

植物次级代谢物细胞工程研究的新进展

——第六届国际植物组织和细胞培养会议评述

郑光植 (中国科学院昆明植物研究所)

作者曾出席了1986年8月3—8日在美国明尼苏达大学召开的第六届国际植物组织和细胞培养会议。到会代表来自80多个国家多达1252人,比上届(来自46个国家,663人)增加了近一倍。共提出824篇论文,比上届(420篇)也增加了近一倍。分为30个专题进行大会和墙报交流。在开幕式上共有三位专家做了报告:一是瑞士的Potrykus,题为“直接基因转移:植物基因转移的一简单途径”,二是日本的Fujita,题为“从植物细胞来的次级代谢物:药学应用和商品生产的发展”,三是英国的Cocking,题为“二十一世纪的植物细胞生物学:植物细胞和组织培养的需要”。会上还有32个30分钟的演说。

会议可说是盛况空前,像这样大规模的单项专业会议,在美国从未有过,在世界上也是少有的。作者认为原因有三:(1)植物组织和细胞培养是植物生物工程的基础。例如植物基因工程总要在细胞或个体水平表达,人工“种子”总要进行同步胚培养,原生质体融合的细胞工程就更离不开细胞培养。而生物工程又是当今世界上最热门的一个领域。(2)植物组织和细胞培养涉及到许多学科。细胞生物学、植物生理、形态胚胎、植物遗传、植物生化、农学、林学、园艺及冰冻生物学等等的发展都要借助于植物组织和细胞培养技术。例如用培养的组织或细胞才能进行“种质”的长期冰冻贮藏的研究。(3)植物组织和细胞培养既利于理论研究更利于应用研究。例如对于植物代谢,用细胞培养进行研究有着如下的优点:①植物材料的纯化和均一性。从愈伤组织来的培养细胞是较纯的薄壁细胞的集合体,特别是同步单细胞培养可得相当均一的细胞。②实验材料的无菌性。可避免“代谢感染”,特别利于核酸及生长素代谢的研究。③吸收物质容易。高等植物代谢的研究落后于微生物,其重要原因之一就是吸收物质困难。培养细胞则易吸收,可以期望在阐明特定物质代谢的实验或示踪实验中得到明确的结果。另外,通过培养基内添加特定物质,可以保持长期供

应这种物质。④培养组织和细胞生长周期短。可以在短期内多次进行和重复实验。⑤实验材料易于获得。它不受季节、地区的限制,可随需要而大量获取材料。其它,如形态发生、细胞结构与功能、蛋白质与酶等等基础研究利用细胞培养技术也同样具有这些优点。至于应用研究,如次级产物的工业化生产,蔬菜、花朵、水果的工厂化生产及人工“种子”,农业和林业改良品种,快速繁殖,“种质”的长期保存等等方面的应用,就更不必说了。

这次大会反映出在基因工程、快速繁殖(包括人工“种子”)及次级代谢产物形成了大会的三大主流。不仅论文最多,进展也最快。其主要进展如下:

1. 基因工程方面 瑞士的Potrykus将DNA导入油菜原生质体。导入的基因在第二代就得到表达,并在连续各代中按孟德尔规律遗传。外来基因在六代以上的有性世代中连续保存并无选择压力。转移率可高达88%。在植物中外来基因的位置可通过等位染色体与标有放射性探针的中期染色体杂交而找到。DNA导入油菜细胞获得成功是由于采用了“电注射”技术。别的国家也较普遍的采用了这种技术,获得某些成功。这是一较大突破,其意义是重大的。

2. 快速繁殖方面 许多国家在某种程度上实现了蔬菜、花卉、农作物、林木及水果的工厂化生产或工厂化育苗。如芹菜、蒿巨、胡萝卜、花椰菜等制成了人工“种子”。回顾1982年在东京召开的第五届国际植物组织和细胞培养会议上还只有油棕一种植物的人工“种子”。这方面的进展是很大的,为植物组织和细胞培养在农业生产上的应用开辟了广阔的有效益的前景。

3. 育种和品种改良方面 禾谷类原生质体培养,世界各国都在努力攻关,多年来都未能突破。水稻原生质体培养成为植株是一个突破,几个国家都报道了这一结果。我国代表李向辉也报道了这一成功的研究。这为禾谷类与其它作物的体细胞杂交提供了可能性。会上我国的郭仲琛报道了玉米原生质

体培养,也取得较大进展。预计不久玉米原生质体也会培养成为植株。

4. 植物次级代谢产物方面 进展更为突出,已进入工厂化生产和商品化的新阶段。本文仅评述这方面的进展。

一、一些植物次级产物的细胞工程研究已实现了工业生产

在大会开幕式上日本的 Fujita 在植物次级产物的细胞工程的评述中,认为与植物本身生产(栽培)相比,通过植物细胞培养技术,能在短期内生产稳定的植物次级代谢产物。用组织培养技术已能生产药用成分。他全面系统的介绍了紫草、黄连实现工业生产的研究。从组织培养的建立,细胞悬浮培养,细胞发酵培养,细胞大规模发酵培养,直到实现工业生产的全过程。在培养中进行自然变异选择,单细胞克隆的建立,人工诱变筛选,以及其它许多方法提高细胞生长速率和药用成分含量等等诸方面都做了介绍。通过十多年的努力,终于实现了运用紫草细胞工程技术生产紫草宁衍生物,运用黄连细胞工程技术生产小檗碱的工业化生产。他的报告是大会上三个报告中最精彩最使人鼓舞的一个报告。

除紫草和黄连外,从人参细胞培养生产人参皂甙和从毛地黄细胞培养通过生物转化生产地高辛也实现了工业生产。

需进一步研究的是如何商品化和如何产生社会和经济效益问题。

二、一些植物次级产物的细胞工程研究已达到工厂中试水平

从人参细胞培养生产人参皂甙。虽已实现工业化生产,但其产品不允许做为医药品进入市场(日本),仅做为保健食品的添加剂投放市场,也终因销路不好而停产。于是科学家又转到人参根的培养。日本的 Uskiyama 等在会上报告了人参根培养规模从30L、2000L直到20000L的发酵罐的研究结果。培养的人参根产品的人参皂甙含量几乎与栽培的人参根一样,其生物产量超过500mg干重/(L·天)。在这一研究中获得一种再生细胞系,这种细胞系能在没有附加植物生长因子的条件下生长。这些研究结果不仅表明已完成了利用人参根培养进行人参皂甙生产的工厂中间试验(近期就能实现工业生产),而且揭示了可利用上述再生细胞系培养重新实现人参皂甙的工业化生产提供了一个好的途径。

加拿大的Smith在会上报告了从长春花细胞培养生产泻花碱的研究结果。生产规模从50ml经1L,10L,30L,到200L,达到了工厂中试水平。印度的 Benjamin 报告了从长春花选育出的细胞系,在悬浮培养中15天后生长增加了3倍,生物碱产量为1.5%。在7升的生物反应器中生产啊吗碱和蛇根碱,也达到了中试水平。其实西德的 Zenk 等早就用长春花细胞培养生产啊吗碱和蛇根碱,且达到了中试水平。

我在会上报告了从三分三细胞发酵培养生产东莨菪碱和莨菪碱的研究结果。在10L发酵罐中培养的细胞生长速率高达1.5g干重/(L·天)是细胞悬浮培养的3倍,比固体培养增加了10倍多。当向12天龄的发酵培养中补充苯丙氨酸(5mmol/L)和激动素(0.1mg/L)时,莨菪碱含量增加到0.217mg/g干重,东莨菪碱含量增加到0.412mg/g干重。从发酵培养细胞分离到的莨菪碱和东莨菪碱单体是被纯化和重结晶,然后用熔点(含混合熔点)、纸层析、薄层层析、紫外、红外光谱及核磁共振鉴定,证明确系莨菪碱和东莨菪碱结晶。这一研究结果表明三分三细胞培养技术可用于工业化规模的生产。

在维生素E的类似物中, α -维生素E具有最强的药理学活性。日本的 yoshikuwa 等的墙报介绍了通过红花细胞培养生产维生素E的研究结果。选出的培养细胞系的生长速率比母体细胞系高2倍,维生素E的含量是母体细胞系的5倍。特别有趣的是所获得的维生素E类似物中绝大部分是 α -维生素E。据会下了解,这一研究已进入工厂中间试验。

三、新的植物材料或新产生的次级成分

1. 从植物细胞培养中产生的新次级成分

早在七十年代初,Carew就对长春花进行了细胞培养,但未发现这两种生物碱的存在。后来Zenk等也只是从培养细胞中获得这两种生物碱的前体啊吗碱和蛇根碱,虽然啊吗碱和蛇根碱也是重要药物。直到第五届会议上,加拿大的Constabel等,法国的Petiard等和Paveilleux及英国的Smart都报告了长春花细胞培养,但都不能肯定从培养细胞中获得了长春花碱和长春新碱。但在这届会上,日本的Miura报告了他们从长春花愈伤组织中获得了抗癌生物碱,并经薄层色谱、高压液相色谱和质谱测定,证实了抗癌生物碱的大部分是长春花碱。墨西哥的Reyes等以墙报展出了长春花的绿色和白色的愈伤组织中都有长春新碱和文白碱的产生。用高压液相

色谱定量, 绿色的愈伤组织比白色的愈伤组织至少增加两倍。看来, 长春花细胞培养确能产生长春花碱和长春新碱, 这是一重要的进展。此外, 加拿大的Eilert的演说中说从长春花细胞培养物中发现了内脂胺, 水甘草宁, 洛柯因, 泻花碱。美国 Lees 等从长春花培养细胞系中获得了类脂化合物。

应用细胞工程技术生产强心甙也是人们追求的目标之一。在上届会上西德 Alfermann 等就报告了毛地黄细胞在硅藻胶固定培养中, 能以很高的效率(几乎100%)将 β -地毒蕈转化成具药学活性的 β -地高辛。在这届会上西德的Hu等又从23个毛地黄细胞变异中选出有一个有高选择性的12位 β -羟基化作用的并且在三角瓶和发酵实验中一样稳定的变异体。这些都是利用培养细胞的转化能力。但瑞典的Ohlson选出的一毛地黄变异体2, 能直接产生地高辛, 在培养中赤霉酸明显促进细胞生长和增加地高辛含量(是对照的400%)。瑞典Toivonen等使毛地黄愈伤组织分化成能产生卡丹交酯的胚状体。东德Luckner等发现毛地黄细胞培养中豆蔻内酯生物合成在体细胞胚形成期表现。印度Pramanik等发现在马利筋和牛角瓜愈伤组织中含有大量的豆蔻内酯, 其豆蔻内酯量最大时形成根, 而在黄花夹竹桃中豆蔻内酯量最大时则形成芽原基。

其它, 美国Cline报告了在罂粟细胞悬浮培养中加入专一性罂粟病原体提取物后, 血根碱的含量比通常含量(0.01—0.5mg/g鲜重)增加4—10倍。多巴含量达0.5—1.5mg/g鲜重。法国creche, 等从choisya ternata 愈伤组织或原生质体获得高含量的二氢咪唑啉的细胞克隆。南非Page等研究了次黄糖甙的体外产生, 发现低氮水平及连续黑暗培养会提高次黄糖甙的合成。

2. 新的植物细胞培养材料

比利时的Homes发现臭椿的愈伤组织培养中, 2,4-D促进生长, IAA和IBA促进苦木碱的产生。英国Anderson, 在臭椿细胞悬浮培养中, 生物碱含量高达干重的1.2%, 是完整植株的100多倍。生物碱的主要成分1-甲氧基铁屎米-6-酮在MS培养基中的累积增加30%多。英国Kilby等用1.02 MHz的超声波在Wcm⁻²处理甜菜悬浮培养细胞10—60秒钟, 能使细胞释放甜菜甙到培养液中, 甜菜甙释放的量和速率与处理时间的长短成正比。法国的Brisson研究了美国金腰子的愈伤组织和分化芽中多甲基化黄酮醇糖甙(主要是三甲基黄酮醇糖甙)的产生和定位。印度Nag, 报告从印度干旱地区的5种枸杞植物的细胞培养中产生抗菌素、类黄酮、皂

甙配质等物质。日本Furuya等报告了桉树属细胞悬浮培养中的1-薄荷醇转化成 β -D-龙胆二糖甙2-羟薄荷醇, 2-o- β -龙胆二糖甙。加拿大DE-Eknamkul等发现牛舌草细胞培养产生千里光酸抑制四种酪氨酸转氨同工酶, 四种同工酶已被纯化并研究了其特性。西德Becker用三氟亮氨酸导致败酱草组织培养中三氟化的支路反应系统的Valepatriates的生物合成。日本Ikuta等从木通愈伤组织中分离到以30-降齐墩果型为主的4种新的三萜, 是原植物中未见报道过的。

3. 香料、调料、食品及杀虫、杀菌剂

英国的Musker等在洋葱细胞培养中, 从蒜碱酶抑制剂羟基胺存在中提出了香料物质的前体烷基半胱氨酸磺胺氧化物。瑞士Heldmann等报道了在咖啡细胞培养结束时(17—20天), 固定(包入藻朊酸盐)培养细胞比自由悬浮培养细胞产生更多的可可碱和咖啡碱。美国Muhitch等在玫瑰的细胞培养中发现增加成熟的不分裂的细胞能产生除五倍子酸、表儿茶-儿茶酸之外的更多的酚。英国Collin将旱芹愈伤组织进行悬浮培养, 分析到有邻苯二酸酐(最多的是甲基邻苯二酸酐)和类萜烯(最多的是二萜烯)调料化合物的产生。印度Venkataraman等从培养薄荷的腋芽和顶芽成功地获得了薄荷纯系的快速繁殖。巴基斯坦Ilahi把姜的芽愈伤组织培养成植株, 移栽大田后能增加更多的根茎, 活跃部分的生物碱可与亲本相比。英国Hall发现辣椒细胞固定反应器培养可获得与辣椒果中相同的辣椒素含量。荷兰的Heijden发现在山辣椒细胞悬浮培养中, 在细胞稳定生长阶段形成的吲哚生物碱达最高含量。日本Ueda等通过热带茄子花的细胞培养产生的iridid型单萜葡萄糖甙、格尼帕甙和乌口树甙的产量很高。葡萄牙Salomé等从菜蓟愈伤组织和悬浮培养细胞得到奶皮蛋白等。日本Ohta用放线菌素D、黑曲霉多糖或钒酸钠处理豇豆、红豆、蛋型植物(Egg plant)的培养细胞, 诱导产生出5种黄豆甙。

荷兰的Goot研究了万寿菊的细胞和组织组培养中的噻吩烷农药。印度Khanna等研究了鹰嘴豆和扫帚艾的愈伤组织能产生三种鱼藤生物碱、灰叶素、苏门答腊酚和鱼藤酮以及除虫菊脂。印度Shanthamma从锦葵叶获得的愈伤组织能产生生物碱。印度Kanal等从胡卢巴(香草)静态培养物中分离到兰鱼藤酮、粉红鱼藤素、红紫鱼藤酮的杀虫剂纯品。印度Bhatt等从山豆的愈伤组织及其细胞悬浮培养中获得神经毒素氨基酸。

植物次级产物的细胞工程研究,从以生产医药品为目的扩大到以生产香料、调料、食品和农药等等为目的,也是这次会议的明显进展的一个方面。

这些新的植物细胞培养材料和新的次级产物的研究,为实现更多的植物细胞次级产物的细胞工程的工业生产奠定了良好的基础。

四、提高次级产物含量或细胞生长速率和培养技术的进一步改进

虽然已研究了许多植物或其次级产物的细胞工程,但在这次会上由于培养方法的改良,又使之向工业生产的目标迈进了一步。

1. 甙类 在上届会上日本Yamamoto等曾报道过从铁海棠细胞培养中选出了花色甙含量7倍于最初的愈伤组织的细胞系。这届会上,以色列的Vansh等从胡萝卜的一个颜色强烈突变的细胞系悬浮培养中得到纯化的花色甙,含量很高,为细胞干重的2—5%。纯化了的花色甙有许多优点:(1)产生10倍于商品的颜色(葡萄色)强度。(2)不吸水。(3)在pH=2—5时(并伴随不同温度和光照处理)是稳定的。这就使胡萝卜细胞工程研究向花色甙的工业化生产推进了一步。其次,日本Ozeki发现胡萝卜细胞悬浮培养中2,4-D阻遏花色甙的合成,2,4-D调节中关键的查尔酮合成酶已从胡萝卜中获得,并研究了酶的调节机理。美国Dougall等在野生胡萝卜的三个细胞系的悬浮培养中,用2-氨基苯丙基1-丙酸或苯丙炔酸抑制花色甙的累积,可使花色甙水平保持稳定。

薯蓣组织培养中能积累薯蓣皂甙配质,早被Kaul等(1969)研究过,但须饲以特定的前体。这次会上印度Ravishankar在未加前体的薯蓣愈伤组织培养中,产生了0.5%的薯蓣皂甙配质和0.62%的甾醇。第一步用高氮态氮(420mg/L的N)、高磷(240mg/L磷酸二氢钾), $1\frac{1}{2}$ 强化微量元素促进生长,第二步用低氮(减二倍)、低磷(100mg/L)增加薯蓣皂甙配质的产量。碳、氮、磷的比例为2:1:1使甾醇含量增加了2倍。ATP酶可做为生长指标。此外,苏联Бутенко等在薯蓣细胞悬浮培养中,使之缺氧或饥饿,结果不影响细胞集团水平却增加了皂甙配质,但不增加甾醇。印度Surinder等发现具翼蒺藜的愈伤组织培养中,饲以胆甾醇也增加了薯蓣皂甙配质的产生(70mg/100ml,对照0.41%,饲喂0.9%)。

2. 生物碱 日本Ikuta在上届会上报告了从南

天竺组织培养物中测到药根碱等9种生物碱。在这届会上我国的侯嵩生的墙报展出了他从九连小檗获得的细胞悬浮培养中,分离到药根碱结晶,其产率高达细胞干重的1%。这一结晶已进一步用高压液相色谱、紫外、红外和核磁共振的方法鉴定,证明了确为药根碱。从而向工业化生产迈进了一步。

日本Morimoto的墙报介绍了从日本黄连悬浮培养细胞中选出淀粉含量高的细胞系,其小檗碱含量高达10—12%,且赤霉素促进小檗碱的产生。瑞士Brodellius在唐松草细胞悬浮培养中在酪氨酸酶诱导下,小檗碱产量至少增加3—4倍。西德Rueffer从小檗属培养细胞中分离出9种酶能催化原小檗碱的生物合成。

印度Sarien的墙报展出了他从罂粟幼苗获得三种愈伤组织-亮灰色、暗灰色和黑色的愈伤组织变异体。结果发现可待因、蒂巴因、那碎因产率最高的是暗灰色变异体,而罂粟碱含量最高的是亮灰色变异体,黑色变异体则不产生鸦片生物碱。美国Palta等的墙报说高浓度的蒂巴因等生物碱可通过体细胞胚和植株再生获得。

荷兰Wijnsmar等以柯柯醇饲给金鸡纳悬浮培养细胞,结果细胞迅速从培养基中吸收此化合物。他的另一报告中发现金鸡纳培养细胞产生了葱醌,以一种曲霉(*Aspergillus niger*)的提取物和纤维素酶作诱导剂则增加了抗菌素葱醌的产量。英国Hay等发现悬浮培养的金鸡纳根器官能从培养基中吸收喹啉生物碱的前体L-(亚甲其- ^{14}C)-色氨酸,色胺,(C- 8^3H)-喹啉-喹啉定及喹啉酮/喹啉定酮。美国Chung发现培养的叶-茎器官在32周龄所含的生生碱与52周龄的植株一样(350mg%)。在有苜蓿嘌呤(5mg/L)或赤霉素(5mg/L)或吲哚-醋酸(5mg/L)或者有芽存在时,都有利于金鸡纳培养物产生喹啉。

日本yamada报告了莨菪和曼陀罗根的二步培养法。先用最佳浓度的激素使根大量繁殖,第二步去掉激素诱导生物碱的大量合成。他还用示踪标记的莨菪碱证明了东莨菪碱是由莨菪碱经由 6β -羟基莨菪碱形成的。并从第二步培养的根中提纯出具有活性的L-莨菪碱- 6β -羟基酶。瑞士Fankhauser等的墙报介绍了他们在莨菪细胞培养中东莨菪碱的含量在780个克隆系中有8个多于干重的0.05%,但继代所有的克隆系的东莨菪碱含量都逐渐下降到 10^{-5} —培养后 10^{-6} %的基本水平。英国的Collinge等美国Flores都报告了茄科植物的组织培养要分化根才能产生较多的莨菪烷生物碱。日本Shimomura,

报告菌的 Ri 质粒在颠茄、曼陀罗、莨菪及东莨菪接种转化得到多毛根(Hairy Roots)。多毛根生长活跃,测得其莨菪碱和东莨菪碱的含量等于或多于栽培植物。

3. 其它化合物 早在 1950 年 Arreguin 和 Bonner 就有过从培养细胞中生产橡胶的报道。这届会上美国的 Norton 等从银胶菊的培养愈伤组织中含橡胶 0.055mg/g 干重,培养的根含 0.68mg/g 干重,培养的芽含 0.19mg/g 干重。获得橡胶的分子量在 50,000 到 300,000,与整体植株的类似。愈伤组织和根的树脂产量比植物茎的高。在培养中培养基的蔗糖水平从 1% 增至 7%,并加光照,能使橡胶含量增加 3.5 倍,树脂含量增加 35%。

日本 Ayabe 等将甘草细胞系转入由藻朊酸钙胶中并在富含异黄酮中固相培养时,迅速累积了反-查尔酮和甘草亭。固定培养中还迅速增加了包括甘草亭生物合成在内的两类酶的活性。

美国有三位科学家报道了青蒿的组织培养。Martinez 研究了青蒿素含量在青蒿组织(芽或未分化的细胞)中的易变性。Kuda Kasseril 等通过青蒿幼芽培养的细胞游离系统能把 ^{14}C -异戊烯焦磷酸盐结合到青蒿素脂中。Chen 培养的青蒿芽中产生了青蒿素脂。

4. 培养技术的改进 前面已谈到许多由于培养方法的改良或培养技术的改进而取得较好的结果。英国的 Fowler 在演说中说他们研究了植物细胞大规模培养的工业装置和工序系统。植物细胞已在分批性、饲喂一批性、半连续性和连续培养中生长。他们还使植物细胞固定在广泛基质和不同类型的生物反应器系统中培养。对单一的和多级的培养也进行了选择。大规模的培养包括气动式(airlift)

发酵罐,已成功地达到了 15,500L。

荷兰 Meijer 等将 3L 的普通发酵罐改造成低稀释速率的生物流动连续培养装置,来培养长春花细胞,取得了动力学资料,并进行了抗切变细胞系的选择。

芬兰 Veräjänkorkva 等的墙报展出了用免疫分析法测定长春花细胞培养物中生物碱的结果。抗长春花碱的抗血清与长春新碱进行强烈的交叉反应,但长春花朵宁和泻花碱的抗血清具相当的专一性。英国 Sogoke 的墙报说谷甾醇/豆甾醇的比率可做为愈伤组织生长率的指标。

在第六届国际植物组织和细胞培养会议上,共提出了 82 篇关于植物次级代谢产物细胞工程方面的研究论文。这些论文的提出者来自 20 个国家,其中日本 14 篇,美国、英国、印度各 11 篇,加拿大 6 篇,荷兰、瑞士各 5 篇,西德和法国各 3 篇,中国和瑞典各 2 篇,其它如苏联、比利时、芬兰、东德、葡萄牙、墨西哥、以色列、巴基斯坦、南非等国各 1 篇。从事这方面研究的国家中,日本处于领先地位,不仅论文数量最多而且进展也最快,已有三种植物次级产物的细胞工程实现了工业生产,还有两种以上的植物次级产物的细胞工程达到工厂中试水平。

从上面的评述可以看出,植物次级代谢产物细胞工程的研究确实取得了很大的进展。它标志着这方面的科学研究正在逐步的转化为生产力。我国从事这方面研究的单位也不少,但各自为政,因此与国外差距较大。但我国有优越的社会主义制度,可以组织起来,建立起研究中试和生产一条龙的基地或中心,加上我国的资源优势,定能形成我国的特色,不久就能赶上和超过外国,为“四化”建设做出一定的贡献。

全国植物和环境保护学术讨论会征文启事

中国环境科学学会、中国林学会、中国植物生理学会和中国农业环境保护协会联合主办的“植物和环境保护”学术讨论会将于本年 10 月上旬在青岛举行,自 4 月 1 日开始征文,6 月 30 日截止。凡有关植物和环境保护的论文均欢迎。确定下列问题为此次会议讨论重点:

1. 大气污染的生物监测; 2. 大气污染引起的农业损失估测和开顶式熏气装置的应用; 3. 森林衰亡问题; 4. 污水的生物净化,特别是高等水生植物的净化作用; 5. 重金属污染对植物的作用。

论文请先写成 1000 字以内摘要(附单位推荐信)寄下列任一地址均可:

1. 北京安外北苑中国环科院生态所。2. 北京颐和园后中国林科院林研所生态室。3. 天津复康路农业部环保所大气室。4. 上海枫林路植生所环境生理组。

中国环境科学学会 中国林学会
中国植物生理学会 中国农业环境保护协会