

黄瓜倍性鉴定方法的研究

杜胜利^{1,3} 韩毅科² 魏爱民¹ 王 鸣² 陈启民³ 侯 锋¹

(¹ 天津市黄瓜研究所, 天津 300192; ² 西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100; ³ 南开大学生命科学院, 天津 300190)

摘 要: 以黄瓜未受精子房培养的再生植株群体为材料, 研究和比较了几种倍性鉴定方法。结果表明: 体细胞染色体计数法是最可靠的直接方法; 体细胞染色中心大小、异染色质数目以及保卫细胞叶绿体数目与黄瓜倍性密切相关, 是有效的间接方法; 不同倍性植株在长势、花冠形态、花粉粒及结籽等方面有明显差异, 也能间接确定植株倍性。

关键词: 黄瓜; 倍性鉴定

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 03-0280-02

1 目的、材料与方法

在单倍体育种中, 通过花药 (花粉小孢子)、未受精子房等途径再生出的植株, 往往是单倍体、双单倍体及其他倍性植株的混合群体, 有效的倍性鉴定是了解其遗传背景和进一步应用的基础。虽然有关倍性鉴定已有一些文献报道^[1,2], 但有关黄瓜染色体倍性鉴定方法的研究尚未见报道。本试验旨在通过研究、比较各种倍性鉴定方法, 建立一套简便、准确、高效的黄瓜倍性鉴定方法。

试验于 2000~2001 年在天津市黄瓜研究所进行, 以 R5 (F₁)、R7 (F₁) 为供体材料, 通过未受精子房进行离体培养, 获得约 200 株再生植株, 定植于玻璃日光温室中。取幼嫩卷须, 采用去壁低渗法^[3]进行染色体制片, 用 OPTON911 型显微镜观察计数染色体数, 同时用 OLYMPUS IX70 倒置显微镜观测异染色质数目和染色中心大小。不同倍性组各取 3 个基因型植株, 每个基因型计数 20 个细胞, 求其平均值。染色中心直径的观测值乘以 1.667 调节为实际值。撕取叶片的下表皮, 置于荧光显微镜下进行气孔保卫细胞叶绿体计数。不同倍性组各取 3 个基因型植株, 每个基因型植株取 10 片叶, 每叶片观察 20 个细胞, 求其平均值。比较同时期移栽的不同基因型单倍体和双单倍体植株, 观察叶片和花的形状, 花粉、果实和种子的发育和形态等。

2 结果与分析

2.1 染色体计数

染色体计数结果表明, 再生植株多数为双单倍体 ($2n = 2x = 14$), 少数为单倍体 ($n = x = 7$, 见插页 2 图版, 1), 并发现三倍体 ($2n = 3x = 21$, 见插页 2 图版, 2)、四倍体 ($2n = 4x = 28$, 见插页 2 图版, 3) 和非整倍体。

2.2 染色中心直径和异染色质数目

通过染色体制片, 较容易获得大量染色中心的制片, 而且染色中心个体较大, 很容易识别和测量; 染色中心中的异染色质也很容易辨认和计数 (见插页 2 图版, 4~6)。

从表 1 可以看出, 不同倍性植株染色中心直径和异染色质数目差异达显著水平。用 Duncan's 检验法对各组的平均值进行多重比较表明, 单倍体染色中心直径 $5.1 \mu\text{m}$, 显著小于双单倍体 $13.3 \mu\text{m}$ 和三倍体 $17.1 \mu\text{m}$, 而双单倍体和三倍体之间无显著差异。单倍体异染色质数为 5.0, 双单倍体为 11.9, 三倍体为 21.2, 他们之间存在显著差异。说明染色中心直径可用来鉴定单倍体, 但在区分双单倍体和

收稿日期: 2001-08-07; 修回日期: 2001-11-27

基金项目: 天津市重点攻关项目资助

三倍体时会有一定误差。而根据异染色质数则可鉴定上述三种倍性。

2.3 叶片气孔保卫细胞叶绿体数

从表 2 可以看出, 保卫细胞叶绿体数几乎随植株倍性成正比增加, 单倍体、双单倍体和三倍体之间差异达极显著水平。因此保卫细胞的叶绿体数可作为鉴定植株倍性的一个重要依据 (见插页 2 图版, 10~12)。

表 1 黄瓜不同倍性植株染色中心直径和异染色质数目

Table 1 Chromocenter diameter and heterochromatin number of cucumber with different ploidy levels

倍性 Ploidy	染色中心直径 Chromocenter diameter (μm)	异染色质个数 Heterochromatin number
单倍体 Haploid	5.1b	5.0 c
双单倍体 Doubled haploid	13.3 a	11.9 b
三倍体 Triploid	17.1 a	21.2 a

注: a, b 和 c 代表各倍性组平均值在 5 % 水平上差异显著。

Note: Letter a, b and c indicate the significant difference among average values of different ploidy groups according to Duncan's test at 5 % level.

表 2 黄瓜不同倍性植株叶片气孔保卫细胞叶绿体数

Table 2 Stomata size and guard cell chloroplast number of cucumber with different ploidy levels

倍性 Ploidy	叶绿体个数 Chloroplast number
单倍体 Haploid	4 C
双单倍体 Doubled haploid	7.9 B
三倍体 Triploid	12.0 A

注: A, B 和 C 代表各倍性组平均值在 1 % 水平上差异显著。

Note: Letter A, B and C indicate the significant difference among average values of different ploidy groups according to Duncan's test at 1 % level.

2.4 植株形态观察

根据对 100 多株单倍体和双单倍体植株的田间观察统计, 二者雌、雄花花冠具有明显区别: 单倍体花冠深裂, 而双单倍体花冠浅裂, 可作为区别单倍体和双单倍体植株的标志。单倍体能结果, 但果形多异常, 无正常的种子, 多空瘪籽。双单倍体种子饱满。单倍体花粉粒在开花前即败育 (见插页 2 图版, 7), 双单倍体花粉粒发育正常 (见插页 2 图版, 8), 三倍体的花粉粒绝大多数败育, 仅有少量正常花粉粒 (见插页 2 图版, 9)。大多数单倍体生长势明显弱于双单倍体和三倍体。

总之, 染色体计数法作为直接的倍性鉴定方法, 精确、可靠, 但费时而且需要熟练的细胞学操作技术; 在荧光显微镜下进行保卫细胞叶绿体计数, 是快速、有效的鉴定方法。植株的形态学观察也能间接确定植株倍性, 但要在植株生长发育较晚时期鉴定, 难以及时采取加倍等措施, 致使育种材料不能得到充分利用。

参考文献:

- Sari N, Abak K, Pitrat M. Comparison of ploidy level screening methods in watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai. *Scientia Horticulturae*, 1999, 82: 265~277
- Norio Katoh. Production of haploid plants of melon by pseudofertilized ovule culture, *Plant Tissue Culture Letters*, 1993, 10 (1): 60~66
- 陈瑞阳, 宋文芹. 植物染色体标本制备的去壁、低渗法及其在细胞遗传学中的意义. *遗传学报*, 1982, 9 (2): 151~159

Ploidy Determination in Cucumber (*Cucumis sativus* L.)

Du Shengli^{1,3}, Han Yike², Wei Aimin¹, Wang Ming², Chen Qimin³, and Hou Feng¹

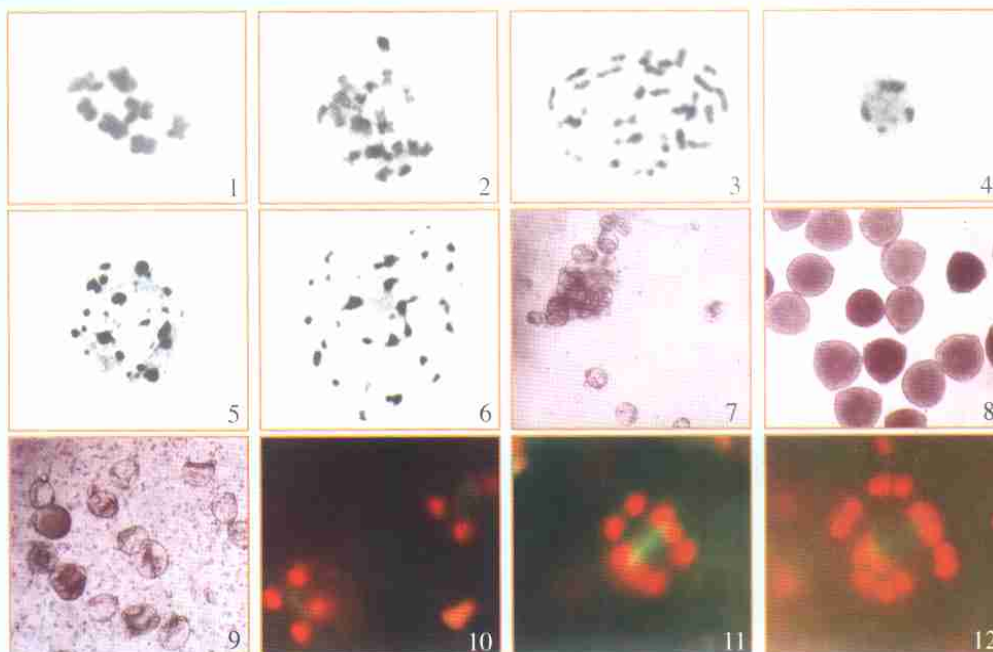
(¹ Tianjin Cucumber Research Institute, Tianjin 300192, China; ²Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; ³Nankai University, Tianjin 300190, China)

Abstract: Various methods for ploidy determination were investigated and evaluated in cucumber. The results indicated that chromosome counting was the most reliable and precise method, however, it was cumbersome and required skilled cytological techniques; The chromocenter size, heterochromatin number, guard cell chloroplast number and certain plant morphological characteristics have close relationships with ploidy levels, and are simple and practical methods for ploidy determination but with some shortages.

Key words: Cucumber (*Cucumis sativus* L.); Ploidy determination

杜胜利等：黄瓜倍性鉴定方法的研究

Du Shengli, et al. Ploidy Determination in Cucumber (*Cucumis sativus* L.)



图版说明：1. 单倍体 $n=x=7$ (2200 \times)；2. 三倍体 $2n=3x=21$ (2200 \times)；3. 四倍体 $2n=4x=28$ (2200 \times)；4. 单倍体染色中心及异染色质 (2200 \times)；5. 双单倍体染色中心及异染色质 (2200 \times)；6. 三倍体染色中心及异染色质 (2200 \times)；7. 单倍体败育花粉粒 (240 \times)；8. 双单倍体正常花粉粒 (240 \times)；9. 三倍体异常花粉粒 (240 \times)；10. 单倍体气孔保卫细胞叶绿体 (2000 \times)；11. 双单倍体气孔保卫细胞叶绿体 (2000 \times)；12. 三倍体气孔保卫细胞叶绿体 (2000 \times)。

Explanation of plates: 1. Haploid $n=x=7$ (2200 \times); 2. Triploid $2n=3x=21$ (2200 \times); 3. Tetraploid $2n=4x=28$ (2200 \times); 4. Haploid chromocenter and heterochromatin (2200 \times); 5. Doubled haploid chromocenter and heterochromatin (2200 \times); 6. Triploid chromocenter and heterochromatin (2200 \times); 7. Haploid aborted pollen (240 \times); 8. Doubled haploid normal pollen (240 \times); 9. Triploid abnormal pollen (240 \times); 10. Haploid guard cell chloroplast (2000 \times); 11. Doubled haploid guard cell chloroplast (2000 \times); 12. Triploid guard cell chloroplast (2000 \times).

袁艺等：紫萁快速繁殖技术的研究

Yuan Yi, et al. Studies on the Rapid Propagate of the *Osmunda japonica* Thund.



图版说明：1. 紫萁原叶体；2. 紫萁丝状体；3. 紫萁幼孢子体；4. 紫萁成熟孢子体；5. 移栽后的紫萁孢子体。

Explanation of plates: 1. Gametophyte of *Osmunda japonica* Thund.; 2. Filamentous form of *Osmunda japonica* Thund.; 3. Sporophyte of *Osmunda japonica* Thund.; 4. Ripe sporophyte of *Osmunda japonica* Thund.; 5. Transplanting sporophyte of *Osmunda japonica* Thund..