

植物体细胞胚胎发生的研究进展

闫红舟 (潍坊学院, 山东 潍坊 261061)

摘要: 体细胞胚胎发生在植物组织培养中是一种普遍现象。介绍了植物体胚发生的方式和起源, 综述了体胚发生过程中多糖类物质、蛋白质和核酸的变化, 体胚发生过程中内源激素的变化和外源激素的作用等研究进展。

关键词: 组织培养; 体细胞胚胎发生; 生理生化; 植物激素

中图分类号: Q944.46

文献标识码: A

文章编号: 1008-1631 (2008) 03-0004-02

Research Advance of Plant Somatic Embryogenesis

YAN Hong-zhou (Weifang College, Weifang 261061, China)

Abstract: Somatic embryogenesis is a very popular phenomenon in plant tissue culture. The recent progress in the way and origin of somatic embryogenesis was introduced. The changes of carbohydrate, protein and nucleic acid in somatic embryogenesis, the change of endogenous hormone and the action of exogenous hormone were reviewed.

Key words: Tissue culture; Somatic embryogenesis; Physiological and biochemical; Plant hormone

自 1958 年 Steward 和 Reinert 发现组织培养条件下胡萝卜根细胞形成了胚状体并长成完整的植株, 至今已在 100 多种植物中得到了体细胞胚, 并在许多珍稀或重要树种上实现了体细胞工程育苗的产业化。植物体细胞胚胎发生技术不仅成为植物快速繁殖的重要手段, 也是研究胚胎发生机理、转基因和突变体筛选等遗传转化的重要系统。

1 植物体胚发生的方式和起源

植物体胚发生有不经愈伤组织阶段而由组织或细胞直接发生和经过愈伤组织阶段再分化为体细胞胚 2 种方式, 以后者较常见。

关于胚状体的起源问题, 一种观点认为起源于单个的胚性细胞, 也有人认为起源于胚性细胞团, 目前支持单细胞起源的例证较多。贺晓等^[1]发现紫花苜蓿的体细胞胚起源于愈伤组织中的一些胚性细胞, 这些细胞或成群发生于愈伤组织表面, 或单个发生于愈伤组织深处。胚性细胞分裂形成胚细胞和胚柄细胞。胚细胞经多次分裂形成球形胚、心形胚、鱼雷形胚和子叶形胚。紫花苜蓿的胚状体多由单个细胞发育而来, 成群发生于愈伤组织表面的胚性细胞或不再分化, 或发育成畸形的联体胚, 最后往往退化。曹有龙等^[2]发现悬浮培养的枸杞细胞先分裂形成细胞团, 再由一些胚性细胞团发育形成一个或几个胚状体。由此作者认为胚状体的起源问题可能与植物的种类有关。

2 植物体胚发生过程中的生理生化变化

植物体胚发生过程中, 不仅在组织细胞结构上存在

巨大变化, 而且在生理生化方面也发生显著的变化, 主要包括多糖类、蛋白质和核酸的变化。

2.1 多糖

多糖类物质在体胚发生过程中的作用是提供能量和参与形态建成。周燕等^[3]发现在胡萝卜外植体和非胚性愈伤组织的细胞中, 淀粉粒和糊粉粒含量极少, 而在整个体胚发生过程中有 2 次多糖累积高峰, 表现为淀粉粒增加。其中, 第 1 次在胚性愈伤组织形成初期, 为胚胎发育提供能量。第 2 次在球形胚后期, 为胚体的进一步发育和成熟胚萌发、植株再生准备能量。这 2 个过程均是高能耗过程。高述民等^[4]在大蒜组织培养中也得到相似结果。

2.2 蛋白质

植物体胚发生过程中可溶性蛋白质的组分和含量变化, 不同作者的结果不尽相同。Sung 等^[5]发现在胡萝卜非胚性愈伤组织中有 2 种愈伤组织特异蛋白质, 在体细胞胚中存在 2 种胚胎特异蛋白质, 认为胚胎特异蛋白质可能与胚性细胞分裂有关。郑晓峰等^[6]在西洋参、香雪兰、光棘豆、草木犀的胚性愈伤组织中, 均检测到了非胚性愈伤组织中不存在的特异蛋白质; 在香雪兰和光棘豆的非胚性愈伤组织中也发现了胚性愈伤组织中没有的特异蛋白质。关于体胚发生过程中蛋白质含量的变化, 崔凯荣等发现在水稻胚性愈伤组织中, 水溶性和盐溶性蛋白质含量远高于非胚性愈伤组织, 醇溶性和碱溶性蛋白质含量在继代中表现稳定, 而稍低于非胚性愈伤组织。高述民等^[4]在大蒜体细胞胚发育中发现, 游离氨基酸和可溶性蛋白质含量从外植体到愈伤组织阶段均逐渐下降, 游离氨基酸含量在子叶胚阶段回升, 而可溶性蛋白质含量在胚性愈伤组织到球形胚阶段增加, 进入子叶胚阶段下降。

2.3 核酸

收稿日期: 2007-11-20

作者简介: 闫红舟 (1961-), 女, 山东青州人, 讲师, 主要从事生物工程学院办公管理工作。

王亚馥等^[7]在小麦研究中发现体细胞转化为胚性细胞后,核仁明显,具多核仁,并有核仁液泡,有的核仁液泡内移与核质相通,变化十分活跃。说明胚性细胞中必然有大量核糖体 RNA 的合成,并进一步形成核糖体。核糖体又为胚性细胞中基因转录产物 mRNA 进行转译提供场所,从而为胚性细胞的发生和发育奠定分子基础。利用放射性同位素技术检测结果表明,胚性愈伤组织的 RNA 合成速度迅速增加,而且在体胚发育过程中一直保持较高的水平。可见胚性愈伤组织的 RNA 合成速度明显高于非胚性愈伤组织。崔凯荣等^[8]以小麦为材料研究发现,在胚性愈伤组织中 DNA 合成十分活跃,随着体胚发育的进行, DNA 合成量明显增加。DNA 的复制为细胞分裂增殖奠定了物质基础。

3 体胚发生过程中内源激素变化及外源激素作用

离体植物细胞在开始往往缺乏合成生长素和细胞分裂素的能力,但这些细胞的分裂和分化以及形态建成过程中又必须有这2种激素的共同作用。为此在培养基中添加不同种类和不同浓度的外源激素诱导形态发生受到广泛重视。邢登辉等^[9]以皇冠草为材料发现,在体胚诱导过程中,培养的第5d内源吲哚乙酸浓度与对照相比无明显变化,但在第10d其浓度迅速升高为对照的2倍多,达到第1个峰值,到第15d其浓度又恢复到对照水平,然后逐渐升高,到第25d达到第2个峰值。玉米素和玉米素核苷的浓度在培养的第5d已是对照的7倍多,随着体胚的进一步发育,其浓度继续上升直到第15d达最高峰,然后下降,直到体胚成熟其浓度仍保持在对照的7倍多,说明体胚中的细胞分裂素水平显著高于外植体叶片。王丽等^[10]发现香雪兰花序外植体离体培养后,只有花序轴的原形态学下端分化出体细胞胚,而在形态学上端无体胚形成。培养前外植体两端内源吲哚乙酸含量无明显差别,但培养6d后,胚发生端吲哚乙酸含量明显高于非胚发生端,表明内源吲哚乙酸在体胚发生过程中起关键作用。

在多数植物组织培养中,外源生长素和细胞分裂素是细胞离体培养所必须的激素,两者不同浓度和比例以及先后配合的应用不但可诱导细胞分裂和生长,而且能控制细胞分化和形态建成。2,4-D 是诱导体胚发生的重要激素, Loshivao 等^[11]在胡萝卜细胞悬浮培养中发现胚性细胞诱导早期 2,4-D 是必须的,并认为 2,4-D 是通过影响吲哚乙酸结合蛋白而起作用。邢登辉等^[9]以皇冠草为材料试验发现,不同种类的细胞分裂素以及同种细胞分裂素的不同浓度对体胚的诱导效应显著不同,其中玉米素和 6-BA 结合使用效果最好,诱导频率和体胚产量

均达最大值。单独使用时 6-BA 效果最好,玉米素和激动素效果最差。

多数植物组培诱导脱分化需要 2,4-D,单子叶植物往往需的浓度较高,而双子叶植物需要 2,4-D 的浓度较低,而且诱导脱分化后还必须及时将其降低或去掉,胚性细胞才能继续发育。芹菜的组培诱导体胚发生,如不及时降低 2,4-D 浓度,球形胚就产生次生胚,当次生胚发育到球形胚后又循环形成次生胚,从而抑制了体细胞胚的正常发育^[12]。

参考文献:

- [1] 贺晓,慈忠玲,孔繁敏,等.紫花苜蓿体细胞胚胎发生及其细胞组织学观察[J].内蒙古林学院学报(自然科学版),1999,21(2):44-46.
- [2] 曹有龙,贾勇炯,陈放,等.枸杞花药愈伤组织悬浮培养条件下胚状体发生与植株再生[J].云南植物研究,1999,21(3):346-350.
- [3] 周燕,高述民,李凤兰,等.胡萝卜体细胞胚胎发生中的细胞组织化学和蛋白质组分变化[J].植物生理学通讯,2004,40(2):181-183.
- [4] 高述民,陆帼一,杜慧芳,等.大蒜体细胞胚发育分化中特异蛋白质和某些生理生化变化[J].植物生理学通讯,2001,37(3):207-230.
- [5] Sung Z R, Okimoto R. Embryonic proteins in somatic embryos of carrot [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78: 3683-3687.
- [6] 郑晓峰,黄百渠.几种植物体细胞胚胎发生标记蛋白的研究[J].植物学报,1994,36(3):175-180.
- [7] 王亚馥,崔凯荣,汪丽虹,等.小麦体细胞胚发生的蛋白质组分和过氧化物酶同工酶的变化[J].兰州大学学报(自然科学版),1993,29(3):189-193.
- [8] 崔凯荣,邢更生,周功克,等.体细胞胚发生的生化基础[J].生命科学,2001,13(1):28-33.
- [9] 邢登辉,赵云云,黄承芬,等.皇冠草体细胞胚胎发生及其体胚发生过程中内源激素的变化[J].生物工程学报,1999,15(1):98-102.
- [10] 王丽,鲍晓明,黄百渠,等.香雪兰外植体形态学极性决定的体细胞胚胎发生[J].植物学报,1998,40(2):138-143.
- [11] Loshivao F, Filippini F, Cozzani F. Modulation of auxin-binding protein in cell suspension different responses of carrot embryocultures [J]. Plant Physiol, 1991, 97: 60-64.
- [12] Parrott W A. Auxin-stimulated somatic embryogenesis from immature cotyledons of white clover [J]. Plant Cell Reports, 1991, 10: 17-21.

作者简介格式

来稿要求标注作者简介(第一作者),内容为:

姓名(出生年—),性别(民族—汉族可省略),籍贯,职称,学位,主要从事工作或研究方向。