

香蕉基因工程研究概况

贺竹梅 陈映兰

(中山大学生物工程研究中心 广州 510275)

GENETIC ENGINEERING IN BANANA—A REVIEW

He Zhumei Chen Yinglan

(Biotechnology Research Center, Zhongshan University Guangzhou 510275)

关键词 香蕉, 基因工程

Key words Banana, Genetic engineering

基因工程的发展在很大程度上受到医药产业的影响。植物基因工程的发展有它自身的特点,它主要与农作物的品质改良有密切的关系。但是随着医药事业的不断发展和人们对新药要求的不断提高,植物基因工程在医药上的应用研究也就越来越受到人们的重视,譬如在可食性水果中表达某些疫苗,在中草药中加入某些有效成分,或利用植物系统来生产某些包括细胞因子在内的药物等等。

香蕉是热带和亚热带地区的重要水果和食物,许多国家将其作为主要的出口商品和国家的基本收入来源。在我国广东、海南、云南、广西、福建、台湾等省的部分地区,香蕉亦是重要的经济来源作物。在香蕉的生产过程中,真菌和病毒的侵害成了它产量降低的主要因素,对于这些病害的防治目前还没有有效的解决办法;并且随着人们消费水平的提高,对于香蕉品质的要求也越来越高,因此它的基因工程技术的发展对于它自身性状的改良有着重要的意义。另外由于香蕉是可直接食用的水果或食物,对于开发它作为一些可食用疫苗及其它一些药物的表达系统亦具有良好的前景,故近年来,关于香蕉基因工程的研究受到了人们越来越多的重视。

1 香蕉转基因受体系统的研究

要对一种植物进行基因工程方面的发展,建立适于基因转化的高频率离体再生系统即转基因受体系统是其必要的前提和关键。下面就基因工程香蕉受体系统方面的研究情况作一概括。

早在1984年Bakry就从花序培养获得的愈伤组织中成功地分离出了原生质体^[1]。陈文辉等对2个品种香蕉组培叶肉细胞原生质体进行了分离及融合研究^[2]。Megia等从由二倍体香蕉的未成熟种子培养获得的胚性愈伤进行了原生质体的分离,使用饲养细胞结合高密度从原生质体获得了细胞分裂并产生了愈伤组织^[3]。Panis等报道了从悬浮培养的胚性细胞分离原生质体及其植株再生的过程^[4]。Cronauer等用三倍体香蕉试管苗的小球茎部分液体培养获得了体细胞胚的发生^[5]。Cronauer-Mitra等用茎尖培养观察到愈伤化结构和产生了不定芽,利用二倍体香蕉的种子培养获得了胚状体^[6,7]。Escalant等亦报道了从二倍体香蕉未成熟合子胚培养产生胚状体的过程^[8]。Dhed'a等从无菌增殖的茎尖培养苗

中分离分生组织性的表层结构培养,成功地建立了三倍体香蕉的胚性悬浮细胞培养并获得了植株再生^[9]。Novak 等利用基部叶鞘和根茎组织培养在加有 3,6-二氯-2-甲氧基苯甲酸(麦草畏)的培养基上获得了胚性愈伤组织的发生和植株再生,并通过体胚发生途径获得植株再生^[10]。周丽依等利用三倍体食用香蕉的花序顶端培养,在加有 BA、NAA 和 2,4-D 的 MS 培养基上诱导了胚状体的发生、分化和植株再生^[11]。凌定厚等对香蕉幼嫩花序培养过程中几种不同的植株再生方式进行了研究,对于幼嫩花序培养植株再生可以是直接出芽、由不定芽、由愈伤组织、或经体细胞胚胎发生等方式发生^[12]。至于香蕉的茎尖分生组织培养工作已开展了很长的时间,积累了丰富的经验^[13,14],我们的实验也表明,从试管苗中分离出的 0.3 mm 左右大小茎尖,培养成株是完全可能的(结果未发表)。

纵观香蕉组织培养的研究,我们可以看出虽然原始外植体可以取各种组织器官,但绝大部分还是来源于花序或茎尖分生组织。植株的再生方式可以是多样化的:直接出芽、产生不定芽、体细胞胚或经愈伤组织再生等。以上这些研究为香蕉基因工程的研究打下了一定的基础,但仍有一些问题尚待解决。譬如,从各种外植体来源的愈伤组织其数量和质量均较差,即数量少分化能力弱,这对于植物的遗传转化来说是一个很大的遗憾,还需花大量的时间和精力来进行研究。体细胞胚发生的频率低、培养条件不易控制等,也制约着这一途径应用于香蕉基因工程的发展。当然对于像香蕉这样一种在微繁殖方面非常成熟的作物来说,利用现有的组织培养系统来发展基因转化的技术和方法,不仅对香蕉基因工程的发展有利,同时对其它一些难于转化的单子叶植物的基因工程的发展亦将产生深远的影响。

2 香蕉基因工程研究现状

关于香蕉的遗传转化仅有少数几例报道。Sagi 等^[15]用电击法对 GUS 基因导入从悬浮培养细胞来源的原生质体的条件进行了初步研究。在使用 960 μF 电容器的条件下,他们认为下列条件可获得较理想结果。①使用 ASP 电击缓冲液;②电场强度 800 V cm^{-1} ;③电击前用 5% PEG 处理 1 min;④加 PEG 前在 45 $^{\circ}\text{C}$ 中热击 5 min。后来,他们又用基因枪法轰击胚性悬浮培养细胞,并且获得了转基因植株^[16]。May 等^[17]利用农杆菌介导的转化方法将 GUS 基因和 NPT II 基因导入了香蕉,并获得了转基因植株的增殖;他们是利用目前技术已非常成熟的茎尖培养系统作为受体来进行转化的。实验程序是这样的:建立香蕉茎尖微繁殖系统→分离茎尖分生组织→基因枪轰击,使组织造成损伤(不含外源 DNA,仅用金粉)→受伤组织培养 3 d 后与农杆菌共培养(加乙酰丁香酮)→筛选、分化、成苗、鉴定。从以上几例有限的香蕉转化研究中我们可以得出以下几点结论。①转化受体多样化,原生质体、胚性愈伤组织、茎尖甚至花序等都可以作为转化受体;②电击法、基因枪法、农杆菌法等均可以作为香蕉的转化方法,但应根据不同的转化受体来选择不同的转化方法并进行必要的修改;③用卡那霉素可以有效地作为筛选因子来建立香蕉的转化系统。

对于香蕉基因工程的研究,我们要强调的是它目前仍处于初级阶段。虽有几例关于转化成功的报道,但不同品种之间的转化率差异可能会相差很大,因而要达到成熟的香蕉基因转化,还需作大量的工作。近年来在我国虽有一些实验室开展了这方面的工作,但均没有成功的报道。至今世界上也还没有产生出已开花结果的转基因香蕉植株,在这一点上它相对于一些重要农作物来说是晚了很多年。另外,目前在世界上还缺乏能在香蕉果实中表达的组织特异性启动子,这对于利用香蕉果实来生产药物(如某些口服型疫苗等)的开发还存在一定的限制。当然,随着植物基因工程,特别是香蕉基因工程研究的进一步深入,上述问题将会逐步得到解决并发展。

参 考 文 献

- 1 Bakry F. Choix du mat-riel utiliser pour l'isolement de protoplastes de bananiers (*Musa* sp.). *Fruits*, 1984, **39**: 449~452
- 2 Chen W H, Ku S C. Isolation of mesophyll cells and protoplasts and protoplast fusion and culture in banana. *J Agric Assoc China*, 1985, **129**: 56~57
- 3 Megia R, Haicour R, Rossignol L *et al.* Callus formation from cultured protoplasts of banana (*Musa* sp.). *Plant Sci*, 1992, **85**(1): 91~98
- 4 Panis B, Wauwe A V, Swennen R. Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from protoplasts of banana (*Musa* spp.). *Plant Cell Rep*, 1993, **12**(7~8): 403~407
- 5 Cronauer S, Krikorian A D. Somatic embryos from cultured tissues of triploid plantains (*Musa* 'ABB'). *Plant Cell Rep*, 1983, **2**: 289~291
- 6 Cronauer-Mitra S S, Krikorian A D. Adventitious shoot production from calloid structures of banana. *Plant Cell Rep*, 1987, **6**: 443~445
- 7 Cronauer-Mitra S S, Krikorian A D. Plant regeneration via somatic embryogenesis in the seeded diploid banana *Musa ornata* Roxb. *Plant Cell Rep*, 1988, **7**: 23~25
- 8 Escalant J V, Teisson C. Somatic embryogenesis and plants from immature zygotic embryos of the species *Musa acuminata* and *Musa balbisiana*. *Plant Cell Rep*, 1989, **8**: 665~668
- 9 Dhed'a D, Dumortier F, Panis B *et al.* Plant regeneration in cell suspension cultures of the cooking-banana cv. 'Bluggoe' (*Musa* spp. ABB group). *Fruits*, 1991, **46**(2): 125~135
- 10 Novak F J, Afza R, Van Duren M *et al.* Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of dessert and cooking banana. *Bio/Technology*, 1989, **7**: 147~158
- 11 周丽依, 马雪筠, 陈俊秋等. 香蕉通过胚状体途径的快速繁殖研究. *广东农业科学*, 1991(3): 22~24
- 12 凌定厚, 陈琬瑛, 陈梅芳. 香蕉花序顶端组织的离体形态发生. *植物学报*, 1990, **32**: 966~968
- 13 Cronauer S S, Krikorian A D. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. *Ann Bot*, 1984, **53**: 321~328
- 14 Bhagyalakshmi, Singh N S. Role of liquid versus agar-gelled media in mass propagation and *ex vitro* survival in bananas. *Plant Cell, Tiss Organ Culture*, 1995, **41**: 71~73
- 15 Sagi L, Remy S, Panis B *et al.* Transient gene expression in electroporated banana (*Musa* spp. , cv. 'Bluggoe', ABB group) protoplasts isolated from regenerable embryogenic cell suspensions. *Plant Cell Rep*, 1994, **13**: 262~266
- 16 Sagi L, Panis B, De Smet K *et al.* Genetic transformation of banana and plantain (*Musa* spp.) via particle bombardment. *Bio/Technology*, 1995, **13**: 481~485
- 17 May G D, Afza R, Mason H S *et al.* Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Bio/Technology*, 1995, **13**: 486~492