

# 芦荟属植物种间杂交及其 F<sub>1</sub> 代 POD 同工酶鉴定

铁军<sup>1</sup>, 金山<sup>1</sup>, 白海艳<sup>1</sup>, 刘瑞祥<sup>1</sup>, 吴志萍<sup>2</sup>

(1. 长治学院生化系, 山西长治 046011; 2. 内蒙古农业大学林学院, 内蒙古呼和浩特 010019)

**摘要:** 以芦荟属植物元江芦荟和皂质芦荟为亲本进行远缘有性杂交试验。正交对 3 株 103 朵小花进行授粉, 获得 7 枚果实, 平均结实率为 6.80%; 反交对 2 株 88 朵小花授粉, 获得 5 枚果实, 平均结实率为 5.88%。获得了 19 株 F<sub>1</sub> 代实生苗, 并对亲本和 F<sub>1</sub> 代实生苗以及库拉索芦荟、华芦荟等 5 种芦荟属植物进行了过氧化物酶同工酶(POD)的比较研究, 结果显示, 5 种芦荟种间的 POD 同工酶酶谱具有较高的相似程度, 同时各种又具有各自的特征酶带, 很容易区分。特别是 F<sub>1</sub> 代实生苗的酶谱与父母本的酶谱有显著不同的酶带, 证明产生了新的中间类型。

**关键词:** 芦荟属; 种间杂交; F<sub>1</sub> 代实生苗; POD 同工酶

**中图分类号:** Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)05-0449-04

## The interspecific hybridization and identification of F<sub>1</sub> hybrids by POD isozyme application in *Aloe*

TIE Jun<sup>1</sup>, JIN Shan<sup>1</sup>, BAI Hai-yan<sup>1</sup>,  
LIU Rui-xiang<sup>1</sup>, WU Zhi-ping<sup>2</sup>

(1. Department of Biochemistry, Changzhi College, Changzhi 046011, China; 2. College of Forestry, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China)

**Abstract:** In the paper, we described a distant sexual hybridization experiment in which 19 F<sub>1</sub> seedlings were generated from maternal plant *Aloe yuanjiangensis* Xiong, Zheng et Liu of *Aloe* L. and paternal plant *A. saponaria*(Ait.)Haw. 7 fruits were obtained from direct cross, average fructificative rate was 6.80%; 5 fruits were obtained from reciprocal cross, average rate was 5.88%. By the comparing research of peroxide isoenzyme(POD) on the 5 species of plants of *Aloe* L.; the paternal and maternal plants, F<sub>1</sub> seedlings, *A. vera* L., *A. chinensis*(Haw.)Baker, etc. It is easy to distinguish the respective characteristic enzyme zones of the 5 species of plants of *Aloe* L. although their enzyme spectrums are rather similar. Particularly, the distinctive differences between F<sub>1</sub> seedlings and their paternal and maternal plants proved that the new intermediate types were generated.

**Key words:** *Aloe*; interspecific hybridization; F<sub>1</sub> seedling; POD isozyme

芦荟属单子叶植物百合科(Liliaceae)芦荟属(*Aloe* L.), 为多年生常绿多肉植物(汪发瓚等, 1980), 集食用、药用、化妆品原料、保健、观赏为一体, 具有重要经济价值(熊佑清等, 1998, 1999, 2002)。综合国内外现有的研究成果, 主要集中在芦荟化学成分的提取、分离、鉴定和临床药理等方面

(张振杰等, 1990; Reynolds, 1985, 1986), 而对芦荟杂交育种的研究尚未见报道。

元江芦荟(*A. yuanjiangensis* Xiong, Zheng et Liu)是我国云南元江地区特产的芦荟, 株型松散, 叶面宽、叶肉厚, 叶呈浅绿色, 上有白色斑点, 随叶片生长白色斑点逐渐消失。产量高, 抗病抗寒性弱。皂

收稿日期: 2004-07-19 修订日期: 2005-01-18

作者简介: 铁军(1974-), 男, 蒙古族, 内蒙古通辽市人, 讲师, 硕士, 主要从事植物学、植物生理学教学与研究 E-mail: tiejun74@eyou.com

质芦荟 (*A. saponaria* (Ait.) Haw.) 叶半直立或平行, 草绿色, 叶片有美丽的白色斑点及条纹。具有较高的观赏、药用价值, 抗病性和抗寒性强(熊佑清, 1999, 2002)。本文作者经过多年的观察发现, 在北方温室内(内蒙古师范大学生物系温室)皂质芦荟有自花结实的习性, 而元江芦荟只开花不结实, 但两种芦荟的花粉都具有一定的活性以及柱头也具较高的可授性(铁军等, 2004)。自 2001 年开始, 以元江芦荟和皂质芦荟为亲本进行了种间远缘有性杂交试验, 试图通过此途径选育出具有观赏性更强(株型直立、叶片具有斑纹)的芦荟新品种或新类型, 丰富我国的芦荟种质资源库。同时对部分芦荟、亲本及杂种后代进行了同工酶的分析。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

供试种芦荟均栽培在内蒙古师范大学生物系温室内。共有 5 种, 分别为中国芦荟(华芦荟) (*A. chinensis* (Haw.) Baker)、元江芦荟、皂质芦荟、库拉

索芦荟 (*A. vera* L.) 和杂种 (*A. yuanjiangensis* × *A. saponaria*)。

### 1.2 实验方法

于 2001 年 3~5 月, 以芦荟属植物元江芦荟作为母本, 皂质芦荟作父本进行了远缘有性杂交试验。将选定母本植株在开花前一天人工去雄套袋, 开花后两天将刚要散粉的父本植株的花粉涂在柱头上, 继续套上袋, 待花柱及柱头出现枯萎后去袋(黄苏珍等, 1996, 1998)。将获得的种子过 1 周后立即播种于小型塑料口杯内, 10~20 d 后长出  $F_1$  代实生苗(铁军, 2003)。

以双亲、 $F_1$  代实生苗、库拉索芦荟及华芦荟同龄的健康根尖 2~5 cm 为材料, 分析根内的过氧化物酶(POD)同工酶, 重复 10 次; 酶的提取为 Tris-HCl (pH7.1) 缓冲液。采用不连续的聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳 (PAGE)。分离胶浓度为 7% (pH8.9), 浓缩胶浓度为 2.5% (pH6.7), 电极缓冲液为 Tris-Gly (pH=8.3), 电压 220 V, 染色采用醋酸苯胺法(胡能书等, 1985)。根据 Rf 值大小和酶谱强弱绘模式图, 并做干板及拍照。

表 1 2001 年 3~5 月杂交试验结果  
Table 1 Results of hybridization in 2001

杂交方式 Crossing mode	序号 No.	去雄日期 Date of castrate	授粉日期 Date of pollination	天气情况 Weather (°C)	结果日期 Date of fruits	果实大小 Polar axis × equatorial axis (cm)	测量日期 Date of measure
正交 Direct cross	1	2001/4/6	2001/4/8	阴 Cloudy21	2001/4/12	1.3 × 0.6	2001/4/28
	2	2001/4/6	2001/4/8	阴 Cloudy21	2001/4/12	1.3 × 0.5	2001/4/28
	3	2001/4/7	2001/4/8	阴 Cloudy21	2001/4/12	1.2 × 0.5	2001/4/28
	4	2001/4/8	2001/4/10	晴 Sunny23	2001/4/16	1.0 × 0.5	2001/4/28
	5	2001/4/13	2001/4/15	阴 Cloudy21	2001/4/20	0.8 × 0.4	2001/4/28
	6	2001/4/13	2001/4/15	阴 Cloudy21	2001/4/20	0.8 × 0.4	2001/4/28
	7	2001/4/24	2001/4/25	晴 Sunny25	2001/4/29	0.4 × 0.2	2001/4/30
反交 Reciprocal cross	8	2001/3/30	2001/3/31	晴 Sunny21	2001/4/4	1.4 × 0.6	2001/5/3
	9	2001/4/1	2001/4/2	晴 Sunny23	2001/4/7	1.3 × 0.5	2001/5/3
	10	2001/4/1	2001/4/2	晴 Sunny23	2001/4/8	1.4 × 0.6	2001/5/3
	11	2001/4/3	2001/4/4	晴 Sunny24	2001/4/9	1.2 × 0.5	2001/5/3
	12	2001/4/7	2001/4/8	阴 Cloudy21	2001/4/12	1.1 × 0.4	2001/5/3

## 2 实验结果

### 2.1 杂交结果

2001 年 3~5 月, 正交对 3 株母本的 103 朵小花进行人工授粉, 获得 7 枚果实, 结实率为 6.80%; 反交对 2 株母本的 88 朵小花进行授粉, 获得了 5 枚果实, 结实率为 5.88%。正、反交结果见表 1。

### 2.2 $F_1$ 代实生苗形态学特征

将所采集的 56 粒种子播种后, 共长出 19 株  $F_1$

代(现有 16 株两周年的  $F_1$  代实生苗)实生苗, 出芽率为 33.93%。根据  $F_1$  代实生苗的叶型、叶色、叶缘刺、叶片着生、斑点及株型等形态学特征对 16 株杂种苗进行了初步的形态学鉴定。杂种  $F_1$  代在外部形态上出现了明显性状分离。其结果见表 2。

### 2.3 同工酶鉴定

通过重复实验结果来看, 酶带极为稳定, 为了方便, 分了 4 个等级: 强、次强、弱、极弱带。可以看出库拉索芦荟具有 4 条带, 3 条强带、1 条极弱带; 华芦

芦荟有 3 条带, 2 条强带、1 条极弱带; 元江芦荟有 2 条带, 1 条是次强带, 另 1 条是强带; 皂质芦荟 3 条带, 2 条都是弱带、1 条是极弱带; F<sub>1</sub> 代实生苗也有 3 条带, 1 条次强带、1 条极弱带, 另 1 条是强带。见图版 I : a, b 和表 3。

表 2 杂种 F<sub>1</sub> 代形态学特征的初步鉴定

Table 2 Morphological characters used for initial identification of interspecific hybrids

苗号 Number	叶型 Phylliform	叶色 Leaf colour	叶刺 Leaf thorn	叶着生 Order of leaves	斑纹 Mottling	株型 Type of plant
1	m	m	m	m	m	m
2	f	m	f	m	f	i
3	m	m	f	m	f	i
4	m	f	f	m	f	i
5	m	m	m	m	m	m
8①	f	m	f	m	f	i
8②	f	m	f	f	m	i
9①	f	m	f	m	f	i
9②	f	m	f	m	f	i
10	y	m	w	d	f	b
11	f	m	f	m	m	i
12②	m	m	m	m	m	m
16①	m	f	m	m	m	m
16②	m	f	m	m	m	m
16③	m	f	f	m	f	i
19	m	f	f	m	f	i

注: m: 象母本; f: 象父本; i: 中间特征; y: 圆柱形; w: 无; d: 堆积; b 变形。

Note: m; resemblance to maternal plant parent; f; resemblance to paternal plant parent; i; intermediate characters; y; Cylinder; w; None; d; Packing; b; Transformation.

表 3 五种芦荟过氧化物酶同工酶的 Rf 值

Table 3 The Rf values of POD isozymes in five species of *Aloe*

种名 Species	1	2	3	4	5	6	7
<i>A. vera</i>	0.080	--	--	0.160	0.302	--	0.409
<i>A. chinensis</i>	0.080	--	--	0.160	--	0.324	--
<i>A. yuanjiangensis</i>	0.080	--	--	0.160	--	--	--
<i>A. saponaria</i>	0.080	--	0.124	0.160	--	--	--
<i>A. yuanjiangensis</i> × <i>A. saponaria</i>	0.080	0.107	--	0.160	--	--	--

采用二态平方欧式距离法对电泳所得的 Rf 值进行聚类分析(黄原, 1998)。以每一种不出现酶带的编码为 0, 出现酶带的以其相对迁移率的值作为编码(表 3), 建立原始数据矩阵, 在计算机上运行 SPSS 10.0 程序, 得到聚类图(图 1)。

### 3 分析与讨论

(1) 通过观察皂质芦荟具有自花结实的习性, 而

元江芦荟只开花不结实, 但皂质芦荟(平均可育率为 64.75%)和元江芦荟(平均可育率为 53.87%)的花粉均有一定的活性并且柱头也具较高的可授性(铁军等, 2004)。从表 1 可知, 对元江芦荟与皂质芦荟间的有性杂交, 正交平均结实率达 6.80%; 反交平均结实率达 5.88%, 说明芦荟种间远缘有性杂交存在正反交差异较明显。

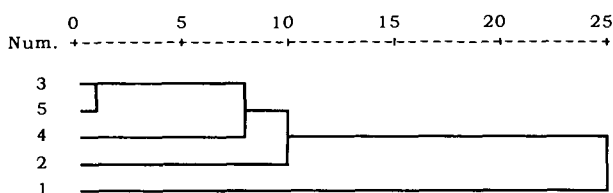


图 1 五种芦荟的 POD 同工酶聚类的分析图

Fig. 1 Dendrogram of POD isozymes in five species of *Aloe*

1. 库拉索芦荟; 2. 华芦荟; 3. 元江芦荟; 4. 皂质芦荟; 5. 元江芦荟 × 皂质芦荟。

1. *A. vera*; 2. *A. chinensis*; 3. *A. yuanjiangensis*; 4. *A. saponaria*; 5. *A. yuanjiangensis* × *A. saponaria*.

(2) 从表 2, F<sub>1</sub> 代实生苗外部形态学特征鉴定结果表明, 出现了明显的分离。与母本相似的有 5 株(分别为 1 号、5 号、12②号、16①号、16②号), 占 26.32%; 兼有父母本特征的中间类型有 10 株(分别是 2 号、3 号、4 号、8①号、8②号、9①号、9②号、11 号、16③号、19 号), 占 52.63%; 此外还有 1 株(10 号)与父母本不同的叶变形类型, 但没有一株与父本相似的株型。F<sub>1</sub> 代实生苗中符合预期育种目标的有 8 株(分别是 2、3、4、8①、9①、9②、16③、19), 占 42.11%。这为培育具有更高经济价值的芦荟新品种, 丰富我国的芦荟种质资源提供具有前途的材料。从杂种 F<sub>1</sub> 代实生苗的分离和同龄皂质芦荟自花结实的 F<sub>1</sub> 代不分离现象可以推断, 母本(元江芦荟)在遗传上是杂合的, 在此分离情况难以判断杂合程度、基因型等, 还有待深入研究。

(3) 从图版 I : b 和表 3 所显示的结果可以看出, 五种芦荟属植物的酶谱之间要么表现为酶带数目和 Rf 的不同, 要么表现在酶谱等级的不同, 总之没有任何两个种的酶谱特征是完全相同的, 这说明以 POD 同工酶电泳技术对芦荟属植物进行分类是可行的。同时, 这五种芦荟属植物的同工酶酶谱中也存在有共同的酶带(0.080 和 0.160), 表明五种芦

芸之间还具有共同的属性,存在着一定的亲缘关系。

(4)同工酶通常是共显性(CO-dominant)遗传,真正的杂种一般应兼有父母本的酶带,还可由基因重组产生异于双亲的杂种酶带(王仲朗等,1992)。从亲本与 F<sub>1</sub> 代的 POD 同工酶酶谱结果表明,F<sub>1</sub> 代实生苗有 3 条酶带。包括了双亲的所有酶带,迁移率分别为 0.080、0.107、0.160,其中迁移率 0.107 的酶带为异于双亲的杂种酶带。迁移率为 0.080、0.160 的两条酶带是本属植物共有的酶带,但等级上与母本的酶带等级相同。从图 1 也可以看出杂种 F<sub>1</sub> 代与亲本有一定的亲缘关系,但与母本的关系较近。由此我们初步推测 F<sub>1</sub> 代实生苗是元江芦荟(♀)与皂质芦荟(♂)的真正杂交种,本实验为此提供了科学依据。

本文承满都拉先生指导,特此表示感谢。

#### 参考文献:

- 汪发瓚,唐进. 1980. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社, 14:62.
- 胡能书,万国贤. 1985. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙:湖南科学技术出版社 23-24.
- 铁军. 2003. 芦荟属(*Aloe* L.)远缘杂交及 POD 同工酶的比较研究(硕士论文)[D]. 内蒙古,呼和浩特市
- 黄原. 1998. 分子系统学—原理、方法及应用[M]. 北京:中国农业出版社.
- 熊佑清. 2002. 芦荟[M]. 北京:中国农业出版社.
- 熊佑清,姚利. 1998. 芦荟[M]. 北京:中国农业大学出版社.
- 熊佑清. 1999. 芦荟[M]. 北京:中国农业大学出版社.
- Huang SZ(黄苏珍),Gu Y(顾烟),He SA(贺善安). 1996. The hybridization and the isozyme analyses of *Iris* L. (鸢尾属植物杂交育种及其同工酶分析)[J]. *Journal of Plant Resources and Environment*(植物资源与环境),5(4):38-41.
- Huang SZ(黄苏珍),Gu Y(顾烟),Han YL(韩玉林). 1998. The hybridization of *Iris* spp. (鸢尾属植物的杂交育种)[J]. *Journal of Plant Resources and Environment*(植物资源与环境),7(1):35-39.
- Reynolds T. 1985. The compounds in *Aloe exudes*; a review [J]. *Bot Journal of the Linnean Society*,90:157-177.
- Reynolds T. 1986. A contribute to the photochemistry of the East African tetraploid shrubby aloes and their diploid allies [J]. *Bot J Linne*,92:382-392.
- Tie J(铁军),Jin S(金山),Wu ZP(吴志萍),et al. 2004. Pollen viability and stigma receptivity of two species in *Aloe* (两种芦荟属植物花粉活性和柱头可授性的测定)[J]. *Journal of Jindongnan Teachers College*(晋东南师范专科学校学报),21(2):7-9.
- Wang ZL(王仲朗),Xia LF(夏丽芳). 1992. Application of peroxidase isozymes to identification F<sub>1</sub>hybrids of *Camellia* (应用过氧化物酶同工酶鉴定山茶属植物杂种 F<sub>1</sub> 代的研究)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究),14(4):423-429.
- Zhang ZJ(张振杰),Zhao XY(赵秀英),Hao ZX(郝志显),et al. 1990. Study on the chemical constituents of *Aloe* (芦荟化学成分的研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报),10(2):135-140.

## 欢迎订阅 2006 年《武汉植物学研究》

《武汉植物学研究》为科学出版社出版、国内外公开发行的植物学综合性学术期刊(学报级)。主要报道植物学及各分支学科的基础研究和应用研究方面具创新性、有重要意义的最新研究成果,植物学研究的新技术、新方法等。栏目设置有:研究论文、技术与方法、综合评述、研究简报、学术讨论、重要书刊评介、学术动态等。主要读者对象为:从事植物学研究的科技人员、大专院校师生,以及相关学科,包括农、林、牧、医药、轻工、水产和环保等方面的工作者。

本刊为中国科技核心期刊、中国中文核心期刊,被中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、中国科学引文数据库(CSCD)、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等十多种国内外检索期刊、数据库作为核心期刊或统计源期刊收录。本刊曾荣获湖北省优秀科技期刊奖、全国优秀科技期刊奖、中国科学院优秀期刊奖。

本刊为双月刊,大 16 开本,双月末出版。国内定价 15.00 元,全年 90.00 元。邮发代号 38-103,全国各地邮局均可订阅。如漏订,本刊编辑部可办理邮购。

编辑部地址:武汉市武昌磨山中科院武汉植物园内(或武汉市 74006 信箱);邮政编码:430074;电话:027-87510755;E-mail: editor @ rose. whiob. ac. cn

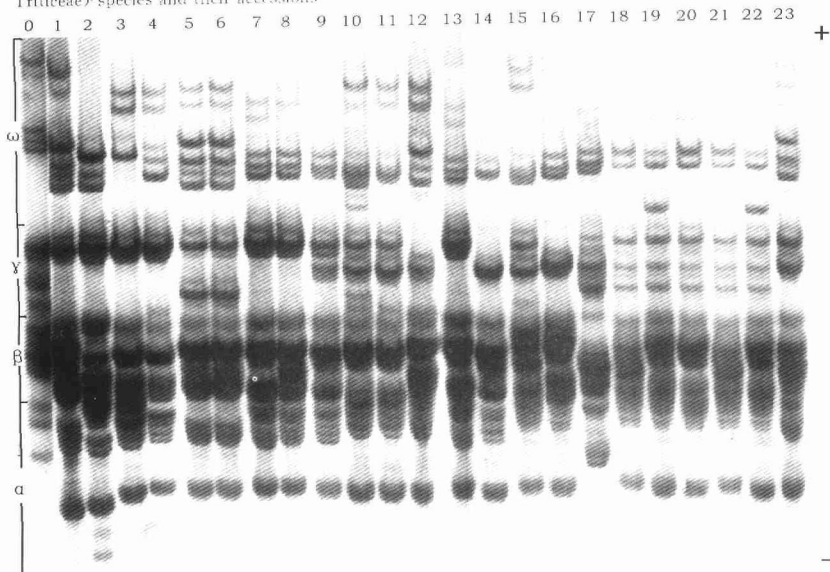
魏秀华, 等: 鹅观草属三个物种及其居群间的醇溶蛋白分析

图版 I

WEI Xiu-hua, et al.: Study on Gliadin variation of three *Roegneria* (Poaceae:

Plate I

Triticaceae) species and their accessions



鹅观草属三个物种 23 份材料的醇溶蛋白 A-PAGE 电泳图谱(材料编号见表 1)

Patterns of gliadins of 23 accessions of three species in *Roegneria* after A-PAGE

(The materials was in the same order listed in the Table 1)

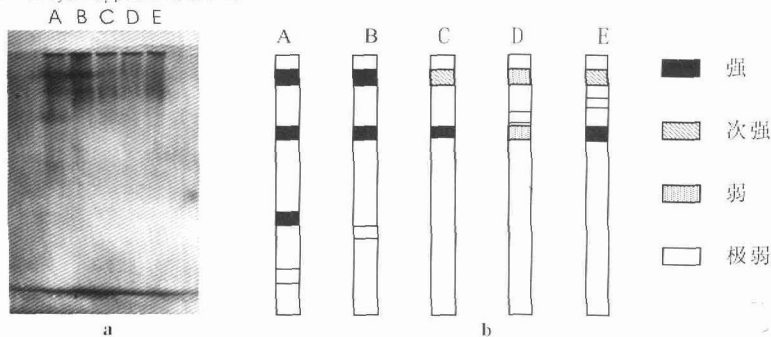
铁 军, 等: 芦荟属植物种间杂交及其 F<sub>1</sub> 代 POD 同工酶鉴定

图版 I

TIE Jun, et al.: The interspecific hybridization and identification of F<sub>1</sub> hybrids by

Plate I

POD isozyme application in *Aloe*



a: 5 种植物的 POD 同工酶谱照片; b: 五种芦荟的 POD 同工酶聚类的分析图

a: Photograph of POD isozyme zymogram in five species of *Aloe*; b: Dendrogram of POD isozymes in five species of *Aloe*

A: *A. vera*; B: *A. chinensis*; C: *A. yuanshengensis*; D: *A. saponaria*; E: F<sub>1</sub> seedling.