

天女木兰的组织培养¹⁾

杜凤国 刁绍起 王欢 杨德冒 孙曙光 王子明 刘春强

(北华大学,吉林,132013)

(吉林省集安林业局)

(吉林省通化林业局)

摘要 以天女木兰幼树和一年生的实生苗的幼嫩茎段为外植体,采用不同激素配比的培养基对天女木兰的组培技术进行了研究,培育出了天女木兰的组培苗。适宜天女木兰侧芽分化的培养基为: $B_3 + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$;适宜生根的培养基为: $1/4 \text{ MS} + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 。

关键词 天女木兰;组织培养;培养基

分类号 S723.1

Tissue Culture of *Magnolia sieboldii* K. Koch/Du Fengguo, Diao Shaoqi, Wang Huan(Forestry College of Beihua University, Jilin 132013, P. R. China); Yang Demao, Sun Shuguang, Wang Ziming(Ji'an Forestry Bureau of Jilin Province); Liu Chunqiang(Tonghua Forestry Bureau of Jilin Province)//Journal of Northeast Forestry University. -2006, 34(2). -42~43

An experiment was conducted to study the tissue culture technique using tender stem of trees and annual seedlings of *Magnolia sieboldii* K. Koch as explants. Tissue cultured seedlings of *M. sieboldii* were obtained by means of culture media with different concentrations of hormone. Result showed that the optimum medium for lateral bud differentiation is $B_3 + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$, and that for rooting is $1/4 \text{ MS} + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$.

Key words *Magnolia sieboldii* K. Koch; Tissue culture; Culture media

天女木兰(*Magnolia sieboldii* K. Koch)又名天女花、小花木兰、山牡丹,为木兰科木兰属落叶小乔木。天女木兰为第四纪冰川时期幸存的珍稀植物,堪称植物王国中的“准太后”与“活化石”。而木兰科植物又是世界植物学家所公认的现存被子植物中较原始的类群,是探索被子植物起源、发展和建立被子植物自然系统不可缺少的材料,也是被子植物中受到严重威胁的种类最多的科。天女木兰在《中国植物红皮书》中被列为国家重点保护的珍稀濒危植物^[1]。天女木兰是观叶、观花、观果、芳香兼备的著名木本观赏花卉。天女木兰材质光滑、细腻、防腐,是雕刻、制作高级器具的上等材料。天女木兰的花、果、叶、根均含有芳香油,可以提取高级香料并具有很高的药用价值。可见,天女木兰是很有开发利用价值的珍稀的野生植物资源。目前,一些学者对天女木兰的生物学特性^[2-3]、资源状况^[4-5]、栽培技术^[6-10]、精油化学成分^[11-12]和建立保护区的设想^[13]等方面进行过研究,而对于天女木兰的组培技术尚没有见过报道。笔者主要对天女木兰的组织培养技术进行研究,目的是找出快速培育天女木兰苗木的方法,为该濒危植物的迁地保育提供技术支撑。

1 研究方法

外植体的选择及灭菌:分别选择处于生长阶段的幼嫩或半木质化的天女木兰枝条及一年生的实生苗的茎段作外植体。外植体的灭菌时间根据材料的幼嫩程度分别采用5、7、12 min。具体是:将材料置于流水冲洗1 h,然后剪掉叶片,放在洗洁精溶液中浸泡5~10 min,再用清水冲洗干净,然后在超净工作台上用质量分数为0.1%的 HgCl_2 消毒5~8 min,最后用无菌水冲洗6次。

1) 吉林省自然科学基金项目(20050554)。

第一作者简介:杜凤国,男,1960年9月生,北华大学林学院,教授。

收稿日期:2006年1月11日。

责任编辑:张建华。

基本培养基的筛选:在预备试验的基础上,选用 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$ 的激素配比,比较 MS 、 B_3 和White 3种基本培养基对天女木兰侧芽分化的影响。

激素配比的筛选:在确定适宜的基本培养基中分别添加 0.5 、 1.0 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3种不同浓度的细胞分裂素 6-BA 和 0.1 、 0.3 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3种浓度的细胞生长素 IBA ,通过9种不同处理筛选出适于天女木兰侧芽分化的最佳激素配比。

培养条件:培养基中添加0.9%琼脂,3%蔗糖, $\text{pH} = 5.6 \sim 5.8$ 。培养温度 25°C ,光照强度 1500 lx ,光照 $10 \sim 12 \text{ h/d}$ 。

2 结果与分析

表面灭菌剂对外植体的影响:从表1可以看出,质量分数为0.1% HgCl_2 的杀菌效果比质量分数为2% NaClO 的好。同时发现,用质量分数为2% NaClO 杀菌6 min左右,外植体两端变白,说明质量分数为2% NaClO 在杀菌同时对外植体产生损害。因此选用质量分数为0.1% HgCl_2 杀菌5~7 min比较适宜。

表1 不同灭菌剂的灭菌效果

灭菌剂	灭菌时间/min	接种瓶数	染菌瓶数	染菌率%
2% NaClO	7	25	18	72
2% NaClO	12	25	15	60
0.1% HgCl_2	5	25	6	24
0.1% HgCl_2	7	25	5	20

注:表1中数据是接种1年生实生苗茎段15 d的统计结果。

不同基本培养基对外植体诱导分化的影响:从表2中可以看出, B_3 培养基对天女木兰侧芽的诱导分化效果最好, MS 次之,White最差。观察中发现,接种在 B_3 和 MS 培养基上的茎段,16 d侧芽就萌发并展叶了,而接种在White培养基上的茎段,侧芽25 d才萌发且褐化现象严重。这是由于3种基本培养基中大量元素、微量元素及其有机成分的种类及用量的差异,影响了侧芽的分化。

表2 不同基本培养基对诱导分化的影响

培养基	接种瓶数	未染菌瓶数	分化瓶数	分化率%	分化情况		
					长3片叶瓶数	长2片叶瓶数	长1片叶瓶数
B ₅	25	18	13	72	3	8	2
MS	25	16	9	56	0	8	1
White	25	16	5	31	0	2	3

注:数据是1年生实生苗茎段接种40d的统计结果。

不同激素配比对诱导分化的影响:从表3中可以看出,B₅+0.5 mg·L⁻¹6-BA+0.3 mg·L⁻¹IBA诱导分化效果最好,B₅+0.5 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹IBA次之,但其诱导率较低,高浓度的细胞分裂素对诱导分化不利。除了分化出叶片外的其他处理均有愈伤组织形成,愈伤组织呈黄绿色或黄白色,质地松软,未分化,但多数褐化而死亡。

表3 不同激素配比对诱导分化的影响

编号	6-BA	IBA	25 d 分化情况			50 d 分化情况		
			长2片叶瓶数	长1片叶瓶数	长4片叶瓶数	长3片叶瓶数	长2片叶瓶数	长1片叶瓶数
1	0.5	0.1	0	2	0	2	0	0
2	0.5	0.3	6	2	2	4	2	2
3	0.5	0.5	0	6	0	4	2	2
4	1	0.1	0	2	0	0	2	2
5	1	0.3	0	2	0	2	0	0
6	1	0.5	0	2	0	2	0	1
7	2	0.1	0	2	0	2	0	0
8	2	0.3	0	0	0	2	0	0
9	2	0.5	0	0	0	0	0	0

继代增殖培养:将诱导分化的无菌苗每隔40d转接到新的培养基即:B₅+0.5 mg·L⁻¹6-BA+0.3 mg·L⁻¹IBA,经过继代培养,培育出无菌苗。

生根培养:将继代增殖的无菌苗接种在4种生根培养基即R₁:1/2 MS+2.0 mg·L⁻¹IBA+0.2 mg·L⁻¹NAA;R₂:1/2 MS+2.0 mg·L⁻¹IBA+0.5 mg·L⁻¹NAA;R₃:1/4 MS+0.5 mg·L⁻¹IBA+0.2 mg·L⁻¹NAA;R₄:1/4 MS+1.0 mg·L⁻¹IBA+0.5 mg·L⁻¹NAA,其结果未见生根。但将1年生实生苗直接接种在R₄培养基中,90d开始生根,根粗壮,生根率达到70%。

驯化与移栽:打开培养瓶的瓶盖,将生根的组培苗在培养室中放置3d后,用镊子将组培苗取出,洗去粘附在根部的培养基,移栽到4种基质中(表4)。基质用质量分数为0.3% KMnO₄溶液喷洒消毒,移栽后温度保持在18~20℃,相对湿度在90%左右,炼苗过程中逐渐增加光照强度,2周后长出新的不定根、新叶。试验得出,以V(苔藓):V(蛭石)=1:1为基质,移栽成活率最高,达85%。

成年母树天女木兰当年萌发枝条的诱导分化:在6、7、8、9、10月上旬采集枝条,分别将其接种在以B₅、MS为基本培养基上,添加不同浓度的6-BA和IBA的培养基。结果表明,外植体褐化与采条季节相关,以7、8月份采条褐化严重。这

主要是由于植物体内酚类物质的含量和多酚氧化酶的活性随季节而变化,多酚氧化酶活性和酚类物质含量春季较弱,随着生长季节的到来酶活性逐渐增强所致。在培养基中添加0.5 g·L⁻¹Vc能在一定程度上控制褐化。从试验中得出比较适宜的诱导分化培养基为MS+1.0 mg·L⁻¹6-BA+0.3 mg·L⁻¹IBA+0.5 g·L⁻¹Vc或B₅+0.5 mg·L⁻¹6-BA+0.3 mg·L⁻¹IBA,一般接种30d左右,侧芽开始分化、展叶,但节间较短。

表4 不同基质对天女木兰组培苗成活率的影响

基 质	成活率%
V(珍珠岩):V(蛭石)=1:1	75
V(苔藓):V(蛭石)=1:1	85
V(河沙):V(蛭石)=1:1	70
河 沙	60

3 结论

适合天女木兰组培的基本培养基为B₅、其次为MS、再次为white。

适合天女木兰侧芽分化的培养基为B₅+0.5 mg·L⁻¹6-BA+0.3 mg·L⁻¹IBA,分化率达72%。

适宜天女木兰生根的培养基为:1/4 MS+1.0 mg·L⁻¹IBA+0.5 mg·L⁻¹NAA,培养90d生根。

天女木兰外植体褐化现象较严重,可以通过连续转瓶和添加0.5 g·L⁻¹Vc降低或消除褐化现象。

参 考 文 献

- [1] 宋朝枢,徐荣章,张清华.中国珍稀濒危保护植物[M].北京:中国林业出版社,1989.
- [2] 高尚士.珍稀木本花卉—天女花[J].林业科技通讯,1994(9):40.
- [3] 王志杰.天女花生物学特性观察初报[J].河北林学院学报,1996,11(2):176-178.
- [4] 刘玉宗,王志杰.祖山林区天女花资源及其开发利用[J].林业科技开发,2001,15(增刊):60.
- [5] 王志杰.青龙县老岭林场天女花资源调查研究初报[J].河北林学院学报,1994,(2):159-162.
- [6] 马吉龙,李艳君.天女花种子繁殖及其在园林中的应用栽培[J].河北林果研究,1999,14(3):238-241.
- [7] 田洪,于翠兰,赵占英,等.天女木兰的栽培技术[J].吉林蔬菜,1997(6):25.
- [8] 王志杰,张海新.天女花育苗技术[J].河北林业科技,1995(3):43-44.
- [9] 王志杰,田宝宁.天女花种子催芽方法研究初报[J].河北林学院学报,1996,11(3):195-198.
- [10] 王欢,杜凤国,杨德冒.天女木兰硬枝扦插繁殖初步研究[J].北华大学学报,2005,6(4):352-354.
- [11] 张绪成,赵秉义,杨文峰.天女木兰精油的化学成分及应用[J].吉林林业科技,1993(2):13-15.
- [12] Mokchae Konghak. Extractives from Magnolia sieboldii [J]. Journal of the Korean Wood Science and Technology, 2004, 32(2): 33-39.
- [13] 宋连芳,富玉,秦丽.建立天女木兰资源保护区的探讨[J].吉林林业科技,2001,30(2):35-38.