

植物细胞和组织培养研究的展望*

罗士韦 唐 惕

(中国科学院植物生理研究所 上海 200032)

近年来国内外这一领域的研究工作发展很快,也有若干变化,在国际上当前的形势是,植物基因工程已逐渐形成高潮,而在国内则可以说刚刚开始^[1-5]。对于国内植物细胞和组织培养这一范畴的工作情况我们曾作了调查,粗略的估计如下:1977年从事这方面研究的单位约有1000个,到1980年左右减少到约300个,而近几年又增长到1200个左右。1977年是国内细胞和组织培养工作的高峰期,约有1000余个单位主要从事花药培养和单倍体育种工作,1980年研究单位数量显著下降的主要原因是花药培养工作发生了收缩。而最近二年来又出现了另一个高潮,是无性系快速繁殖工作迅速发展的结果。这种调节现象虽起因于某些人为的影响,但主要还是由于形势的转变和科研的需要决定的,预计今后还会有其他内容的消长情况发生。我们的看法是科研单位应逐步开展植物分子生物学和植物基因工程等方面的研究,而无性系的快速繁殖工作将逐步转移到基层生产单位和农民手里去。我们曾将植物细胞和组织培养的研究内容分为以下五个方面:花药培养和单倍体育种、原生质体培养和体细胞杂交、无性系的快速繁殖、植物基因工程和植物的代谢产物生产。下面就这五个方面的发展前景阐述我们的观点。

花药培养和单倍体育种

七十年代在我国形成了一个“花培热”,这时期内培养出了小麦、玉米、水稻、杨树、橡胶等许多单倍体植株。后来研究的单位虽然减缩了,但工作逐渐向纵深发展,如利用花药培养中产生的异源代换系和附加系等材料进行遗

传学和细胞学方面的研究。在生产应用方面,已逐渐认识到花培必须与常规育种技术密切结合,才可能获得育种的效果。如胡道芬选得了冬小麦“京花一号”,李梅芳等选育获得了“中花十号”水稻。这些选育出的新材料正在较大面积上进行试种或参加多点品种比较试验。因为一切育种所得到的新材料都要在生产实践中经受考验,就是说要具有农业上要求的必须经济性状。对于近年所取得的新成就是非常可喜的,我们认为这表明单倍体育种工作向前跨了一大步。

原生质体培养和体细胞杂交

从七十年代体细胞杂交研究开始以来,许多人是盲目乐观的,认为通过原生质体融合的体细胞杂交新技术可以克服远缘不亲和的障碍,从而可以迅速得到新品种。但经过十余年的工作后,认识才逐渐深入而明确了。现在国内外通过体细胞杂交已获得了约40余个杂交组合。关于体细胞融合过程的细胞学方面的资料尚嫌不足。远缘不亲和性以及属、科间杂种细胞的分化等问题仍未能克服。此外,在融合产物中存在有二个亲本的二套遗传物质,因此比有性杂交的情况远为复杂。细胞器和基因组间的相互关系,它们之间发生重组或是排斥的机理尚不清楚,因此对这些过程都有待于较详细的研究。看起来,体细胞杂交技术是否能获得有用的杂种以应用于生产实际尚有待于今后的

* 本文是1985年3月19日在杭州召开的全国植物组织培养专业学术讨论会(由中国细胞生物学会、中国植物生理学会和中国植物学会联合召开)大会上的报告提纲的修改稿。

实验证明。

无性系的快速繁殖

在七十年代这一课题没有受到应有的重视,八十年代后却逐渐变成了热门,其原因是由于它可以直接产生经济效益。例如花卉、果木、树木、蔬菜园艺、药用植物以至于农作物都可利用这一技术进行快速繁殖,取得利润。目前国内在推广应用的已有十余种植物:土豆、甘蔗、水稻、菠萝、桉树、苧麻、菊花、罗汉果、月季、香石竹等^[6]。有人企图对细胞培养快速繁殖产生的胚状体加以包装,然后采用机械播种,并开设生产“超级种子”的工厂^[7]。这一设想如能实现,将会导致整个农业的技术革命。

按器官发生途径曾将无性系快速繁殖划分为四个类型,即原球茎(proto-corm)、胚状体发生(embryogenesis)、器官发生(organogenesis)以及短枝扦插和芽增殖(cuttings, bud multiplication)。国内许多单位对这些技术的急需,大有急不可待之势。我们曾举办了四次《植物组织培养》的短期学习班,远从边疆如黑龙江和新疆等地都有人前来报名,要求参加学习,由于人数较多,我们还不能满足大家的要求。今后还将继续举办这种学习班。

我们纵观国内这方面工作的发展趋势,估计2—3年内,国内花卉市场将供过于求。今后要以讲求质量、加强检疫等工作为主,并且以扩展外销为目标。同时要加强常规育种、引种和栽培技术的研究。将无性系快速繁殖作为生产流程中的一个环节,才能充分显示它的作用。而且,从事这方面工作的单位数量也将会随着市场的调节而有所增减。

植物基因工程

植物基因工程是近年来新形成的研究领域,在这儿分子生物学的最新技术和植物原生质体及细胞培养技术密切结合了起来,并获得了可喜的结果。近十余年国内外的许多以植物

基因工程为主的公司纷纷成立。西德科恩马普育种研究所、美国西雅图华盛顿大学、麦迪生的威斯康新大学以及比利时根特大学等几个集体的工作进展较快^[8-10]。他们的工作初步显示外来基因能整合进植物的基因组,经过改建的Ti质粒可作为基因载体。脂质体包裹基因的转化效率低而不稳定。利用裸露的DNA进行转化也可得到一些初步结果。利用Ti质粒作载体引入的植物基因种类有:豌豆RuBP羧化酶小亚基及其转运肽(transit peptide)、菜豆球蛋白G1和玉米醇溶蛋白等基因。在受体植物细胞内它们发生了表达,这些基因的转录产物——mRNA以及翻译出来的微量蛋白均被检测到了。今后应继续改建Ti质粒载体,以提高转化和表达效率,并需要使引入的基因表达能在特定的发育时期和特定的组织内进行,甚至能对光照和温度等环境因子发生反应,从而实现按人类的需要去改造植物的最终目标。我国在1984年年底举行了“全国植物分子遗传学工作会议”,会上有关单位报告了工作进展情况,工作均刚开始。我们认为,可能在不太远的将来,由于基因的分离、引入和表达等能做到随心所欲的程度,例如可利用特定基因的引入控制细胞分化,这时,植物基因工程自然将冲击单倍体育种、体细胞杂交、抗逆性等课题的研究。所以我们建议,当前应开始考虑加强植物分子生物学和基因工程的研究力量。我国这方面的力量还较薄弱,需要国家支持。这方面的技术人员需要不断学习新知识、掌握新技术和发扬相互协作的精神,才能迎头赶上。

植物的代谢产物的生产

目前国内只有20余个单位在进行这方面的工作,但是这是一个大有发展前途的项目。利用细胞悬浮培养方法培养某些植物细胞,并进行工业生产以提取药用成份,如人参、毛地黄毒苷、蛇根碱、阿吗碱、紫草素、黄连素等已实现了工业生产^[20]。这项工作既可解决药材的不足,也可减少药材的进口问题。同时也可

采用快速繁殖的技术繁殖一些用途独特、市场急需和需要进口的紧张的药材。近年还在向调味品和色素等代谢产品的生产发展。

后 语

我们展望未来，见到曙光已露，认为曙光在前，齐心努力，就可促使我们的这一门科学早日为社会主义建设作出更大的贡献。我们虽然走过一些曲折的道路，但是纵观今日，我们的队伍壮大了，工作也从各方面开展起来了，这是值得庆贺的，我们也感到无限欣慰。党和国家重视科学研究，同时也对我们提出更高的要求，这是推进我们工作的动力。前途无限光明，寄希望于在座的同行及青年同志们。祝愿同志们在党中央召开的三月七日全国科技工作会议的号召下，合作分工，奋力前进，作出光辉的贡献。

参 考 文 献

- [1] The World Biotech. Report. 1984, Vol. II. Online publications. UK.
 [2] S. Sens & Y. Okada (ed.) Intern. Cell Biology. 1984, Tokyo.
 [3] 国际植物遗传操作会议论文集, 1984年10月, 北京香山。

- [4] 罗士韦, 许智宏, 1985, Ann. Rev. of Biol. Science in China (曹天钦编).
 [5] 全国植物分子遗传学术工作会议(细胞生物学会), 1984年12月, 上海。
 [6] 罗士韦, 许智宏编, 1985, 《经济植物的组织培养》(科学出版社)。
 [7] 詹祥灿, 1984, 植物生理通讯, 2期74页。
 [8] Montagu, M., et al., 1984, EMBO, 3: 1681.
 [9] Chua, Nan-hai, et al., 1984, Science, 224: 838.
 [10] Fraley, R. T., et al., 1983, P. N. A. S., 80: 4803.
 [11] Helmer, G., & M. D. Chilton, 1984, Biotech, 2: 520.
 [12] Hernalsteems, G. P., et al., 1984, EMBO, 3: 3039.
 [13] Hooykaas, G. P. et al., 1984, Nature, 311: 763.
 [14] An, G., et al., 1985, EMBO, 4: 277—284.
 [15] Murai, N. et al., 1983, Science, 22: 476—482.
 [16] Van Broeck, G., et al., 1985, Nature, 313 (6001): 358—363.
 [17] Montagu, M., et al., 1983, Nature, 303: 209.
 [18] Fraley, et al., 1984, Science, 223: 496.
 [19] 唐惕, 1984, 植物生理通讯, 4期第11—13页。
 [20] 小林敏幸编, 《植物组织培养与代谢产物》, 1984。

叶绿体基因的定位和结构

肖 伟
(南京农学院)

自从1962年发现叶绿体DNA(ctDNA), 以及后来证明叶绿体分裂和叶绿体基因组自主复制以来, 20余年间对叶绿体的研究有了长足的进步, 成为植物分子生物学的“生长点”之一。这些研究成果对于揭示光合作用过程、叶绿体基因的作用及其调控具有重要意义。迄今为止已有几十种蛋白质及核酸分子被证明是由叶绿体基因指导下合成的, 其中有些基因已经定位, 有些并做了较详细的研究。对于探索生物的演

化规律、人工模拟光合作用过程, 以及通过改造光合过程来改良植物品种, 无疑具有一定的指导作用。

叶绿体蛋白质的合成

高等植物叶绿体基因组的分子量为 10^8 道尔顿(D)或120—160千碱基对(kb), 可编码100种以上蛋白质和核酸分子。但是仅叶绿体中DNA复制、转录和翻译就需要约100个基