

不同温度对毛鱼藤和西非灰毛豆愈伤组织生长的影响*

谷文祥¹ 曾鑫年² 谢建军²

(1 华南农业大学理学院, 广州, 510642; 2 华南农业大学资源环境学院)

Effects of Different Temperatures on the Growth of Calli Induced from *Derris elliptica* and *Tephrosia vogelii*

Gu Wenxiang¹ Zeng Xinnian² Xie Jianjun²

(1 College of Science, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642; 2 College of Natural Resources and Environment Science, South China Agric. Univ.)

关键词 温度; 毛鱼藤; 西非灰毛豆; 愈伤组织

Key words temperature; *Derris elliptica* (Roxb.) Benth.; *Tephrosia vogelii* Hook. f.; calli

中图分类号 Q343.6

鱼藤酮是著名的选择性植物源杀虫剂,对防治果树、蔬菜、茶叶、花卉及粮食作物上的数百种害虫具有良好的效果,特别是近年来在防治抗性害虫[如小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.)]上发挥了重要作用(莫美华,1991;赵善欢,1988)。研究表明,鱼藤酮具有触杀、胃毒、拒食和熏蒸作用,其杀虫谱广,作用方式多样,对哺乳动物低毒,对害虫天敌和农作物安全,是综合治理上较为理想的杀虫剂之一(赵善欢,1992;张业光,1990)。然而由于其分子结构复杂,难以人工合成,目前主要从天然植物资源中提取,受到资源、地区和成本的限制,难以满足日益增长的需要和获得推广应用。应用植物细胞大量培养技术获得人们所需要的活性物质国内外已有许多成功的先例(倪德祥,1988;王蜀秀等,1995)。本文研究了不同温度对2种植物体——毛鱼藤[*Derris elliptica* (Roxb.) Benth.]和西非灰毛豆(*Tephrosia vogelii* Hook. f.)离体培养细胞生长的影响,以期找出最佳生长所需的培养温度,探讨含鱼藤酮植物细胞培养的优良条件,为进一步开展大量培养,获得高产量的次生代谢物——鱼藤酮,提供可靠的参考数据。

1 材料与方法

1.1 愈伤组织和培养基

毛鱼藤和西非灰毛豆叶片均采自华南农业大学昆虫毒理实验室杀虫植物标本园。经叶片诱导获得愈伤组织,选择转代数相同,生长整齐一致的愈伤组织作为转接材料。培养基为MS基本培养基(Murashige et al, 1962),添加 $\rho = 30$ g/L 蔗糖, $\rho = 8$ g/L 琼脂, $\rho = 2$ mg/L 2,4-D, $\rho = 0.5$ mg/L 6-BA, pH 值为 5.8。

1.2 培养条件

在装有培养基 25 mL 的 50 mL 三角瓶中,每瓶接入叶片大小 0.5 cm² 进行诱导试验。放入 20、25、30、35 °C 的光照培养箱中培养,每个温度处理每种 25 瓶。另每瓶接入鲜质量 0.3 g 的愈伤组织,每个温度处理每种 25 瓶进行培养。其它条件一致;光/暗 = 12/12;光强约 2 000 lx;相对湿度 80%。

1.3 取样

叶片诱导试验 30 d 后观察愈伤组织的诱导情况,统计诱导率。愈伤组织的生长试验接种后每隔 5 d 取 1 次样,每次取 5 瓶,称取鲜质量,然后放入干燥箱内控温 45 °C 以下烘干,称量干质量;减去最初接入量,计算出

1999-04-13 收稿 谷文祥,男,45岁,副教授,硕士

* 国家自然科学基金(29672011)和广东省自然科学基金(970027)资助项目

增长的鲜质量和干质量以及生长指数。生长指数为:(最后干质量-最初接入质量)/最初接入质量。

2 结果分析

2.1 不同温度对毛鱼藤和西非灰毛豆叶片诱导愈伤组织的影响

30 d后统计这2种植物叶片外植体愈伤组织的诱导率,30℃的温度诱导率最高为100%,诱导整齐一致;25℃的较高,其中毛鱼藤为84%,西非灰毛豆为92%,没有诱导出愈伤组织的外植体也为绿色,卷曲变大;35℃时诱导率低,毛鱼藤为16%,西非灰毛豆为28%,而其余的外植体都变黄、死亡;20℃时外植体都未诱导出愈伤组织,但保持绿色,叶片稍微卷曲。

2.2 不同温度对毛鱼藤愈伤组织生长的影响

取样测定方法同1.3,第25d后结果显示:30℃时,毛鱼藤愈伤组织生长最快,生物量积累最多,净增长干质量为每瓶106.3 mg;其次为35℃,净增长干质量为每瓶94.4 mg;而20℃时生长最慢,净增长干质量为每瓶68.4 mg。同时观察各种温度下的生长曲线可以发现:每种温度下的生长基本符合“S”曲线,在第10d时进入对数生长期。但在实验中发现,35℃温度培养下,愈伤组织从第10d起有个别出现褐变死亡现象。

2.3 不同温度对西非灰毛豆愈伤组织生长的影响

第25d后的测定结果显示:西非灰毛豆愈伤组织在30℃时生长最快,生物量积累最多,净增长干质量为每瓶153.1 mg;25℃时生长相对较慢,净增长干质量为每瓶110.5 mg;而20℃时生长最慢,生物量积累最少,净增长干质量为每瓶70.8 mg。同时观察发现:在35℃温度培养条件下,从第10d起愈伤组织开始出现褐变死亡现象。25d后,所有的愈伤组织死亡;各种温度下的生长曲线也基本符合“S”曲线,在第5d时进入对数生长期。

3 讨论

前人的研究表明,不同的植物离体培养所需要的最适温度不尽相同,番茄离体培养所需最适温度是28℃,烟草离体振荡培养中31℃生长量最大,石刁柏离体培养所需最适温度为26℃,而文竹离体培养所需最适温度为17℃(裘文达,1986)。本文结果表明,在其它培养条件相同的情况下,毛鱼藤和西非灰毛豆的外植体和愈伤组织均在30℃时,可获得较好的诱导效果和较多的累积生物量。这可能与这2种植物的地理分布有关,毛鱼藤和西非灰毛豆均生长在热带和亚热带(中国科学院中国植物志编辑委员会,1994),生长环境中外界气温较高,因而可能与培养时细胞生长的适宜温度有一定的相关性。不同温度下生物量与次生代谢物的含量的关系,将做更进一步的研究。本文的结论是:在(30±1)℃的温度条件下,这2种植物离体培养可获得较高的愈伤组织诱导率和较多的生物积累量。

参 考 文 献

- 王蜀秀,温远影,胡昌序.1995.我国利用植物细胞和组织培养产生药用成分的研究概况.植物学通报,12(1):33~37
- 中国科学院中国植物志编辑委员会.1994.中国植物志(第四十卷).北京:科学出版社,191~225
- 赵善欢.1952.华南鱼藤的分析及毒力试验.昆虫学报,2(1):1~18
- 赵善欢.1988.安全高效的鱼藤杀虫剂.植物保护,14(1):44~45
- 张业光.1990.非洲山毛豆提取物对菜青虫生物活性及其有效成分的研究:[学位论文].广州:华南农业大学资源环境学院
- 莫美华.1991.鱼藤混剂对果蔬害虫的应用及机理的研究:[学位论文].广州:华南农业大学资源环境学院
- 倪德祥译.1988.植物次生代谢物的工业生产.国外作物组织培养,(21):37~47
- 裘文达.1986.园艺植物组织培养.上海:上海科学技术出版社,24~26
- Murashige T, Skoog V.1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physi Plant, 15:473~497

【责任编辑 张 砾】

第20卷卷终