

植物细胞培养与有用化学物质 生产的研究动态

侯 嵩 生

(中国科学院武汉植物研究所)

RECENT ADVANCES IN THE PRODUCTION OF USEFUL CHEMICAL SUBSTANCES THROUGH PLANT CELL CULTURE

Hou Songsheng

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica)

关键词: 植物细胞培养; 次生物质代谢; 筛选和选择; 培养条件; 生化遗传操作

Key words: Plant cell culture; Secondary substance metabolism; Selection and screening; Culture conditions; Biochemical genetic manipulation

一、引 言

人类生活中所需的药物、调料、香料等天然化合物, 高等植物是它们的最丰富来源。虽然随着化学的进步, 许多有用化合物可以通过化学合成来取得。但是, 有些结构复杂的化合物, 人工合成还有困难; 有些复杂的混合物, 还不能用人工来组成。因此, 许多药物、香料还要靠植物来获得。从植物来源的药物约占25%以上。由于近年来发现人工合成的某些色素、调料、药物对人体健康有不良的副作用, 以及从植物中发现不少具有高生理活性的物质, 如从萝芙木中提取出具有降压作用的利血平, 从毛地黄中提取出具有强心作用的地高辛, 对保护人类健康起了重要的作用, 因而更吸引人们从植物中获取有用化学物质的研究和生产的兴趣。然而, 植物的生长、分布受气候、土壤、病虫害等因素的影响, 生产受到一定的限制; 以及人类对自然的过度开发, 资源受到破坏,

造成许多产品供不应求，短缺的中药就在一百种以上，不少物种濒于灭绝。

根据植物细胞全能性的理论，离体的植物细胞在人工培养下也具有与原植物相同的合成各类化合物的能力，如果将植物细胞培养技术引入有用化学物质生产，把细胞作为一个“活的工厂”，便可改变原来靠大面积栽培或野生资源来获得原料的传统，在人工控制条件下进行工业化生产，可能开辟一条新的生产途径和导致一个新型产业的诞生，为人类增加更多的产品和获得更多的经济利益。1902年 Haberlandt 首先提出在营养液中培养植物细胞的设想，1956年路德和尼可尔第一次提出应用植物组织培养法进行天然产物生产的专利申请报告。由于成本较高，产量不稳定，某些细胞要形成器官或植株后，才能合成所希望的产物，因而有些研究者怀疑它应用的可能性，工作一度进展缓慢。七十年代起，研究广度和水平迅速发展和提高。代谢、生物合成的知识逐渐丰富，培养方法、技术日臻完善，尤其在代谢调节、高产细胞株选择和生物反应器等方面有较大的突破，设备简化，成本降低，产量提高。这些成就使人们对它的应用前景增添了信心，许多学者预言，在今后十年内将可能成功地应用于工业生产。

关于植物细胞培养与有用化学物质生产的研究论文很多，专著和评述性文章也不少。如上海植生所⁽¹⁾、张治国⁽²⁾、何卓培⁽³⁾、罗士韦⁽⁴⁾、郑光植⁽⁵⁾及 Butcher⁽⁸⁾、Fowler⁽¹⁰⁾、Staba⁽²¹⁾、Tabata⁽²³⁾、Yeoman⁽²⁵⁾等从不同的角度作了评述。本文的目的是将收集的资料，用“生长和产量”这根线把它们串起来，并进行必要的阐述和讨论。

二、从植物细胞培养物得到有用化学物质

根据郑光植⁽⁵⁾和 Fowler⁽¹¹⁾等人总结了大量资料表明，大多数植物都可进行组织培养，通过组织培养产生的化合物种类有生物碱、固醇类、萜类、醌类和其他生理活性物质共有五、六十种。表1列出部分植物细胞培养物和整株植物中天然产物的名称和产量的比较，说明在人工培养下植物细胞基本保持原植物同样的合成能力，而且还可通过各种方法提高有用物质的含量。

表1 从细胞培养物和整株植物得到的天然产物产量

Table 1 Natural product yields from cell cultures and whole plants

天然产物 Natural product	植物种类 Species	产量 Yield	
		细胞培养物 Cell cultures	整株植物 Whole plant
意 靛	鸡眼藤	900毫微克分子/克干重	190毫微克分子/克干重
阿吗灵和蛇根碱	长春花	1.3%(干重)	0.26%(干重)
薯蓣皂苷配基	三角叶薯蓣	26毫克/克干重	20毫克/克干重(块茎)
人参皂苷配基	人 参	0.38%(鲜重)	0.3—3.3%(鲜重)
莨菪碱和东莨菪碱	三分三	0.55%(干重)	0.14%(干重)
紫草宁	紫 草	12%(干重)	1.5%(干重)
胰岛素	苦 瓜	1.9%(鲜重)	1.0%(鲜重, 果实)
小檗碱	日本黄连	8%(干重)	2—4%(干重, 根)

三、影响培养的细胞生长和有用化学物质累积的因素

植物细胞培养中，影响细胞生长和有用化学物质累积的因素可归纳为四个方面，即：植物本身的特性，环境和培养条件（物理、化学因素），筛选和选择，以及生化遗传操作。

现将各因子的作用讨论如下：

（一）组织的来源

影响植物细胞培养物次生物质累积的因素中，首先是原植物的遗传特性。一般认为，若应用次生产物含量高的植物或器官作外植体诱导出来的愈伤组织进行培养，其培养物中次生产物的含量也高。Zenk⁽²⁶⁾在研究长春花组织培养中生物碱的形成时，认为来自高产植株的组织，其生物碱的产量也高。但是，Roller⁽¹⁸⁾应用长春花植物进行试验，却发现蛇根碱的产量与原植物中含量的高低没有一致的关系。Kinnersley and Dougall⁽¹⁵⁾用烟草试验证明，来自高含量尼古丁的烟草诱导出来的组织进行培养，其尼古丁含量也高。Dougall 和 Zenk 等的研究结果，支持选用具有高含量次生物质的植株或器官进行组织培养，以获得较高次生物质产量的论点。

（二）生长状况

细胞的生长与次生物质累积的关系是植物组织培养与次生物质生产研究中的重要问题，从高等植物中所观察到的现象是：当植物迅速生长时，并不累积或只累积很少的次生产物，而在植物成熟甚至进入衰老时，才累积较多的次生产物。所以，正在迅速生长的部分，如形成层、伸长部分，以及果实、种子发育的早期阶段，均不含很多的次生物质。从植物组织培养中也观察到，正在迅速生长的细胞培养物中，次生产物的含量也很低。因此，M·Yeaman⁽²⁵⁾提出生长与次生物质形成相矛盾的概念。他认为细胞生长慢，次生物质累积多。这个论点虽有根据，但从现有众多的实验结果中发现，情况是复杂的。如M·Tabata⁽²³⁾把细胞生长与产物形成的关系概括为三个主要类型：1) 产物形成与细胞生长几乎是平行进行。如烟碱的形成属于此类。2) 产物形成延迟到细胞生长衰减或终止，如紫草素的形成属于此类。3) 产物形成的曲线落在生长曲线后面，如薯蓣皂甙元的形成。

显然，细胞生长与产物累积的关系是复杂的，一般地说，细胞生长慢，产物累积多，这是两者相矛盾的一面。但是，如果没有一定的生物量，次生物质的产量也不会高，这又是它们统一的另一面。因此，在培养中要尽可能使两者达到平衡，既要有足够的生物量，又不致降低次生物质的产量太多。Zenk⁽²⁶⁾等在研究这个问题时导致发展出二种培养基的思想。一为维持培养基(maintenance media)，在此培养基中能发生细胞分裂和干物质积累，但碱的形成几乎完全被抑制，另一个为生产培养基(production media)，在此培养基中细胞生长慢，很少或没有细胞分裂，但产物形成则增加了。

Fijita⁽¹²⁾等在研究紫草组织培养时,提出两段培养基方法,先把紫草细胞培养在适于生长的LS培养基中,然后移到适合于生产紫草宁衍生物的White培养基中,这种办法可使紫草宁衍生物生产率比仅培养在White培养基的翻一番,而仅培养在LS培养基中的,却不能检出紫草宁衍生物。此外,尽量缩短细胞生长曲线中的延迟期(lag phase),对于提高生产效率亦具有重要的意义。

(三) 形态分化

有些化合物只在高等植物的特殊器官或组织中合成和积累,如香精油贮存在多细胞的腺体或特化了的腺毛中,树脂积累在多细胞的乳管中等。应用组织培养法能否产生这类化合物是个疑问,许多研究结果也证明这类次生物质的形成与细胞形态分化存在密切的关系。不过这里所指的分化,除器官形成外,未器官化的细胞和组织形态的变化,胞腔增大,原生质呈网状,胞壁的次生加厚都是分化的标志。

Bhandary 在研究颠茄组织培养中阿托平的积累时发现,正在迅速生长、未分化的细胞中没有检测到生物碱。West 和 Mika 将愈伤组织培养在与细胞生长不相容而有助于细胞分化的条件下,却积累了少量的生物碱。Hinaka 和 Tabata 研究南洋金花组织培养时,发现其愈伤组织中总生物碱的含量极低,但随着器官的形成和植株的生长,其含量逐渐提高。贺锡纯⁽⁶⁾等在研究青蒿 *Artemisia annua* L. 组织培养中青蒿素的积累时,在未分化的愈伤组织中未发现其存在,但在带芽的愈伤组织和由此分化产生的小植株又能合成青蒿素。以上结果说明这些次生产物的形成与形态分化有密切的关系。但是,也有实验证明未器官化的组织,能够产生只有在完整植物的特殊组织中才能积累的化合物。如 Sugisawa⁽²¹⁾等指出,平常在紫苏叶腺毛中积聚的香精油,可在未分化细胞的悬浮培养中产生。Bychenkova 也报道了平常在树脂管中积聚的树脂,在欧洲赤松组织培养中也能形成。这些结果是令人鼓舞的,表明未器官化的细胞并不是不具有合成这类化合物的能力,问题在于我们对这些较特殊的化合物的合成条件或基因表达的条件还了解不清楚。

(四) 培养条件——化学因素

离体培养的植物细胞和组织,在人工培养下虽有少数含叶绿素,可在光下进行光合作用得到一些营养,但绝大部分都是从培养基中获得它们所需的养料。因此,可以通过培养条件的变化来调节控制植物细胞的生长和次生物质的代谢,以及找到一个最适的培养条件。

碳水化合物 蔗糖是主要的有机碳源。它的作用是维持细胞的渗透压和通过糖酵解、三羧酸循环、磷酸已糖支路等途径,得到细胞生命活动所需的能量和一系列中间产物,作次生物质合成的原料,以及合成多糖,如淀粉及胞壁成分。一般地说,提高蔗糖的浓度会导致增加培养物中次生代谢物的产量。Hazell 在烟草细胞培养中把蔗糖含量由2%提高至5%,尼古丁的含量也增加。Davis 证明蔷薇属细胞培养中增加蔗糖浓度也使多酚产量提高。在紫草愈伤组织培养中,蔗糖含量从1%增至5%,然后保持在

7%至10%，每克鲜重中紫草宁衍生物的产量增加，而在高浓度蔗糖下每瓶中愈伤组织的鲜重减少了。从不同碳源比较试验中，对紫草宁含量的影响，蔗糖明显地优于葡萄糖和果糖。Zenk试验了14种碳水化合物（含量为2%）后发现以蔗糖为碳源时，桔叶巴戟培养物中蒽醌的产量最高。Fowler报道各种碳源对罂粟、烟草、长春花细胞生长的影响，从生长速度、碳的转换率和生物产量等指标来衡量，葡萄糖可能是最有效的碳源。Drew等从微生物的试验中证明葡萄糖对加速生长最有利，但对次生物质代谢则明显受到抑制。

氮素 氮是植物组织培养中必需的大量元素，被细胞同化用于合成氨基酸和蛋白质。 NO_3^- 和 NH_4^+ 是主要氮源。此外，尿素、酪蛋白水解物和简单氨基酸亦可作为氮源。氮素的数量和性质对细胞生长和次生物质形成的作用依植物种类不同而异。Noguchi等报道在烟草细胞培养中增加氮素的供应，生长率也增加。Mizukami等报道了紫草愈伤组织培养中，当培养基中总氮从67mM增至104mM时，紫草宁衍生物的形成增加，但总氮继续增加，这些化合物的形成便减少。在桔叶巴戟细胞悬浮培养中，当 KNO_3 的含量从2g/l增至4.5g/l时，生长没有促进，蒽醌的生产也未被抑制，但在这个范围以上或以下，则生长和产物的形成迅速降低。Zenk也证明桔叶巴戟组织培养中，当水解酪蛋白的含量大于4g/l时，细胞生长和蒽醌的合成都受到抑制。

维生素 培养基中含有多种水溶性B组维生素。许多试验证明它影响细胞生长和产物形成，而且在细胞悬浮培养中可以增加细胞的分散性。Mizukami等证明加入 $10^{-4}M$ 的维生素C至紫草愈伤组织培养基中，促进紫草宁的生产。Matsumoto等将0.05mg/l的核黄素加入populus细胞悬浮培养基中，在光下促进花青甙的合成。Wilson等人观察到假挪威槭细胞生长在缺乏维生素的培养基中，有不正常的成团现象。Oswald等将维生素E加入培养基中，可增加玉米、白三叶草、大豆细胞悬浮培养中的分散性。

植物激素 植物激素对细胞生长、分化和次生物质的形成有不同的调节作用。植物组织培养中外源激素的浓度或成分的变化，常常可能产生引人注目的效果。如Zenk报道桔叶巴戟细胞悬浮培养中，NAA促进蒽醌的合成，而2,4-D却完全抑制蒽醌的形成。Kamimura等发现罂粟细胞悬浮培养中，IAA对促进蒂巴因的合成较NAA或2,4-D为好。Furuya⁽¹³⁾等将烟草愈伤组织培养在有2,4-D的培养基中，并不能检出尼古丁的存在。当转移至有IAA的培养基时，则很易检出尼古丁，说明尼古丁的合成被2,4-D所抑制，为IAA所活化。在这些培养物中，2,4-D与IAA和NAA相比，较不适于引发次生物质代谢。但也有报告，如Ikeda等用高浓度的2,4-D(10mg/l)诱发胡萝卜细胞培养中类胡萝卜素含量的提高。Tabata等认为激动素对曼陀罗细胞生长不表现出明显的效果，而在高浓度下则抑制碱的生产，在*Scopolia maxima*的细胞培养中，相当高浓度的激动素却促进碱的合成。在大多数的研究中都是生长素与激动素结合使用，由于缺乏培养细胞内源激素水平的资料，故很难评价生长素与激动素组合使用对次生物质代谢的效果。无疑地，一定的结合较单独使用会更有利，如在澳洲茄的组织培养研究中，不同水平的激动素与生长素的组合，对其细胞鲜重和薯蓣皂甙元的增减有不同的影响。在两者的组合中，NAA浓度为 $10^{-5}M$ 时，鲜重增加而碱的产量减少，而KT的浓度不表现明显

的作用。若NAA的浓度为 $10^{-6}M$ 时,鲜重减少而碱的产量增加,此时KT浓度的变化对碱的产量增减不明显。若浓度为 $10^{-5}M$ 时,鲜重增加,BAP的浓度在 $10^{-8}M$ 时,鲜重与碱量都明显增加。赤霉素、脱落酸、乙烯在植物细胞培养中对次生物质代谢的作用研究得较少。

前体 在培养基中补加次生物质生物合成的前体,以提高最终产物的产量也得到有意义的结果。为Tabata将L-苯丙氨酸加入紫草组织培养基中,可使紫草素的产量提高三倍以上。Sairam等把L-苯丙氨酸和L-酪氨酸加入曼陀罗组织培养基中,也可使总碱量提高。Steck等将4-羟基-2-喹啉酮加入芸香组织培养基中,可使喹啉大量增加。Margna在讨论黄酮、木质素等的积累时,也认为是苯丙氨酸的水平,而不是苯丙氨酸解氨酶的水平控制这些化合物的积累。这些研究结果开辟了一个可能性,即应用补加前体的方法,可作为提高次生物质产量的途径之一。

(五) 环境条件

植物生长在有昼夜和季节变化的自然环境中,植物的生长、发育和次生物质的合成与积累便是对一定环境条件的反应。在人工培养条件下必然对它们的生长、发育和物质的合成发生影响。因此,有可能得不到希望的产物,也有可能找到和创造一个适于细胞生长和代谢产物累积的环境条件。

温度 植物细胞在体外生长最适的温度范围,一般为 $25-30^{\circ}C$,但各种类亦不一致。Erikson⁽⁹⁾发现 *Haplopappus gracilis* 的细胞悬浮培养中,在 $30^{\circ}C$ 的生长较在 $25^{\circ}C$ 的快几倍。Nettleship等报道 *peganum* 愈伤组织培养中,细胞生长最适在 $30^{\circ}C$,而碱的累积高峰在 $25^{\circ}C$,随着温度升高,碱的产量迅速降低。Rose和Martin⁽¹⁹⁾作了一个温度从 $15^{\circ}C$ 至 $34^{\circ}C$ 对 *Ipomoea* 细胞生长的研究,发现细胞的最大生长发生在 $25^{\circ}C$ 至 $32^{\circ}C$,在此范围内温度的变化对生长只有小的影响,如不在此范围内,生长便明显降低,同时还观察到在 $30^{\circ}C$ 和 $32^{\circ}C$ 之间对蔗糖和氨基氮的利用率最高,当细胞从 $30^{\circ}C$ 转移至 $25^{\circ}C$ 时,则其利用率降低25%。

pH 通常,对植物细胞悬浮培养最有利的pH范围为5至6。在培养过程中由于有机酸的产生和 NH_4 被利用而使溶液变酸;因硝酸盐的被利用和氨基酸的脱氨作用而使溶液趋向碱性。Matsumoto⁽¹⁶⁾等试验了不同pH(5.0, 5.5, 6.8和7.5)对烟草细胞生长的作用,发现在试验后三天,所有细胞培养液的pH都在5.0至5.3,说明起初的pH值对细胞的生长作用不大。Rose和Martin以铵盐和硝酸盐作为氮源的培养基培养蕃薯属细胞,灭菌后的pH为5,由于高pH的接种物和低缓冲能力的培养基,接种后的pH上升至6.4,当其分别相应地利用铵和硝酸盐阶段,pH降至5,然后又升至7.0。pH升高,细胞利用铵盐的能力增加,而利用硝酸盐的能力降低。在pH4.8,铵积累在培养基中,还原硝酸盐的速度超过铵进入的速度。Vileky阐述了在不同pH条件下蕃薯细胞培养中将色氨酸转化吲哚类化合物-色醇的情况,当培养的细胞生长在稳定的pH6.3中,色醇的产量几乎2倍于生长在pH可以自由变化的条件,若在pH4.8,色醇的形成受阻。

光 光对培养的植物细胞生长、发育和代谢都有重要的作用,且与光强度、光谱成

分和每天曝光时间的长短紧密相关。

Hahlbrock⁽⁴¹⁾等在研究 *petroselinum hortense* 细胞悬浮培养中黄酮甙合成与相关的酶活性调节中指出,在暗培养时苯丙氨酸解氨酶及这个合成方向上的酶活性都很低,当暴露在光下2-3小时后,酶活性便迅速增高,15至37小时后活性达到高峰,以后便逐渐降低,在光照下黄酮甙的产量比在暗中的也高得多。Kadkade 等报道光虽对薯蓣属若干种细胞生长无明显作用,但促进薯蓣皂甙元的合成。在开始培养至第8天,在光和暗培养下薯蓣皂甙元的产量几乎相同,但在第8天后薯蓣皂甙元的生产在光下较暗培养下明显地多。Reinert 等报道了蓝光促进 *H. gracilis* 愈伤组织中花青甙的合成,而红光则无效。Lachman也证明这点,并指出作用光谱在438nm和372nm。但是紫草愈伤组织中蒽醌的合成成为冷萤光所抑制,应用单色光试验证明引起抑制作用的是蓝光而不是红或绿光。Tabata 等认为蓝光抑制这个合成方向中前体的诱导或中间物的转化。Strickland 认为白色冷萤光可以加强 *H. gracilis* 愈伤组织中绿原酸的积累,蓝光是作用光谱区,供应外原苯丙氨酸可使绿原酸的形增加几倍。苯丙氨酸加光处理对绿原酸的形比只用光处理或只加苯丙氨酸的作用更大。Derbyshire 等证明光可促进离体燕麦根切段对葡萄糖的同化和硝酸盐的吸收。但是,也有光对次生物质形成起抑制作用的报道,如 Yamada⁽²⁴⁾ 等认为光抑制日本黄连细胞生长和小藜碱的形成。从经济上考虑,不需要光可以节约设备和能源。然而,无可置疑,光在调节次生产物代谢中起重要作用,只是光在调控关键生化机制中的作用和对特殊结构发育的影响还了解得很少。

(六) 选择和筛选

培养的细胞具有较大的群体数,存在不均一性和变异性,因此要进行选择,淘汰劣株,选出优株。此外,还可通过诱变、筛选高产的细胞突变体。这是提高产量的重要途径之一。选择的方法有目视法,萤光显微挑选法,复制平板法,放射免疫试验,酶标免疫技术和控制培养基成分等方法。如 Tabata 和 Dougall 各从紫草、胡萝卜组织中根据颜色的深浅,采用目视法选出色素含量高的细胞株。Sato⁽²⁰⁾ 等采用目视、复制平板法和控制培养基成分法相结合,选出小藜碱含量高的日本黄连细胞株。Zenk 等创立的放射免疫试验,具有灵敏度高、专一性强、效率高等优点,应用在长春花、罂粟的细胞筛选中均取得效果。

(七) 细胞融合

不同种细胞融合产生的杂种后代,可能具有较高的生命力和合成能力。如 Okamoto⁽¹⁷⁾ 将黄连×黄蘗的冠瘿组织融合细胞进行培养,可使小藜碱的产量提高。Bohm 在研究罂粟花的组织培养物生产吗啡因时,采用 *Papaver* 属和种间杂交法,可使次生代谢产物显著提高。虽然这方面的资料还很少,但是一个具有较大潜力的方向。

(八) 混合培养

所谓混合培养,就是植物细胞与固氮绿藻(Nitrogen fixing green algae) 或能诱

导产生植物抗毒素的细菌或能产生生物碱的真菌同时混合生长。如Fett等报道在*Glycine max*(L.)细胞悬浮培养物接种了大豆的病原体*Pseudomonas syringae pv glycinea*后,导致产生植物抗毒素 glyceollin。关于混合培养的报道还很少。

(九) 固化植物细胞

应用淀粉、琼脂、琼脂糖、藻酸钠、聚丙烯酰胺等作载体,将细胞固定在珠状胶囊或各种形状的支持物上。由于固化植物细胞改变了细胞所处的环境,不仅对细胞生长和代谢带来影响,而且会引起生物反应器的形式、结构发生变革。固化植物细胞生长较慢,有利于产物累积,易于把细胞与培养液分开,可除去培养液中的代谢抑制剂,而使细胞生命力延长和具有较高的合成能力。这种方法对于那些可将次生产物分泌到培养液中的细胞特别有利,可以定期收集培养液来提取产品和加入新鲜培养液,而使细胞连续生长,固化细胞用于生物转化亦有不少报道。如Furuga应用藻酸钙固化罂粟细胞,可以连续培养6个月,把可待因酮转化为可待因,其转化率较细胞悬浮培养提高10%,而且88%可待因甲基吗啡被排放到培养液中。Galun等用交联的聚丙烯酰胺胍固化薄荷细胞,并不损害细胞的生活力,由薄荷酮转化为新薄荷醇的转化率与游离悬浮细胞中的转化率相近。Yeaman等将辣椒细胞固定在聚氨基甲酸酯泡沫塑料的孔隙里进行培养,可得到辣椒碱并在6个月里持续得到产品。Brodelius⁽⁷⁾等把长春花细胞固定在不同的支持物上,不仅使合成能力加强,而且可连续合成。固化细胞技术具有许多优点。虽然目前作为一个高产的培养方法应用于生产的报道还不多,但这项技术的发展与应用将对次生物质生产的研究产生重要的作用。

四、 问题与展望

植物细胞培养与有用化学物质生产的研究,经过无数学者几十年的辛勤耕耘,不断探索,人们已可窥见它美好的前景。作为多学科交叉、技术密集型的一门科学,要使它的成果在生产中应用,要靠有关学科(植物生理、生化、遗传、有机化学、化工、发酵等)专家的紧密协作才能完成。下述诸点是这个领域中尚待研究解决的问题:

1) 植物细胞培养技术能否应用于生产,除受供求、成本、利润等经济因素制约外,在技术上,提高产量是关键问题。因此,必须围绕着提高产量、降低成本这个中心来开展工作,研究和制订出一套可行、先进、经济的技术措施。

2) 植物细胞的生长速度,与微生物相比还是太慢。因此,要通过各种物理、化学因素来调节、控制、促进植物细胞生长和次生物质代谢,找出最适而又经济的培养条件。此外,还有学者设想,采用基因工程的方法,将产生次生物质的基因转移至细菌或酵母中,如能表达,则可通过培养细菌或酵母得到所需的次生物质。然要实现这个想法,还有许多难关,在短期内尚难解决。

3) 培养的植物细胞存在不均一性和变异性,除了要进行选择外,还要通过诱变、筛选出高产细胞的突变体。此外,还要研究植物细胞遗传稳定性问题和“种子”细胞的保藏技术。

4) 应用生化遗传操作技术, 把高产的遗传物质转移至低产品系中, 或应用各种先进技术改进和提高细胞生长速度、生命力和生物合成能力。

5) 植物细胞培养物中化学物质含量常发生变化, 有时甚至没有。其原因很多, 主要可能是产生次生物质的基因突变; 酶的缺失; 前体不足; 缺少基因表达的条件等。因此, 要研究次生物质代谢和生物合成的关键步骤, 才能为次生物质研究提供基础和指导它的应用和生产。

国际上, 植物细胞与有用化学物质生产的研究已取得显著成绩, 有些先进国家已在进行工业规模生产的研究, 不久将可能投入正式生产。我国在这个领域虽还比较薄弱, 但这门科学技术的兴起和发展是近10多年的事, 差距还不算很大。我国植物资源丰富, 贵重、稀少而又有应用价值的药物、香料、调料种类很多, 因而, 开展此项研究具有良好的条件。若能给予必要的重视, 迅速组织力量, 开展工作, 相信将能做出成绩, 为四化作出贡献。

主要参考文献

- (1) 上海植物生理所, 1973; 植物学报, 15(2), 285—307.
- (2) 张治国, 1980; 药学通报, 15(7): 30—33.
- (3) 何卓培, 1983; 植物生理学通讯, 4: 8—13.
- (4) 罗士书, 1976; 植物生理学报, 4(1): 91—112.
- (5) 郑光植, 1980; 植物生理学通讯, 4: 1—12.
- (6) 贺纯锡等, 1983; 植物学报, 25(1): 87—90.
- (7) Brodelius, P. & Nilsson, K., 1980; FEBS Letters, 122: 312—26.
- (8) Butcher, D. N., 1977; In, Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, Organ Culture. Edited by J. Reinert and Y. P. S. Bajaj., pp. 668—690, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- (9) Eriksson, T., 1965; Physiol. Plant, 18: 976.
- (10) Fowler, M. W., 1981; Chemical and Industry, pp. 229—233.
- (11) Fowler, M. W., 1983; In, Plant Biotechnology. Edited by S. H. Mantell and H. Smith, pp. 3—37, Cambridge University Press, Cambridge London New York New Rochelle Melbourne Sydney.
- (12) Fujita, Y. et al., 1982; 文献第 21, pp. 399—400.
- (13) Furuya, T., et al., 1971; Phytochemistry, 10: 1529—32.
- (14) Hahlbrock, K. and Schroder, J., 1975; Arch. Biochem. Biophys., 166: 47.
- (15) Kinnersley, A. M. & Dougall, D. K., 1981; In, W. Alton Jones Cell Science Centre Annual Report, pp. 7—8, Lake Placid; W. Alton Jones Cell Science Centre.
- (16) Matsumoto, T. et al., 1972; Agric. Biol. Chem., 36: 2177.
- (17) Okamoto, A., 1977; Japan Patent (Kokai), 77—03816.
- (18) Roller, U., 1978; In, Production of Natural Compounds by Cell Culture Methods, Edited by A. W. Alfermann & E. Reinhard, pp. 95—108, Munich; Gesellschaft für Strahler & Umweltforschung mbH.
- (19) Rose, D. and Martin, S. M., 1975; Can. J. Bot., 18: 321.
- (20) Sato, F. and Yamada, Y., 1984; Phytochemistry, 23(2), 281—285.

- (21) Staba, E. J., 1982; *Plant Tissue Culture 1982*, Edited by A. Fujiward, pp. 25-30. IAPTC Tokyo.
- (22) Sugisawa, H. and Ohnishi, Y., 1976; *Agric. Biol. Chem.*, 40(1): 231-232.
- (23) Tabata, M., 1977; In: *Plant tissue Culture and Its Biotechnological Application*, Edited by W. Barz, E. Reinhard, M. H. Lenk., pp. 3-16. Springer-Verlag, Berlin, Heideberg, New York.
- (24) Yamada, Y. and Sato, F., 1981; *Phytochemistry*, 20: 545-547.
- (25) Yeoman, M. M. et al., 1980; In: *Plant Cell Cultures, Results and Prespectives*, Edited by F. Sala, B. Parisi, R. Cella and O. Ciferri, pp. 327-343. Elsevier/North-Holland Biochemical Press.
- (26) Zenk, M. H. et al., 1977; In: *Plant Tissue Culture and Its Biotechnological Application*, Edited by W. Barz, E. Reinhard, M. H. Zenk., pp. 27-43. Springer-Verlag, Berlin, Heideberg, New York.