

国外作物组织培养

5

上海农科院作物所

1979·12

目 录

1.	矮牵牛属的体细胞杂交：一个雄性不育胞质杂种 S. Izhar 和 J. B. Power	1
2.	植物原生质体的融合及其展望 长田 敏行	9
3.	禾谷类作物原生质体的分离和培养 V. Vasil 和 K. Vasil	15
4.	植物的细胞培养和育种——现状和展望 中岛 哲夫	22
5.	单倍体油菜叶愈伤组织的植株再生 G. R. Stringam	27
6.	豆类组织培养物的植株再生 S. Bharal 和 A. Rashid	32
7.	花药培养诱导多年生野生稻的单倍体植物 若狭 晓和 渡边 好郎	37
8.	用体外培养离体子房育成 <i>B. Campestris</i> X <i>B. Oleracea</i> 种间杂种 猪俣 伸辺	42
9.	从黄瓜胚轴和胚轴愈伤组织的植株再生 佐藤 正孝 今西 茂 木通 浦严	51
10.	水稻愈伤组织的诱导和生长素的吸收·代谢 井上 贡前田 英三	59
11.	木本植物的组织培养 齐藤 明	75

矮牵牛属的体细胞杂交：一个雄性不育的胞质杂种

S. Izhar 和 J. B. Power

摘 要

诱导了胞质雄性不育 (Cms.) 和可育矮牵牛属的叶肉原生质体之间的融合，设计的筛选系统是仅允许具有可育系染色体组的原生质体生长。从原生质体再生的大多数植株在表现型上同可育系相似。其中有些是胞质杂交 (胞质杂种)，从带有可育系染色体组的雄性不育系中结合有不育系 (S) 的细胞质。

引 言

近年来，报道过用原生质体融合方法，获得植物体细胞杂交的几个成功例子 (1) 大概，体细胞杂交的重要意义在于提供一种方法，以便获得细胞质中超染色体遗传要素的杂合子。在一个细胞中，从带有特殊核染色体组的不属细胞质所给遗传要素的可能性有助于揭示胞质—染色体组相互作用的一般问题。也可在新的杂种细胞中产生部分地基于细胞口群体配置的新的和有效的核—质结合。

体细胞杂交的目标之一是操纵细胞间的遗传要素。然而，本技术仍未显示出在外部细胞质的细胞口或 DNA 在吸收、随后复制和表达的效应 (2)。本文，我们讨论胞质雄性不育胞质杂种的成功产生，作为单个的胞质标记它经由原生质体融合同正常胞质型染色体组的结合。

鉴于胞质雄性不育的巨大经济作用，用不育系 (S) 胞质团能快速取代正常胞质团的方法学对植物育种有重要作用。

材 料 和 方 法

用于原生质体分离和融合的材料是以下两个系：矮牵牛 (Hort) Vilma 系 2426，一但带有中等大小的紫花，外圆形叶，丛生型的雄

性不育系，是从 Volcani Center, Bet Dagan 收集的；和 *Petunia axillaris* (Lam) B.S.P. 系 2785，雄性不育，中等大小长白花，狭长叶，垂直生长型，是从 K.C. Sink, Michigan State University, East Lansing MI 收集的。

用于遗传分析的测交是下百的系：矮牵牛 (Hort) Vilm 系 2340 和系 2439，前者是正常可育系，不包含有任何雄性不育复原 (mfr) 等位基因 [3]，后者是带有系 2340 异核的一个雄性不育系。

在诺丁汉，按照 Power 等 [4] 方法栽培植物。在 Bet Dagan，无论是在调节空气的温室或生长室 (Percival large Walk-in type, Boone 1A, USA) 中栽培植物，温度和日长同诺丁汉相似。用于本研究的标准的原生质体分离和融合程序是按 Power 等 [4, 5] 的方法。PEG (分子量 6000) 使用了两种浓度，在第一和第三次试验用 15%，第二次用 20%。原生质体培养基由 MS 成分组成，外加 9.0% 甘露醇，3.0% 蔗糖，和以下的激素组合，2.0mg/l NAA 和 0.5mg/l 6-BA。这个培养基容许 *P. axillaris* 和带有 *P. axillaris* 核的推定胞质杂种生长，而不促进雄性不育系 2426 或两个种的任何核杂种生长。2785 (*P. axillaris*) 和推定胞质杂种的植株终究在含 1mg/l 玉米素作唯一生长调节剂的 MS 培养基上再生。设计的每种融合试验如下：

1. 生活能力对照 —— 2426 或 2785 系原生质体分别植板；
2. PEG 对照 —— 2426 和 2785 系的原生质体分别用 PEG 处理并分别植板；
3. 混合物对照 —— 2426 和 2785 系的原生质体分别用 PEG 处理，然后在植板前混合。
4. 融合 —— 在融合处理之前把 2426 和 2785 原生质体混合和植板；

在第一组试验中，使用了 4 : 1 (雄性不育系 2426 : 2785 系) 的比率，在第二组试验中，这个比率降到 2 : 1。全部原生质体以最终密度 2.5×10^4 / ml 植板。

结 果

在第一个实验中，从融合处理再生出60株以上植株（表1）。除一株雄性不育外，所有植株在表现型上类似于2785系，一株雄性不育植株同2426型相似（矮牵牛），并因此假定是通过选择遗漏的。从不同对照中再生的植株全部是2785型。在第二个实验中，从融合再生了80株以上植株；除一株是雄性不育外，其余全部在表现型上同2785型相似。

表1 矮牵牛和*P. axillaris*之间的原生质体融合试验
（全部再生植株属2785型系）

试验和日期	原生质体来源和处理	从原生质体再生植株数目	从原生质体再生的F ₂ 植株
试验1 1976.1.28	2426 PEG对照	无	—
	2785 PEG对照	60	无希望
	2426+2785融合	60	三株分离雄性不育后代
	2426+2785混合对照	52	全部正常后代
试验2 1976.6.2	2426 PEG对照	无	—
	2785 PEG对照	80	无希望
	2426+2785融合	80	三株分离雄性不育后代
	2426+2785混合对照	50	无希望
试验3 1977.5.30	2426 PEG对照	无	—
	2785 PEG对照	100	全部正常后代
	2426+2785混合对照	150	全部正常后代

这株唯一的植株（6.2-45）很弱，雄性不育和其他标志介于2785和2426之间，这株植株是一个可能的体细胞杂种，其以后世代的分析仍在进行着。

在两个试验的融合处理中再生的其他植株自交，和种植了F₂群体，观察其雄性不育植株，另外，第一个实验的混合对照植株自交，

种植其 F_2 群体，并观察雄性不育植株。在第三个实验中（见表1），仅对照处理有希望，所有再生的植株同2785系相同，并只产生正常的2785型后代。

遗传分析获得的资料如表2所示。再生植株（几千株）的每株 F_2 群体于1976年秋季种植在Bet Dagan，观察了植株的花粉生产和其他性状。如表1所表明的，两次试验的每一次仅在融合处理之后，有3个 F_2 群体鉴定为分离的雄性不育植株，3株雄性不育植株和可育分离样品同2340系进行测交（见表2）。相同的可育分离也自交，并种植了 F_2 群体，雄性不育分离株 $\times$ 2340和雄性可育分离株 $\times$ 2340的测交后代仅产生雄性不育株。 F_2 或 F_2 群体的可育分离株用在测交中作为父本，2439系呈现雄性可育和不育株的分离。未分离 F_2 群体的可育植株的适当测交呈现出正常的胞质团存在。

另外，胞质雄性不育的传递，在 F_2 群体植株中观察紫花颜色，紫色的表现是2426系的特征，它不参与胞质雄性不育的传递。其他现象在 F_2 群体之间是十分普通的，它们多变，而且会再现，它不参加胞质雄性不育传递。

表2 诱导融合后从原生质体再生植株的遗传分析

日期	再生植株	再生植株的 F_2 群体 $F:S$	来自 F_2 的可育株 F_2 群体 $F:S$	$F_2 \times 2340$ 雄性可育株 的测交后代	雄性不育株 $\times 2340$ 的 测交后代
1976.1.28	植株1	9:4	2:15	全部不育	全部不育
			1:16	全部不育	全部不育
			0:6	全部不育	全部不育
	植株2	11:6	0:7	全部不育	全部不育
			1:8	全部不育	全部不育
			3:10	全部不育	全部不育
	植株3	8:4	0:5	全部不育	全部不育
			0:7	全部不育	全部不育
			0:8	全部不育	全部不育
1976.2.6	植株1	15:5	0:14	全部不育	全部不育

续上表

日期	再生植株	再生植株的 F_2 群体 $F:S$	来自 F_2 的可育株 F_2 群体 $F:S$	$F_2 \times 2340$ 雄性可育株的测交后代	雄性不育株 $\times 2340$ 的测交后代
			0:7	全部不育	全部不育
			0:10	全部不育	全部不育
	植株2	21:6	1:8	全部不育	全部不育
			0:5	全部不育	全部不育
			0:3	全部不育	全部不育
	植株3	12:4	0:4	全部不育	全部不育
			2:11	全部不育	全部不育
			0:6	全部不育	全部不育

注：从原生质体再生的植株自交得到的种子植株是 F_2 群体，相同的 F_2 植株用于自交和同2340系测交。表中仅列入 F_2 分离植株的资料。表中的数字是植株或群体的数目；在测交中每种情况下，观察了至少100株。

讨 论

设计的这些实验获得了2785系核染色体组和2426系不育(S)胞质团之间的杂种——这样的杂种是确实地获得了。选择其他胞质杂种型是以作为培养基选择的结果为背景的。当PEG处理时不同原生质体比例的组合和选择是以雄性不育系2426的原生质体为背景，有助于为了在以下方式实现这个目标。有利于2426的不同原生质比例(4:1和2:1)提高了2785系原生质体与2426系原生质体的融合机率而不是彼此融合的机率(详细讨论见Kao和Michayluk(6)和Izhar(7))。筛选有利的2426系原生质体和潜在的体细胞杂种原生质体，除了它们具有2426胞质团和2785染色体组，在培养皿中总原生质体密度适当降低，以提高有生存和发育成植株的期望胞质杂种系。

应当指出，本试验中获得胞质杂种的方法不同于用于其他成功的体细胞杂种的努力〔1.9〕。为获得体细胞杂种的其他研究，选择表现有利于双亲系。在现在的选择程序中，仅来沅正常型（2785系）的染色体组是有利的，并且假定2785系染色体组同不育系（S）胞质团对培养基有类似反应，那么便知迎不育系（S）胞质团不影响在原生质体培养基中的潜在生长。在这方百，讨论胞质杂种不同于 Belliard 等〔11〕和 Gleba〔1〕在核融合产物中获得的杂种，假若在试验中出现不幸的选择程序。

在开始这些实验的同时，一种未知因素是在2785系中存在mfr等位基因。植株6.2-45的早期特征是胞质雄性不育的和Frankel〔12〕Edwardson和Corbet〔13〕和Bianchi〔14〕在矮牵牛属的胞质雄性不育的嫁接传递实验都指出了其必然性。在这些实验中，仅当可育接穗是自己的，才在 F_1 群体中鉴定出雄性不育。而在嫁接传递实验中Frankel〔12〕指出仅一部分 F_1 植株是胞质雄性不育，在我们的情况下不是如此，分离群体的所有 F_1 植株都带不育胞质团（见表2）。

在我们的实验中，以多种途径产生胞质杂种。当融合处理时，原生质体的不适当联合，能导致一种核的排除。随着带有无核原生质体（亚原生质体）或缺乏有活力核的原生质体的一个正常原生质体融合后，能观察到一种稍相似的产物，用辐照胞质雄性不育亲本原生质体方法，能提高无活力核原生质体的量。不发生核融合的，或无直接染色体的或发生完正核限制的异核体能增加胞质杂种，特别在不利于杂种存活的生长环圀中。在某些情况下，除由于许多体细胞杂种限于一个亲本胞质外，观察到胞质竞争〔15〕。而且，两个胞质的存在产生一种弱的和劣的胞质杂种。另外，当采用带质突变的烟草系原生质体时，分离出带一个核和带二种互补胞质的胞质杂种〔1〕，由于没有可采用的好的生化指标〔16〕，不可能鉴定出胞质杂种中不育（S）胞质团和正常胞质团的遗传要素。尽管如此，遗传分析的结果表明，在一些来沅植物中，从原生质体再生植株，存在着不育（S）胞质，但是因为mfr等位基因而未能表现出来。

还要回答的问题有，尽管机制不是原生质体融合造成胞质杂种形

成的原因。直到现在。没有关于高等植物核或细胞质转移和特别是它们的表达方面的报道〔2〕已指出。有原生质体融合的条件下。能导致细胞质的转移。

指出这些结果的实际应用大概是重要的。用另一个种的雄性不育胞质迅速取代有正常胞质的 2785 系雄性不育后代。它能直接用作矮率牛属杂种子生产的雌性系。

参 考 文 献

1. Y.Y.Gleba, Non-chromosomal inheritance in higher plants as studied by somatic cell hybridization. In Plant Cell and Tissue Culture-Principles and Applications. Ohio State University Press, Columbus (in press).
2. E.C. Cocking, Int. Rev. Cytol., 58 (1977) 323.
3. S.Izhar, J. Hered., 69 (1978) 22.
4. J.B. Power, E.M. Frearson, D. George, P.K. Evans, S.F. Berry, C.Hayward and E.C. Cocking, Plant Sci. Lett., 7(1976) 51.
5. J.B. Power, E.M. Frearson, C.Hayward, D.George, P.K. Evans, S.F. Berry and E.C. Cocking, Nature, 263 (1976) 500.
6. T.Murashige and F.Skoog, Physiol. Plant., 15(1962) 473.
7. K.N. Kao and M.R. Michayluk, Planta, 115 (1974)355.
8. S.Izhar, in A.W. Alferman and E.Reinhard (Eds.), 'Production of natural compounds by cell culture methods' Gesellschaft fur Strahlenund Umweltforschung, Munich, 1978. (in press).
9. W.R. Scowcroft, Adv. Agron., 29 (1977) 39.
10. S.Izhar and J.B. Power, Plant Sci. Lett., 8 (1977) 375.

11. G.Belliard, G.Pelletire, and M.Ferault, C.R.
Acad. Sci. Paris, D284 (1977) 749.
12. R.Frankel; Science 124 (1956) 684.
13. J.R. Edwardson and M.K. Corbet, Proc. Natl.
Acad. Sci. (U.S.A.) 47 (1961) 390.
14. F.Bianchi, Genen en Phaenen, 60 (1963) 807.
15. S.D. Kung, J.C. Gray, S.G. Wildman and P.S. Carl-
son, Science, 187 (1975) 353.
16. A.A. Gatenby and E.C. Cocking, Plant Sci. Lett.,
10 (1977) 97.

顏昌敬译自 《Plant Science Letters》

14(1): 49-55, 1979.

植物原生质体的融合及其展望

长田 敏行

一、前言

因植物细胞有牢固的细胞壁包裹细胞，故与动物细胞不同，通常情况下不能诱导细胞融合。但是进入60年代用酶法脱壁成功以后，能成功地将细胞单离成原生质体。因此，即使象植物的细胞融合也成为可能。

另外一方面，在植物细胞关于体细胞的分化全能性(Totipotency)，也是在50年代后半期才逐渐得到证实。

因植物原生质体的融合和植物细胞分化的全能性，将使细胞融合获得体细胞杂种，并由此获得杂种植株的再生。这种再生个体超出了有性杂交的范围，如果用它作为育种材料，育成新的植物品种将成为可能。这里在概要叙述细胞融合的同时，对将来也作某些展望，但对开已这些工作的总前提关于原生质体的分离也作一些概述。

二、原生质体的分离方法和培养

原生质体的分离，细胞壁分解酶具有重要的作用。作为细胞壁分解酶，主要有纤维素酶 R-10 等。关于从烟草叶肉组织分离原生质体并进行原生质体培养成功地获得植株再生，已被众所周知了。但从中我们可以看到，因原生质体可用微生物学方法处理，将对遗传学的变异，细胞的融合，突变细胞的选择等体细胞遗传学在植物细胞水平上研究均成为可能。

同时，由植物组织诱导产生愈伤组织，再由愈伤组织的培养细胞也能成功地分离原生质体。如用日日草(*Vinca rosea*)的悬浮培养细胞，分离原生质体后用MS基本培养基，0.4M甘露醇，加2.4-D 0.5mg/l，6BA 0.1mg/l进行培养，获得了极高的细胞分裂，并形成愈伤组织。用培养细胞时，原来就是无菌的，故这是它的

优点。但从遗传学出发，变异体多，这又是它的缺点。从愈伤组织作为原生质体的分离材料，到植株再生成功的例子极少。

分离原生质体的培养，除上百所述以外，对其它植物材料和组织也进行了广泛研究。到目前再生植株的例子有烟草、矮牵牛、马铃薯、芸苔、胡萝卜、石龙蒿等。

三 原生质体的细胞融合

1. 细胞融合的历史

植物原生质体的细胞融合，首先是由Kuster(1910)提出来的。他根据Klerclaer创造的用解剖刀切开植物组织的一端，压出原生质体的方法，观察了郁金香原生质体的细胞融合。后由他的学生(Miche 1937)继续用同样的方法，诱导成功了数种系统间没有任何联系的植物原生质体间的细胞融合。

但另外一方面，这些先驱者的研究，由于受到当时分离原生质体方法的限制，有关各种领域的研究未能取得很大进展。

真象一开始就谈到的Cocking(1960)将蕃茄根用酶法分离原生质体成功以来，一开始就集中关心到原生质体的细胞融合。Takebe等(1968)用日本生产的酶，分离得到了生物活性高的原生质体，作为细胞融合现实可能性也正式开始了研究，并很快获得了某些成果。

2. 硝酸钠法

细胞融合的最初报告，首先是用 NaNO_3 法。Power(1970)用高浓度的 NaNO_3 处理原生质体，发现了原生质体的融合。后由Carlson(1972)用烟草的两个种，即用*Nicotiana glauca*, *N. langsdorffii*的叶肉原生质体，成功地进行了细胞融合，并获得杂种细胞，实现了杂种植株的再生。*N. glauca* *N. langsdorffii*，在植物遗传学上作为Kostoff的遗传肿瘤的代表很早就被人知道，它们之间杂交获得的双二倍体，因环境条件的变化，全身长满肿瘤。这种肿瘤物，在不含有生长物质的情况下，也能良好地增殖，Carlson等利用这种遗传的肿瘤特性，从融合产物中选择杂种细胞，成功地进行了杂种植株的再生，使这个研究成为

最早的融合产物再生成杂种杂株,也就是在这个领域中集中了大家最关心的问题进行了重要研究,并且获得成功。

3. 高 pH 高钙法

Keller和Melchers(1973)在研究代替 NaNO_3 法的细胞融合研究后,发现如在甘氨酸, NaOH 缓冲液 0.05M 、 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05M , 甘露醇 0.4M 的高 pH 高钙条件下,将烟草叶肉组织原生质体在 37°C 经 30 分到 1 小时处理,能获得百分比极高的细胞融合。

MMelchers和Labib(1974),用这种高 pH 高钙法,将两种光合成突变系统的烟草单倍体植株得到的叶肉原生质体,成功地进行细胞融合,并获得了体细胞杂种,进一步实现了植株再生。这种突变的烟草,在强光照条件下不能生长发育,但细胞融合后得到的体细胞杂种,因遗传基因的互补,即能强光下生长发育。将融合产物在强光下培养,即能选择出杂种细胞再生的杂种植株。被再生的烟草,表现型是野生型,其出现按细胞融合时的原生质体数,标出是 10^{-7} — 10^{-6} 。他们进一步用 *N. tabacum* (S) 和 *N. Sylvestris* 的原生质体融合,也获得了种间杂种。这些组合,在用有性杂交时,都不能成功,但用细胞融合利用细胞融合产物的遗传互补性,证明能再生成杂种植株,这一点贡献是很大的。

4. PEG 法

Kao和Michayluk(1974),用分子量 1540—4000 高浓度 (33% (Wt/Wt)) 的 PEG 溶液处理原生质体,引起原生质体的相互粘着,在洗脱 PEG 过程中发现能获得高百分比的细胞融合。这种融合方法,操作比较简单,方法比较容易,故被广泛使用。但在洗脱 PEG 过程中,如果用前的高 pH 高钙培养基,即细胞融合的比例更高。所以,PEG 结合高 pH 高钙法,效果更加显著。另外,几乎在同一时期,Wallin等(1974)也发表了用 PEG 进行细胞融合成功的报告。

Kao等(1974),用如下几种植物的原生质获得了如大豆+*Vicia hajastana*, 大豆+大麦、大豆+豌豆、豌豆+*Vicia hajastana*、大豆+玉米, *Vicia villosa* +*Vicia*

hajastana的杂种细胞。这些组合的融合细胞，在2周内能不断的增殖，形成了由100多个细胞组成的细胞团，说明不论系统关系，远近也能获得杂种细胞并能分裂增殖。但在大豆与烟草种的N. glauca间细胞融合后所得到的杂种细胞中，观察到N. glauca的染色体被排斥的现象。这种情况，大概和动物细胞人与老鼠体细胞杂种中，人的染色体也被排斥是同一个现象。

用PEG法，进一步在Petunia hybrida和Petunia parodii Daucuscarota和D. Cappillifolius Nicotianatabacum(aul-ea)和N. rustica N. glauca和N. langselorffii等组合也成功地获得杂种植株的再生。

PEG法，同样适用于人癌细胞与烟草原生质体。人癌细胞和胡萝卜原生质体间的细胞融合，获得了杂种细胞。同样，PEG法也适用于动物细胞间的细胞融合，以及细菌、霉菌等球状体细胞间的细胞融合，均获得了杂种细胞。对于因杂交分析遗传困难的材料，目前也正在取得成果。

5. PVA法

Nagata(1978)，用粘合度为300-500的PVA(15-20% (wt/wt)，在NT培养基中溶解)处理原生质体，与PEG一样能使原生质体相互粘着，接着用高pH高钙培养基洗脱PVA，在洗脱过程中也发生了高比例的细胞融合。以烟草叶肉原生质体与日日草悬浮培养细胞为融合材料，与PEG比较了PVA的融合效果，在同样条件下，发现比PEG细胞融合率高，对细胞的毒性低。叶肉原生质体与培养细胞间进行细胞融合，常常以叶绿体的有无为识别的指标，故能比较容易区别是否是真正的杂种细胞。

6. 原生质体细胞融合的机制

原生质体的细胞融合，到目前所涉及的方法，都是因正电荷的合成磷脂质的核糖体诱导产生的(Nagata等，在印刷中)。

原生质体的表面，用细胞电泳法研究，如烟草(2n)是-25~-35mv，烟草(n)是-25mv，矮牵牛是-30mv，小油菜是-23mv，豇豆是-10~-15mv，都是带的负电荷。因为同性相斥，异性相吸，都带负电荷，所以相互粘着的可能性很低很低。可是，

细胞融合的必要条件，是原生质体的相互粘着，为此，有必要降低原生质体表面的电荷。另外，植物原生质体的表面电荷，不像动物细胞常有唾液酸残基，而是带的推断为磷酸基。为达到原生质体相互间粘着，并进一步达到细胞融合，有必要引起细胞膜的融合。关于这一点本质上是与构成细胞膜的磷脂质的相互转变有密切关系。使用PEG、PVA法，在洗脱PEG、PVA过程中，却在Keller和Melchers的培养基中做到了这一点。

从细胞融合的融合细胞，到获得真正的杂种细胞，还要进一步引起细胞质和细胞核的融合，但这些仅得到了有限的观察结果，故这里不能详述。

四、杂种细胞的选择

细胞融合时，在融合两种原生质体的情况下，在融合产物中一定混有同种、异种的融合细胞。因此，根据上节举例的一样，要从融合产物中挑选出体细胞杂种，必须利用遗传的肿瘤性状，或光感性细胞间的互补。利用这些特殊条件选择体细胞杂种方法的开创，对于今后细胞融合应用范围的扩大只有重要意义。动物细胞已经利用的HAT法当然也可以采用，也曾经进行了某些试验，但用于植物原生质体看来是比较困难。首先，抑制denovo的DNA合成必要的氨基蝶呤接近动物细胞的100倍。因此，对它的代谢系统有致命的影响。更重要的是植物的再分化是相当重要的，突变细胞如果长期的处于单离状态产生染色体的变异，这也会带来严重的恶果。

Nagata Tipl 和 Melchers (未发表)，试验研究了采用异种间原生质体，用特异的方法进行细胞融合，而不进行选择也能获得杂种细胞的方法。原生质体的表面一般带有负电荷，但用带正电荷的磷脂质核糖体处理，可以暂时由负向正的转变，这种原生质体，在玻璃或塑料皿的悬浮液表面形成一层，而在它上面则载有负电荷未经处理的原生质体，发现两种原生质体能很好的粘着。假如进一步它们能进行细胞融合，得到的融合产物应该全部是异种间原生质体的杂种细胞。总之，如果这种方法能获得高比例的杂种细胞的形成，那么

植物原生质体的应用范围将更为前进一步。

三、原生质体细胞融合的展望

用细胞融合，从本文中提到的几个例子来看，所有细胞融合组合似乎跟植物相互系统间远近没有联系均获得了杂种细胞。如果进一步做到细胞的再分化，那么即能不受有性杂交的限制可用于育种材料。但是从某些组合如大豆 + *Nicotiana glauca* 的杂种细胞来看，由于相互系统间关系较远，发现杂种细胞一方的染色体有被排斥的现象，这是否也可以理解为融合的不亲和性呢。因此，以融合产物到植株再生为目标，是否可以选系统间关系较近而有性杂交又不能进行的那些组合呢，根据世界各国所进行的研究，也正是朝这个研究方向进行的。例如，马铃薯和蕃茄、烟草和矮牵牛等细胞融合组合。但从这些融合产物获得杂种植株再生，仅由 Melches 等由马铃薯和蕃茄原生质体间得到的细胞融合产物中发现，表现马铃薯性状植物体的叶绿体的 Fraction I 蛋白质的亚基，是由蕃茄而来的。

应特别指出的是，尽管是有性杂交可能的那些组合，如果用细胞融合，可能会获得与有性杂交不同的因细胞质融合产生的细胞质杂种 (Cybrid)。在融合产物中，一方的细胞质可能会丢失，但细胞质杂种的形成，已由 Gleba 在烟草的质体的突变，Fraction I 蛋白质的分析，以及具有雄性不育性状的植物间细胞杂种所得到的植株性状已得到证明。

据目前所知，植物对病害的抵抗性，在细胞质中也有存在，所以，细胞质的杂种育种也有待于作出新贡献。

显然，在细胞融合的研究中，也尚有如杂种细胞的选择等问题尚未充分解决，这恐怕还有待于更广泛进行细胞融合研究得到解决，然而从这些研究中，也会产生育种上可用的从融合产物中再生的新个体。

赵庆华译自《细胞》10(12) 1978

禾谷类作物原生质体的分离和培养

I 珍珠谷 (*Pennisetum americanum*) 原

生质体的愈伤组织形成

Vasil V. 和 Vasil. K.

摘 要

已证明从禾谷类作物分离的原生质体的培养极其困难。我们报道, 从珍珠谷悬浮培养物分离的原生质体存在着高的植板效率和愈伤组织形成。

引 言

近年来, 广泛地讨论过植物原生质体研究在作物改良和遗传工程上的潜力 (Vasil, 1976; Gamborg, 1977)。虽然用这项技术获得某些体细胞杂种植物确实是不寻常的进展 (Melchers 和 Labib 1974, Power 等 1976, Smith 等 1976, Dudits 等 1977, Melchers 1977, Schieder 1978)。事实仍然是, 这种成功一直限于典型植物系统, 象 *Datura*, *Daucus*, *Nicotiana* 和 *Petunia*, 并且其多数情况是已知可进行有性杂交的。就我们所知, 原生质体研究应用到作物育种上有两个主要障碍; (1) 需要发已能从人类重要食物来源的禾谷类和豆类作物分离原生质体再生植物; (2) 在诱导非近缘种融合后, 尚缺少杂种原生质体优先生长的选择系统 (Vasil 1976, Maliga 1976, Vasil 等 1978)。从某些重要禾谷类作物获得组织培养物比较容易, 和最近十年期间, 已报告从许多这些培养再生成植株 (Green 等, 1975; Gamborg 等; 1977; Vasil 等 1978)。然而, 要注忌的是, 几乎在全部情况下, 不是证明植株再生很困难, 就是依赖于用未成熟胚作为接种的起始组织来源。进行过培养禾谷类原生质体的许多尝试, (Evans 等 1972,