

植物无融合生殖的遗传机理和分子机理的研究进展

马三梅^{1,2},王永飞¹,叶秀琳²,赵南先²,梁承邨²

(1.烟台师范学院生物系,山东烟台264025;2.中国科学院华南植物研究所,广东广州510650)

摘要:利用植物无融合生殖固定杂种优势,已被认为是一条生产杂交种子的高效途径。近年来,由于RAPD、RFLP和差异显示等技术的应用,已使植物无融合生殖的研究面貌一新。特别是一系列与无融合生殖有关的特异DNA片段的发现,为深入了解其遗传机理和分子机理增加了大量新的知识,这些知识无疑为定位和克隆植物无融合生殖基因,进而利用遗传操作的手段来改变植物的生殖方式积累了必要的理论基础。本文对植物无融合生殖遗传机理和分子机理的研究进展作了综述。

关键词:无融合生殖;遗传机理;分子机理

中图分类号:Q944.47

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2002)02-0197-03

Genetic Mechanism and Molecular Basis of Apomixis in Plant

MA San-mei^{1,2}, WANG Yong-fei¹, YE Xiu-lin², ZHAO Nan-xian², LIANG Cheng-ye²

(1. Department of Biology, Yantai Normal University, Yantai, Shandong 264025, China;

2. South China Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510650, China)

Abstract: Apomixis allows the establishment of genetically stable seed propagating clones of crops, which can perpetuate themselves across countless sporophytic generations. This asexual mode of reproduction, which naturally occurs in some angiosperms, may prove to be an unrivalled tool to improve crop yields. The current state of knowledge on the molecular and genetic basis of apomixis is reviewed.

Key words: apomixis; genetic mechanism; molecular mechanism

植物无融合生殖是指不经过雌雄配子融合而产生种子的一种特殊的生殖方式。它最早是由 John Smith 于 1841 年在 *Alchornea ilifolia* (即 *Coelebogynne ilici folia*) 中发现的。随后,科学家们从分类、遗传进化、胚胎发育、形态发生、生理生化和育种等方面对它进行了大量的研究,为揭示其机理奠定了一定的基础^[1]。根据无性幼胚起源细胞发生的部位和幼胚的发育方式,植物无融合生殖可分为 4 种类型,即无孢子生殖、二倍体孢子生殖、不定胚生殖和单性生殖,单性生殖包括孤雌生殖和孤雄生殖。随着遗传学和分子生物学的发展,无融合生殖已成为生物学中较为活跃的研究领域之一。与经雌雄配子融合而产生种子的有性生殖方式相比,植物无融合生殖不经过雌雄配子融合而产生种子,能使基因型的杂合性得以保持,从而可固定杂种优势,因此在农业生产上具有重要的意义和潜力。近几年把无融合生殖基因转入作物已成为研究的热点^[2~5]。本文对植物无融合生殖的遗传机

理和分子机理的研究进展作一综述。

1 植物无融合生殖的遗传机理研究进展

目前有关植物无融合生殖的遗传学机理,主要有两种观点:一种观点认为植物无融合生殖是由单基因控制的;另一种观点认为植物无融合生殖是由多基因控制的。

1.1 单基因控制理论

Savidan 等通过研究发现,在进行无孢子生殖的大黍 (*Panicum maximum*) 中,无融合生殖是受 1 个显性基因 A 控制的,该基因独立于有性生殖基因而存在,控制着无融合生殖原始细胞的分化、分裂、胚囊形成等一系列过程^[6]。Pessino 等把有性生殖的 *Brachiaria ruziziensis* 和无孢子生殖的珊状臂形草 (*Brachiaria brizantha*) 进行杂交,然后对杂交后代的生殖方式进行观察,结果发现珊状臂形草的无融合生殖是由 1 个显性基因控制的^[7]。Gustine 等的研究结果发

收稿日期:2001-04-22;修回日期:2001-07-10

基金项目:国家自然科学基金项目(3970086)和中科院“九五”重大项目(K2952S1-112)及烟台师范学院博士科研启动基金项目(200130)

作者简介:马三梅(1971-),女,副教授,博士,河南平顶山人,专业方向:植物生殖生物学。Tel:0535-6672776

E-mail:wang.yongfei@263.net

现, *Pennisetum ciliare* 的无孢子生殖也是由 1 个基因控制的^[8]。Leblanc 等发现, 在二倍体孢子生殖的摩擦禾 (*Trip-sacum dactyloides*) 和玉米 (*Zea mays*) 杂交的 F_1 中, 二倍体孢子生殖和有性生殖的分离比例为 1:1, 从而推断摩擦禾的二倍体孢子生殖是由 1 个显性基因控制的^[8]。

1.2 多基因控制理论

在蒲公英 (*Taraxacum*) 有性生殖二倍体和无融合生殖三倍体的杂交实验中发现, 无融合生殖是由 1 个以上的基因控制的, 而且控制无融合生殖的两个过程——二倍体孢子形成和孤雌生殖的基因是不连锁的, 可能有 7 个位点与无融合生殖有关^[10~11]。在绿毛茛蓼 (*Cenchrus ciliaris*) 中, 无融合生殖则是由 A 基因和 B 基因共同控制的, B 基因是 A 基因的上位基因, 只有基因型为 A-bb 的植株才表现为无融合生殖^[12]。Daniel 等通过对摩擦禾无融合生殖的四倍体和有性生殖的二倍体进行杂交发现, 无融合生殖可能是由连锁的多个基因控制的^[13]。Martinez 等用自交不亲和的 *Paspalum ionanthum* 四倍体与兼性无融合生殖的 *P. cromyorrhizon* 杂交后, 得到 169 个杂种, 其中无孢子生殖有 127 个, 无孢子生殖和有性生殖之比为 3:1, 说明有性生殖的母本基因型是 AAAa, 而无融合生殖的父本基因型为 Aaaa, 其中 A 控制无融合生殖。并且无融合生殖的表达至少需要 2 个隐性基因和 1 个显性基因的共同作用才行^[14]。在金发状毛茛 (*Rununculus auricomu*) 中, 无融合生殖是由 2 对连锁基因控制的, 其中 1 对显性基因为 *Eis*, 起上位作用, 它一旦启动将促进其他基因的表达, 导致无融合生殖的发生^[15]。在毛茛属 (*Ranunculus*) 和山柳菊属 (*Hieracium*) 中, A 基因控制无融合生殖, 其作用是保证珠心细胞不进行减数分裂形成胚囊和产生不经受精作用而形成的种子。a 基因的作用是促使减数分裂进行, 形成有性胚囊, 产生经受精作用而形成的种子。而且在多倍体中随着 a 基因的数目的增多, 无融合生殖的频率下降。说明无融合生殖是由主效基因和修饰基因共同控制的^[16~17]。Richard 等用一年蓬 (*Erigeron annuus*) 的三倍体和有性生殖的二倍体粗糙飞蓬 (*E. strigosus*) 杂交得到了 130 个 F_1 , 对 F_1 进行 AFLP 分析, 结果发现在 387 个片段中有 4 个片段与孤雌生殖有关, 11 个片段与二倍体孢子形成有关。从而说明孤雌生殖与二倍体孢子形成是由不同的基因控制的, 而且是不连锁的^[18]。郭德栋等在甜菜 (*Beta vulgaris*) 的研究中发现, 小叶型单体附加系和栽培型单体附加系的专性无融合生殖分别是由 2 个定位在 5 号和 9 号染色体的无融合生殖基因控制的^[19]。

2 分子机理的研究

近年来由于 RAPD、RFLP 和差异显示等技术的应用, 已使植物无融合生殖的研究面貌一新, 特别是一系列与无融合生殖有关的特异 DNA 片段的发现, 为深入了解其遗传机理和分子机理增加了大量新的知识, 这些知识无疑为定位和

克隆植物无融合生殖基因, 进而利用遗传操作的手段来改变植物的生殖方式积累了必要的理论基础。

2.1 与无融合生殖有关的 RAPD、RFLP 标记

Ozias 等对御谷 (*Pennisetum glaucum*) 和非洲狼尾草 (*P. squamulatum*) 杂交得到的 397 个杂种进行 RAPD 和 RFLP 分析, 结果发现有 11 个 RAPD 片段和 1 个 RFLP 片段在无融合生殖植株中存在, 而在有性生殖的植株中不存在。把这些 RAPD 和 RFLP 片段进行序列分析, 依据序列设计引物, 再进行 PCR 扩增, 以这些扩增片段为探针与 397 个杂种总 DNA 进行 Southern 杂交。结果表明, 在这 12 个标记中有 2 个是无融合生殖植株所特有的^[20]。Roche 等以从非洲狼尾草分离出的无融合生殖植株所特有的 12 个分子标记为探针进行分子杂交, 结果发现有 11 个分子标记在绿毛茛蓼草的无融合生殖后代中存在, 而在有性生殖后代却不存在, 另外 1 个在两者中均发现。这就表明虽然绿毛茛蓼草基因组较小, 非洲狼尾草基因组较大, 但是与无融合生殖有关的特定区域在两者中是高度保守的^[21]。无融合生殖基因的保守性, 以及分子标记的发现对无融合生殖基因的克隆奠定了基础。Masumi 等在大黍的研究中发现, 在 16 个引物中有 8 个可以区分无融合生殖和有性生殖植株。其中 OPS14 为引物扩增得到一个 0.9 kb 的片段是无融合生殖植株所特有的^[22]。Grimanelli 等在摩擦禾中也发现了 1 个与二倍体孢子生殖紧密连锁的 RFLP 片段^[23]。Pupilli 等用 *Paspalum simplex* 的专性无融合生殖四倍体和用秋水仙素加倍的有性生殖四倍体进行杂交, 然后对杂种后代进行 RFLP 分析, 结果发现无融合生殖表现出四体遗传的方式^[24]。在有性生殖的 *Brachiaria ruziziensis* 和无孢子生殖的珊状臂形草的杂交后代中, Pessino 等用 184 个引物进行 RAPD 分析, 发现 OPC04 引物扩增后得到一个与无融合生殖有关的特异片段; 用 RFLP 分析, 发现有 2 个标记 umc147 和 umc72 与无孢子生殖有关, 并且将这 2 个标记定位于珊状臂形草的 1 号染色体长臂末端和 5 号染色体短臂^[7]。

2.2 cDNA 的差异显示

Chen 等从大黍的 cDNA 文库中筛选出 1 个在无融合生殖植株花序中特异表达的 cDNA 片段 A2-134。序列分析表明, 该片段编码 1 个由 305 个氨基酸组成的分子量为 34.2 kDa 的蛋白质。这是第 1 个分离出来的与无融合生殖胚囊形成有关的 cDNA^[25]。Vielle 等在 *Cenchrus ciliaris* 的有性生殖胚囊中发现了 1 个特异 cDNA 片段, 在其无融合生殖胚囊中发现了 2 个特异的 cDNA 片段^[26]。

3 尚待解决的问题和展望

综上所述, 控制无融合生殖的基因数目及其显隐性的问题, 在不同植物, 甚至在同一植物中都得到了不同的结果。这就需要对植物的无融合生殖遗传机理进行进一步的深入的研究。虽然利用分子生物学方法对植物无融合生殖的研究, 使人们对它的认识有了长足的进展。但是以往研究主要

是通过常规杂交法将无融合生殖植物和有性生殖植物进行杂交,对亲本和后代进行 RAPD 和 RFLP 等分析,找到一些与无融合生殖有关的片段。但无融合生殖是由于基因表达受到抑制的结果,还是由于基因表达引起的? 目前的研究仍不能回答。因此今后需重点从以下几方面作进一步的研究: (1) 利用已有的研究结果,对各种具有无融合生殖特性的植物进行 RAPD、RFLP 和 AFLP 等分析,观察与无融合生殖有关的特异片段是否具有保守性。(2) 对无融合生殖植物的基因表达进行研究,确定无融合生殖是由于基因表达受到抑制引起的,还是由于基因表达引起的。

我们深信,随着对植物无融合生殖的遗传学和分子生物学的深入研究,必将为揭示植物无融合生殖的机理提供更有力的证据,为人们定位和克隆植物无融合生殖基因,进而利用遗传操作的手段来改变植物的生殖方式积累必要的理论基础。从而加速利用无融合生殖固定杂种优势设想的实现。

参 考 文 献 (References):

- [1] Czapik R. Apomixis in monocotyledons. In : Grasses systematics and evolution (Ed by Jacobs S W L and Everett J) [M]. CSIRO, Melbourne, 2000, 316~321.
- [2] 黄群策. 禾本科植物无融合生殖的研究进展[J]. 武汉植物学研究, 1999, 17(增刊): 39~44.
- [3] 孙敬三, 刘永胜, 辛化伟. 被子植物的无融合生殖[J]. 植物学通报, 1996, 13(1): 1~8.
- [4] 袁隆平. 利用无融合生殖改良作物的潜力[J]. 杂交水稻, 1988 (4): 1~3.
- [5] 高建伟, 李忠德, 孙其信, 等. 植物无融合生殖研究进展[J]. 生物工程进展, 2000, 20(5): 43~47.
- [6] Savidan Y. Chromosomal and embryological analyses in sexual apomictic hybrids of *Panicum maximum* Jacq[J]. Theor Appl Genet, 1980, 57: 153~156.
- [7] Pessino S C, Oetiz J P A, Leblanc O, et al. Identification of a maize linkage group related to apomixis in *Brachiaria*[J]. Theor Appl Genet, 1997, 94: 439~444.
- [8] Gustine D L, Sherwood R T, Gounaris Y, et al. Isozyme, protein, and RAPD markers within a half-sib family of buffelgrass segregating for apospory[J]. Crop Sci, 1996, 36(3): 723~727.
- [9] Leblanc D, Grimanelli D, Gonzalez Y. Detection of the apomictic mode of reproduction in maize \times *Tripsacum* hybrids using maize RFLP markers[J]. Theor Appl Genet, 1995, 90: 1198~1203.
- [10] Inge C Q T, Peter J V D. Crosses between sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum*) I. The inheritance of apomixis[J]. Heredity, 1999, 83: 707~714.
- [11] Peter J V D, Inge C Q T, Matthieu F, et al. Crosses between sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum*) II. The breakdown of apomixis[J]. Heredity, 1999, 83: 715~721.
- [12] Taliaferro C M, Bashaw E C. Inheritance and control of obligate apomixis in breeding buffelgrass (*Pennisetum ciliare*) [J]. Crop Sci, 1966, 6: 473~476.
- [13] Daniel G, Olivier L, Elsa E, et al. Mapping diplosporous apomixis in tetraploid *Tripsacum*: one gene or several genes[J]. Heredity, 1998, 80: 33~39.
- [14] Martinez E J, Quarin C L, Hayward M D. Genetic control of apospory in apomictic *Paspalum* species[J]. Cytologia, 1999, 64 (4): 425~433.
- [15] Nogler G A. Genetics of apomixis in *Rununculus auricomus*[J]. Bot Helv, 1984, 94: 411~422.
- [16] Anna M K, Susan D J, Ross A B. Apomixis is not developmentally conserved in related genetically characterized *Hieracium* plants of varying ploidy[J]. Sex Plant Reproduction, 2000, 12: 253~266.
- [17] Garcia R, Asins M J, Fomer J, et al. Genetic analysis of apomixis in Citrus and Ponclrus by molecular markers[J]. Theor Appl Genet, 1999, 99(3/4): 511~518.
- [18] Richard D N, Loren H R. Two independent loci control agamospermy (Apomixis) in the triploid flowering plant *Erigeron annuus*[J]. Genetics, 2000, 155: 379~390.
- [19] 郭德栋, 康传红, 刘丽萍, 等. 借助于单体附加系传递率分析进行无融合生殖基因定位[J]. 云南大学学报(自然科学版), 遗传学专辑, 1999, 21: 179~181.
- [20] Ozias P, Roche D, Hanna W W. Molecular mapping of apomixis in *Pennisetum*. In utilization of transgenic plant and genome analysis in forage crops, Proceedings of an international workshop held at the national grassland research institute [M]. Nishinasuno, Tochigi, Japan, 1998: 17~18.
- [21] Roche D, Cong Pei Sheng, Chen Zhen Bang, et al. An apospory-specific genomic region is conserved between buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.) and *Pennisetum squamulatum* Fressen [J]. Plant Journal, 1999, 19(2): 203~208.
- [22] Masumi E, Yamamoto T, Kobayashi M, et al. Molecular markers of apomixis in guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.). In utilization of transgenic plant and genome analysis in forage crops, Proceedings of an international workshop held at the national grassland research institute [M]. Nishinasuno, Tochigi, Japan, 1998: 20~21.
- [23] Grimanelli D, Leblanc O, Perotti E, et al. Studies on the genetic control of apomixis in *Tripsacum*[J]. Maize Genetics Cooperation Newsletters, 1996, 70: 38~39.
- [24] Pupilli F, Caceres M E, Quarin C L, et al. Segregation analysis of RFLP markers reveals a tetrasomic inheritance in apomictic *Paspalum simplex*[J]. Genome, 1997, 40: 822~828.
- [25] Chen LanZhuang, Miyazaki C, Kojima A, et al. Isolation and characterization of a gene expressed during early embryo sac development in apomictic guinea grass (*Panicum maximum*) [J]. Journal of Plant Physiology, 1999, 154, (1): 55~62.
- [26] Vielle J P, Nuccio M L, Budiman M A, et al. Comparative gene expression in sexual and apomictic ovaries of *Pennisetum ciliare* [J]. Plant Molecular Biology, 1996, 32(6): 1085~1092.