

杓兰属植物研究现状

赵国英¹,徐宝萍²,董然¹

(1. 吉林农业大学 园艺学院,吉林 长春 130118;2. 通化市国土局 东昌分局,吉林 通化 134000)

摘要:从杓兰种质资源分布、生殖生物学、菌根生物学、药用与化学成分及栽培管理等方面综述了该属植物的研究现状,发现了杓兰属植物研究与利用存在的问题及不足,对未来发展方向进行了展望和建议。

关键词:杓兰属;研究进展;前景展望

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)08-0185-04

杓兰属(*Cypripedium*)是兰科植物中具有重要观赏价值的属之一,该属植物株型秀美多姿、花色艳丽、花形奇特,许多种是重要的观赏花卉,深受国内外广大花卉爱好者和科研人员的喜爱。国外对资源保护工作十分

第一作者简介:赵国英(1986-),女,硕士,现主要从事园林植物栽培与应用研究等工作。E-mail:zhaoguojaode@126.com

责任作者:董然(1966-),女,博士,教授,现主要从事长白山野生植物的引种驯化等科研工作。

基金项目:吉林省科技厅科技支撑资助项目(20100259)。

收稿日期:2012-12-10

[30] Schmulling T, Rohrig H, Pilz S, et al. Restoration of fertility by antisense RNA in genetically engineered male sterile tobacco plants[J]. Mol Gen Genet, 1993, 237(3):385-394.

[31] Denis M, Delourme R, Gourrent J P, et al. Expression of engineered nuclear male sterility in *Brassica napus* [J]. Plant Physiol, 1993, 101:1295-1304.

[32] 潘照明,刘玉乐,李胜国,等.玉米花粉特异启动子Zml3的克隆及活性测定(简报)[J].农业生物技术学报,1997,5(2):203-204.

重视,目前美国已将11种杓兰列入不同的濒危等级^[1]。尽管所有野生兰科植物均被列入《野生动植物濒危物种国际贸易公约》的保护范围^[2],但我国的杓兰资源仍被滥采乱挖,人为破坏严重,许多种类已处于濒危的地步。目前国内外对杓兰属植物的研究报道并不多见,该文对近年有关杓兰属资源研究成果进行总结。

1 杓兰属资源研究现状

1.1 种质资源及其分布

杓兰属植物是兰科(Orchidaceae)杓兰亚科(Cypripedioideae)的一个保育研究的热点类群,全属植物约

[33] 张爱民,肖兴国,聂秀玲.中国的植物转基因雄性不育研究[J].中国科学基金,2000(3):132-136.

[34] 李胜国,刘玉乐,朱峰,等.基因工程雄性不育烟草及其温度敏感性[J].植物学报,1997,39(3):231-235.

[35] 贾士荣,金芫军.国际转基因作物的安全性争论—几个事件的剖析[J].农业生物技术学报,2003,11(1):1-5.

Review on Male Sterility of Genetical Engineering in Plants

JIA Li-yuan, ZHANG Jian-xiang

(Shangqiu Vocational and Technical College, Shangqiu, Henan 476005)

Abstract: The strategy for constructing plant male sterile genes by genetic engineering as well as the maintaining and restoring methods of the male sterility were generalized. The hereditary property of transgenic male sterile genes and the factors affecting the expression of them were analyzed. Issues deserving of attention in the research in our country and author's suggestions were put forward, including paying attention to innovation, reducing duplication, combination of research, production and teaching, shorten the distance of research and application, strengthen the application and research on transgenic of spontaneous mutant male sterility and so on. The application prospects of transgenic male sterility were discussed. It's considered that genetically engineered ones will probably be the main type of male sterile genes applied in plant breeding.

Key words: plant;genetic engineering;male sterility;heterosis

50个种及变种,我国产32种、1个变种,约占世界种类的2/3,其中24种为特有^[3],该属植物主要分布于东亚、北美和欧洲等北半球的温带地区和亚热带山地^[2~4],在我国主要分布于华北和东北地区^[5~6],其中四川有20种,云南有16种,其它省区种数在10种左右或10种以下,吉林省有5种,主要分布在吉林东部及长白山区^[6~7]。最近有关新种和各省的新记录种的报道如下:2004年陈心启等^[8]在云南东南部发现了兰科新种麻栗坡杓兰(*C. malipoense*)和新变种大围山杓兰(*C. lichiangense* var. *daweishanense*);2005年马全宝等^[9]在甘肃省发现野生的大花杓兰(*C. macranthum*)和黄花杓兰(*C. flavidum*);同年,杨平厚等^[10]在陕西首次发现了西藏杓兰(*C. tibeticum*);2007年易思荣等^[11]在重庆金佛山自然保护区首次发现毛瓣杓兰(*C. fargesii*);2010年姜运力等^[12]在贵州发现了离萼杓兰(*C. plectrochilum*)。

1.2 生殖生物学研究

1.2.1 自然结实情况 杓兰属植物因多数自花不育导致自然结实率较低。Nilsson^[13]报道杓兰(*C. calceolus*)的结实率小于15%;Li等^[14]报道西藏杓兰的结实率只有9.57%~13.8%;国内报道扇脉杓兰(*C. japonicum*)结实率只有4.3%~8.5%^[15]、长瓣杓兰(*C. lentiginosum*)结实率为开花植株的(54.37±6.08)%^[16];郑桂灵等^[17]对无苞杓兰(*C. bardolphianum*)、黄花杓兰、离萼杓兰、西藏杓兰、绿花杓兰(*C. henryi*)、四川杓兰和小花杓兰(*C. micranthum*)进行了自花和异花授粉的结实率调查显示,异花授粉的结实率高达100%的有:黄花杓兰、西藏杓兰、四川杓兰和小花杓兰,其它杓兰异交授粉结实率为60%左右;自交授粉的结实率为100%的只有黄花杓兰和西藏杓兰,其它杓兰自交授粉的结实率为50%左右;而李鹏等^[18]报道褐花杓兰的自然结实率为45.5%~50%,但人工授粉的结实率高达80%~90%,褐花杓兰与西藏杓兰杂交的结实率为80%。

1.2.2 繁殖方法 因杓兰属植物结实率低,种子微小,现多采取分株繁殖和组织培养方式进行扩繁种苗。马全宝等^[7]在初春或休眠期选用栽培2a以上的植株,成功进行了大花杓兰和黄花杓兰的分株繁殖;鞠志新等^[19]在4月末至5月初或在花后的9~10月,切分大花杓兰根茎上的潜伏芽进行分株繁殖,扩繁系数比自繁高1倍以上。而国外则较早开展了杓兰种子无菌萌发研究,欧洲和北美一些国家杓兰的无菌繁殖已获得成功并初步实现了产业化,但国内对杓兰属植物组织培养技术的研究仅有7篇文献报道。张光飞等^[20]发现添加6-BA(1mg/mL)和NAA(1mg/mL)的改良White培养基更适合黄花杓兰种子的无菌萌发;黄家林等^[21]采用授粉后第15周的黄花杓兰种子作外植体,经过0.5%的NaClO溶液处理10min后,可使其萌发;次年黄家井等^[22]发现

添加低浓度的KT(0.4mg/L)和BA(0.2mg/L)均可提高斑花杓兰(*C. guttatum*)种子的萌发率;王艳丽等^[23]认为添加马铃薯、苹果、6-BA和KT均可提高大花杓兰种子萌发率;张毓等^[24]报道授粉后56d的大花杓兰种子萌发率最高,达到31.44%,同年张毓等^[25]对大花杓兰不同发育时期的种子进行了切片观察,认为离体萌发最佳采种期是胚体已发育成球形胚,但内珠被还未发育成内种皮的时期:即授粉后6~7周的时期;朴仁哲等^[26]报道0.5%的NaClO溶液处理大花杓兰种子160min萌发率最高,达80%,添加6-BA(0.5mg/L)最适合大花杓兰种子无菌萌发。

1.3 菌根生物学研究

Harley等^[27]认为杓兰和真菌是互利的关系,同时Hadley等^[28]也认为平衡的共生关系可在一定条件下变为寄生关系;Shimura等^[29]的研究表明二者是斗争的关系。国内对杓兰属菌根的研究起步较晚,王瑞苓等^[30]通过对黄花杓兰植株根的生长周期切片观察,发现菌根真菌与黄花杓兰是互惠互利的共生关系;同年臧穆等^[31]在黄花杓兰的根际和根皮层细胞内发现了不同阶段的小型菌核,菌核的存在表明杓兰和真菌是协同的关系;侯天文等^[32]研究发现,杓兰属与真菌之间未表现出较强的专一性,四川黄龙沟杓兰的菌根真菌多样性随生长季节转换呈现的变化规律与营养需求规律是基本一致的;高倩等^[33]对黄花杓兰、云南杓兰(*C. yunnanense*)、西藏杓兰和斑花杓兰的菌根结构及其周年动态变化进行了研究,发现真菌的新近入侵、开始被消解、消解后的残余及消解后的物质4个阶段在这4种杓兰的生活周期中周而复始地进行。

1.4 药用与化学成分研究

大花杓兰根茎及全草入药,具利尿消肿、祛风镇痛、活血祛瘀的功效,可治疗小便不利、全身浮肿、风湿性腰腿痛、癫痫等症;斑花杓兰的根茎也具有利尿、镇静、止痛、解痉、解热等功效^[34~36];林建中^[37]报道西藏杓兰根入药,味苦,微温,具有利尿、消肿、止痛、活血的功能,用于治疗风湿疼痛、下肢浮肿、跌打损伤、淋病、白带等症。鞠建华等^[38]报道褐花杓兰(*C. smithii*)所含化学成分主要是β-谷甾醇(β-sitosterol, I),对羟基苄基甲基醚(4-hydroxybenzyl methyl ether, II),对羟基苄基乙基醚(4-hydroxybenzyl ethyl ether, III),山药素I(batatasin I, 6-hydroxy-2,4,7-trimethoxy phenanthrene, IV),二[4-(β-D-吡喃葡萄糖氧)苄基](s)-(−)-2-仲丁基苹果酸酯(V)5个化合物;刘东等^[39~40]首次从西藏杓兰全草中分离鉴定了7-羟基-2-甲氧基-1,4-菲醌;7-羟基-2,10-二甲氧基-1,4-菲醌等7个不对称的菲醌类化合物二聚体。

1.5 栽培与引种驯化技术研究

1.5.1 栽培基质的选择 杓兰属植物的栽培基质中腐

殖质含量越高越好^[19],以厚达25 cm,疏松透气且有一定保水能力的腐殖土为宜^[41],而用原产地的腐殖土或针叶腐殖土、阔叶腐殖土及干苔藓粉(2:1:1)混配的基质都可成功栽培大花杓兰和黄花杓兰^[9];鞠志新等^[19]等用原生地土壤、松针腐叶土、人工配制腐殖土及田土4种基质进行引种研究,认为田土不适合于栽培杓兰;如果盆栽先用含1/3基质的花盆固定杓兰苗,然后扶正苗再轻提、填基质至苗基部,后墩实盆土即可。

1.5.2 引种驯化技术 杓兰属植物多生长在针阔混交林和阔叶林下,属于耐阴花卉,但花期具有一定的喜光性,鞠志新等^[19]报道大花杓兰引种移栽的关键因子是光照强度,遮光度在70%以上时成活率最高;在大花杓兰和黄花杓兰栽培中最忌阳光直射,夏季和初秋需遮荫,若光照太强,植株生长缓慢且矮小;若郁闭度过大,植株的茎叶易徒长并影响开花,半阴半阳的环境条件适宜栽培杓兰^[9]。适宜杓兰生长的温度是15~20℃,露地栽培冬季可耐-30℃低温。土壤水分不宜过高,一般夏季每2~3 d浇1次水,冬季每7~10 d浇1次水或自然越冬均可。在萌芽期、展叶期和孕蕾期每15 d左右喷浇1次2%的磷酸二氢钾溶液进行叶面施肥,利于其生长发育^[9]。

1.5.3 病虫害防治 大花杓兰和黄花杓兰的病害主要是叶斑病,多发生于展叶期,可用1%的多菌灵喷施防治;危害杓兰的虫害主要是兰蚧,用3%的杀灭菊脂可溶性湿剂喷施即可,杓兰的病虫害应以预防为主^[9],但鞠志新等^[19]报道在人工栽培条件下,大花杓兰未发生病虫害。

1.6 保护生物学研究

刘祥君等^[42]对大花杓兰濒危机制进行了研究,报道在种群生态学研究中,大花杓兰是超小种群,其种群年龄结构是倒金字塔型,认为导致大花杓兰种群数量减少的主要原因并不是大花杓兰不适应现有的环境条件而是人类滥采乱挖所致;张毓等^[43]也报道导致野生大花杓兰数量减少的主要原因有2点,一是栖息地破坏,二是人为过度采挖,认为迁地保育和就地保育2种保护措施均可缓解大花杓兰严重濒危的状态。

1.7 其它方面的研究

大花杓兰对环境适应性较差的主要原因是根表皮和皮层间无根被导致的^[44]。据报道,大花杓兰和杓兰的花粉都是单粒花粉且表面具数条不规则皱褶,二者的主要区别是大花杓兰的花粉皱褶呈三歧槽状,杓兰的皱褶非三歧槽状且呈纵向排列^[45];而扇脉杓兰的花粉块是未蜡质化的结构^[15]。

李鹏等^[18]报道褐花杓兰和西藏杓兰杂交亲和,且2物种没有一个明确的分类学界限,可将其合并为1个种;翁恩生等^[46]报道成龄黄花杓兰利用发育期与暖季相

吻合来适应高寒环境;孔德良等^[47]报道黄花杓兰和西藏杓兰的开花植株均可通过提高电子传递速率来提高光合速率,且开花植株降低了同化物向地下部分的分配;蔡凝枫等^[48]采用AFLP分子标记法对云南的6个黄花杓兰居群进行了遗传多样性研究,结果显示黄花杓兰的遗传多样性水平较高。

2 存在的问题

通过总结构兰属植物的研究进展,得知目前杓兰属植物主要存在以下几个问题:一是由于原生境遭到破坏和长期缺乏保护发展,导致杓兰属植物处于严重濒危的地步;二是由于杓兰属植物种子微小、自然结实率低,以及我国杓兰属植物的繁殖、育种工作起步较晚等原因,使杓兰属植物的人工驯化、栽培和繁殖存在着很大的困难;三是对野生杓兰属植物种质资源的研究只停留在对其资源和种群调查及生境监测阶段,而植物分类学、生态学、种群生物学、区系地理学、解剖学、孢粉学等方面的工作仍未开展或者刚起步。

3 建议和措施

为了更好地保护和研究利用杓兰属植物资源,未来,应该侧重于以下几个方面:一是制定和完善野生兰科植物保护的相关法律法规,严禁滥采乱挖,并加强宣传教育,利用电视、报纸等形式宣传保护野生杓兰属植物资源的重要性,通过科学引导提高社会公众保护生物多样性的自觉意识;二是认清杓兰属植物的濒危机制,提出合理有效的保护措施,突破人工驯化、繁殖及栽培的技术难关,开展引种、驯化与遗传育种工作,建立杓兰属植物的种质资源圃确保物种不消失;三是综合形态学、解剖学、孢粉学等对杓兰属植物进行分类学的研究,并利用细胞学和分子生物学等方法探讨杓兰属内、种间亲缘关系和居群演化关系等,建立分子遗传图谱,为遗传育种提供依据。

参考文献

- [1] Case M A, Mlodzeniec H T, Wallace L E, et al. Conservation genetics and taxonomic status of the rare Kentucky Lady's slipper: *Cypripedium Kentuckiense* (Orchidaceae) [J]. American Journal of Botany, 1998, 85: 1779-1786.
- [2] Cribb P. The genus *Cypripedium* [M]. Portland, Oregon: Timber Press, 1997:126.
- [3] Chen X C, Zhu G H, Ji C H, et al. Flora of China Orchidaceae [M]. Beijing: Science Press Beijing and Missouri Botanical Garden Press, 2005:25.
- [4] Cribb P, Sandison M S A. Preliminary assessment of the conservation status of *Cypripedium* species in the wild [J]. Botanical Journal of Linnaean Society, 1998:183-190.
- [5] 陈心启,吉占和.中国兰花全书[M].北京:中国林业出版社,1998:103-113.
- [6] 郎楷永,陈心启,罗毅波,等.中国植物志[M].北京:科学出版社,1999(17):34.
- [7] 李冀云,王庆礼,秦忠时,等.东北植物检索表[M].北京:科学出版

- 社,1995;892-895.
- [8] 陈心启,刘仲健.中国兰科杓兰属一新种及一新变种(英文) [J]. 云南植物研究,2004,26(4):382-384.
- [9] 马全宝,张建军.2个杓兰品种及其栽培管理技术[J].甘肃农业科技,2009(11):54-55.
- [10] 杨平厚,徐振武,冯宁,等.陕西兰科3种新记录植物[J].西北林学院学报,2005,20(3):60-61.
- [11] 易思荣,黄娅,申明亮,等.重庆金佛山自然保护区种子植物区系新资料[J].生态科学,2007,26(3):242-245.
- [12] 姜运力,罗小见,王莲辉,等.贵州草本植物新记录[J].种子,2010,9(29):68-69.
- [13] Nilsson L A. An the ecological studies of the lady's slipper, *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) [J]. Botany Notiser, 1979;329-347.
- [14] Li P, Luo Y B, Bernhardt P et al. Deceptive pollination of the lady's slipper *Cypripedium tibeticum* (Orchidaceae) [J]. Plant Systematics and Evolution, 2006, 262:53-63.
- [15] 孙海芹.独花兰和扇脉杓兰的传粉生态学[D].北京:中国科学院植物研究所,2005:65-66.
- [16] 刘仲健,陈利君,饶文辉,等.长瓣杓兰(*Cypripedium lentiginosum*)种群数量动态与生殖行为的相关性[J].生态学报,2008,28(1):111-121.
- [17] 郑桂灵,李鹏,台永东,等.杓兰属植物的开花和结实动态[J].生态学报,2010,30(12):3182-3187.
- [18] 李鹏,罗毅波.中国特有兰科植物褐花杓兰的繁殖生物学特征及其与西藏杓兰的生殖隔离研究[J].生物多样性,2009,17(4):406-413.
- [19] 鞠志新,汤君,马永吉.长白山区大花杓兰引种栽培技术[J].园林绿化,2009(1):46-48.
- [20] 张光飞,苏文华,李文庚,等.黄花杓兰种子的无菌萌发[J].植物杂志,2000,12(20):31.
- [21] 黄家林,胡虹.黄花杓兰种子无菌萌发的培养条件研究[J].云南植物研究,2001,23(1):105-108.
- [22] 黄家林,胡虹.用紫点杓兰的离体繁殖[J].植物生理学通讯,2002,38(1):42.
- [23] 王艳丽,林昊,赵洪颜,等.大花杓兰组织培养与快速繁殖植物[J].植物生理学通讯,2009,45(2):155-156.
- [24] 张毓,张启翔,赵世伟,等.大花杓兰种子形态特征与生活力测定[J].北京林业大学学报,2010,32(1):73-77.
- [25] 张毓,张启翔,赵世伟,等.濒危植物大花杓兰胚与珠被发育的研究[J].园艺学报,2010,37(1):72-76.
- [26] 朴仁哲,王艳丽,赵洪颜.濒危植物大花杓兰种子离体培养条件初探[J].安徽农业科学,2011,39(30):18428-18429.
- [27] Harley J L, Smith S. Mycorrhizal Symbiosis [M]. London: Academic Press, 1983.
- [28] Hadley G, Orchid Biology: Reviews and Perspectives[M]. Ithaca and London: Cornell University Press, 1982;83-118.
- [29] Shimura, Koda Y. Enhanced symbiotic seed germination of *Cypripedium acranthos* var. *rebunense* following inoculation after cold treatment [J]. Physiology Plant, 2005;281-287.
- [30] 王瑞苓,胡虹,李树云.黄花杓兰与菌根真菌共生关系研究[J].云南植物研究,2004,26(4):445-450.
- [31] 臧穆,王瑞苓,胡虹.黄花杓兰根内的小型菌核[J].云南植物研究,2004,26(5):495-496.
- [32] 侯天文,金辉,刘红霞,等.四川黄龙沟优势兰科植物菌根真菌多样性及其季节变化[J].生态学报,2010,30(13):3424-3432.
- [33] 高倩,李树云,胡虹.四种杓兰的菌根结构及其周年动态[J].广西植物,2009,29(2):187-191.
- [34] 严仲恺,李万林.中国长白山药用植物彩色图志[M].北京:人民卫生出版社,1997:500-501.
- [35] 江苏省植物研究所,中国医学科学院药物研究所,中国科学院昆明植物研究所.新华本草纲要[M].第3册.上海:上海科学技术出版社,1991:571-587.
- [36] 周繇.长白山野生兰花植物资源及其开发利用[J].中国野生植物资源,2002,21(2):32-33.
- [37] 林建中.奇特的西藏杓兰[J].中国花卉盆景,1998,7(15):25.
- [38] 鞠建华,邹忠杰,杨峻山.褐花杓兰化学成分的研究[J].中草药,2004,35(2):135-136.
- [39] 刘东,鞠建华,邹忠杰,等.西藏杓兰中两个新菲醌类化合物的分离与结构鉴定[J].药学学报,2005,40(3):255-257.
- [40] 刘东.三叶崖爬藤、狭叶崖爬藤及西藏杓兰化学成分研究[D].北京:中国协和医科大学,2000:74-75.
- [41] 李志清,潘晓茹,汤君,等.长白山区大花杓兰资源调查及生物学特征研究[J].园林绿化,2010(6):54-55.
- [42] 刘祥君,李强.大花杓兰濒危机制研究[J].国土与自然资源研究,1998,2(15):67-69.
- [43] 张毓,赵世伟.中国大花杓兰的濒危机制及保育对策[J].中国植物园,2009,11(24):34-41.
- [44] 李柏年,高金城.大花杓兰的根结构的扫描电镜研究[J].甘肃科学学报,1993,17(3):64-67.
- [45] 弓耀明.内蒙古兰科植物的抱粉学研究[J].内蒙古大学学报(自然科学版),1986,17(3):529-534.
- [46] 翁恩生,胡虹,李树云,等.黄花杓兰的花芽发育[J].云南植物研究,2002,24(2):222-228.
- [47] 孔德良,严宁,胡虹.开花对两种杓兰光合作用和同化产物分配的影响[J].云南植物研究,2006,28(6):639-644.
- [48] 蔡凝枫,严宁,胡虹,等.黄花杓兰云南中甸居群遗传结构及克隆多样性的分析[J].云南植物研究,2008,30(1):69-75.

Research Status of *Cypripedium* Plants

ZHAO Guo-ying¹, XU Bao-ping², DONG Ran¹

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. Dongchang Branch Bureau, Tonghua City Land Bureau, Tonghua, Jilin 134000)

Abstract: The research status on *Cypripedium* plants from the aspects of germplasm resources distribution, reproductive biology, mycorrhiza fungi biology, chemical composition and cultivation management, et al were summarized. The present problems were found out and the research direction of *Cypripedium* in the future were prospected.

Key words: *Cypripedium*; research development; prospect