

# 兰花组织培养及分子生物学研究进展

范成明<sup>1</sup> 李枝林<sup>2</sup> 何月秋<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201; <sup>2</sup> 云南农业大学园林园艺学院, 昆明 650201)

**摘要:** 就兰花的根、茎、叶、花和种子等方面的组织培养效率及外界条件的影响作简要综述, 介绍分子生物学技术用于兰花遗传多样性、分类、基因克隆和遗传改造等方面的研究进展。

**关键词:** 兰花; 组织培养; 分子生物学

**中图分类号:** S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 04-0487-05

兰花是整个兰科植物 (*Orchidaceae*) 的总称, 全世界约有 730 多属, 21 500 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, 1 240 余种, 在南北各地均有分布, 但以云南、台湾、海南最为丰富。

## 1 兰花组织培养研究进展

兰花的传统繁殖方式为分株繁殖, 繁殖系数低、速度慢, 不能满足日益增长的市场需求。兰花的组织培养始于 20 世纪 60 年代, Morel<sup>[1]</sup> 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。兰花的组织培养中有几个关键的时期: 原球茎的诱导、原球茎的继代培养 (根状茎)、壮苗的培育。根据这几个重要的时期及在其间组织培养的外界条件, 人们对兰花组织培养进行了广泛的研究。

### 1.1 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<sup>[1,2]</sup>、侧芽<sup>[2]</sup>、花芽、茎段、根尖等外植体也成为兰花组织培养中原球茎的重要来源。

从前, 植物学家认为根分生组织转化为芽体的可能性极小, 但 Stewart 等用树兰 (*Epidendrum*) 等的根开创性地培养出了原球茎和从愈伤组织分化出 1 株苗<sup>[3]</sup>。此后, 根的培养相继在不同兰花中获得了成功<sup>[4~7]</sup>。徐宏英等用大花蕙兰的幼根成功地进行组织培养, 来检测其快速繁殖的影响因素<sup>[8]</sup>。

茎尖是最早用于兰花快速繁殖的外植体, 侧芽应用也相当广泛。但对一些单茎性兰花, 如利蝴蝶兰 (*Phalaenopsis*)、仙指甲兰 (*Aerides*) 等用茎尖作为外植体有可能丧失母株, 人们倾向于寻找其他可能的的外植体; 茎尖作为外植体较适于复茎性兰花, 如大花蕙兰 (*Cymbidium*)、卡特丽亚兰 (*Cattleya*)、石斛兰 (*Dendrobium*)、文心兰 (*Oncidium*) 等, 且学者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。Sewert 等曾报道获得了兜兰 (*Paphiopedium*) 的组培苗<sup>[9]</sup>, 但此后相关报道很少。

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。不过, 以试管苗的幼叶作为外植体培养较好, 成熟幼叶对诱导反应极弱<sup>[2,10]</sup>, 这可能是由于成熟植物组织向培养基中释放高浓度抑制生长的物质, 严重影响兰花的存活<sup>[11]</sup>。但肾药兰成熟植株最上面 3 片幼叶在培养中却显示出较强的增殖能力, 在 10~12 周内基部分化出芽, 但不产生原

收稿日期: 2002-11-26; 修回日期: 2003-03-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (2002C002T); 云南省科学基金重点项目 (30160074)

\* 通讯作者: Heyueqiu@163.com

球茎; Chen 等从幼叶的叶尖表皮细胞和叶肉细胞直接培养出体细胞胚,但在 1 个月之内无愈伤组织产生,在经过下一级的培养后分化出幼苗<sup>[12]</sup>。

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  $10^4 \sim 10^6$  粒种子),但由于其不具有发育完全的胚,很难萌发。Link<sup>[13]</sup>早在 1824 年就观察到在自然条件下兰花种子萌发伴随着真菌感染的现象。Noel Bernared 在 1899 年首次认识到真菌的作用,认为真菌对种子的侵染是种子正常萌发必需的,种子与真菌之间是一种共生关系,由此创立了共生萌发法<sup>[14]</sup>。随着对共生萌发机制的研究,人们发现大部分兰花种子可以通过无菌萌发的方式进行,即非共生萌发。Bernard 以 *Ophrys* L. 的块茎配制的培养基,使卡德丽亚兰与蕾丽亚兰杂交种子成功萌发,开创了非共生萌发的先例<sup>[15]</sup>。随后,研究者用非共生萌发也对其他兰花的种子进行萌发研究,如齿瓣兰、蝴蝶兰、石斛兰、文心兰等<sup>[16]</sup>。之后,非共生萌发逐步代替了共生萌发,成为兰花组织培养的热点。相关资料显示,有些兰花的未成熟或接近成熟的种子比成熟的种子更容易萌发<sup>[17]</sup>。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。田梅生等<sup>[18]</sup>用剪刀将四季兰种皮剪破后种子的萌发率大大提高;有人用超声波法等物理方法对种皮进行处理都不同程度提高了萌发率;段金玉等对兰属 10 种植物的种子离体萌发研究时发现,用 0.1 mol/L 氢氧化钠浸泡多花兰、朵朵香、双飞燕、豆瓣绿、寒兰、套叶兰等 10~30 min,萌发率可提高 10 倍以上<sup>[19]</sup>。风兰的成熟种子用肥皂水洗净后,用 70% 的酒精浸泡 30 s,利于萌发<sup>[20]</sup>。这些预处理效果的生理机制还有待进一步研究。大部分兰花的种子,可以通过无菌萌发的方式进行萌发,附生或半附生兰和气生兰及杂交后代的种子萌发较易,而地生兰种子的萌发较难。

## 1.2 培养基及外界条件的研究

目前, 在兰花的组织培养中, 最常用的培养基为 MS、VW、Knudson C、Kyoto、White 和它们的改良型, 应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<sup>[21]</sup>。

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。Kusumoto 报道 2,4-D、KT、GA<sub>3</sub> + NAA 有助于兰属杂交种原球茎的生长,2,4-D + GA<sub>3</sub> 有利于芽的生长,GA<sub>3</sub> + NAA 有利根的形成<sup>[22]</sup>。Paek<sup>[23]</sup>发现 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 NAA + 1.0 mg/L BA 有利于墨兰根状茎的增殖<sup>[21]</sup>。

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<sup>[24]</sup>;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<sup>[25]</sup>;1.0%~1.5%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<sup>[21]</sup>。

pH 值影响细胞的透性、代谢和培养物生长、分化。从试验资料来看, 原球茎在 pH 5.0 ~ 5.4 的环境中生长最好, 过酸或近中性的环境都不合适<sup>[21]</sup>。

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,从而减少褐变<sup>[21]</sup>。

切割方式对原球茎的繁殖系数也有影响,一般认为掰开方式最有利于原球茎的生长,横切次之,纵切效果最差。但有人认为杂种兰原球茎纵切有利于苗的形成<sup>[26]</sup>,这可能与品种有关。

## 2 兰花分子生物学研究进展

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, 基因工程起步较晚, 进展缓慢<sup>[27]</sup>。



## 2.1 分类方面的研究

由于兰花属间自然杂交及属内变种、品种以及自然杂交种的存在, 仅凭形态特征较难分类<sup>[28]</sup>。我国学者利用同工酶技术和 RAPD 技术对中国兰花的品种或变种进行鉴定和分类, 得到的结果与传统的形态学分类基本相似<sup>[29~32]</sup>。Soliva 等利用系统发生学分析的方法, 依据 *Ophry* 的核糖体 DNA 和叶绿体 DNA 的序列, 认为 *Ophry* 应该分成两个类群, 这与以前的分类相矛盾, 且推测这种情况可能是该兰花系谱受到近期辐射的结果<sup>[33]</sup>。许多学者从兰花的 cDNA 文库中筛选到了许多多态微卫星位点, 并利用这些多态微卫星位点分析品种间的遗传差异。

## 2.2 基因组方面的研究

**2.2.1 特异基因的研究** 近几年从兰花的不同组织中获得了许多基因和基因相关片段<sup>[34~42]</sup>。利用同源探针的方法, 花色素的主要色素之一查尔酮的全长 cDNA 得到了其基因克隆, 其中有 3 个克隆 *OCHS3*、*OCHS4*、*OCHS8* 的序列已被测定, 研究表明, 所有 cDNA 克隆都含有 1 个 1 185 bp 的开放阅读框<sup>[34]</sup>。

很多学者对兰花花期的核酸变化进行了大量研究, 并成功地得到了许多基因和基因片段。Yu 等提取了石斛兰 (*Dendrobium madame* Thong-In) 花期和营养期的茎尖分生组织中的总 RNA, 利用 RNA 差异显示的方法, 发现在营养阶段有 53 个差异表达的 cDNA 克隆, 而在花期有 16 个专化性表达的 cDNA 片段, 在转录的基础上, 进行 Northern blot 分析证实 12 种 cDNA 是减少的, 而 8 种 cDNA 是增加的, 且序列分析表明有 5 个克隆是转录因子<sup>[35]</sup>。Yu 等从兰花转化期茎尖分生组织 (TSAMS) 得到 *gene7* (*otg7*) 并用其为探针, 从 TSAMS 的 cDNA 文库中分离出了 3 个 MADS-box 基因 (*DOMADS1*、*DOMADS2*、*DOMADS3*)。研究还表明, *DOMADS* 基因在兰花的花期起着重要作用<sup>[36]</sup>。Bui<sup>[37]</sup> 和 Ho<sup>[38]</sup> 等在蝴蝶兰中克隆到了 1-氨环丙基-1-羧酯 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) 合成酶基因 (*Phal-ACS1*、*Phal-ACS2*、*Phal-ACS3*), 这几个基因主要是在兰花不同的时期调节乙烯的合成, 为兰花花期的改造提供了遗传学依据。

Pellegrino 等从广泛分布于地中海地区的一种兰花 (*Serapsias vomeracea*) 的文库中得到微卫星位点并对 18 个位点进行引物设计, 筛选到了 6 个位点的引物, 发现这 6 个位点的等位基因数量为 3~6 个, 杂合率在 0.35~0.86 之间变化, 表现出较高的变异水平<sup>[43]</sup>。Gustafsson 等在兰花 (*Gymnadenia conopsea*) 的两个基因组文库中发现了 6 个多态性微卫星位点, 且呈较高水平变异<sup>[44]</sup>。在兰花 (*Orchid palustris*) 叶绿体基因组研究中, 发现了 1 个衔接重复子 (即小卫星位点), 该重复单元是 1 个在叶绿体 tRNA 基因内区上 16 bp 的富含 AT 的序列, 且序列大小在不同地区来源的同种兰花中存在差异, 可能作为分子标记用于群体遗传研究<sup>[45]</sup>。

**2.2.2 基因的改造** 人们还采用物理、化学、生物学等方法进行兰花基因组改造。有报道, 以春兰种子和茎尖为外植体进行组织培养, 形成原球茎后, 用紫外光和秋水仙素进行人工诱变, 得到了变异植株<sup>[46]</sup>。用粒子轰击法<sup>[47~49]</sup>, 如 Yang 等利用粒子轰击的方法将含有 *GUS-INT* 和 *NPTII* 基因转入到兰花的原球茎中, 并获正常表达和得到转基因的兰花苗<sup>[47]</sup>; 有人将 *bar* 基因转入到 3 个属 (*Brassia*、*Cattleya* 和 *Doritaenopsis*) 兰花并获得了功能表达<sup>[49]</sup>; 用基因枪法<sup>[50]</sup>对原球茎进行遗传操作, 也获得了大量变异细胞。

通过与根癌农杆菌协同培养法<sup>[51,52]</sup>, 将外源 DNA 插入到兰花基因组中, 能引起幼苗变异。如 Yu<sup>[51]</sup> 等将含有 *DOH1* 基因土壤杆菌 LBA4404 接种到原球茎的薄切片上并进行共同培养, *DOH1* 基因能在组培苗中表达, 形成了不正常的多态茎植株, 表明 *DOH1* 基因调节兰花植株的形态, 这将为利用基因工程技术来修饰兰花形态打下基础。

## 3 展望

随着兰花产业的发展, 利用组培技术培育无毒兰<sup>[53]</sup>, 将是今后兰花组培的另一个发展方向。目

前人们对兰花共生菌的研究进展缓慢。为了提高兰花种子的萌发率,深入研究兰花共生菌根及应用将是今后的一个重要研究课题。

更值得一提的是,根癌农杆菌成功地导入到了兰花的基因组中,这将大大推动兰花分子生物学研究。在分子生物学和组织培养研究的基础上,开展兰花的多条途径的综合育种,尤其是开展种间属间杂交结合染色体加倍而形成的异源四倍体具有十分诱人的利用前景<sup>[8]</sup>。

### 参考文献:

- Morel G. Producing virus-free *Cymbidium*. Am. Orchid Soc. Bull, 1960, 29: 495 ~ 497
- 王怀宇. 蝴蝶兰的快速无性繁殖. 园艺学报, 1989, 16 (1): 74 ~ 77
- Stewart J, Button J. Development of callus and plantlets from *Epidendrum* root tips cultured in vitro. Am. Orchid Soc. Bull, 1978, 47: 607 ~ 612
- Tanaka M, Senda Y, Hasegawa A. Plantlet formation by root-tip culture in *Phalaenopsis*. Am. Orchid Soc. Bull, 1976, 45: 1022 ~ 1024
- Kerbaux G B. Plant regeneration of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) by means of root tip culture. PL. Cell Rep., 1984, (3): 27 ~ 29
- Philip V J, Nainar A Z. Clonal propagation of *Vanilla planifolia* (Salisb) Ames using tissue culture. J. Plant physiol., 1986, 122: 211 ~ 215
- Sanchez M L. Micropropagation of *Cyrtopodium* (Orchidaceae) through root-tip culture. Lindleyana. 1988, (3): 93 ~ 96
- 徐宏英, 赵玉明, 谢海军, 等. 大花蕙兰组培快繁影响因素分析. 园艺学报, 2002, 29 (2): 183 ~ 185
- 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术. 北京: 中国林业出版社, 1991. 237 ~ 247
- 吴汉珠, 王续衍, 林泰碧. 中国兰茎顶组织培养研究. 园艺学报, 1987, 14 (3): 203 ~ 207
- Compton M E, Preece J E. Exudation and explant establishment. Intl. Assoc. Plant Culture Newsl., 1986, 50: 9 ~ 18
- Chen J T, Chang C, Chang W C. Direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium* Gower Ramsey and subsequent plant regeneration. Plant Cell Reports, 1999, 19 (2): 143 ~ 149
- Link H F. *Elementa Philosophiae Boticae*. Bedin: Sumptibus Haude & Spener, 1824. 486
- Bernard N. Sur la germination du neottia nidus-avis. Compt. Rend Acad. Sci. Paris, 1899, 128: 1253 ~ 1255
- Bernard N. Levolution dans la symbiose les orchidees et leurs champignons connensaux. Ann. Sci. Nat. Bot. Ser., 1909, 9 (9): 191 ~ 196
- Arditti J. Factors affecting the germination of orchid seeds. Botany Rev., 1967, 33: 91 ~ 97
- Arditti J, Michand J D, Olova A P. Seed germination of North American orchids. Bot. Caz., 1981, 142 (4): 442 ~ 453
- 田梅生, 王伏雄, 前南芬, 等. 四季兰离体萌发及器官建成的研究. 植物学报, 1985, 27 (5): 455 ~ 459
- 段金玉, 谢亚红. 在无茵条件下激素和种子处理对兰属十种植物种子萌发的影响. 云南植物研究, 1982, 4 (2): 197 ~ 201
- 杨柏云, 杨宁生. 风兰的离体繁殖. 植物生理学通讯, 1997, 33 (2): 125 ~ 129
- 陈 丽, 潘瑞炽, 陈汝民. 墨兰原球茎生长研究. 热带亚热带植物学报, 1999, 7 (1): 59 ~ 64
- Kusumoto M. Interform variation of the proliferation, organogenesis and effects of growth regulating substances on *Cymbidium* protocorms cultured in vitro. J. Japan Soc. Hort. Sci., 1980, 48 (4): 510 ~ 518
- Paek K Y, Chun C K. Physiological characteristics of *Cymbidium* protocorm cultured in vitro. II Effects of several substances on organogenesis and subsequent growth of protocorm. Korean J. Plant Culture, 1983, 10 (1): 27 ~ 35
- Kusumoto M. Effects of coconut milk, agar, and sucrose concentrations, and media pH on the proliferation of *Cymbidium* protocorm-like bodies cultured in vitro. J. Japan Soc. Hort. Sci., 1980, 48 (4): 503 ~ 509
- Paek K Y, Chun C K. Physiological characteristics of *Cymbidium* protocorm cultured in vitro. III Effects of temperature, sucrose concentration, and physical condition of medium on organogenesis of protocorm. Korean J. Plant Culture, 1983, 10 (1): 35 ~ 44
- 张志胜, 欧秀娟. 墨兰的组织培养. 园艺学报, 1995, 22 (3): 303 ~ 304
- 丁 兰, 付庭治. 兰花生物工程研究进展. 西北师范大学学报 (自然科学版), 2000, 36 (3): 111 ~ 116
- 吴应祥. 中国兰花. 第2版. 北京: 中国林业出版社, 1993. 26 ~ 64
- 梁红健, 刘 敏, 林 鸣, 等. 中国兰花 (*Chinese Cymbidium*) 部分品种的叶片同工酶分析. 实验生物技术学报, 1997, 30 (3): 343 ~ 348
- 孙彩云, 张明永, 梁承邨, 等. 墨兰、春兰变种和品种间同工酶分析. 园艺学报, 2002, 29 (1): 75 ~ 77
- 叶庆生, 文 李, 潘瑞炽. 利用同工酶和 SDS-PAGE 技术对一些兰属 (*Cymbidium*) 品种的分析 (简报). 热带亚热带植物学报, 1999, 7 (4): 337 ~ 341
- 梁红健, 刘 敏, 钟志宇, 等. 中国部分兰花品种 RAPD 分析. 园艺学报, 1996, 23 (4): 365 ~ 370
- Soliva M, Kocyan A, Widmer A. Molecular phylogenetics of the sexually deceptive orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae) based on nuclear and

- chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, 20 (1): 78 ~ 88
- 34 Liew C F, Loh C S, Lim S H, et al. Cloning and characterization of full-length cDNA clones encoding chalcone synthase from the orchid *Bromheadia finlaysoniana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1998, 36 (9): 647 ~ 656
  - 35 Yu H, Goh C J. Differential gene expression during floral transition in an orchid hybrid *Dendrobium madame* Thong-In. *Plant Cell Reports*, 2000, 19 (9): 926 ~ 931
  - 36 Yu H, Goh C J. Identification and characterization of three orchid MADS-box genes of the *AP1/AGL9* subfamily during floral transition. *Plant physiology*, 2000, 123 (4): 1325 ~ 1336
  - 37 Bui A Q, O'Neill S D. Three 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase genes regulated by primary and secondary pollination signals in orchid flowers. *Plant physiology*, 1998, 116 (1): 419 ~ 428
  - 38 Ho K K. Characterization of polyphenol oxidase from aerial roots of an orchid, Aranda 'Christine 130'. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1999, 37 (11): 841 ~ 848
  - 39 Liew C F, Goh C J, Lim S H, et al. The isolation, molecular characterization and expression of dihydroflavonol 4-reductase cDNA in the orchid, *Bromheadia finlaysoniana*. *Plant Science*, 1998, 135 (2): 161 ~ 169
  - 40 Wang N N, Chang Y Y, Yang S F. Differential expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase genes during orchid flower senescence induced by the protein phosphatase inhibitor okadaic acid. *Plant physiology*, 2001, 126 (1): 253 ~ 260
  - 41 Yu H, Yang S, Goh C. *DOH1*, a Class 1 knox gene, is required for maintenance of the basic plant architecture and floral transition in orchid. *The Plant Cell*, 2000, 12 (11): 2143 ~ 2159
  - 42 Nadeau J A, Zhang X S, Li J, et al. Ovule Development: Identification of stage- and tissue-specific cDNAs. *The Plant Cell*, 1996, 10: 213 ~ 239
  - 43 Pellegrino G, Cafasso D, Widmer A, et al. Isolation and characterization of microsatellite loci from the orchid *Serapias vomeracea* (*Orchidaceae*) and cross-priming to other *Serapias* species. *Molecular Ecology Notes*, 2001, 1 (4): 279 ~ 280
  - 44 Gustafsson S, Thoren P A. Microsatellite loci in *Gymnadenia conopsea*, the fragrant orchid. *Molecular Ecology Notes*, 2001, 1 (1): 1 ~ 2
  - 45 Cafasso D, Pellegrino G, Musacchio A, et al. Characterization of a minisatellite repeat locus in the chloroplast genome of *Orchis palustris* (*Orchidaceae*). *Current Genetics*, 2001, 39 (5/6): 394 ~ 398
  - 46 林 芬, 邓国础. 春兰人工诱变的研究. *湖南农业大学学报*, 1997, 23 (4): 336 ~ 340
  - 47 Yang J, Shin D H, Oh S K, et al. Genetic transformation of *Cymbidium* orchid by particle bombardment. *Plant Cell Reports*, 1999, 18 (12): 978 ~ 984
  - 48 Knapp J E, Chandlee J M, Kausch A P. Transformation of three genera of orchid using the bar gene as a selectable marker. *Plant Cell Reports*, 2000, 19 (9): 893 ~ 898
  - 49 Knapp J E, Kausch A P, Chandlee J M. Genetic transformation and hybridization: transformation of three genera of orchid using the bar gene as a selectable marker. *Plant Cell Reports*, 2000, 19 (9): 893 ~ 898
  - 50 陈志俊, 明小天, 刘荣维, 等. 兰花圆球茎基因枪转化后的 *GUS* 基因表达. *高技术通讯*, 2000, 10 (4): 94 ~ 96
  - 51 Belarmino M M, Mii M. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of a phalaenopsis orchid. *Plant Cell Reports*, 2000, 19 (5): 435 ~ 442
  - 52 Yu H, Yang S H, Goh C J. Genetic transformation and hybridization: *Agrobacterium*-mediated transformation of a *Dendrobium* orchid with the class 1 knox gene *DOH1*. *Plant Cell Reports*, 2001, 20 (4): 301 ~ 305
  - 53 朱根发, 王怀宇. 文心兰脱毒快繁技术研究. *广州农业科学*, 1997, 4: 27 ~ 28

## Advances on Orchid Tissue Culture and Molecular Biology

Fan Chengming<sup>1</sup>, Li Zhilin<sup>2</sup>, and He Yueqiu<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Plant Protection College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; <sup>2</sup>College of Gardening and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** The efficiency of orchid tissue culture through root, stalk, leaf, flower and seed and the influence of the exoteric environments on the tissue culture are briefly summarized and the molecular biology used for genetic diversity, taxonomy, gene cloning and genetic modification of orchid is evaluated in this review.

**Key words:** Orchid; Tissue culture; Molecular biology