

植物原生质体融合研究的进展

夏 镇 澳

(上海植物生理研究所细胞生理室)

近几年来,植物体细胞杂交的研究进展较快,不仅已有数种高等植物(菸草、胡萝卜、矮牵牛、油菜、石刁柏、曼陀罗、石龙芮等*)从原生质体培育成植株,经过融合及培养已得到菸草的体细胞杂种^[1-3],而且利用原生质体融合在低等植物地钱、藻菌中也都得到杂种株系。原生质体融合可以使具有不同遗传特性的原生质体形成杂交细胞,然后经过培养选择使杂交细胞分裂发育成新的植株。此外,原生质体还能融合或摄取叶绿体、细胞核以及核酸、蛋白质、病毒等。通过原生质体融合进行体细胞杂交育种,有可能克服远缘杂交中的某些障碍,如杂交不亲和性等,为更广泛地组织各种植物的遗传型,有效地培育具有各种优良经济性状的作物新品种开辟一条崭新的途径;如培育固氮的谷类作物,提高低光合效能作物的光合效能、增强某种作物的抗病能力或获得所需的经济性状等。同时,在遗传育种的基础理论研究上也将产生意义深远的影响。

制备原生质体、诱导融合、培养选择与选育杂种是植物体细胞杂交的四个主要环节,它们既有各自的研究内容,又是不可分割的统一整体。本文主要对植物原生质体融合研究的进展作一概述,也涉及一些与之有关的问题。

发 展 和 概 况

植物原生质体融合的研究至今已有几十年,追溯其历史可分为三个时期:

1. 起始期 (1909—1959) 这五十年中主要的工作是用机械法分离植物细胞的原生质体,以及用盐溶液作诱导融合剂。例如用硝酸钙、硝酸钠诱导洋葱等表皮细胞的原生质体或亚原生质体,发现硝酸钠比硝酸钙的诱导融合作用大,而且对原生质体相对地没有毒害等。尽管有这些开创性的工作,但是由于原生质体和亚原生质体存活时间很短,所观察到的融合现象少而不系统,影响融合的条件也不清楚,以致有人误认为融合是难以控制和重复的。

2. 奠基期 (1960—1969) 这十年的工作不算很多,一部分继续研究机械法去壁而在技术上力求改进,如微型杯法、灌流吸管法等。诱导剂的种类也有所扩大。另一方面是摆脱传统机械法对获得原生质体的约束,研究用酶法制备番茄幼根原生质体首次获得成功在1960年,这为大量制备不同品种或不同种有活力的原生质体开辟了新途径,也为进行诱导融合的研究提供了可能性。1969年召开的细胞和组织培养在农作物上应用的国际会议,分别提到了单冠毛菊、菸草的原生质体融合现象,并讨论了用聚乙二醇作为诱导同步分裂的手段。由于制备原生质体技术的突破和原生质体融合技术的改善,就使植物原生质体融合和体细胞杂交的研究推进到一个新阶段,可以认为这是七十年代植物原生质体融合研究的奠基时期。

* 未正式报道的尚有几种。

3. 发展期 (1970 迄今) 1969 年的国际会议以后, 植物原生质体融合和体细胞杂交的研究发展较快。如英国、美国、加拿大、西德、瑞典、日本等国都相继开展了研究^[4]。我国科学工作者在无产阶级文化大革命中开始了这方面的研究, 时间虽晚, 但由于各级党委的正确领导, 研究的目性明确, 理论联系实际, 因而, 也取得一定的结果^[5-6]。

目前, 有关植物原生质体融合研究的问题大致集中在以下三个方面: (1) 诱导剂和诱导方法; (2) 诱导融合和培养选择相结合, 以培育体细胞杂种; (3) 从原生质体融合扩展到原生质体与细胞器、微生物以及大分子物质的融合(或摄取)。

诱导剂和诱导方法

在植物原生质体融合研究中, 常把融合现象分成自发融合与诱导融合两类。开始用自发融合一词是指在动物细胞培养中时不加入失活病毒等物质诱导也能发生细胞杂交的现象。以后植物原生质体融合研究也借用此词, 但含意有所不同。植物的自发融合体是在用酶法分解细胞壁后才形成的, 因此一定是种内融合; 而动物细胞融合中所述的自发融合, 可以是种内的也可以是种间的。在植物的许多组织如燕麦根尖、蚕豆叶肉、蚕豆根尖、菸草叶肉、大豆愈伤组织等, 在制备原生质体时都曾报道过自发融合现象, 一般认为这类融合是与胞间连丝有关。对于自发融合的发生过程、细微结构与可能的机理也有些工作, 但是普遍感到兴趣和引人注意的还是诱导融合。诱导融合是指将植物原生质体制备出来以后, 再加入诱导剂或用其它方法促使两亲本原生质体融合。因此诱导融合可以是种内的也可以是种间的, 甚至属间或属间以上的。从理论和实际的角度来看, 异种诱导融合的意义要大得多, 也比较困难, 成为植物原生质体融合的主攻方向。

诱导融合的方法大体可以分为物理的和化学的两类: 所谓物理的就是利用显微操作、灌注吸管、离心或振动等以促使原生质体融合。这类方法目前已较少单独使用, 有时与诱导剂相结合。化学的方法就是用不同的药剂作诱导融合剂。根据试验的要求, 诱导融合剂最好有这样一些特性: 它能使种或种间以上的各种类型以及各种类型中不同分化程度的细胞原生质体集聚和融合, 同时还能保持原生质体的生活力。已经试验过的诱导剂不下数十种: 如各种盐类 (NaNO_3 、 KNO_3 、 LiCl 、 NaCl 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 CaCl_2 、 MgCl_2 、 BaCl_2 、 AlCl_3 等)、多聚化合物(多聚赖氨酸、多聚-L-鸟氨酸、聚乙二醇等), 其它还有 ADP、ATP、cAMP、免疫血清、动物胶及其降解物、失活仙台病毒、溶菌酶等等。目前比较有效的是高 pH 高 Ca^{++} 法和聚乙二醇法。两法都已用于植物体细胞杂交, 并培育出菸草种间或品种间的体细胞杂种。

1. 高 pH 高 Ca^{++} 法 用钙盐作诱导剂, 在植物细胞融合研究中应用得较早。这种诱导方法是受了动物细胞融合研究的启发: 在探讨生物膜构型、诱导集聚与融合的机理时都涉及到 Ca^{++} 的作用, 或强调 Ca^{++} 与 ATP 的关系。以后又发现人与鼠的细胞杂交显著地受 pH 影响。因此在 1973 年就应用此法于菸草叶肉细胞原生质体的融合。经过不同 pH 和不同 Ca^{++} 浓度等试验, 得出的结果是: pH 的影响不是太大, pH 8.5—9 即有融合, 适宜的是 9.5—10.5, 而大于 11 则不好; Ca^{++} 浓度重要, Ca^{++} 可以使原生质体较稳定有利于融合, 没有 Ca^{++} 的融合率低, 小于 0.03M 的也很少集聚和融合。其它如渗透压、温度等也影响集聚和融合^[7]。菸草叶肉原生质体的融合, 常在 0.4M 甘露醇(内有 0.05M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、pH 10.5、温度为 37℃ 处理一定时间下进行的。然后再用甘露醇溶液或培养基洗涤并保温培养。用这个方法曾诱导菸草两个突变品种的叶肉原生质体的融合, 并经过选择培养已培育出体细胞杂种。类似的方法

对藻菌、地钱的不同原生质体经诱导融合也得到杂种株系。对于这种方法的机理目前尚无系统研究和报道。推想高 pH 是改变原生质膜的某些特性有利于集聚,而 Ca^{++} 是作为膜间连系者,或是稳定原生质体使不易解体,或是直接起诱导作用等等。有人认为应用此方法得到的融合体比较经得起培养。但应当指出的是所谓高 pH 高 Ca^{++} 法是沿用术语,具体的数值范围应根据所用的材料通过实验来确定,因此是相对的而不应机械地套用。

2. 聚乙二醇法 聚乙二醇简称 PEG, 其分子式为 $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$, 水溶性, pH 在 4.6—6.8。由于醚键的存在使分子末端带有微弱电荷,能与水、蛋白质、糖等物质的正极形成氢键。PEG、PPG、HDP、PVA 等都是多聚物*。在生物化学、细胞学的研究中常需要有效的分离方法,将蛋白质、核酸、细胞器、细胞、不同大小或不同成分的颗粒区分开来,除了通常的离心方法以外,六十多年前研究出的特殊二液相系统的分离技术较有效,而聚乙二醇和葡聚糖就是其中很好的一对液相。1973 年有人用聚乙二醇和葡聚糖作为二液相,以去除玉米叶肉原生质体碎片得到纯净的原生质体。在用物理方法进行诱导融合时也用过聚乙二醇作辅助试剂。1974 年此法开始用于野豌豆与豌豆、大麦与大豆、大麦与豌豆原生质体的融合,得到 10% 左右的异种融合率^[8]。以后又将聚乙二醇诱导与用高 pH 高 Ca^{++} 溶液洗涤相结合可以显著提高融合率,有的可高达 20—30% 左右^[9]。应用此法,不论是种内或种间以及很远缘的植物都能得到融合体,目前已知的有几十对。有的融合体经培养得到细胞团,并看到异质核有同步分裂或接近同步的现象。近来也有用此法诱导融合并培育出菸草种内(品种间)杂种的。用此方法时 PEG 的分子量和浓度、 Ca^{++} 的浓度、pH、洗涤液以及操作等等都会影响融合率及原生质体的活力。因此有人认为不如高 pH 高 Ca^{++} 法稳妥。至于 PEG 诱导植物原生质体集聚与融合的机理也是不清楚的,只有种种推想。例如认为 PEG 的分子带微弱负电荷或亲水性,或使质膜表面局部脱水或改变其构型、类脂的“液态”化等等,因而促使膜融合。而再用高 pH 高 Ca^{++} 溶液洗涤时可能引起电荷的重新分布有利于融合,也有人认为由于浓度改变产生渗透冲击而经洗涤又复原等等。总之这个方法也需继续研究使之系统和完整。

仅从以上两种诱导融合方法就可以看出影响融合率的因素很多,提高异种原生质体的融合率是不容易的,有许多问题需要进一步解决。影响原生质体融合率的因素大致可以归纳为两类:首先是用以融合的亲本原生质体的生理状态。如所用材料的苗龄、形态和部位、组织或细胞的生长状况、栽培条件等,以及用什么酶制备原生质体、酶的活力和浓度、酶解时的温度和时间、稳压剂的种类、钙或其它离子的有无与多少、pH 都影响原生质体的生理状态和活力,从而影响融合率。幼嫩叶片或生长迅速的培养细胞的原生质体、或是液泡化程度小的原生质体,它们的融合率一般都比较低。两亲本原生质体的密度对融合率的影响也很大,密度高的融合率高。其次是所选用的诱导方法、用什么作诱导剂、它的特性和浓度、诱导时的温度和时间及稳压剂的种类等。以菸草原生质体的诱导融合为例,用高 pH 高 Ca^{++} 法时,于 0℃ 没有融合,23℃ 有少量融合,而 37℃ 时融合率较高。至于稳压剂,有人报道用蔗糖代替甘露醇对融合率并无显著影响,而用 KCl、 NaNO_3 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 等代替甘露醇则引起集聚而不利融合。提高甘露醇或其它稳压剂的浓度也会使融合受到不良影响。此外诱导融合后用什么洗涤液、洗涤的操作手续等,都能影响融合率。

* PEG (Polyethylene glycol, 聚乙二醇), PPG (Polypropylene glycol, 聚丙烯醇), HDP (Hydroxypropylidextran, 羟丙基葡聚糖), PVA (Polyvinylalcohol, 聚乙烯醇)。

融合体的培养和核融合

异种原生质体经诱导融合后,原生质体群体中必然会有:(1)未融合的亲本原生质体;(2)两亲本各自的融合体;(3)异种融合体。目前诱导融合率还不高,除了进一步改进方法提高异种融合率以外,还有两个重要问题需要解决:一个就是如何将异种融合体培养成杂种细胞,并且把它们挑选出来,另一个就是细胞核的融合。

严格地说,异种原生质体经膜融合形成共同的质膜以后只不过是融合的第一步,胞质融合、生长细胞壁和核融合,才是它的全过程。一般在诱导融合后往往还会出现异种的胞质不充分均匀混合的情况,融合体必须在培养条件下才能继续均匀混合和生长。融合体经过培养,如果条件适宜,3—7天左右就可以长壁。长壁时质膜区附近的胞质开始活化,质膜表面有时出现小泡或形成小突起,内有稠密的电子颗粒,然后逐渐出现片层结构,质膜与片层结构之间产生微纤维丝形成小纤维团,并逐步发育成壁。初生壁是不坚固的,容易破裂。因此在一定渗透压条件下,保持质膜稳定对细胞壁的再生十分重要。影响细胞壁形成的因素很多:细胞激素对细胞壁的形成很有影响;多糖类物质的合成代谢和运转与之有关;稳压剂的种类或渗透压的变化也有影响,过高的渗透压往往抑制新壁形成和分裂^[10]。融合体培养基的种类和成分,根据试验材料和要求可有各种设计。液体悬滴培养法有助于气体交换和群落的形成,而平板培养法便于观察单个融合体的动态。有的融合体经培养发现细胞核附近有小液泡,其意义不明。

细胞核的融合是异种原生质体融合中的关键,它涉及到融合细胞是否能正常生活下去。融合细胞一定要形成一个单核细胞才可继续生长。这就是两个核必须进行同步分裂,形成分裂轴,染色体排列在分裂中期的平面上,于分裂后期趋向两极,中间形成细胞板以后才能成为两个细胞。这样形成的单核细胞一般可以合成DNA、RNA,并进行分裂。只有通过这一步并继续下去才有育成杂种的可能。如果两个核所处的时期不同,一个开始合成DNA,另一个还处于合成的中途或已完成了复制,它们之间就相互影响。如果融合体中有多核则问题更为复杂。植物原生质体核融合的研究正在开始,已有的一些研究大多是观察到同种或异种融合体有两核或多核现象。一般说来多核细胞由于分裂不规律是不稳定的,不能很好生存下去,这在动物细胞融合的研究中已很清楚。百合科花粉母细胞原生质体的融合率有时高达90%,但是其中两核的仅占3%,可见提高两核融合体的百分率十分重要。目前远缘的异种融合体如玉米-大豆、大麦-大豆、豌豆-大豆等经3—5天培养已看到核分裂与染色体行为。例如玉米-大豆的融合体在培养5天时看到了核分裂都在中期,还有的组合核分裂并不同步,融合细胞也出现多极现象。用聚乙二醇法诱导的大麦-大豆融合体于培养10天内有10%左右分裂4—5次,形成了细胞丛。这些结果为继续研究核融合提供很多启示。对异种融合体的选择问题目前大致有几个途径在探索:如利用各种生态遗传因子的突变体、利用营养缺陷型(如氨基酸)突变体的互补、利用对某种药物(如链霉素)的抗性差异、也有尝试用梯度选择法等。这些途径都是利用亲本原生质体与杂种原生质体在遗传、生理、培养或其他某些特性的差异、寻找行之有效的方法以挑选出异种融合体。

诱导融合和体细胞杂种

从1970年开始认为 NaNO_3 对诱导融合比较有效,到目前已发展的高pH高 Ca^{++} 诱导法和聚乙二醇诱导法,由于技术方法的改进已能看到不少异种融合体,问题是在于提高融合率,

获得多而有活力的异种融合体以便开展深入研究。表 1 列举一些国内外诱导融合的结果。从这些初步结果来看,所涉及的植物种类相当广泛,材料和原生质体的来源也是多种多样的。原生质体融合研究的实践目的必然在于得到体细胞杂种,成为育种新途径之一而为农业生产服务。由于植物体细胞杂交的研究还是一个年青的学科分支,所以还需要相当一段时间去探索、完善。目前仅有三个获得体细胞杂种的报道,情况比较归纳如表 2。

表 1 高等植物的种间原生质体诱导融合

植 物 种 类	材 料 来 源	融合剂和融合方法
燕麦-玉米	根-根	NaNO ₃
大麦-花生	种子组织	CaCl ₂ 、蔗糖、微管法
大麦-大豆	叶-悬浮细胞	PEG
大麦-蚕豆	叶-根	NaNO ₃ 、PEG
小麦-红花	叶-根	NaNO ₃ 、离心
小麦-矮牵牛	叶-花瓣	PEG
小麦-玉米	叶-根	NaNO ₃
水稻-豌豆	愈伤组织-叶	高 pH 高 Ca ⁺⁺
油菜-大豆	叶-悬浮细胞	PEG
玉米-大豆	叶-悬浮细胞	PEG
大豆-野豌豆	悬浮细胞-悬浮细胞	PEG
大豆-豌豆	悬浮细胞-叶	PEG
大豆-马唐草	愈伤组织-叶	NaNO ₃
蚕豆-红花	叶-根	NaNO ₃ 、离心
豌豆-野豌豆	叶-悬浮细胞	PEG
花生-长春花	种子组织	LiCl、微管法
菸草两个种	叶-叶	NaNO ₃
* 菸草两个品种	叶-叶	高 pH 高 Ca ⁺⁺ 、PEG
菸草-胡萝卜	叶-根	NaNO ₃
菸草-兰猪耳草-龙面花	叶-叶-花瓣	溶菌酶
甘蓝-青菜	叶-根	NaNO ₃
兰猪耳草两个种	花瓣-花瓣	NaNO ₃ 、离心
矮牵牛-龙面花	叶-花瓣	溶菌酶
百合-延令草	花粉母细胞	振动

* 鉴于菸草两品种已经融合培养成体细胞杂种,虽系品种间融合也列入本表。

Carlson 等人的试验没有重复,其他人也没有重复出来。他在用 NaNO₃ 作诱导融合剂所得到的融合率太高,从原生质体得到杂种愈伤组织的百分率也高,在培养时得到 33 个愈伤组织,可是只用了 3 个进行分化而且都得到杂种,以至有人怀疑他们的试验可能有混杂和误差。但 Carlson 等人除了比较亲本与杂种愈伤组织的形态、叶的形态、叶毛的特征以及过氧化物酶的同功异构酶等情况以外;从染色体的检查证明杂种的体细胞染色体数确是两亲本之总和 ($18 + 24 = 42$),这是很有力的证据。由于他们首次通过诱导融合得到体细胞杂种,以及较早即提出利用隐性白化突变株原生质体的补偿作用以获得绿色愈伤组织的想法,因此对于推动植物体细胞杂交的研究起了一定作用。

Глеба 等人所作的试验长出了植株,杂种植株除二倍体外也有四倍体及六倍体等。但所得到的杂种植株大部分形态异常,没有长好根就死了。

表2 菸草属的体细胞杂种

作 者	杂交材料	诱导融合	筛 选 途 径	结 果
Carlson 等人 (1972)	菸草两个种叶肉 细胞原生质体	NaNO ₃ (0.25M 30 分钟)	在 Nagata-Takebe 培养基中,亲 本原生质体不长愈伤组织而融合体 可以产生愈伤组织。再将愈伤组织 移到不含激素的LS固体培养基上, 使之进一步生长分化,而亲本的愈 伤组织在此培养基上不生长	种间体细胞杂种
Melchers 等人 (1974)	菸草“单倍体”两 个品种叶肉细胞原 生质体	pH 10.5 Ca ⁺⁺ 0.05M (甘露醇 0.4M, 20—90 分钟)	利用叶色突变与光敏性,两隐性 非等位基因,互补成正常绿色的原 则,利用不同光强和降低培养基成 分,以选择愈伤组织。利用光强再 选择植株	品种间体细胞杂种
Глеба 等人 (1975)	菸草两个光合作 用缺陷型突变体的 叶肉细胞和幼芽组 织的原生质体	PEG	经原生质体融合形成的杂种细胞, 由于遗传上的互补,使再生的植 株具有光合作用能力	品种间体细胞杂种

Melchers 等人的试验较为完整,试验重复了四次,开始得到 12 株杂种,目前已有 108 株杂种。对体细胞杂种及后代的染色体作了系统地观察,杂种的染色体数通常也是双亲之和 ($24 + 24 = 48$)。但是正如一般的愈伤组织培养的情况一样,染色体是有变异发生的。这两个菸草单倍体叶肉原生质体经融合后所得出的二倍体杂种后代,经过十几个月的继代培养从染色体数目来看大多数是正常的二倍体,但也出现四倍体、三倍体及非整倍体。是否由于核内有丝分裂或不正常有丝分裂所形成,或是由于多原生质体融合所引起,原因尚待查明。

以上三个成功的例子都是菸草属,而且这些体细胞杂种是否能出现优良的经济性状或将来能否选出品种,尚有待进一步努力。至于其他种间、属间以及属间以上的异种融合体将如何发展则需要更进一步研究。尽管植物体细胞杂交中的若干问题需要有更多的杂种植株培育出来以后才可能逐步予以阐明,但从现有结果来分析,在进行诱导融合时就考虑到亲本的遗传性状和下一步的培养选择问题还是十分重要的。

原生质体融合研究的扩展

在动物和微生物研究中,除了细胞融合的工作以外,核移植以及大分子物质如核酸的片段以至基因转换等工作已开展了多年。高等植物细胞由于有细胞壁的障碍给这方面的工作带来困难。自从用酶法可以得到大量的原生质体以后,很自然地也促使这一类研究的进行。广义的说它们有的就是原生质体融合研究的一部分,有的是与原生质体融合密切相关,也有仅仅利用原生质体作为试验系统的。这些工作在理论和实践上都很有意义,而且正在研究发展之中,大致有以下几方面的探索:

1. 原生质体摄取蓝绿藻、绿藻、真菌或细菌 现在已有利用聚乙二醇法将固氮的蓝绿藻与玉米原生质体融合,将绿藻与大豆、胡萝卜等原生质体融合,以及原生质体摄取酵母或细菌的尝试,其目的大多是在于将固氮能力转移到其它无固氮能力的植物上。摄取率一般可达 5—10%,有的甚至达 20%。但发现聚乙二醇对细菌、真菌、蓝绿藻有损伤作用。

2. 原生质体摄取各种细胞器 原生质体摄取细胞核、叶绿体、线粒体等细胞器的研究,不仅有可能解决某些遗传学理论问题,而且对育种实践也会有深远的意义。如探讨核质关系,质体与胞质雄性不育的关系,以及是否可以将有高光合效率的叶绿体分离出来,经转移、诱导、复制而能保存其光合能力等等。目前用溶菌酶和层积离心法,或用聚乙二醇法已可以将细胞

核移入原生质体,也有用聚乙二醇法使原生质体摄取叶绿体的报道;前者的摄取率可达到1—5%,后者的摄取率可达到1.6%。除此以外也有人试图将染色体、线粒体、染色丝等细胞器引入原生质体。

3. 原生质体摄取病毒和 DNA 等大分子 关于植物原生质体摄取病毒和 DNA 等大分子物质的工作已有一些,如利用双标记供体 DNA 作为原生质体摄取物的研究,以及菸草原生质体感染 TMV-RNA 的高效方法已有报道。单离的原生质体是进行转化试验的好材料,但是用于转化的 DNA 的特性如何?各种 DNA 对原生质体影响如何?用什么方法摄取?影响摄取的条件是什么?都还有待探索。

展 望

综上所述,植物原生质体融合的研究是植物体细胞杂交工作中的重要一环,不通过融合就不可能得到体细胞杂种。融合研究也只有与制备、培养、选育紧密结合才可能更好地开展。植物体细胞杂交工作所涉及的面很广,它不仅与遗传育种学分不开;更需要吸取动物细胞融合研究中的经验(例如核融合、高 pH 高 Ca^{++} 法等);也需要微生物学(例如筛选突变体等)、生物化学等(例如生物膜、大分子、聚乙二醇等)各有关学科的合作。要善于把动植物细胞的共性与植物原生质体的特殊性紧密结合起来,以促进植物原生质体融合研究。

展望今后可以开展的工作大致有以下几方面:

1. 诱导剂和诱导条件 已肯定的可以适当探讨其机理和应用范围,同时寻找新的高效的诱导剂和诱导方法。要针对所用的具体材料(诱导融合的亲本原生质体)弄清条件、确定方法、形成试验系统。其目的是为了获得稳定的、高融合率、有活力的异种融合体。

2. 异种融合体的细胞学和遗传育种学 这将是一个重点,包括的内容很多:如核融合中的同步分裂、核质关系、染色体的行为、遗传和变异、杂交亲本的选择、控制基因与性状的传递、异种融合体的培养与筛选途径以及分化和培育的条件、后代的分离与稳定性等。

3. 植物花粉和花粉母细胞等性细胞原生质体的融合 目前研究尚不多,主要的问题是在于用什么酶去壁和如何获得大量有活力的原生质体。花粉母细胞和减数分裂的生理机制与单倍体育种密切相关,也是原生质体融合亲本的好材料。

其他如原生质体摄取细胞器与外源大分子等物质以及用转导噬菌体将特定基因转入原生质体的研究也值得探索。

总之,植物原生质体融合的研究是植物体细胞杂交研究中重要环节之一。由于动物细胞融合和植物原生质体融合的共性和体细胞杂交的特殊规律,因此已将这两方面的研究归纳为体细胞遗传学而与通常的性细胞遗传学加以区别。菸草体细胞杂种培育成功,打开了体细胞遗传学与性细胞遗传学相结合的通道。

植物原生质体融合和体细胞杂交工作正处在试验研究阶段,前途光明,但是困难不少。即使是亲缘比较相近的种内杂交,例如菸草品种间体细胞杂交,其后代杂种的染色体数目也是有变化的。那么远缘异种间的融合是否会出现动物细胞融合中已知的染色体不正常分裂、丢失、排斥、多中心等现象;或同样出现植物远缘有性杂交中常遇到的分离不稳定等障碍,而给培育植株带来困难;以及如何挑选具有优良经济性状的融合亲本,再培育出新的农作物品种等等,这些问题都有待进一步去探索和解决。目前,远缘植物体细胞杂种尚未育成,我们认为诸

[下转 441 页]

陈惠波同志紧密结合生产实际,同生产劳动结合,同工人相结合,研究成功理想辊形的事迹,清楚地告诉我们:联系实际搞科研,理论不仅没有被压,而是更发展了,水平也更高了;同工人相结合,理论不是少了,而是内容更丰富了,更完善了。通过生产实践,陈惠波同志又进一步发现,在理想辊形研究中采用的“线接触”概念,并不限于钢管矫正机,一些轧机的轧辊在轧制过程中与轧件都存在着类似的线接触。因此,改造其它轧机也是可行的。这充分说明,科技人员只要走出实验室,到生产实践中去,与工人相结合,路子就会越走越宽广。

我们一定要最紧密地团结在以华国锋主席为首的党中央周围,高举马克思主义、列宁主义、毛泽东思想伟大红旗,坚持以阶级斗争为纲,坚持党的基本路线,坚持无产阶级专政下的继续革命。要彻底揭露王洪文、张春桥、江青、姚文元反党集团的滔天罪行,深入批判他们的反革命修正主义路线,肃清其流毒。永远沿着毛主席开辟的革命航向奋勇前进。

[上接 475 页]

如亲缘关系即所谓远缘杂交中的杂交不亲和性、杂种不育性及杂种后代群体不稳定性等,如果能找到遗传和生理生化等方面的原因,问题也并非不能解决。“世上无难事,只要肯登攀。”只要我们以阶级斗争为纲,坚持党的基本路线,遵循毛主席关于“破除迷信,解放思想”的教导,吸取我国植物单倍体育种的可贵经验,植物体细胞杂交研究也必将对社会主义建设作出应有的贡献。

参 考 资 料

- [1] Carlson, P. S. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69** (1972), 2292—2294.
- [2] Melchers, G. et al., *MGG* **135** (1974), 277—294.
- [3] Глеба Ю. Ю. и Др., *ДАН СССР*, **221** (1975) 1196—1198.
- [4] Power, J. B. et al., *Nature*, **225** (1970), 1016—1018.
- [5] 中国科学院遗传研究所五室二组, *遗传学报*, 1974, 1, 59—64.
- [6] 上海植物生理研究所细胞生理室, *植物学报*, 1975, 3, 247—249.
- [7] Keller, W. A. et al., *Z. Naturforsch.*, **28** (C) (1973), 737—741.
- [8] Kao, K. N. et al., *Planta* **115** (1974), 355—367.
- [9] Kao, K. N. et al., *Planta*, **129** (1974), 215—227.
- [10] Eriksson, T. et al., In *Tissue Culture and Plant Science* 1974, 213—231.