

DOI:10.11937/bfyy.201620027

空气凤梨组培快繁技术

郑 凯, 丁久玲, 蔡鸿宇

(江苏农林职业技术学院 生物工程技术中心, 江苏 句容 212400)

摘 要:以斯垂科特空气凤梨(*Tillandsia stricta*)的种子为外植体,采用组织培养法,研究了不同基础培养基、植物生长调节剂种类及浓度对其生长的影响,以期筛选出适宜斯垂科特空气凤梨种子组培快繁的培养基配方。结果表明:以 1/2MS 为基础培养基,添加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA,空气凤梨的发芽率和幼苗成活率高,幼苗生长健壮,色泽浓绿,真叶数多,比常规种子繁殖速度快 2 倍左右,幼苗成活率高 1.45 倍。

关键词:空气凤梨;组织培养;基础培养基;快速繁殖

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)20-0106-04

空气凤梨(*Tillandsia stricta*)属凤梨科(Bromeliaceae)铁兰属(*Tillandsia*)多年生草本植物,包括近 550 个品种和 90 个变种,其形态特征和生长方式不同于普通植物,生长在空气中,依靠叶片上的鳞片吸收空气中的水分和养分。尤其重要的是可在室内任意摆放、垂挂,既可作为室内装饰美化环境,又能够净化室内空气。20 世纪 80 年代开始在欧美、日本等发达国家流行,目前已成为室内装饰的新宠,开发前景广阔。

国外关于空气凤梨的研究多集中在空气凤梨的分布、代谢以及作为空气污染指示植物等方面^[1-4]。目前,国内对空气凤梨的研究尚处于起步阶段,仅有少量关于栽培管理、繁殖技术、去除环境污染等方面的报道。王姍等^[5-6]针对空气凤梨的开花性状进行了研究,发现 K 肥($120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)对成花率的影响显著,外源乙烯利有明显的催花作用。丁久玲等^[7-8]研究了肥料对空气凤梨的影响,表明氮肥为 $150 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时有利于松萝凤梨生长。郑凯等^[9-10]研究表明,6-BA 为促进空气凤梨分蘖的主要因素,14 d 施肥 1 次有利于空气凤梨生长。俞禄生等^[11]发现 5 种空气凤梨可耐受短期(10 d 左右) $-5 \sim 0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温。刘晓娜等^[12]对空气凤梨叶片结构进行了研究,表明其具有角质层发达,表皮毛密生,气孔凹陷等旱生植物的典型特征。李俊霖等^[13]探讨了空气凤梨对甲醛的净化效果,表明松萝、硬叶空凤比吊兰更能快速

有效地净化甲醛。

以上报道中关于空气凤梨快繁技术的研究较少。我国空气凤梨种源稀少,为促进其在室内空气净化领域的应用,有必要研究其快速繁殖的条件,加快繁殖速度。空气凤梨繁殖主要依靠种子繁殖和分株繁殖,但这 2 种繁殖方式的繁殖速度均较为缓慢。该研究中的植物材料斯垂科特空气凤梨(*T. stricta*)是我国引进的铁兰属植物中应用较为广泛的一种,原产于热带雨林区,叶片碧绿,花型美观,苞片粉红色,小花淡紫色,花期较长。斯垂科特空气凤梨(*T. stricta*)通过人工授粉技术可大量结实,一个植株可产生 5~10 个荚果,每个荚果含种子 60~80 粒。自然状态下,种子 1 周即可发芽,但发芽后生长速度极慢。从种子萌发至长出 2 片真叶约需 3 个月,长至 3~4 片真叶需半年,成苗需 4~5 年时间。而且生长初期幼苗常会因管理不当而死亡。虽然种子繁殖繁殖系数较高,但其繁殖速度极慢。该研究以斯垂科特空气凤梨(*T. stricta*)种子为外植体,通过添加植物生长调节剂将播种繁殖与组培技术结合起来,以期筛选出适宜斯垂科特空气凤梨种子组培快繁的培养基配方,旨在提高其繁殖系数的基础上进一步加快生长速率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料为 2008 年从美国引进的斯垂科特空气凤梨(*T. stricta*)。采摘成熟的但未裂开的荚果为试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 挑选饱满的荚果,放入三角瓶内,加入少量洗衣粉,在流动的自来水下冲洗至无泡沫,如此反复 3 次。再用纯净水冲洗 3 次,移至超净工作台上

第一作者简介:郑凯(1980-),男,陕西西安人,博士研究生,副研究员,现主要从事植物资源收集及抗性生理等研究工作。E-mail: 78056829@qq.com.

责任作者:丁久玲(1978-),女,河南许昌人,硕士,副研究员,现主要从事园林植物应用等研究工作。E-mail: 317569479@qq.com.

收稿日期:2016-07-25

用 75%酒精消毒 30 s,用无菌水冲洗 3 次后再用 0.1% HgCl₂ 消毒 5 min,用无菌水洗净后待用。

1.2.2 播种及培养基的配制 将消毒后的荚果倒在无菌纸上摊平,吸干表面水分。剪取果荚内的种子(连带种毛),放入准备好的培养基内。每组接种 50 瓶,每瓶接 2 个荚果。设置 18 个培养基配方(表 1)。

1.2.3 培养条件 蔗糖 3%,琼脂 0.6%,pH 5.6~5.8,温度 22~28 ℃,每日光照 12 h,光照强度 1 500~2 000 lx。分别在培养后 7、15、30、90 d 对种子色泽、发芽率、成活率及幼苗高度等进行观察记录。

2 结果与分析

2.1 不同基础培养基对空气凤梨种子组培的影响

在 IAA 0.5 mg · L⁻¹ 水平下,不同基础培养基对空气凤梨种子组培的影响不同(表 2),1/2MS 条件下幼苗健壮,15 d 发芽率达 100%,90 d 真叶数量达 8.5 片,高度 1.4 cm,叶色深绿;其次是 1/4MS,发芽率和幼苗成活率与 1/2MS 相比差异不明显,真叶数量和幼苗高度稍差于 1/2MS,叶色淡绿色;MS 较差,种子发黑严重,发芽率仅为 58%,90 d 成活率为 30%,幼苗高度为 0.7 cm。

在 IAA 0.2 mg · L⁻¹、NAA 0.5 mg · L⁻¹ 和 NAA 0.2 mg · L⁻¹ 水平下,不同基础培养基对空气凤梨种子

组培的影响表现出相同的趋势,即 1/2MS 较为理想,其次是 1/4MS。

表 1 空气凤梨种子组培快繁的培养基配方

Table 1 Medium for tissue culture and rapid micropropagation of seeds of *T. stricta* mg · L⁻¹

处理 Treatment	培养基配方 Medium
1	MS+IAA 0.5
2	1/2MS+IAA 0.5
3	1/4MS+IAA 0.5
4	MS+IAA 0.2
5	1/2MS+IAA 0.2
6	1/4MS+IAA 0.2
7	MS+NAA 0.5
8	1/2MS+NAA 0.5
9	1/4MS+NAA 0.5
10	MS+NAA 0.2
11	1/2MS+NAA 0.2
12	1/4MS+NAA 0.2
13	1/2MS+GA ₃ 0.2
14	1/2MS+GA ₃ 0.5
15	1/2MS
16	1/2MS+IAA 1.0
17	1/2MS+NAA 1.0
18	1/2MS+GA ₃ 1.0

表 2 不同培养基配方对空气凤梨种子生长的影响

Table 2 Effect of different mediums on growth of the seeds of *T. stricta*

处理 Treatment	7 d 种子色泽 The color of seed after 7 days	15 d 发芽率 Germination rate after 15 days/%	30 d 成活率 Survival rate after 30 days/%	30 d 高度 Height after 30 days/cm	90 d 成活率 Survival rate after 90 days/%	90 d 真叶数量 Number of true leaf after 90 days	90 d 高度 Height after 90 days/cm	90 d 健壮度 Strength after 90 days	90 d 色泽 Color after 90 days
1	83%种子发黑	58	53	0.5	30	6	0.7	++	***
2	5%种子发黑	100	99	0.8	98	8.5	1.4	++++	***
3	无种子发黑	98	100	0.6	98	7.0	1.0	+++	**
4	87%种子发黑	56	50	0.4	36	5.4	0.7	++	**
5	6%种子发黑	95	97	0.5	96	6.2	0.8	+++	**
6	无种子发黑	96	98	0.4	95	5.0	0.7	++	**
7	94%种子发黑	45	33	0.4	20	4.6	0.6	++	**
8	15%种子发黑	89	94	0.5	90	6.1	0.8	++	**
9	无种子发黑	93	94	0.5	90	6.2	0.7	++	*
10	92%种子发黑	44	35	0.4	18	4.8	0.6	++	*
11	12%种子发黑	91	92	0.4	89	6.0	0.6	+++	**
12	无种子发黑	93	98	0.3	97	6.4	0.6	++	*
13	6%种子发黑	91	92	0.6	92	6.4	1.0	+	*
14	7%种子发黑	91	92	0.8	91	6.8	1.3	+	*
15	5%种子发黑	90	94	0.3	90	4.4	0.6	++	**
16	8%种子发黑	92	95	0.6	91	6.4	1.0	++++	**
17	10%种子发黑	89	90	0.5	88	5.9	0.8	++	**
18	7%种子发黑	93	92	0.8	92	6.5	1.3	+	*

注:++++健壮,+++较健壮,++生长一般,+细弱、幼嫩;*** 深绿色,** 淡绿色,* 黄绿色。
Note:++++strongest,+++stronger,++strong,+thin;*** dark green,** light green,* yellow green.

2.2 不同植物生长调节剂种类、浓度对空气凤梨种子组培的影响

根据上述分析发现,使用 1/2MS 基础培养基较为

理想,因此仅在 1/2MS 基础培养基下比较不同植物生长调节剂种类、浓度对空气凤梨种子组培的影响。将表 2 中的培养基配方 2、5、8、11、13、14、15、16、17、18 的数据进

行比较分析。

2.2.1 不同植物生长调节剂种类对空气凤梨种子组培的影响 当植物生长调节剂浓度在 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平时,比较 IAA、NAA 和 GA_3 对空气凤梨种子组培的影响,发现 3 种植物生长调节剂的使用对提高空气凤梨种子发芽率和幼苗成活率方面差异不明显, GA_3 能明显促进幼苗长高,90 d 时高度达 1.3 cm,但幼苗表现出细弱、幼嫩、色泽发黄等长势不良的状况;IAA 亦可促进幼苗长高,90 d 时高度达 1.0 cm,且幼苗健壮,叶色深绿;使用 NAA 的处理幼苗高度为 0.8 cm,真叶数相对较少,幼苗长势一般,叶色淡绿。当植物生长调节剂浓度在 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平时,比较 IAA、NAA 和 GA_3 对空气凤梨种子组培的影响,发现 IAA 能明显促进空气凤梨种子的发芽,发芽率达 100%,且 90 d 时 IAA 处理下幼苗成活率最高(98%),真叶数达 8.5 片,幼苗高度为 1.4 cm,幼苗健壮,色泽深绿; GA_3 亦可明显促进幼苗长高,高度达 1.3 cm,但其真叶数较少(6.8 片),且幼苗瘦弱、发黄;90 d 时 NAA 处理下幼苗高度相对较低、真叶数相对较少,分别为 0.8 cm 和 6.1 片。当植物生长调节剂浓度在 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平时,比较 IAA、NAA 和 GA_3 对空气凤梨种子组培的影响,发现 3 种植物生长调节剂对空气凤梨种子发芽率、幼苗成活率、真叶数差异不显著, GA_3 能促进幼苗长高,但幼苗长势不良,瘦弱、黄化;而 IAA 和 NAA 处理下的幼苗长势较健壮,叶色淡绿。配方 15 是不添加任何植物生长调节剂的处理,与其它处理相比较,不使用植物生长调节剂幼苗生长较慢,高度较低,90 d 时仅为 0.6 cm,真叶数较少(4.4 片)。综上,1/2MS 培养基上添加 IAA 利于空气凤梨种子发芽,提高了幼苗的成活率,且真叶数多、长势健壮、色泽深绿;NAA 和 GA_3 次之,特别是 GA_3 虽利于空气凤梨幼苗长高,但幼苗表现出细弱、发黄等长势不良的现象。

2.2.2 不同的植物生长调节剂浓度对空气凤梨种子组培的影响 根据 2.2.1 的分析发现,使用 IAA 有利于空气凤梨种子的生长发育,因此仅就 IAA 一种植物生长调节剂下比较不同的植物生长调节剂浓度对空气凤梨种子组培快繁的影响。将表 2 中配方 2、5、16 的数据进行比较分析。在 1/2MS 基础培养基下,不同的 IAA 浓度对空气凤梨种子生长的影响不同,各浓度下发芽率、成活率差异不明显;各浓度下幼苗真叶数、高度、幼苗长势表现出一定的差异性。IAA 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时幼苗生长健壮,真叶数 8.5 片,幼苗高度达 1.4 cm,生长健壮色泽浓绿;其次是 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,当 IAA 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,真叶数相对较少(6.4 片),幼苗相对较低,为 1.0 cm。

3 结论与讨论

基础培养基是植物组织培养的根本基质,为外植体提供水、矿物质、氮源、碳源等最基本的支持,并为植物

生长调节剂调节外植体细胞分化提供介质^[14]。不同的植物选取的外植体不同,诱导其产生愈伤或丛生芽的基础培养基亦不同。于艳等^[15]以麻栎茎段为外植体,发现 1/4MS 基础培养基诱导不定芽其诱导率最高(86.7%),且外植体的褐死率仅有 5.0%;谢启鑫等^[16]以君迁子叶片为外植体,表明在 1/2MS 基础培养基上不定芽再生率 and 不定芽数都显著高于其它基础培养基,说明了柿属植物外植体的再生需要较低的矿质元素含量。王海波等^[17]研究认为 MS 基础培养基可使天蓝苜蓿愈伤组织的诱导率达到 100%。植物的基因型、生理、生态特性各异,诱导其外植体生产愈伤、丛生芽及芽的生长的过程中对营养成分的需求亦不同,李纯佳等^[18]发现甘蔗胚性愈伤诱导与基础培养基的选择关系重大,MS 培养基能够更大限度地满足甘蔗胚性愈伤发生的各种营养需求。该研究得出了与此相似的结论,基础培养基浓度的高低在一定程度上决定着斯垂科特空气凤梨种子组培的效果。该研究发现,适宜斯垂科特空气凤梨种子组培快繁的基础培养基为 1/2MS,基础培养基浓度过高或过低均不利于外植体生长发育,过高致使种子发黑、发芽率和成活率低,幼苗发黑死亡;过低不利于幼苗的生长,出现幼苗高度低、健壮度低、色泽发黄等现象。

植物生长调节剂的使用类型和配比浓度也是影响植物组织培养效果的关键因素。潘美红等^[19]研究发现洋葱早春黄在以 MS 为基础培养基,添加 KT 诱导外植体长不定芽的效果差,而添加适当浓度的 6-BA 增殖效果明显,这可能是因为洋葱的基因型不同,其对基础培养基和生长调节剂类型的要求也不同^[20];另外,6-BA 浓度过低,不定芽少,6-BA 浓度过高,易引起组培苗死亡,可见合适的植物生长调节剂浓度配比对洋葱增殖非常重要。于娜等^[21]研究认为,白羊草在含有不同浓度生长素和细胞分裂素的继代培养基上无菌苗都能生长,只是 NAA 对芽分化的影响较大,6-BA 的诱导动力较 NAA 低。该研究表明,不同的植物生长调节剂种类对斯垂科特空气凤梨种子组培的影响不同,IAA 比 NAA、 GA_3 效果好,幼苗的成活率高、长势健壮、色泽深绿、真叶数多,因此选择正确的植物生长调节剂尤为重要。适宜的 IAA 浓度可明显促进斯垂科特空气凤梨种子组培快繁,加快幼苗的生长速率,研究发现,IAA 在 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最利于斯垂科特空气凤梨种子的组培,发芽率和幼苗成活率高,幼苗生长健壮,色泽浓绿,真叶数多,高度高。通过比较 18 种培养基配方对斯垂科特空气凤梨种子组培的影响,同时综合基础培养基、植物生长调节剂种类和浓度等因素,确定出适宜斯垂科特空气凤梨种子组培的培养基配方为 1/2MS+IAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

幼苗在此培养基中生长 3 个月后进行转接,转接的培养基仍用此配方,依照此法每 3 个月转接 1 次,直至幼

苗出瓶。斯垂科特空气凤梨种子组培播种,幼苗长至真叶2片需1个月,长至真叶3~4片需2个月,长至真叶6~8片需3个月,组培后在培养室内培养约9个月,即可出瓶在温室内栽培,进入温室约2年时间可长至成苗。斯垂科特空气凤梨种子组培繁殖比自然状态下直接播种繁殖的生长速度约快2倍。另外,种子组培繁殖其幼苗成活率高达98%,而种子直接播种繁殖其幼苗往往出现中途死亡的现象,导致幼苗成活率低下(40%左右),故种子组培繁殖的幼苗成活率比直接播种繁殖的高1.45倍。

空气凤梨种质丰富,该试验选用的是丛生种质斯垂科特(*T. stricta*),其它常用的丛生种质如贝吉(*T. bergeri*)、蒙大拿(*T. montana*)等是否同样适用该研究中的培养基配方需作进一步的研究。

参考文献

- [1] FIGUEIREDO A M G, SAIKI M, MILLAN F M. Assessment of atmospheric metallic pollution in the metropolitan region of Sao Paulo, Brazil, employing *Tillandsia usneoides* L. as biomonitor[J]. Environmental Pollution, 2007, 145:279-292.
- [2] FIGUEIREDO A M G, SAIKI M, TICIANELLI R B. Determination of trace elements in *Tillandsia usneoides* by neutron activation analysis for environmental biomonitoring[J]. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2001, 249(2):391-395.
- [3] FIGUEIREDO A M G, ALCALÁ A L, TICIANELLI R B. The use of *Tillandsia usneoides* L. as bioindicator of air pollution in So Paulo, Brazil[J]. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2004, 259(1):59-63.
- [4] EDUARDO D, WANNA Z, MARIA L P. Calibration of four species of *Tillandsia* as air pollution biomonitors[J]. Journal of Atmospheric Chemistry, 2006, 53:185-209.
- [5] 王姗, 鲍华鹏, 王全智, 等. N、P、K 对铁兰属植物 *Tillandsia stricta* 生长与开花的影响[J]. 中国农学通报, 2014, 30(16):221-225.
- [6] 王姗, 张荣良, 郝霞, 等. 空气凤梨 *Tillandsia bergeri* 花芽分化时期叶片内源激素含量的变化[J]. 中国农学通报, 2013, 29(22):142-146.
- [7] 丁久玲, 郑凯, 俞禄生. 不同浓度氮肥对松萝凤梨生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(26):11444-11445, 11461.
- [8] 丁久玲, 郑凯, 俞禄生. 两种专用肥对空气凤梨生长的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(23):318-322.
- [9] 郑凯, 丁久玲, 俞禄生. 不同植物生长调节物质对2种空气凤梨生长的影响[J]. 浙江农业科学, 2012(10):1416-1419.
- [10] 郑凯, 俞禄生, 丁久玲. 凤梨专用肥对空气凤梨生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 28(10):5060-5061, 5146.
- [11] 俞禄生, 张蕾, 丁久玲, 等. 不同低温处理对5个空气凤梨品种生长特性的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(1):118-122.
- [12] 刘晓娜, 俞禄生, 沈永宝. 6种空气凤梨解剖学特征与耐旱性的关系[C]//中国观赏园艺研究进展. 中国园艺学会观赏园艺专业委员会, 国家花卉工程技术研究中心, 2010:470-474.
- [13] 李俊霖, 李鹏, 王恒蓉, 等. 特殊植物类群空气凤梨对大气污染物甲醛的净化[J]. 环境工程学报, 2013, 7(4):1451-1458.
- [14] 李俊明, 朱登云. 植物组织培养教程[M]. 北京:中国农业出版社, 2005.
- [15] 于艳, 郎庆龙, 夏兴宏, 等. 以多年生麻栎茎段为外植体的组织培养条件优化[J]. 蚕业科学, 2014, 40(2):202-209.
- [16] 谢启鑫, 黄美连, 吴晓萍, 等. 君迁子叶片培养再生植株的研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(2):607-612.
- [17] 王海波, 王永雄. 天蓝苜蓿组织培养及再生体系的研究[J]. 草业与畜牧, 2006(11):15-20.
- [18] 李纯佳, 徐超华, 陆鑫, 等. 甘蔗胚性愈伤高效诱导系列研究 II. 基础培养基对甘蔗胚性愈伤发生的影响[J]. 中国糖料, 2015, 37(2):1-3.
- [19] 潘美红, 陈振泰, 薛萍, 等. 不同培养基在洋葱组培中的应用[J]. 中国蔬菜, 2012(22):67-69.
- [20] 姜璐琰, 杨建平, 张松, 等. 洋葱组织培养研究进展[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2003, 34(2):299-302.
- [21] 于娜, 董宽虎. 不同激素处理对白羊草愈伤组织分化的影响[J]. 北方园艺, 2014(8):83-86.

Tissue Culture and Rapid Micropropagation of *Tillandsia stricta*

ZHENG Kai, DING Jiuling, CAI Hongyu

(Research Center of Industrial Biotechnology, Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong, Jiangsu 212400)

Abstract: The seed of *Tillandsia stricta* was used as explant, effects of different basal medium, plant growth regulators types and concentration on growth were researched by using tissue culture method to select the optimal medium formula. The results showed that the basal medium was 1/2 MS supplemented IAA 0.5 mg · L⁻¹, the germination rate and survival rate were high, seedling plants were stronger and dark green in leaf color and more leaf number. In this way, the propagation rate was 2 times and survival rate was 1.45 times more than conventional seed propagation.

Keywords: *Tillandsia stricta*; tissue culture; basal medium; rapid micropropagation