维普资讯 http://www.cqvip.com

亚热带植物科学 Subtropical Plant Science 2007,36(4):58-61.

观赏凤梨生物技术研究进展(综述)

刘慧春，潘晓韵，朱开元，王炜勇

(浙江省农业科学院 花卉研究开发中心，浙江 萧山 311202)

摘 要：综述近年来观赏凤梨植物的应用和基础研究进展，重点介绍观赏凤梨的组织培养与种质资源保存，简述其遗传转化和遗传标记的研究，并对目前研究中存在的问题及今后发展提出建议。

关键词：观赏凤梨；组织培养；遗传转化；遗传标记

中图分类号：Q943 **文献标识码**：A **文章编号**：1009-7791(2007)04-0058-04

The Research Progress of Biotechnology on Bromeliads

LIU Hui-chun, PAN Xiao-yun, ZHU Kai-yuan, WANG Wei-yong

(Research & Development Center on Flowers of Zhejiang Agricultural Academy, Xiaoshan 311202, Zhejiang China)

Abstract: This paper described the recent advances on Bromeliads applications and basic researches. The researches on tissue culture and germplasm preservation were mainly introduced. The paper reported the general situations of genetic transformation and genetic markers on bromeliads. Some problems and perspectives of this field were also discussed.

Key words: Bromeliad; tissue culture; genetic transformation; genetic marker

凤梨科观赏植物是一类新型室内观花、观叶、观果的盆栽花卉，约 68 属 2 000 余种；常用作观赏的有果子蔓属(*Guzmania*)、丽穗凤梨属(*Vriesea*)、光萼荷属(*Aechmea*)、凤梨属(*Ananas*)、彩叶凤梨属(*Neoregelia*)、水塔花属(*Billbergia*)、姬凤梨属(*Crytanthus*)、巢凤梨属(*Nidularium*)、花瓶属(*Quesnelia*)和铁兰属(*Tillandsia*)。我国自 20 世纪 90 年代中期大量引种观赏凤梨，因其叶姿和花型独特、花期持久，立即风靡市场。近几年来，生物技术已被应用于观赏凤梨育种改良，主要集中在组织培养、种质资源保存等方面[1,2]。

1 组织培养

早在 20 世纪 70～80 年代，已有研究用组织培养进行凤梨的无性快速繁殖。近年来，观赏凤梨组织培养的研究日渐深入，果子蔓属、丽穗凤梨属、光萼荷属、凤梨属、彩叶凤梨属等均已获得组培苗。

1.1 果子蔓属的组织培养

远凌威等[3]用康泰凤梨(*G. continental*)侧芽作外植体，接种至 MS + 6-BA 1.5mg/L (以下培养基单位同)培养基上，40d 后形成愈伤组织，愈伤组织在 MS + 6-BA 1.0 + IBA 0.5 培养基上诱导丛生芽及继代增殖，40d 继代一次,不定芽转入 MS + IBA 0.5 + NAA 0.5 培养基，50d 后平均根数达 5.5。桂意云等[4]以擎天凤梨栽培种(*G. lingulata* 'Amaranth')短缩茎作外植体，接种在 MS + 6-BA 2.0 + NAA 0.1 培养基上，25d 后产生不定芽，转至 MS + 6-BA 1.0 + IBA 0.1 液体培养基上培养 30d 后，将约 3cm 的不定芽转入生根培养基 MS + 6 -BA 0.1 + IBA 3.0，20d 左右即可长出根。郑淑萍等[5]以星花凤梨(*G.* spp.)短缩茎作外植体，以不加任何生长调节剂的 MS 为诱导培养基，以 MS + 6-BA 3.0 + NAA 0.1 为继代培养基，连续继代 4 次，平均增殖系数为 5.0，以 MS + IBA 0.5 + NAA 0.5 为生根培养基，15～20d 即可生根。

1.2 丽穗凤梨属的组织培养

钟红梅等[6]切取八宝剑凤梨(*V. poelmannii*)母株基部长出的健壮侧芽作为外植体，接种于 MS +

收稿日期：2007-05-28

作者简介：刘慧春（1979-），女，湖北武汉人，硕士，从事观赏植物生物技术研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

6-BA 2.0 + NAA 0.2 培养基进行液体培养，50d 后将新的丛生芽切成块，移至 MS + 6-BA 1.0 + NAA1.0 培养基进行浅层液体培养，25d 继代一次，最后移至 1/2MS + NAA 0.1 ~ 0.2 固体培养基生根培养，1 个月即可生根。张伟等[7]用虎纹凤梨(*V. splanens*)侧芽作外植体，接种于培养基 MS + 6-BA 1.5 上，40d 后形成愈伤组织，转至 MS + 6-BA 1.0 + IBA 0.5 培养基上继代培养，在 MS + IBA 0.5 + NAA 0.5 上进行生根培养，培养 50d 后平均根数为 5.5。洪燕萍等[8]以八宝剑凤梨的幼株茎段为外植体，以 MS + 6-BA 5.0 + NAA 0.5 为诱导培养基，MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.1 为增殖培养基，可获得较好增殖效果，用 1/2 MS + NAA 0.5 生根效果较好。林思诚等[9]取八宝剑凤梨带腋芽茎段作为外植体，在 1/2 MS + 6-BA 5.0 + NAA 1.0 培养基上培养 43d 可诱导出芽；在培养基 1/2 MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.5 上培养 30d，芽的平均增殖倍数为 7.4；在 1/2 MS + IBA 1.0 + 1.0g/L 活性炭的培养基上进行生根培养，30d 生根率达 100%。

1.3 光萼荷属的组织培养

徐立等[10]取在温室培养的蜻蜓凤梨(*Aechmea fasciata*)短缩茎为外植体，经消毒后，接种在 MS 培养基上诱导侧芽萌发，在 MS + 6-BA 4.0 +NAA 1.0 + IAA 1.0 培养基上继代增殖，不定芽在 MS + IBA 0.1 培养基上培养 15d 即开始生根。刘国民等[11]剥取蜻蜓凤梨盆栽植株的短缩茎作为外植体，在 MS + 6-BA 2.5 + NAA 0.25 培养基上进行初代培养，35d 后将获得的无菌材料转至 MS + 6-BA 2.5 + NAA 0.5 培养基中增殖培养，3 个月后转入 MS + IBA 1.0 培养基上，180d 后，平均根数为 10.2。黎建玲等[12]用蜻蜓凤梨试管苗茎的中部作为外植体，在培养基 MS + 6-BA 3.0 + IBA 0.3 上诱导侧芽并进行增殖，最后转入生根培养基 1/2 MS + NAA 0.5 上，15d 开始生根，40d 后平均根数为 3 ~ 5 条。

1.4 凤梨属的组织培养

王安美等[13]以金边艳凤梨（*Ananas comosus* 'Variegatus'）的无菌芽为外植体，接种至 MS 培养基，适当提高 VB_1 含量，再附加 NaP、AS 和 IAA、KT，25d 左右可分化出丛生小芽，再以此培养基继代培养，以 MS + NAA 0.2 为生根培养基，6d 左右即开始生根。Teng[14]采用凤梨（*Ananas comosus*）的叶片及芽作为外植体，接种至 1/2 MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.5~1.0 诱导分化，将形成的愈伤组织转入 1/2 MS + 6-BA 0.12 + NAA 0.08，培养 2 周后达到最大的增殖倍数，继续在相同的培养基中进行生根培养，6 周后得到大量生根苗。吴丽君等[15]建立了台农 4 号凤梨(*Ananas comosus* 'Tainong' No.4)的组培体系。

1.5 彩叶凤梨属的组织培养

Carneiro 等[16]取羞凤梨（*Neoregelia cruenta*）播种七周后的秧苗叶片作为外植体，直接从叶片诱导出再生芽，在培养基 MS + 6-BA 5.0 + NAA 0.5 上获得最高的再生率，然后转入 MS + 6-BA1.0 ~ 2.0 + NAA0.5 培养基中获得完整植株。徐立等[17]切取彩叶凤梨（*Neoregelia carolinae*）顶芽和侧芽茎尖，将已灭菌的茎尖接种到培养基 MS + KT 4.0 + IAA 0.1 上，约半个月产生不定芽，经不断切分继代，获得大量丛生状不定芽，将 3cm 左右的不定芽转入生根培养基 1/2 MS + NAA 0.5，10d 后开始生根，生根率 100%。洪燕萍等[8]也以彩叶凤梨的幼株茎段为外植体，以 MS + 6-BA 5.0 + NAA 0.5 为诱导培养基，MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.1 为增殖培养基，1/2 MS + NAA 0.5 为生根培养基，均获得品质较好的组培苗。

1.6 其它属的组织培养

王春荣等[18]以水塔花属红藻凤梨（*Billbergia pyramidalis*）的嫩吸芽作为外植体，以 1/3 MS + 6-BA 0.2 + IBA 0.02 为诱导培养基，MS + 6-BA 1.0 + IBA 0.2 为分化培养基，最后转入 1/2 MS + IBA 0.5 培养基上培养 10d 即开始生根。洪燕萍等[8]建立了姬凤梨属虎斑姬凤梨（*Crytanthus zonatus*）的组培体系。毕可鹏等[19]建立了铁兰属百剑凤梨（*Tillandsia flabellate*）的组培体系。

2 种质资源保存

种质资源的保存是育种研究的基础，如何将植物材料妥善保存显得尤为重要。观赏凤梨常作为盆栽花卉，目前多为大棚温室栽培，管理成本较高，且易受病虫害危害。采用组织培养的方法保存材料，不仅可以节约成本，还可以为种质交流、病虫害防治等方面提供诸多便利。Zee 和 Manekata[20]发明了一种观赏凤梨离体种质保存技术，将芽培养在蒸馏水中，可保存 12 个月。而最好的种质保存方法是将

维普资讯 http://www.cqvip.com

材料培养在1/4MS（3%蔗糖）中，如需恢复生长，只需将材料重新转移至正常培养基上即可。Arrabal等[21]以姬凤梨属的濒危品种 *Cryptanthus sinuosus* 的茎轴为外植体，采用组织培养法进行离体保存，建立了一个有效的液体保存体系。以无任何生长调节剂的MS液体培养基为基质，经过6个月培养，繁殖系数为25.3±3.6。据估计，平均每年每个外植体可以繁殖出4 500株组培苗，出苗成活率为98%。

3 遗传转化

基因转移是近年来生物技术研究的热门课题，它是指克隆一些特有性状的基因，并通过生物、物理和化学等方法，导入到受体植物细胞，通过组织培养育出转基因植物的生物技术。通过基因转移，可以实现定向改造植物这一人类梦寐以求的目标，培育出一些新奇、独特及具有各种目标性状的品种，大大缩短育种周期，提高育种效率。目前，国内还没有转基因凤梨再生植株成功的报道。国外已对凤梨转基因进行诸多尝试，并获得成功。如导入抗线虫基因[22]；导入反义ACC氧化酶基因，抑制自然开花[23]；导入抗多酚氧化酶基因，防止凤梨黑心病的发生[24]；导入抗性蛋白合成基因，增加凤梨对粉蚧的抗性[25]；导入 *del1* 基因[26]等。观赏凤梨基因工程的研究还处于起步阶段，但前景非常乐观。

4 遗传标记

目前国内还没有观赏凤梨遗传标记的报道。国外自20世纪90代起就陆续开展这方面的研究。

Aradhya 等[27]采用同功酶技术，研究了存在于凤梨栽培种以及野生种内的变异，结果发现在凤梨属（*Ananas*）品种内以及品种间都存在着非常大的变异，揭示出凤梨属种内变异主要归因于生态隔离。Izquierdo 等[28]通过异型酶研究了光萼荷属（*Aechmea*）4个种——*A. mexicana*、*A. lueddemanniana*、*A. macvaughii* 和 *A. tuitensis* 17个群体间的亲缘关系；随后又分析了存在于墨西哥的物种 *A. tuitensis* 一个小群体内的遗传变异和遗传结构，以及该物种无性繁殖系的遗传多样性[29]。Duval 等[30]运用RFLP分子标记技术研究了凤梨种质的遗传多样性，运用18个同源的基因探针，对301个凤梨样本进行多样性及亲缘关系分析，揭示出凤梨种质内存在着一定的基因交流，可以大大提高种内的有性繁殖。Claudete 等[31]采用RAPD技术，探讨 *Ananas* 与 *Pseudananas* 两个属18个样品之间的亲缘关系，在扩增出的148条谱带中，有132条为多态性谱带，多态条带百分率为89.2%。从研究结果来看，遗传变异不仅存在于不同的物种间，同一物种的不同品种间也存在一定程度的变异。Duval 等[32]采用RFLP技术研究了 *Ananas* 以及其相关属的亲缘关系，该研究对当前的 *Ananas* 分类学讨论起到了一定的启示作用。Gonzalez 等[33]运用异型酶研究了 *Tillandsia achyrostachys* 物种的遗传多样性和遗传结构，Cecilia 等[34]将AFLP分子标记应用到 *Ananas comosus* 种内DNA多态性的研究上，指出凤梨种质内部存在着丰富的遗传变异。

5 展 望

随着观赏凤梨市场需求量的增加，其组织培养的研究也越来越完善。组培技术不仅成为解决凤梨种苗供应、增加繁殖系数、保存种质的根本途径，而且为改良凤梨原有基因型，选育出新品种提供了前提条件。随着组织培养技术日趋成熟，转基因技术在观赏凤梨育种上也获得初步成效。然而，观赏凤梨的转基因育种仍处于起步阶段，尤其在国内，仍停留在组织培养以及传统的杂交育种上，分子标记以及转基因育种方面的研究目前仍是一片空白。与其它观赏花卉基础研究的水平相比还存在较大的差距。因此，我们必须借鉴国内外先进技术与经验，对此学科发展的关键领域，开展多学科交叉协作，应用分子生物学和细胞生物学技术，开展功能基因组学、基因克隆与遗传转化等领域的研究。科研工作者应从以下几个方面进行努力：（1）收集、保存国内外观赏凤梨种质资源，开展种质资源遗传多样性及亲缘关系分子标记研究，建立种质指纹图谱；（2）对观赏凤梨重要性状形成的基因网络解析，研究控制凤梨重要观赏性状的关键基因，揭示其遗传网络；（3）利用分子克隆技术将目的基因转入凤梨品种中，培育出抗病、抗虫、耐寒、花色丰富、新奇独特及具有各种目标性状的新优品种。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参考文献：

[1] 陈京. 凤梨应用生物技术于育种改良上的进展[J]. 福建果树, 1997(3): 32-33.

[2] 洪燕萍,等. 凤梨科植物的离体培养[J]. 亚热带植物科学, 2001,30(2): 70-74.

[3] 远凌威,等. 康泰凤梨的组织培养与快速繁殖研究[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2003,16(3): 320-321.

[4] 桂意云,等. 擎天凤梨离体培养快繁试验[J]. 广西农业科学, 2005,36(6): 509-510.

[5] 郑淑萍,等. 星花凤梨的组织培养和快速繁殖[J]. 江苏农业科学, 2005(3): 94-95.

[6] 钟红梅,等. 八宝剑凤梨的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1998,34(3): 202.

[7] 张伟,等. 虎纹凤梨的组织培养与快速繁殖研究[J]. 南阳师范学院学报, 2006,5(3): 63-64.

[8] 洪燕萍,等. 四种观赏凤梨的离体培养[J]. 热带亚热带植物学报, 2002,10(1): 63-68.

[9] 林思诚,等. 大莺歌凤梨的离体培养快速繁殖试验[J]. 广东林业科技, 2005,21(1): 15-18.

[10] 徐立,等. 蜻蜓凤梨的组织培养和快速繁殖[J]. 园艺学报, 2000,27(4): 303-304.

[11] 刘国民,等. 粉菠萝组培快繁的研究[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2005,23(3): 250-256.

[12] 黎建玲,等. 蜻蜓凤梨快速繁殖的研究[J]. 玉林师范学院学报, 2006,27(3): 101-104.

[13] 王安美,等. 金边艳凤梨的组织培养和植株再生[J]. 热带作物科技, 1992(3): 45-46.

[14] Teng W L. An alternative propagation method of *Ananas* through nodule culture[J]. Plant Cell Report, 1997,16(7): 454-457.

[15] 吴丽君,等. 台农 4 号凤梨组培技术的探讨[J]. 福建林业科技, 1999,26(4): 74-77.

[16] Carneiro L A, *et al*. *In vitro* regeneration from leaf explants of *Neoregelia cruenta* (*R. Graham*) L.B. Smith, an endemic bromeliad from Eastern Brazil[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1998,55(2): 79-83.

[17] 徐立,等. 彩叶凤梨的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003,39(4): 344.

[18] 王春荣,等. 红藻凤梨的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2002,38(1): 46.

[19] 毕可鹏,等. 百剑凤梨的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004,40(4): 469.

[20] Zee F T, *et al*. *In vitro* storage of pineapple (*Ananas* spp) Germplasm[J]. Hort Science, 1992,27(1): 57-58.

[21] Arrabal R, *et al*. Micropropagation of endangered endemic Brazilian bromeliad *Cryptanthus sinuosus* (L. B. Smith) for *in vitro* preservation[J]. Biodiversity and Conservation, 2002,11(6): 1 081-1 089.

[22] Striling G. New developments in nematode control: transgenic plant with nematode resistance[M]//Pineapple Field Day. Queensland: Queensland Fruit and Vegetables Growers, Golden Circle, Queedsland Dep. Prim. Indust. 1994: 6.

[23] Sanewski G. Eliminating natural flowering by genetic engineering[M]//Pineapple Field Day. Queensland: Queensland Fruit and Vegetables Growers, Golden Circle, Queensland Dep. Prim. Indust., 1994: 59-60.

[24] Underhill S J R, *et al*. The development of a transgenic blackheart pineapple[M]//Pineapple Field Day. Queensland: Queensland Fruit and Vegetables Growers, Golden Circle, Queensland Dep. Prim. Indust., 1994: 57-58.

[25] Wakman W, *et al*. Presence of closterolike virus and a bacilliform virus in pineapple plants in Australia[J]. Aust J Argic Res., 1995,46: 947-958.

[26] Thomson K G, *et al*. Retrotransposon-like sequences integrated into the genome of pineapple, *Ananas comosus*[J]. Plant Molecular Biology, 1998,38(3): 461-465.

[27] Aradhya M K, *et al*. Isozyme variation in cultivated and wild pineapple[J]. Euphytica, 1994,79(1-2): 87-99.

[28] Izquierdo L Y, *et al*. Allozyme divergence among four species of Podaechmea s. l. and the status of Ursulaea (Bromeliaceae, Bromelioideae)[J]. Plant Systematics and Evolution, 1998,213(3-4): 207-215.

[29] Izquierdo L Y, *et al*. High genetic diversity in the only known population of *Aechmea tuitensis* (Bromeliaceae)[J]. Australian Journal of Botany, 2000,48(5): 645-650.

[30] Duval M F, *et al*. Molecular diversity in pineapple assessed by RFLP markers[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 2001,102(1): 83-90.

[31] Ruas C F, *et al*. Assessment of genetic relatedness of the genera *Ananas* and *Pseudananas* confirmed by RAPD markers[J]. Euphytica, 2001,119(3): 245-252.

[32] Duval M F. Relationships in *Ananas* and other related genera using chloroplast DNA restriction site variation[J]. Genome, 2003,46(6): 990-1 004.

[33] Gonzalez-Astorga J. Diversity and genetic structure of the Mexican endemic epiphyte *Tillandsia achyrostachys* E. Morr. ex Baker var. *achyrostachys* (Bromeliaceae)[J]. Ann Bot (Lond), 2004,94(4): 545-551.

[34] Kato C Y, et al. Intra-specific DNA polymorphism in pineapple [Ananas comosus (L.) Merr.] assessed by AFLP markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2005,51(8): 815-825.