振荡。倒去升汞溶液后, 用无菌水冲洗 4~5 次。将消毒好的蘖芽短缩茎纵切成 2~4 块, 保证每个切块都含有茎尖组织。然后将切块放入无菌 0.1% PVP 水溶液中浸泡 30 min, 在无菌吸水纸上吸干水分, 接种到芽诱导培养基上, 每瓶接种 1 个切块。30 瓶为 1 个重复, 每个处理设 3 个重复。先在黑暗下培养 10~15 d, 再在散射光下培养, 光周期为光照  $8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ /黑暗  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 培养温度为  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 。按下列公式计算污染率、褐变率和诱导率。

污染率 (%) = (污染的外植体数/接种的外植体总数)  $\times 100\%$ ; 褐变率 (%) = (褐变的外植体数/接种的无污染的外植体总数)  $\times 100\%$ ; 诱导率 (%) = (诱导出芽的外植体数/接种的无污染的外植体总数)  $\times 100\%$ , 平均芽分化数 = 分化的总芽数/分化出芽的外植体总数。

1.2.2 芽的增殖 将从外植体诱导出的芽进行切割, 使之成为单芽, 在各种增殖培养基上培养, 每瓶接种 2~5 个芽, 30 个芽作为 1 个重复, 重复 3 次。设计 3 个实验, 分别研究培养中单独添加 6-BA、单独添加 NAA 以及同时添加 6-BA 和 NAA 对两个品种丛生芽增殖的影响。各实验的设计如下:

6-BA 浓度实验: 设 4 种浓度, 分别为 1、2、3、4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 以 0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  作对照。NAA 浓度实验: 设 5 种浓度, 分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。NAA 与 6-BA 配比实验: 设 5 种配比, 每种配方中 6-BA 浓度均为 3  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 浓度分别为 0、1、2、3、4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

以上所有培养基均以 MS 培养基作为基本培养基, 其余成分均为: 蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、卡拉粉 8  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、15% CW (椰子汁), pH 5.8。转接后置恒温箱  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  中培养, 光周期为光照  $8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ /黑暗  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 40 d 后统计增殖后的总芽数, 并计算增殖倍数。增殖倍数 = 增殖后丛生芽总数/接种的丛生芽总数。

1.2.3 芽苗生根 将芽进行切割,使之成为单株芽苗,接进不同的生根培养基中诱导生根,每瓶接种3~5个芽,30个芽作为1个重复,重复3次,并观察根的生长状况。置恒温箱25℃中培养,光周期为光照8h·d<sup>-1</sup>/黑暗16h·d<sup>-1</sup>,40d后统计生根率及生根数。

1.2.4 统计分析 统计分析以SPSS软件进行,平均数据以“平均数±标准误(S.E.)”表示,多重比较采用邓肯氏新复极差检验法(Duncan's Multiple Ranger Test,DMRT)。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱导芽分化的发生过程

观赏凤梨侧芽短缩茎切块接种到培养基上,经过一段时间的培养,切块上部包裹茎尖生长点的叶片开始伸长生长,且叶片颜色由嫩白色逐渐变成黄绿色至绿色,通常可看到外层叶片基部膨大,叶基颜色比叶片中上部稍浅,随后从叶基处形成数个小突起,并逐渐形成不定芽(图版I:A,E),或是直接从叶腋处长出芽(图版I:B)。

### 2.2 影响观赏凤梨芽分化诱导的因素

2.2.1 品种对外植体污染和褐变的影响 三个品种G. 'Claret'、G. 'Luna'和G. *dissitiflora*的侧芽短缩茎切块,在芽诱导培养基1/2MS+NAA0.5mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2mg·L<sup>-1</sup>上培养40d后,发生了不同程度的污染和褐变。从表1中可以看到,三个品种的短缩茎切块在相同的培养基上,污染率有显著的差异,G. *dissitiflora*的污染率最高,为42.37%;另一方面3个品种的褐变率差异也达到显著水平,G. *dissitiflora*的褐变率最高,为62.88%。这说明,在外植体初培养的过程中,品种对其污染和褐变的影响显著。

2.2.2 品种对芽分化诱导的影响 G. 'Claret'、G. 'Luna'、G. *dissitiflora*在培养基1/2MS+NAA0.5mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2mg·L<sup>-1</sup>上培养得到的无菌成活的外植体,转接到培养基1/2MS+NAA0.2mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2mg·L<sup>-1</sup>上继续诱导分化培养80d,40d转一次瓶。从表2看出,不同品种的外植体丛生芽诱导率有差异,G. 'Claret'的诱导率最高,达到40%;G. 'Luna'的诱导率最低,只有6.25%。这说明,品种对芽的诱导有影响,不同品种的芽诱导率不一样。

2.2.3 激素对芽分化诱导的影响 将G. 'Claret'侧芽外植体消毒后,接种到6-BA与NAA不同浓度组合的四种芽诱导培养基中培养120d,40d转一次瓶。从表3可知,培养基中同时添加6-BA和NAA与仅添加6-BA相比,芽诱导率升高。当NAA浓度为0.2mg·L<sup>-1</sup>或0.5mg·L<sup>-1</sup>时,芽分化的起始时间缩短,平均芽分化数增加,但当培养基中NAA浓度为1mg·L<sup>-1</sup>,平均芽分化数减少和芽分化的起始时间推迟。在培养基1/2MS+NAA0.2mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2mg·L<sup>-1</sup>上接种后48d分化出芽,而在培养基1/2MS+NAA1mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2mg·L<sup>-1</sup>上需要培养113d。因此,综合几个因素考虑,培养基1/2MS+NAA0.2mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2mg·L<sup>-1</sup>为G. 'Claret'侧芽外植体的诱导芽起始分化的最佳培养基。

### 2.3 影响观赏凤梨丛生芽增殖的因素

2.3.1 品种和6-BA对丛生芽增殖的影响 方差分析结果表明,品种对丛生芽增殖的影响极显著( $F=128.25, F_{0.01,1,20}=8.1$ ),6-BA对丛生芽增殖的影响极显著( $F=115.03, F_{0.01,4,20}=4.43$ ),品种和6-BA互作对丛生芽增殖的影响也极显著( $F=18.99, F_{0.01,4,20}=4.43$ )。从表4可知:G. *dissitiflora*的平均增殖倍数极显著地高于G. 'Claret'的平均增殖倍数,且6-BA浓度越高,丛生芽增殖倍数越大;当6-BA浓度为4mg·L<sup>-1</sup>时,G. *dissitiflora*增殖倍数达到最大,为3.82;当6-BA浓度为3mg·L<sup>-1</sup>时,G. 'Claret'增殖倍数达到最大,为3.24。

6-BA不仅影响丛生芽增殖速度,还影响增殖芽的质量。培养过程中发现,在高浓度6-BA的培养基上,G. *dissitiflora*单芽基部形成大量的不定芽,细小而密集,而G. 'Claret'分化出的丛生芽相对疏松,而在低浓度6-BA培养基上,两品种分化出的芽都较粗壮。在不含激素的培养基上,丛生芽不再大量分化,而主要进行伸长生长。

2.3.2 品种和NAA对丛生芽增殖的影响 G. *dissitiflora*和G. 'Claret'单芽在含不同浓度NAA的培养基中,芽可以伸长变壮,且能增殖,G. 'Claret'在NAA浓度为0.5mg·L<sup>-1</sup>和1mg·L<sup>-1</sup>的培养基中有较多的根生成。方差分析表明,NAA对丛生芽增殖的影响极显著( $F=6.95, F_{5,24,0.01}=3.9$ ),品种对丛生芽增殖的影响也极显著( $F=241.54, F_{0.01,1,24}=7.82$ ),但NAA和品种之间的互作对丛生芽增殖的影响不显著( $F=0.44, F_{0.05,5,24}=2.62$ )。从表5可知,当培养基中NAA浓度从0



图版 I A. 由茎基诱导出的不定芽; B. 由叶腋里诱导出的腋芽; C. 增殖中的丛生芽; D. 诱导苗生根; E. 由茎基诱导出的芽; F. 增殖中的丛生芽; G. 诱导苗生根(A-D 材料为 *G. 'Claret'*, E-G 材料为 *G. dissitiflora*)。

Plate I A. Variable buds induced by stem base; B. Axillary buds induced by axil; C. Tufted buds in proliferation; D. Plantlets induced by shooting; E. Buds induced by stem base; F. Tufted buds in proliferation; G. Plantlets induced by shooting(The material of A-D was *G. 'Claret'*, and that of E-G was *G. dissitiflora*)

表 1 品种对外植体污染和褐变的影响 \*

Table 1 Effect of variety on contamination and browning of explants

品种 Variety	污染率(%) Contamination rate	褐变率(%) Browning rate
<i>G. 'Claret'</i>	22.41±1.45b	27.86±1.49c
<i>G. 'Luna'</i>	37.12±1.49a	42.20±1.13b
<i>G. dissitiflora</i>	42.37±1.45a	62.88±1.49a

培养基: 1/2MS+NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2 mg·L<sup>-1</sup>+PVP0.4 g·L<sup>-1</sup>+AC1 g·L<sup>-1</sup>+15%CW+蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>+琼脂粉 8 g·L<sup>-1</sup>, pH5.8; 同列不同小写字母表示在 5% 水平上的差异。下同。

表 2 品种对芽分化诱导的影响

Table 2 Effect of variety on bud induction

品种 Variety	无菌外植体数 No. of germfree explants	分化芽的外植体数 No. of explants differentiating tufted bud	诱导率 Induction rate(%)
<i>G. 'Claret'</i>	50	20	40.00
<i>G. dissitiflora</i>	20	5	25.00
<i>G. 'Luna'</i>	32	2	6.25

培养基: 1/2MS+NAA0.2 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA2 mg·L<sup>-1</sup>+PVP0.4 g·L<sup>-1</sup>+AC1 g·L<sup>-1</sup>+15%CW+蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>+琼脂粉 8 g·L<sup>-1</sup>, pH5.8。

增大到 0.2 mg·L<sup>-1</sup> 时, 丛生芽增殖倍数显著增大; 如果继续提高 NAA 的浓度到 1 mg·L<sup>-1</sup>, 增殖倍数

显著降低, 对丛生芽的增殖有明显的抑制作用。这样的作用趋势证明了一般低浓度的 NAA 会引起丛生芽细胞分裂, 有利于丛生芽的增殖, 较高浓度会抑制丛生芽的增殖, 但促进根的形成。另外, *G. dissitiflora* 丛生芽的平均增殖倍数极显著地高于 *G. 'Claret'* 丛生芽的平均增殖倍数。

表 3 激素对 *G. 'Claret'* 芽分化诱导的影响 \*

Table 3 Effect of hormone on bud induction of *G. 'Claret'*

激素种类和浓度 Species and concentration of hormone		芽分化的起始时间(d) Initial time of bud differentiation	芽诱导率(%) Bud induction rate	平均芽分化数(个) Average number of bud differentiation (piece)
6-BA 浓度 (mg·L <sup>-1</sup> )	NAA 浓度 (mg·L <sup>-1</sup> )			
2	0	81	22.22	4
2	0.2	48	44	6
2	0.5	65	35	5
2	1	113	33.33	1

培养基其它成分: 1/2MS+PVP0.4 g·L<sup>-1</sup>+AC1 g·L<sup>-1</sup>+15%CW+蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>+琼脂粉 8 g·L<sup>-1</sup>, pH5.8。

### 2.3.3 品种和 NAA/6-BA 值对丛生芽增殖的影响

*G. 'Claret'* 和 *G. dissitiflora* 单芽在同时含有 6-BA 和 NAA 的培养基上增殖(图版 I:C,F), 方差分

析表明,当6-BA浓度为 $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,NAA在 $0\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,NAA/6-BA值对丛生芽增殖的影响极显著( $F=39.05, F_{0.01,5,24}=3.9$ );品种对丛生芽增殖的影响极显著( $F=307.90, F_{0.01,1,24}=7.82$ );NAA/6-BA值和品种之间的互作对丛生芽的增殖影响也极显著( $F=19.83, F_{0.01,5,24}=3.9$ )。从表6可以看出,当NAA/6-BA值 $\leq 1/6$ 时,丛生芽的增殖倍数随着NAA/6-BA值的增大而增大,且6-BA和NAA配合使用比单独使用6-BA或NAA,对促进丛生芽增殖的效果明显好;*G. dissitiflora*丛生芽的平均增殖倍数极显著地大于*G. 'Claret'*丛生芽的平均增殖倍数;当NAA/6-BA值等于 $1/6$ 时,*G. dissitiflora*和*G. 'Claret'*丛生芽的增殖倍数均达最大,分别为5.24和3.84。可见,培养基中含 $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA和 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA时对丛生芽的增殖效果最好。

#### 2.4 影响芽苗生根的因素

将高2 cm以上小苗进行生根培养(图版I:D,G)。方差分析表明,培养基对芽苗生根率的影响不显著( $F=2.36, F_{0.05,2,6}=5.14$ ),对平均根数的影响显著( $F=17.71, F_{0.05,2,6}=5.14$ )。从表7看到,*G. dissitiflora*小苗在培养基 $1/2\text{MS}+\text{NAA}0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1/2\text{MS}+\text{NAA}0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{IBA}0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上平均根数显著大于在 $1/2\text{MS}$ 不添加任何激素的培养基上的平均根数,而在培养基 $1/2\text{MS}+\text{NAA}0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{IBA}0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上的平均根数

为5.26条/株,为最大,且平均生根率也高,为91.03%,此培养基为最佳生根培养基。

表4 品种和6-BA对丛生芽增殖的影响

Table 4 Effect of variety and 6-BA on bud proliferation

6-BA 浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) Concentration of 6-BA	<i>G. dissitiflora</i> 增殖倍数 Proliferation multiple of <i>G.</i> <i>dissitiflora</i>	<i>G. 'Claret'</i> 增殖倍数 Proliferation multiple of <i>G. 'Claret'</i>	平均值 Average value
0	$2.37\pm 0.03\text{ e}$	$1.57\pm 0.06\text{ g}$	1.97 e
1	$2.87\pm 0.06\text{ cd}$	$2.14\pm 0.07\text{ f}$	2.51 d
2	$3.07\pm 0.04\text{ bc}$	$2.66\pm 0.10\text{ d}$	2.87 c
3	$3.14\pm 0.05\text{ b}$	$3.240.08\text{ b}$	3.19 b
4	$3.82\pm 0.07\text{ a}$	$3.01\pm 0.13\text{ bc}$	3.42 a
平均值 Average value	3.05 a	2.53 b	2.79

培养基其它成分:MS+15% CW+蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +琼脂粉 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,pH5.8。下同。

表5 品种和NAA对丛生芽增殖的影响\*

Table 5 Effect of variety and NAA on bud proliferation

NAA 浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) Concentration of NAA	<i>G. dissitiflora</i> 增殖倍数 Proliferation multiple of <i>G. dissitiflora</i>	<i>G. 'Claret'</i> 增殖倍数 Proliferation multiple of <i>G. 'Claret'</i>	平均值 Average value
0	$2.38\pm 0.05\text{ bc}$	$1.58\pm 0.10\text{ de}$	1.98 b
0.05	$2.36\pm 0.10\text{ bc}$	$1.60\pm 0.08\text{ de}$	1.98 b
0.1	$2.46\pm 0.06\text{ b}$	$1.58\pm 0.12\text{ de}$	2.02 b
0.2	$2.74\pm 0.09\text{ a}$	$1.84\pm 0.08\text{ d}$	2.29 a
0.5	$2.31\pm 0.10\text{ bc}$	$1.61\pm 0.04\text{ de}$	1.96 bc
1	$2.14\pm 0.08\text{ c}$	$1.43\pm 0.12\text{ e}$	1.79 c
平均值 Average value	2.40 a	1.61 b	2.00

表6 品种和NAA/6-BA值对丛生芽增殖的影响

Table 6 Effect of variety and NAA/6-BA value on bud proliferation

激素种类和浓度 Species and concentration of hormone			<i>G. dissitiflora</i> 增殖倍数 Proliferation multiple of <i>G. dissitiflora</i>	<i>G. 'Claret'</i> 增殖倍数 Proliferation multiple of <i>G. 'Claret'</i>	平均值 Average value
6-BA 浓度	NAA 浓度 Concentration of NAA	NAA/6-BA 值			
3	0	0	$3.14\pm 0.05\text{ e}$	$3.24\pm 0.08\text{ e}$	3.19 e
3	0.05	1/60	$4.17\pm 0.09\text{ c}$	$3.22\pm 0.07\text{ e}$	3.70 d
3	0.1	1/30	$4.28\pm 0.09\text{ bc}$	$3.27\pm 0.03\text{ e}$	3.78 cd
3	0.2	1/15	$4.57\pm 0.10\text{ b}$	$3.41\pm 0.22\text{ e}$	3.99 bc
3	0.5	1/6	$5.24\pm 0.13\text{ a}$	$3.84\pm 0.08\text{ d}$	4.54 a
3	1	1/3	$5.04\pm 0.05\text{ a}$	$3.21\pm 0.11\text{ e}$	4.13 b
平均值 Average value			4.41 a	3.37 b	3.89

#### 2.5 移栽

将已生根的单株无菌苗置室外遮阳炼苗3~5 d后,再揭开培养瓶盖炼苗3 d,最后从培养瓶中取出,在自来水下洗净苗根部培养基后,移栽到育苗盘中。育苗基质为80%腐殖质+20%珍珠岩,移栽后立即浇灌无菌的 $1/2\text{MS}$ 营养液,并加盖薄膜小拱棚,随

后逐渐揭棚放风降低湿度,3周后完全揭棚,成活率可达90%以上。

### 3 讨论

在观赏凤梨的侧芽外植体初培养过程中,常常

表 7 培养基对 *G. dissitiflora* 芽苗生根的影响  
Table 7 Effect of media on shoot induction  
of *G. dissitiflora*

激素种类和浓度 Species and concentration of hormone		生根率 Rooting rate (%)	平均根数(条/株) Average number of root (piece per plant)
NAA 浓度 (mg · L <sup>-1</sup> )	IBA 浓度 (mg · L <sup>-1</sup> )		
0	0	78.89±8.68 a	2.22±0.54 b
0.5	0	94.44±2.94 a	4.65±0.12 a
0.5	0.5	91.03±1.03 a	5.26±0.37 a

培养基其它成分:1/2MS+蔗糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂粉 8 g · L<sup>-1</sup>, pH5.8。

会发生较严重的褐化现象,且与品种特性有很大的关系,不同的品种褐变程度不一样,本实验中在培养基中添加了 0.4 g · L<sup>-1</sup>PVP 和 1 g · L<sup>-1</sup>AC,褐变严重的仍会高达 62.88%,观赏凤梨其它的防褐方法有待进一步研究。

外源激素的种类和浓度的搭配是诱导植物产生芽、根、愈伤组织的关键因素(苏钦等,2009)。本研究中,在诱导观赏凤梨侧芽切块外植体芽分化阶段,发现外源激素的种类和浓度对芽诱导的时间、诱导率和芽分化数有明显影响,与林思诚等(2005)的研究结果一致。George(1996)认为高浓度的细胞分裂素很可能产生不定芽,而低浓度的细胞分裂素诱导分生组织产生腋芽,本实验中外植体芽分化结果与之相似。一般来说,高浓度的细胞分裂素和低浓度的生长素有利于丛生芽的生长(李群等,2004)。桂意云等(2005)也认为 6-BA 与 NAA 组合,其对比浓度相近丛生芽增殖倍数大。本研究中,6-BA 对促进丛生芽增殖作用显著,浓度越高丛生芽的增殖倍数越大;少量 NAA 也能够促进丛生芽增殖,提高 NAA 浓度到 1 mg · L<sup>-1</sup>时,则抑制丛生芽的增殖,且 6-BA 和 NAA 配合的比值为 1/6 时,对促进丛生芽增殖效果最好,与郑淑萍等(2005)对星花凤梨的快速繁殖研究结果相似。可见,芽的分化、增殖与细胞分裂素和生长素的动态平衡有关。

Annette 等(2005)研究表明在三种培养基中,*V. philippocoburgii* 和 *V. gigantea* 每个实生苗平均增殖的芽数分别是 0.72 和 4.3,这种差异极显著。本研究也表明品种对丛生芽增殖的影响显著,不论是在单独含有 6-BA 或 NAA 的培养基上,还是在同时含有 6-BA 和 NAA 的培养基上,*G. dissitis-*

*flora* 丛生芽的增殖倍数明显高于 *G. 'Claret'*,这种差异可能与品种本身的内源激素水平不同有关。

## 参考文献:

- Alves GM, Guerra MP. 2001. Micropropagation for mass propagation and conservation of *Vriesea friburgensis* var. *paludosa* from microbuds[J]. *J Bromel Soc*, **51**(5):202-212
- Annette D, Anelise M, Adriana V, et al. 2005. *In vitro* culture of *Vriesea gigantea* and *V. philippocoburgii* two vulnerable bromeliads native to Southern Brazil[J]. *Braz Arch Biol Tech*, **48**(5):717-722
- Arrabal R, Amancio F, Carneiro LA, et al. 2002. Micropropagation of endangered endemic Brazilian bromeliad *Cryptanthus sinuosus* for *in vitro* preservation[J]. *Biodivers Conserv*, **11**:1 081-1 089
- Daquinta M, Almeida AP, Guerra MP. 1998. *In vitro* morphogenesis of immature flower and buds of flower stalk in *Dyckia distachya*[J]. *J Bromel Soc*, **49**:72-76
- George EF. 1996. Plant Propagation by Tissue Culture[M]. Second Edington. UK: Exegetics Ltd. 1-2
- Gui YY(桂意云), Lin W(林伟), Tao J(陶劲), et al. 2005. Experiments on the culture *in vitro* and rapid propagation of *Guzmania lingulata* (擎天凤梨离体培养快繁试验)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **36**(6):509-510
- Li Q(李群), Liu GY(刘光勇), Wang L(王丽). 2004. Effect of hormone on plantnet regeneration and studies of root regeneration culture of *Eustoma* sp. (激素对洋桔梗植物再生的影响及生根培养的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **24**(1):40-42
- Lin SC(林思诚), Ren H(任惠). 2005. Tissue culture and rapid propagation of *Vriesea poelanii* (大莺歌凤梨的离体培养快速繁殖试验)[J]. *Guangdong For Sci Tech*(广东林业科技), **21**(1):15-18
- Pierik RL, Sprengels PA. 1991. Micropropagation of *Tillandsia cyanea*[J]. *J Bromel Soc*, **41**:9-12
- Rech FA, Dal VLL, Nodari RO. 2005. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest[J]. *Biodivers Conserv*, **14**:1 799-1 808
- Su T(苏钦), Huang NZ(黄宁珍), Fu CM(付传明). 2009. Optimization *in vitro* culture conditions for *Gymnema sylvestre* (匙羹藤组织培养条件优化研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **29**(1):87-91
- Vinterhalter B, Vinterhalter D. 1994. True-to-the type *in vitro* propagation of *Aechmea fasciata* Baker[J]. *Hort Sci*, **57**:253-263
- Xu L(徐立), Li ZY(李志英), Li KL(李克烈), et al. 2000. Tissue culture and high frequency propagation of *Aechmea fasciata* (蜻蜓凤梨的组织培养和快速繁殖)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **27**(4):303-304
- Zheng SP(郑淑萍), Xu JX(徐建新), Ding F(丁峰), et al. 2005. Tissue culture and high frequency propagation of *Guzmania lingulata* (星花凤梨的组织培养和快速繁殖)[J]. *Jiangsu J Agric Sci*(江苏农业科学), **3**:94-95