

# 引种地芦荟不育的机理研究

赵红艳

(新乡学院 生命科学与技术系,河南 新乡 453002)

**摘要:**芦荟隶属百合科芦荟属,原产于地中海、非洲热带和亚热带干旱地区,为一种多年生常绿草本植物。叶片中含有蒽醌类物质,被广泛应用于生物制药、化工产品 & 美容保健等行业,因此,芦荟属植物被世界各地广泛引种栽培。然而,在我国北方地区引种栽培的芦荟只开花,却不形成果实和种子,因而,不利于芦荟的繁殖和育种。现对引种地芦荟不育的机理进行研究,以期对芦荟繁殖和育种提供参考。

**关键词:**库拉索芦荟;引种地;不育

**中图分类号:**S 682.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)06-0188-04

芦荟(*Aloe*)属百合科(Liliaceae)芦荟属多年生常绿肉质草本植物,多数起源于非洲热带和亚热带干旱地区,在非洲大陆已发现 250 余种,在马达加斯加岛约有 40 多种,在加那利群岛和阿拉伯地区也有芦荟的野生种分布<sup>[1]</sup>,在中国野生的芦荟属植物只有中国芦荟(*Aloe vera* L. var *chinensis* (Haw.) Berg),是库拉索芦荟的变种,主要分布在云南元江地区、福建闽南和广东沿海等地<sup>[2]</sup>。目前已定名的芦荟属植物有 500 余种<sup>[3]</sup>,野生芦荟品种 300 多种,并且不断有新发现和命名的新种出现<sup>[4-6]</sup>。药用价值较高的芦荟属植物主要有库拉索芦荟(*Aloe vera* L.)和木立芦荟(*Aloe arborescens* Mill)等已被世界各地广为引种栽培<sup>[7]</sup>。在自然条件下,种植在引种地的芦荟一般不形成种子。现对引种地芦荟不育的机理进行研究,以期对芦荟繁殖和育种提供理论基础。

## 1 芦荟雌性不育机理的研究

### 1.1 有关植物雌性不育的研究

胡青等<sup>[8]</sup>研究表明,植物雌性不育多数是由雌性器官的发育异常而引起的,植物雌性不育具有一些明显的外观特征,较典型的如子房干瘪、无花柱无柱头、种子发芽率低等。钟蓉等<sup>[9]</sup>研究表明,部分植物雌性不育的同时也伴随雄性不育现象。

雌性不育的机理较为复杂,表型也多种多样,就目前对花的形态解剖、生理生化特征和组织切片的研究,雌性不育的表型主要有以下 4 个方面的表型。一是 Rim 等<sup>[10]</sup>、Kazimierska 等<sup>[11]</sup>研究发现的由于大孢子母

细胞减数分裂后期发生异常,不能形成功能性的 4 个大孢子。二是 Lillecrapp 等<sup>[12]</sup>在杏的 1 个品种‘Trevatt’中发现有 50% 的胚珠无法产生成熟的 8 核胚囊,另有 50% 的胚珠中胚囊退化或消失。三是有些植物的胚囊虽然可以发育成熟,但授粉后胚珠发育异常,最终不能形成种子,表现为育性降低<sup>[13]</sup>。Martinis 等<sup>[14]</sup>发现转基因烟草中胚珠的发育停滞和 Carapetian<sup>[15]</sup>在红花的雌性不育研究中观察到的 2 个红花品种杂交产生的不育植株开花时会发生小花的干枯和花柄的延长。四是 Ouyang<sup>[16]</sup>对杂交水稻中酸性磷酸酶的定位研究显示,在败育大孢子的珠孔、珠被附近有强烈的酶活性,而且,细胞学观察还发现,退化的功能性大孢子的细胞膜上有高密度的物质沉积和大量含有许多内含物的多形液泡。这表明雌性不育的植株在生理生化特征上也会出现异常。

植物的雌性不育方面,由于雌蕊结构及雌配子体发育的复杂性,使得人们对雌性不育现象及不育机制的研究较少。Coen E S 等<sup>[17]</sup>通过拟南芥和金鱼草花发育的研究,在 1991 年提出了同源异型基因控制的 ABC 模型。根据这一模型,A、B、C 三类功能基因对性器官的形成都有作用。A 功能基因控制花萼和花瓣的形成,B 功能基因控制花瓣和雄蕊的形成,C 功能基因控制雄蕊和心皮的形成,其中 A 功能基因和 C 功能基因是相互抑制的。控制心皮和雄蕊形成的是同源异型基因。而引起这种突变的基因称为同源异型基因。后来,Colombo 等<sup>[18]</sup>在对矮牵牛进行研究后,在 1996 年又将此模型扩展为 ABCD,其中 D 基因被认为是花器官中胚珠的调控基因。

植物染色体的异常会引起雌性不育;杂交可能也会引起雌性不育;生长调节物质可以调控雌性不育环境的变化也会影响植物的育性。在研究中还发现,基因之间的相互作用与雌性不育有关,外源基因的引入与植物雌

**作者简介:**赵红艳(1973-),女,河南平顶山人,硕士,讲师,现主要从事药用植物与种质资源研究工作。

**基金项目:**河南省教育厅自然科学基金资助项目(2006180016)。

**收稿日期:**2011-12-26

性不育性也有关系。关于植物雌性不育的基因表达与调控机制目前还不清楚,需要在分子水平上建立 cDNA 文库等,来探明植物雌性不育机理,为植物的繁殖和育种奠定重要的理论基础。

## 1.2 库拉索芦荟雌性不育的机理

芦荟多数起源于非洲热带和亚热带干旱地区,只有少数种可以产生种子,极大多数不能结实,而在种植在引种地(主要是我国北方地区)没有种子形成。目前,有关芦荟不育的相关研究单纯的集中在小孢子母细胞减数分裂异常和自交不亲和上,而对于雌配子体对芦荟育性的影响尚无报道。

马虹等<sup>[19]</sup>在革苞菊的雄花和雌花研究中发现,雄花中绝大多数胚珠不发育或者个别胚珠发育,但胚囊中的卵细胞发育异常;雌花中除了有大部分发育正常的胚珠外,也有卵细胞退化或胚囊中出现多核、异形核等现象。这说明,雌配子体发育异常是造成雌花败育的原因之一。

唐建军等<sup>[20]</sup>通过对水稻雌性不育材料 FS-1 胚囊发育的细胞学分析发现,FS-1 在完成胚囊母细胞减数分裂之后,四分体的大孢子没有一个正常的发育,而是全部解体消亡,并在珠心组织的挤压下形成了残迹带。随后,FS-1 的胚囊愈加异常,原来形成的残迹带也消失了,在珠心中形成了一个面积较大的混杂解体残迹。他们推测在胚囊发育的早期就导致胚囊分化失败的原因是 FS-1 的亲本的有关育性基因的亲和性很差,最终导致 FS-1 的雌性不育。唐源江等<sup>[21]</sup>对观光木的大孢子发生和雌配子体形成过程的观察结果显示,在四分体和成熟胚囊时期出现异常发育现象,导致观光木败育。盛仙永等<sup>[22]</sup>发现单叶血藤的大孢子发生及雌配子体发育过程中各个时期都有退化解体现象,包括退化的四分体、二分体、母细胞、造孢细胞,甚至有退化的孢原细胞,而珠心组织则发育正常。究其原因,可能是由于其心皮过多(每朵雌花具 40~60 枚离生心皮),营养供应不足引起的败育。陈晓静等<sup>[23]</sup>对番木瓜进行了研究,番木瓜属于反足细胞早期退化的类型,这类植物要通过胚囊中的助细胞或中央细胞从外面取得营养,而研究表明当番木瓜合点端的反足细胞已开始退化时,胚囊中的助细胞和中央细胞尚未发育成熟,最终影响了胚囊的营养吸收,导致胚囊的发育不良甚至失败。这些研究结果说明胚囊发育分化失败将直接导致不育。

近年来,人们利用 T-DNA 插入和转座子标签法对植物的雌性不育现象进行研究,已经筛选到一些雌配子体发育异常的突变体。Schneitz K<sup>[24]</sup>利用 enhancer-trap screens 和筛选 cDNA 等方法已经分离出了雌配子体特异基因。同时,目前正在拟南芥和玉米中分离到了可调控胚囊发育的基因。这些基因控制着胚囊的整个发

育过程,一旦这些基因的功能失活即能导致雌配子体的发育异常或停滞在不同发育阶段。*fem2* 或 *ada* 可调控胚囊发育至单核期终止,*hdd*、*pri* 和 *lo2* 分别可使胚囊发育到二核、四核和八核期停滞。*gfa2* 控制中央细胞中的 2 个极核能否融合,*fem4* 一旦失活即使得卵细胞和助细胞都不能正常分化<sup>[25]</sup>。雌配子体的正常形成也离不开珠被的发育,如若控制珠被发育的基因发生突变也会影响胚囊的发育。但是,Gasser C S 等<sup>[26]</sup>研究表明,单突变体的珠心只有 1 层珠被包被时,胚囊仍可正常发育,而在双突变体的 2 层珠被同时缺失、珠心裸露时,胚囊不能正常发育,这个试验说明胚囊正常发育至少要有 1 层珠被的存在。

关于库拉索芦荟雌性不育的分子机理,需要通过对其进行分子遗传分析,建立胚珠发育的基因调控库。特别是弄清楚一些能揭示影响芦荟早期发育的基因(如 *STM* 等)在胚珠发育过程中的功能。弄清一些重要调控基因,就需要进行深入的研究,以可以从分子的角度探讨芦荟雌性不育的机理。

## 2 关于芦荟雄性不育机理的研究

植物雄性不育大致可划分为 2 种类型:一是细胞核雄性不育类型,即由细胞核内 1 隐性基因控制,可育对不育为显性;二是细胞质雄性不育类型,不育性完全由细胞质控制,与细胞核无关。

关于植物雄性不育的机制非常复杂,从花粉母细胞发育到花粉成熟,任何一个代谢过程中断或受阻,都会对雄蕊的育性产生影响。

这方面的研究也很多,尹增芳等<sup>[27]</sup>利用透射电镜观察了鹅掌揪花粉败育过程的超微结构,结果发现,多数花粉在四分体形成之前就已败育,少数花粉是在小孢子形成以后败育的。王福青等<sup>[28]</sup>对大白菜雄性不育系 88-3 花药和花粉发育的细胞形态学观察,认为中层、绒毡层及药隔内壁异常都是雄性败育的原因。小孢子母细胞不能进行减数分裂或减数分裂不彻底,最终导致小孢子不能正常发育。卢永根等<sup>[29]</sup>认为花粉壁发育异常与小孢子发育异常都会导致花粉败育。孙春昀等<sup>[30]</sup>曾经报道,Ch 型显性雄性核不育谷子约有 2.4% 的药室在造孢细胞时期发育紊乱,正常花粉母细胞、绒毡层和中层等壁细胞不能形成。

绒毡层在花药壁的最内层,供应造孢细胞的养料全部要经过这一层细胞可知,绒毡层在小孢子发育过程中起着重要作用,可归纳为下列几方面:一是当小孢子母细胞减数分裂时,绒毡层可起到简单的转运中层的营养物质至药室的作用。二是绒毡层合成的胼胝质酶,分解包围四分孢子的胼胝质壁使小孢子分离。曾有报道指出雄性不育系花粉的败育与绒毡层的不正常发育有关,而关键在于胼胝质酶的不适时的活动。由于过早地释

放胼胝质酶导致小孢子母细胞减数分裂不正常。三是当小孢子母细胞减数分裂完成后,绒毡层在花粉壁的形成上起着重要的作用,它提供构成孢粉素的外壁的物质。四是花粉壁中含有的蛋白质,存在于花粉外壁内是由绒毡层产生的。这种蛋白质是一种识别蛋白,在花粉与雄蕊的相互作用中的亲和或不亲和性反应起识别作用。五是当绒毡层解体后,它的降解产物可以作为花粉合成DNA、RNA、蛋白质和淀粉的原料。因此,绒毡层细胞的任何异常都可能导致花粉的败育。

近年来,有关芦荟雄性不育的研究多集中在小孢子母细胞减数分裂方面。二倍体生物在减数分裂时,为了保持生物世代之间遗传物质的稳定性<sup>[31]</sup>,同源染色体必须配对并有规律地分配到配子中。Brandham P E<sup>[32]</sup>认为杂种芦荟同源染色体着丝粒两侧位点减数分裂过程中发生交换的频率非常高从而使芦荟高度雄性不育。也有认为由于芦荟染色体极度的粘质性,甚至在减数分裂的后期阶段,能够充分散开的染色体分裂相很少,染色体之间的这种丝状粘连可能是导致芦荟小孢子母细胞减数分裂异常的主要原因<sup>[33]</sup>。吕琳等<sup>[34]</sup>对木立芦荟小孢子形成过程进行观察,结果发现,木立芦荟小孢子母细胞减数分裂过程中存在多种异常行为,例如出现了单价体和多价体、染色体桥、落后染色体、微核等异常现象。这种现象张寿洲等<sup>[35]</sup>在分析矮牡丹小孢子母细胞减数分裂异常现象时也提到过。同一花药内染色体减数分裂不同步,非同源染色体之间高频率的交换,分裂后期染色体不能充分散开和出现染色体桥及断片,不均等分离等均是导致芦荟雄性不育的主要原因。

### 3 关于芦荟自交不亲和性

自交不亲和性是高等植物中常见的一种生物学现象<sup>[36]</sup>,人们已在74个科中发现了此现象的存在。据估计,显花植物中一半的种存在自交不亲和现象。这种不亲和性常见于雌雄同株的植物。

自交不亲和性是花粉与雌蕊相互作用的综合结果。植物花粉从落到柱头上到精细胞和卵细胞相互识别而融合的一系列过程中,任何一个环节出现抑制性障碍,则不能完成受精过程,表现为自交不亲和<sup>[37]</sup>。

铁军等<sup>[38]</sup>对6种芦荟属植物的形态特征及生物学特性描述中可知道芦荟是自花不结实的植物,所以即使产生了可育的花粉和成熟的胚囊,也可能会因植株间密度不适、风力或采花昆虫等原因,自花授粉或相同基因型异花授粉,无法受精成功而产生种子。Spare A B<sup>[39]</sup>也曾从对库拉索芦荟的减数分裂及花粉的有丝分裂过程进行了观察,认为是芦荟自交不育是造成芦荟不结实的主要原因。

### 4 关于引种地芦荟不育的外界因素探讨

植物生殖生长需要其相应良好的营养和生态环境,

一旦环境发生变化,也可能影响生殖器官的分化和发育,最终导致不育。诱发植物不育现象的原因是很复杂的。就目前的报道来看有以下几种可能<sup>[40-44]</sup>,一是植物杂交导致的不育,这些杂交活动易造成杂种中来自父母本的核质不协调,诱发不育;二是由生理或遗传因素诱发产生的不育;三是营养和生态环境等外界因素诱发产生的不育等。

库拉索芦荟原产地在非洲的亚热带荒漠地带,主要是南非荒漠。这一地区气候的主要特征是干燥、降水量很少。年降水量一般不超过250~300 mm。同时,空气湿度低,一般相对湿度只有12%~30%。日照强,蒸发量大于降水量的数十倍。夏季温度高,平均可达40℃。此外温度的年较差和日较差也都很大。引种地位于河南新乡,属暖温带大陆季风性气候,春夏秋冬,四季分明;降水集中,雨热同季,年均降水量573.4 mm,年平均相对湿度在61%~83%,年均气温14℃。由于引种地区的气候条件与原产地差异很大,所以引种地芦荟的不育很大程度上是由外界因素诱发产生的。其中温度低,积温不能满足芦荟雌雄配子体发育需要,可能是引种地芦荟不能结实的主要原因。如温差、湿度、日照强度等的变化,引起植株内部生理生化代谢水平、营养与激素水平、酶活性等发生变化,在形态上表现为不能形成成熟的功能性雌配子体和花粉的败育,最终导致了引种地库拉索芦荟的不育。

### 参考文献

- [1] Gilbert M G, Demissew S. Notes on the genus *Aloe* in Ethiopia; misinterpreted taxa [J]. Kew Bull, 1992, 47(4): 647-653.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 14卷. 北京: 科学出版社, 1983.
- [3] 顾文祥. 芦荟种质资源的研究和利用[J]. 中国民族民间医学杂志, 1999, 39(2): 67-71.
- [4] Newton L E. A new species of *Aloe* (Aloaceae) on Pemba, with comments on section *Lomatophyllum* [J]. Castus and Succulent Journal, 1998, 70(1): 27-31.
- [5] Williamson G. A new Bulbine species (Asphodelaceae) from the Springbok area of northern [J]. Namaqualand, 1997, 34: 3-4.
- [6] Carter S, Reynolds T. *Aloe penduliflora* and *Aloe confusa* [J]. Kew Bull, 1990, 45(4): 647-651.
- [7] Judd W S. Asphodelaceae in the southeastern United States [J]. Harv. pap. bot (Harvard University Herbaria), 1997(1): 109-123.
- [8] 胡青, 高述民, 李凤兰. 植物雌性不育的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(1): 87-91.
- [9] 钟蓉, 肖郁明, 高方远, 等. 植物雌性不育的研究进展[J]. 大自然探索, 1998, 17(63): 75-79.
- [10] Rim Y W, Beuselinck P R, McGraw R L, et al. Megagametophyte development in *Lotus corniculatus* × *L. conimbricensis* and their protoplast fusion hybrid [J]. Lotus Newsletter, 1998, 19: 45-47.
- [11] Kazimierska E M, Kazimierska T. Cytoembryology of infertile segregants of the hybrid *Lupinus varius* L. × *L. digitatus* Forsk [J]. Journal of Applied Genetics, 1995, 36(3): 215-227.



- [12] Lillecrapp A M, Wallwork M A, Sedgley M. Female and male sterility cause low fruit set in a clone of the 'Trevatt' variety of apricot (*Prunus armeniaca*) [J]. *Scientia Horticulturae* Amsterdam, 1999, 82(3-4): 255-263.
- [13] 张宪省, 马小杰. 胚珠发育的分子基础[J]. *植物学通报*, 1998, 15(3): 1-5.
- [14] Martinis D D, Mariani C. Silencing gene expression of the ethylene-forming enzyme results in a reversible inhibition of ovule development in transgenic tobacco plants [J]. *Plant Cell*, 1999, 11(6): 1061-1071.
- [15] Carapetian J. Effects of safflower sterility genes on the inflorescence and pollen grains [J]. *Australian Journal of Botany*, 1994, 42(3): 325-332.
- [16] Ouyang X Z. Ultrastructure and AcPase ultracytochemical localization of the abortive functional megaspores in intersubspecific F1 hybrid rice (*Oryza sativa*) [J]. *Chinese Rice Research Newsletter*, 1996(4): 2-3.
- [17] Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development [J]. *Nature*, 1991, 353: 31-37.
- [18] Colombo L, Franken J, Koetje E, et al. The petunia MADS box gene FBP11 determines ovule identity [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(11): 1859-1868.
- [19] 马虹, 王迎春, 曹瑞, 等. 草蓍菊胚胎学研究 I-大、小孢子发生和雌、雄配子体发育[J]. *西北植物学报*, 2000, 20(3): 461-466.
- [20] 唐建军, 陈欣, 胡启东, 等. 水稻雌性不育材料 FS-1 胚囊败育的细胞学观察[J]. *实验生物学报*, 2002, 35(4): 313-318.
- [21] 唐源江, 叶秀麟, 曾庆文, 等. 观光木的大孢子发生和雌配子体形成[J]. *热带亚热带植物学报*, 2003, 11(1): 20-22.
- [22] 盛仙永, 刘文哲, 胡正海. 单叶血藤胚胎学研究 II-大孢子发生及雌配子体发育[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2005, 35(1): 63-68.
- [23] 陈晓静, 卢秉国, 申艳红. 番木瓜的大孢子发生与胚囊发育[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2005, 34(4): 46-49.
- [24] Schneitz K. The molecular and genetic control of ovule development [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 1999(2): 13-17.
- [25] 宿红艳, 王磊, 张宪省. 胚珠发育的分子机理[J]. *植物学通报*, 2005, 22(4): 396-407.
- [26] Gasser C S, Broadhvest J, Hauser B A. Genetic analysis of ovule development [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998, 49: 1-24.
- [27] 尹增芳, 樊汝汉. 鹅掌楸花粉败育过程的超微结构观察[J]. *植物资源与环境*, 1997, 6(2): 1-7.
- [28] 王福青, 王翠兰, 宋再华. 大白菜雄性不育系 88-3 花药和花粉发育的细胞形态学观察[J]. *西北植物学报*, 2001, 21(3): 570-574.
- [29] 卢永根, 冯九焕, 刘向东, 等. 水稻花粉及花药壁发育的超微结构研究[J]. *中国水稻科学*, 2002, 16(1): 29-37.
- [30] 孙春昀, 范昌发, 崔贵梅, 等. 光敏雄性不育谷子 683 小孢子败育途径观察[J]. *西北植物学报*, 2001, 21(6): 1117-1122.
- [31] 王祖秀, 彭正松, 何奕昆. 三叶半夏 (*Pinellia ternata*) 雄配子败育的遗传分析[J]. *作物学报*, 2000, 26(1): 83-88.
- [32] Brandham P E. Meiotic crossing-over between sites on opposite sides of the centromeres of homoeologues is frequent in hybrid *Aloeaceae* [J]. *Genome*, 1990, 33: 170-176.
- [33] Spare A B. Meiosis and Pollen Mitosis in *Aloe barbadensis* Mill [J]. *Cytopologia*, 1975, 40: 525-533.
- [34] 吕琳, 何聪芬, 刘家熙, 等. 芦荟的生物学特性研究进展[J]. *中国农学通报*, 2004, 20(6): 89-92, 127.
- [35] 张寿洲, 潘开玉, 张大明, 等. 矮牡丹小孢子母细胞减数分裂异常现象的观察[J]. *植物学报*, 1997, 39(5): 397-404.
- [36] 高新起, 王秀玲. 植物自交不亲和性[J]. *曲阜师范大学学报*, 1999, 2(2): 86-88.
- [37] 孟金陵. 植物生殖遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [38] 铁军, 金山, 白海艳, 等. 六种芦荟属 (*Aloe* L.) 植物的形态特征及生物学特性描述[J]. *晋东南师范专科学校学报*, 2004, 21(5): 7-10.
- [39] Spare A B. Meiosis and pollen Mitosis in *Aloe barbadensis* Mill [J]. *Cytopologia*, 1975, 40: 525-533.
- [40] 钟蓉, 肖郁明, 高方远, 等. 植物雌性不育的研究进展[J]. *大自然探索*, 1998, 17(63): 75-79.
- [41] Bramled D C, Johnson C J. Pollination in a slash pine seed orchard [J]. In 13th South For Imp Conf Proc, 1975, 5(4): 161-165.
- [42] Cechich R A. Ovule development and abortion in *Pinus banksiana* [M]. A Symposium on Flowering and Seed Development in Trees (Mississippi State Uni.), 1978: 33-39.
- [43] Flint F F. Cytochemical effects of indoleacetic acid and kinetin on megagametophytic development in *Lilium* [J]. *Phytomorphology*, 1967, 17: 462-469.
- [44] 王晓茹, 沈熙环. 对由胚珠败育和空粒引起油松种子园减产的分析[J]. *北京农业大学学报*, 1989, 11(3): 60-65.

## Analysis of the Mechanism of *Aloe* Sterility in Introduction Area

ZHAO Hong-yan

(Department of Life Science and Technology, Xinxiang University, Xinxiang, Henan 453002)

**Abstract:** *Aloe*, a kind of perennation evergreen plant, belongs to Liliaceae and is mostly originated in the Mediterranean, tropic and semitropical dry land in Africa. For containing great amount of anthraquinone substances in its leaves, it has been widely used in industry such as boopharmacy, chemical products, hairdressing and health care. Therefore, the *Aloe* is planted all over the world. However, in the north of China, the *Aloe* just flowers, but not fruits and seeds. This did not favor to the reproduction and breeding. The research on the mechanism of the sterility of the introduction *Aloe* provided the reference for the *aloe* reproduction and the breeding.

**Key words:** *Aloe vera* L.; introduction area; sterility