

展 望

我们叙述过的技术和结果,看来在人类生物学和人类遗传学的基础及应用方面,提供了新的前景和一些大有希望的远景(表V)。尤其是细胞融合技术普遍应用于以永久的组织培养株的形式使短暂的分化功能得以再现的探索性研究,看来是值得进行的。迄今所得到的结果有力地支持我们的推测(Köhler等人,1977a),对短暂的分化功能的再现来说,重要的是采用在表型上带有所讨论的特性类似的细胞株。

表 V 一些未来的展望

1. 抗病毒的抗体(供诊断和治疗之用);
2. 供器官移植用的世界标准试剂;
3. 供临床生化用的诊断试剂;
4. 细胞表面的生物化学和遗传学;
5. 亲和层析;
6. 在永久细胞株中固定其他分化功能(T-细胞,产生激素,等等)

[译自 Cell Biology International Reports, Vol. 3, № 1, 1979. 王珮瑜译 王亚辉校]

离体授粉导致玉米颖果的发育

B. G. Gengenbach

摘 要

从田间生长的玉米植株的未授粉果穗(雌花序)上切取完整子房,并将其接种于培养皿内特定的琼脂-基本培养基上。向露在培养皿外面的花丝(花柱)末端进行授粉,导致46%的子房受精。随后谷粒(颖果)发育的程度是多样的。授粉后40天,一些谷粒仅有胚的发育,而另一些谷粒则有胚和不同程度的胚乳的发育:大约5%的子房发育成正常的谷粒;60%的具有一些胚乳的谷粒能在实验室发芽条件下萌发,70%的从仅具有胚的谷粒上切取的胚能在培养基上萌发。

1962年用罂粟(*Papaver somniferum*)^[4]为材料首次报道了切取下来的植物子房离体授粉、受精并相继培养发育的胚。以后用代表双子叶植物7个属的一些种进行了类似的实验^[3,7-11]。这一技术已被用以克服月夜花矮牵牛(*Petunia axillaris*)的自交不亲和性^[6],获得所期望的异株女娄菜(*Melandrium album*)与红花女娄菜(*M. rubrum*)和夏弗塔雪轮(*Silene schafta*)之间的杂种^[10],并诱导锦花沟酸浆(*Mimulus luteus*)的单倍体孤雌生殖^[2]。

据作者了解,任何单子叶植物的离体子房或胚珠在体外授粉,并成功地受精方面的工作,尚未有报道。Zubkova和Sladky^[11]报道毛地黄(*Digitalis*

purpurea)和玉米离体胚珠在体外授粉后不能发育。本文报道了玉米离体子房体外受精、发育并获得胚和成熟谷粒(颖果)的过程。

玉米自交系A619的果穗(雌花序)在花丝(花柱)抽出之前套上袋子。于花丝抽出后2—6天从田间生长的植株上摘取套袋的未授粉果穗。将刚从苞叶中抽出的花丝用解剖刀削掉,用手剥去外苞叶,并在层流接种室(laminar-flow transfer chamber)*内用消毒过的镊子去掉内苞叶。从此时起果穗的所有处理都采用火焰消毒过的器具。果穗的顶端应保持向下,以使花丝不致紊乱。在两双行子房之间分开花丝,并用解剖刀沿着该线路切入达穗轴(花序轴)髓组织深度的一半。在双行子房的另一侧进行同样的切割,并将带有完整花丝的双行子房块从果穗上取下。这种附着于子房基部的穗轴楔形块再切成每行具有5个子房的双行子房块。几乎所有这种子房块都取自果穗的中部,以使子房的大小相对一致。将2或3个的上述子房块接种于盛有50毫升琼脂-基本培养基的100毫米×25毫米培养皿内,穗轴部分栽进培养基里,而将花丝展放于培养皿边缘上,以便在培养皿的盖子盖上后,授粉可在培养皿外面进行。外露的花丝修剪到2—3厘米长,并从A619植株刚伸出的花药采集新

* 校对者注:即超净工作台或超净工作室。

鲜花粉授在花丝的末端。有授粉材料的培养皿培养在 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 的黑暗条件下。24 小时后在无菌条件下将花丝剪掉，培养皿用防护胶布带封住。

从 A619 玉米田间植株的控制自花授粉两天后的果穗上切取受精的子房作为对照。这种自交受精果穗的切取和接种过程，除花丝全部剪去之外，都与上述方法相同。

所应用的基本培养基是经 Gengenbach 和 Green^[1]改良了的 Linsmaier 和 Skoog RM 培养基^[5]，含有 15% 蔗糖和 0.4% 的琼脂，pH 为 5.8。我们曾将不同浓度蔗糖(0—15%)、 KNO_3 (0—2.5 克/升)、 NH_4NO_3 (0—0.17 克/升)以及补加的 L-谷氨酰胺(0—2.2 克/升)和 L-天门冬酰胺(0—2.0 克/升)作为改良的基本培养基进行过试验。培养基分装到无菌培养皿中之前，先在 1 公斤/平方厘米 的压力下高压消毒 20 分钟。

受精率系根据授粉后 10 天观测子房切块所产生的谷粒统计的。谷粒发育延续到授粉后 40 天。在这一时期的末尾，将谷粒从穗轴上剥下，并在解剖镜下检测，根据谷粒样品的情况归为以下两类：(1) 胚和胚乳都正常发育，(2) 只有不同大小的和变型的胚的发育，但胚乳发育甚微。将上述谷粒在室温条件下风干数天，并在湿滤纸上于 28°C 进行萌发。7 天后测定每一类别的萌发百分率。在无茵条件下，从大量的谷粒剥取胚，按其大小归类，并放在培养皿内的标准培养基上，培养在 28°C 下。以根和芽的生长表示其萌发能力。

尽管在接近生长季节末期，从田间生长的穗轴采集的子房，偶然遇到一些污染，但象上述的试验那样，不经表面消毒切取的玉米子房通常仍可避免微生物污染。在培养皿外面授粉于花丝上，就排除了对无茵花粉的要求。

根据授粉 10 天后玉米子房增大的情况看出，离体授粉的子房平均有 46% 受精(表 1)。这一平均数是从 30 种培养基配方试验得出来的。这些培养基配方中，蔗糖、 KNO_3 、 NH_4NO_3 、L-谷氨酰胺和 L-天门冬酰胺都有所不同(见前)。在所有培养基上都得到了受精的子房。尽管在不同培养基的试验中，受精百分数的变动范围为 3% 至 85%，但没有鉴定出始终优良的培养基。活体内授粉的子房移植到培养基上 2 天后，比离体授粉的子房显示更高的受精率(表 1)。

在离体培养 40 天以后，凡稍有生长的谷粒都从

表 1 玉米自交系 A619 的离体授粉和活体内授粉的子房受精和离体发育概况

	授粉方法	
	离体	活体内
子房总数	1577	1210
受精(%) ^a	46%	79%
受精后 40 天进行归类的谷粒数 ^b	393	663
仅具有胚的数目	282	439
萌发(%)	70 ^c	14 ^d
胚+胚乳数目	111	224
萌发(%)	62 ^d	58 ^d

- 以授粉 10 天后子房的增大为基准。
- 由于微生物污染一些培养物，所有谷粒都未按发育情况进行归类。
- 从离体授粉的仅具有胚的谷粒上切取的胚，在标准培养基上培养 12 天后的萌发率。
- 完整的谷粒放在湿滤纸上 7 天后的萌发率。

穗轴上剥下进行计数(表 1)。如图 1 所表明的，谷粒发育的变化范围很大。谷粒发育程度从显示仅有胚发育(小胚长 1 毫米或更短)的皱缩而最小的谷粒，到具有大胚和少量胚乳的谷粒，直至具有发育良好的胚和正在增加胚乳量的谷粒。完全正常发育的谷粒包括大约 20% 的胚+胚乳类型。活体内授粉材料比离体授粉子房能发育出更多的种子。然而，不论是离体授粉或活体内授粉的子房，在这两种发育类型中其分配的百分率却是近似的。

关于胚+胚乳的谷粒类型，不论是离体授粉或活体内授粉的子房，其萌发率大约为 60% (表 1)。活体内授粉的仅具有胚的谷粒，在湿滤纸上的萌发率大约为 14%。然而，如果胚从仅具有胚的谷粒上切下来并培养在标准培养基上，其萌发率约为 70% (表 1)。许多不能萌发的剥离的胚，其长度小于 2 毫米。从剥离的胚得到的 15 株幼苗已生长到成熟。这些植株表现型正常且能育。

按照上述结果，别的种也有可能列入能够离体受精的植物名单。据作者所知，业经证实，玉米是离体授粉并相继长成颖果的第一个单子叶植物的种，也是取得此项成果的第一种农作物。

尽管玉米谷粒离体发育程度是多样的，但能在培养基上萌发的胚是从胚乳很少的谷粒上剥离出来

的。如果期望得到植株的话，高比例的萌发的胚能生长到成熟是更有希望的。胚乳发育程度不同的完整谷粒，不论其来源于离体授粉或活体内授粉，其萌发率大约为 60%。在本实验中，所有离体授粉的子房大约有 5% 发育到生理上成熟和表现正常的谷粒。虽然没有进行过试验，但上述种子在田间条件下是应有萌发能力的。如果发展出一种更加适宜的培养基，则正常谷粒的出现率还可能增加。



图 1 离体授粉后 40 天 A619 玉米颖果的发育情况

上述实验方案能使玉米正常的有性生殖过程和组织培养技术的某些优点结合起来。受精作用以及随后胚和(或)胚乳的发育能在控制营养、激素和环境的条件下发生。上述潜在能力有可能应用于玉米的发育、营养、遗传和生化研究。

参 考 文 献

[1] Gengenbach, B. G., Green, C. E. 1975,

Crop. Sci. 15, 645—649.

[2] Hess, D., Wagner, G. 1974, *Z. Pflanzenphysiol.* 72, 466—468.

[3] Kanta, K., Maheshwari, P. 1963, *Phytomorphology*. 13, 230—237.

[4] Kanta, K., Rangaswamy, N. S., Maheshwari, P. 1962, *Nature*, 194, 1214—1217.

[5] Linsmaier, E. M., Skoog, F. 1965, *physiol. Plant.* 18, 100—127.

[6] Rangaswamy, N. S., Shivanna, K. R. 1967, *Nature*, 216, 937—939.

[7] Rangaswamy, N. S., Shivanna, K. R. 1969, *Curr. Sci.* 38, 257—259.

[8] Shivanna, K. R. 1965, *Phytomorphology* 15, 183—185.

[9] Zenkteler, M. 1965, *Naturwissenschaften*. 52, 645—646.

[10] Zenkteler, M. 1967. *Experientia* 23, 775—776.

[11] Zubkova, M., Sladky, Z. 1975, *Biol. Plant.* 17, 276—280.

[译自 *Planta*. 134(1): 91—93(1977)]

叶树茂、张绍武译 王怀智校

(上接第 6 页)

构重新折叠。复制时，组蛋白尾巴附着的 DNA 链被复制酶打开，与此同时，带有新组蛋白的新 DNA 链以特定方式排列，它们与老的不混杂。所以这种组蛋白与 DNA 有序方式的结合使得新 DNA-组蛋白和老 DNA-组蛋白成为“半新”核小体复制。

以上的叙述虽然不够全面，但可以看出，核小体的发现改变了我们对染色质结构的理解，使我们的认识向前迈进了一大步。对它的进一步研究将更大地扩大我们的视野。由于核小体是所有真核细胞的共有结构，它的存在是真核细胞染色体有别于原核细胞“染色质”的主要特征。它的生物学意义，它在真核细胞基因的调节控制中起什么作用，无疑地是研究基因的调节控制的重要课题之一，从现有情况判

断，在对于核小体的结构有了基本了解之后，人们的兴趣逐渐转到它的功能方面，可以预期这方面会有较大的进展。这方面的突破对于了解基因调节控制机制的重要性，是不言而喻的。

(参考文献见插页)

更 正

1980 年第 2 期《核酸分子杂交技术简解》一文，错列入“细胞工程讲座”栏内，应改列入本期“细胞化学和细胞生化技术讲座”，特此更正。