

印楝叶组织培养繁殖研究

黄光斗¹ 曾鑫年² 钱辉³ 余标³ 赵善欢²

(1 华南热带农业大学, 儋州 571737; 2 华南农业大学昆虫毒理研究室; 3 广东东莞德星公司)

PROPAGATION OF NEEM (*Azadirachta indica*) VIA LEAF TISSUE CULTURE

Huang Guangdou¹ Zeng Xinnian² Qian Hui³ Yu Biao³ Zhao Shanjuan²

(1 South China Tropical Agr. Univ., Zhanzhou 571737; 2 Lab. of Insect Toxicology,
South China Agr. Univ.; 3 Dongguan Agr-Star LTD., Guangdong)

关键词 印楝; 组织培养; 繁殖

Key words *Azadirachta indica* A. Juss; tissue culture; propagation

中图分类号 Q 343.9

印楝(*Azadirachta indica* A. Juss)是目前世界公认的高效杀虫植物,倍受各国科学家和政府的关注(Schmutterer, 1995)。印楝原产印度和缅甸,主要分布在东南亚热带地区。近年通过引种,已在70多个国家有分布或种植。我国也由赵善欢等人于1986年从非洲多哥获得种子在广东省的徐闻县和海南省的万宁县引种成功(赵善欢等, 1989)。经测定,国产印楝种子和树皮均有较高的印楝素含量,对害虫有很强的杀虫活性,可以成为我国的杀虫植物资源(张业光等, 1992; 张兴等, 1992)。

应用组织培养手段繁殖印楝,对解决我国种源少和种子寿命短的问题,快速、大量获得基因型纯正的高质量苗木具有重要意义。本文报道应用印楝叶组织培养成苗的研究结果。

1 材料与方法

供试印楝叶采自于华南农业大学杀虫植物标本园的5年生实生植株,叶龄3~6个月。试验以MS培养基为基本配方,含蔗糖3.0%,凝固剂0.6%,pH值5.8。按常规方法进行培养基配制、接种和灭菌等处理,印楝叶经0.1%升汞液消毒后切成约1 cm×1 cm大小接种于培养瓶内。培养条件为25~28℃温度,相对湿度50%~70%,每日提供12 h日光灯光照(2 000~3 000 Lx)。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

用倍量、原量、半量和1/4量4个浓度的MS培养基进行印楝叶愈伤组织诱导培养发现,在不添加植物激素的情况下,各种浓度的培养基均不能诱导产生愈伤组织,而当添加植物激素后,外植体在半量和原量MS培养基上经培养2周即从切口处陆续生长出淡黄色的愈伤组织,而以原量MS培养基最好,愈伤诱导率可达94.7%。

以不同浓度的生长素和细胞分裂素组合进行叶愈伤组织诱导试验,结果表明,在所选用的浓度下,2iP

与生长素 2,4-D 或 NAA 配合时,诱导效果不理想;而 BA 与这两种生长素配合能获得 90% 以上的诱导率。虽然 $0.89 \mu\text{mol/L}$ BA 与 $0.45 \mu\text{mol/L}$ 2,4-D 和 $10.74 \sim 21.48 \mu\text{mol/L}$ NAA 配合所产生的诱导率没有显著差异,但其所诱导的愈伤组织的生物量即显著不同,其培养 4 周后的平均鲜重分别为 99.9、107.6 和 128.5 mg ($t > 3.04 > t_{0.05, 106} = 2.21$)。可以认为, $0.89 \mu\text{mol/L}$ BA + $21.48 \mu\text{mol/L}$ NAA 是适合于印楝叶愈伤组织形成和生长的激素组合,而且以此配方培养出的愈伤组织不会有明显的褐化问题。

2.2 芽的诱导和枝芽的增殖

在 $\text{MS} + 0.89 \mu\text{mol/L}$ BA + $21.48 \mu\text{mol/L}$ NAA 的培养基上,印楝叶外植体经培养 4~5 周产生圆球形致密愈伤组织后,转入 $\text{MS} + 0.89 \mu\text{mol/L}$ BA + $2.68 \mu\text{mol/L}$ NAA 降低生长素的培养基上进行培养。至第 2 周,愈伤组织变绿,表面产生突起;第 3 周便逐渐分化出芽。

成枝后的培养体,去除基部愈伤组织,将幼枝以每 2 个节切割成 1 个增殖单位。在仅添加 BA 的 MS 培养基上,增殖体经培养 2 周,在基部即可形成侧芽,其中以 $\text{MS} + 0.44 \mu\text{mol/L}$ BA 的效果最好,培养一个月的增殖率可达 3.10 倍,显著高于其它 BA 浓度处理。添加高浓度的 BA 会使枝条基部形成大量愈伤组织,且枝条有玻璃化趋势。

2.3 生根诱导

采用添加 $0.08 \sim 2.38 \mu\text{mol/L}$ 间苯三酚或 $0.05 \sim 14.76 \mu\text{mol/L}$ IBA 的 MS 培养基对高 2~3 cm、直径 1~2 mm 的枝条进行生根诱导试验发现,该两种激素在所试浓度下均能诱导培养枝条生根,但以 $0.49 \mu\text{mol/L}$ IBA 的效果最好,培养 3 周后生根率达 78.0%,平均每株生根 3.2 条,根粗 1.0~2.0 mm、根长 1.0~3.0 cm,枝条基部无愈伤,成为良好的组织培养苗。

3 讨论

印楝的组织培养在国外已有一些研究,但在培养成苗方面均不够理想(Joshi et al. 1993)。Gautam 等(1993)以印楝花药为外植体在 MS 和 Nitsch 培养基上诱导形成芽和根,培养出小苗,但其愈伤组织诱导率和生根率均很低,分别为 43.0% 和 25.0%。本研究以印楝叶为外植体在 MS 培养基上通过调节细胞分裂素和生长素的量,不仅成功地诱导出愈伤组织、芽和根,形成完整小苗,而且愈伤组织诱导率和生根率分别达到 97.5% 和 78.0%,可以进行大规模培养生产。

参 考 文 献

- 张业光,张兴,赵善欢. 1992 引种印楝国产种子的印楝素含量及杀虫活性的初步研究. 华南农业大学学报, 13(1): 14~19
- 张兴,赵善欢. 1992. 国产印楝树皮中印楝素测试初报. 西北农业大学学报, 20(4): 91~94
- 赵善欢,张业光,蔡德智,等. 1989. 印楝引种试验初报. 华南农业大学学报, 10(2): 34~39
- Gautam V K, Nanda K, Gupta S C. 1993. Development of shoots and roots in anther-derived callus of *Azadirachta indica* A. Juss. — a medicinal tree. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 34: 13~18
- Joshi M S, Thengane S R. 1993. Potential application of *in vitro* methods for propagation of neem (*Azadirachta indica*). Bangalore: Abstracts of World Neen Conf, 56
- Schmutterer H. 1995. The neem tree. New York: VCH Publishers Inc., 1~396