

文章编号: 1000-5692(2001)01-0089-04

植物细胞的分化与脱分化

黄坚钦

(浙江林学院 资源与环境系, 浙江 临安 311300)

摘要: 细胞分化与脱分化是现代生物学的基本问题之一。综述了植物细胞分化、脱分化过程中的形态结构变化及其调控。结果表明: 从形态结构水平很难找出标志细胞分化与脱分化的特征规律, 激素被证明对细胞分化与脱分化的调控起作用, 生长素与细胞分裂素的作用受到普遍的关注。参 18

关键词: 分化; 脱分化; 形态结构; 植物生长调节物质; 激素; 植物细胞

中图分类号: Q942 **文献标识码:** A

细胞分化与脱分化是现代生物学的基本问题之一。它关系到植物生长与发育的根本问题, 也是关系到植物组织细胞培养和细胞工程发展的根本问题。多细胞集合体植物的细胞存在分化。高等植物由一个受精卵发育成一个完整的植株, 细胞的形态千姿万别, 同样存在分化。所谓分化, 是指细胞通过分裂产生结构和功能上的稳定性差异的过程^[1]。脱分化在植物中也普遍存在, 如次生维管束的束中形成层、木栓形成层、花生的果柄发育以及植物的创伤修复等。脱分化被认为“已有特定结构和功能的植物组织, 在一定的条件下, 其细胞被诱导改变原有的发育途径, 逐步失去原有的分化状态, 转变为具有分生能力的胚性细胞的过程^[2]”。因此, 分化的实质是基因的表达问题, 而脱分化的实质是使已关闭的基因重新打开的过程。在植物实验形态学中, 使已分化的植物细胞脱分化, 实现其再分化是十分重大的研究课题。

目前研究细胞分化与脱分化的途径主要有 2 条: 一是分子生物学途径, 即从分子水平上来阐明细胞分化的机理; 二是通过实验细胞学和实验发生学的道路, 以阐明细胞分化的机理。

1 分化与脱分化植物细胞的结构变化

细胞分化是分裂的细胞不继续增殖, 成为具有特殊结构、功能与生化特征的细胞, 在这过程中, 植物细胞都有一个细胞液泡化的过程。分化程度较低的细胞是薄壁细胞, 具同化、贮藏、分泌和吸收等功能, 它具有脱分化的潜能。一般地说, 已分化细胞具各种细胞器, 但不同功能的细胞其细胞器的差异很大。质体是变化最大的一个细胞器, 它在贮藏组织和同化组织中存在很大的差异。在分泌细胞及细胞壁的生长期, 高尔基体和内质网数量多且十分活跃。但在筛管分子中例外, 它分化完成后, 细胞器消失。分化程度较高的是终极分化 (terminal differentiation), 这类细胞存在不可逆分化。近几年研究的植物编程化细胞死亡 (programmed cell death, PCD), 如导管分子、糊粉层细胞及根冠细胞等等,

收稿日期: 2000-06-19; 修回日期: 2000-11-09

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(300011); 浙江省教育厅资助项目(981178)

作者简介: 黄坚钦(1964—), 男, 浙江乐清人, 副教授, 在职博士生, 从事植物学研究。

也是一种终极分化。

脱分化并不是分化的简单逆过程。近几十年来，随着植物组织细胞培养工作的蓬勃发展，有关的学者们，特别是英国的学者对外植体脱分化时形成愈伤组织过程中的超微结构变化做了许多工作，发现其主要的变化发生于细胞质。他们看到当静止细胞分化过渡到细胞分裂时，细胞质生长很快，细胞质中多聚核糖体数量明显增加，线粒体增加，高尔基体和内质网也不断增加^[4-5]，并不断产生囊泡。在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 叶片外植体细胞的脱分化中，原质体是通过叶绿体出芽产生的，原有的叶绿体变成造粉体，并在脱分化分裂之前在液泡中首先出现一种蛋白质^[4-5]。当水稻 (*Oryza sativa*) 等植物的愈伤组织分化根和芽时，细胞中的质体、线粒体和核糖核蛋白体的数量增多，而贮藏的淀粉和脂类物质消失。在番茄 (*Lycopersicum esculentum*) 子叶外植体细胞的脱分化及其愈伤组织再分化过程中，不仅观察到类似以上的各种超微结构的变化，还观察到细胞核膜与质体的连络现象。在藓类中曾发现脱分化时叶绿体出芽生殖由叶绿体变为原质体，在细胞核中观察到核仁增大，核仁液泡增多，颗粒区扩大。随着核区胞质向周围辐射出多条细胞质丝或细胞质桥，细胞核移到桥中央，这决定了以后细胞分裂的方向。一般认为，植物细胞在离体培养条件下脱分化后的细胞分裂有多种形式，头几次分裂主要是无丝分裂。胡萝卜 (*Daucus carota*) 细胞在进行脱分化分裂时，全部以无丝分裂方式进行^[6]，小麦 (*Triticum aestivum*) 花粉细胞在进行脱分化分裂时也存在大量的劈裂式和碎裂式无丝分裂。所有这些观察都说明了细胞内 RNA 和蛋白质合成水平增高及细胞整个代谢水平的增高。许多研究者曾企图找出细胞脱分化所特有的亚显微水平上的形态特征，但未得到理想的结果^[7]。

2 分化与脱分化的机理研究

实验系统的建立为进一步研究细胞的分化与脱分化提供了一些保证。在这些系统中，激素对基因的调控受到人们的普遍关注。在组织培养中，人们常用生长素和细胞分裂素诱导已分化细胞脱分化。在实验中发现 2,4-D 和 6-BA 利于发生不定芽，NAA 利于发生不定根，ZT 利于发生花芽，ABA 利于发根。雷竹 (*Phyllostachys praecox*) 地下鞭侧芽发育为笋芽或鞭芽时，细胞分裂素起到重要作用，而生长素与芽的萌动有关^[8]。现在普遍认为生长素影响壁的强度，促进细胞伸长和分裂，细胞分裂素则促进细胞分裂并影响分化方向，二者的配比是影响脱分化和分化的关键^[2]。

生长素的研究比较深入些。生长素是由幼叶产生，极性向下运输。它与细胞分裂素控制植物生长和发育的许多过程，如根和茎的发育和生长、器官的衰老、维管束组织的形成和分化发育，以及植物的向地和向光反应等。刘春明等^[9]观察了生长素极性运输对胚胎发育的影响。结果表明当用生长素极性抑制剂阻断球形胚的生长素运输时，胚胎失去了形成 2 个独立子叶的能力，而产生一个完全融合的筒状子叶。对早期心形胚之后的胚胎进行处理则没有任何影响。说明球形胚内部存在生长素的极性运输，控制子叶的形态发生。这一结论在一个影响生长素运输的拟南芥突变体得到了进一步的证实。

生长素对形成层活动的恢复及其后的分化中起到十分重要的作用，Sundberg 等有关 *Pinus sylvestris* 茎干中内源 IAA 浓度变化的研究指出，形成层开始恢复活动时，形成层区域的内源 IAA 水平开始稳定升高，整个 IAA 水平的变化与形成层的活动变化一致^[10]。切去受伤节间上部的茎叶或下部的根，再施加生长素或细胞分裂素后发现，高浓度生长素诱导受伤节间分化木质部，低浓度生长素诱导分化韧皮部^[11]。把 *Agrobacterium tumefaciens* 生长素生物合成基因导入矮牵牛植物导致导管数量增加而使管腔大小减少^[12]；相反，把 *Pseudomonas savastanoi* 的生长素合成酶基因转到内源生长素不活动的烟草植物中导致导管数量下降而导管腔增大^[13]。

利用百叶草 (*Zinnia elegans*) 叶肉悬浮培养系统，以了解植物生长素如何调节细胞分化，取得了有意义的进展^[14]。在这个系统中，在外源生长素和细胞分裂素作用下，大约有 65% 叶肉游离细胞直接同步分化成管状分子。这些事实，似乎无可争辩地表明，植物生长素确实控制着木质细胞的产生。

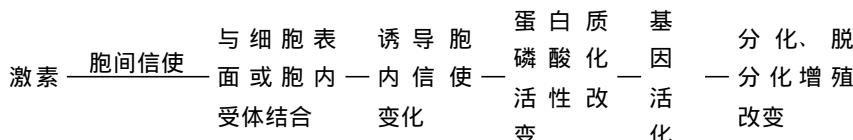
细胞分裂素也是参与了导管分子的控制^[14-15]。一般植物内源细胞分裂素较高掩盖了导管分化对它的需求。细胞分裂素在向顶运输促进导管分化预示它增强了形成层和其衍生长物对生长素的敏感性，从而导致导管的分化^[17]。

细胞分裂素在离体培养条件下, 对于培养细胞的分裂、生长、分化和形态发生等均有重要作用, 但对细胞分裂素的研究远还不够^[1]。

嫁接系统被认为是研究维管组织分化的理想系统之一。生长调节剂、IAA 和细胞分裂素促进砧木和接穗间维管桥形成^[11]。在离体茎段嫁接系统中, 外源激素是嫁接成功的必要条件, 生长素和细胞分裂素可影响砧木和接穗间维管束桥形成时间和数目, 其中生长素的影响较细胞分裂素显著^[18]。作者在研究山核桃 (*Carya cathayensis*) 嫁接时, 发现外源激素在嫁接成活中起到重要作用; 经田间试验分析, 生长素具显著差异。这进一步说明生长素在嫁接愈伤组织形成中起到重要作用。

用生长素或细胞分裂素处理植物的器官培养细胞进行差异筛选, 已克隆了一些生长素或细胞分裂素诱导表达的基因 (Key, 1989; Crowell and Amasino, 1994)^[9]。其中有的基因对激素的刺激反应极快, 生长素诱导的原初基因在 10 min 内就可以检测到 mRNA 浓度的增加, 如 GH3, SAUR 和 pIAA4/5。有的是生长素专一诱导的, 如 GH3, SAUR, pIAA4/5, pIAA6, JCW1 等, 但有的对其他激素或因子也有反应, 如 GH2/4 或 PLS216 等基因。

大部分生长素或细胞分裂素诱导基因的功能尚不清楚。以 SAUR 和 GUS 基因为例, 将它们编码的氨基酸序列输入基因库时, 并未发现任何相似的或同源性的蛋白。最初认为激素是通过与基因结合来实现基因的表达的。但根据细胞信使学说 (Rasmussen *et al.*, 1984; Berridge *et al.*, 1986)^[7], 激素并不直接作用于核基因, 两者之间还有一系列级联反应, 可简单表达为:



这方面, 在动物中已得到大量证据与普遍承认。在植物方面, 比较公认的胞内信使系统是 Ca 和 CaM (钙调素)。因此, Hepler 在 15 届国际植物学大会上提出“植物生长物质可能引起 Ca 内流, 从而激活依赖 CaM 的激酶, 后者使某些蛋白质磷酸化, 从而开始一个新的发展时期”。Ca 和 CaM 参与激素效应方面, 也有不少实验证据。

关于植物细胞中初始的激素接受者是什么, 国际上主要有 2 种见解^[7]。第一种意见认为是一种可溶性蛋白。Roy 等 (1977) 在椰子 (*Cocos nucifera*) 胚乳的核液中分离出一种能与生长素结合的分子量为 94 000 的可溶性蛋白, 其他研究者在大豆 (*Glycine max*)、小扁豆 (*Lens culinaris*) 和烟草愈伤组织细胞中也都发现存在可溶性的生长素和蛋白质复合体。第二种意见认为是一种膜蛋白, Ray 和 Dohrman 曾发现玉米 (*Zea mays*) 胚芽鞘中生长素的接受者定位在内质网上。Ray 和 Dohrman 则报道是定位在核仁上, 也有人报道是定位在液泡膜上。崔克明等^[9]利用酶离方法及 IAA 蛋白荧光探针对构树 (*Broussonetia papyrifera*) 形成层细胞进行了激素定位, 认为结合蛋白主要分布在质膜、核膜及核质中。

实验已初步证明生长素处理植物细胞主要是作用于转录系统^[7]。已经证明用生长素处理植物细胞能够刺激 mRNA 和 rRNA 的合成以及某些核蛋白的磷酸化。这种核蛋白的磷酸化的增高可能是新合成的 RNA 在输出细胞核前所必需的包装过程。转录水平的提高的原因可能有 2 个方面: 一是细胞原有的 mRNA 的合成在量上的增加, 即生长效应; 另一种是通过去抑制作用活化了某些基因, 使之开始转录合成新的 mRNA, 即分化效应。

对于细胞分裂素的作用机理研究得更少。在一些植物上曾发现细胞分裂素并入 tRNA 的比例是很低的, 并且是非常特异性的。近年来发现细胞分裂素可增加细胞中多聚核糖体的数目。在藓类上曾报道, 细胞分裂素处理切口处细胞可引起特异性的蛋白质合成。用¹⁴C 标记氨基酸进行的试验证明, 激动素处理引起细胞中蛋白质合成水平明显增高。因此, 一般认为细胞分裂素主要是作用于翻译系统。

参考文献:

- [1] 敖光明, 刘瑞凝. 细胞生物学 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1987. 296—316
- [2] 许萍, 张丕方. 关于植物细胞脱分化的研究概况 [J]. 植物学通报, 1996, 13 (1): 20—24.
- [3] 李喜文, 安利佳, 黄白渠, 等. 细叶黄芪肉原生质体早期发育几种细胞器的变化 [J]. 实验生物学报, 27 (1): 11—23.

- [4] 朱至清, 孙敬三, 李守全. 烟草离体叶肉细胞中原质体的发生[J]. 植物学报, 1982, 24(3): 199—203.
- [5] 朱至清, 孙敬三, 李守全, 等. 烟草叶外植体脱分化细胞中的蛋白体[J]. 植物学报, 1984, 26(2): 126—129.
- [6] 陆文梁. 离体培养中胡萝卜细胞脱分化状态下无丝分裂的活体连续观察[J]. 中国科学, 1983, (4): 321—326.
- [7] 国家自然科学基金委员会生命科学部. 植物科学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994. 72—81.
- [8] 黄坚钦, 章滨森, 刘力, 等. 雷竹地下鞭侧芽内源激素的动态变化研究[J]. 林业科学, 2001(待发表).
- [9] 许智宏, 刘春明. 植物发育的分子机理[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 58—144.
- [10] 崔克明, 汪向彬, 段俊华, 等. 构树形成层活动中内源IAA的变化及其结合蛋白的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(10): 1082—1085.
- [11] 卢善发, 邵小明, 杨世杰. 嫁接植株形成过程中接合部组织学和生长素含量的变化[J]. 植物学通报, 1995, 12(4): 38—41.
- [12] Klee H J, Horsch R B, Hinchee M A, et al. The effects of overproduction of two *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA auxin biosynthetic gene products in transgenic petunia plants[J]. *Genes Dev*, 1987, (1): 86—96.
- [13] Romano C P, Hein M B, Klee H J. Inactivation of auxin in tobacco transformed with the indoleacetic acid-lysine synthetase gene of *Pseudomonas savastanoi*[J]. *Genes Dev*, 1991, (5): 438—446.
- [14] Fukuda H. Tracheary element formation as a model system of cell differentiation [J]. *Int Rev Cytol*, 1992, 136: 289—332.
- [15] Aloni R. The induction of vascular tissues by auxin and cytokinin[A]. Davies P J. *In plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology* [C]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. 531—546.
- [16] Baum S F, Aloni R, Peterson C A. The role of cytokinin in vessel regeneration in wounded *Coleus internodes*[J]. *Ann Bot*, 1991, 67: 543—548.
- [17] 周俊彦, 郭扶兴. 细胞分裂素物质在植物体细胞胚发生中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(4): 247—253.
- [18] 卢善发, 唐定台, 宋经元, 等. 利用植物激素调控嫁接形成的初步研究[J]. 植物学报, 1996, 38(4): 307—311.

Difference and de-difference of vegetable cell

HUANG Jian-qin

(Department of Resources and Environment, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: The difference and de-difference of cell is a fundamental question in biology. The results of some studies show that the morphological and structural changes in vegetable cells cannot offer feasible feature. However, phyto-hormone makes function in regulation of difference and de-difference of vegetable cell, of which auxin and cytokinin are paid close attention to the effect.

Key words: difference, de-difference; structure in morphology; plant growth regulating substances; hormones; vegetable cell