

植物肿瘤的分子生物学

〔联邦德国〕 G. 卡尔 J. S. 舍尔 主编

科学出版社

内 容 简 介

本书从分子生物学方面来论述植物瘤的诱因及其致癌机理。全书分三部分(包括二十四章)。第一部分介绍植物的不正常生长。分别在细胞的驯化、遗传瘤、创伤瘤、根瘤、虫瘿等五章中加以阐述。第二部分介绍冠瘿瘤(共十六章),主要介绍冠瘿问题的研究历史、它的逆转,根癌土壤杆菌的Ti质粒(Ti质粒片段的整合和转录、Ti质粒的接合和转移、Ti质粒编码的蛋白质、Ti质粒和定向的遗传工程),畸胎瘤,次生瘤和瘤细胞染色质的结构和功能以及冠瘿碱、章鱼碱和胭脂碱等的存在、生物合成及对它们的利用。第三部分介绍农业中遗传工程的潜在载体(共包括三章),主要介绍花椰菜花叶病毒,根瘤菌质粒和共生固氮等。

本书可供从事植物遗传工程、分子生物学研究的科研工作者,大、专院校生物系、农、林院校师生等参考。

Günter Kahl and Josef S. Schell
MOLECULAR BIOLOGY OF PLANT TUMORS
Academic Press, 1982

植物肿瘤的分子生物学

[联邦德国] G. 卡尔 J. S. 舍尔 主编

樊梦康 徐杏阳 等 译

责任编辑 梁淑文

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1988年7月第一版 开本: 850×1168 1/32

1988年7月第一次印刷 印张: 19 1/4

印数: 0001—1,820 字数: 507,000

ISBN 7-03-000384-5/Q·72

定价: 8.70 元

前 言

这本书的出版是及时的和幸运的。它为我们提供了一个深入学习有关根癌土壤杆菌转化植物细胞的机理的最新内容的机会。于是,我们认识到,病毒核酸整合进动物细胞基因组内形成新的孟德尔遗传基因* (new Mendelian-transmitted genes) 不是独一无二的。事实上,土壤杆菌 Ti 质粒的 T-DNA, 同样能整合进植物细胞的基因组,而且在某些条件下,可以有性地遗传给由转化细胞获得的植物的后代。

各章中所提出的资料与观点确实会推进新的研究。无论如何,本书与许多以前出版的描述植物转化实验的书籍之间的区别在于本书提出如此有力的证据,使我们相信,由于有了一些新资料,使任何过时的论点不致于蔓延并基本上得到更正,亦不能得出结论认为不管出现什么论点最好都忘掉。本书的重要还因为它明确地肯定“遗传工程”的出现似是一种天然的现象。反对遗传工程的一个经常的论点是:它完全是人为的,因此它必然会产生某种生活从来没有面临过的新情况。这种争论的基础使之充分相信,在进化过程中,有机体遗传信息的差别,如同细菌,植物和动物之间的差别,不会重组,亦不可能重组。已经知道,许多动物病毒可以携带跨越物种屏障的遗传信息。现在已经肯定,有些细菌能天然地把基因转移到植物细胞中去。显然,进化发展了许多原理,而且很久以前遗传工程已经采用,但没有具体地经营吧了!现在人类又重新发现了这些原理。

许多根癌土壤杆菌的菌株,通过遗传工程把一些特异的基因引进植物细胞,迫使这些植物细胞生产细菌可以用作“生活资料”

* F. Yang 和 R. B. Simpson (1981): *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78:4151-5155.

和“能源”的化合物而移殖于高等植物。特别是许多细菌菌株还专利地运用这些能源；只有那些迫使植物产生生活资料的菌株才具备利用这些资料的能力。通过对 Ti 质粒的 T 区引进一些特异的改变，这样获得的植物，表达冠瘿碱 (opine) 的合成但它们可以不依赖于激素而进行生长；或者相反，能形成冠瘿瘤但不产生冠瘿碱。还有些植物细胞，经过鉴定，它们含有 T-DNA 序列，但不产生任何明显的可觉察的表型变化(从冠瘿瘤得到恢复的复状幼苗，但它仍保留一部分细菌 Ti 质粒的 DNA 序列*)。据我们所知，目前还没有人发现过，在含有完整的没有表达的 T-DNA 的任何植物细胞中有如同动物病毒基因组造成的事例。

有没有这样的可能，驯化的外遗传现象 (epigenetic phenomenon) (不依赖于激素的生长)，可能是由于沉默的致瘤基因被激活而造成的？有时候，将冠瘿细胞从无激素的培养基转移到含低浓度生长素和高水平的细胞分裂素的培养基上，能观察到“恢复”，这种“恢复”的基础的实质是什么？一种最平常的解释是因为 T-DNA 插入的同时，丢失了染色体。如果能排除这种可能性，那末人们就会设想 T-DNA 基因受阻遏的可能性。这些和其他许多问题或许在不久的将来都能作出回答。这些回答对创建植物发育生物学将是关键性的，而且知道，这些回答可以作为提高我们对人类癌的理解和处理能力的基础。

G. Melchers

(樊梦康 译)

* 这方面的评论有：纽约，冷泉港，冷泉港实验室出版的冷泉港丛书，Tooze, J. 编(1981)《瘤病毒的分子生物学》10B 卷，DNA 瘤病毒，第二版；和 Weiss, R., Teich, N., Varnus, H. 和 Coffin, J. (1982)《瘤病毒的分子生物学》10C 卷，RNA 瘤病毒，第二版。一篇对照的评论，见 Bishop, J. M. (1981)，内部的敌人：还原病毒 (retrovirus) 致瘤基因的发生，《细胞》杂志 23 卷 5—6 页。

序

癌是一个特别引人注目的问题,它既是一种病,又是一种不正常的细胞生长现象。为了种种显而易见的理由,对动物和人类的癌已经进行过大量的研究。无论如何,作为一种科学研究的对象,我们理应对植物的癌给予充分的重视。

许多已知的植物癌或是由病毒,或是由细菌,或是由遗传的不平衡而引起的,所谓遗传瘤就是这样,它在某些植物杂种中自发产生。尽管已经积累了大量有关植物瘤形成一般性的观察与研究,但到最近为止,有关它的基本机理几乎一无所知。

有关冠瘿现象(由根癌土壤杆菌诱发的)的分子机理的研究还是很有收获的,并且对不正常生长的原因和机理的基础研究可能对了解细胞分化和基因表达的分子基础是一种最有效的途径。关于冠瘿内植物细胞向瘤转化的遗传结构是一种细菌质粒(称为诱瘤的 Ti 质粒)。本书中所叙述的研究使我们认识到,在演化过程中故意把这些 Ti 质粒设计成天然的基因载体,利用这些载体使某些细菌能把活性基因引进植物。这些转移进去的基因通过整合而稳定地保留在植物基因组内,而且它们的表达直接或间接地关系到瘤的生长模式。

Ti 质粒携带的“致瘤基因”是一种独特的模型系统,利用这种系统来研究某些调节基因影响其他基因的表达,从而控制生长和分化的机理。确实,这些与致瘤基因相关的 T-DNA 已经被遗传上鉴定了,已经分离出来了。因此也就能进行详细的研究。此外,因为 Ti 质粒具有基因载体的许多性质,可以对基因进行实验性修饰以及可以把修饰过的基因引进植物。于是,人们可以通过测定引进植物细胞的基因在其表达上发生的改变所造成的影响,就有希望实验性地探索基因分子结构和其功能间的关系。

可以设想，对其他类型的植物癌进行研究同样会对植物分子生物学的了解有贡献。我们希望本书能激发人们对研究植物不正常生长的科学产生兴趣。

Günter Kahl

Josef S. Schell

(樊梦康 译)

撰 稿 人

Bayer, Margret H. 美国,宾夕法尼亚州,费城, Fox Chase 癌中心,癌研究所。

Beringer, J. E. 英国,诺里奇 (Norwich), John Innes 研究所。

Black, L. M. 美国,伊利诺州,厄巴纳 (Urbana), 伊利诺大学,文理学院,遗传与发育学系。

Braun, Armin C. 美国,纽约,洛克菲勒大学,植物生物学实验室。

Broughton, W. J. 联邦德国,科隆,马克斯-普朗克 (Max-Planck) 栽培学研究所。

Chilton, Mary-Dell 美国,密苏里州,圣路易斯,华盛顿大学,生物学系。

De Greve, H. 比利时, St. Genesius-Rhode, 布鲁塞尔 Vrije 大学,遗传病毒学实验室。

Ellis, J. G. 澳大利亚,阿德莱德大学, Waite 农业研究所,植物病理学系。

Goldmann, Arlette 法国,凡尔赛,国立中央农业研究所,植物生理生化系,细胞生物学实验室。

Gordon, M. P. 美国,西雅图,华盛顿州立大学,生物化学系。

Hernalsteens, J. P. 比利时, St. Genesius-Rhode, 布鲁塞尔 Vrije 大学,遗传病毒学实验室。

Hohn, Barbara 瑞士,巴塞尔, Friedrich-Miescher 研究所。

Hohn, Thomas 瑞士,巴塞尔, Friedrich-Miescher 研究所。

Holsters, M. 比利时,根特,根特大学,遗传学实验室。

Hooykaas, P. J. J. 荷兰,莱顿,莱顿大学,生物化学实验室。

Johnston, A. W. B. 英国,诺里奇, John Innes 研究所。

- Kado, C. I. 美国,加利福尼亚州,旧金山,加利福尼亚大学,农业与环境科学学院,植物病理学系。
- Kahl, Günter 联邦德国,美因河边-法兰克福,歌德大学,生物学系。
- Kemp, John D. 美国,麦迪逊,威斯康辛大学,农学系和植物病理学系。
- Kerr, A. 澳大利亚,阿德莱德大学, Waite 农业研究所,植物病理学系。
- Klapwijk, P. M. 荷兰,莱顿,莱顿大学,放射遗传和化学诱变学系, Sylvius 实验室。
- Leemans, J. 比利时, St. Genesius-Rhode, 布鲁塞尔 Vrije 大学,遗传病毒学实验室。
- Lepidi, A. A. 意大利,比萨,比萨大学,农业微生物学研究所。
- Meijer, E. G. M. 联邦德国,科隆,马克斯-普朗克 (Max-Planck) 栽培学研究所。
- Meins, Frederick Jr. 美国,伊利诺州,厄巴纳,伊利诺大学,植物学和遗传及发育学系。
- Nuti, M. P. 意大利,帕多瓦 (Padova) 大学,农业化学和工业研究所,农业微生物学实验室。
- Ooms, G. 荷兰,莱顿,莱顿大学,生物化学实验室。
- Otten, L. 联邦德国,科隆,马克斯-普朗克 (Max-Planck) 栽培学研究所。
- Petit, Annik 法国,凡尔赛,国立中央农业研究所,植物遗传与改良试验站,冠瘿研究实验室。
- Prakash, R. K. 荷兰,莱顿,莱顿大学,生物化学实验室。
- Rohfritsch, O. 法国,斯特拉斯堡,巴斯德大学,植物学研究所,肿瘤学实验室。
- Schäfer, Willi 联邦德国,美因河边-法兰克福,哥德大学,生物学系。
- Schell, J. 联邦德国,科隆,马克斯-普朗克 (Max-Planck) 栽培

学研究所,和比利时 St. Genesius-Rhode, 布鲁塞尔大学, 遗传病毒学实验室。

Schilperoort, R. A. 荷兰, 莱顿, 莱顿大学, 生物化学实验室。

Shaw, Ch. 联邦德国, 科隆, 马克斯-普朗克 (Max-Planck) 栽培学研究所。

Shorthouse, J. D. 加拿大, 安大略, 萨德伯里 (Sudbury), 皇家大学, 生物学系。

Starlinger, Peter 联邦德国, 科隆大学, 遗传研究所。

Tempé, Jacques 法国, 凡尔赛, 国立中央农业研究所, 植物遗传与改良试验站, 冠瘿研究实验室。

Tripathi, Ram Kewal 联邦德国, 法兰克福, 法兰克福大学, 生物学系。

Turgeon, Robert 美国, 俄亥俄州, 戴顿 (Dayton) 大学生物学系。

Van Montagu, M. 比利时, 根特, 根特大学, 遗传学实验室。

Willmitzer, L. 联邦德国, 科隆, 马克斯-普朗克 (Max-Planck) 栽培学研究所。

Zimmermann, Heinz 联邦德国, 美因河边-法兰克福, 歌德大学, 生物学系。

目 录

前言

序

撰稿人

第一部分 植物的不正常生长

第一章	培养的植物细胞的“驯化”……Frederick Meins, Jr.	1
第二章	遗传瘤：种间杂种瘤形成的生理学情况…… ……Margret H. Bayer	26
第三章	伤瘤……L. M. Black	53
第四章	根瘤形成中豆科植物—根瘤菌相互作用的生物学… ……E. G. M. Meijer 和 W.J. Broughton	88
第五章	虫瘿……O. Rohfritsch 和 J. D. Shorthouse	106

第二部分 冠 瘿 瘤

第六章	冠瘿问题的研究史……Armin C. Braun	129
第七章	创伤治愈的分子生物学：调整现象…Günter Kahl	178
第八章	根癌土壤杆菌的 Ti 质粒：诱瘤因子 (TIP) 的本质 ……M. Holsters, J.P. Hernalsteens, M. Van Montagu 和 J. Schell	227
第九章	Ti 质粒片段的整合和转录……Mary-Dell Chilton	252
第十章	根癌土壤杆菌的接合和 Ti 质粒转移 …… ……A. Kerr 和 J. G. Ellis	270
第十一章	细菌和玉米中的转位遗传因子…Peter Starlinger	292
第十二章	不同根癌土壤杆菌菌株诱导的瘤……P. J. J. Hooykaas, G. Ooms 和 R. A. Schilperoort	315

第十三章	畸胎瘤和次生瘤·····	Robert Turgeon	330
第十四章	冠瘿瘤的逆转·····	M. P. Gordon	352
第十五章	冠瘿碱的存在和生物合成·····		
	·····Jacques Tempé 和 Arlette Goldmann		362
第十六章	土壤杆菌对冠瘿碱的利用·····		
	····· Jacques Tempé 和 Annik Petit		381
第十七章	章鱼碱和胭脂碱代谢中的酶类·····	John D. Kemp	388
第十八章	章鱼碱降解的遗传决定·····		
	·····P. M. Klapwijk 和 R. A. Schilperoort		400
第十九章	瘤细胞染色质的结构和功能·····		
	····· Willi Schäfer, Ram Kewal		
	Tripathi, Heinz Zimmermann 和 Günter Kahl		420
第二十章	根癌土壤杆菌和冠瘿瘤细胞中 Ti 质粒编码的蛋白质 ·····	C. I. Kado	445
第二十一章	Ti 质粒和定向的遗传工程 ·····		
	·····J. Leemans, H. De Greve,		
	J. P. Hernalsteens, Ch. Shaw, L. Willmitzer,		
	L. Otten, M. Van Montagu 和 J. Schell		455

第三部分 农业遗传工程的潜在载体

第二十二章	花椰菜花叶病毒: 一种植物遗传工程的潜在载体·····	Barbara Hohn 和 Thomas Hohn	463
第二十三章	根瘤菌质粒和共生固氮作用·····		
	·····M. P. Nuti, A. A. Lepidi, R. K. Prakash,		
	P. J. J. Hooykaas 和 R. A. Schilperoort		475
第二十四章	根瘤菌共生基因的转移·····		
	·····A. W. B. Johnston 和 J. E. Beringer		498
参考文献	·····		505

第一部分 植物的不正常生长

第一章 培养的植物细胞的“驯化”

FREDERICK MEINS, JR.

- I. 绪论
- II. 培养的植物组织对生长因素的需要的稳定性改变
 - A. 驯化的定义
 - B. 是渐变抑“全或无”变化
 - C. 自养生长的生理基础
 - D. 细胞对生长素的需要与对细胞分裂因素的需要之间的相互作用
- III. 驯化中可遗传的变化的性质
 - A. 外遗传的变化
 - B. 细胞驯化能力的差异
 - C. 驯化的正反馈模型
 - D. 遗传上的改变
- IV. 驯化与冠瘿瘤的转化
- V. 结论

I. 绪 论

如果将植物的细胞和组织置于无菌条件下繁殖它们有时会丧失对某些生长因素的外源需要,因之,可以在没有这些附加因素的条件下进行继代培养。这种称之为驯化(habituatio)的可遗传的细胞变化(White, 1951)有两点理由令人感兴趣。首先,类似的可遗传的变化也发生于植物和动物的正常发育中而且被认为是细胞分工及遗传决定的渐进性质的基础(Meins 和 Binns, 1979)。其次,驯化与冠瘿病中瘤的转化在形式上极其相似,因此有可能提供线索去了解自主生长的能力是怎样保持在正在分裂的瘤细胞群

体中的(Meins, 1977; Braun, 1978)。本章将叙述对两类生长调节剂,生长素和细胞分裂因素(CDF)的驯化过程,提供说明驯化状态是由外遗传的机理所保持的证据,并以讨论驯化如何与冠瘿转化的问题有联系作为结束。

II. 培养的植物组织对生长因素的需要 需要的稳定性改变

A. 驯化的定义

高等植物细胞的增殖需要特定的生长因素起协调作用,其中细胞分裂因素(CDF)和生长素似乎是最重要的(Jablonski 和 Skoog, 1954; Naylor 等, 1954; Everett 等, 1978)。因此许多植物组织需要有 CDF (通常提供合成的细胞激动素——激动素)和生长素才能在其他条件都完全的培养基上持续生长(Gautheret, 1959; Street, 1969)。1942 年 Gautheret 报道胡萝卜组织的有些品系在培养时渐渐失去对外源生长素的需要。Gautheret 称这种现象为 *accoutumance à l'auxine* 后来又称为 *anergie à l'auxine* (Gautheret, 1955a), 它常被译为“生长素驯化”(White, 1951)。人们很快就认识到生长素驯化广泛发生于培养的植物组织中而且类似的变化对细胞激动素和某些维生素也遇到过(Gautheret, 1955b; Street, 1969)。“驯化”这个名词现在更普遍地用于描述培养的植物组织失去对生长因素的需要,而且这种变化是稳定的和可遗传的(Butcher, 1977)。

B. 是渐变抑“全或无”变化

驯化是一种在组织水平上的渐进过程。将植物组织对有生长素的和没有生长素的培养基的生长反应进行比较,会发现在连续的繁殖过程中组织常常会增加驯化的程度,这说明此过程是渐进的(Gautheret, 1955a)。可能有两类机理各自单独地或相互结合起来解释这些渐进的变化。第一,可以认为驯化在细胞水平上是

个“全或无”的现象。在长期的培养期间，组织内产生了少量的驯化细胞，随后，因为这些细胞比未驯化的细胞增殖得快一些，它们的相对数量就增多了，因之这块组织的驯化程度也增加了。第二，可以认为在组织水平上的变化也许是反映了各个组成细胞的驯化程度的渐变变化。单细胞克隆提供了一个鉴别这两种假说的方法。从对 CDF 驯化的烟草组织分离的诸细胞系在有无细胞激动素的培养基上的相对生长速度差异很大 (Tandeau de Marsac 和 Jouanneau, 1972; Binns 和 Meins, 1973; Meins 和 Binns, 1977)。因此驯化的组织是由不均一的细胞群体组成的，这些细胞在它们的驯化程度上有差别。为了弄清楚这种不均一是否由渐进的细胞变化所引起，Meins 和 Binns (1977) 监测了大量继代克隆 (subclone) 的驯化程度，这些继代克隆是从轻度 CDF 驯化并连续繁殖很长时间的克隆组织上分离的。他们发现这些继代克隆是随着培养时间而逐渐地增加了驯化程度。此外，诸继代克隆驯化的平均程度大约与产生这些继代克隆的组织的程度相同。因此，CDF 驯化的组织对外源 CDF 需要的变化似乎是由于在细胞水平上发生的逐渐累进的变化所致。

C. 自养生长的生理基础

有人认为驯化细胞的自养生长能力与其说是由于细胞对这些生长因素的需要有重大改变，不如说是由于对特定生长因素的产生有变化。就 CDF 与生长素的情况而言，直接测量表明细胞产生它们所驯化的生长因素，而且产生的量正好足够维持未驯化的细胞增殖 (Kulescka 和 Gautheret, 1948; Fox, 1963; Wood 等, 1969; Dyson 和 Hall, 1972; Syōno 和 Furuya, 1972; Tandeau de Marsac 和 Jouanneau, 1972; Einset 和 Skoog, 1973; Pengelly 和 Meins, 1978; Pengelly, 1980)。对温度敏感的细胞系的研究得到将 CDF 的产生与自养生长联系起来的间接证明。Binns 和 Meins (1979) 发现新从“哈瓦那 425”烟草的髓组织分离出来的对 CDF 驯化的无性繁殖系，在 16℃ 生长时需要外源的 CDF (例

如激动素),而在 25℃ 生长时就不需要,25℃ 正是标准的培养温度。显然,冷处理影响 CDF 的净产量而不影响细胞受体对这些生长因素的亲和力。因为驯化了的无性繁殖系在 16℃ 和未驯化的姊妹无性繁殖系在 16℃ 及 25℃ 时一样需要相同浓度的激动素才能维持最佳的生长速度。经过长时间的培养,对冷敏感的细胞产生抗冷的突变体,它们在两种温度下都表现为驯化的表型。下面的观察是很关键的,即如果在同一组织外植体中有抗冷细胞存在,对冷敏感的细胞可以在不合适的低温下增殖,这表明变异细胞生产 CDF,它的母体——对冷敏感的细胞对这些 CDF 也能起反应。因此,组织之所以表现出驯化状态是与该组织中的细胞产生生长因素有关。由于冷处理似乎影响了 CDF 的净产量同时对冷敏感的已驯化的无性繁殖系在不合适的温度时也显出绝对地需要 CDF,因此驯化作用似乎是与细胞增加了 CDF 的净产量有关。

目的在于测量已驯化和未驯化的细胞的生长因素产量差异的更仔细一些的实验又不大好解释其结果。例如, Kulescha 和 Gautheret (1948) 在将细卷鸦葱 (*Scorzonera hispanica*) 的组织培养在无生长素的培养基上的研究,发现对生长素驯化的组织内可提取的生长素含量比未驯化的根组织中高。正如 Butcher (1977) 所指出的,未驯化的组织在所采用的培养条件下不生长,因之,自养组织的高生长素含量也可能只不过反映了它正在生长这一事实而已。大家都知道,生长素是由植物的活跃生长部位所产生 (Sheldrake, 1973),而且也由离体培养的正在增殖的未驯化的细胞所产生。Nishinari 和 Yamaki (1976) 曾分离出一个“Xanthi”烟草的无性繁殖系,它在悬浮培养时需加入合成生长素 2,4-D 才能增殖。他们发现如果将在营养贫乏的培养基中培养的细胞转移到新鲜的含 2,4-D 的培养基中,它们同步分裂至少经过四次有丝分裂周期。在这些情况下,细胞产生少量的天然生长素 3-吲哚乙酸,但仅限于细胞周期的有丝分裂期。关于 CDF 所得的结果是矛盾的。虽然还是个有争议的问题(见: Miller, 1974, 1975; Wood 等, 1974),仍然认为有两类天然产生的 CDF: 细胞激动素,它是

6-取代的嘌呤化合物 (Skoog 和 Armstrong, 1970) 和细胞分裂促进素 (cytokinesins), 它似乎是取代的 6-羟基嘌呤类 (purinones) (Wood 等, 1972, 1974)。细胞激动素, 异戊烯腺苷(它有明显的 CDF 活性) 出现在对 CDF 驯化的烟草组织的游离核苷库中, 可是在活跃生长于含激动素的培养基上的未驯化的烟草组织中测不出来 (Dyson 和 Hall, 1972)。另一方面, Wood 和 Braun (1967) 曾报道长春花 (*Vinca rosea*) 的组织是一定需要 CDF 的, 如果将它培养在含激动素的培养基上它产生细胞分裂促进素。

总起来说, 驯化是以生长因素的产生和(或)降解的调控发生这样那样的改变为其基础。虽然这个问题不算是解决了, 这些改变很可能导致细胞对之表现为驯化的那种生长因素的净产量的增加。

D. 细胞对生长素的需要与对细胞分裂因素的需要之间的相互作用

植物的不同种, 甚至同一种的不同变种的培养组织对生长调节物质的外源需要是很不相同的。有些组织同时需要生长素和 CDF, 另一些只需要这两种生长因素中的一种, 还有极少数组织对这些生长因素一样也不需要 (Gautheret, 1956b; Yeoman 和 Macleod, 1977)。也有一些关于生长素和 CDF (供以细胞激动素) 在调控细胞增殖和生长因素产生中的复杂相互作用的证明。合成生长素, 2, 4-D, 如果以高浓度供给培养的大豆, 悬铃木和烟草的细胞能取代它们对生长素和 CDF 两者的需要 (Witham, 1968; Simpkins 等 1970)。天然生长素吲哚乙酸及另一种合成生长素, 萘乙酸没有这种作用。“威斯康辛 38”和“哈瓦那 425”烟草对 CDF 驯化的髓组织需要有外源的细胞激动素才能在低生长素的培养基上生长, 可是在高生长素培养基上则无此需要 (Einset, 1977; Binns, 1979), 这暗示生长素对于 CDF-驯化状态的表达是必需的。相反地, 对 CDF-驯化的组织培养在含有高浓度的细胞激动素, 激动素的培养基上不需要生长素而且还产生生长素 (Sy-

ōno 和 Furuya, 1972)。因此,在某些条件下,培养的细胞内生长素和 CDF 的产生似乎是有一种交互诱导的作用。这点可能给不同的植物种对生长因素的需要不一样提供一种解释,也为所观察到的 CDF 驯化和生长素驯化彼此不是完全无关的这一现象提供一种解释。有许多关于烟草组织单独对 CDF 驯化的报告,可是除了一个例外,所有分离出的对生长素驯化的品系却同样也都对 CDF 驯化 (Syōno 和 Furuya, 1972)。显然,生长素驯化需要 CDF 驯化作它的先导。

III. 驯化中可遗传的变化的性质

A. 外遗传的变化

有两类机理曾被提出来解释驯化状态的可遗传性: 遗传的突变 (de Ropp, 1951; White, 1951) 和外遗传变化 (Gautheret, 1955a; Braun, 1974; Meins 和 Binns, 1978)。遗传的突变通常包括遗传组成的极少数随机的改变,如点突变,缺失及染色体重排等。外遗传的变化则更难以下定义,因为构成其基础的机理至今还不清楚,而且除了单细胞生物以外还不能对体细胞直接进行遗传分析。与经典的突变不同,这些变化是发生率很高的细胞表型的定向改变,经常是可逆的,引起预先存在的遗传潜力表达,而且使发生了可遗传的改变的细胞保留着全能性。

原则上说,外遗传的变化和经典的遗传突变可以用植物的再生试验来加以区别,这种试验包括: 第一,将变异体的细胞进行克隆以保证下面进行试验所用的组织的确是起源于单个细胞。第二,从大量新分离出的野生型的和变异体的克隆再生出植株。使这些植株发育并测定它们的能育性以便知道衍生它们的细胞是不是全能性的。第三,将这些再生植株的组织外植体(是与最初培养的组织来源相同的组织类型中分离出来的)再进行培养并检测有无变异体的表型。如果由变异体克隆衍生的组织经常表现出野生型的表型,那么就可以作出结论: 至少在某些情况下,此过程是可逆