

枣胚乳三倍体的细胞学

—中国果树资源细胞学研究之六

石荫坪 王强生 贾元淑 李醒义

(山东省果树研究所)

(山东农业大学)

提 要

枣属植物经过染色体鉴定的5个种,未发现奇数倍性;中国枣为二倍体,未见自然多倍体类型。1978年通过胚乳培养,已首次诱导出三倍体植株。1983年三倍体始花结果,其细胞学特点如下:

1. 胚乳二倍体

胚乳二倍体的染色体数 $2n=24$ 。小孢子母细胞减数分裂染色体行为正常。前期I和中期I,形成12个二价体。减数分裂结束,形成正常的四分体,小孢子大小整齐。花粉粒属于正常的三孔沟型。

2. 胚乳三倍体

胚乳三倍体的染色体数 $2n=36$ 。小孢子母细胞较二倍体大。减数分裂染色体行为不正常。前期I和中期I有数目不等的单价体、二价体和多价体,染色体群数变动于14—20之间。后期I、II染色体分离不规则,数目不均衡,有落后染色体,多极分裂,并带有微核。减数分裂结束时,部分小孢子母细胞形成一分体、二分体、不等四分体、五分体和六分体等,小孢子大小不一致。正常花粉比二倍体大,有三孔沟和四孔沟两种类型,还有部分小花粉粒和败育花粉。

关键词: 枣; 胚乳三倍体; 染色体数目; 减数分裂; 配对行为; 花粉粒

枣属植物经过染色体鉴定的有5个种,其中毛叶枣(*Zizyphus mauritiana*)和圆叶枣(*Z. rotundifolia*)为多倍体种,麻核枣(*Z. oenoplia*)和印度枣(*Z. jujuba*)有多倍体类型。自然形成的多倍体有 $4x$ 、 $6x$ 和 $8x$,未发现奇数倍性[4,6]。中国枣(*Z. sativa*)为二倍体,未见自然多倍体类型[1,6]。

1978—1980年,在山东泰安对中国枣的长红、圆铃、金丝小枣等品种进行胚乳培养,已首次育成 $2n=3x=36$ 的完整植株,为枣属植物增添了新的种质资源。为了查明这一新类型的细胞学特点,给今后进一步研究利用提供依据,自1983年胚乳三倍体始花起,进行了比较系统的观察研究。

材 料 和 方 法

试材为田间栽植的三年生长红枣胚乳三倍体植株,并以同园栽植的胚乳二倍体植株作为对照。当胚乳植株呈现减数分裂期的形态标志时^[1,2]开始采样,分别采集减数分裂期和小孢子发育期的花蕾;至开花期,采集刚开或将开的花朵。用卡诺液固定,丙酸洋红染色,按细胞学常规压片镜检,重点观察小孢子母细胞减数分裂中染色体的行为。

观 察 结 果

(一) 小孢子母细胞的大小和形态特征

胚乳三倍体与胚乳二倍体和二倍体品种长红枣、金丝小枣相比,小孢子母细胞较大。带细胞壁平均纵径29.2—32.5微米,横径26.8—30.9微米,相当于二倍体的121—141%。胼胝质壁较厚。原生质体前期I相当于二倍体的125.7%,中期I以后,明显缩小,原生质体与胼胝质壁之间形成较大的空隙(表1、图2—19)。

(二) 小孢子母细胞减数分裂中染色体的行为

胚乳二倍体小孢子母细胞减数分裂正常,表现与一般二倍体品种相同^[1]。胚乳三倍体在整个分裂过程中,则出现一系列的异常行为。

1. 终变期 二倍体染色体配对规则,形成12个二价体。三倍体配对不规则,有数量不等的单价体、二价体和多价体,染色体群数多在14—20之间(图2)。

2. 中期I 二倍体侧面观染色体排列整齐(图3),极面观有12个二价体(图5)。三倍体侧面观排列不整齐(图4),极面观除大部分为二价体外,有数目不等的单价体和多价体,染色体群数也多变动于14—20之间(图6、7)。

3. 后期I 二倍体染色体分离规则。三倍体有部分母细胞染色体分离不规则,两极染色体数量不均等,并有落后染色体(图8)。

4. 中期II 二倍体两个纺锤体排列整齐(图9),两组染色体数目均等,各12个(图10)。三倍体有部分母细胞纺锤体排列不整齐,两组染色体数目不均等,一组多的达22个;有的除两个纺锤体外,还有多极分裂或带有微核(图11—13)。

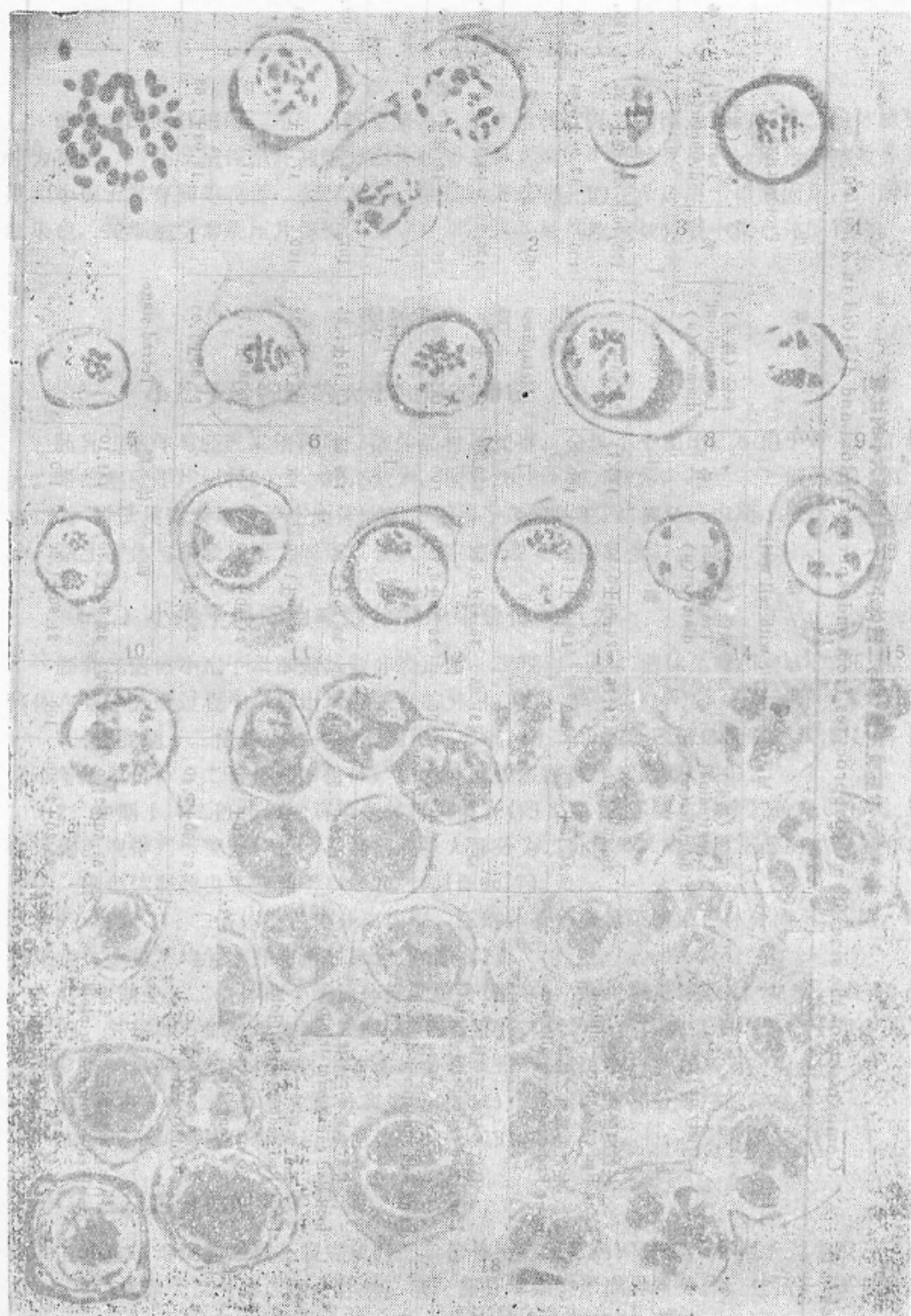
5. 后期II 二倍体染色体分离规则(图14);三倍体有部分母细胞染色体分离不规则,有的两个纺锤体均有落后染色体(图15、16)。

(三) 四分体时期的异常

当小孢子母细胞减数分裂完成时,二倍体形成正常的四分体,小孢子大小整齐(图17)。三倍体除大部分形成四分体外,有一部分母细胞形成异常分体,包括一分体、二分体、不等四分体、五分体、六分体等,小孢子大小不整齐(图18、19)。

表 1 枣胚乳三倍体与二倍体小孢子母细胞大小的比较
Table 1 Comparison of the sizes of microsporocytes from endosperm-triploid and diploid in *Z. sativa*

品 种 或 类 型 Variety or type	带 壁 母 细 胞 Microsporocyte with cell wall				原 生 体 Protoplast	
	纵径 (微米) Longitudinal diameter(μ)	%	横径 (微米) Transversal diameter(μ)	%	纵径 (微米) Longitudinal diameter(μ)	横径 (微米) Transversal diameter(μ)
	前 期 I				I	
长红枣胚乳三倍体 Long Red endosperm-triploid	29.20 $\pm$ 2.97	121.16	26.80 $\pm$ 2.30	136.73	22.50 $\pm$ 1.35	22.50 $\pm$ 1.35
	24.10 $\pm$ 2.00	100	19.60 $\pm$ 1.50	100	17.94 $\pm$ 0.64	17.94 $\pm$ 0.64
长红枣胚乳二倍体 Long Red endosperm-diploid	32.50 $\pm$ 2.60	131.05	28.40 $\pm$ 1.90	139.20	19.30 $\pm$ 1.60	19.30 $\pm$ 1.60
	24.80 $\pm$ 2.00	100	20.38 $\pm$ 0.74	100	18.05 $\pm$ 0.78	18.05 $\pm$ 0.78
长红枣胚乳三倍体 Long Red endosperm-triploid	31.40 $\pm$ 2.50	127.50	30.20 $\pm$ 2.50	129.60	20.19 $\pm$ 1.25	20.19 $\pm$ 1.25
	24.98 $\pm$ 2.30	100	23.30 $\pm$ 1.80	100	18.79 $\pm$ 1.22	18.79 $\pm$ 1.22
长红枣胚乳二倍体 Long Red endosperm-diploid	28.20 $\pm$ 3.70		24.80 $\pm$ 3.10		18.60 $\pm$ 1.73	18.60 $\pm$ 1.73
	27.90 $\pm$ 2.40		25.50 $\pm$ 2.90		21.30 $\pm$ 1.33	21.30 $\pm$ 1.33
长红枣胚乳三倍体 Long Red endosperm-triploid	32.50 $\pm$ 2.00	128.97	30.90 $\pm$ 1.80	141.10		
	25.20 $\pm$ 2.20	100	21.90 $\pm$ 1.20	100		
长红枣胚乳二倍体 Long Red endosperm-diploid						
四 分 体 期 Tetrad stage						
长红枣胚乳三倍体 Long Red endosperm-triploid	32.50 $\pm$ 2.00	128.97	30.90 $\pm$ 1.80	141.10		
	25.20 $\pm$ 2.20	100	21.90 $\pm$ 1.20	100		
长红枣胚乳二倍体 Long Red endosperm-diploid						



1. 长红枣胚乳三倍体根尖细胞染色体 $2n=36$
- 2—19. 长红枣胚乳三倍体与胚乳二倍体小孢子母细胞减数分裂各期
2. 三倍体前期 I 终变期 有数目不等的单价体、二价体和多价体, 染色体群数 16—20
3. 二倍体中期 I 侧面观 染色体排列整齐
4. 三倍体中期 I 侧面观 染色体排列不整齐
5. 二倍体中期 I 极面观 12 个二价体
- 6, 7. 三倍体中期 I 极面观 有数目不等的单价体、二价体和多价体, 染色体群数 14—20
8. 三倍体后期 I 侧面观 染色体分离不规则, 有数量不等的落后染色体
9. 二倍体中期 II 侧面观 两个纺锤体排列整齐
10. 二倍体中期 II 极面观 两组染色体数目均等, 各 12 个
11. 三倍体中期 II 侧面观 纺锤体排列不整齐, 并带有微核
12. 三倍体中期 II 一个纺锤体的极面观, 有 14 个染色体
13. 三倍体中期 II 一个纺锤体的极面观, 有 22 个染色体
14. 二倍体后期 II 侧面观 两个纺锤体的染色体分离都很规则
15. 三倍体后期 II 侧面观 两个纺锤体均有落后染色体
16. 三倍体后期 II 极面观 染色体分离不均衡, 有落后染色体
17. 二倍体的正常四分体
18. 三倍体的二分体
19. 三倍体的四分体和异常分体 包括: 一分体、不等四分体、五分体、六分体
20. 二倍体的成熟花粉粒 三孔沟型
21. 三倍体的成熟花粉粒 有三孔沟型、四孔沟型和败育花粉

1. Somatic chromosomes of root tip from endosperm plant of *Z. sativa* cv. Long Red $2n=36$
- 2—19. Comparison of microsporocyte meiosis between endosperm-triploid and diploid in *Z. sativa* cv. Long Red
2. Diakinesis of triploid, with variable numbers of univalents, bivalents and multivalents, with chromosome groups varying between 16 and 20
3. Metaphase I of diploid, equatorial view, showing a normal configuration
4. Metaphase I of triploid, equatorial view, showing chromosomes arranged irregularly
5. Metaphase I of diploid, polar view, showing 12 bivalents
- 6, 7. Metaphase I of triploid, polar view, with variable numbers of univalents, bivalents and multivalents, chromosome groups 14—20
8. Anaphase I of triploid, equatorial view, showing irregular disjunction, with variable numbers of lagging chromosomes
9. Metaphase II of diploid, equatorial view, two spindles are arranged regularly
10. Metaphase II of diploid, polar view, two chromosome groups equal in number, each with 12 chromosomes
11. Metaphase II of triploid, equatorial view, spindles arranged irregularly, with micronuclei
12. Metaphase II of triploid, with polar view of one spindle and 14 chromosomes
13. Metaphase II of triploid, with polar view of one spindle and 22 chromosomes
14. Anaphase II of diploid, equatorial view, showing regular disjunction in two spindles
15. Anaphase II of triploid, equatorial view, showing two spindles with lagging chromosomes
16. Anaphase II of triploid, polar view, showing irregular disjunction, with lagging chromosomes
17. Normal tetrads of diploid
18. Diad of triploid
19. Tetrads, monad, unequal tetrad, pentad and hexad of triploid
20. Mature pollen grain of diploid, tricolporate
21. Mature pollen grains of triploid, larger, tricolporate tetracolporate and aborted pollen grains

(四) 花粉粒的特征

二倍体的花粉粒较小, 为正常的三孔沟型, 极面观呈等边三角形(图20)。三倍体有部分小花粉粒和败育花粉, 成熟花粉粒多数为三孔沟型, 比二倍体大28.9%; 少数为四孔沟型, 极面观呈四方形, 比二倍体大30.9%(表2、图21)。

表 2 枣胚乳三倍体与二倍体花粉粒的比较

Table 2 Comparison of pollen grains from endosperm triploid and diploid in *Z. sativa*

类 型 Type	花粉粒极面观形状 Polar view of pollen grains	花 粉 粒 大 小 Pollen size		
		极 轴 长 度 (微米) Longitudinal diameter(μ)	边 长 (微米) Equatorial diameter (μ)	%
胚乳三倍体 Endosperm-triploid	三 角 形 Triangular	30.43 $\pm$ 2.6		128.9
	四 方 形 Square		30.9 $\pm$ 5.18	130.9
胚乳二倍体 Endosperm-diploid	三 角 形 Triangular	23.6 $\pm$ 0.34		100

分 析 讨 论

果树三倍体的细胞研究表明, 同源三倍体在减数分裂中染色体的行为高度不正常。例如: 苹果三倍体品种 ($x=17$, $3x=51$) Goldreinette Von Blenheim, Ribston Peping, Baldwin, Damason Reinette^[5], Reinette du Canada^[8]中期 I 和 Ribston^[7]终变期都形成数目不等的单价体、二价体和多价体, 染色体群数都超过17, 变动于19—24之间。三倍体西洋梨 ($x=17$, $3x=51$) Carneira^[9]中期 I 染色体行为与三倍体苹果相似, 群数变动于18—20之间, 还有1—7个落后染色体。欧洲甜樱桃三倍体实生苗 ($x=8$, $3x=24$)^[5]中期 I 也是形成不同数目的单价、二价和三价体。三倍体西洋梨 Beurr'e Diel^[5], 后期 I 染色体分离不均衡, 两组染色体数分别为 26 和 19。伏花皮苹果^[3], 后期 I、II 有落后染色体, 中期 II 有多极分裂。冬熟柠檬苹果^[5]中期 II, 两组染色体数量不均等, 分别为22和26; Barikerbirne^[5]梨中期 II, 两组染色体数分别为23和 22, 另外还有5+1个落后染色体。至四分体时期, 三倍体苹果、梨、樱桃^[3,5]都有一部分小孢子母细胞不能形成正常的四分体, 而是形成多种多样的异常分体, 小孢子的数目不等、大小不一。三倍体枣减数分裂的特点, 与上述三倍体苹果、梨、樱桃基本一致。

三倍体的小孢子由于染色体数大多不等于 x , 其中染色体少于 x 的, 形成小花粉粒, 往往不能发育成熟而中途败育; 超过 x 的非整倍体, 可能形成较大的异常花粉粒, 虽能成熟, 也很难使卵细胞受精; 只有少数等于 x 或 $2x$ 的小孢子, 才能形成正常的配子, 因此一般高度不育。然而三倍体的雌蕊如果用二倍体品种授粉, 则可形成少籽或无籽的果

实, 有的可以无受精结实。这一特点, 在无性繁殖的果树育种中有特别重要的应用价值。例如, 生产上大量栽培的无籽香蕉就是三倍体。又如, 布瑞·列勃论梨和里哈萨无籽梨等, 都能获得高产的无籽果实, 瑞士多汁梨无籽果占42%, 鳞基梨无籽果则高达71%^[5]。因此, 研究胚乳三倍体枣的授粉受精, 以及这一新的种质资源在育种上的应用, 具有重要的意义, 值得今后进一步探索。

参 考 文 献

- [1] 石荫坪、王强生, 1981, 金丝小枣细胞学的研究——中国果树资源细胞学研究之二, 中国果树, (4), 7—11。
- [2] 石荫坪、王强生、杨传友、贾元淑、姜广仲, 1981, 果树小孢子母细胞减数分裂的时期与形态标志——中国果树资源细胞学研究之一, 山东农学院学报, (1), 9—22。
- [3] 石荫坪、王强生, 1980, 苹果与梨花粉母细胞减数分裂的研究, 园艺学报, 7(3): 1—8。
- [4] 杜比宁H. II. 主编, 赵世绪等译校, 1974, 植物育种的遗传学原理, 科学出版社。
- [5] F. 科贝尔, 1954, 张嘉宝等译, 1966, 果树栽培生理学基础, 130—158, 193—198, 科学出版社。
- [6] Darlington, C. D., and Wylie, A. P., 1955, Chromosome atlas of flowering plants, 191。
- [7] Heilborn, O., 1937, Reduction division, pollen lethality and polyploidy in apple, Acta Hort. Bergiani Band 11, No. 7, 129—184。
- [8] Lespinasse, Y., 1973, Chromosome observation on the genera *Malus* and *Pyrus*, Proc. Eucarpia Fruit Section Symposium V Top Fruit Breeding, 75—83。
- [9] Natividade J V., 1932, Reduced productivity in Pomology, (From Plant Breed Abstr. 4, 77—87)。

CYTOLOGY OF ENDOSPERM-TRIPLOID IN ZIZYPHUS SATIVA

Shi Yinping and Wang Qiangsheng

(Shandong Institute of Pomology, Taian, Shandong)

Jia Yuanshu and Li Xingyi

(Shandong Agricultural University, Taian, Shandong)

Abstract

Chromosome numbers of 5 *Zizyphus* species are known. There is no odd ploidy. *Zizyphus sativa* Gaertn. is diploid, and no spontaneous polyploid type has been found. The triploid plants were first induced from endosperm of *Z. sativa* in 1978. The endosperm-triploid began to blossom and bear fruits in 1983. Its cytological behavior is as follows:

1. The endosperm-diploid

Chromosome number of diploid is $2n=24$. Meiotic behavior is regular. At prophase I and metaphase I, 12 bivalents were observed. At the end of meiosis, normal tetrads occur, and the microspores are equal in size. The pollen grains are normal tricolporate ones.

2. The endosperm-triploid

Chromosome number of triploid is $2n=36$. Its microsporocytes are larger than diploid. Meiotic behavior is very irregular. At prophase I and metaphase I, there are variable numbers of univalents, bivalents and multivalents, with the numbers of chromosome groups varying from 14 to 20. At anaphase I, II, disjunction is irregular, resulting in unequal chromosome numbers, lagging chromosomes, multipolar division and micronuclei. At the end of meiosis, some microsporocytes give rise to monads, diads, unequal tetrads, pentads and hexads, and the microspores are not uniform in size. The normal pollen grains are larger than diploid, and are tricolporate or tetracolporate. Some small and aborted pollen grains were found.

Key words: *Zizyphus sativa*; Endosperm-triploid; Chromosome number; Meiosis; Pairing behavior; Pollen grain