

番茄单倍体植株减数分裂的研究

程玉瑾, 吴定华, 陈国菊, 吴筱颖

(华南农业大学园艺系, 广东 广州 510642)

摘要: 研究了番茄单倍体减数分裂过程中染色体的行为。结果表明, 番茄单倍体减数分裂不同步。在中期 I 和中期 II, 绝大部分细胞的染色体聚集在赤道板上, 其中少数细胞的个别染色体散乱在赤道板外; 中期 II 二赤道板交叉、紧贴细胞边缘。后期 I、后期 II 形成染色体桥、断片及落后染色体; 染色体在两极分布不均衡; 分成染色单体。孢子体以四分孢子为主, 部分有微核, 也有少量单分及多分孢子。97.4% 花粉不能萌发, 植株高度不育。

关键词: 番茄; 单倍体; 减数分裂; 染色体行为

中图分类号: S641.203.6

文献标识码: A

单倍体在植物细胞学、作物遗传及育种上有重要作用, 国内外均有研究, 然而番茄单倍体的研究和利用报道较少^[1,2]。本文以秘鲁番茄 (*Lycopersicon peruvianum* Mill.) 花药培养得到的单倍体植株为试材, 对其植株表现、植株育性、花粉母细胞减数分裂过程进行了较详细的研究, 以期番茄单倍体育种、快速获得纯合自交系提供理论依据。

1 材料与方法

试材秘鲁番茄 (*Lycopersicon peruvianum* Mill.) 花药(以下简称‘秘药’)是华南农业大学园艺系蔬菜育种教研室于 1989 年用野生秘鲁番茄通过花药培养获得的单倍体无性繁殖系, 经鉴定 $2n=12$ 。种植单倍体植株并观察其性状表现和育性。减数分裂观察的花蕾于晴天上午 9~11 时取材, 经 Carnoy's 固定液固定, 卡宝品红染色压片, 用临时和永久片观察计数并照相。花粉活力参照陈竹君的方法^[3]用琼脂发芽法观察计数。

2 结果与分析

2.1 ‘秘药’的育性及其性状表现

1990、1994、1997、1998 年分别种植‘秘药’于大田(共 28 株), 植株生长缓慢, 株型、叶片、花器较秘鲁番茄小, 但叶色变深绿, 植株大量开花, 每株过百朵, 但只结 7 个约 1 g 小果, 果内无种子, 表现出高度的不育性。

2.2 花粉活力测定结果

‘秘药’花粉粒大小悬殊, 形态各异, 最大的为 $33.33 \mu\text{m} \times 17.78 \mu\text{m} (l \times b)$, 最小的仅为 $20.00 \mu\text{m} \times$

$12.44 \mu\text{m} (l \times b)$ 。通过花粉萌发法对 6 988 粒花粉进行活力测定, 其中只有 183 粒花粉发了芽, 萌发率为 2.6%。

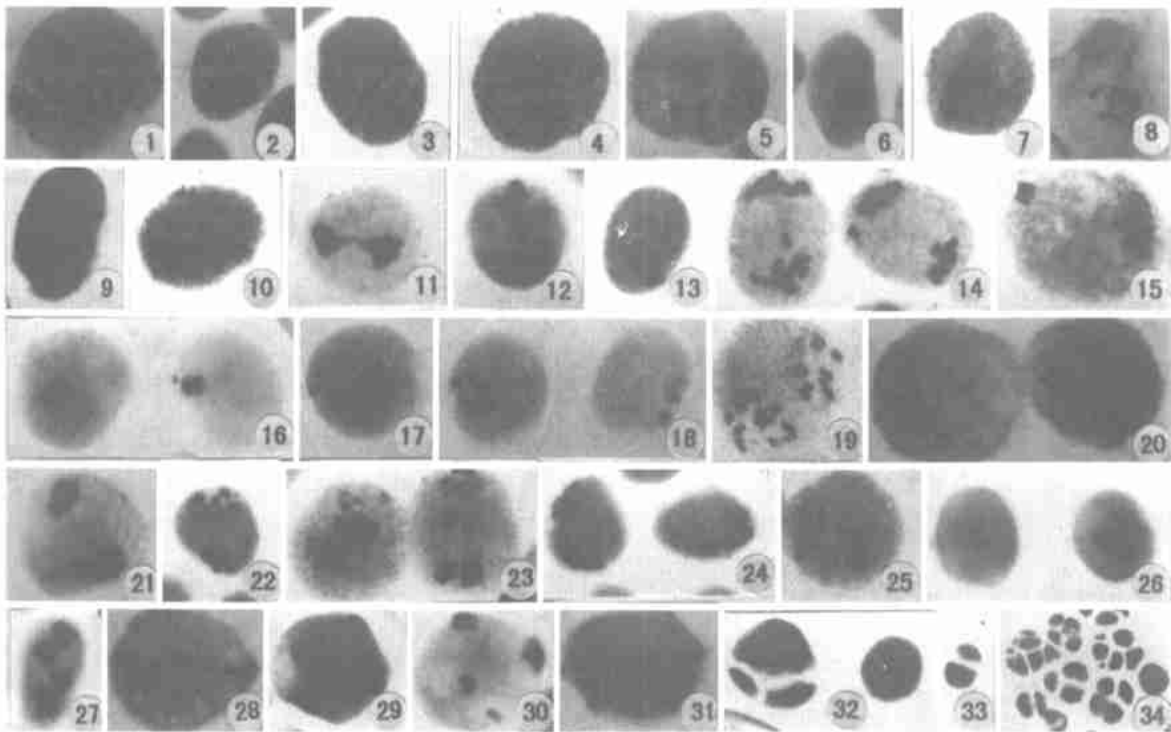
2.3 ‘秘药’小孢子母细胞减数分裂过程观察结果

‘秘药’只有单一的染色体组, 在减数分裂过程中染色体受到各种破坏。同一花药中的不同花粉母细胞减数分裂的同步性程度较差, 减数分裂的各个时期均存在, 与小麦、烟草单倍体减数分裂过程相似^[4], 即使是‘秘药’的同一个花粉母细胞其分裂也不同步。

(1)终变期: 染色体缩短变粗, 象二倍体一样, 染色体浓缩和螺旋化达到最大, 明显可见 12 条染色体呈杆状, 均为单价体(图 1-1)。

(2)中期 I: 本实验多数细胞的染色体集中在赤道板上, 可以清楚地区分中期 I 和后期 I, 与郝水等^[4]在小麦上观察的中期 I 不形成赤道板, 难于区分中期和后期 I 的结果不同。本实验还观察到 1 个、2 个或更多个染色体处在赤道板以外(图 1-2、1-3), 频率为 7.5%(观察 2 988 个细胞的结果); 也有虽形成赤道板, 但不在细胞中央, 而是位于边缘。还有少数细胞染色体散乱在细胞中央, 不形成赤道板(图 1-4、1-5)。

(3)后期 I: 染色体在后期 I 呈现如下几种分裂相: 染色体不分开, 随机地拉向两极, 两极带有不同数目的染色体, 可见到 0-12、1-11、2-10、3-9 等的不平衡分布(图 1-6、1-7、1-8), 频率为 9.2%; 部分单价染色体的 2 条染色单体在后期 I 提前分开, 染色单体被拉向两极, 在前期 II 可见染色体数为 12 条的染色单体(图 1-19); 有落后染色体(图 1-9、1-10), 频率为 10.8%; 形成染色体桥, 有断片或无断片(图 1-11、1-12), 频率



1. 终变期(diakinesis), $2n=12$; 2. 3. 中期 I, 1 个、多个染色体散于赤道板外(metaphase I, one or more chromosomes scattered outside the plates); 4. 5. 中期 I, 染色体向中央靠拢, 但不形成赤道板, 散乱于细胞中央(metaphase I, the chromosomes scattered around the central of cells. No plates observed); 6~8. 后期 I, 染色体不均衡分布; 8. 细胞一极可数出只有 5 条染色体(anaphase I, the chromosomes unequally distributed. In figure 8, only 5 chromosomes observed at one polar of the cell); 9. 10. 后期 I, 落后 1 条或多条染色体(anaphase I, one or more chromosomes lagged); 11. 12. 后期 I, 染色体桥及断片(anaphase I, chromatic bridge and fragments); 13. 后期 I, 纺锤丝牵引的多极分裂(anaphase I, multipolar division dragged by spindle fibers); 14. 末期 I, 染色体散乱一旁(telophase I, the chromosomes scattered); 15~18. 末期 I, 染色体不均衡分布, 细胞内没有或只有 1 条、2 条等数目极少的染色体, 细胞不分或分成 2 个子细胞(telophase I, the chromosomes unequally distributed. Only a few or no chromosome observed. The cell divided into two cells or no division observed); 19. 20. 前期 II, 单价染色体提前分开或断裂, 19 细胞一极为 12 条 一极少于 12 条, 20 一子细胞有 3 条染色体或 3 个断片, 另一子细胞染色体数目较多(prophase II, univalent chromosome apart or break in advance. In figure 19, 12 chromosomes at one polar and chromosomes less than 12 at the other. In figure 20, 3 chromosomes or 3 fragments in one offspring cell and more in another); 21. 前期 II, 染色体散乱一旁, 可能是后 I 落后染色体或断片(prophase II, the chromosomes scattered, which might be lagged chromosomes in anaphase I or fragments); 22. 细胞内分裂不同步, 一极为前 II, 一极为后 I (unsynchronic division in the cells. One polar at prophase II, the other polar at anaphase I); 23. 中期 II (左), 个别染色体散乱赤道板外; 后期 II (右), 多极分裂(metaphase II (left), several chromosomes scattered outside the plates. anaphase II (right), multipolar division); 24. 25. 中期 II, 二赤道板位于细胞边缘, 呈弯曲的弧形或交叉在一起(metaphase II, the two plates arced or crossed and spread along the edge of the cell); 26. 中期 II, 后期 I 的不均等分布 子细胞内极少的染色体仍聚集赤道板上(metaphase II, unequal distribution at anaphase I and very few chromosomes still gathered on the plates in offspring cell); 27. 后期 II, 1 个细胞内 2 个染色体桥(anaphase II, two chromatic bridges in one cell); 28. 后期 II—末期 II, 子细胞内较少的染色体形成的染色体桥, 可见也是不均等分裂(anaphase II—telophase II, chromatic bridge formed by a few chromosomes in offspring cell which also showed unequal division); 29~31. 末期 II, 染色体落后、断片及分裂不均, 形成的 4 个核大小不等, 有微核(telophase II, lagged chromosomes fragments and unequal division. The four nuclei formed with different sizes and micronuclei observed); 32. 单分、三分孢(monospore and tri-spores); 33. 34. 二分及多分孢子($\times 238$)(dis-pore and multi-spores)

图 1 秘鲁番茄单倍体的减数分裂(除注明外倍率均为 594 倍)

Fig. 1 Meiosis of haploid of tomato (multiplied with 594 unless noted)

分别为 15.6%和 10.8%;多极分裂(图 1-13), 频率为 5.7%(以上数据为 1 981 个细胞观察结果).

(4)末期 I : 染色体移到两极, 部分染色体散乱一旁(图 1-14), 频率为 13.9%(475 个细胞的结果), 这散乱一旁的染色体可能是后期 I 的落后染色体、染色体桥和断片以及多极分裂的染色体, 也可能是中期 I 散于赤道板外的染色体.

多数细胞不形成成膜体(图 1-15); 少数有成膜体, 形成 2 个子细胞. 由于后期 I 两极染色体的不均衡分布(0-12、1-11 等), 个别子细胞内没有或只有 1、2 条数目极少的染色体(图 1-16、1-17、1-18).

(5)前期 II : 核内染色体逐渐缩短变粗. 由于后期 I 单价染色体的分开和不均衡分布, 此时只有少数细胞内可数出 12 条染色单体, 绝大多数细胞内无

法数出12条染色体(图1-19),有些细胞内无染色体,有些有1、2条或少于12条的染色体(图1-20);染色体散乱一旁(图1-21);同一细胞内两极分裂不同步,一极为前II,另一极为末I或中II(图1-22)。

(6)中期II:染色体分布不正常,多数染色体排列在赤道板上,有些染色体(染色单体或断片)散乱在赤道板以外(图1-23),频率为8.9%;染色体集于二赤道板上,赤道板不位于中央,而是位于细胞边缘,呈弯曲的弧形(图1-24),或二赤道板交叉在一起即粘在一起(图1-25),频率为9.6%;染色体位于细胞中央,但数目极少(第一次不均等分裂的结果)(图1-26);染色体分裂不同步(以上数据为498个细胞观察结果)。

(7)后期II~末期II:分裂不同步;形成染色体桥(图1-27、1-28);多极分裂(图1-23);有落后染色体或断片;染色体分布不均衡,末期II形成的4个核有时大小不等,有微核(图1-29、1-30、1-31)。

四分体时期,由于后期I、后期II染色体的异常,细胞分裂有时不正常,形成单分、二分、三分、四分甚至九分体,且大小不等(图1-32、1-33、1-34),但四分体占多数。

3 讨论

秘鲁番茄花药培养得到的单倍体,在减数分裂的第一次和第二次分裂中出现了多种染色体异常行为,如染色体散乱于赤道板外、染色体两极分布不均衡、染色体落后、染色体桥有断片或无断片、多极分

裂等,使单倍体的减数分裂受到极大干扰和破坏,形成了大小和数量不同的小孢子(单分至九分孢),小孢子核内带有各种数目的染色体,小孢子中不平衡的染色体组,导致其不能发育成正常的花粉粒,绝大多数花粉败育和植株高度不育。

在大量败育的花粉粒中发现频率为2.6%的可育花粉。这些可育花粉的出现可能因为第一次分裂时频率极低的单价体(2个染色单体)的均等分离;后期I单价体的不均等分布(0-12、1-11、2-10、3-9、4-8、5-7)中极少的0-12分布,使极少数的子细胞在第一次分裂后带有了完整的12条染色体,在第二次分裂时12条染色体各分为12条染色单体;12条单价体在第一次分裂随机分布中的6-6均等分布,使2个子细胞分别带6条染色体,进入第二次分裂时,6条染色体分为12条染色单体,从而导致花粉可育。但上述3种情况出现的频率极低,因此花粉粒也只有极少的可育。

参考文献:

- [1] GRESSHOFF P M, DOY C H. 番茄单倍体的发育和分化 [A]. 中国科学院北京植物研究所编译. 单倍体育种集: 第二集 [C]. 北京: 科学出版社, 1972: 142—153.
- [2] 高秀云, 王纪方, 金波, 等. 番茄花药离体培养获得植株 [J]. 园艺学报, 1980, 7(4): 37—41.
- [3] 陈竹君, 吴定华. 番茄远缘杂种 F_1 及其双亲花粉萌发力研究 [J]. 中国蔬菜, 1988, 27(1): 12—17.
- [4] 郝水, 何孟云, 徐宗尧, 等. 小麦花药诱导单倍体植株的减数分裂分析 [J]. 中国科学, 1981, 5: 627—632.

Studies on the Meiosis of Haploid Plants of Tomato

CHENG Yu-jin, WU Ding-hua, CHEN Guo-ju, WU Xiao-ying

(Dept. of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The chromosomal behavior of tomato haploids in the process of meiosis was studied. The results showed that the meiosis of tomato haploids was unsynchronic. At metaphase I and metaphase II, the chromosomes of most pollen mother cells gathered on the plates, while in some of the cells several chromosomes scattered outside the plates. At metaphase II, the two plates crossed and spread along the edge of the cells. The chromatic bridge, fragments and lagging chromosomes were observed at anaphase I and anaphase II. The distribution of chromosomes was unequal, and some univalents divided. In the tetrad stage, tetrads were dominant and some with micronuclei inside. There were also some monospores and multispores. 97.4 percent of pollen were not geminant, the plants were almost sterile.

Key words: tomato; haploid; meiosis; chromosomal behavior

【责任编辑 柴 焰】