

# 结球甘蓝不同初级三体的花粉整齐度及生活力的研究

祝海燕

(潍坊科技学院, 山东 寿光 262700)

**摘 要:**以“中甘 11”结球甘蓝初级三体为试材,结球甘蓝二倍体为对照,研究比较了其花粉生活力、花粉整齐度和花粉量。结果表明:结球甘蓝各初级三体花粉的花粉量、整齐度、生活力均低于二倍体,但不同三体之间存在着显著差异。经比较发现,三体 6 的花粉不管是在花粉量、花粉整齐度还是花粉生活力上与二倍体相比都达到了差异极显著水平,说明结球甘蓝第 6 染色体对花粉各方面的影响都较大,可能存在于花粉发育相关的基因。

**关键词:**结球甘蓝;初级三体;花粉整齐度;花粉生活力

**中图分类号:**S 635.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0090-03

初级三体是重要的遗传工具材料,利用初级三体可将基因及连锁群定位到特定染色体上,从而构建基因的物理图谱。由于三体增加了一条同源的额外染色体,位于该染色体上的 DNA 含量亦以等比例增加,因此必定会影响到植株性状的表现,现以结球甘蓝二倍体为对照,对结球甘蓝各初级三体的花粉生活力、花粉整齐度、花粉量进行了研究,旨在研究不同染色体的附加对结球甘蓝花粉生活力、花粉整齐度及花粉量的影响,以期对结球甘蓝三体有性繁殖的保存、利用及利用其进行基因定位提供遗传参数和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试植物材料为“中甘 11”结球甘蓝初级三体系

**作者简介:**祝海燕(1978-),女,硕士,讲师,研究方向为蔬菜学。  
E-mail:zhuhaiyan1978@126.com

**收稿日期:**2013-01-21

植株。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 花粉量的测定** 用血球计数板测定花粉量。取单个花朵内即将开裂散粉的 6 枚花药置于洁净的小玻璃瓶中,加入 10% 甘露醇水溶液 1 mL,制成花粉悬浮液,3 次重复。然后用血球计数板计数花粉数,并计算出平均单个花药中花粉量。

**1.2.2 花粉整齐度的观察** 于上午 9:00 左右分别采集各初级三体及二倍体当天散粉的花粉,将采集的新鲜花粉均匀地撒到洁净的载玻片上,在 40× 镜下观察并记录花粉总数及畸形花粉数,各材料的观察花粉数为 1 000~1 500 粒,并统计正常花粉和畸形花粉所占的比例。

**1.2.3 花粉生活力的测定** 用 TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)染色法进行花粉生活力的测定。用 10% 的蔗糖溶液配成 0.5% 的 TTC 染色液。将新鲜花粉涂在载玻片上,加 1~2 滴 TTC 染色液,盖上盖玻片,放入铺有湿

## RAPD Analysis on the Genetic Diversity of Genus *Rabdosia* in Northeast China

ZHANG Bo, LIU Cui-jing, LIU Xia

(College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** Taking 24 samples of *Rabdosia japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara and *Rabdosia excise* (Maxim.) Hara from different regions of northeast China as materials, the genetic diversity was studied using random amplified polymorphism DNA (RAPD) markers. The results showed that 5 primers were selected from 60 primers. 63 DNA bands were amplified from the two species of *Rabdosia*, the percentage of polymorphism was 87.30%. Analysis of Nei's unbiased genetic distance showed that the genetic relationship between the two species of *Rabdosia* was significant. The genetic diversity was high, and the genetic diversity of interspecies was higher than that of interspecies. In conclusion, RAPD molecular marker technology could be an efficient method to study the genetic diversity of *Rabdosia* plants.

**Key words:** *Rabdosia japonica* var. *glaucocalyx*; *Rabdosia excise*; RAPD; cluster analysis

滤纸的培养皿内,在 35℃左右的培养箱内染色 40 min,取出后在 10×的物镜下观察若干视野,各试材分别记录 1 000~2 000 个花粉粒,染色的为有活力的花粉粒,无色的为无生活力花粉。

## 2 结果与分析

### 2.1 花粉量的比较

用血细胞计数板测定各初级三体及其二倍体植株单个花药的花粉数量,统计结果和差异显著性比较结果见表 1。从表 1 可以看出,各初级三体的花粉量/花药均低于其二倍体,并且各初级三体间的花粉量/花药也存在一定差异,但差异程度不同,除三体 2 和三体 7 间差异不显著外,其它各初级三体间均达到差异显著或极显著水平。在全部 9 个初级三体中,三体 6 的花粉量最少,仅为二倍体的 1/3 左右;三体 3 和三体 5 次之,约为二倍体的 1/2 左右;但与二倍体相比,除三体 8 的花粉量受额外染色体的影响较小,差异未达到显著水平外,其它各初级三体均达到差异显著或极显著水平。由此可见,甘蓝不同染色体的附加,对花粉母细胞的形成及小孢子发育的影响是不相同的。

表 1 甘蓝三体及二倍体花药花粉量的比较

Table 1 Comparison of pollen amounts of one anther of every trisomic lines and diploid line

株系 Lines	花粉量 Amounts of pollen/个·花药 <sup>-1</sup>	差异显著性 Significance difference	
		0.05 水平	0.01 水平
二倍体 Diploid	0.66×10 <sup>5</sup>	a	A
三体 1 Tri-1	0.41×10 <sup>5</sup>	d	D
三体 2 Tri-2	0.54×10 <sup>5</sup>	b	B
三体 3 Tri-3	0.30×10 <sup>5</sup>	g	E
三体 4 Tri-4	0.49×10 <sup>5</sup>	c	C
三体 5 Tri-5	0.32×10 <sup>5</sup>	f	E
三体 6 Tri-6	0.23×10 <sup>5</sup>	h	F
三体 7 Tri-7	0.52×10 <sup>5</sup>	b	B
三体 8 Tri-8	0.64×10 <sup>5</sup>	a	A
三体 9 Tri-9	0.39×10 <sup>5</sup>	e	D

### 2.2 花粉整齐度的比较

对各初级三体及其二倍体的花粉形态特征进行了观察比较,由表 2 可知,甘蓝新鲜花粉的正常形态为长椭圆形。二倍体植株的花粉整齐、大小、形态基本一致,而各初级三体的花粉,除正常形态的花粉粒外,还大都存在一些形态不规则(如钝圆形、圆锥形等)的畸形花粉以及药壁很薄的透明状花粉。各初级三体的花粉整齐度均低于其二倍体,除 8 号、9 号三体与二倍体的差异未达到显著水平外,其余均达到差异显著或极显著水平。这表明第 8、第 9 染色体的增加可能对花粉形态的影响作用较小,而其它染色体的附加对花粉正常形态的形成均具有较大的影响。

表 2 甘蓝三体及二倍体花粉整齐度比较

Table 2 Comparison of pollen regularity of every trisomic lines and diploid line

株系 Lines	花粉总数 No. of total pollen	正常花粉数 No. of normal pollen	正常花粉率 Percentage of normal pollen/%	差异显著性 Significance difference	
				0.05 水平	0.01 水平
二倍体 Diploid	1 080	1000	92.60	a	A
三体 1 Tri-1	1 300	780	60.00	c	CD
三体 2 Tri-2	1 040	650	62.50	c	BC
三体 3 Tri-3	1 124	608	54.11	e	FG
三体 4 Tri-4	1 632	933	57.17	d	DE
三体 5 Tri-5	1 332	876	65.77	b	B
三体 6 Tri-6	1 526	784	51.38	f	G
三体 7 Tri-7	1 160	660	56.90	d	EF
三体 8 Tri-8	1 150	1 024	89.04	a	A
三体 9 Tri-9	1 152	1 028	89.24	a	A

### 2.3 花粉生活力的比较

用 TTC 染色法对各初级三体和二倍体的花粉生活力进行了测定,被染成红色的为有生活力的花粉粒,没有着色的为无活力的花粉粒。由图 1A~J 可以看出,二倍体的花粉大小比较一致,染色均匀,绝大多数被染成红色,未着色的花粉很少;而各初级三体的花粉大小不均匀,形态不一致,染色程度不相同,不染色的空瘪花粉占有很大比率。

由表 3 可知,各初级三体的花粉生活力均低于其二倍体,且达到差异极显著水平。各三体之间亦存在着较大差异,其中,三体 2、三体 7、三体 9 的花粉生活力较高,均达 70%以上;三体 1、三体 4、三体 8 次之,均达 60%以上;而三体 6 的最低,仅为 47.56%。

表 3 甘蓝三体及二倍体植株花粉生活力比较

Table 3 Comparison of pollen activity of every trisomic lines and diploid line

株系 Lines	花粉总数 No. of total pollen	染色花粉数 No. of stained pollen	染色花粉率 Percentage of stained pollen/%	差异显著性 Significance difference	
				0.05 水平	0.01 水平
二倍体 Diploid	1 232	1 078	87.50	a	A
三体 1 Tri-1	1 293	789	61.02	e	D
三体 2 Tri-2	1 491	1 050	70.42	b	B
三体 3 Tri-3	1 290	705	54.76	f	E
三体 4 Tri-4	1 974	1 282	64.94	d	C
三体 5 Tri-5	1 802	902	50.06	g	F
三体 6 Tri-6	1 792	852	47.56	h	G
三体 7 Tri-7	1 960	1 396	71.22	b	B
三体 8 Tri-8	1 906	1 270	66.63	c	C
三体 9 Tri-9	1 710	1 232	72.05	b	B

## 3 结论与讨论

该试验结果表明,结球甘蓝各初级三体花粉的花粉量、整齐度、生活力均低于二倍体,但不同三体之间存在



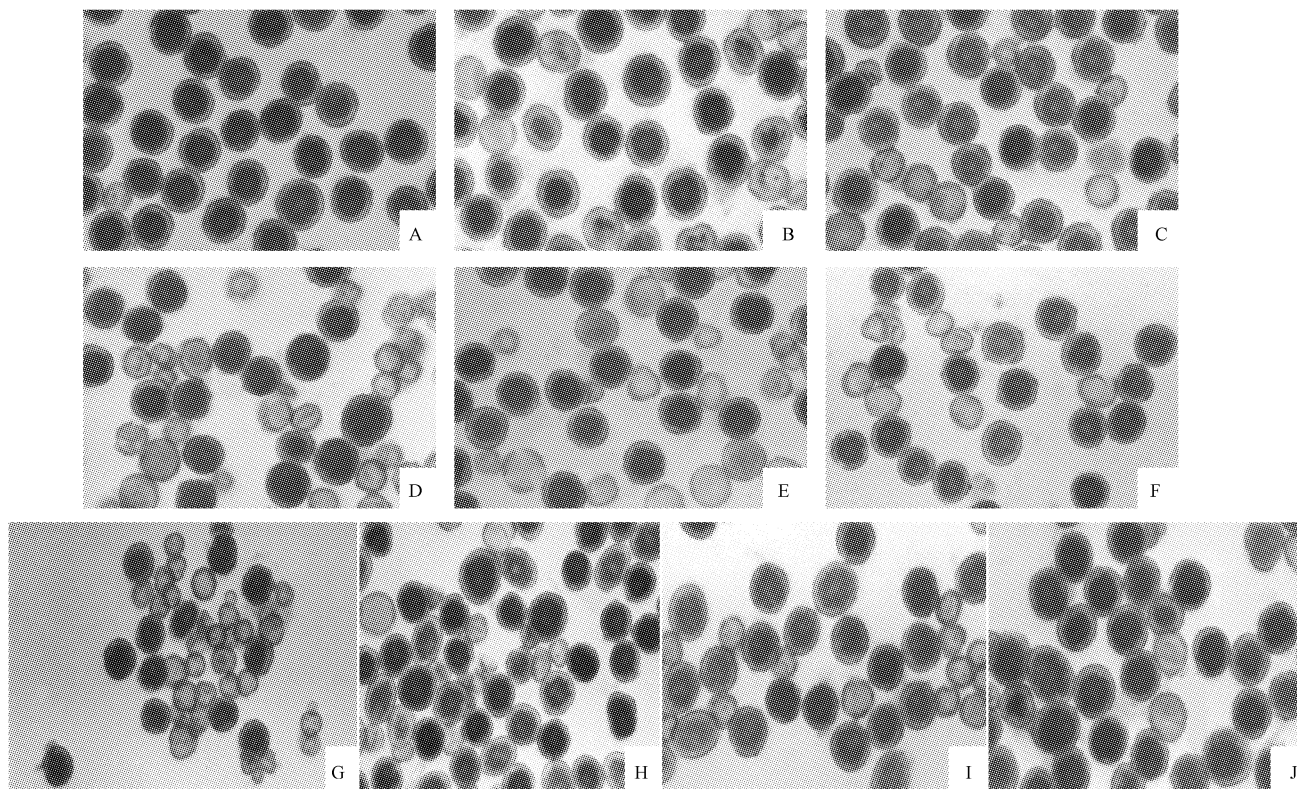


图1 甘蓝花粉生活力

注:A:二倍体花粉的生活力;B:三体-1花粉的生活力;C:三体-2花粉的生活力;D:三体-3花粉的生活力;E:三体-4花粉的生活力;F:三体-5花粉的生活力;G:三体-6的花粉活力;H:三体-7的花粉活力;I:三体-8的花粉活力;J:三体-9的花粉活力。

Fig. 1 Pollen activity of cabbage

Note: A: Activity of diploid pollen; B: Activity of Tri-1 pollen; C: Activity of Tri-2 pollen; D: Activity of Tri-3 pollen; E: Activity of Tri-4 pollen; F: Activity of Tri-5 pollen; G: Activity of Tri-6 pollen; H: Activity of Tri-7 pollen; I: Activity of Tri-8 pollen; J: Activity of Tri-9 pollen.

着明显差异,说明不同额外染色体的附加对结球甘蓝花粉发育的影响不同<sup>[1]</sup>。而经比较发现 Tri-6 的花粉不管是在花粉量、花粉整齐度还是花粉生活力上与二倍体相比都达到了差异极显著水平,说明结球甘蓝第6染色体对花粉各方面的影响都较大,具推测与花粉发育相关的基因<sup>[2-3]</sup>可能与结球甘蓝的第6号染色体相关。

#### 参考文献

- [1] 谢国生,张端品,谢岳峰,等. 利用初级三体定位水稻光敏核不育基因[J]. 武汉植物学研究, 2001, 19(3): 255-258.
- [2] 李欣,徐金凤,王兴稳,等. 水稻半矮秆基因 *sd-1* 的染色体定位研究[J]. 扬州大学学报, 2002, 23(1): 40-44.
- [3] 刘红霞,任士福,张成合,等. 不同花柱类型连翘的花粉形态和生活力比较[J]. 河北农业大学学报, 2009, 32(1): 37-41.

## Comparison of Pollen Regularity and Activity of One Anther of Primary Trisomic Lines

ZHU Hai-yan

(Weifang University of Science and Technology, Shouguang, Shandong 262700)

**Abstract:** Taking cabbage 'Zhonggan 11' primary trisomic lines as test material, diploid line cabbage as control, the pollen amounts, regularity and activity of one anther of every trisomic lines were studied. The results showed that the viability, regularity and density of the pollen in the trisomics were lower than that of the diploid, but the difference among the different trisomics was existed obviously. The viability, regularity and density of the Tri-6 pollen were compared with diploid reached extremely significant difference level. It showed that the chromosome-6 may exist in the genes related to pollen development.

**Key words:** cabbage; primary trisomic lines; pollen regularity; pollen activity