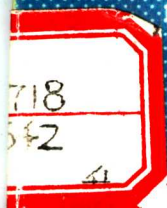


林业生物工程学概论

程东升 编著



东北林业大学出版社

林业生物工程学概论

程东升 编著

东北林业大学出版社

(黑)新登字第10号

林业生物工程学报

程东升 编著

东北林业大学出版社出版发行

(哈尔滨市和兴路8号)

绥化县印刷厂印刷

开本 787×1092 毫米 1/16 印张10 插页1 字数219千字

1992年7月第1版 1992年7月第1次印刷

印数 1—1500册

ISBN 7-81008-243-4/Q·24

定价 2.65元

内 容 提 要

本书系统阐述70年代以来得到迅猛发展的新兴学科——生物工程的基本知识和有关理论,进而结合林业的特点介绍生物工程的研究及应用。全书包括绪论共六部分。绪论介绍生物工程的定义、内容范畴,以及在现代生物科学中的地位。第一至四章分别介绍组织培养、细胞融合、基因工程和微生物·酶工程的基础理论及应用技术,各章都密切结合林业的特点进行论述。第五章展望未来林业同生物工程的关系。书后附有生物工程发展简史及术语索引。

本书主要供农林、植物学科大学生、研究生及农林科学工作者阅读。全书系统性、连贯性较强,也适于作为农林院校的生物工程学教材或教学参考书。

前 言

70年代以来,一个新技术革命的浪潮在世界范围内迅猛掀起,信息技术、新型能源、新型材料和生物工程构成了这场新技术革命的四支柱。生物工程是操纵和利用生物体机能的综合性技术体系,主要由基因工程、细胞工程(细胞融合和组织培养等)、微生物(发酵)工程和酶工程四大部分组成,已广泛应用于农业、医药、食品、能源化工等领域,并取得了巨大成就。

林业上的生物工程研究起步较晚。从长远观点看,开展林业生物工程的研究对推动林业科学的进步和林业生产的发展具有十分重要而深远的意义。生物工程研究应用的最终目的在于开发利用生物体潜在机能,为人类造福。在地球生物圈中,“森林”这一林业科学研究的中心对象,是蕴藏量最大、生物种类最丰富的生物资源宝库,因而生物工程在林业领域的应用潜力之大是难以估量的。

近年来,国内外零星或单一地介绍生物工程各分支领域(如基因工程、细胞工程、微生物工程等)的书籍已出版不少,但系统地将分散于不同学科、不同领域的生物工程各分支归纳在一起,并紧密结合林业的研究应用特点来论述的著作,在国内尚未问世。此外,现有国内外生物工程方面的论著,大多数起点高、专门性强,仅仅适于专门从事生物工程研究和有一定基础的读者,难以起到教育和普及高新科技理论知识的作用。鉴于此,作者在参考国内外大量资料和本人实践的基础上,以系统全面、简明易懂并和林业结合为宗旨编写了本书,旨在为推动生物工程在林业科学领域里的普及尽一份力量。

本书由浅入深地阐述生物工程基本理论,进而介绍植物生物工程技术,并在此基础上,结合林业的特点论述生物工程的研究与应用。全书分绪论、第一至五章及附录。绪论部分介绍生物工程的定义、内容范畴及其在现代生物科学中的地位。第一至四章分别介绍组织培养、细胞融合、基因工程和微生物·酶工程的基础理论及应用技术,各章都密切结合林业的特点进行阐述。第五章从资源、环境危机等人类面临的重大课题出发,论述森林资源的意义以及开展林业生物工程研究的必要性。

本书是国内比较全面而系统地论述林业生物工程学的第一本专著。生物工程学是一门正在飞速发展的学科,综合性强,涉及学科领域多,迄今尚未形成一门自成体系的学科,甚至连其定义也尚未统一。将这门处于分散状态的新兴学科从历史演变和发展的角度进行归纳整理,使之体系化,并在此基础上给这门学科下一个比较完整的定义,是本书内容的新颖点之一。

由于本书内容涉及学科领域范围广,再加上作者水平有限,故缺点错误在所难免,敬请读者批评指正。

本书初稿分别承邵力平教授、张培果教授、石绍业副教授和刘玉喜副教授审阅,诚挚谢意。

程东升

1992年2月于哈尔滨

目 录

前 言

绪 论	1
一、从巨大的生物群体——森林谈起	1
二、什么是生物工程	2
三、生物工程与其它学科的关系	4
四、我国生物工程发展简况	7
第一章 操纵细胞全能性的生物工程——组织培养	8
第一节 植物组织培养的原理和意义	8
一、细胞学说的提出	8
二、植物细胞的全能性	8
三、植物组织培养的应用意义	9
第二节 植物组织培养基础知识	10
一、组织培养中的常用术语	10
二、植物组织培养的营养要求和培养基	11
三、外植体的选择	15
四、培养方法	15
第三节 各种类型的植物组织培养	17
一、愈伤组织培养	17
二、器官培养	19
三、花药培养	21
四、胚胎培养	24
五、细胞培养	25
第四节 林木的组织培养及其特点	26
一、林木的营养繁殖能力	27
二、林木组织培养的外植体	28
三、林木组织培养的主要类型	28
四、林木组织培养的特殊困难	31
第五节 组织培养在林业上的应用	32
一、林木快速无性繁殖	32
二、林木单倍体育种	35
三、林木育种的早期测定	36
四、育种在林木病害防治中的应用	36
五、无性变异的利用	36
六、林木的远缘杂交	37
七、种质资源保存	37

八、人工种子技术	38
九、有用代谢物生产	39
第二章 操纵细胞遗传的生物工程——细胞融合	40
第一节 植物原生质体与细胞融合	40
一、原生质体的全能性	40
二、植物的细胞融合及其应用意义	40
第二节 植物原生质体的分离与培养	43
一、原生质体的分离	43
二、原生质体的培养	45
三、原生质体的发育和植株再生	48
第三节 原生质体融合和融合子筛选	48
一、原生质体的融合	48
二、融合子筛选	50
三、细胞杂种的鉴定	51
第四节 林木原生质体融合及其特点	52
一、木本植物原生质体的分离	52
二、木本植物原生质体的培养与再生	54
三、木本植物的原生质体融合	55
四、融合子筛选与杂种鉴定	55
第五节 原生质体及其融合技术在林业上的应用	56
一、原生质体及其融合技术在林业上的应用领域	56
二、木本植物原生质体融合的研究现状	57
第三章 操纵核酸分子的生物工程——基因工程	60
第一节 遗传的物质基础	60
一、生物的遗传和变异	60
二、什么是遗传物质	60
三、核酸是遗传物质的证据	61
四、DNA和RNA的分子结构	64
五、DNA的复制	67
六、不同生物遗传物质的存在方式	69
第二节 从遗传信息到性状表达	70
一、蛋白质的构造	71
二、DNA上的遗传信息	72
三、从DNA到蛋白质	74
四、基因表达的调控	81
五、基因突变	82
第三节 基因工程的一般原理	84
一、剪接DNA用的工具酶	84
二、DNA的载体	86

三、目的基因的取得.....	88
四、基因的体外重组及其转化和表达	91
五、基因工程中的常用技术.....	95
六、基因工程的生物防护问题	97
第四节 高等植物的基因工程.....	97
一、致瘤农杆菌引起的植物细胞转化	98
二、Ti 质粒和 T—DNA.....	99
三、利用Ti质粒作植物基因工程的载体	100
四、转化植物细胞的各种途径	104
五、植物基因工程存在的问题	106
第五节 基因工程在林业上的应用.....	106
一、基因工程在林业上的应用领域	107
二、在林木遗传改良中的应用	107
三、在森林分子生物学研究中的应用	109
四、问题与展望	110
第四章 操纵代谢机能的生物工程——微生物·酶工程.....	112
第一节 自然界中的微生物	112
一、微生物的种类.....	112
二、微生物在自然界中的分布	113
第二节 微生物的代谢.....	113
一、微生物代谢的特点.....	113
二、微生物的物质合成.....	113
三、微生物的物质分解.....	114
第三节 微生物发酵工程.....	116
一、微生物发酵生产原理.....	116
二、发酵生产各阶段的管理	117
第四节 酶促反应和酶工程.....	120
一、什么是酶	120
二、酶的结构和作用原理.....	121
三、影响酶促反应的因素.....	122
四、酶的来源和酶制剂.....	124
五、固定化酶技术.....	124
第五节 微生物·酶工程在林业上的应用.....	127
一、木质资源的生物转化	127
二、木腐性食用菌资源的开发利用	130
三、菌根菌制剂的生产.....	130
四、微生物杀虫剂的生产	131
第五章 生物工程与21世纪的林业.....	132
第一节 生物工程对经济社会的影响.....	132

一、新技术革命的浪潮.....	132
二、生物工程对经济社会发展的影响	132
第二节 资源、环境危机与森林.....	135
一、人类面临的新课题.....	135
二、森林资源的意义	136
第三节 生物工程与未来的林业.....	138
附录一 生物工程发展简史.....	140
附录二 术语及主题索引.....	146
主要参考文献.....	150

绪 论

一、从巨大的生物群体——森林谈起

(一) 森林的功能与生命活动

森林生产木材，木材可用作燃料，可用于建造房屋；森林提供可食用的野果、药材；森林还养育野生动物。森林具有这些功能是人类在远古时代就知道的普通常识。但是现代人类对森林的认识远远地超出了上述范畴。人类进化的同时，对大自然的认识也在不断进步，亦即科学的进步。现代科学知识告诉人类，对于人类来说，森林不仅是一个提供基本生活资料的自然资源，而且还在维持生态平衡、保护人类生存环境方面起着无法估量的重要作用。

森林是陆地上分布最广、组成结构最复杂的一种生态系统。这一生态系统由生产者的绿色植物、消费者的动物和分解者的微生物三大生物类群构成了一个和谐的、与大自然融为一体的物质生产和能量转换工厂。这座工厂以太阳能为能源，以自然界大量存在的碳元素为基本材料，一刻不停地、高效率地进行着能量转换和有机物的生产、分解和利用。这种能量转换和物质生产的产品，是人类生活资料的重要组成部分。森林同时又是一个生物种群的宝库，多种多样的物种在这里协同进化，均衡发展，极大地丰富了地球上的生物资源。

森林这一巨大生物工厂的存在和发展，对于以人类为中心的生物圈来说，又起着净化大气、涵养水源、保持水土、防护农田、防风固沙、调节气候、减少噪音、排除污染和美化环境等多种多样的作用。

那么，人们要问，森林何以具有如此丰富多彩的功能？具有如此众多功能的森林得以存在和发展的基础是什么？如果对这一问题追根溯源的话，首先必须考虑森林是一个巨大的生物群体。这一巨大的生物群体包含着众多种类的生物，各种生物之间相互依赖，又彼此制约，形成了一个错综复杂但又十分协调的生物社会。每一生物都在这一社会中占有一定位置，具有其特定的个体功能及其对群体的作用。每一生物特定的个体功能和作用是森林这一巨大的生物社会得以存在和发展的基础，而所谓生物的个体功能归根结底又都是生命活动的表现。所以，森林多种多样的功能最终是建立在多种多样的生命活动基础之上的。

生物的生命活动又是什么呢？现代生物科学的知识告诉人们，地球上所有生物的生命活动都依靠生物体的机能来维持完成。生物体内潜藏着种类多样的机能，其力量之大是难以估量的。

(二) 生物体的机能

什么是生物体的机能呢？生物的种类繁多，生命现象丰富多彩，所以生物体的机能也多种多样。生命现象就是生长、自我繁殖和物质合成分解等变化过程的延续。从生命活动这些最基本的特征出发，可以把生物体机能归纳为生长增殖、遗传变异，以及新陈代

谢三大主要类别（见表0-1）。

表 0-1 生物体机能主要类型及其在不同水平上的表现

机 能 类 型	机 能 的 表 现		
	个 体 水 平	细 胞 水 平	分 子 水 平
遗 传 变 异	物种延续与进化	细胞全能性	核酸的稳定性与变异性
生 长 增 殖	个体生长繁殖	细胞分裂	核酸复制与蛋白质合成
新 陈 代 谢	物质生产消费	细胞代谢	酶促反应

生物体及生命活动的基本单位是细胞，而细胞由复杂多样的有机和无机物分子构成。科学的进步，使得人类对生物体构造的认识水平按照以下顺序逐渐提高，即从个体水平到细胞水平，再从细胞水平到分子水平。伴随着这种提高，人类对生物体机能的认识也在不断深入。生物体机能在不同水平上的表现如表0-1所示。

（三）人类对生物体机能的利用

人类的进化史实际上也可以说是一部对自身以外生物の利用史。人类有史以来就开始了的古老的生产活动——农、林、牧、渔，无一不是对生物の利用。不管是作物栽培或是林木采伐，也不管是家畜饲养或是捕鱼狩猎，都是一种效率很低的、极其粗放的生物利用。这种利用也可以理解为一种近似群体或个体水平上的生物利用。这种粗放的利用，即便是人类对生物体机能毫无所知也能够进行。

但是，随着生物科学和其它有关科学的发展，人类对生物和生物体的机能从无知到有知，对其认识从肤浅到深入，由群体水平到个体水平，再由细胞水平到分子水平，终于进展到了这样一个阶段，即人类开始能够按照自己的意愿，有意识地操纵、改造和利用生物体机能，使之高效率地为人类生产活动服务。这种有意识地操纵、改造和高效率地利用生物体机能的技术，构成了“生物工程”这门学科最基本的内涵。

二、什么是生物工程

（一）生物工程的定义

生物工程的英语是biotechnology，汉语曾译为“生物工艺学”，早期主要指微生物发酵。70年代以来，由于基因工程、细胞工程和酶工程的兴起，为经典生物工艺学提供了许多新理论和新手段，从而刷新了生物工程这一学科。目前，我国学者普遍认为“生物工程”一词比“生物工艺学”更确切，因此“生物工艺学”一词已废弃不用。

如前所述，高效率地利用生物体机能的技术构成了生物工程的基本内涵，也就是说生物工程具有明显的技术手段性质，因而生物工程也常被称为生物技术。但是，生物工程具有其极为深厚而广泛的理论基础，只是这些理论基础分散于其它多种学科领域。一般来说有这样一种倾向，即强调它具有技术手段性质时称“生物技术”，强调它是具有一定理论体系的学科领域时称为“生物工程”。本书则采用了后者。

生物工程作为一门初具体系的学科技术，其历史十分短暂，70年代被认为是它基本

形成系统的时期。由于这门学科初具体系的历史很短，同时又由于它融多门学科于一体（主要有微生物学、生物化学、遗传学和细胞学等），综合性很强，因而对其含义的理解不同学科领域的观点看法各有偏重，导致目前对生物工程尚无非常严密而统一的定义。言简意赅地概括，生物工程是一个高效率利用生物体机能的综合性技术体系。若进一步详细说明，在归纳多种观点的基础上，可将生物工程定义如下：

以生物学（微生物学、遗传学、生物化学、细胞学和分子生物学）的理论为基础，结合运用物理化学等工程技术手段，从细胞乃至分子水平上人工操纵、改造和利用生物体机能，使之高效率地为人类的生产活动服务的科学技术，就是生物工程。

（二）生物工程的内容范畴

生物工程的萌芽出现，可以追溯到起源古老的酿造技术。古老的酿造技术的本质，是采用极原始的工程技术手段，利用微生物的代谢（发酵）机能来生产食品、饮料。生物工程开始成为一门比较系统的学科的历史并不长，而且目前仍然在不断发展，并不断补充进新的内容。就现阶段的状况来说，生物工程主要包括基因工程、细胞工程（细胞融合、组织培养等）、微生物工程（也称发酵工程）、酶工程，以及抗体和生物膜技术等。从各部分利用的生物体机能来看，基因工程和细胞融合是利用遗传变异机能，微生物工程和酶工程则是利用代谢机能，而组织培养则主要是利用细胞的全能性。另一方面，从利用的水平来看，基因重组和酶工程属于分子水平，细胞融合、组织培养和微生物工程则属于细胞水平（见表0-2）。

表 0-2

生物工程主要内容及其相互关系

利用的生物体机能	分 子 水 平	细胞（或亚细胞）水平
遗 传 变 异	基 因 工 程	细胞融合、核移植等
物 质 代 谢	酶 工 程	微 生 物 工 程
生 长 增 殖		组织、细胞培养
其 它 机 能	抗 体 技 术	生物膜、生物传感技术

基因工程（Genic Engineering）也常称“遗传工程”（Genetic Engineering）。严格地说，“遗传工程”一般或者说容易被理解为含意较广：凡通过改变遗传结构的方法，来获得新的遗传特性，从而改变物种或创造新物种，都可以被理解成属于遗传工程。按照这种理解，遗传工程在“个体水平”、“细胞水平”以及“分子水平”上都可以进行。如常规育种的有性杂交，是一种个体水平上的遗传工程；通过细胞融合或核移植进行细胞杂交则是一种细胞水平上的遗传工程。而“基因工程”则是狭义的，即分子水平上的遗传工程，它是通过对遗传物质 DNA 分子的直接操纵和改造来改变生物遗传性状的。

考虑到70年代以前早已有生物工程的萌芽及其初期阶段的发展，上述范畴的生物工程也被称为是现代生物工程。在现代生物工程各分支领域中，基因工程占据中心地位，微生物·酶工程则是基础，细胞融合、组织培养，以及抗体、生物膜等技术则分别是它们的扩展或补充。

从技术内容看, 基因工程是从分子(核酸分子)水平上操纵和改造生物体遗传机能, 细胞融合则是在细胞水平上进行生物体的遗传操作。微生物·酶工程是利用生物体代谢机能生产有用物质, 其利用的生物对象是微生物。而组织培养(包括细胞培养)一方面是利用细胞全能性快速增殖生物个体, 另一方面是仿照微生物发酵方法大量培养细胞来生产有用物质, 其利用的生物对象是高等动植物(主要是高等植物), 因而可以认为, 组织培养是微生物工程在应用范围上向高等动植物的扩展。

从生产角度看, 基因工程和细胞融合本身并不是一种独立的生产技术。虽然通过它们可以改变生物性状, 从而提高生物体的潜在机能, 但是, 要使这种被提高了的生物体机能真正用于生产, 使之发挥经济效益, 最终要依靠微生物·酶工程或组织和细胞培养来完成。所以, 生物工程各分支领域既在理论和技术上互相联系, 又在生产应用上密切相关, 互为补充, 不可分割。

现代生物工程的诞生建立在多门学科成就的基础之上, 所以其内容范围覆盖的学科领域很广。由于不同学科领域具有不同的内容范畴、不同的特点和不同的发展水平, 因而生物工程各技术分支在不同学科领域(如化工、食品、农林、医学等)的发展中也各有偏重, 每个学科领域都按照各自的服务方向开展着生物工程的研究。从历史和现状来看, 化工、食品领域把微生物·酶工程作为重点, 医学领域以基因工程、抗体技术为核心, 农林学领域则优先发展了组织培养和细胞融合。

三、生物工程与其它学科的关系

(一) 生物工程形成的基础

整个生物科学各分支领域的发展是现代生物工程形成的前提。生物工程萌芽于人类对微生物代谢机能的利用。随着研究的不断深入, 微生物学逐渐与遗传学、生物化学等学科不断发生横向渗透, 导致了分子生物学的形成。分子生物学是由微生物学、生物化学和遗传学三门学科的综合和深入发展而形成的。分子生物学的形成标志着人类已经可以通过生物大分子的结构和功能, 特别是以核酸和蛋白质的结构和功能为基础来认识生命现象。在此基础上, 人类对生物体机能的利用也进入了一个更高的水平——分子水平。这种高水平的利用标志着现代生物工程的诞生。现代生物工程伴随分子生物学的发展而形成。分子生物学是生物科学基础理论, 而生物工程则是把分子生物学的基础理论应用于人类生产活动的科学技术。

在现代生物工程的形成过程中, 邻近学科先进技术和方法的导入起了重要的作用。可以说生物工程是多种学科相互启发、相互渗透、相互促进的产物。它是借助微生物学、生物化学、遗传学、细胞学以及物理化学等学科各个时期的新成就而形成的。微生物学发展至本世纪中期时, 化学、物理学、数学, 尤其是生物化学和遗传学的一系列新技术陆续与微生物学理论研究相结合, 如电镜、同位素、超离心、分光光度法、层析、离子交换、电泳、凝胶过滤, 以及电子计算机技术等广泛应用, 使这三门相当于分子生物学亲代的学科有了飞速发展。电镜的使用揭示了细菌、病毒等微小生物的微观结构; 超离心技术的出现为分析高分子化合物提供了有力手段; 电泳和X射线衍射技术的引入为结构精巧、形式多样的生命基础物质——蛋白质和核酸的研究奠定了重要基础。

现代生物工程的丰富内容是逐渐充实而成的：以微生物和生物化学系统的实验技术为基础，发展起来了微生物工程、酶工程以及抗体、生物膜等技术；微生物技术和细胞学理论的结合奠定了细胞工程（组织培养和细胞融合）的基础；在遗传学和分子生物学基础上兴起了基因工程，并促进了作为基因工程重要补充的细胞遗传操作技术的不断完善。

生物工程的形成基础如图0-1所示。

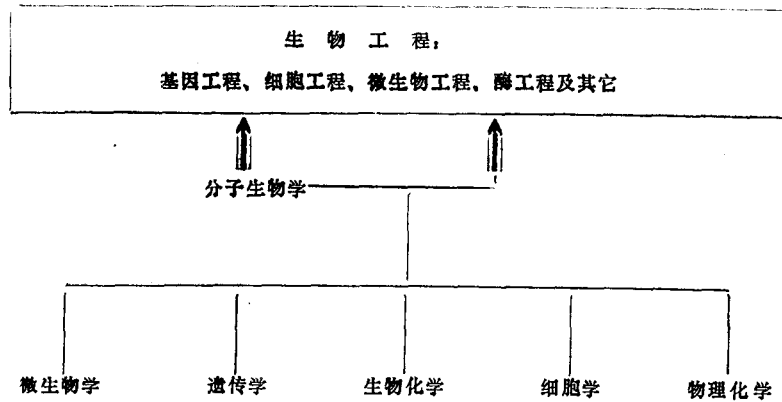


图0-1 生物工程的形成

（二）生物工程在科学和生产领域中的地位

随着以分子生物学为中心的现代生物科学的进展，生物体机能的奥秘逐步得以揭示，人类开始认识到，生命活动及其控制系统的构造，比起任何精密的机械电子装置或化学工业中的工艺流程都要复杂巧妙得多。于是，生物体机能开始引起人类的极大兴趣。利用或模仿生物体机能，向生物学习，已成为现代科学技术上的一个明显特征。尤其是本世纪70年代以来，生命科学理论向非生命科学领域的渗透日益广泛，正是人类对生物体机能利用程度日益深入的反映。

生物体机能和传统物理化学技术的结合，使生命科学和非生命科学之间的距离逐渐缩短，这在人类生产领域中表现为传统上与生物无关的产业领域（机械、电子、化工等）的生物化和生物产业领域（农林牧渔、发酵、食品、医学、医药等）的非生物化（工业化）。

生物产业的工业化在食品发酵和抗菌素生产等领域已有较长的历史，这和微生物工程的形成较早有密切关系。在农林业方面，以生物工程为基础的试管繁殖、人工种子、细胞工厂、种质资源保存等新型技术的兴起，正预示着未来农林业的工业化方向。与此同时，工业领域出现了越来越明显的生物化倾向。由于生物工程技术向工业领域的急速渗透，那些传统上被认为是与生物科学毫不相干的能源、化工、冶金、环境保护、电子等工业领域的生产体系和技术结构，都在发生着程度不同但意义却是极其深刻的变化。利用生物体机能的生物工程技术，不仅在生物性生产领域得到了广泛应用，在非生物性生产领域中也正日益显示出其潜在的威力。生物工程在各主要生产领域中的应用实例示于表0-3。

表 0-3

生物工程在主要生产领域中的应用实例

生产领域	基因工程	细胞融合	组织培养	微生物・酶工	抗体、生物膜技术等
农林牧渔和食品工业	作物育种 动物育种 微生物育种	作物育种 动物育种 微生物育种	快速繁殖 人工种子 脱病毒复壮	农林废弃物利用 生物资源开发 微生物蛋白	单抗诊断 生物传感
医药、医疗	特殊药物生产 抗体制备 基因治疗	特殊药物生产 抗体制备 基因治疗	皮肤移植 脏器移植 生物制剂	抗菌素生产 其它药剂生产	
资源、能源	特种菌育种	特种菌育种	生物制剂	生物能源开发 细菌冶金 微生物采油	
环境保护	特种菌育种	特种菌育种		工业废弃物分解	生物传感 物质提纯 生物计算机
化工			生物制剂	生物制剂	
电子					

生命科学和非生命科学在应用领域的相互渗透，正在推动着一场意义之深、规模之大都是人类历史上前所未有的新型产业革命。这场新型产业革命将为人类解决能源、食品和环境三大危机打开一条出路，而这种生命和非生命科学相互渗透的交接点正是生物工程（图0-2）。

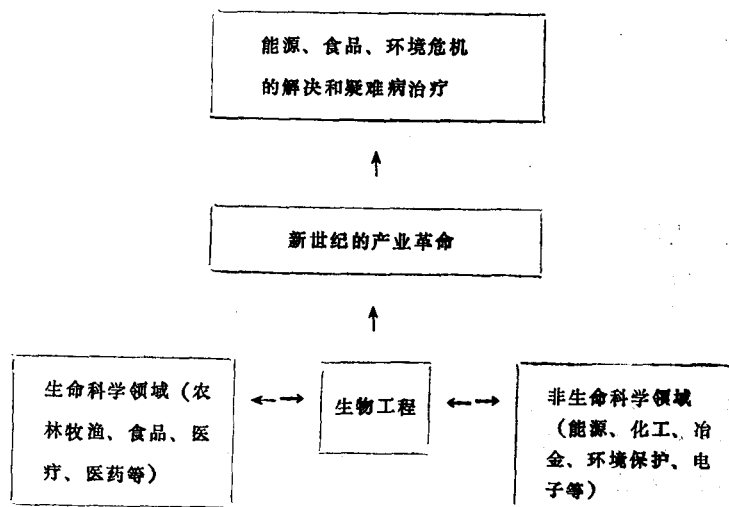


图0-2 学科领域间的相互渗透与生物工程

生物工程所处的交接点位置也正显示出了它作为一门新兴技术的强大生命力。生物工程的最终目的在于操纵和利用生物体机能,通过工程技术手段,高效率地为人类的生产活动服务。这门生命力极强的技术无疑将在新世纪的产业革命中发挥巨大的作用。

四、我国生物工程发展简况

生物学是我国近代科学发展较早的学科之一,尤其是新中国成立以来,在生命科学研究方面取得了长足的进展,其中有一些已经达到或接近世界先进水平。但是,建国后在多次政治运动的冲击下,尤其是1966—1976之间的10年动乱,加上其它许多历史因素,在总体上拉大了我国生命科学研究同世界先进水平之间的距离。

在10年动乱结束前夕的1975年,中国科学院召开了分子遗传学和遗传工程工作会议,我国的生物工程开始迈出了可喜的第一步。在这次会议的带动下,有关研究机构制定了遗传工程研究计划,开展了一系列基础研究工作。1978年,召开了全国科学大会,会上遗传工程被列为国家八大重点发展领域之一。1984年,中国科学院制定了《1986—2000年生物学规划》,其中基因工程被定为优先发展的领域之一。1986年,国务院审查并通过了“863高技术研究发展计划”,计划的主要内容包括了生物工程。1989年,国家科学技术委员会正式颁布了旨在发展我国生物工程的宏观指导性文件——生物技术政策蓝皮书。

从世界范围看,70年代是生物工程的系统形成时期。这也正是我国生物工程开始起步的时期。虽然起步较晚,但近20年来已在农林作物品种改良、种畜繁殖、医药、生物农药以及食品工业等方面有了不少可喜的进展。70年代初,我国用小麦花药培育出了高产小麦新品种;80年代初,我国在杨树单倍体育种上取得了突破。这些成就使我国的植物花药培养在国际上处于领先地位。1982年,我国在基因工程方面取得了一系列重大成果。这些成果包括乙型肝炎病毒基因组在大肠杆菌中克隆成功;脑肽基因人工合成,体外重组、功能表达的实现,以及基因工程干扰素的研制成功等。1988年,人干扰素基因在植物烟草细胞里获得表达。1990年,将病毒的外壳蛋白基因转入烟草,培育出了抗病毒的优质香料烟草株系,并已进入了大田试验。

我国是发展中国家,在这个新技术革命的转折时刻,有可能跨越发达国家所经历的某些发展阶段,直接采用新技术。我们必须不失时机地迎头赶上,来迎接这场严峻的新技术革命的挑战。

第一章 操纵细胞全能性的生物工程

——组织培养

第一节 植物组织培养的原理和意义

一、细胞学说的提出

人类第一次发现细胞是在17世纪。1665年,英国的光学仪器修理师虎克(Robert Hooke)用他自己制造的复式显微镜观察薄的木栓切片,发现了很多象蜂巢一样的小室,他把这些小室称为细胞(cell)。虎克所看到的小室,实际上就是植物的死的细胞壁和细胞空腔。

细胞的发现打开了生物显微世界的大门。1839年,德国植物学家Schleiden和动物学家 Schwann 同时得出结论:一切有机体,从简单的单细胞生物到复杂的多细胞生物,都是由细胞组成的。他们比较明确地指出,细胞是有机体结构和生命活动的基本单位,也是生物个体发育和系统发育的基础。这就是细胞学说。细胞学说的提出使人类对于生物的认识水平上升到了一个新的高度。它告诉人们,无论多么复杂的生物,都是从一个细胞(受精卵)或一群细胞,通过细胞生长、细胞分裂和细胞分化而最后形成的一个统一整体。

二、植物细胞的全能性

一个复杂的植物体是由许多形态各异、大小不同的细胞构成的。这些细胞既有相互联系、相互配合,从而体现出植物整体性的一面,同时又有一定的各自相互独立的一面。细胞的这种相对独立性,表现在将植物的器官和组织分割成单个细胞后,在一定的条件下,这些离体的单细胞仍然可以保持生命的基本特征。例如可以分裂增殖,形成细胞团块,直至生长分化成一株新的完整植株。构成植物体的细胞,在离体条件下能够生长分化,最后形成完成植株的潜在能力,称为细胞的全能性(cell totipotency)。细胞全能性是通过组织或细胞培养研究整体植物的理论基础。

1902年,德国植物学家Haberland首次提出植物细胞全能性的观点,指出:总有一天可能从有花植物(种子植物)活的离体细胞培养成完整植株。Haberland曾尝试了用培养植物叶片细胞来证明他的假设,结果没有成功。1937年前后,法国的Gautheret和Nobecourt培养胡萝卜根的离体组织,并使细胞增殖获得成功;美国的 White 对烟草茎段形成层成功地进行了继代组织培养。1948年,Skog等人发现利用激素可以诱导植物离体组织的形态分化。在烟草茎段和髓的培养基上加上适当比例的腺嘌呤和生长素可以控制植物离体组织出芽或生根,当腺嘌呤与生长素的比值高时产生芽,低时形成根。

1958年,Steward用液体悬浮培养把胡萝卜(*Daucus carota*)体细胞(筛管组织游离细胞)经胚状体培养成完整植株,并且开花结实(图 1-1),首次证实了植物细胞