

# 酸枣和赞皇大枣花粉母细胞减数分裂的观察

许晓光, 陈 龙, 彭建营\*

(河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001)

**摘 要:** 以酸枣和赞皇大枣为试材, 对其花粉母细胞的减数分裂过程进行了系统观察, 并将减数分裂的各个时期加以描述和分析。结果表明, 酸枣减数分裂符合二倍体的分裂规则; 赞皇大枣分裂不规则, 终变期出现单价体、二价体和三价体, 且减数分裂后期 和后期 出现落后染色体, 最终产生三分体、四分体、五分体、六分体, 形成不等孢子。

**关键词:** 枣; 酸枣; 减数分裂; 花粉母细胞; 染色体

**中图分类号:** S 665.1; Q 944 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 08-1127-07

## Meiotic Observations on the Pollen Mother Cells of *Ziziphus spinosus* Hu and *Ziziphus jujuba* Mill 'Zanhuang Dazao'

XU Xiao-guang, CHEN Long, and PENG Jian-ying\*

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

**Abstract:** Wild jujube and 'Zanhuang Dazao' as experimental materials in this experiment were used to observe the meiosis course of pollen mother cells, and the various periods of the meiosis were described and analyzed. The results showed that wild jujube accorded with the separatist rule of the meiosis with diploid. The meiosis of 'Zanhuang Dazao' was irregular. The diakinesis appeared univalent, bivalent and trivalent. The lagging chromosomes were observed in anaphase and . Finally there produced triad, tetrad, pentad, hexad, and formed unequal spores.

**Key words:** *Ziziphus jujuba*; *Ziziphus spinosus* Hu; meiosis; pollen mother cell; chromosome

枣 (*Ziziphus jujuba* Mill) 为鼠李科 (Rhamnaceae) 枣属 (*Ziziphus* Mill) 植物, 是枣属植物中经济价值最大、分布最广的一个种。酸枣 (*Ziziphus spinosus* Hu) 是枣的原生种, 分布广泛, 是枣的砧木和重要中药材 (曲泽洲和王永蕙, 1993)。**‘赞皇大枣’** (*Ziziphus jujuba* Mill 'Zanhuang Dazao') 原产于河北省赞皇县, 是最优良枣品种之一, 适于制干、鲜食和加工蜜枣, 是迄今为止在枣中发现惟一的自然三倍体 ( $2n=3x=36$ ) (温陟良和王永蕙, 1987; 彭建营等, 2005)。

酸枣类型和枣品种染色体差异不大, 属于小染色体 ( $1\sim4\mu\text{m}$ ) 植物 (李懋学, 1985)。部分酸枣类型的细胞学研究认为酸枣染色体为二倍体 ( $2n=2x=24$ ), 花粉母细胞减数分裂未见异常现象, 但减数分裂的细节还缺乏研究 (阎桂军, 1984; 葛喜珍, 1993)。曲泽洲等 (1986) 观察了枣花粉母细胞减数分裂, 发现除赞皇大枣减数分裂过程异常外, 其它枣品种的减数分裂过程未见异常现象, 但对减数分裂的全过程缺乏系统描述。本研究旨在通过对酸枣和赞皇大枣的花粉母细胞减数分裂行为的系统观察, 为**‘赞皇大枣’**花粉育性提供细胞学资料, 并对进一步研究**‘赞皇大枣’**的起源以及枣的育种奠定基础。

收稿日期: 2009-04-12; 修回日期: 2009-07-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270927); 河北省自然科学基金项目 (C2004000363)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: pjy@hebau.edu.cn)

1 材料与方法

1.1 取样与处理

材料取自河北农业大学西校区标本园。2008年 5月中旬到 6月中旬，枣花粉母细胞减数分裂旺盛时，于晴天上午 8: 00到 10: 00取酸枣和 ‘赞皇大枣 ’的花蕾各 20个，卡诺氏固定液（无水乙醇 乙酸体积比 3 1）固定 2~24 h, 在 5 左右的冰箱内保存待用。

1.2 花粉母细胞减数分裂的观察方法

压片法：取出保存的花蕾置于滤纸上，吸掉卡诺氏固定液。用镊子和解剖针剥去萼片，将花药置于载玻片上，加一滴丙酸—铁矾—苏木精—水合三氯乙醛染色。快速挤压出内含物，盖上盖玻片，再在盖玻片上加一滤纸，用铅笔的橡皮头轻轻敲击，压片，然后镜检、拍照。

2 结果与分析

2.1 花蕾大小与酸枣和赞皇大枣减数分裂的关系

酸枣和赞皇大枣是腋生二歧聚伞花序，单个花蕾的边缘形成 5个萼片原基突起，随后在萼片原基内侧依次出现花瓣原基和雄蕊原基，中央细胞群形成雌蕊原基。单花小，具萼片、花瓣、雄蕊各 5枚，有 5个花药，每个花药中有 4个花粉囊。单花开放是从现蕾开始到子房膨大止，可分为 3个大的时期，即蕾期、开花期及子房开始膨大期。蕾期包括现蕾、现序、蕾黄 3个时期。当酸枣和赞皇大枣进入现序期和蕾黄期早期时，采取花蕾。酸枣花蕾直径在 1.0~2.5 mm；赞皇大枣的直径在 2.0~3.5 mm，适于花粉母细胞减数分裂的观察，所以选择合适的时期及适当大小的花蕾，将有利于得到较好的试验结果（表 1）。减数分裂过程中同一花粉囊内基本同步，同一花药不同花粉囊间有时相差一个分裂期，在同一朵花内不同花药间可相差 2~4个分裂期。

表 1 酸枣、赞皇大枣减数分裂时期的花蕾直径

Table 1 Flower bud diameter of meiosis period in wild jujube and ‘Zanhuang Dazao’ /mm

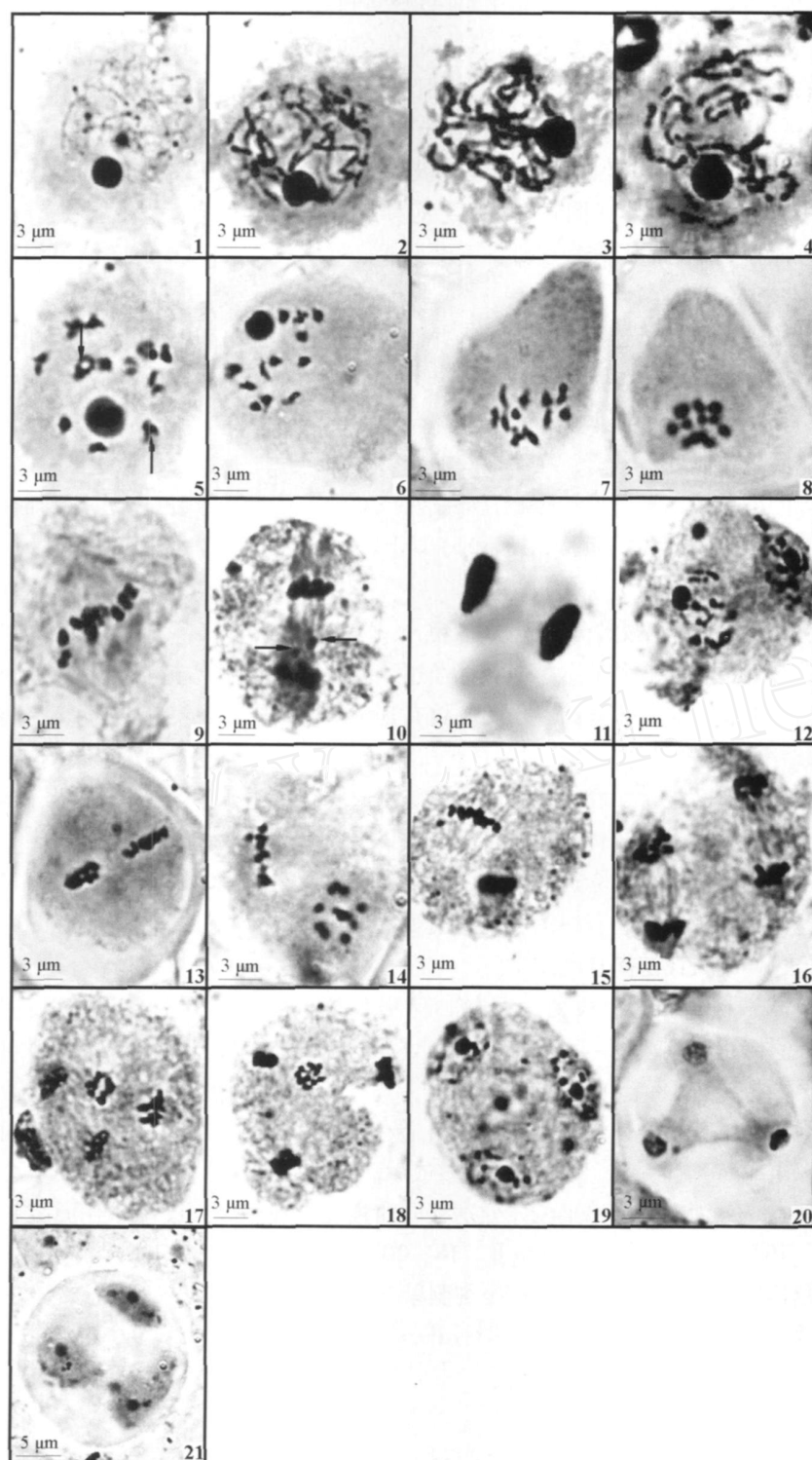
减数分裂时期 Meiosis period	母细胞时期 Mother cell period	前期 Prophase	末期 Telophase	单核花粉 Single nuclear pollen
酸枣 Wild jujube	0.8~1.0	1.0~1.2	2.0~2.5	2.5~3.0
赞皇大枣 Zanhuang Dazao	1.8~2.0	2.0~2.2	3.0~3.5	3.5~4.0

2.2 酸枣花粉母细胞减数分裂观察

酸枣花粉母细胞减数分裂过程未见不正常现象，各主要时期染色体行为特征表述如下。

2.2.1 减数第一次分裂

- 前期 核内染色体复制完成，染色质凝缩成染色线并逐步变粗变短。
- 细线期 细胞核和核仁增大，染色体表现为单丝线状，多数缠绕在一起成网状分布（图版 1）。
- 偶线期 同源染色体配对，出现联会现象。各对染色体的对应部位紧密并列，沿纵向联结形成二价体（图版 2）。
- 粗线期 染色体较粗、较长而且相互缠绕，光学显微镜下很难分清二价体的形态结构（图版 3）。
- 双线期 染色体继续变粗变短，可以追踪二价体的首尾，且二价体的构型已能初步识别（图版 4）。



图版 说明：酸枣花粉母细胞减数分裂的观察 1. 细线期；2. 偶线期；3. 粗线期；4. 双线期；5, 6. 终变期；7~9. 中期；10. 后期；11. 末期；12. 前期；13~15. 中期；16, 17. 后期；18, 19. 末期；20, 21. 四分体。

Explanation of plate : Meiotic observations on the pollen mother cells of *Ziziphus spinosus* Hu 1. Leptotene; 2. Zygotene; 3. Pachytene; 4. Diplotene; 5, 6. Diakinesis; 7-9. Metaphase; 10. Anaphase; 11. Telophase; 12. Prophase; 13-15. Metaphase; 16, 17. Anaphase; 18, 19. Telophase; 20, 21. Tetrad

终变期 染色体达到最小长度。显微镜下可以观察到 12对二价体, 表现为 V, O, X型, 棒状和圆球状, 且每个二价体分散开来, 清晰可辨, 是鉴定染色体数目的最好时期 (图版 , 5, 6)。

中期 染色体为 12对较规则的二价体。从细胞的侧面观察, 染色体在赤道板上排成一列 (图版 , 7, 9), 从极面观察染色体整齐的排列在赤道板上 (图版 , 8)。

后期 同源染色体受纺锤丝的牵引分离, 被均匀拉向两极, 实现了染色体数 ( $2n$ ) 的减半 ( $n$ ), 极少数细胞出现落后染色体 (图版 , 10, 箭头)。

末期 染色体移到两端后, 松散变细, 逐渐形成染色质 (图版 , 11)。

### 2.2.2 减数第二次分裂

前期 核内的染色质逐渐凝缩和螺旋化, 并伴随核仁的再次出现 (图版 , 12)。

中期 两组染色体的着丝点整齐的排列在赤道板上, 形成不同的赤道板空间构象: 两个平行的纺锤体 (图版 , 13) 和两个相互倾斜的纺锤体 (万双粉等, 2006) (图版 , 14, 15)。

后期 姊妹染色单体发生分离, 在纺锤丝的牵引下均匀拉向四极 (图版 , 16, 17)。

末期 两极的染色体逐渐进入解螺旋, 形成两个新的子核, 经减数二次分裂形成四面体型的四分体, 其中胞质分裂为同时型 (图版 , 18~21)。

减数分裂完成后, 形成小孢子 (单核花粉)。

### 2.3 ‘赞皇大枣’花粉母细胞减数分裂观察

赞皇大枣减数分裂过程与酸枣基本相似, 都经过了两次连续的细胞核分裂和一次同时的细胞质分裂。但赞皇大枣为三倍体, 染色体分离不均匀, 故有其特殊性。通过观察, 将其减数分裂过程加以描述。

前期 : 线状染色质经配对、联会并逐渐浓缩变短形成染色体 (图版 , 1~7)。在终变期 (图版 , 5~7) 观察到单价体、二价体和三价体, 导致以后染色体分离不规则。

中期 : 染色体整齐的排列在赤道板两侧, 侧面观可以看到纺锤体 (图版 , 8~11)。

后期 : 染色体不均等分配, 有些细胞中还出现落后染色体 (图版 , 12, 箭头), 它们不能到达末期的子核, 染色体消失或游离在胞质中。

末期 : 染色体靠近两级, 形成两个子核, 但染色体浓缩聚集在一起, 难以计数 (图版 , 13)。前期 : 染色体逐渐螺旋化, 且两个子核中出现核仁 (图版 , 14, 15)。个别细胞出现多核, 染色体均匀分配至两极, 各 18个 (图版 , 15)。

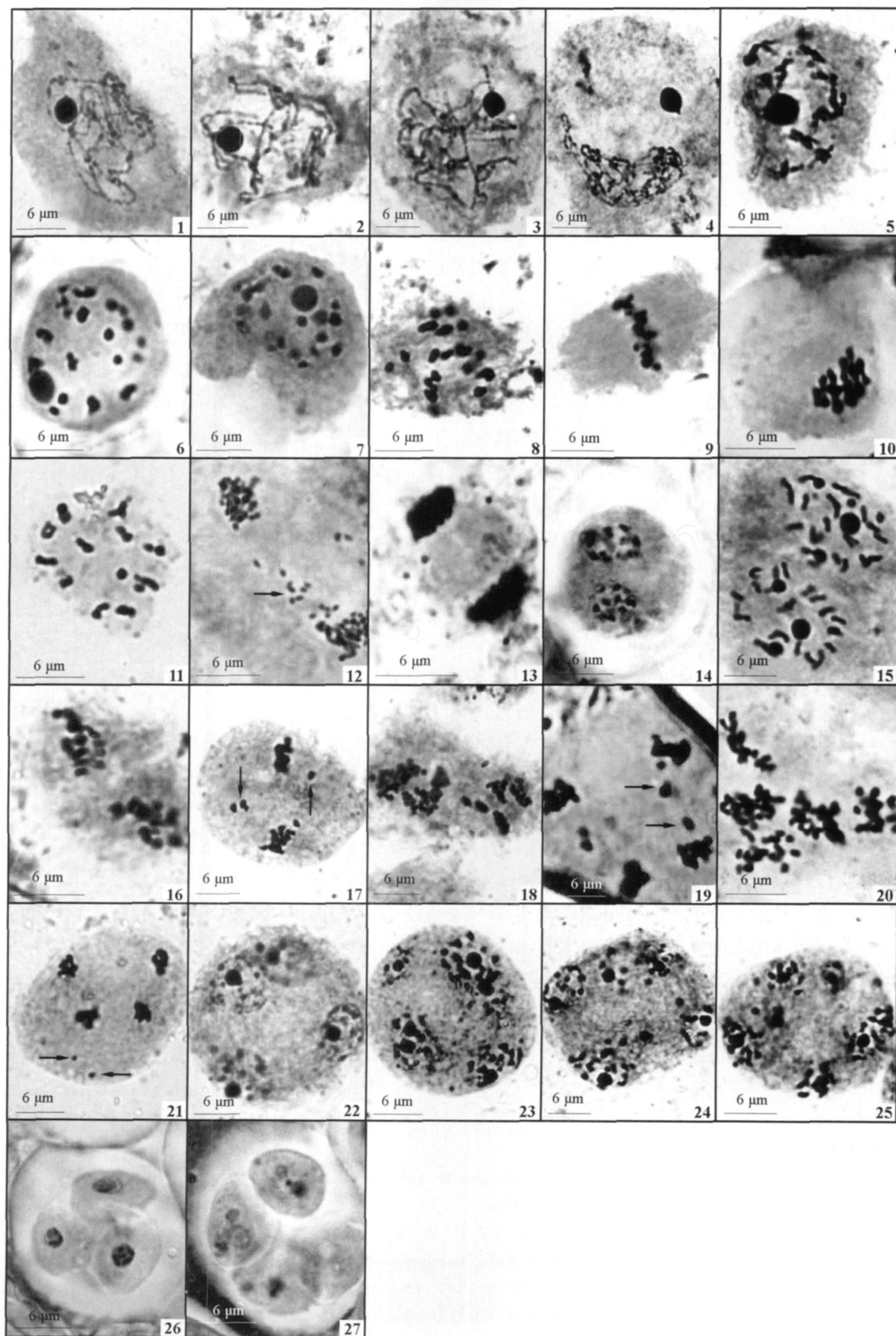
中期 : 两组染色体分别排列在各自的赤道板上 (图版 , 16, 17), 有些细胞中的染色体排列在赤道板外 (图版 , 17, 箭头), 以后形成微核或游离染色体。

后期 : 着丝点一分为二, 姐妹染色体分别移向两极, 出现了丢失染色体 (图版 , 18), 落后染色体 (图版 , 19), 不均等分离 (图版 , 18, 20)。

末期 : 染色体到达四极, 解螺旋, 产生细胞壁, 形成四分体, 一些细胞还产生少数三分体及极少数五分体和六分体, 进而形成不等孢子 (图版 , 21~27)。

图版 说明: ‘赞皇大枣’花粉母细胞减数分裂的观察 1. 细线期; 2. 偶线期; 3. 粗线期; 4. 双线期; 5~7. 终变期; 8~11. 中期; 12. 后期; 13. 末期; 14, 15. 前期; 16, 17. 中期; 18~20. 后期; 21~25. 末期; 26, 27. 四分体。

Explanation of plate : Meiotic observations on the pollen mother cells of *Ziziphus jujuba* Mill ‘Zanhuang Dazao’ 1. Leptotene; 2. Zygotene; 3. Pachytene; 4. Diplotene; 5-7. Diakinesis; 8-11. Metaphase; 12. Anaphase; 13. Telophase; 14, 15. Prophase; 16, 17. Metaphase; 18-20. Anaphase; 21-25. Telophase; 26, 27. Tetrad



### 3 讨论

#### 3.1 酸枣和赞皇大枣花粉母细胞减数分裂行为

酸枣和赞皇大枣减数分裂过程中的不同步现象,表现在多个时期分裂相常常同时出现在一个花蕾中,这与同一花蕾中各个花药的发育先后有关。枣的一个花蕾有5个花药,各花药呈间隔螺旋状生长发育,表现出不同步。

压片法观察减数分裂行为简便快速,但不易得到清晰的染色体图像。一般认为染色体数目的观察在中期最佳,本研究却在终变期计数最佳,能清晰地观察到酸枣的12对二价体,且二价体的构型有“V”型、棒状和“O”型或“X”型。而赞皇大枣也是终变期最清楚,但它不都是二价体,还有单价体和三价体。

二倍体酸枣花粉母细胞减数分裂中期都为12个二价体,而三倍体的赞皇大枣则表现复杂,有多价体、三价体、二价体和单价体。三倍体赞皇大枣这种复杂的配对构型势必产生落后染色体及染色体不均等分配等异常情况。这种结果在其它作物上也有类似报道(李爱华和何立珍,1998;康向阳等,1999;张蜀宁等,2007;轩淑欣等,2008)。

#### 3.2 赞皇大枣花粉母细胞减数分裂异常现象的形成原因及与花粉败育的关系

在后期和后期<sub>I</sub>中,观察到落后染色体(图版,12、19),这与赞皇大枣是自然三倍体有关。赞皇大枣有3个染色体组,减数分裂异常,在特定的同源片段内只允许两条染色体联会,而联会区段的大小与不同交叉结的形成、以及联会提前解离的程度有密切关系,因而在终变期和中期染色体的构型会产生1个二价体和1个单价体(+)或1个三价体( )构型。到了后期染色体不平衡分离;也可能是1:1式的分离(图版,15)。这就可能产生落后染色体,这些落后染色体向两极移动速度较慢,最终形成微核(李雪等,2003;徐进等,2007)或消失在细胞质中,到达末期后,随机分布或丢失或游离于主核之外。另外,由于倒位或易位缺失形成的断片在末期也形成微核。结果导致三倍体赞皇大枣四分体时期各分体基本遗传物质的不平衡和丢失,从而造成部分配子不育及子代染色体数的多样性变化(Sergio et al, 1999)。

在后期、和末期、中均看到不均等分离现象(图版,12、18、20、23、24、25)。这种不均等分离可能有以下3点原因:有的二价体不发生分离,移向同一极;单价体的随机分配;

发生倒位的双着丝粒染色体被拉向同一极。不均等分离可以形成三分体,四分体及多分体。当后期只有一个子核的染色单体正常分离,而另一个子核的染色单体不分离时,就形成了大小不等的配子,这是三分体形成的主要机制。而多分体的形成是因为一类细胞在后期分裂时,染色单体不等极分离(图版,22~25)。不均等分离引起的遗传物质减少或增加,最终导致配子不育(吴玉香等,2004)。经琼脂培养基检测,赞皇大枣花粉生活力为4.24%,远远低于辣椒枣(74.95%)、稷山圆枣(61.20%)、束鹿糖枣(54.44%)(韩斌等,2008),与赞皇大枣减数分裂异常相吻合。赞皇大枣的自然授粉结实率为1%左右,果核内不具种子,有关胚囊发育过程需要深入研究。

### References

- Ge Xi-zhen 1993. Karyotype studies on 24 forms of *Ziziphus spinosus* Hu and 11 forms or cultivars of *Ziziphus jujuba* Mill. [M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei (in Chinese)
- 葛喜珍. 1993. 24个酸枣类型与11个枣品种类型的核型研究 [硕士学位论文]. 保定: 河北农业大学.
- Han Bin, Li Jing-rui, Xu Zhi-bo, Peng Jian-ying 2008. Studies of blooming biology and pollen sprouting characteristics of different Chinese jujube cultivars. Chinese Agricultural Science Bulletin, 24 (8): 167 - 170. (in Chinese)
- 韩斌, 李敬蕊, 徐志波, 彭建营. 2008. 枣不同品种开花结实及花粉发芽特性研究. 中国农学通报, 24 (8): 167 - 170.
- Kang Xiang-yang, Zhu Zhi-ti, Zhang Zhi-yi 1999. Morphology and meiosis of Chinese white poplar. Journal of Beijing Forestry University, 21

- (1): 1 - 5. (in Chinese)
- 康向阳, 朱之悌, 张志毅. 1999. 毛白杨异源三倍体形态和减数分裂观察. 北京林业大学学报, 21 (1): 1 - 5.
- Li Ai-hua, He Li-zhen. 1998. Study on meiotic behaviors and fertility of the autotetraploid of daylily. Journal of Hunan Agricultural University, 24 (1): 14 - 17. (in Chinese)
- 李爱华, 何立珍. 1998. 同源四倍体黄花菜减数分裂行为及其育性的探讨. 湖南农业大学学报, 24 (1): 14 - 17.
- Li Mao-xue. 1985. The size variation and evolution of chromosome of plants. Bulletin of Biology, (5): 14 - 16. (in Chinese)
- 李懋学. 1985. 植物染色体的大小变异和进化. 生物学通报, (5): 14 - 16.
- Li Xue, Chen Limei, Du Jie, Liang Wan-fu, Xing Heng-tai. Observations on abnormal meiosis of pollen mother cells in *Lilium davidii* var. *unicolor*. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 23 (10): 1796 - 1799. (in Chinese)
- 李雪, 陈丽梅, 杜捷, 梁万福, 幸亨泰. 2003. 兰州百合小孢子母细胞减数分裂异常现象的观察. 西北植物学报, 23 (10): 1796 - 1799.
- Peng Jian-ying, Liu Ping, Zhou Jun-yi, Peng Shi-qi, Cao Qing-guo, Chu Xin-fang. 2005. Karyotypes of different strains in *Ziziphus jujuba* Mill 'Zanhuang Dazao'. Acta Horticulturae Sinica, 32 (5): 798 - 801. (in Chinese)
- 彭建营, 刘平, 周俊义, 彭士琪, 曹清国, 褚新房. 2005. 赞皇大枣不同株系的染色体数及其核型分析. 园艺学报, 32 (5): 798 - 801.
- Qu Ze-zhou, Wang Yong-hui. 1993. Fruit tree records of China · Chinese jujube volume. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 曲泽洲, 王永惠. 1993. 中国果树志 · 枣卷. 北京: 中国农业出版社.
- Qu Ze-zhou, Wang Yong-hui, Lü Zeng-ren, Yan Gui-jun. 1986. Studies on the chromosome number of Chinese jujube. Acta Horticulturae Sinica, 13 (4): 232 - 236. (in Chinese)
- 曲泽洲, 王永惠, 吕增仁, 阎桂军. 1986. 枣和酸枣染色体数目研究. 园艺学报, 13 (4): 232 - 236.
- Sergio F D B, Nicasio T, Clara C. 1999. Microsporogenesis in a citrus interspecific tetraploid somatic hybrid and its fusion parents. Heredity, 83: 373 - 377.
- Wan Shuang-fen, Zhang Shu-ning, Zhang Jie. 2006. Pollen mother cell mitosis and male gametophyte development in *Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 26 (5): 970 - 975. (in Chinese)
- 万双粉, 张蜀宁, 张杰. 2006. 青花菜花粉母细胞减数分裂及雄配子体发育. 西北植物学报, 26 (5): 970 - 975.
- Wen Zhi-liang, Wang Yong-hui. 1987. Studies on karyotype of triploid 'Zanhuang Dazao'. Journal of Hebei Agricultural University, 15 (3): 67 - 71. (in Chinese)
- 温陟良, 王永惠. 1987. 三倍体赞皇大枣的核型分析. 河北农业大学学报, 15 (3): 67 - 71.
- Wu Yu-xiang, Gao Jian-ping, Zhao Xiao-ming. 2004. Discussions of abnormal behavior for meiosis of *T. officinale* F. H. Wigg. Journal of Biology, 21 (4): 29 - 30. (in Chinese)
- 吴玉香, 高建平, 赵晓明. 2004. 药蒲公英减数分裂异常行为探讨. 生物学杂志, 21 (4): 29 - 30.
- Xu Jin, Shi Ji-sen, Yang Li-wei, Wang Gui-feng. 2007. Cell biological characteristics and abnormal behavior during the meiosis of pollen mother cells in *Cunninghamia lanceolata*. Scientia Silvae Sinicae, 43 (11): 32 - 36. (in Chinese)
- 徐进, 施季森, 杨立伟, 王桂凤. 2007. 杉木花粉母细胞减数分裂的细胞学特性及异常现象的观察. 林业科学, 43 (11): 32 - 36.
- Xuan Shu-xin, Zhang Cheng-he, Shen Shu-xing, Chen Xue-ping, Li Xiao-feng. 2008. Meiotic observation of pollen mother cells in diploid and autotetraploid cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). Journal of Hebei Agricultural University, 31 (2): 21 - 26. (in Chinese)
- 轩淑欣, 张成合, 申书兴, 陈雪平, 李晓峰. 2008. 二倍体和四倍体结球甘蓝减数分裂观察. 河北农业大学学报, 31 (2): 21 - 26.
- Yan Gui-jun. 1984. Cytological studies on Chinese jujube [M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
- 阎桂军. 1984. 枣细胞学研究 [硕士学位论文]. 保定: 河北农业大学.
- Zhang Shu-ning, Wan Shuang-fen, Zhang Wei, Hou Xi-lin. 2007. Meiosis of pollen mother cells in autotetraploid broccoli. Acta Horticulturae Sinica, 34 (2): 387 - 390. (in Chinese)
- 张蜀宁, 万双粉, 张伟, 侯喜林. 2007. 同源四倍体青花菜花粉母细胞的减数分裂. 园艺学报, 34 (2): 387 - 390.