

# 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,其杂交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。还可用种子重量 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。