

木兰属植物组织培养技术研究综述*

邓演文 林洁莹 吴乔娜 刘婷婷 刘梦奇 邓小梅

(广东省森林植物种质创新与利用重点实验室/华南农业大学 林学与风景园林学院, 广东 广州 510642)

摘要 木兰属 (*Magnolia*) 是地球上最原始的植物属之一, 由于人类的过度利用和环境的变化, 野生资源急剧减少, 部分种处于濒危状态, 而植物组织培养技术是珍稀濒危物种繁殖、种群扩大及保护性开发利用的有效途径。近年来, 开展木兰属植物组培快繁研究增多, 取得长足发展, 为生物多样性保护及繁殖提供了条件。文章概述了木兰属植物组培常用的外植体取材的部位与季节、基本培养基的选择、植物生长调节剂浓度的调配及培养的环境条件等, 并探讨了研究过程存在的问题及研究展望。

关键词 木兰属; 组织培养; 研究综述

中图分类号: S722.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-2053 (2018) 05-0118-07

Overview in Tissue Culture of *Magnolia*

DENG Yanwen LIN Jieying WU Qiaona LIU Tingting
LIU Mengqi DENG Xiaomei

(College of Forestry and Landscape Architecture/South China Agriculture University, Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract The *Magnolia* is one of the most primitive genus on the earth. Due to human overuse and environmental changes, wild resources have been drastically reduced and some species are endangered. The method of plant tissue culture is an effective way to reproduce, utilize and expand the population of rare and endangered species. In recent years, the research on *Magnolia* tissue culture and rapid propagation of plants has increased and significant development, which can provide conditions for biodiversity conservation and reproduction. This paper summarized the parts and seasons of explants commonly that used in tissue culture of *Magnolia*, the selection of basic medium, the concentration of plant growth regulators and the environmental conditions of culture. The problems in the research process and the research prospects were discussed.

Key words *Magnolia*; tissue culture; overview

木兰属隶属于木兰科 (Magnoliaceae), 是木兰科最具有代表性的属。该属约涵盖 70 种植物, 主要分布在亚洲热带、温带地区及北美洲至南美洲的委内瑞拉东南部^[1]。我国约有 30 种, 其中 23 种为我国特有, 主要分布在云南、四川、广西等省区^[2-3]。木兰属植物具有树形通直, 花大

色艳等特点, 是优质的园林绿化树种^[4]。研究表明, 木兰属多种植物具有药用效果。例如厚朴 (*Magnolia officinalis*), 干燥的树皮具有温中、行气、祛湿、祛痰功效^[5]; 望春花玉兰 (*M. biondii*)、白玉兰 (*Michelia alba*) 和武当玉兰 (*M. sprengeri*) 的干燥花蕾可入药, 具有镇痛、镇静、

* 基金项目: 林业公益性行业科研专项经费项目 (201404116); 广东省林业科技创新项目 (2014KJ CX006、2017KJ CX023)。

第一作者: 邓演文 (1995—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为林木遗传育种, E-mail: hinmentang@gmail.com。

通信作者: 邓小梅 (1966—), 女, 教授, 主要从事林木遗传育种研究, E-mail: dxmei2006@scau.edu.cn。

消炎、降压等功效，为常用中药材^[6]；柳叶木兰 (*M. salicifolia*)、皱叶木兰 (*M. praecocissima*)、弗吉尼亚木兰 (*M. virginiana*) 以及天女木兰 (*M. sieboldii*) 花被片中的苯乙醇苷具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗肿瘤、抗氧化等功效^[7]；荷花玉兰 (*M. grandiflora*) 中的木酚素不但能破坏疟疾病原体，还能起到抗肿瘤的作用^[8-9]。此外，该属多种植物具有抗性，如二乔玉兰 (*M. soulangeana*) 和白玉兰对有害气体有较强的吸附作用^[9-10]，是优良的抗污染树种。由于人类的过度利用和环境的变化，景宁木兰 (*M. sinostellata*)、红花玉兰 (*M. wufengensis*) 等野生资源急剧减少，处于濒危或极度濒危状态。同时，在自然条件下木兰属植物有性繁殖困难^[11]，常规无性繁殖成活率不高，无法满足市场需求。综合而言，植物组织培养技术是木兰属植物的繁殖、珍稀濒危物种种群扩大及保护性开发利用的有效途径。现就木兰属组织培养技术研究作以下综述。

1 外植体取材

从理论上讲，植物细胞都具有全能性，若培养条件合适，任何组织、器官都可以经过诱导再生形成完整植株。从现有研究看，用于木兰属组织培养的外植体几乎涵盖了植物的所有器官，如茎、叶、花、种子。但实际上，不同植物、同种植物不同器官或组织、取材时间等均会影响其对外界诱导的反应能力^[12]。外植体采集的时间和部位也会影响组织培养过程中的褐化率、污染率及存活率。因此，在适当的时间选择适当的外植体进行诱导培养尤为重要。

不同季节取材影响外植体的成活率及褐化率。唐军荣等^[13]分别于6月和12月采集红花山玉兰 (*M. delavayi*) 进行研究，发现6月取材的外植体污染率较12月低，但死亡率较12月高。Ana-Maria^[14]认为，星花木兰 (*M. stellata*) 和玉兰与二乔玉兰杂交种 (*Magnolia* × *M. soulangeana*) 的外植体在11—12月芽休眠时为最佳取材时间。周丽艳等^[15]将春、夏及冬季的白玉兰芽进行组培，发现夏季取材的外植体褐化率显著高于春季和冬季。春季，木兰属植物从休眠中恢复，代谢活动仍较弱，褐化程度相对较低，带菌量也较少，芽生长力旺盛；夏季，植物进入旺盛的生长阶段，虽然嫩芽生长力旺盛，但植物代谢活动在一年中达到

最高水平，因此外植体褐化率会高于其他季节，内生菌含量也相对较高，导致外植体进瓶成活率降低；秋季，气温降低，嫩芽生长减缓，植物代谢降低，内生菌数量减少，外植体进瓶褐化率及污染率降低，是较好的取材季节；冬季，植株进入休眠状态，嫩芽停止生长，代谢活动降低到一年中最低水平，内生菌含量最少，此时将外植体进瓶，可打破休眠状态，使外植体迅速生长。

不同取材部位影响木兰属组织培养过程中的褐化率、成活率以及外植体重新形成完整植株的难易程度。Kamenicka等^[16-17]摘取玉兰与二乔玉兰杂交种百年老树的嫩枝成功诱导出完整组织培养苗植株。徐石等^[18]认为，天女木兰外植体取材部位与褐化率密切相关。他们发现，侧芽褐化率相对较低，其次是顶芽，带芽茎段褐化率最高。怀慧明等^[19]通过对红花玉兰再生植株的研究发现，看见从种子、腋芽、叶片和带芽茎段4种外植体中，选出带芽茎段为最佳外植体，褐化率较低，成活率较高，与唐军荣等^[13]的研究结果一致。王琪等^[20]以荷花玉兰的叶芽、花托、花被、雄蕊和雌蕊为材料诱导愈伤组织，结果表明花托和叶芽最容易产生愈伤组织，且生长量大，对激素浓度要求不严。Merkle等^[21-22]分别使用金字塔玉兰 (*M. pyramidata*)、北美大叶木兰 (*M. macrophylla*)、弗吉尼亚木兰、福来氏木兰 (*M. fraseri*) 以及尖头木兰 (*M. acuminata*) 未成熟的种子，通过胚胎发生途径培育出完整的组织培养苗。一般情况下，木兰属幼嫩的芽分化程度比较低，较容易进行再分化，次生代谢产物也较少，不容易褐化，因此较幼嫩的芽更适合作为组织培养的外植体。当然，其他取材部位也可以将外植体诱导形成完整的植株，但难度相对于幼芽来说更大，因为其他部位高度分化，不易恢复其快速分裂的能力。

2 基本培养基

迄今为止，基本培养基的配制类型多样，常用的有MS (Murashige & Skoog)、B5、WHITE、WPM (Wood Plant Medium)、DCR以及N6。在木兰属组织培养中，大部分植物在MS基本培养基上诱导增殖正常，如白玉兰^[23]、紫玉兰 (*M. liliiflora*)^[24]、二乔玉兰^[25]、荷花玉兰^[25]、红花玉兰^[26]等。徐棉芬^[25]在研究二乔玉兰组织培养时

发现,在MS、1/2 MS以及B5培养基中都可以诱导出芽,而在WPM培养基中不能诱导出不定芽。Parris等^[27]在对星花木兰与紫玉兰的杂交种(*M. stellata*×*M. liliiflora*)的培养中发现,Blaydes培养基不利于丛生芽增殖,而MS培养基诱导增殖最好,增殖率达到3.2。但在部分木兰属组织培养研究中,陆秀君等^[28]认为WPM培养基更适合幼胚的发芽。Kamenicka等^[17]对比S、1/2 S、WPM以及1/2 WPM4种基本培养基对朱砂玉兰的诱导效果时发现,S培养基诱导效果最佳,组织培养苗的鲜质量、干质量以及鲜质量与干质量的比值都是最高。杜凤国等^[29]利用天女木兰枝条以及实生苗茎段进行组织培养时发现,对比MS、B5等培养基,在WHITE培养基中,侧芽萌发晚,褐化严重,在B5培养基中生长状况最好。可见选择合适的培养基能显著提高组织培养芽的生长效果。

在生根培养中,无机盐含量只需为增殖培养时的一半,即可满足生根培养所需养分,有的甚至在1/3或者1/4的无机盐含量条件下生根率更高。谭泽芳等^[30]认为,MS培养基对根诱导效果不好,在1/2 MS培养基中根诱导有明显效果。孟雪^[23]则发现,白玉兰在1/2 MS培养基以及1/4 MS培养基中都能生根。Kamenicka等^[17]认为,1/2 S培养基较适合朱砂玉兰的生根培养。Sokolov等^[31]使用MS、VM、RUGINI及DKW 4种基本培养基均能诱导紫玉兰芽出根。

3 其他培养条件

综合来看,在木兰属组织培养中所选择的蔗糖浓度、pH、培养温度、光照强度以及光照时间相差不大,分别是蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH 5.4~6.0,培养温度 $23\sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 $1\ 000\sim 3\ 000\text{ lx}$,光照时间 $10\sim 16\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。但有机附加物及抗氧化剂的种类和浓度相差较大。

在木兰属组织培养中,通常使用 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的蔗糖,但也有研究认为其他碳源或浓度更适合木兰属植物的组织培养。Wojtania等^[32]对比不同糖质量浓度下,二乔玉兰对不同浓度6-BA的响应不同。低糖($20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)情况下,低幅度升高6-BA浓度导致嫩芽数目显著降低,而在高糖($30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)情况下嫩芽数目下降不显著。然而,增加糖浓度会导致组织培养苗酚含量升高,褐化严重。Kim等^[33]研究厚朴体细胞胚胎再生时发现,蔗糖含量

为 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时体细胞胚胎数目最多,但使用葡萄糖作为碳源时,质量浓度为 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时较适合体细胞胚胎的发育。Merkle等^[22]则认为, $40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的蔗糖较适合弗吉尼亚木兰、福来氏木兰以及尖头木兰的生长。综上可得,在木兰属组织培养中糖质量浓度变化幅度通常在 $20\sim 40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

使用不同种类、浓度的抗氧化剂,对木兰属植物组织培养的抗氧化效果差异较大。高红兵等^[34]对比VC(Vitamin C)、AC(Activated Carbon)、PVP(Polyvinyl Pyrrolidone)3种抗氧化剂的用量及效果发现,在培养基中添加 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ VC后,褐化率仅为12.2%,显著低于对照组52.2%;在培养基中添加 $1\ 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PVP后,褐化率仅为17.8%,也显著低于对照组。徐石等^[35]认为,在天女木兰组织培养过程中,添加 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVP时褐化率最低,仅为10%,而随着VC和AC浓度升高,褐化率均降低,但浓度过高会影响生长。周丽艳等^[15]认为,添加 $50\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫代硫酸钠能抑制白玉兰芽的褐化,且促进生长;添加 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸白玉兰芽的褐化率为0;低浓度的PVP也能抑制褐化,但高浓度PVP不能抑制褐化;VC与PVP的效果相似。Parris等^[27]用 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ AC或PVP抑制星花木兰与紫玉兰杂交种组织培养过程中的褐化时发现,AC促进芽伸长,但抑制芽的增殖;而PVP促进芽的增殖但抑制芽的伸长。除了常用的几种三种抗氧化剂,Folgado等^[36]发现,在北美大叶木兰和阿什木兰(*M. ashei*)组织培养过程中,高浓度($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的间苯三酚能很好的抑制褐化,但愈伤组织随着间苯三酚的浓度增加而增加。综上可得,不同种类的抗氧化剂均可抑制褐化,但浓度不宜过高,会影响生长或减弱抑制褐化效果。

在木兰属组织培养中,无机物螯合铁盐比未螯合铁盐更适合二乔玉兰与荷花玉兰的增殖及生根,其表现为在继代培养中,芽更多且更长、叶片更多;在生根培养中,螯合铁盐培养基中的生根数量比未螯合铁盐培养基中的生根数量高20%~40%,侧根也较多^[37]。

在木兰属组织培养中,Sokolov等^[38]研究有机物维他命对二乔玉兰以及荷花玉兰组织培养的影响时发现,在含有正常维他命含量培养基中的苗增殖芽数量、叶子数量、芽鲜质量与干质量均比不含或富含维他命的培养基中的增殖芽高。

4 初代培养

木兰属植物在诱导培养阶段一般不需要添加高浓度的植物生长调节剂。孟雪^[23]以MS为基本培养基,配合6-BA $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和NAA $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,10 d后成功将白玉兰休眠顶芽诱导出4个不定芽,且无玻璃化现象;同时发现,在添加高浓度生长调节剂的培养基中,30 d后出现褐化现象。同样以白玉兰为材料,褚建民等^[39]将白玉兰种子播种在添加6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和NAA $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的B5以及SH培养基中,结果表明这两种配方萌发率相差不大,均达到80%以上;但添加高浓度的6-BA和NAA时,种子的萌发率降低。在添加高浓度细胞分裂素的基础上,王奇等^[40]筛选出红花山玉兰最佳诱导培养基为MS+6-BA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IAA $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,培养9 d可以观察到芽变绿,16 d开始抽芽,到21 d芽可生长至2 cm。周丽华等^[41]把经过消毒的紫玉兰外植体接入MS+6-BA $0.1\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.1\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基中,4~6周顶芽和腋芽均开始萌动。徐棉芬^[25]研究发现,在MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基上,二乔玉兰枝条腋芽诱导率可以达到60%。杜凤国等^[29]在研究天女木兰组织培养时发现,高浓度的细胞分裂素对诱导侧芽不利,因此选出B5+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳诱导培养基,诱导率达到72%。综合来看,在木兰属植物初代培养中,细胞分裂素等植物生长调节剂的质量浓度不宜过高,否则影响侧芽的诱导及生长。

5 继代培养

继代培养过程中,芽的质量、增殖系数、有效芽数等直接影响到组培的成功及规模化育苗的成本。李艳等^[42]在研究白玉兰、二乔玉兰以及紫玉兰组织培养时发现,3种玉兰均在20 d开始分化不定芽,白玉兰与紫玉兰在最适培养基中增殖率只有49%和40%,而二乔玉兰的增殖率高达80%,说明二乔玉兰较白玉兰与紫玉兰更容易增殖分化。王奇等^[40]将诱导出的红花山玉兰芽接入MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的继代培养基,10 d开始分化,21 d可以分化出4个大于0.5 cm的不定芽。可知不同种的木兰属植物增殖分化难易度不一。

孟雪^[23]在白玉兰增殖培养时发现6-BA质量浓度大于 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 芽开始出现褐化,且浓度越高褐化出现的时间越短。陆秀君等^[24]在对紫玉兰继代培养时发现,当6-BA达到 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽出现极短节间,不利于生根培养。褚建民等^[39]认为,6-BA和NAA较ZT、KT、IBA、2,4-D、IAA更适合白玉兰增殖培养。徐棉芬^[25]的研究结果表明,二乔玉兰最适继代培养基为MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,增殖系数可达6,且叶色嫩绿,生长健壮。Marinescu等^[43]认为,对于二乔玉兰的组织培养,6-BA或KT在 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时表现出最佳增殖率,但 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的6-BA或KT有利于芽的伸长。综合来看,在木兰属植物组培增殖培养阶段,高浓度的细胞分裂素会导致愈伤组织过度膨大以及出现褐化现象,更有甚者出现莲花状芽,不利于增殖与生根培养。

6 生根培养

木兰属植物扦插生根较困难,组培苗生根同样如此,表现为生根率普遍不高,但也不乏部分植物在适当的生根培养基中生根率达80%以上。怀慧明^[44]研究变种红花玉兰组织培养时,6-BA、IBA、NAA 3种激素配合使用,茎基部出现愈伤组织及褐化现象但未生根。陆秀君等^[24]把紫玉兰继代芽接入MS+NAA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的根诱导培养基中暗处理20 d后,转入不加任何激素的1/2 MS培养基中,15 d左右可出根,生根率达35%。同样是以紫玉兰为材料,周丽华等^[41]认为紫玉兰最适生根培养基为1/2 MS+IBA $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,生根率90%,显著高于陆秀君等人的研究结果。Kamenicka等^[16-17]研究不同碳源对朱砂玉兰生根的影响,结果表明,在激素为6-BA $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 情况下,果糖、甘露糖以及木糖较蔗糖更适合朱砂玉兰生根,而阿拉伯糖、鼠李糖和山梨糖不利于根的形成;在添加IBA $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的1/2S培养基中,生根率最高,但IBA质量浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,平均根长度最长,表明浓度过高抑制根的伸长。谭泽芳等^[30]认为,少量的NAA有助于根的诱导,但当NAA超过 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时会刺激愈伤组织增殖,因此,在1/2 MS+NAA $0\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $1.5\sim 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +AC $0.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基上,

荷花玉兰不定芽一周左右长出比较健壮的根,生根率可达50%~60%。李艳等^[42]分别把白玉兰、二乔玉兰和紫玉兰高2.0 cm、3~4片叶的芽接种在1/2 MS+NAA 1.0 mg·L⁻¹生根培养基上,生根率分别为68%、81%、43%。孟雪^[23]将白玉兰组织培养苗分别接在1/2 MS+IBA 0.2 mg·L⁻¹和1/4 MS+IBA 0.5 mg·L⁻¹两种生根培养基,生根率均达80%,平均根数3~4,根较粗壮,根长1~2 cm,两种培养基上的生根率和根数差别不大。Parris等^[27]在对星花木兰与紫玉兰杂交种的生根培养时,添加AC有助于提高生根率、根数及根长。综上所述,木兰属植物均需添加生长素才可有较高的生根率,部分植物需要添加低浓度的细胞分裂素;植物生长调节剂浓度不宜过高,否则会抑制根的伸长或刺激愈伤组织增殖;同时,添加低浓度的AC可优化生根效果。

7 体细胞胚胎发生

体细胞胚胎发生是指组培过程中外植体以胚胎发生方式形成再生植株,其优点是繁殖速度快,结构完整、不需要再发根过程,是生根困难树种离体快繁的有效途径。李荣贵等^[10]在对白玉兰花药愈伤及胚状体诱导的研究发现,在MS+6-BA 1 mg·L⁻¹+NAA 3 mg·L⁻¹的培养基中,愈伤组织诱导率最高,可以达到35.2%,长势也最好;6-BA浓度一定时,愈伤组织诱导率随NAA浓度的升高,胚状体诱导率也呈上升趋势。褚建民等^[39]认为,因为白玉兰组织培养褐化的问题,叶片很难获得愈伤组织,而茎段和根仅能获得少量愈伤组织。赵松峰^[6]以紫玉兰花瓣为材料,认为最佳的愈伤诱导培养基为MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹,诱导率为31.1%;当6-BA浓度相同时,随着NAA浓度的增大,愈伤组织的诱导率逐渐减小;当NAA浓度相同时,随着6-BA浓度的增大,愈伤组织的诱导率先增大后减小。王琪等^[20]对比荷花玉兰不同组织产生愈伤组织的难易程度,发现花托和叶芽最容易产生愈伤组织,且生长量大,对激素的浓度要求不严;雄蕊、雌蕊及花被片不易产生愈伤组织,对激素浓度的配比要求较严格。怀慧明等^[19]认为红花玉兰带芽茎段的愈伤组织出愈率最高,植物生长调节剂组合为MS+6-BA 12 mg·L⁻¹,KT 5 mg·L⁻¹,NAA 1.2 mg·L⁻¹和IBA 2 mg·L⁻¹,同类植物调节剂两者结合使用

效果明显高于单独使用。谭泽芳等^[30]成功通过荷花玉兰叶芽和花托在MS+2,4-D 1.5 mg·L⁻¹+NAA 1.5 mg·L⁻¹+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+AC 0.8 g·L⁻¹上诱导出胚状体,导出胚状体后转入MS+2,4-D 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+AC 0.8 g·L⁻¹继续培养,3周后可长出幼苗。

目前,国外对胚状体的研究较国内多。Merkle等^[22]使用弗吉尼亚木兰、福来氏木兰以及尖头木兰未成熟的种子,在培养基中添加2,4-D 2 mg·L⁻¹和6-BA 0.25 mg·L⁻¹以及1 g·L⁻¹干酪素水解物,经过两个月生长,体细胞胚胎或原胚团从胚乳团中分裂出来;把体细胞胚胎转移到不含激素的培养基使胚胎成熟,再转移至不含干酪素水解物的培养基使之发芽。Kim等^[33]用厚朴未成熟种子,通过体细胞胚胎途径,对比不同激素以及碳源对体细胞胚胎培养及转化成完整植株的影响,结果表明,MS+2,4-D 1 mg·L⁻¹+TDZ 0.01 mg·L⁻¹+谷氨酰胺 1 mg·L⁻¹效果最佳,6%愈伤诱导率以及8%合子萌发率;25%体细胞胚胎在1/2 MS+GA 3 mg·L⁻¹的培养基中转化成完整植株。Mata-Rosas等^[45]将墨西哥大叶木兰用合子胚通过体细胞胚胎和直接器官发生的途径再生,他们发现在WPM+0.01 mg·L⁻¹或0.02 mg·L⁻¹ 2,4-D的培养基中,20%合子胚直接器官发生,而65%形成体细胞胚胎;转接至WPM培养基配合1 mg·L⁻¹ AC生根,移栽成活率为90%。Merkle等^[46]使用金字塔玉兰未成熟种子,在质量浓度为0.04 mg·L⁻¹的2,4-D和质量浓度为0.005 mg·L⁻¹的6-BA配合1 g·L⁻¹酪蛋白水解物的半固体培养基上培养7~10周,形成原胚质;转接到不含激素的培养基中的原胚质形成体细胞胚,再转接到不含酪蛋白水解物的相同培养基中发芽。

总体上看,木兰属植物愈伤组织诱导困难,多种器官或组织可诱导出愈伤组织,但何种组织最易诱导暂无定论;生长素与细胞分裂素的结合使用能促使愈伤组织及胚状体的产生;同时,添加有机物有助于体细胞胚胎的形成。

8 展望

木兰属植物组织培养技术虽起步较晚,但在基本培养基的应用、外植体的选择、初代培养、继代培养以及生根培养等方面均已取得较大进展,部分木兰属植物已成功由外植体诱导培养形成完

整植株。但目前木兰属植物组织培养技术仍然存在不少问题, 例如研究涉及树种少、组培过程中的褐化及生根困难、愈伤组织诱导困难及其不定芽分化困难、体细胞胚胎发生技术体系难于建立等问题。

为了有效保护并更好利用木兰属物种资源, 仍可在以下方面进行深入研究:

(1) 外植体的选择是物种组织培养成功的首要条件, 不同取材部位激素浓度与多酚类物质有密切关系, 加强取材部位激素与多酚类浓度的研究, 以便后人更好选择外植体材料建立组织培养体系。

(2) 改变木兰属植物组织培养条件后, 其生长情况差异明显, 加强木兰属植物对生长调节剂等培养条件的响应机制研究, 可为木兰属其他植物组织培养条件的选择提供依据。

(3) 利用木兰属植物组织和细胞培养体系获取香料及药物材料的研究暂无报道, 加强其组织培养愈伤组织及细胞系诱导的研究可为香料及药物生产提供便利。

(4) 鉴于木兰属植物的特点, 今后可利用组织培养技术进行定向及不定向改良, 以获取新品种, 从而丰富木兰属资源。

参考文献

- [1] 蔡海敏, 范伟, 王旭东. 木兰属植物化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(39): 3735-3738.
- [2] 马芳芳, 梁光义. 木兰属植物的研究概况[J]. 贵阳中医学院学报, 2015, 37(1): 92-96.
- [3] 张庆宝, 申亚梅, 范义荣. 木兰属(*Magnolia*)观赏植物育种现状及育种策略[J]. 江苏林业科技, 2008, 35(6): 46-48.
- [4] 王峻鹏. 木兰属(*Magnolia* L.) 一些植物的形态解剖与园林应用探讨[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [5] 何培琦, 方小平, 乙引. 厚朴愈伤组织诱导条件的优化[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(7): 20-21.
- [6] 赵松峰. 不同激素组合对辛夷花瓣愈伤组织诱导的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2009(2): 12-13.
- [7] PORTER E A, KITE G C, VEITCH N C, et al. Phenylethanoid glycosides in tepals of *Magnolia salicifolia* and their occurrence in flowers of Magnoliaceae[J]. Phytochemistry, 2015, 117: 185-193.
- [8] LATIF A, DU Y, DALAL S R, et al. Bioactive Neolignans and Other Compounds from *Magnolia grandiflora* L.: Isolation and Antiplasmodial Activity[J]. Chemistry & biodiversity, 2017, 14(9). doi.org/10.1002/cbdv.201700209.
- [9] 田彩平, 廖世奇. 亚麻籽木酚素抗肿瘤作用研究进展[J]. 广东农业科学, 2010, 37(7): 131-133.
- [10] 李桂荣, 刘玉博, 刘婉君. 白玉兰花药愈伤组织以及胚状体诱导的研究[J]. 北方园艺, 2013(3): 99-101.
- [11] 高柱, 王小玲, 唐军荣, 等. 我国木兰科植物组培快繁研究进展[J]. 江西科学, 2013, 31(1): 53-57.
- [12] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.
- [13] 唐军荣, 高柱, 刘腾云, 等. 红花玉兰组织培养外植体的选择及其消毒方法[J]. 贵州农业科学, 2014(11): 42-45.
- [14] ANA-MARIA R. Comparative study on the in vitro multiplication potential of *Magnolia stellata* and *Magnolia × soulangiana* species[J]. Journal of horticulture, forestry and biotechnology, 2012, 16(2): 39-44.
- [15] 周丽艳, 郭振清, 秦子禹, 等. 白玉兰组织培养中的褐化控制[J]. 河北科技师范学院学报, 2008, 22(4): 19-22.
- [16] KAMENICKA A. Influence of selected carbohydrates on rhizogenesis of shoots saucer *Magnolia* in vitro[J]. Acta physiologiae plantarum, 1998, 20(4): 425-429.
- [17] KAMENICKA A, LANAKOVA M. Effect of medium composition and type of vessel closure on axillary shoot production of *Magnolia* in vitro[J]. Acta physiologiae plantarum, 2000, 22(2): 129-134.
- [18] 徐石, 陆秀君, 李天来. 天女木兰组织培养中有效获得无菌外植体的研究[J]. 西北林学院学报, 2008, 22(3): 127-129.
- [19] [C]//中国林学会. 第九届中国林业青年学术年会论文摘要集. 成都: [出版者不详], 2010.
- [20] 王琪, 王喆之, 李映丽. 荷花玉兰组织培养的研究[J]. 西北药学杂志, 2001, 16(1): 11-13.
- [21] MERKLE S A, WATSON-PAULEY B A. Regeneration of Bigleaf *Magnolia* by somatic embryogenesis[J]. Horticulture, 1993, 28(6): 672-673.
- [22] MERKLE S A, WIECKO A T. Somatic embryogenesis in three *Magnolia* species[J]. Journal of the american society for horticultural science, 1990, 115(5): 858-860.
- [23] 孟雪. 白玉兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(3): 339.
- [24] 陆秀君, 董阳, 金亚荣, 等. 紫玉兰的组织培养[J]. 北方园艺, 2009(11): 189-191.
- [25] 徐棉芬. 二乔玉兰和紫玉兰杂交生物学基础及快繁技术[D]. 南京: 南京林业大学, 2010.
- [26] 郑荣生, 郑冉. 红花玉兰快速繁殖的初步研究[J]. 山东农业科学, 2013, 45(2): 57-58.
- [27] PARRIS J K, TOUCHELL D H, RANNEY T G, et al.

- Basal salt composition, cytokinins, and phenolic binding agents influence in vitro growth and ex vitro establishment of *Magnolia* 'Ann' [J]. Hortscience, 2012, 47(11): 1625-1629.
- [28] 陆秀君, 徐石, 李天来, 等. 天女木兰幼胚离体培养及组织快繁[J]. 东北林业大学学报, 2008, 36(3): 5-7.
- [29] 杜凤国, 刁绍起, 王欢, 等. 天女木兰的组织培养[J]. 东北林业大学学报, 2006, 34(2): 42-43.
- [30] 谭泽芳, 洪亚辉, 胡超. 广玉兰的离体培养研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2003, 29(6): 478-481.
- [31] SOKOLOV R S, ATANASSOVA B Y, IAKIMOVA E T. Physiological response of in vitro cultured *Magnolia* sp. to nutrient medium composition[J]. Journal of horticultural research, 2014, 22(1): 49-61.
- [32] WOJTANIA A, SKRZYPEK E, GABRYSZEWSKA E. Effect of cytokinin, sucrose and nitrogen salts concentrations on the growth and development and phenolics content in *Magnolia* × *soulangiana* 'Coates' shoots in vitro[J]. Acta scientiarum polonorum-hortorum cultus, 2015, 14(3): 51-62.
- [33] KIM Y W, PARK S Y, PARK I S, et al. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seeds of *Magnolia obovata* Thunberg[J]. Plant biotechnology reports, 2007, 1(4): 237-242.
- [34] 高红兵, 杜凤国, 王欢. 抗褐化剂对天女木兰芽外植体褐化与酚酸氧化的影响[J]. 林业科学研究, 2017, 30(3): 525-532.
- [35] 徐石, 刘翔, 张明宏, 等. 天女木兰组织培养技术研究进展[J]. 林业实用技术, 2011(6): 3-4.
- [36] [C]//Neotropical Magnoliaceae, First international symposium on neotropical Magnoliaceae. Ecuador [unknown], 2015.
- [37] SOKOLOV R S, ATANASSOVA B Y, IAKIMOVA E T. Influence of iron sources in the nutrient medium on in vitro shoot multiplication and rooting of *Magnolia* and cherry plum[J]. Journal of horticultural research, 2015, 23(2): 27-38.
- [38] SOKOLOV R, ATANASSOVA B, YAKIMOVA E. Influence of vitamins on growth performance of in vitro cultured *Magnolia* sp.[J]. Plant science (Bulgaria), 2014(6): 57-65.
- [39] 褚建民, 周凌娟, 王阳, 等. 白玉兰离体培养和快速繁殖[J]. 防护林科技, 2002(4): 29-31.
- [40] 王奇, 邓莉兰, 王丽. 红花山玉兰组织培养研究[J]. 山东林业科技, 2009, 39(1): 33-34.
- [41] 周丽华, 许冲勇, 曾雷, 等. 紫玉兰组织培养繁殖研究[J]. 经济林研究, 2002(4): 37-38.
- [42] 李艳, 王青李, 洪艳, 等. 3种玉兰的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(5): 84.
- [43] MARINESCU L, RADOMIR A M, RADU T, et al. Preliminary results regarding the influence of cytokinin on micropropagation of *Magnolia soulangiana* Soul. Bot.[J]. Lucrări științifice-universitatea de științe agronomice și medicină veterinară bucurești. seria b, horticultură, 2008(51): 601-607.
- [44] 怀慧明. 红花玉兰变种离体快繁组织培养技术研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
- [45] MATA-ROSAS M, JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ Á, CHÁVEZ-AVILA V M. Somatic embryogenesis and organogenesis in *Magnolia dealbata* Zucc.(Magnoliaceae), an endangered, endemic Mexican species[J]. Hortscience, 2006, 41(5): 1325-1329.
- [46] MERKLE S A, WATSON-PAULEY B A. Ex vitro conversion of pyramid *Magnolia* somatic embryos[J]. Hortscience, 1994, 29(10): 1186-1188.