

植物毛状根的培养及其化学进展

1. 植物毛状根的诱导形成与培养

周立刚¹ 王君健¹ 杨崇仁²⁺

(¹ 华中理工大学药物研究所 武汉 430074)

(² 中国科学院昆明植物研究所 昆明 650204)

摘要 本文综述了发根农杆菌诱导植物毛状根的方法及其分子机制。对毛状根的鉴定技术进行了介绍。诱导毛状根的植物主要集中在双子叶植物,对单子叶植物毛状根诱导的可能性进行了讨论。由于毛状根的激素自主性、稳定性和高产性,这一技术为植物有用成分的大量生产提供了新的途径。

关键词 发根农杆菌, Ri 质粒, 毛状根, 诱导, 培养

自 1907 年 Smith 和 Townsend 发现发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)能诱导植物形成毛状根(hairy root)之后, Riker 等(1930)再一次阐述了该现象。植物被发根农杆菌感染后在伤口处形成不定根,该不定根除菌后能迅速生长,并产生多个分枝,呈毛发状,植物的这种病害称为毛根病。植物毛状根的诱导和形成是一个自然发生的基因工程例子,为微生物学、生物化学、植物生理学以及分子生物学等领域提供了许多的知识和概念。80 年代以来,随着植物生物技术的发展,有关毛状根的研究进展十分迅速,除外源基因导入植物细胞的机制、植物激素的生理效应外,应用毛状根生物技术诱导植物次生代谢产物的形成与生物转化等均有长足的进展,这一生物技术为植物有用成分的大量生产提供了新的途径,日益引起人们的注视。本文对毛状根的诱导和培养及其形成机制作一综述介绍。

1 发根农杆菌

农杆菌属(*Agrobacterium*)细菌有 3 种,分别为发根农杆菌、根癌农杆菌(*A. tumefaciens*)和葡萄农杆菌(*A. vitis*),均为革兰氏阴性菌。发根农杆菌中存在着能诱发植物产生发根的质粒,称为致根质粒(root-inducing plasmid)或 Ri 质粒。根癌农杆菌中存在着能诱发植物产生冠瘿瘤的质粒,称为致瘤质粒(tumor-inducing plasmid)或 Ti 质粒。葡萄农杆菌中的质粒类型目前尚不清楚。Ri 质粒和 Ti 质粒均为大型质粒,大小为 200~800kb,这两类质粒的差异是 T-DNA 区上植物激素基因的不同。

Ri 质粒上存在着冠瘿碱(opine)合成酶基因,该基因位于质粒 T-DNA 的 TR 区。迄今,从毛

收稿日期:1997 年 12 月 29 日

* 通讯联系人 Author to whom correspondence should be addressed

状根中已检测到的冠瘿碱达 20 多种^[1],冠瘿碱的类型主要由所采用菌株的致病质粒来决定。由于农杆菌仅能利用本身质粒所控制合成的冠瘿碱,因而冠瘿碱的分类构成了质粒分类的基础,冠瘿碱的结构和生源可分为五类,相应地可把 Ri 质粒分为五种类型(见表 1)。Ri 质粒主要含有复制起始区(或称 ori 区),转移区(或称 T-DNA 区)和致病区(或称 vir 区),其中,T DNA 区和 vir 区为发根的诱导所必需。发根农杆菌经过驯化培养,已选育出一些适于诱导植物毛状根的菌株,如 R1000、R1500、LBA9402、A4、MAFF03-1724、15834、1855、8196、R1601、43057 等。

表 1 Ri 质粒类型及其所产生的冠瘿碱

质粒类型	冠瘿碱
章鱼碱型	章鱼碱(octopine),homooctopinine acid,lysopine,canavanooctopine,octopinic acid,histopine
胭脂碱型	胭脂碱(nopaline),leucinopine,nopalnic acid,pyronopaline,succinamopine,
农杆菌型	甘露碱(mannopine),甘露碱酸(mannopinic acid),农杆菌碱(agropine),农杆菌碱酸(agropinic acid)
农杆菌素型	农杆菌素 A(agrocinopine A),农杆菌素 B(agrocinopine B)
黄瓜碱型	黄瓜碱(cucumopine),mikimopine

2 毛状根的诱导

2.1 诱导毛状根的方法^[8]

一般有叶圆片法、茎杆(或叶柄)涂抹法,原生质体共培养法等。茎杆涂抹整株感染植物(通常感染无菌苗),是最简便的获得毛状根的方法,而且实验周期短。用于 Ri 质粒转化的外植体几乎可以是植株的任何部分如叶片、茎段、叶柄、胚轴、块根、块茎以及由任何外植体来源的原生质体。酚类物质如丁香酚、乙酰丁香酚可以使菌的感染力加强。感染时,先在外植体或植株上造成伤口,然后在受伤部位接种发根农杆菌,培养 2~4 周后,接种部位即有丛生毛状根的出现。原生质体共培养法则是通过无壁或处于壁再生阶段的原生质体对农杆菌敏感而实现转化,该法须借助于转化细胞的激素自主型生长或 T-DNA 上的抗菌素标记基因筛选出细胞,转化细胞分裂形成愈伤组织,这种愈伤组织在无激素培养基上培养即可产生毛状根。将毛状根剪下经过除菌培养后,即可在不添加任何激素的培养基上培养。常用的抗菌素有羧苄青霉素(carbencillin)和头孢霉素(cefotaxime)等,浓度为 100~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。离体培养的毛状根可以在很长时间内保持其快速生长和合成次生代谢物的能力。

2.2 毛状根诱导的分子机制^[3]

发根农杆菌附着到植物细胞后,只留在细胞间隙中,T-DNA 首先在细菌细胞中被加工切下,然后转入植物细胞,并非整个 Ri 质粒都进入植物细胞,因此 T-DNA 转移的全过程包括农杆菌附着植物细胞壁、T-DNA 在农杆菌中被加工剪切、越过细菌的细胞膜和细胞壁、穿过植物的细胞壁和细胞膜,最后越过核膜整合进植物基因组,这是一个十分复杂的生理生化过程。

农杆菌型 Ri 质粒 T-DNA 分为 TL-DNA 和 TR-DNA 两个区。TL-DNA 大小在 19~20kb 之间,存在于与根的形态发生有关的 4 个位点(rolA,B,C,D),且以 rol 位点最为重要。TR-DNA 上有两个非常重要的基因是生长素合成基因 tms1 和 tms2,它们指导 IAA 的合成,单独的 TL-DNA 可以转化植物,但被转化的细胞表现出对生长素的依赖性。TL-DNA 和 TR-DNA 共同作用时,转化作用大大高于两者的单独作用,表明它们可以协同作用。

黄瓜碱型 Ri 质粒的 T-DNA 是连续的,但有与农杆菌型 Ri 质粒 TL-DNA 高度同源的片

段,其转化机制与 TL-DNA 相似。

vir 区位于 ori 区和 T-DNA 区之间,大小为 30kb,分为 virA, B, C, D, E, G, H 操作子,共 24 个基因,起共调控作用,它们虽不发生转移但与 T-DNA 的加工和转移有关。当发根农杆菌感染植物时,被损伤的植物细胞合成创伤信号分子(或称创伤诱导分子),这些创伤信号分子为一类可溶性小分子酚类化合物,如乙酰丁香酮(AS)和羟基乙酰丁香酮(HO-AS),它们在 virA 基因产物(为一种结合在膜上的受体蛋白)介导下,使 vir 区的其它基因活化,促使 T-DNA 复制和 T-链蛋白复合体的形成,T-链蛋白复合体通过细菌细胞膜的转运,最后进入植物细胞核,将 T-DNA 整合进植物基因组。vir 区基因的诱导与活化除创伤信号分子外,已知的其它条件还有:(1)合适的 pH 值;(2)温度在 20~30℃ 之间,virD 和 virG 的活化需低于 28℃;(3)培养基中不应含有酵母提取物;(4)培养基中要求高含量的碳水化合物,如高浓度的肌醇可促进 vir 基因的表达。当缺少酚类化合物时,这种糖效应更加明显。

R1 质粒的 T-DNA 转移并插入植物核基因组后,编码冠瘿碱合成的基因和编码生长素合成的基因在被转化的细胞中能分别合成冠瘿碱和生长素,高浓度的生长素能促进细胞的分化形成毛状根。

2.3 高等植物毛状根的诱导

迄今为止,用发根农杆菌诱时形成的植物毛状根至少涉及到 31 科 100 余种双子叶植物,其中茄科植物由于实验材料容易获得,诱导成功率高,研究的种类较多,而单子叶植物诱导毛状根成功的例子却很少^[4,5]。表 2 列出已建立的毛状根培养系。

表 2 已建立的植物毛状根培养系

植物科名	植物种名	参考文献
番杏科 Aizoaceae	龙须海棠 <i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	6
夹竹桃科 Apocynaceae	水甘草 <i>Amsora elliptica</i>	7
	长春花 <i>Catharanthus roseus</i>	8
	<i>Catharanthus trichophyllus</i>	9
	止泻木 <i>Holarrhena floribunda</i>	10
	萝芙木 <i>Bauhinia verticillata</i>	11
	印度萝芙木 <i>Bauhinia serpentina</i>	12
五加科 Araliaceae	人参 <i>Panax ginseng</i>	13
紫草科 Boraginaceae	紫草 <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	14
桔梗科 Campanulaceae	半边莲 <i>Lobelia inflata</i>	15
	山梗菜 <i>Lobelia sessilifolia</i>	16
	桔梗 <i>Platycodon grandiflorum</i>	17
藜科 Chenopodiaceae	甜菜 <i>Beta vulgaris</i>	18
鸭跖草科 Commelinaceae	露水草 <i>Cyanotis arachnoides</i>	5
菊科 Compositae	豚草 <i>Ambrosia artemisiifolia</i>	19
	裂叶豚草 <i>Ambrosia trifida</i>	20
	蒿 <i>Artemisia absinthium</i>	21
	黄花蒿 <i>Artemisia annua</i>	22
	鬼针草 <i>Bidens sulphurea</i>	23
	红花 <i>Calthamus tectoris</i>	24
	<i>Chaenactis douglasii</i>	25
	两色金鸡菊 <i>Coleopsis tectoria</i>	26
	紫松果菊 <i>Echinacea purpurea</i>	27
	麻花头 <i>Serratula tectoria</i>	28
	甜叶菊 <i>Stevia rebaudiana</i>	29
	孔雀草 <i>Taraxacum patula</i>	30
旋花科 Convolvulaceae	番薯 <i>Ipomoea batatas</i>	31
	雄菜 <i>Ipomoea aquatica</i>	32
十字花科 Cruciferae	拟南芥属 <i>Arabidopsis thaliana</i>	33
	<i>Arabis arvensis</i>	34

续表 1

植物科名	植物种名	参考文献
	辣根 <i>Armoracia rusticana</i>	35
	芸苔属 <i>Brassica napus</i>	36
	甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	37
	意大利甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	38
	萝卜 <i>Raphanus sativus</i> cv. <i>Chungpiphongsim</i>	39
葫芦科 Cucurbitaceae	香瓜 <i>Cucumis melo</i>	40
	绞股蓝 <i>Gynostemma pentaphyllum</i>	41
	栝楼 <i>Trichosanthes kirilowii</i>	42
	日本栝楼 <i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i>	43
龙胆科 Gentianaceae	獐牙菜 <i>Swertia japonica</i>	44
牻牛儿苗科 Geraniaceae	老鹳草 <i>Geranium thaubergii</i>	45
唇形科 Labiatae	筋骨草 <i>Ajuga reptans</i> var. <i>atropurpurea</i>	46
	毛喉鞘蕊花 <i>Coleus forskohlii</i>	47
	丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i>	48
豆科 Leguminosae	黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i>	49
	膜荚黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i>	50
	<i>Cassia obtusifolia</i>	51
	大豆 <i>Glycine max</i>	52
	甘草 <i>Glycyrrhiza glabra</i>	53
	乌拉尔甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	54
	百脉根 <i>Lotus corniculatus</i>	55
	多叶羽扇豆 <i>Lupinus polyphyllus</i>	56
	紫苜蓿 <i>Medicago sativa</i> L.	57
	补骨脂 <i>Psoralea</i> spp.	
	苦马豆 <i>Swaensonia galegifolia</i>	59
	蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	60
亚麻科 Linaceae	亚麻 <i>Linum flatum</i>	61
胡麻科 Pedaliaceae	胡麻 <i>Sesamum indicum</i>	62
蓼科 Polygonaceae	金荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i>	63
	荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i>	64
报春花科 Primulaceae	琉璃繁缕 <i>Anagallis arvensis</i>	65
蔷薇科 Rosaceae	<i>Fragaria</i> sp.	66
	<i>Rosa</i> sp.	67
	<i>Rosa canina</i>	68
茜草科 Rubiaceae	茜草 <i>Rubia tinctorum</i>	69
杨柳科 Salicaceae	银白杨 <i>Populus alba</i> × <i>P. glandulosa</i>	70
	白柳 <i>Salix alba</i>	71
玄参科 Scrophulariaceae	金鱼草 <i>Antirrhinum majus</i>	65
	毛地黄 <i>Digitalis lanata</i>	72
苦木科 Simaroubaceae	臭春 <i>Ailanthus vilmoriniana</i>	73
茄科 Solanaceae	颠茄 <i>Atropa belladonna</i>	74
	<i>Brugmansia</i> sp.	75
	<i>Datura candida</i> hybrid	76
	<i>Datura candida</i> × <i>D. aurea</i>	77
	毛曼陀罗 <i>Datura innoxia</i>	78
	洋金花 <i>Datura metel</i>	79
	<i>Datura quercifolia</i>	80
	曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	81
	<i>Duboisia leichhardtii</i>	82
	<i>Duboisia inyoportoides</i>	83
	<i>Hyoscyamus albus</i>	84
	<i>Hyoscyamus muticus</i>	85
	天仙子 <i>Hyoscyamus niger</i>	84
	番茄 <i>Lycopersicon esculentum</i>	86

续表 2

植物科名	植物种名	参考文献
	<i>Nicotiana africana</i>	87
	<i>Nicotiana umbratica</i>	87
	空心烟草 <i>Nicotiana cavicola</i>	87
	光烟草 <i>Nicotiana glauca</i>	88
	<i>Nicotiana hesperis</i>	87
	<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>	89
	黄花烟草 <i>Nicotiana rustica</i>	87
	烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	87
	<i>Nicotiana velutina</i>	87
	日本赛苳岩 <i>Scopolia japonica</i>	90
	赛苳岩 <i>Scopolia lurida</i>	91
	<i>Scopolia parviflora</i>	92
	龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	93
	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	94
伞形科 Umbelliferae	三岛柴胡 <i>Bupleurum falcatum</i>	95
	野胡萝卜 <i>Daucus carota</i>	96
	胡萝卜 <i>Daucus carota</i> var. <i>sativa</i>	97
败酱草科 Valerianaceae	繸草 <i>Aleriana officinalis</i> var. <i>sambucifolia</i>	98
马鞭草科 Verbenaceae	<i>Lippu dulcis</i>	99
葡萄科 Vitaceae	葡萄 <i>Vitis</i> sp.	100
莨菪科 Zygophyllaceae	骆驼蓬 <i>Peganum harmala</i>	101

双子叶植物细胞在受到发根农杆菌感染后,代谢十分活跃,农杆菌可促进酚类化合物的合成,经莽草酸生物合成途径产生 AS 和 HO-AS,高浓度的 AS 或 HO-AS 又可使农杆菌的 *vir* 基因活化和表达。

Potrykus 认为^[102],农杆菌感染植物后,只有从那些具有很强的再生能力和整合转化能力的感受态细胞中才能得到转化根或转化植株,而只有那些具有明显创伤反应的植物才能诱导伤口邻近的细胞形成大量的感受态细胞。单子叶植物一般没有明显的创伤反应,因而不能由创伤反应诱导伤口邻近的细胞脱分化形成大量的感受态细胞,很难产生创伤信号分子,有些单子叶植物(如玉米)细胞在受到农杆菌感染后甚至产生 *vir* 基因诱导的抑制剂,这可能是单子叶植物难于用农杆菌诱导出毛状根的原因。

最近,我们报道从鸭跖草科植物露水草(*Cyanotis arachnoidea*)诱导形成毛状根,并从培养的毛状根中分离到 β -蜕皮激素^[5],这是我们所知的迄今单子叶植物中毛状根诱导成功的唯一例子。

3 毛状根的鉴定

3.1 形态学上的鉴定

被诱导出的毛状根和正常根在形态上存在着很大的差异,毛状根在无激素的培养基上生长迅速,并具有多根毛、多分枝、无向地性等特点。毛状根在液体培养基中生长速度,往往大于相应的细胞培养物或未转化的根培养物,这些表型为判定毛状根提供了简单而又方便的依据。

3.2 冠瘿碱的检测

冠瘿碱合成酶基因在发根农杆菌中并不能表达,而只能在真核生物中表达,在转化细胞中特异合成冠瘿碱,冠瘿碱是发根农杆菌的一种特殊营养底物,因此冠瘿碱的有无可作为转化指

标之一。目前,常常用高压纸电泳法进行冠瘿碱的检测,用硝酸银试剂或磷钼酸试剂染色。冠瘿碱的检测仅可作为“正检测”,即有冠瘿碱存在,表明根已被转化,反之则不一定,这是因为 TL-DNA 经常是全长转移,而 TR-DNA 的转移则可在较大范围内(5~20kb)变动,因此并不是在所有的情况下毛状根都含有冠瘿碱,因为编码冠瘿碱合成的基因正位于 TR-DNA 上。另外,冠瘿碱基因表达不稳定,会随时间的变化而变化,尤其是农杆菌型菌株诱导的毛状根,冠瘿碱基因的表达常常受到抑制^[103]。

3.3 DNA 分子杂交

目前,DNA 分子杂交已广泛地用于植物分子生物学研究。用 Southern 分子杂交法检测 T-DNA 能有力地证明培养的组织是否被转化。因此,分子杂交被认为是最直接和最确定的方法。

4 毛状根的特性

4.1 激素自主性

插入到植物细胞核基因组内的 Ri 质粒 T-DNA,其 TR-DNA 具有编码激素合成的基因,激素基因的表达打破了植物细胞生长代谢平衡,并导致细胞分化形成毛状根,毛状根在无激素的培养基上生长,这种激素的自主性也免去了外源激素对毛状根生长和代谢的影响。

4.2 稳定性

毛状根细胞中染色体数和次生代谢产物的合成都相对较稳定。非器官化的愈伤组织细胞常常出现染色体异常,形成大量的多倍体和非整倍体,次生代谢产物的合成不稳定且含量低。毛状根的这种遗传稳定性及其次生代谢产物的合成与母体植株的相似性,为进一步进行生理生化研究奠定了基础。

4.3 高产性

大多数植物次生代谢产物的形成和积累与细胞的分化有关。毛状根不仅生长速度快,而且次生代谢产物含量高,如未分化的长春花细胞中,其生物碱含量非常低,而毛状根中生物碱含量却很高^[104]。正是由于以上毛状根的特性,为其产业化大量生产提供了基础。

5 结语

Ri 质粒不仅可以作为基因工程的载体,而且还可以用于植物毛状根的诱导。目前,毛状根的诱导和培养还处于发展阶段,诱导出毛状根的植物主要集中在双子叶植物,随着人们对毛状根诱导分子机制的深入了解,毛状根的诱导尤其是单子叶植物毛状根的诱导将变得更为容易。由于毛状根的激素自主性、稳定性和高产性,为有用成分的大量生产提供了新的途径。

参 考 文 献

- 1 Saito K *et al.* *J. Nat. Prod.*, 1992, 55: 149
- 2 Hamill DJ *et al.* *Bio/Technology*, 1987, 5: 800
- 3 Zambryski PC, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1992, 43: 465
- 4 陶余敏,唐锡华. 植物生理学通讯, 1992, 28: 402

- 5 周立刚等. 云南植物研究, 1996, 18: 336
- 6 Andolfatto P *et al.* *Physiologia plantarum*, 1994, 90: 708
- 7 Sauerwein M *et al.* *Phytochemistry*, 1991, 30: 1153
- 8 Toivonen L *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1992, 11: 395
- 9 Davioud E *et al.* *Phytochemistry*, 1989, 28: 1383
- 10 Belalia L *et al.* *Bull. Soc. R. Bot. Belg.*, 1989, 122: 98
- 11 孙敏等. 生物工程学报, 1993, 9: 287
- 12 Benjamin BD *et al.* *Phytochemistry*, 1994, 35: 381
- 13 Ko KS *et al.* *Chem. Pharm. Bull.*, 1989, 37: 245
- 14 Shimomura K *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1991, 10: 282
- 15 Ishimaru K *et al.* *Phytochemistry*, 1992, 31: 1577
- 16 Ishimaru K *et al.* *Phytochemistry*, 1991, 35: 365
- 17 Kim BR *et al.* *Korean J. Bot.*, 1990, 33: 183
- 18 Taya M *et al.* *J. Ferment. Bioeng.*, 1994, 77: 215
- 19 Gomez-barrios ML *et al.* *Phytochemistry*, 1992, 31: 2703
- 20 Lu T *et al.* *Phytochemistry*, 1993, 33: 113
- 21 Kennedy AI *et al.* *Phytochemistry*, 1993, 32: 1449
- 22 秦明波等. 植物学报, 1994, 36: 165
- 23 Flores HE *et al.* *Plant Physiol. Biochem.*, 1994, : 511
- 24 Michaels PJ and Flores HE, *Plant Physiol.*, 1993, 102: 48
- 25 Constabel CP and Towers GHN, *J. Plant Physiol.*, 1988, 133: 67
- 26 Horz KH and Reichling J. *Phytochemistry*, 1993, 33: 349
- 27 Frypsteen M *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1991, 10: 85
- 28 Delbecque JP *et al.* *Eur. J. Entomol.*, 1995, 92: 301
- 29 Yamazaki T *et al.* *J. Nat. Prod.*, 1991, 54: 986
- 30 Kyo M *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1990, 9: 393
- 31 Otani M *et al.* *Plant Science*, 1993, 94: 151
- 32 Taya M *et al.* *Plant Tissue Culture Letters*, 1989, 6: 159
- 33 Mugnier J. *Plant Cell Rep.*, 1988, 7: 9
- 31 Noda T *et al.* *Plant Cell Rep.*, 1987, 6: 283
- 35 Saitou T *et al.* *Plant Sci.*, 1992, 86: 161
- 36 Døngaard O and Rasmussen O. *Plant Mol. Biol.*, 1991, 17: 1
- 37 Hamada M *et al.* *Plant Tissue Culture*, 1986, 6: 130
- 38 Hosoki T *et al.* *J. JPN Soc. Hort. Sci.*, 1991, 60: 71
- 39 Ahn JC *et al.* *Korea J. Bot.*, 1992, 35: 37
- 40 Adachi H *et al.* *JPN J. Appl. Entomol.*, 1992, 36: 225
- 41 费厚满等. 植物学报, 1993, 35: 626
- 42 邱德有. 植物学报, 1996, 38: 439
- 43 Takeda T *et al.* *Chem. Pharma. Bull.*, 1994, 42: 730
- 44 Ishimaru K *et al.* *Phytochemistry*, 1990, 29: 1563
- 45 Ishimaru K and Shimomura K. *Phytochemistry*, 1991, 30: 825
- 46 Nagakari M *et al.* *Phytochemistry*, 1994, 36: 907
- 47 周立刚等. 云南植物研究, 1996, 18: 445

- 48 Hu ZB and Alfermann AW. *Phytochemistry*, 1993, **32**:699
- 49 Iisa T et al. *Plant Tissue Culture Letters*, 1989, **6**:134
- 50 Hirotsani M et al. *Phytochemistry*, 1994, **36**:665
- 51 Asamizu T et al. *Yakugaku Zasshi*, 1988, **108**:1215
- 52 Savka MA et al. *Phytopathology*, 1990, **80**:503
- 53 Toivonen L and Rosenquist H. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1995, **41**:249
- 54 Saito K et al. *Plant Cell Rep.*, 1990, **8**:718
- 55 Robbins MP et al. *Plant Cell Rep.*, 1991, **10**:59
- 56 Berlin J et al. *Z. Naturforsch Sect C. Biosci.*, 1991, **46**:735
- 57 Horikawa Y and Iida M. *Res. Bull. Obihiro University Nat. Sci.*, 1993, **18**:147
- 58 Nguyen C et al. *Plant Cell Rep.*, 1992, **11**:424
- 59 Ermayanti TM et al. *Phytochemistry*, 1994, **36**:313
- 60 Schiemann J and Eisenreich G. *Biochem. Physiol. Pflanz.*, 1989, **185**:135
- 61 Oostdam A et al. *Plant Cell Rep.*, 1993, **12**:474
- 62 Ogasawara T et al. *Phytochemistry*, 1993, **33**:1095
- 63 张荫麟等. *植物学报*, 1992, **34**:603
- 64 Trotin F et al. *Phytochemistry*, 1993, **32**:929
- 65 Mugnier J. *Plant Cell Rep.*, 1988, **7**:9
- 66 Kyo M and Shirai H. *Kagawa Daigaku Nogakubu Gakujutsu*, 1990, **42**:205
- 67 Ohta K. *Ann. Phytopathol.*, 1986, **52**:413
- 68 Van Der Mark F et al. *J. Genet. Breed.*, 1990, **44**:263
- 69 Sato K et al. *Phytochemistry*, 1991, **30**:1507
- 70 Chung KH et al. *J. Korean For. Soc.*, 1989, **78**:372
- 71 Hauth S and Beiderbeck R. *Silvae Genet.*, 1992, **41**:46
- 72 Yoshimatsu K et al. *J. Nat. Prod.*, 1990, **53**:1498
- 73 Belalia L et al. *Bull. Soc. R. Bot. Belg.*, 1989, **122**:98
- 74 Ondrej M and Protiva J. *Biol. Plant*, 1987, **29**:241
- 75 Robins RJ et al. *Planta*, 1994, **194**:86
- 76 Christen P et al. *Plant Cell Rep.*, 1990, **9**:101
- 77 Robins RJ et al. *Planta*, 1990, **181**:414
- 78 Ohkawa H et al. *J. Plant Physiol.*, 1989, **134**:633
- 79 Knopp E et al. *Plant Cell Rep.*, 1988, **7**:590
- 80 Dupraz JM et al. *Planta Medica*, 1994, **60**:158
- 81 Payne J et al. *Planta Medica*, 1987, **53**:474
- 82 Mano Y et al. *Plant Sci.*, 1989, **59**:191
- 83 Deno H et al. *J. Plant Physiol.*, 1987, **131**:315
- 84 Shimomura K et al. *Phytochemistry*, 1991, **30**:2275
- 85 Biondi S et al. *Plant Physiol. Biochem.*, 1993, **31**:51
- 86 Ashikawa I et al. *Agric. Biol. Chem.*, 1991, **55**:2025
- 87 Parr AJ and Hamill JD. *Phytochemistry*, 1987, **26**:3241
- 88 Fecker LF et al. *Biotechnol. Lett.*, 1992, **14**:1035
- 89 Tepfer D et al. *Plant Mol. Biol.*, 1989, **13**:295
- 90 Mano Y et al. *Agric. Biol. Chem.*, 1996, **50**:2722
- 91 张荫麟. *植物学报*, 1988, **30**:368
- 92 Ahn JC et al. *Korean J. Bot.*, 1993, **36**:225

- 93 Macek T *et al. Biotechnology Letters*, 1994, 16: 621
94 Hanisch Ten Cate CH *et al. Plant Sci.*, 1987, 49: 217
95 Ahn JC *et al. Korean J. Bot.*, 1993, 36: 43
96 Kato R *et al. Plant Cell Physiol.*, 1989, 30: 605
97 Hwang B *et al. Korean J. Bot.*, 1986, 29: 275
98 Granicher F *et al. Plant Cell Rep.*, 1992, 11: 339
99 Sauerwein M *et al. Plant Cell Rep.*, 1991, 9: 579
100 Hemstad PR and Reisch BI. *J. Plant Physiol.*, 1985, 120: 9
101 Berlin J *et al. Phytochemistry*, 1993, 33: 593
102 Potrykus I. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1991, 42: 205
103 Kamada H *et al. Plant Cell Reports*, 1986, 5: 239
104 Toivonon L *et al. Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1989, 18: 79

PROGRESS ON PLANT HAIRY ROOT CULTURE AND ITS CHEMISTRY

1. INDUCTION AND CULTURE OF PLANT HAIRY ROOTS

Zhou Ligang¹, Wang Junjian¹, Yang Chongren²

(¹ Institute of Materia Medica, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

(² Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

Abstract The method of hairy root induction of plants as well as their molecular biology are reviewed. The techniques on plant hairy root characterization are also described. Plant species for hairy root induction mainly belong to dicotyledons. The hairy root induction possibilities on monocotyledonous plants are discussed. As hairy roots grow rapidly and stably without addition of any exogenous phytohormones, this makes hairy root cultures subject to considerations as mass production of useful plant biochemicals.

Key words *Agrobacterium rhizogenes*, Ri plasmid, hairy root, induction, culture

《生物化学与生物物理进展》

《生物化学与生物物理进展》主要报道生物化学、分子生物学、生物物理学及神经科学等学科的国内外最新进展。设有综述与专论、研究报告、技术与方法、研究快报、研究简报、经验交流、学术争鸣、医学生化及科技消息等栏目。内容丰富,新颖实用。获1996年全国优秀科技期刊一等奖。

欢迎从事上述学科研究的科研人员、大专院校师生及医药卫生、农林牧渔、体育等相关领域的科技工作者订阅。

本刊为国内外公开发行的正式期刊,邮发代号:2-816,全国邮局均可订阅,单价为6.80元。

编辑部地址:北京市朝阳区大屯路15号中国科学院生物物理研究所内,邮政编码:100101;电话:(010)64888459