

## 二倍体和四倍体栽培苦荞的细胞学比较研究

吴云江, 陈庆富

(贵州师范大学生物系遗传室, 贵州贵阳 550001)

**摘要:** 观察和统计了二倍体和四倍体苦荞(*Fagopyrum tataricum*)花粉母细胞减数分裂过程 T I、T II 时期的异常程度及花粉粒败育性等多个指标, 并比较分析了二倍体和四倍体苦荞在这些指标上的差异显著性。结果显示: 四倍体苦荞的异常 T I 细胞频率、异常 T II 细胞频率、T I 细胞平均微核数、T II 细胞平均微核数及花粉败育率均显著高于二倍体苦荞, 这表明四倍体苦荞的遗传稳定性和花粉可育性都比二倍体苦荞差。

**关键词:** 苦荞; 减数分裂; 细胞学; 遗传稳定性; 花粉败育; 多倍体

**中图分类号:** Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2001)04-0344-03

## A cytological study on meiosis of PMCs of diploid and tetraploid tartary buckwheat

WU Yun-jiang, CHEN Qing-fu

(Laboratory of Genetics, Biology Department, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

**Abstract:** Many parameters of T I and T II stages in PMCs meiosis and the rates of defeated pollen grains of diploid tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) and its tetraploid doubling line were analyzed. The results showed that the rate of abnormal diads, the mean of micronuclei per diad, the rate of abnormal tetrads, the mean of micronuclei per tetrad, and the rate of defeated pollen grains in tetraploid tartary buckwheat are all much higher than those in diploid tartary buckwheat, indicating that the genetic stability of tetraploid tartary buckwheat is much lower than the diploid tartary buckwheat.

**Key words:** Cytology; fertility of pollen grains; meiosis; polyploidy; tartary buckwheat

荞麦(*Fagopyrum*)是一种抗旱耐瘠的粮食作物,起源于我国西南部,在我国有丰富的种质资源,并为我国许多地区尤其是山区旱地普遍种植。主要栽培种有普通荞麦(甜荞)和鞑靼荞麦(苦荞)2种,均属二倍体类型( $2n=2x=16$ )。前苏联、日本、美国等国开展荞麦多倍体育种工作较早,先后育成同源四倍体荞麦新品种。然而,四倍体苦荞和二倍体苦荞在细胞遗传学上很少有报道<sup>[2-6]</sup>,更没有从量上系统地比较研究四倍体和二倍体苦荞减数分裂各

时期的异常程度。陈庆富和张庆勤(1991)报道认为<sup>[1]</sup>,减数分裂异常程度上的差异可充分表现在末期 I(T I)和末期 II(T II)2个时期上,并认为这2个时期易于观察,结果也较稳定,因此提出将这2个时期的指标作为减数分裂异常程度的主要衡量指标。为此,本文以这2个时期的有关指标为主,从量上比较研究二倍体和四倍体苦荞花粉母细胞减数分裂异常程度的差异,以阐明二倍体苦荞和四倍体苦荞在遗传稳定性上的差异,从而为育种上有目的地减

收稿日期: 2000-07-07

作者简介: 吴云江(1973-),男,从事中学生物的教学和科研工作。

基金项目: 贵州省科学基金(1999年)资助项目

少减数分裂异常、培育四倍体优良荞麦品种提供依据,也可以为揭示减数分裂机制创造条件。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

本试验所用材料、倍性、产地及来源见表 1。

表 1 本试验所用材料及其倍性、产地、来源

Table 1 Materials used in this study

材料 Material	编号 Accession	倍性 Ploidy	产地 Native to	来源 Sources
苦荞 <i>F. tataricum</i>	BW20	2x=16	贵州沿河 Yanhe, Guizhou	陈庆富 Qing-Fu Chen
	BW80	4x=32	人工加倍 Man-made	陈庆富 Qing-Fu Chen

### 1.2 研究方法

于 1999 年 3 月 7 日,在贵州师范大学生物系植物园内分别播种二倍体和四倍体苦荞 4 行、5 行,每行 10 株,行距、株距均为 40 cm。按常规施肥、浇水、除草、管理。荞麦始花后,于 1999 年 5 月上旬随机抽取二倍体苦荞 10 株、四倍体苦荞 40 株,用于减数分裂和花粉败育性观察。

1.2.1 花粉母细胞减数分裂观察 参照 Chen (1999a, b) 的方法<sup>[5,6]</sup>。基本步骤如下:苦荞盛蕾期时取幼花序固定于 Cannoy's II 固定液中,冰箱保存、固定 4 h 以上。取幼花序,吸去固定液,置于载玻片上,滴加 1 小滴 2% 的醋酸洋红,分离出花药,并用解剖针压破花药,挤压出花粉母细胞,常规压片法压片。显微镜下观察花粉母细胞减数分裂过程各时期的特征,并统计以下指标:末期 I 细胞微核数,有微核 TI 细胞占 TI 细胞总数的比率即异常 TI 细胞频率(%),末期 II 细胞微核数,有微核 TII 细胞占 TII 细胞总数的比率即异常 TII 细胞频率(%). 统计细胞数:末期 I、末期 II 分别在 150 以上、200 以上。

1.2.2 花粉育性观察 可育花粉粒含有丰富的淀粉粒,淀粉粒遇碘变成兰黑色,因此本研究用  $KI_2$  溶液染色成熟花粉粒的方法来鉴定花粉育性。花粉粒被染上色的说明花粉粒可育,反之则不育。具体方法是:荞麦开花盛期,分别摘取二倍体、四倍体苦荞的成熟花朵,用 Cannoy's II 固定液固定;用解剖针剥取花药于载玻片上,滴加  $KI_2$  溶液染色,压出花粉粒,置于显微镜下观察。统计花粉粒总数和败育花

粉粒数,计算败育花粉粒的比率(败育率)即败育花粉粒数占总花粉粒数的比率。每种材料至少观察 2000 个花粉粒以上。

1.2.3 统计方法 由于本试验所观察的细胞数目大,因此可用  $u$  测验来测验二倍体与四倍体苦荞之间的有关统计指标在显著水平  $\alpha=0.01, 0.05$  上的差异显著性。

## 2 结果与分析

1999 年 5 月对生长于贵州师范大学生物系生物园的二倍体和四倍体苦荞进行了花粉母细胞减数分裂过程的观察。结果如下:

### 2.1 中期 I (MI)

观察中期 I 染色体配对构型结果表明,二倍体苦荞中期 I 染色体构型几乎全为正常,即具有  $2n=8II$  的染色体配对构型(图 1)。四倍体苦荞多为  $4x=8IV$ ,此外还有一定比例的其它构型如:  $4IV+7II+2I, 4IV+8II$ (图 2)、 $16II$  等。这些结果表明,本研究所采用的材料无误,同时也表明四倍体苦荞在 MI 有比二倍体苦荞更复杂的配对构型。

### 2.2 末期 I (TI)

末期 I 的观察结果见表 2。

表 2 二倍体和四倍体苦荞 TI 时期细胞有关指标的  $u$  测验

Table 2 Some parameters of PMC meiosis TI stage on diploid and tetraploid tartary buckwheat and their  $u$ -test

倍性 Ploidy	细胞总数 Total	异常细胞频率(%) Rate of abnormal tetrads	细胞平均微核数 Mean of micronuclei per tetrad
2X	271	2.2	0.022
4X	168	19.1	0.293
$u$ value		6.12 **	4.77 * *

\* \* 表示在 0.01 水平上的显著性、\* \* significant at 0.01 level.

从表 2 可知,总共观察 271 个二倍体苦荞的 TI 细胞中,只有少数具微核,微核数变幅为 0~1,平均为 0.022。异常 TI 细胞频率为 2.2%。四倍体苦荞总共观察的 TI 细胞数为 168 个,多数细胞具有微核,微核数变幅为 0~2,平均微核数为 0.293。异常 TI 细胞频率为 19.1%。末期 I 细胞及其微核见图 3、4。 $u$  测验表明二倍体苦荞的异常末期 I 细胞频率与四倍体苦荞的异常末期 I 细胞频率、二倍体苦荞的末期 I 细胞平均微核数与四倍体苦荞的末期 I 细胞平均微核数都有极显著差异,这说明四倍体苦荞

在末期 I 的异常性显著高于二倍体苦荞。

### 2.3 末期 II (TII)

末期 II 时期的观察结果见表 3。

表 3 二倍体和四倍体苦荞 TII 时期细胞

有关指标的  $\mu$  测验

Table 3 Some parameters of PMC meiosis T II stage on diploid and tetraploid tartary buckwheat and their  $\mu$ -test

倍性 Ploidy	细胞总数 Total	异常细胞频率 (%) Rate of abnormal tetrads	细胞平均微核数 Mean of micronuclei per tetrad
Diploid	364	1.9	0.019
Tetraploid	532	38.7	0.586
$\mu$ value		12.7**	6.0**

\*, \*\* 分别表示在 0.05, 0.01 水平上的显著性。\*, \*\* Significance at 0.05 and 0.01 level, respectively.

从表 3 可知,在观察的 364 个二倍体苦荞 TII 细胞中,只有少数 TII 细胞具微核。微核数变幅为 0~2 (图 5), 平均为 0.019。异常 TII 细胞频率为 1.9%。四倍体苦荞总共观察 532 个 TII 细胞,多数细胞有微核,微核数变幅为 0~4, 平均微核数为 0.586。异常 TII 细胞频率为 38.7%。 $\mu$  测验表明,二倍体苦荞的异常末期 II 细胞频率和末期 II 细胞平均微核数都极显著高于四倍体苦荞。这说明四倍体苦荞在末期 II 的异常性显著高于二倍体苦荞。

此外,在四倍体苦荞中还观察到异常多分体,主要是六分体,见图 6。异常多分体频率为 0.6%, 变幅为 0~7%。

除了上述以外,在四倍体苦荞花粉母细胞减数分裂的其它时期也存在一定程度的异常,如后期 I (AI) 和后期 II (AII) 出现落后染色体等。

### 2.4 二倍体和四倍体苦荞花粉败育率的差异性分析

花粉粒败育情况的观察结果见表 4。

表 4 二倍体和四倍体苦荞花粉败育率差异性的  $\mu$  测验

Table 4  $\mu$ -test of the differences between diploid and tetraploid tartary buckwheat

倍性 Ploidy	观察花粉粒总数 Total of pollen grains	花粉败育率 (%) Defeated rate of pollen grains
Diploid	2 563	4.25
Tetraploid	2 705	10.79
$\mu$ value	8.959**	

\*, \*\* 分别表示在 0.05, 0.01 水平上的显著性。\*, \*\* Stand for significance at 0.05 and 0.01 level, respectively.

从表 4 可以看出,二倍体苦荞共观察 2 563 个花粉粒,败育率为 4.25%。四倍体苦荞观察 2 705 个花粉粒,败育率 10.79%。 $\mu$  测验表明,二倍体与四倍

体之间在花粉粒败育率上差异极显著,这暗示四倍体苦荞的花粉粒育性比二倍体苦荞显著较差。

## 3 讨论

### 3.1 关于同源四倍体苦荞减数分裂出现异常的原因

本试验发现二倍体苦荞染色体加倍后所形成的同源四倍体苦荞,与二倍体苦荞相比较,有显著较高的异常 T I 细胞频率、异常 T II 细胞频率、T I 细胞微核数、T II 细胞微核数。这说明四倍体苦荞的遗传稳定性比二倍体苦荞的要差。其原因是:同源四倍体苦荞的每一个同源组有 4 个同源染色体,而对于任何同源区段,都只能有两条同源染色体参加联会,因此四倍体苦荞比二倍体苦荞有更复杂的联会方式。其染色体的配对在减数分裂中期 I 可出现以下几种情况:(1)形成一个四价体(IV);(2)形成一个三价体和一个单价体(III+I);(3)形成 2 个二价体(II+II);(4)形成一个二价体和 2 个单价体(II+2I)等多种形式。本研究发现四倍体苦荞存在四价体、三价体、二价体和单价体等多种情况,与上述分析是吻合的。这种复杂的配对构型和多种多样的配对情况势必会比二倍体苦荞产生更多的单价体、落后染色体等异常情况。落后染色体向两极的移动速度较慢,常常在核膜形成前不能进入核内,而在核外形成微核,其结果是导致四倍体苦荞的减数分裂异常程度显著增加,因此四倍体苦荞的遗传稳定性比二倍体苦荞差。

### 3.2 减数分裂异常程度与花粉败育率的关系

花粉粒育性由多种因素决定,其中减数分裂是否正常就是一个重要因素。在减数分裂过程中,若出现染色体配对混乱、有单价体和落后染色体、染色体分离不均衡、染色体丢失等现象,可造成花粉粒败育。本研究表明,由于染色体加倍,使四倍体苦荞在花粉母细胞减数分裂末期 I 和末期 II 异常细胞频率比二倍体显著增加,与此同时,四倍体苦荞的花粉败育率也极显著地高于二倍体苦荞,因此可推测苦荞的花粉败育率与减数分裂异常程度存在一定程度的联系。

### 参考文献:

- (1) 陈庆富,张庆勤. 五倍体杂种小麦的细胞遗传学比较 (下转第 382 页 Continue on page 382)

内蒙古苔藓植物 63 科, 184 属, 511 种和种下分类单位。

15. 《山东苔藓植物志》, 全一册(1997), 记载山东苔藓植物 55 科, 145 属, 368 种及 3 亚种和 12 变种。

此外, 近年来还出版了一些地市区的地方植物

志, 如《太原植物志》, 第 1 卷(1990), 包括蕨类植物、裸子植物以及被子植物的金粟兰科至豆科, 第 2 卷(1992)包括牻牛儿苗科至菊科。本志计划出 3 卷; 《濮阳植物志》, 全一册(1996); 《甘南树木图志》, 全一册(1994); 《琅琊山植物志》, 全一册(1999); 《嵩山植物志》, 全一册(1993)。

(上接第 346 页 Continue from page 346)

- 研究[J]. 西南农业学报, 1991, 4(4): 30-35.
- (2) 朱必才, 高立荣. 同源四倍体荞麦的研究[J]. 遗传, 1988, 10(6): 6-8.
- (3) 朱必才, 高立荣. 同源四倍体荞麦的细胞遗传学研究[J]. 遗传, 1992, 14(1): 1-4.
- (4) 马育华. 田间试验和统计方法[M]. 北京: 农业出版社(第 2 版), 1987. 63-91.

- [5] Chen Qing-Fu. A study of resources of *Fagopyrum* (Polygonaceae) native to China[J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1999, 130(1): 53-64.
- [6] Chen Qing-Fu. Wide hybridization among *Fagopyrum* (Polygonaceae) species native to China[J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1999, 131(2): 177-185.