

同一居群韭莲不同植株减数分裂行为差异的遗传分析

王祖秀¹, 彭正松¹, 杨 军²

(1. 西华师范大学 生命科学院, 四川 南充 637002; 2. 西华师范大学 珍稀动植物研究所, 四川 南充 637002)

摘要: 对韭莲($2n=48$)小孢子母细胞减数分裂及小孢子发育进行研究。结果显示同一居群植株的减数分裂行为存在明显差异。多数韭莲植株小孢子母细胞减数分裂存在少量落后染色体、微核等现象, 平均每株中具有异常分离行为的母细胞占14.02%, 小孢子发育正常, 但花粉无活力。并首次从减数分裂后期I的特殊的细胞学形态证明韭莲是臂内倒位杂合体。而少数植株韭莲的小孢子母细胞减数分裂极其紊乱, 后期I出现多极分离、大量落后染色体, 小孢子母细胞减数分裂总异常分离高达94.3%。四分孢子期多分孢子体高达73.4%。分析认为: 前者减数分裂行为异常的原因主要由染色体结构变异所致, 而后者的原因除染色体结构变异外, 还可能与控制纺锤体形成的基因突变有关。

关键词: 韭莲; 减数分裂; 小孢子发育; 多极分离; 臂内倒位; 纺锤体变异

中图分类号: Q949.71 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)05-0681-04

Genetic analysis of meiotic behavior difference in plants from the same population of *Zephyranthes grandiflora*

WANG Zu-Xiu¹, PENG Zheng-Song¹, YANG Jun²

(1. College of Life Sciences, China West Normal University, Nanchong 637002, China; 2. Institute of Rare Animals and Plants, China West Normal University, Nanchong 637002, China)

Abstract: In this paper, the meiotic behavior of microsporocytes and microspore development in *Zephyranthes grandiflora* ($2n=48$) were investigated. The results indicated that there was obvious difference of meiotic behavior in *Z. grandiflora* plants from the same population. In most plants, lagging chromosome, micronucleolus and other abnormal meiotic behavior could be observed, with an average of 14.02% microsporocytes segregating abnormally. Microspores developed normally, but no fertile pollens could be obtained. From the abnormal meiotic behavior of microsporocyte in anaphase I, it could be proved that the *Z. grandiflora* was a heterozygote of paracentric inversion for the first time. The meiosis of microsporocyte of a few mutant plants showed disorderly greatly, and multi-polar separation and lagging chromosomes could be readily in anaphase I, with an average of up to 94.3% abnormal segregating at. At tetraspore stage, paraspores raised up to 73.4%. It is thought that abnormality of meiosis in *Z. grandiflora* was ascribed mainly to chromosome structure variation, and the reason of the behavior abnormality of the meiosis in mutant plants was due to gene mutation that controlling the spindle formation, in addition to chromosome structure variation.

Key words: *Zephyranthes grandiflora*; meiotic behaviour; microspore development; multi-polar separations; paracentric inversion; spindle mutation

韭莲 (*Zephyranthes grandiflora*) 系石蒜科 (中国植物志编辑委员会, 1985), 常在高温、久旱而 (Amaryllidaceae) 玉帘属具鳞茎的多年生草本植物 普降大雨后突然开放, 俗称风雨花, 又称韭兰等。因

收稿日期: 2007-05-16 修回日期: 2007-12-28

基金项目: 西华师范大学校基金(2005-8)[Supported by University Foundation of China West Normal University(2005-8)]

作者简介: 王祖秀(1949-), 女, 四川成都人, 副教授, 主要从事遗传学的教学和科研工作。

花的形态别致、色泽艳丽、花期长、易栽培和繁殖,深受人们的喜爱,常种植于公园和庭院作为观赏植物。韭莲原产南美,现世界各地均有引种栽培。栽培韭莲花粉大多是不育的,通过鳞茎繁殖。玉帘属植物的染色体倍性和数目变化非常复杂,已成为研究植物物种演化途径的重要材料。核型分析和减数分裂中染色体的细胞学形态特征是研究和发现染色体畸变的重要方法。国外学者主要着眼于玉帘属植物染色体数目的确定与核型分析(Raina & Khoshoo, 1971; Kurita, 1987; Greizerstein & Naranjo, 1999),很少有关于减数分裂的文献。而国内尚未见韭莲减数分裂行为的报道。为探明韭莲配子不育原因,在对韭莲进行减数分裂观察时,发现同一居群中存在减数分裂行为具明显差异的两类植株。本文对两类植株的减数分裂和小孢子发育进行了比较分析,旨在为今后探讨玉帘属的物种演化和种系发生提供必要的依据。

1 材料和方法

本文所用材料韭莲取自西华师范大学生命科学学院植物园。并从同一居群韭莲中新发现的一株减数分裂极其异常的植株。本文将其分别称为普通韭莲和变异株韭莲。二者在形态上无明显差异,只是变异株的生长和繁殖较慢。

减数分裂及小孢子发育的观察:取两种韭莲鳞茎,洗净、切开,取出幼嫩的花蕾。采用乙醇:冰乙酸为 3:1 卡诺氏固定液固定 3~4 h,压片法制片,改良苯酚品红染色。显微镜观察,统计减数分裂各时期异常分裂的类型及其小孢子母细胞数目,对典型的异常现象进行显微摄影。花粉活力测定:采用 TTC 染色法(申书兴, 2002)和孔雀绿混合液染色法(Alexander, 1969)。并对统计结果进行比较分析。

2 实验结果

2.1 减数分裂

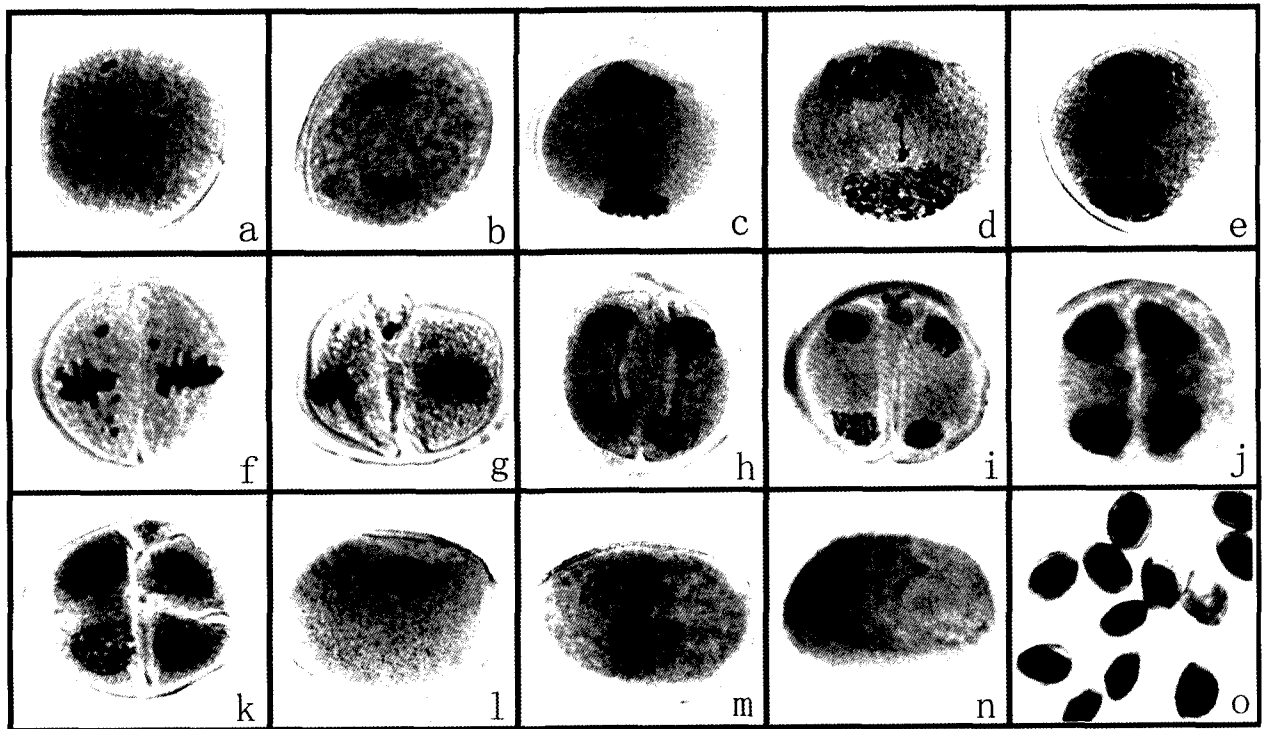
2.1.1 普通韭莲减数分裂及小孢子发育 对普通韭莲减数分裂的观察发现,绝大多数小孢子母细胞能完成减数分裂,但有 13.18% 小孢子母细胞存在落后染色体、染色体桥、微核等异常结构(图 I:a-g)。在后期 I 观察到典型的染色体桥和断片(图 I:c)。在末期 II,常见 4 条落后染色体数聚在一起或游离

于细胞质中(图 I:h-i)。聚在一起的落后染色体解旋后常形成五分孢子体(图 I:j)。对小孢子母细胞减数分裂统计结果显示,各时期总异常分离率为 13.18%。普通韭莲的小孢子发育基本正常,并观察到单核小孢子第一次有丝分裂的各个时期(图 I:k-m),还可见破壁花粉粒中的两个精核(图 I:n),形成的花粉粒大小均匀(图 I:o)。采用 TTC 染色法和孔雀绿混合液染色法,无活力花粉均高达 95.56%。有极少数花粉能参与受精,偶尔可产生少量扁平的黑色种子,但无萌发力。普通韭莲小孢子母细胞减数分裂异常的统计结果(表 1)。

2.1.2 韭莲变异株的减数分裂与小孢子发育 与普通韭莲相比,韭莲变异株的所有小孢子母细胞减数分裂极其紊乱。所有小孢子母细胞均存在落后染色体、微核、多极分离等各种异常结构(图 II:a-g)。减数分裂的严重异常导致四分孢子体期产生大量的多分孢子(图 II:h-j)。随着四分孢子壁的解体,进入小孢子发育期。但小孢子不能正常发育,无花粉形成。对各时期异常分离母细胞总百分比高达 94.3%,四分孢子期,多分孢子母细胞达 73.4%。多分孢子中的小孢子数目通常在 6~10 之间。韭莲变异株小孢子母细胞减数分裂异常的统计结果见表 2。

3 讨论

对玉帘属植物减数分裂行为的研究, Davina & Fernandez(1989)曾通过减数分裂中期 I 的染色体配对行为对南美玉帘属不同植物间染色体数目进行研究。并根据一个种的染色体数为 $2n=50$,提出了一个新的可能的染色体基数($x=5$)。对玉帘属三种植物(其中之一为: $2n=24$ 的韭莲)的减数分裂行为的观察时(Devi & Borua, 1997),发现韭莲的减数分裂中存在落后染色体和不等分离,其减数分裂的异常达 68%,可育花粉为 37.8%,但未对减数分裂异常的原因进行分析。本文通过对韭莲小孢子母细胞减数分裂及小孢子发育的观察首次发现在具有相同染色体数目($2n=48$)的同一居群的韭莲中存在减数分裂行为有明显差异的不同植株。认为同一居群的韭莲减数分裂的行为差异来源于遗传差异。普通韭莲的减数分裂行为异常与配子不育的原因主要与染色体结构变异有关。并首次在韭莲减数分裂后期 I 观察到典型的染色体桥和无着丝粒断片。这种



图版 I 普通韭莲小孢子母细胞减数分裂与小孢子发育

Plate I Meiosis of microsporocytes and development of microspores in general *Z. grandiflora*

a. 中期I落后染色体; b. 后期I的落后染色体; c. 后期I的染色体桥和断片; d. 末期I的染色体桥和断片; e. 末期I的微核; f. 中期II的断片; g. 中期II的微核; h. 后期II的染色体桥; i. 末期II的4条落后染色体聚在一起; j. 末期II的落后染色体; k. 四分孢子期的五分孢子; l. 小孢子有丝分裂中期(侧面观); m. 小孢子有丝分裂后期; n. 2个精细胞的花粉粒; o. 由 TTC 液染色的成熟花粉粒。

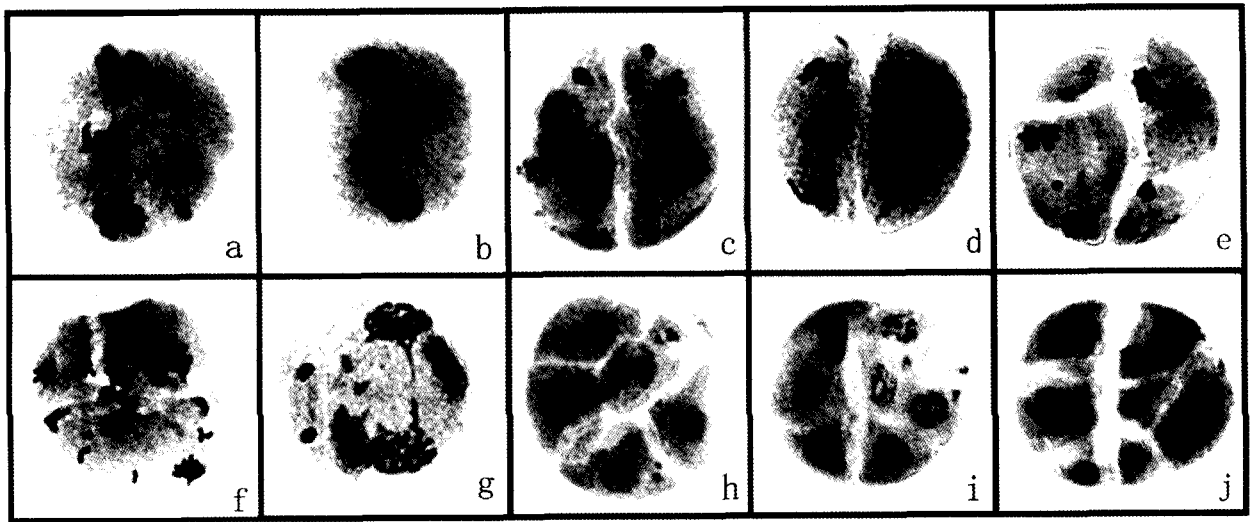
a. lagging chromosome at metaphase I; b. lagging chromosome at anaphase I; c. chromosome bridge and fragment at anaphase I; d. chromosome bridge and fragment at telophase I; e. micronucleus at late telophase I; f. fragment at metaphase II; g. micronucleus at metaphase II; h. chromosome bridge at anaphase II; i. four lagging chromosomes assembled together at telophase II; j. lagging chromosomes at telophase II; k. five microspores at tetraspore phase; l. Mitosis of microspores at metaphase (observed from side of spindle); m. mitosis of microspores at anaphase; n. pollen grain with two sperm cells; o. mature pollen grain by TTC staining.

表 1 普通韭莲小孢子母细胞减数分裂异常分离的统计结果

Table 1 Stat results of microsporocytes with abnormal separation in meiotic behavior of the general *Z. grandiflora*

时期 Period	小孢子母细胞 总数 Total number of microspo- rocytest	异常分离的类型和 小孢子母细胞数 Type of abnormal separation and num- ber of microsporocytes			异常分离 率(%) Rate of abnormal separation
		落后染 色体(或 断片)	染色 体桥	微核	
中期 Metaphase I	130	9	0	6	11.54
后期 Anaphase I	120	15	4	4	19.17
末期 Telophase I	174	17	3	5	14.37
中期 Metaphase II	134	16	0	8	17.91
后期 Anaphase II	150	15	1	4	13.33
末期 Telophase II	115	4	0	5	7.83
X±s	823	76	7	33	14.02±4.16

结构是臂内倒位杂合体倒位环内同源非姊妹染色单体间发生交换所形成的(王亚馥等,1999)。从减数分裂后期 I 特殊的细胞学形态证明韭莲(2n=48)是臂内倒位杂合体。因为发生臂内倒位后未导致染色体形态改变,故倒位杂合体是通过核型分析难以发现的染色体结构变异。而韭莲变异株减数分裂异常的原因除染色体结构变异外,可能还与控制纺锤体形成的基因发生突变有关。因为在后期 II 所观察到的多个细胞必然来自第一次的多极分离。自然界中已发现相当多的突变体与减数分裂 I 纺锤体异常有关(Kaul & Murthy,1985; Sosnikhina 等,2005)。据此推测,韭莲变异株减数分裂的多极分离可能是控制纺锤体的基因突变所致。因为韭莲不能进行有性繁殖,无法通过有性杂交检测突变基因的分。无性繁殖的韭莲无法通过有性繁殖产生基因重组,



图版 II 韭莲变异株小孢子母细胞减数分裂
Plate II Meiosis of microsporocytes in mutant plants of *Z. grandiflora*

a-b. 后期I落后染色体; c. 前期II的微核; d. 后期II的紊乱分离; e-f. 后期II的多极分离及落后染色体; g. 末期II的桥、落后染色体和微核分裂; h-j. 四分孢子期的多孢子及微核。

a-b. lagging chromosome at anaphase I; c. micronucleus at prophase II; d. foul-up separation at anaphase II; e-f. poly-pole segregation and lagging chromosome at anaphase II; g. chromosome bridge, lagging chromosome and micronucleus at telophase II; h-j. paraspores and micronucleus at tetraspore phase.

表 2 韭莲变异株小孢子母细胞减数分裂异常分离的统计结果

Table 2 Stat results of microsporocytes with abnormal separation in meiotic behavior of the mutant plants in *Z. grandiflora*

时期 Period	小孢子母细胞总数 Total number of microsporocyttest	异常分离的类型和小孢子母细胞数 Type of abnormal separation and number of microsporocytes			异常分离率(%) Rate of abnormal separation
		落后染色体(或断片)	染色体桥	微核	
中期 metaphase I	66	60	—	—	90.9
后期 anaphase I	78	66	5	4	96.1
末期 telophase I	85	21	2	58	95.2
中期 metaphase II	57	50	—	3	93.0
后期 anaphase II	63	51	5	3	93.7
末期 telophase II	94	9	3	79	96.8
X±s					94.3±2.2

其染色体结构变异和基因突变为韭莲的进化提供了变异来源,并为品种培育提供材料。

参考文献:

中国植物志编辑委员会. 1985. 中国植物志(第16卷第1分册) [M]. 北京: 科学出版社
王亚馥, 戴灼华. 1999. 遗传学[M]. 北京: 高等教育出版社: 414

— 415
申书兴. 2002. 园艺植物育种学实验指导[M]. 北京: 中国农业大学出版社: 13-14
Alexander MP. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen[J]. *Stain Technology*, **44**(3): 117-121
Davina JR, Fernandez A. 1989. Karyotype and meiotic behavior in *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) from South America[J]. *Cytologia*, **54**(2): 269-274
Devi T, Borua PK. 1997. Meiotic behaviour and pollen fertility in three species of *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) [J]. *Biologia Plantarum*, **39**(3): 355-360
Greizerstein EJ, Naranjo CA. 1987. Chromosomal studies in species of *Zephyranthes* (Amaryllidaceae)[J]. *Darwiniana*, **28**: 169-186
Kaul MLH, Murthy TKG. 1985. Mutant genes affecting higher plant meiosis[J]. *Theor Appl Genet*, **70**: 449-466
Kurita S. 1987. Variation and evolution in the karyotype of *Lycoris* (Amaryllidaceae). IV. Intraspecific variation in karyotype of *L. radiata* (L'Her) Herb, and the origin of the triploid species[J]. *Cytologia*, **52**: 137-150
Raina SN, Khoshoo TN. 1971. Cytogenetics of tropical bulbous ornamentals VI; Chromosomal polymorphism in cultivated *Zephyranthes*[J]. *Caryologia*, **24**(2): 217-227
Sosnikhina SP, Mikhailova EI, Tikholiz OA, et al. 2005. Meiotic mutations in rye *Secale cereale* [J]. *Cytogenetic Genome Res*, (109): 1-3
Zemskova EA, Sveshnikova LI. 1999. Karyological study of some representatives of the family Amaryllidaceae[J]. *Botanicheskii Zhurnal-(St. Petersburg)*, **84**(4): 86-98