

生物技术在兰花产业上的应用

王侠礼

(山东临沂师范学院农林学院, 276003)

中图分类号: S682.31; S603.6 文献标识码: B

文章编号: 1001-0009(2004)06-0079-02

兰花是整个兰科植物(orchidaceae)的总称, 全世界约有730多属, 21500多种, 广泛分布于全球各地, 但主要分布在热带、亚热带地区。我国约有173余属, 1240余种, 在南北各地均有分布, 但以云南、台湾、海南最为丰富。可分为三种类型, 地生兰、附生兰和腐生兰。在我国, 习惯把兰花分为国兰和洋兰。国兰一般指原产于我国, 花型小、有香气的兰属中的几个种, 主要有春兰、蕙兰、剑兰、墨兰和寒兰5种。洋兰主要是指国外生产和培育的一些大花型附生种类。目前, 兰花在世界各地逐渐成为产业。上世纪的60年代以来, 由于经济的发展, 兰花种子萌发技术的进步、组培快繁技术的应用、新品种的不断育出和栽培技术的不断提高, 兰花开始走上产业化的道路。美国、澳大利亚及东南亚的一些国家相继建立了兰花产业。许多经济不发达但拥有丰富兰花资源的国家, 如中国、印度、菲律宾等国也开始重视兰花业的发展。许多国家的兰花生产已成为花卉业甚至是农业的重要组成部分, 如荷兰、新加坡、新西兰等国家, 兰花不仅是农业的重要组成部分, 而且是很重要的创汇产业。兰花产业发展到今天, 组织培养技术功不可没。组织培养技术在兰花产业上的重大作用, 主要体现在育种和快繁两个方面。

1 在兰花育种上的应用

1.1 远缘杂交育种

远缘杂交是兰花育种的重要方法, 该方法是依赖现代生物技术而实施的。兰花种子萌发是兰花杂交育种的关键环节, 洋兰杂交种子易萌发, 萌发后形成原球茎, 成苗快, 国外已育成了多个种杂交而成的集体杂种。国兰杂交种子萌发难, 种子萌发后形成根状茎, 成苗难。国兰杂交育种进展缓慢, 其重要原因就是其杂交种子萌发难, 杂种试管苗的生产效率低。张志胜等的研究表明, 不同杂交组合产生的中间繁殖体不同, 墨兰和大花蕙兰杂交, 其杂种萌发后形成原球茎, 植株再生通过原球茎途径进行, 由于原球茎繁殖速度快, 再生植株容易, 产生的试管苗易于成活, 这一途径的成功, 为国兰的远缘杂交育种工作开辟了广阔道路。

1.2 原生质体融合

兰花原生质体融合为兰花育种开辟了新的途径, 而且倍受日益发达的兰花产业的关注。因为通过这种技术能够培养远缘杂交产生的新品种, 对兰花产业的发展有着不可估量的价值。目前, 已从卡德丽亚兰、石斛兰、蕙兰、蝴蝶兰等十几种兰花中分离得到原生质体。试验证实, 从试管苗幼叶能得到

高质量的原生质体, 存活率90%, 通过电融合, 融合率可达10%, 研究者们还从酶液、培养方式及培养基的选择等方面进行了有益的探索, 取得了一些突破。

1.3 基因工程

兰花基因工程起步晚, 进展缓慢, 主要是因为兰科植物对根癌农杆菌或发根农杆菌不敏感, 缺乏合适的载体, 而一些直接转移的方法如PEG介导和电激法成功率又不高, 但YangHH等从一种石斛兰细胞中分离出了色素合成基因, 并且得到了高度表达。他们还成功地克隆了蕙兰花叶病毒外壳蛋白基因, 用电子枪轰击法将这一基因导入兰花的原球茎和愈伤组织, 得到较高的转化表达, 给兰花基因工程带来了希望。

2 兰花的组培快繁

兰花的传统繁殖方式为分株繁殖, 繁殖系数低、速度慢; 有性繁殖时, 由于种子很小, 没有胚乳, 在自然条件下萌发率很低, 这是限制兰花繁殖速度的主要因素。20世纪初, Bernard分离出兰花的根菌, 并用其感染兰花的种子进行萌发试验, 创立了兰花种子共生萌发的方法, 推动了兰花繁殖工作的进步; 20世纪60年代, Morel采用大花蕙兰的茎尖, 将其分生组织诱导形成原球茎并分化成植株, 为实现兰花生产的工厂化奠定了基础。

到目前为止, 兰花的组织培养中几个关键时期如: 原球茎的诱导、原球茎的继代培养、壮苗的培育技术等方面的研究都取得了突破, 在工厂化育苗技术上, 我国从21世纪80年代开始研究兰花的快繁技术。目前除在春兰、剑兰、蕙兰、墨兰、寒兰等国兰的组织培养获得成功外, 对许多洋兰品种如卡特兰、蝴蝶兰、虎头兰、大花蕙兰、文心兰、石斛兰、万代兰、冬凤兰、拖鞋兰等的组织培养和工厂化生产技术也获得了成功。

2.1 原球茎的来源及增殖

除茎尖、叶片和种子外, 花瓣、萼片、子房、花梗、侧芽、花芽、茎段、根尖等外植体都已成为兰花组织培养中原球茎的重要来源。茎尖是最早用于兰花快速繁殖的外植体, 它较适于复茎性兰花, 如大花蕙兰、卡特丽亚兰、石斛兰、文心兰等, 人们对茎尖及侧芽的取材时间、最适取材部位及大小进行了深入的研究, 一般认为带1~2个叶原基的茎圆锥成活率高, 中间部位侧芽的成活率及生长率较高。但对一些单茎性兰花, 如蝴蝶兰、仙指甲兰等用茎尖作为外植体有可能丧失母株, 人们倾向于寻找其它可能的外植体。叶片作为外植体既可减少对母株的伤害, 取材又不受季节的限制, 且数量多, 是比较理想的外植体材料来源。兰花的种子用于组织培养极富前景, 在自然条件下兰花种子虽多(一个荚果约能产生104~106粒种子), 但由于其不具有发育完全的胚, 很难萌发。兰花种子在自然条件下萌发困难, 除了胚发育不完全外, 与种皮致密、透性差或种皮中含有抑制物有关。大部分兰花的种子, 可以通过处理, 以无菌萌发的方式进行萌发建立无性繁殖系。附生或半附生兰和气生兰及杂交后代的种子萌发较易, 用种子建立无性繁殖系是理想的途径。

2.2 培养基及培养条件的研究

目前, 在兰花的组织培养中, 最常用的培养基为MS、VW、KnudsonC、Kyoto、White和它们的改良型培养基, 可根据不同品种而选择合适的培养基, 如春兰要求培养基中的无机盐量要少, 蕙兰要求的量较大, 而墨兰则不敏感。目前常使用

的外源激素主要是生长素类(如 IAA、2, 4-D 和 NAA)和细胞分裂素类(如 BA、ZT 和 KT)。对不同的兰花来说,在不同的生长发育阶段所需激素的量和种类都不尽相同。据报道 2, 4-D、KT、GA3+NAA 有助于兰属杂交种原球茎的生长, 2, 4-D+GA3 有利于芽的生长, GA3+NAA 有利根的形成, NAA 和 KT 能促进兰属原球茎的生长。陈丽等在对墨兰的研究中发现 0.5 mg/L(毫克/升)NAA+10 mg/L(毫克/升)BA 有利于墨兰根状茎的增殖。蔗糖作为培养基的能源物质和渗透调节剂, 对原球茎的生长影响较大, 不同浓度对兰花组培的作用不同。2%的蔗糖有利于兰属原球茎的最好生长; 2%~3%的蔗糖促进芽的形成, 而根的分化和生长则以 5%蔗糖最适合; 10%~15%的蔗糖利于墨兰原球茎的快速生长, 长期培养可适当加大蔗糖的浓度。pH 值影响细胞的透性、代谢和培养物生长、分化, 原球茎在 pH5.0~5.4 的环境中生长最好, 过酸或近中性的环境都不合适。兰花外植体易分泌酚类物质, 引起褐变, 不利于组织培养, 活性炭可以有效的吸附酚类物质, 减少褐变。在国兰芽端诱导培养中, 生长素使用浓度范围较大(10 mg/L~50 mg/L(毫克/升)), 生长素

浓度一般高于细胞分裂素, NAA 诱导效果好于 2, 4-D 和 IBA。

3 前景与展望

随着兰花产业的发展, 利用组培技术培育无毒兰将是今后兰花组培新的方向; 在分子生物学和组织培养研究的基础上, 开展兰花的多途径综合育种, 尤其是开展种间、属间杂交结合染色体加倍而育成多倍体品种, 更具有十分诱人的利用前景。

参考文献:

- [1] 张志胜, 何琼英, 傅雪琳等. 中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(2): 62~65.
- [2] 范成明, 李枝林, 何月秋等. 兰花组织培养及分子生物学研究进展[J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 487~491.
- [3] 丁兰, 付庭治. 兰花生物工程研究进展[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2000, 36(3): 111~115.
- [4] 谭文澄, 戴策刚主编. 观赏植物组织培养技术[J]. 中国林业出版社, 2001, 9~10.
- [5] 崔德才, 徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京, 化学工业出版社, 2003, 28.

蔓枯病又叫蔓割病, 是葫芦科蔬菜的主要病害。它能危害黄瓜、南瓜、西瓜、冬瓜、丝瓜、西葫芦等, 以保护地春、秋、冬茬黄瓜和冬春茬西瓜最易发病。常常造成植株死亡, 对产量影响很大。

1 蔓枯病的症状识别

瓜类植物在成株期, 蔓枯病主要危害茎蔓和叶片, 有时也为害叶柄和果实。茎蔓发病, 多在节部出现梭形或长椭圆形病斑, 逐渐扩展可达几厘米长, 病部灰白色至黄褐色, 常有乳白色至琥珀色的汁液流出, 严重时病部腐烂、折倒, 病部以上茎叶萎蔫。发病后期, 病部干缩, 并散生小黑点, 最后病部纵裂呈乱麻状, 导致蔓枯, 但茎的维管束并不变褐色, 病部以上茎叶枯死。叶片发病时, 多从叶缘开始向内形成半圆形或“V”形病斑, 病斑逐渐扩展, 有时直径可达 20 cm~30 cm(厘米), 甚至达到半个叶片以上。病斑淡褐色至黄褐色, 隐约可见不明显的轮纹, 其上散生小黑点。后期病斑易破裂。重病株果实有时也可发病, 黄瓜多在幼果期花器感染, 病瓜尾部较细, 纵剖后可见从尾部(花器脱落部位)至向上部果肉呈淡褐色, 软化呈心腐状。

2 蔓枯病的发生特点

瓜类蔓枯病是由一种真菌(半知菌亚门的壳二孢菌 *Ascochyta citrullina*)引起的。发病部位的小黑点是病菌的子实体。病菌主要以分生孢子器或子囊壳随病残体在土壤中越冬, 也可以分生孢子附着在种子表面越冬, 还能在棚室架材上越冬。病种子播种发芽后, 可引起幼苗子叶染病。土壤中病残体所带病菌翌年直接侵染田间植株引起发病。田间菜株发病后病部产生的分生孢子借助风、雨和灌溉水传播。带菌种子通过调运可作远距离传播。条件适宜时, 分生孢子萌发, 从气孔、水孔或伤口侵入寄主内部从而引起发病。

田间温度在 20℃~25℃, 相对湿度 85% 以上时最易发病。特别是茎基部发病与土壤水分关系密切。常接触水或水分多、湿度大时, 最易发病。瓜类重茬, 低洼排水不良地及平畦栽培地发病重。种植过密、肥料不良、生长衰弱, 则易发病且病势发展快。大棚内高温、高湿、通风不良, 植株生长势差

瓜类蔬菜蔓枯病的发生与防治技术

杨田堂

(山东临沂师范学院农林学院, 276003)

或徒长时, 容易发病。靠近病田的秋棚黄瓜最易发病, 且病重。

3 蔓枯病的防治对策

3.1 使用无病田或无病植株采收的种子

播种催芽前要进行种子消毒处理。种子消毒常用 55℃ 温水浸种 15 min(分钟), 然后捞出投入冷水中冷却再催芽播种。也可用 40% 福尔马林 100 倍液浸种 30 min(分钟), 水洗后播种。还可种子重量 0.3% 的 50% 苯菌灵或 50% 福美双拌种。

3.2 轮作换茬

重病田与非瓜类蔬菜实行 2~3 年的轮作, 有一定效果。

3.3 采取地膜覆盖和高田栽培

施足充分腐熟的肥料, 增施磷钾肥, 适时追肥, 以防植株中后期脱肥早衰。合理灌水, 雨后及时排水。保护地要注意通风透气, 控制棚内温度。

3.4 清洁田园

瓜果收获后要彻底清除田间病残体, 随之深翻。初见病株要及时拔除, 深埋或烧毁, 以减少田间病菌。

3.5 药剂防治

在发病初期, 用 75% 百菌清可湿性粉剂 600 倍液、或 50% 托布津可湿性粉剂 500 倍液、70% 甲基托布津可湿性粉剂 800~1000 倍液、80% 大生可湿性粉剂 800 倍液、50% 多硫胶悬剂 500 倍液、36% 甲基硫菌灵胶悬剂 400 倍液, 隔 6 d~8 d(天)喷 1 次, 连续 2~3 次。另外, 茎蔓基部初发生的病斑, 或嫁接口产生的病斑, 可用 920 激素(稀释倍数视有效成分而定)稀释后蘸取涂抹病部, 效果很好。