

DOI:10.13332/j.1000-1522.20190099

青黑杨杂种三倍体花粉母细胞减数分裂染色体行为及其花粉变异研究

李代丽^{1,2} 商 静¹ 田 菊¹ 宋连君³ 刘春和² 李迎春² 康向阳¹ 王 君¹

(1. 北京林业大学林木育种国家工程实验室, 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 生物科学与技术学院, 北京 100083;

2. 北京市黄堡苗圃, 北京 102601; 3. 威县林木良种繁育基地, 河北 威县 054700)

摘要:【目的】本研究通过分析青黑杨杂种三倍体的花粉母细胞减数分裂特征和配子变异规律, 为进一步利用三倍体种质作为中介材料进行杨树染色体工程育种奠定基础。【方法】本研究以雌配子染色体加倍来源的‘哲引3号杨’×‘北京杨’杂种三倍体 WT-21 及杂种二倍体 WD-2 雄株为材料, 基于醋酸洋红染色压片观察, 比较分析了两者花粉母细胞减数分裂染色体行为及花粉形态变异。【结果】(1)无论是三倍体杂种 WT-21 还是二倍体杂种 WD-2, 其花粉母细胞减数分裂染色体行为均非常丰富, 存在高频率的染色体提前分离、落后染色体、微核等异常现象, 反映了亲本基因组间较强的异质性。(2)WT-21 和 WD-2 花粉母细胞减数第二次分裂过程均存在平行纺锤体、融合纺锤体、三极纺锤体等异常定向, 而且在 WT-21 中还发生胞质提前分裂, 共同导致减数分裂产物中二分体、三分体等的产生。(3)三倍体 WT-21 的花粉空瘪率达 44.55%, 高于二倍体 WD-2; WT-21 饱满花粉的直径显著大于 WD-2, 从花粉直径分布可推测出 WT-21 能产生少量未减数花粉; WT-21 的花粉生活力为 $(1.08 \pm 0.44)\%$, 显著低于二倍体 WD-2 $(28.67\% \pm 2.04\%)$ 。【结论】由于倍性效应和杂合性的双重影响, 青黑杨杂种三倍体的花粉母细胞减数分裂存在复杂的染色体行为, 并对配子发育造成影响; 利用三倍体的花粉进行授粉, 可能获得非整倍体和四倍体后代, 为杨树染色体操作奠定基础。

关键词: 杨树; 异源三倍体; 减数分裂; 花粉

中图分类号: S722.3⁺5; S792.11 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2019)07-0075-08

引文格式: 李代丽, 商静, 田菊, 等. 青黑杨杂种三倍体花粉母细胞减数分裂染色体行为及其花粉变异研究 [J]. 北京林业大学学报, 2019, 41(7): 75-82. Li Daili, Shang Jing, Tian Ju, et al. Meiotic chromosome behavior of pollen mother cells and pollen variation in triploid hybrid between section *Tacamahaca* and sect. *Aigeiros* of *Populus* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41(7): 75-82.

Meiotic chromosome behavior of pollen mother cells and pollen variation in triploid hybrid between section *Tacamahaca* and sect. *Aigeiros* of *Populus*

Li Daili^{1,2} Shang Jing¹ Tian Ju¹ Song Lianjun³ Liu Chunhe²
Li Yingchun² Kang Xiangyang¹ Wang Jun¹

(1. National Engineering Laboratory in Tree Breeding, Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. Beijing Huangfa Nursery, Beijing 102601, China;

3. Breeding and Propagation Base for Tree Varieties in Weixian County, Weixian 054700, Hebei, China)

Abstract: [Objective] Recently, techniques for induction of triploid hybrids between section *Tacamahaca* and sect. *Aigeiros* of *Populus* have been developed and a number of triploid germplasms were produced.

收稿日期: 2019-02-28 修回日期: 2019-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470662), 中央高校基本科研业务费专项(2018ZY30), 北京市教育委员会林果业生态环境功能提升协同创新中心建设项目(PXM2018_014207_000024), 2019 年度北京林业大学一流学科建设项目(2019XKJS0308)。

第一作者: 李代丽。主要研究方向: 林木倍性育种。Email: daili_81@126.com 地址: 102601 北京市大兴区礼贤镇东黄堡村北北京市黄堡苗圃。

责任作者: 王君, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 林木细胞遗传学与染色体工程育种。Email: wangjun@bjfu.edu.cn 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学 118 信箱。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

However, reproductive developmental characteristics on these triploids are still in lack, which restrains their potential in sexual utilization. This study analyzed meiotic feature of pollen mother cells (PMCs) and pattern of gametic variation in a triploid hybrid, to lay a foundation for chromosomal engineering breeding of *Populus* using triploids as intermediate materials. [Method] In this study, meiotic chromosomal behaviors of PMCs and pollen morphological variation between a male triploid hybrid WT-21, which derived from hybridization of induced 2n female gametes of *P. pseudo-simonii* × *P. nigra* ‘Zheyin3#’ and *P. × beijingensis*, and a male diploid hybrid WD-2 from the same combination were compared by the squashed technique with aceto-carmin. [Result] (1) Whether for WT-21 or for WD-2, we observed the kinds of meiotic chromosomal behaviors, such as precocious chromosome migration, lagging chromosomes and micronuclei, reflecting high heterogeneity between parental genomes. (2) Misorientation of spindles during the second meiotic division, including parallel spindles, fused spindles and tripolar spindles, were found both in WT-21 and WD-2 and premature cytokinesis was produced in WT-21, which resulted in formation of dyads and triads in meiotic products. (3) In WT-21, 44.55% pollen grains were shrunken, which was higher than that of WD-2. Compared with WD-2, diameter of spherical pollen grains in WT-21 was significantly bigger than that of WD-2. From pollen diameter distribution, we could presume that the WT-21 could produce a small number of unreduced pollen grains. Pollen germination test showed that the germination rate of WT-21 was $(1.08 \pm 0.44)\%$, which was significantly lower than that of the WD-2 $(28.67\% \pm 2.04\%)$. [Conclusion] Affected by both ploidy effect and heterozygosity, there are complex meiotic chromosomal behaviors during PMC meiosis in triploid hybrids, which would influence gametic development. Pollination with pollen of triploids would produce aneuploid and tetraploid offsprings, laying the foundation for chromosome manipulation of *Populus*.

Key words: *Populus* spp.; allotriploid; meiosis; pollen

三倍体植物由于减数分裂过程中同源染色体的不规则分离,往往导致高度败育性,容易形成生殖隔离,因此三倍体在一定程度上被认为是植物进化的终点^[1]。但是,在杨树(*Populus* spp.)多倍体育种研究实践中,三倍体也多次被作为桥梁亲本,形成了三倍体、四倍体甚至非整倍体后代,表明杨树三倍体在多倍体种质创新中也可能具有利用价值。其中,Johnsson^[2]、Winton等^[3]、Harder等^[4]均利用三倍体欧洲山杨(*P. tremula*)与美洲山杨(*P. tremuloides*)进行杂交,获得了一批三倍体、四倍体和非整倍体种质。康向阳等^[5]利用三倍体杂种毛白杨((*P. tomentosa* × *P. bolleana*) × *P. tomentosa*)与毛新杨(*P. tomentosa* × *P. bolleana*)、银腺杨(*P. alba* × *P. glandulosa*)杂交获得了杂种后代。Wang等^[6]研究了三倍体‘银中杨’(*P. alba* × *P. berolinensis* ‘Yinzhong’)的花粉变异规律及其细胞学机制,并通过与毛新杨授粉杂交获得了一批倍性水平变异丰富的新种质。然而,这些研究均仅针对白杨派(section *Populus*)树种,由于研究材料的缺乏,其他杨树的相关研究较少。

青杨派(sect. *Tacamahaca*)与黑杨派(sect. *Aigeiros*)树种之间杂交易产生杂种优势,已有很多杂交品种在林业生产中广泛应用^[7]。近年来,青黑杨

杂种三倍体育种技术取得突破,获得了一批青黑杨杂种三倍体种质^[8-9],为实现杂种优势和倍性优势的综合利用奠定了基础。部分种质定植后已进入生殖发育期,为我们开展青黑杨杂种三倍体的生殖发育特征研究提供了材料,也为利用三倍体种质作为桥梁材料实现染色体剂量操作等提供了可能。本研究以前期通过大孢子染色体加倍途径获得的青黑杨杂种三倍体及相同杂交组合二倍体雄株为材料,比较了它们的花粉母细胞减数分裂过程染色体行为及花粉形态变异等特征,探讨了其配子变异发生的细胞学机制,为青黑杨三倍体种质的有性利用提供了依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为‘哲引3号杨’(*P. pseudo-simonii* × *P. nigra* ‘Zheyin3#’)经雌配子染色体加倍后与‘北京杨’(*P. × beijingensis*)杂交获得的三倍体 WT-21 以及相同杂交组合的二倍体雄株 WD-2^[9]。花枝采集于河北威县林木良种繁育基地 10 年生无性系对比试验林,用塑料薄膜包裹严密,运至北京避风低温贮藏备用。

1.2 方法

1.2.1 小孢子母细胞减数分裂染色体行为观察

将花枝水培于温室(10 ~ 20 ℃),促进花芽发

育。每隔3 h用卡诺固定液($V(\text{乙醇}):V(\text{乙酸})=3:1$)固定3个花芽,4℃固定24 h后转移至70%乙醇溶液保存。采用醋酸洋红压片法跟踪小孢子母细胞减数分裂进程,直至减数分裂结束后停止固定。

对固定的花芽利用醋酸洋红染色压片观察,统计不同减数分裂时期的染色体行为,对染色体提前分离、落后染色体、染色体桥、微核、平行纺锤体等异常的染色体行为进行统计。在四分体时期,对单分体、二分体、三分体等异常减数分裂产物类型进行统计。根据正常减数分裂产物占统计减数分裂产物总数的百分率计算减数分裂指数^[10]。

1.2.2 花粉形态观察

将花粉利用醋酸洋红染色,制作临时涂片,在Olympus BX51光学显微镜下随机观察1 000粒以上的花粉,统计空瘪花粉比例,并利用目镜测微尺测量饱满球形花粉的直径。图片采集利用Olympus DP70系统完成。

1.2.3 花粉生活力测试

收集新鲜花粉,利用固体培养基离体萌发法,将花粉均匀撒播于包含3%(w/v)琼脂和15%(w/v)蔗糖的培养基上,置于25℃培养箱中培养24 h后观察花粉萌发率,重复3次。

1.2.4 数据统计

数据统计利用R软件完成^[11]。由于三倍体和二倍体无性系的花粉直径方差不齐次,因此,采用Wilcoxon秩和检验比较花粉直径的差异显著性水平;花粉萌发率的比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 花粉母细胞减数分裂染色体行为异常

利用醋酸洋红染色压片法观察发现,无论三倍体杂种WT-21还是二倍体杂种WD-2,其花粉母细胞减数分裂过程均存在丰富的染色体行为异常现象(表1)。减数分裂中期I,染色体提前分离(图1A)的现象普遍发生,在WT-21和WD-2中分别占56.54%和57.49%。后期I,落后染色体(图1B)现象在三倍体WT-21的观察频率为39.02%,低于二倍体WD-2的63.19%;染色体桥(图1C)现象的观察频率在二者间差异不大,分别为15.14%和13.19%。末期I,WT-21和WD-2均观察到较多具有微核(图1D)的花粉母细胞存在,分别占20.98%和42.48%。后期II,在WD-2中观察到较高频率的落后染色体(图1E)和染色体桥现象,分别占36.24%和14.33%,均高于在WT-21上观察到的发生频率(分别为15.08%和3.07%)。末期II,WT-21观察到花粉母细胞内存在微核(图1F)的频率为44.92%,而WD-2为12.60%。

2.2 减数第二次分裂纺锤体定向异常及胞质分裂异常

减数第二次分裂过程的纺锤体异常定向往往对配子发育造成重要影响。在减数分裂中期II,无论对于三倍体WT-21还是WD-2,均观察到不同频率的平行纺锤体、融合纺锤体和三极纺锤体等异常定向现象存在(图2A、2B、2C)。3种类型纺锤体定向异常现象在WT-21上的观察频率分别为29.27%、1.38%和29.67%,其中平行纺锤体与融合纺锤体的频率与WD-2(分别为25.53%和1.24%)差别不大,三极纺锤体的频率则远高于WD-2的0.18%。

整个减数第二次分裂过程中,均在三倍体WT-21的花粉母细胞中观察到不同程度胞质提前分裂(图1E、1F,图2D)现象的存在,却未发现二倍体WD-2具有胞质提前分裂现象的细胞。进一步对减数分裂产物进行分析,发现三倍体WT-21花粉母细胞经减数分裂后除产生四分体外,还能形成单分体、二分体、三分体,以及具微小孢子的单分体、二分体、三分体和四分体等特殊类型(图2E~2I),其中具微小孢子的二分体和四分体类型最多,观察频率分别为25.22%和23.09%,表明WT-21减数分裂后胞质分裂过程存在明显异常。与之相比,WD-2的减数分裂产物中尽管也观察到了单分体、二分体、三分体以及具微小孢子的二分体和三分体等现象,但其异常频率均相对较低。对比两者的减数分裂指数可知,二倍体WD-2(91.54%)明显高于三倍体WT-21(26.39%)。

2.3 花粉形态及生活力变异

对新收集的花粉进行形态观察,发现三倍体杂种WT-21存在较高的空瘪率,达44.55%,而二倍体杂种WD-2的空瘪率为30.29%。对饱满花粉直径进行测量后,发现WT-21的花粉直径在19.5~68.4 μm之间,平均直径为 $(34.40 \pm 0.20) \mu\text{m}$;而WD-2的花粉直径变化范围小于WT-21,为24.9~43.8 μm,平均直径为 $(30.55 \pm 0.07) \mu\text{m}$ (图3A、3B)。利用Wilcoxon秩和检验发现WT-21和WD-2的花粉直径存在极显著差异($P < 2.2e^{-16}$)。

利用离体萌发法对花粉生活力进行测试,三倍体WT-21花粉活力为 $(1.08 \pm 0.44)\%$ (图3C),二倍体WD-2花粉活力为 $(28.67 \pm 2.04)\%$ (图3D),两者存在极显著差异($P = 0.0040$)。

3 讨 论

异源多倍体植物,由于受到杂合性和多倍性因素的双重影响,其减数分裂过程往往具有非常复杂的染色体行为。Wang等^[6,12]在对毛白杨异源三倍体以及‘银中杨’的研究中,观察到花粉母细胞减数分裂

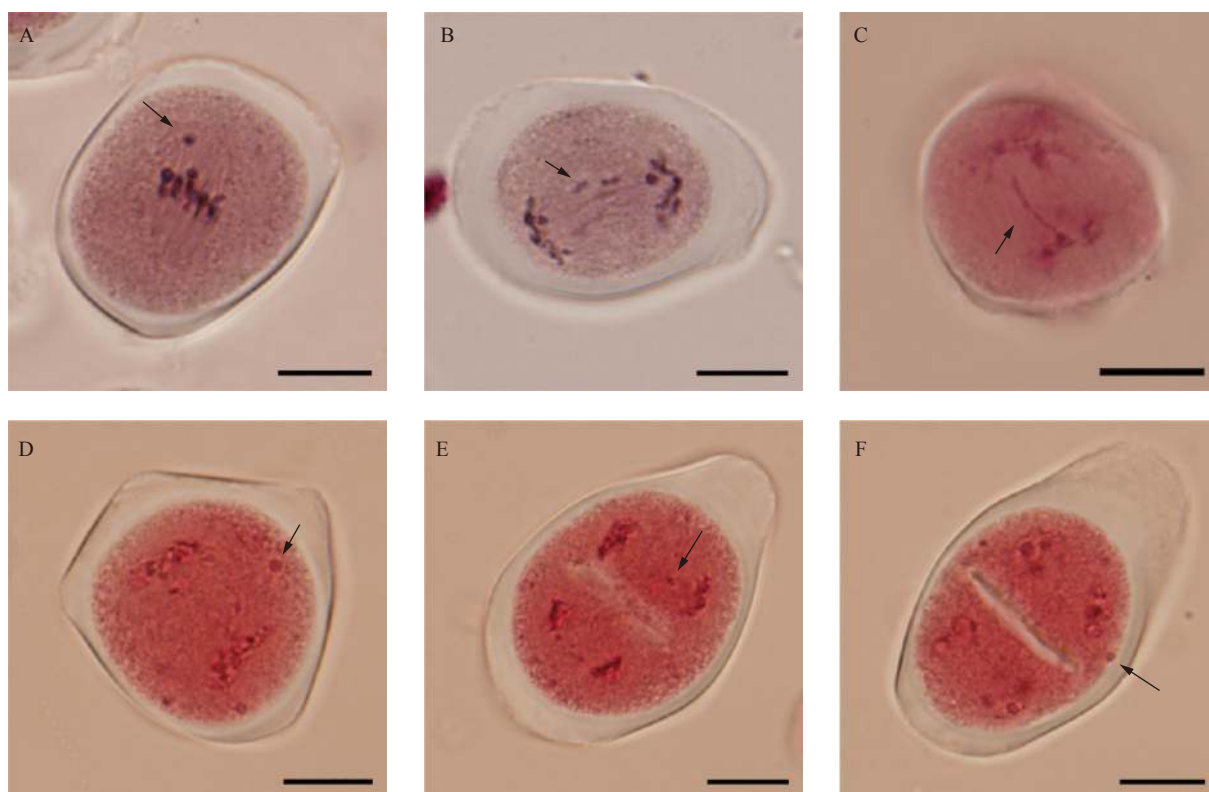
表 1 杂种三倍体 WT-21 与同组合二倍体 WD-2 的花粉母细胞减数分裂异常现象
Tab. 1 PMC meiotic abnormalities in triploid hybrid WT-21 and diploid hybrid WD-2

减数分裂时期 Meiotic stage	减数分裂异常现象 Abnormality of meiotic	WT-21		WD-2	
		观察细胞个数 Number of observed PMCs	异常细胞比率 Percentage of abnormal PMCs/%	观察细胞个数 Number of observed PMCs	异常细胞比率 Percentage of abnormal PMCs/%
中期 I Metaphase I	染色体提前分向两极 Precocious chromosome migration	451	56.54	734	57.49
后期 I Anaphase I	落后染色体 Lagging chromosomes	469	39.02	288	63.19
	染色体桥 Chromosome bridge		15.14		13.19
末期 I Telophase I	微核 Micronuclei	448	20.98	452	42.48
	胞质分裂提前 Premature cytokinesis		13.56		0.00
中期 II Metaphase II	平行纺锤体 Parallel spindle	509	29.27	564	25.53
	融合纺锤体 Fused spindle		1.38		1.24
	三极纺锤体 Tripolar spindle		29.67		0.18
	胞质分裂提前 Premature cytokinesis		20.11		0.00
后期 II Anaphase II	落后染色体 Lagging chromosomes	358	15.08	356	36.24
	染色体桥 Chromosome bridge		3.07		14.33
末期 II Telophase II	胞质分裂提前 Premature cytokinesis	472	6.99	516	0.00
	微核 Micronuclei		44.92		12.60
	单分体 Monad		1.03		0.16
	具微小孢子的单分体 Monad with microcytes		1.03		0.00
	二分体 Dyad		6.72		3.33
减数分裂产物 Meiotic products	具微小孢子的二分体 Dyad with microcytes	1 265	25.22	1 230	0.57
	三分体 Triad		7.35		4.07
	具微小孢子的三分体 Triad with microcytes		9.17		0.33
	具微小孢子的四分体 Tetrad with microcytes		23.09		0.00
减数分裂指数 Meiotic index			26.39		91.54

过程中有高频率的染色体提前分离、落后染色体和微核等现象发生。本研究中,无论是青黑杨杂种二倍体还是三倍体,其花粉母细胞减数分裂过程均可观察到大量的染色体提前分离、落后染色体、染色体桥、微核等现象,表明这些复杂的染色体行为异常现象可能主要与异源基因组融合形成的高度杂合性有关。尤其是二倍体杂种 WD-2 在后期 I 和后期 II 时期落后染色体的发生频率明显高于三倍体杂种 WT-21,推测可能是由于形成三倍体后,染色体联会和配对特征受到影响,相对易于形成 II + I 型染色体联会状态,其中单价体形成落后染色体,而二倍体杂

种由于高度杂合性影响,相对易于形成 I + I 型状态,单价体数量更多。

对于通常呈现同时型胞质分裂(Simultaneous cytokinesis)的杨树而言,减数第二次分裂过程中胞质分裂提前是一个非常值得探讨的现象。在一些杂种或者杂种起源的杨树以及部分异源三倍体品种中,如毛白杨、‘百九杨’(*P. deltoides* × *P. nigra* ‘Baijiu’),‘群众杨’(*P.* × *popularis*)、‘银中杨’等,花粉母细胞减数分裂过程均可观察到不同频率的胞质分裂提前现象^[6,10,13-14]。本研究在青黑杨杂种三倍体 WT-21 的花粉母细胞中观察到了胞质分裂提前现



A. 中期 I, 箭头指示提前分向两极的染色体; B. 后期 I, 箭头指示落后染色体; C. 后期 I, 箭头指示染色体桥; D. 末期 I, 箭头指示微核; E. 后期 II, 箭头指示落后染色体; F. 末期 II, 箭头指示微核。比例尺为 10 μm 。A, metaphase I, arrow shows the chromosome precociously migrated; B, anaphase I, arrow shows the lagging chromosomes; C, anaphase I, arrow shows the chromosome bridge; D, telophase I, arrow shows the micronuclei; E, anaphase II, arrow shows the lagging chromosomes; F, telophase II, arrow shows the micronuclei. Bar is 10 μm .

图 1 杂种三倍体 WT-21 花粉母细胞减数的异常染色体行为

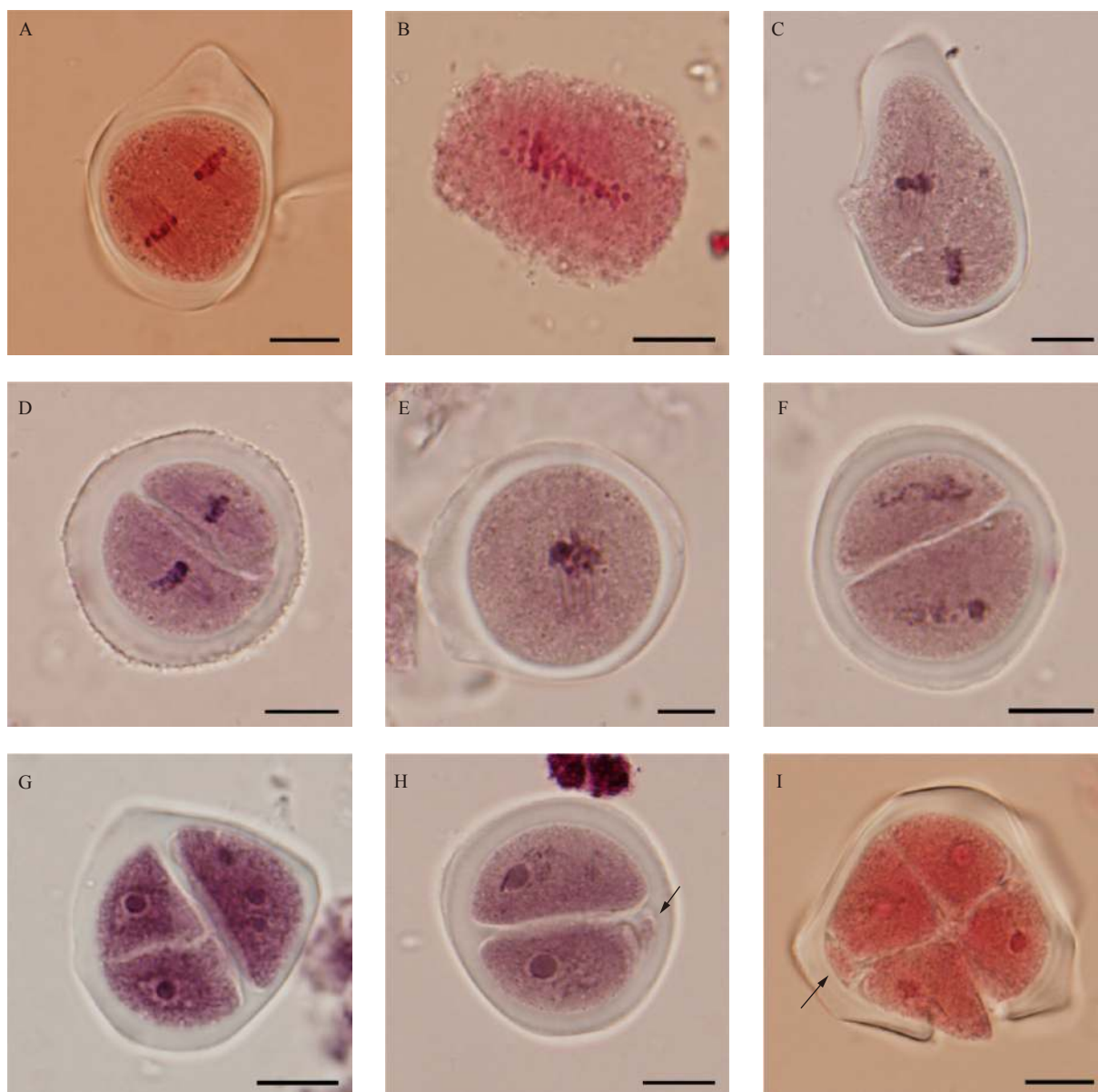
Fig. 1 PMC abnormal meiotic chromosome behaviors of triploid hybrid WT-21

象,但是在杂种二倍体 WD-2 中却并未观察到该现象的发生,说明胞质分裂提前现象并不与杂种直接相关。在马铃薯(*Solanum tuberosum*)中,胞质提前分裂被认为是受隐性单基因所控制,并导致第二次胞质分裂缺失,从而形成未减数配子^[15]。如果在杨树中存在类似的机制,那么在杂种三倍体和二倍体中,只有在该位点隐性纯合时才表现为胞质提前分裂现象。

减数第二次分裂过程中纺锤体定向异常可能导致核复原,从而形成未减数配子^[16]。通常,具有融合纺锤体和三极纺锤体的花粉母细胞会分别倾向于发育为二分体和三分体^[17]。至于平行纺锤体对于未减数配子形成的作用,则并不绝对。在苜蓿(*Medicago sativa*)^[18]和甘薯(*Ipomoea batatas*)^[19]等植物中,平行纺锤体的发生频率与二分体的发生频率呈正相关。但是,对于马铃薯^[20]、毛白杨^[21]等植物,平行纺锤体和二分体的发生频率间则并没有显著相关性。本研究中尽管青黑杨杂种三倍体 WT-21 和杂种二倍体 WD-2 均产生了 25% 以上具有平行纺锤体的花粉母细胞,但是在 WT-21 的减数分裂产物中却观察到 31.94% 的二分体和具微小孢子的二分体,其频

率与平行纺锤体和融合纺锤体的总和相当,推测在 WT-21 中,平行纺锤体可能较多地发育成了二分体;而 WD-2 的减数分裂产物中二分体和具微小孢子的二分体的发生频率和仅为 3.90%,推测大部分平行纺锤体并未发育为二分体。该现象可能与多倍化对染色体行为的影响有关。

本研究发现青黑杨杂种三倍体 WT-21 和杂种二倍体 WD-2 的花粉母细胞减数分裂产物中均存在单分体、二分体、三分体以及带有微小孢子的减数分裂产物等变异类型,三倍体表现出更高的变异程度。其中,单分体、二分体及三分体的产生与花粉母细胞减数分裂过程中的胞质分裂异常及纺锤体定向异常等现象相关^[15,22]。而微小孢子的形成则可能是落后染色体形成的微核进一步发生胞质分裂的结果^[10,12]。微小孢子的形成实际可能是染色体排斥的一种机制和结果。一些异质性较强的染色体由于联会失败或者分裂节律的差异,在细胞周期过程中受到排斥,部分染色体不能形成细胞骨架网络,可能在细胞质中被降解,而另一部分染色体能发育形成辐射状微管系统并发生胞质分裂,从而形成微小孢子^[10,12,23]。



A. 中期 II 平行纺锤体; B. 中期 II 融合纺锤体; C. 中期 II 三极纺锤体; D. 发生胞质分裂提前中期 II 细胞; E. 单分体; F. 二分体; G. 三分体; H. 带微小孢子(箭头)的二分体; I. 带微小孢子(箭头)的四分体。比例尺为 10 μm 。A, parallel spindles at metaphase II; B, fused spindles at metaphase II; C, tripolar spindles at metaphase II; D, metaphase II cell with precocious cytokinesis; E, monad; F, dyad; G, triad; H, dyad with microcyte (arrow); I, tetrad with microcyte (arrow). Bar is 10 μm .

图 2 杂种三倍体 WT-21 花粉母细胞减数第二次分裂的纺锤体定向与胞质分裂异常

Fig. 2 Abnormal spindle orientation and cytokinesis during the PMC second meiotic division of triploid hybrid WT-21

众所周知,细胞大小通常伴随着核内 DNA 含量的增加而增大^[16]。本研究中三倍体杂种 WT-21 的花粉直径在 19.5 ~ 68.4 μm 之间,变异幅度明显大于相同杂交组合的二倍体杂种 WD-2,其正是由于三倍体复杂的染色体分离特征,使得花粉中含有的染色体数目变异更加丰富,从而造成了更大的花粉直径变异。三倍体由于含有奇数倍染色体组,其减数分裂后形成的配子往往包含不平衡数目的染色体,导致高度败育^[24]。但是,在之前利用杨树三倍体进行杂交的研究中,子代中也不乏非整倍体的存在^[2-6],表明三倍体产生的非整性配子也可能具有一定的育

性,并参与受精。在未来研究中,利用青黑杨杂种三倍体资源进行有性杂交,获得非整倍体种质,有望推动杨树染色体工程育种以及基因物理定位等研究进展。

无论是三倍体杂种 WT-21 还是二倍体杂种 WD-2,我们均观察到一些直径较大的花粉粒存在,推测它们均可能产生一定比例的未减数花粉。其中,三倍体杂种产生的未减数花粉包含 3 套完整的染色体组,与正常单倍性雌配子受精后将发育形成四倍体后代,而二倍体杂种产生的未减数花粉含有 2 套完整的染色体组,与正常单倍性雌配子受精后将发育形成三倍体后代。Wang 等^[6]利用三倍体‘银中杨’的

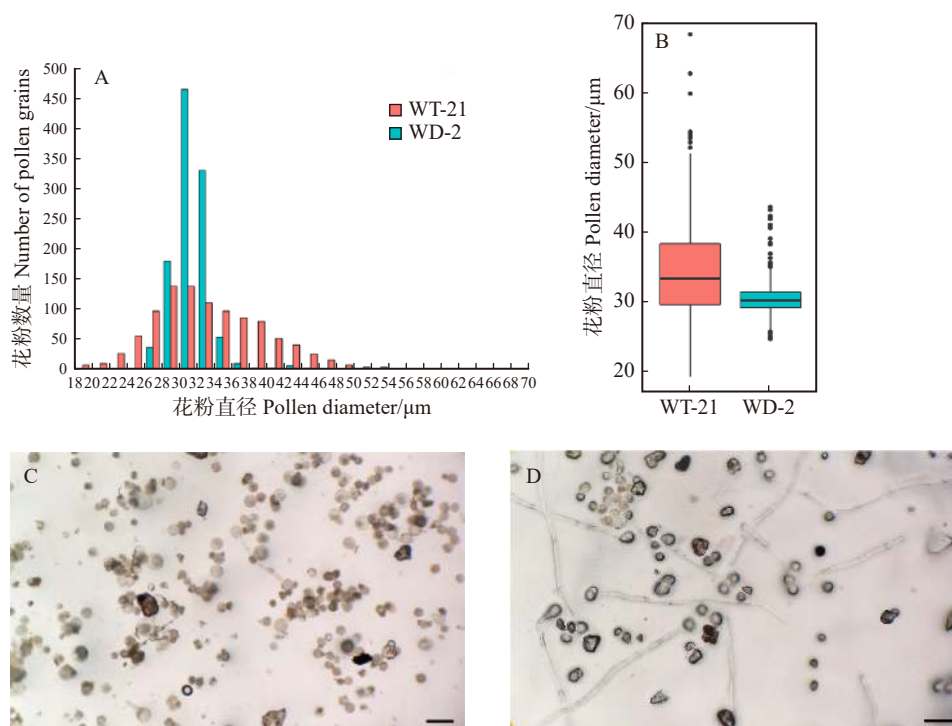


图 3 杂种三倍体 WT-21 与二倍体 WD-2 的花粉大小和生活力变异
 Fig. 3 Variation of pollen size between triploid hybrid WT-21 and diploid hybrid WD-2

花粉授粉后获得了二倍体、三倍体、四倍体以及非整倍体后代种质, 表明‘银中杨’可能产生了可育的未减数花粉参与受精。对青黑杨杂种三倍体 WT-21 而言, 其花粉也具有一定的萌发能力($1.08\% \pm 0.44\%$), 利用其中萌发的未减数花粉或者非整倍性花粉与正常单倍体雌配子进行杂交, 也是选育青黑杨杂种四倍体和非整倍体种质的潜在途径。

参 考 文 献

- [1] Köhler C, Scheid O M, Erilova A. The impact of the triploid block on the origin and evolution of polyploid plants[J]. *Trends in Genetics*, 2010, 26(3): 142–148.
- [2] Johnsson H. Cytological studies of diploid and triploid *Populus tremula* and of crosses between them[J]. *Hereditas*, 1940, 26 (3–4): 321–352.
- [3] Winton L, Einspahr D W. Tetraploid aspen production using unreduced triploid pollen[J]. *Forest Science*, 1970, 16(2): 180–182.
- [4] Harder M L, Verhagen S, Winton L, et al. Tetraploid aspen production using unreduced pollen from triploid males[J]. *Forest Science*, 1976, 22(3): 329–330.
- [5] 康向阳, 毛建丰. 三倍体毛白杨配子育性及其子代形态变异研究[J]. 北京林业大学学报, 2001, 23(4): 20–23.
 Kang X Y, Mao J F. Gamete fertility and morphological variations in offspring of triploid clones *Populus tomentosa*[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2001, 23(4): 20–23.
- [6] Wang J, Huo B, Liu W, et al. Abnormal meiosis in an intersectional allotriploid of *Populus* and segregation of ploidy levels in $2x \times 3x$ progeny[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181767 [2018–12–08]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181767>.
- [7] 赵天锡, 陈章水. 中国杨树集约栽培[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
 Zhao T X, Chen Z S. Intensive poplar cultivation in China[M]. Beijing: China Science & Technology Press, 1994.
- [8] Wang J, Kang X Y, Li D L, et al. Induction of diploid eggs with colchicine during embryo sac development in *Populus*[J]. *Silvae Genetica*, 2010, 59(1): 40–48.
- [9] Wang J, Li D L, Kang X Y. Induction of unreduced megaspores with high temperature during megasporogenesis in *Populus*[J]. *Annals of Forest Science*, 2012, 69(1): 59–67.
- [10] Tian J, Wang J H, Dong L, et al. Pollen variation as a response to hybridisation in *Populus* L. section *Aigeiros* Duby[J]. *Euphytica*, 2015, 206(2): 433–443.
- [11] R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing[M]. Vienna: Austria R Foundation for Statistical Computing, 2007.
- [12] Wang J, Kang X Y, Zhu Q. Variation in pollen formation and its cytological mechanism in an allotriploid white poplar[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2010, 6(2): 281–290.
- [13] Zhang Z H, Kang X Y, Zhang P D, et al. Incidence and molecular markers of $2n$ pollen in *Populus tomentosa* Carr.[J]. *Euphytica*,

- 2007, 154(1-2): 145-152.
- [14] Zhang J F, Wei Z Z, Li D, et al. Using SSR markers to study the mechanism of 2n pollen formation in *Populus × euramericana* (Dode) Guinier and *P. × popularis*[J/OL]. *Annals of Forest Science*, 2009, 66(5): 506 [2018-12-08]. <https://www.afs-journal.org/articles/forest/pdf/2009/05/f08222.pdf>.
- [15] Mok D W S, Peloquin S J. Three mechanisms of 2n pollen formation in diploid potatoes[J]. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1975, 17(2): 217-225.
- [16] Bretagnolle F, Thompson J D. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants[J]. *New Phytologist*, 1995, 129(1): 1-22.
- [17] Ramanna M S. A re-examination of the mechanisms of 2n gametes formation in potato and its implications for breeding[J]. *Euphytica*, 1979, 28(3): 537-561.
- [18] Vorsa N, Bingham E T. Cytology of 2n pollen formation in diploid alfalfa, *Medicago sativa*[J]. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1979, 21: 525-530.
- [19] Becerra Lopez-Lavalle L A, Orjeda G. Occurrence and cytological mechanism of 2n pollen formation in a tetraploid accession of *Ipomoea batatas* (sweet potato)[J]. *Journal of Heredity*, 2002, 93(3): 185-192.
- [20] Carputo D, Cardi T, Frusciante L, et al. Male fertility and cytology of triploid hybrids between tetraploid *Solanum commersonii* (2n-4x-48, 2EBN) and Phureja-Tuberosum haploid hybrids (2n-2x-24, 2EBN)[J]. *Euphytica*, 1995, 83(2): 123-129.
- [21] Zhang Z, Kang X. Cytological characteristics of numerically unreduced pollen production in *Populus tomentosa* Carr.[J]. *Euphytica*, 2010, 173(2): 151-159.
- [22] De Storme N, Geelen D. Sexual polyploidization in plants: cytological mechanisms and molecular regulation[J]. *New Phytologist*, 2013, 198(3): 670-684.
- [23] Risso-Pascotto C, Pagliarini M S, Borges do Valle C, et al. Asynchronous meiotic rhythm as the cause of selective chromosome elimination in an interspecific *Brachiaria* hybrid[J]. *Plant Cell Reports*, 2004, 22(12): 945-950.
- [24] Ramsey J, Schemske D W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1998, 29(1): 467-501.

(责任编辑 崔艳红
责任编辑 康向阳)