

板栗雄性不育研究进展

刘国彬, 兰彦平

(北京市农林科学院农业综合发展研究所, 北京 100097)

摘要:概述了板栗雄性不育的研究进展,包括板栗雄性不育的细胞学研究,生理生化因素与板栗雄性不育的关系,以及不完全雄性不育板栗(短雄花序板栗)与细胞程序性死亡的关系及相关基因的定位、克隆等,并根据目前的研究现状,提出了板栗雄性不育研究中存在的问题及今后研究的重点。

关键词:板栗;雄性不育;进展

中图分类号:S6

文献标志码:A

论文编号:2011-0429

Advances in Research on Male Sterility of Chinese Chestnut (*Castanea mollissima* Blume)

Liu Guobin, Lan Yanping

(Institute of Agricultural Integrated Development, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097)

Abstract: This paper reviews male sterility of *Castanea mollissima* from cytological research, the relationships between male sterility and physiological & biochemical factors, the relationships between programmed cell death (PCD) and short-catkin chestnut, and gene mapping and cloning, and so on. According to the present research situation, this paper puts forward some questions exist in the field and research emphasis of male sterility of *Castanea mollissima* in the future.

Key words: *Castanea mollissima*; male sterility; progress

0 引言

雄性不育指植物雌性生殖器官正常,但雄性生殖器官丧失生育能力,不能产生功能性花粉的现象,包括花粉或孢子的败育,雄蕊发育不正常等。雄性不育类型多样,有可遗传和不可遗传之分,不可遗传雄性不育的主要是由环境因素引起的,即环境饰变,一旦环境条件改变植物将恢复育性。可遗传的雄性不育根据其遗传特性,可分为细胞质雄性不育和核雄性不育2种,是由基因控制的可稳定遗传的,一般意义上雄性不育主要指可遗传的雄性不育。

雄性不育现象在许多植物中普遍存在,据 Kaul^[1]统计,已在43科、162属、617种植物中发现了雄性不育,随着不断的发现与探索,数量还会增多。果树中雄性不育现象也广泛存在,除在桃^[2-3]、梨^[4-5]、文冠果^[6]、杏^[7]、

枣^[8]、柑橘^[9-10]等果树中都发现雄性不育现象外,板栗中也发现不少雄性不育的自然变异资源。

板栗(*Castanea mollissima* Blume)是异花授粉植物,雄花败育不影响其正常结实,相反,利用板栗雄性不育进行杂交育种,既可以省去去雄手续,保证杂种的纯度,同时也降低了树体的营养消耗,在生产中具有重大的现实意义。笔者就国内外板栗雄性不育的研究进展作一简要概述,以期今后板栗雄性不育的深入研究提供参考,同时也期望有助于使雄性不育材料更好的应用于板栗育种和生产实践。

1 雄性不育板栗及其形态特征

雄性不育现象在栗属植物及其杂交后代中普遍存在。Mckay^[11]较早在日本栗(*C. crenata* Sieb. et Zucc.)中发现完全雄性不育株,接着在欧洲栗(*C. sativa* Mill.)、

基金项目:北京市农林科学院常规育种财政专项“果树及林木种质资源保存与评价”(2010-2011);北京市农村经济研究中心项目“北京山区特色林果资源整理与利用示范”(PXM2010-146202-107320)。

第一作者简介:刘国彬,男,1984年出生,河南安阳人,研究实习员,硕士,研究方向为果树种质资源及遗传育种。通信地址:100097北京市海淀区曙光花园中路9号,北京市农林科学院农业综合发展研究所, E-mail: liuguobin_1009@163.com。

通讯作者:兰彦平,女,1971年出生,山西岚县人,副研究员,研究方向为果树种质资源及遗传育种。通信地址:100097北京市海淀区曙光花园中路9号,北京市农林科学院农业综合发展研究所, Tel: 010-51503603, E-mail: lanyanping2000@126.com。

收稿日期:2011-02-23, **修回日期:**2011-04-08。

欧洲栗(*C. sativa*)×美洲栗(*C. dentata* Borkh)杂交后代中也发现雄性不育现象。在中国板栗(*Castanea mollissima* Blume)中也发现有雄性不育类型^[12-15]。

板栗雄性不育在形态上主要表现为纯雄花序长度和粗度生长缓慢,明显小于正常雄花序,且纯雄花序短小,尚不能看出雄花簇时即萎焉脱落,而雌性生殖器官(或混合花序)发育正常,具有正常授粉受精能力,可产生正常坚果。根据板栗不育程度不同,可分为完全雄性不育和不完全雄性不育2种类型。不完全雄性不育在其发育过程中花序上部变黄,弯曲,最后枯死脱落,而基部花序正常发育且具有授粉能力,这种类型也被称为“短雄花序”^[13,16];完全雄性不育则表现为在纯雄花序长至1.5~2 cm时即完全萎焉脱落,混合花序先端的雄花序发育良好,可产生正常花粉^[12]。形态学观察发现,板栗雄性不育性状遗传稳定,不因嫁接、营养调节或环境条件改变而恢复育性^[12-15,17],从而确定为由基因改变引起的可遗传雄性不育。

2 雄性不育板栗的细胞学研究

板栗雄性不育的细胞学研究较为丰富,且大多集中于花粉母细胞减数分裂异常的研究。发育正常的板栗,雄性生殖器官发育过程分为雄花序原基形成期、花簇原基形成期、花朵原基形成期、花被原基形成期、雄蕊原基形成期和花药形成期6个时期^[18]。雄性不育板栗由于其败育程度和败育方式不同,发育过程也有所区别。刘丽华等^[19]对完全雄性不育板栗‘浮来无花’雄花序发育过程进行研究,与正常板栗相比,无花板栗雄花序发育同样经历6个阶段,但其发育进度缓慢,在分化过程中维管束发育异常而导致其雄花序脱落时花药仅稍膨大,未能形成成熟花粉囊并产生花粉母细胞,从而判断其为无花粉囊型不育;而不完全雄性不育板栗发育过程比较特别,纯雄花序上部花序仅发育至花被原基形成期时,其组织细胞便出现异常死亡现象,上部花序也随之变黄、歪曲,直至枯死脱落,但下部花序发育正常;超微结构观察进一步发现,不完全雄性不育板栗(短雄花序)雄花序上部组织细胞在衰亡过程中呈现有序的死亡变化,与植物细胞程序性死亡特征相似^[20-21],而细胞程序性死亡与雄性不育密切相关,且是小孢子败育的细胞学机理^[22],因而细胞程序性死亡同样可能是短雄花序纯雄花序上部花序败育的主要细胞学机理。

3 雄性不育板栗的生理生化研究

SOD(超氧化物歧化酶)、POD(过氧化物酶)、CAT(过氧化氢酶)是植物中活性氧清除系统重要的细胞保护酶。SOD的主要功能在于催化植物细胞内的O₂发

生歧化反应生成无毒的O₂和低毒的H₂O₂,从而清除O₂对植物细胞的危害;CAT能有效清除植物体内的H₂O₂,催化其分解成H₂O和O₂,是植物保护自身免受H₂O₂毒害的关键保护酶;POD同样具有清除植物体内H₂O₂的作用,它主要通过催化H₂O₂与其他底物反应而消耗H₂O₂,从而降低H₂O₂积累^[23]。POD活性变化与雄性不育存在一定关系,赵前程等^[24]认为POD活性与植物体内IAA(生长素)含量水平和乙烯自身催化合成有关,较高的POD活性可导致IAA氧化分解,促进乙烯合成,从而造成花椰菜小孢子败育和雄花序脱落。在雄性不育板栗的生化分析中也发现类似现象,完全雄性不育品种‘浮来无花’雄花序发育过程中POD、SOD和CAT活性始终高于对照^[25];雄花败育板栗叶片中POD、SOD和CAT活性也都高于对照品种^[26],推测POD、SOD和CAT等细胞保护酶活性在雄花序发育过程中发生异常变化是造成雄花序败育的生理原因。

此外,有研究认为植物雄性不育与内源激素之间也存在相关关系,IAA(生长素)亏损^[27],GA₃(赤霉素)、ABA(脱落酸)含量及其平衡关系发生异常变化^[28-31],ZT(细胞分裂素)含量过高^[32],均会导致雄性不育。韩宝等^[33]研究发现不完全雄性败育板栗(短雄花序)顶花芽IAA、GA₃、ABA含量极显著低于对照,ZT含量极显著高于对照,雄花序发育过程中GA₃含量极显著低于同期对照,且不同发育期败育板栗的ZT含量都高于对照,IAA/ABA、GA₃/ABA几种激素比例失调;刘丽华等^[19]则发现,雄性不育品种雄花序发育过程中,除IAA含量均低于可育品种外,GA₃含量、ZT含量、ABA含量各个时期均高于或显著高于可育品种,雄性不育品种雄花序中的IAA/ABA值及GA₃/ABA值均极显著或显著低于可育品种,GA₃/IAA值极显著或显著高于可育品种。

根据以上研究,可知雄花序发育过程中IAA含量低,GA₃和ABA含量过高或过低,ZT含量的增加以及GA₃/IAA,IAA/ABA及GA₃/ABA等比例失衡也是造成板栗雄性不育的主要原因。总之,细胞保护酶活性变化,内源激素含量及其平衡状况与板栗雄性不育密切相关,是影响雄花序败育的主要生理因素。

4 雄性不育板栗的分子生物学研究

板栗雄性不育研究大多集中于形态学、细胞学及生理生化研究,而关于板栗雄性不育的分子机理研究,及与雄性不育性状连锁的DNA标记及可能与不育有关的基因或DNA片段的鉴定及克隆等方面研究较少。栗属雄性不育的产生除自然变异外,种间杂交也是发生原因之一。Rutter等^[34]认为栗属种间杂种F₁通

常种子发芽率偏低且雄性不育; Bolvansky 等^[35]也发现, 种间杂种 *C. sczativa*(完全雄性不育)×*C. crenata* 的后代只出现了无雄蕊型, 不育类型没有出现分离现象。在雄性不育发生的分子机理方面, Soylu^[36]认为板栗的雄性不育是由 2 个近乎等位的隐性基因控制的, 并认为必需考虑 2 个基因的主效性关系和修饰基因的作用; Sisco 等^[37]的杂交结果发现美洲栗 (*Castanea dentata*)×中国板栗 (*Castanea mollissima*) 杂交, 所有 F₁ 后代表现雄性不育, 且不育性状稳定遗传, 其遗传特性属于细胞质雄性不育, 但其控制育性的核基因呈显性。

关于中国板栗雄性不育性状的分子生物学研究开展较晚, 但发展较为迅速, 取得了一定的成果, 主要集中于不完全雄性败育短雄花序板栗及与细胞程序性死亡相关基因的克隆及其表达分析的研究中。徐月等^[38]研究发现, 相比对照(同株未芽变部分), 短雄花序(部分败育板栗)AFLP 谱带出现质(片段有无及片段数)或量(片段强弱)的变化, 推测短雄花序芽变和对照之间的差异与其遗传物质改变相关, 其中一些可能与雄花序变短的结构基因相关。随后, 朱晓琴等^[39]利用抑制性消减杂交技术, 通过差异性序列分析得到了 6 类与板栗雄花序变短相关的基因, 其中蛋白激酶“receptor-like protein kinase”和“membrane associated guanylate kinase”及“cytochrome P450 monooxygenase”基因与细胞程序性死亡相关, 认为短雄花序的程序性死亡与信号转导密切相关, 并推测赤霉素可能与短雄花序细胞程序性死亡存在某种关系, 进而对赤霉素生物合成中的限速酶 GA20-氧化酶进行了克隆及序列分析^[40]; 相关研究还发现, 短雄花序中 *CmAPs* 表达量在花被原基形成期(败育发生期)显著低于正常花序中的表达量, 初步推断板栗雄花序短缩与 *CmAPs* 在花被原基形成期的表达受阻存在紧密联系, *CmAPs* 与短雄花序发育过程中的程序性死亡相关^[41]。此外, 通过对短雄花序差减文库克隆测序还获得了一种重要的抗逆基因脂质转运蛋白基因片段, 该脂质转运蛋白在板栗短雄花序芽变体重具有更高的表达量; 插入转运脂质蛋白基因并经诱导纯化而形成的融合蛋白 LTP 对板栗病原真菌孢子萌发具有显著的抑制功能^[42]。

5 问题与展望

板栗雄性不育资源的发现, 不但在板栗生产、杂交育种中具有重要实践意义, 而且也丰富了板栗雄性不育理论研究的内容。目前, 对不育类型雄蕊发育过程中细胞结构变化的研究较为清楚, 为进一步研究板栗雄性不育机制奠定了基础; 板栗雄性不育调控及外界环境对其影响仍停留在生理生化水平上, 虽然探明了

细胞保护性酶及内源激素与雄性不育的关系, 但对于与果树雄性不育相关的代谢物质, 如氨基酸^[43]、内源多胺^[44]、蛋白^[45]等方面的研究还是空白; 另外, 尽管在雄性不育控制基因研究、不完全雄花败育相关 DNA 或 cDNA 片段的克隆、序列分析方面取得了一些成绩, 但板栗, 尤其是中国板栗雄性不育分子机制仍不清楚, 板栗雄性不育的应用尚未起步, 相比水稻^[46]、油菜^[47]、玉米^[48]等作物, 以及桃^[49-50]、杏^[51-53]等果树, 板栗雄性不育研究还较为落后。因此, 作者认为, 板栗雄性不育的生理学机制研究还需进一步深入; 板栗雄性不育的调控机理及其可能的互作机制研究将为今后研究板栗花器官及花粉发育提供可能, 也将有利于通过生理调控培育更多的雄性不育材料用于板栗育种。

杂交育种是雄性不育的最终归宿, 雄性不育性状在杂种优势利用中具有重要作用, 目前大田作物雄性不育分子机理研究较为深入, 已经克隆到了玉米与矮牵牛胞质不育基因^[48]; 果树上, Chaparro^[49]、Werner^[50]等揭示了油桃不育性状的控制基因 *ps2*, 发现并证实了第一个桃的胞质雄性不育类型; Burgos 等^[51]证明了完全雄性不育杏品种 *Arrogante* 和 *Colorao* 由隐性单基因控制, 其分离规律符合核不育的遗传模式, 而日本杏 (*P.mume*) 的不育性则是由于核基因组与细胞质基因组的共同作用^[52], Badenes 等^[53]筛选到了与杏雄性不育性状连锁的分子标记。上述研究工作, 将为板栗雄性不育后期研究, 特别是板栗完全雄性不育的分子机理研究及其应用提供重要的参考价值。此外, 为了获得与不育性状紧密连锁的标记, 有效用于分子标记辅助选择, 进行不育基因的克隆、定位, 需要更多的雄性不育类型, 因此, 必须通过有效途径获得丰富多样的不育遗传材料, 建立板栗雄性不育的遗传群体, 这将是一个复杂而长期的工程。

参考文献

- [1] Kaul M L H. Male sterility in higher plants[M]. New York: Sperlinger-Verlag, 1988.
- [2] 王静如. 桃雄性不育研究[J]. 果树学报, 1985, 4: 28-31.
- [3] 罗来水, 肖德兴, 霍光华, 等. 桃雄性不育的表现形式及其败育途径[J]. 果树学报, 2000, 17(2): 89-96.
- [4] 郭艳玲, 刘招龙, 张绍铃. 新高及爱宕梨雄性不育特性及其败育的细胞学研究[J]. 果树学报, 2007, 24(4): 433-437.
- [5] 胡静静, 赵静, 沈向. 黄金梨雄性不育的细胞学研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(2): 185-188.
- [6] 郑彩霞, 李凤兰. 文冠果两性花花粉败育原因的进一步研究[J]. 北京林业大学学报, 1993, 15(1): 78-83.
- [7] 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]. *Sci Hort*,1999,82(3):255-263.
- [8] 王玖瑞,刘玲,刘孟军,等.枣树雄性不育新种质的获得[J].园艺学报,2006,33(2):374-377.
- [9] Yamamoto M, Matsumoto R, Yamada Y. Relationship between sterility and seedlessness in Citrus[J]. *J Japan Soc Hort Sci*,1995,64(1):23-29.
- [10] 蔡小东.柑橘雄性不育胞质杂种创造及相关基础研究[D].武汉:华中农业大学,2006.
- [11] Mckay J W. Male sterility in *Castanea*[J]. *Amer. soc. Hort. Sci. Proc.*1939,37:509-510.
- [12] 王云尊,马元考,陈维峰.珍惜板栗新品种浮来无花的性状及栽培技术[J].林业科技开发,2001,15(5):31-32.
- [13] 冯永庆,秦岭,杨东升,等.板栗短雄花序芽变的主要特征特性研究[J].北京农学院学报,2005,20(3):1-5.
- [14] 刘丽华.板栗雄性不育生理学机制研究[D].保定:河北农业大学,2007.
- [15] 于丽霞,齐永顺,马宏峰,等.雄花败育板栗形态特征调查与分析[J].北方园艺,2010,16:12-14.
- [16] 冯永庆,杨东生,沈元月,等.板栗短雄花序芽变花粉特性研究[J].北京农学院学报,2008,23(2):1-4.
- [17] 曹波,孙保平.板栗短雄花序芽变与母树的形态和营养差别研究[J].北方园艺,2008,12:14-16.
- [18] 白志英,路丙社,张林平,等.板栗雄花分化研究[J].经济林研究,2000,8(3):11-12.
- [19] 刘丽华,李保国,顾玉红,等.雄性不育板栗雄花序败育过程中的形态学特征及内源激素含量的变化[J].中国园艺文摘,2009,4:21-27.
- [20] 张靖,董清华,杨凯,等.板栗短雄花序异常死亡的超微结构观察[J].园艺学报,2007,34(3):605-608.
- [21] 赵扬,冯永庆,秦岭.板栗芽变短雄花序发育的细胞形态学研究[J].北京农学院学报,2009,24(2):9-11.
- [22] 孙天恩,杜红祥,周洪生.雄性不育与细胞程序性死亡[J].植物学通报,1996,13(专辑):3-5.
- [23] 陈云飞,强继业.“ γ ”射线辐照对植物保护性酶活性和MDA含量的影响[J].安徽农业科学,2006,34(10):2034-2035.
- [24] 赵前程,耿宵,陈雪平,等.花椰菜雄性不育系小孢子发育过程及其POD活性[J].华北农学报,2002,17(2):108-111.
- [25] 刘丽华,李保国,齐国辉,等.雄性不育板栗雄花序败育与几种酶活性剂MDA含量的关系[J].林业科学,2007,43(4):121-124.
- [26] 于丽霞,齐永顺,张京政,等.板栗雄花败育部分生理生化特性[J].中国农学通报,2010,26(12):178-181.
- [27] 李英贤,张爱民.植物雄性不育激素调控的研究进展[J].中国农学通报,1995,11(3):25-28.
- [28] 黄少白,周燮.水稻细胞质雄性不育内源 GA_{1+4} 和IAA的关系[J].华北农学报,1994,9(3):16-20.
- [29] 任喜波,戴希尧,魏毓堂,等.萝卜金花菜细胞雄性不育系与其保持系内源激素含量比较研究[J].吉林农业大学学报,2006,28(4):407-410.
- [30] 李六林,吴巨友,张绍玲.‘新高’梨雄性不育与IAA和ABA含量变化的关系[J].园艺学报,2006,33(6):1291-1294.
- [31] 王玖瑞,梁海永,刘孟军.枣雄性不育种质胚败育与内源激素变化的关系[J].植物遗传资源学报,2008,9(3):367-371.
- [32] 高夕全,张子学,夏凯,等.雄性不育辣椒中几种内源植物激素的含量变化简报[J].植物生理学通讯,2001,37(1):31-32.
- [33] 韩宝,冯永庆,秦岭.板栗短雄花序发育期内源激素变化研究[J].园艺学报,2009,3(增刊):1928.
- [34] Rutter P A, Miller G, Payne J A. Chestnuts (*Castanea*) [J]. *Acta Hort*,1990,290:761-788.
- [35] Bolvansky M, Mendel L. Inheritance of some fruit and flower characteristics in full sib progenies of chestnut[J]. *Acta Hort*,1999,494:339-344.
- [36] Soyul A. Heredity of male sterility in some chestnut cultivars (*Castanea sativa* Mill.) [J]. *Acta Hort*,1992,317:181-185.
- [37] Sisco P H, Hebard F V, Shi Y, et al. Cytoplasmic male sterility resulting from interspecific crosses in chestnut (*Castanea* SPP.) [C]. *Plant and Animal Genome IX conference*,2001
- [38] 徐月,曹庆芹,冯永庆,等.短雄花序板栗芽变的AFLP分析[J].园艺学报,2006,33(6):1321-1324.
- [39] 朱晓琴,沈元月,冯永庆,等.应用抑制性消减杂交分离板栗短雄花序芽变相关基因[J].果树学报,2009,26(3):340-343.
- [40] 鲍晓兰,杨凯,冯永庆,等.板栗GA20-氧化酶基因的克隆及序列分析[J].北京农学院学报,2009,24(2):5-8.
- [41] 段续伟,邓舒,沈元月,等.板栗CmAPs基因的克隆及在芽变短雄花序中的表达分析[J].林业科学,2010,46(12):49-55.
- [42] 唐征,杨凯,冯永庆,等.板栗脂质转运蛋白基因的克隆及表达[J].林业科学,2010,46(4):43-48.
- [43] 罗来水,霍光华,刘勇,等.桃雄性育性与花器官内游离氨基酸含量的关系[J].果树学报,2000,17(4):255-260.
- [44] 李六林,张绍玲,郭艳玲.‘新高’梨花粉败育与内源多胺含量变化的关系[J].园艺学报,2007,34(2):301-304.
- [45] 马凯,高述民,胡青,等.文冠果雄蕊发育的解剖学及雄性不育蛋白的研究[J].北京林业大学学报,2004,26(5):40-43.
- [46] 谭何新,文铁桥,张大兵.水稻花粉发育的分子机理[J].植物学通报,2007,24(3):330-339.
- [47] 王道杰,王灏,杨翠玲,等.油菜雄性不育分子机理研究进展[J].中国农学通报,2001,17(2):43-46.
- [48] Schnable S, Wise P. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration[J]. *Trends Plant Sci*,1998,3:175-180.
- [49] Chaparro J X, Werner D J, Malley D, et al. Targeted mapping and linkage analysis of morphological, isozyme, and RAPD markers in peach[J]. *Theor Appl Genet*,1994,87:805-815.
- [50] Werner D J, Creller M A. Genetic studies in peach: Inheritance of sweet kernel and male sterility[J]. *J Amer Soc Hort Sci*,1997,122(2):215-217.
- [51] Burgos L, Ledbetter C A. Observations on inheritance of male sterility in apricot[J]. *Hort Sci*,1994,29(2):127.
- [52] Yaegaki H, Miyake M, Haji T, et al. Inheritance of male sterility in Japanese apricot (*Prunus mume*) [J]. *Hort Sci*,2003,38(7):1422-1423.
- [53] Badenes M L, Hurtado M A, Sanz F, et al. Searching for molecular markers linked to male sterility and self-compatibility in apricot[J]. *Plant Breed*,2000,119(2):157-160.