

三倍体葡萄‘夏黑’的花粉母细胞减数分裂行为观察及其育性研究

奚晓军, 查倩, 蒋爱丽*, 田益华

(上海市农业科学院林木果树研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201403)

摘要: 为探究三倍体葡萄‘夏黑’的育性及其细胞学机制, 对其花粉母细胞减数分裂进程中的染色体行为及育性水平进行研究。结果表明: (1) 三倍体葡萄‘夏黑’花粉母细胞减数分裂进程中存在部分染色体提前分向两极、落后染色体、染色体桥、平行纺锤体、不均等分离、微核等染色体异常行为, 其中不均等分离现象出现的频率最高(65.68%)。 (2) ‘夏黑’葡萄的花粉离体萌发率为1.65%, 花粉直径大小范围在18.0~50.0 μm 之间, 且花粉直径分布呈双峰型。 (3) ‘夏黑’葡萄具有一定的育性, 作为亲本与四倍体品种杂交均获得了杂交子代。研究认为, 减数分裂的异常是三倍体葡萄‘夏黑’育性低的细胞学原因, 但同时也形成了少量可育的未减数配子, 可以作为中介材料应用于葡萄育种。

关键词: 葡萄; 三倍体; 花粉母细胞; 减数分裂; 染色体行为; 育性

中图分类号: Q343.2⁺4

文献标志码: A

Meiotic Chromosome Behavior of Pollen Mother Cells and Gamete Fertility in Triploid Grape ‘Summer Black’

XI Xiaojun, ZHA Qian, JIANG Aili*, TIAN Yihua

(Forestry and Pomology Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the fertility and its cytological mechanism in triploid grape ‘Summer Black’. The meiosis of pollen mother cells (PMCs) and gamete fertility in triploid grape ‘Summer Black’ were studied by cytogenetic methods. Results showed that: (1) numerous meiotic abnormalities, including precocious migration of chromosomes to the poles, lagging chromosomes, chromosome bridges, asymmetrical separation and micronuclei were found during the meiosis process. The frequency of asymmetrical separation (65.68%) was the highest in all of the meiotic abnormalities. (2) The pollen germination rate of this triploid grape was 1.65%, and its pollen sizes ranged from 18.0–50.0 μm with a bimodal frequency distribution. (3) Hybrid seedlings were obtained from crossing between ‘Summer Black’ and tetraploid varieties, which indicated some gametes were fertile in ‘Summer Black’. It was indicated that abnormal meiosis of PMCs was the cytogenetic reason for fertility reduction of triploid grape. While a little bit fertile unreduced pollens was produced by the abnormal meiosis. It was proved that the breeding application of this triploid grape was possible.

Key words: grape; triploid; PMCs; meiosis; chromosome behavior; gamete fertility

收稿日期: 2015-08-16; 修改稿收到日期: 2015-10-29

基金项目: 上海市农业科学院青年基金(2013-12); 上海市农委科技兴农推广项目(2012-1-2)

作者简介: 奚晓军(1984—), 男, 助理研究员, 主要从事葡萄遗传育种研究。E-mail: xxj220401@126.com

* 通信作者: 蒋爱丽, 研究员, 主要从事葡萄新品种选育与栽培技术研究。E-mail: putaajal@163.com

一般而言,三倍体在理论上是不育的。然而实际的研究表明,三倍体并非完全不育,利用其有限的可育配子杂交是培育多倍体的重要途径^[1-3]。因此,三倍体是多倍化过程中重要的中介材料^[4],在植物遗传育种的研究上具有十分重要的意义。而研究其潜在的育种价值以及减数分裂过程尤其是对染色体行为的研究就显得非常重要,这对更好地利用三倍体进行种质创新具有重要的理论指导意义和实用价值。三倍体葡萄具有生长势强、果粒大、含糖量高、无核丰产等特性,在生产上占有极其重要的地位,同时也是葡萄育种中潜在的优良中介材料。然而目前关于三倍体葡萄育性的研究报道并不多^[5-6],而且缺乏对其在细胞遗传学水平上的探究。因此,本研究通过观察三倍体葡萄‘夏黑’(‘Summer Black’)花粉母细胞的减数分裂进程和染色体行为,并分析其育性水平,为三倍体在葡萄育种中的应用提供理论依据和实践指导。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料有‘夏黑’、‘巨玫瑰’(‘Jumeigui’)、‘蜜红’(‘Mihong’)和‘京香玉’(‘Jingxiangyu’),其中‘夏黑’为欧美杂交种,三倍体;‘巨玫瑰’和‘蜜红’为欧美杂交种,四倍体;‘京香玉’为欧亚种,二倍体。上述试材均设施栽培条件下种植于上海市农业科学院葡萄试验基地,正常田间管理。

1.2 方法

1.2.1 三倍体葡萄‘夏黑’花粉母细胞减数分裂进程及染色体行为的观察 2014年4月21日开始,于晴天8:00~10:00采集不同发育时期的‘夏黑’花蕾,卡诺氏固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1,体积比)固定24 h后转入70%乙醇溶液中,4℃条件下保存备用。采用常规压片法制片,2%醋酸洋红染色,火焰微烤分色,Nikon光学显微镜镜检统计并照相。

1.2.2 三倍体葡萄‘夏黑’花粉活力和大小的测定 采集‘夏黑’葡萄的成熟花粉后将花粉均匀撒于萌发培养基上(培养基含0.8%琼脂、10%蔗糖、0.01%硼酸和0.03%硝酸钙),保湿,25℃下培养4 h后统计花粉萌发率,花粉管长度超过花粉直径时,视为可萌发花粉粒。镜检10个视野,每视野至少50个花粉粒,重复3次。用目镜千分尺测量1500粒花粉的直径,并进行统计分析。

1.2.3 授粉杂交及杂交结实情况调查 分别以‘夏

黑’作为亲本配置不同的杂交组合:‘巨玫瑰’×‘夏黑’、‘京香玉’×‘夏黑’、‘夏黑’×‘巨玫瑰’和‘夏黑’×‘京香玉’,‘巨玫瑰’×‘蜜红’和‘巨玫瑰’×‘京香玉’作为对照组合。各组合于开花前3~5 d去雄,采集成熟花粉后授粉、套袋挂牌,成熟期收集种子,沙藏低温保存。于第2年春天取出,在温室内播种。

结实率(%)=组合内得到的种子总数/组合内授粉的花蕾总数×100%

萌发率(%)=萌发的种子数/杂交种子数×100%

2 结果与分析

2.1 三倍体葡萄‘夏黑’花粉母细胞的减数分裂进程及染色体行为

在三倍体葡萄‘夏黑’的花粉母细胞减数分裂进程中,观察到了大量减数分裂的异常现象(表1)。在减数分裂中期Ⅰ时观察到有27.16%的细胞出现染色体提前分向两极的现象(图版Ⅰ,A)。后期Ⅰ在同源染色体彼此分开,分别向两极移动时,能正常分离的细胞只有17.81%,82.19%的细胞出现染色体不均等分离(图版Ⅰ,B)、染色体桥(图版Ⅰ,C)或落后染色体(图版Ⅰ,D)。其中染色体不均等分离出现的频率最高(65.68%),占异常细胞的79.91%。在中期Ⅱ时观察到有41.76%的细胞出现平行纺锤体(图版Ⅰ,E)的异常现象。后期Ⅱ在着丝粒一分为二,姊妹染色体分别移向相反的两极时,分别有83.08%和6.77%的细胞出现染色体不均等分离(图版Ⅰ,F~H)和落后染色体(图版Ⅰ,I)的异常现象。减数分裂进行至四分体时期时,观察到有72.52%的细胞为四分体(图版Ⅰ,J),其它还出现了含有微核的异常四分体(图版Ⅰ,K)、三分体(图版Ⅰ,L)、含微核的异常三分体(图版Ⅰ,M)、二分体(图版Ⅰ,N)及含微核的异常二分体(图版Ⅰ,O)等异常现象,所占比率分别为8.7%、11.60%、2.60%、4.12%和0.46%。其中以三分体出现频率最高(11.60%),占四分体时期异常细胞的42.21%(表2)。

2.2 三倍体葡萄‘夏黑’的花粉活力和大小

统计30个视野共1500个花粉粒,结果表明三倍体葡萄‘夏黑’的花粉离体萌发率为1.65%。另外,测量发现其花粉粒直径变化明显,直径范围在18.0~50.0 μm之间,平均为28.2 μm(图1)。花粉直径分布总体呈双峰曲线型,波谷位于35.0 μm处。

表 1 三倍体葡萄‘夏黑’花粉母细胞减数分裂进程的异常染色体行为

Table 1 Abnormal chromosome behavior during the meiosis of PMCs in triploid grape

减数分裂时期 Meiotic stage	细胞数 Cell number	异常现象 Abnormality	异常细胞频率 Abnormal cell/%
中期 I Metaphase I	478	染色体提前分向两极 Precocious migration of chromosomes to the poles	27.16
后期 I Anaphase I	539	不均等分离 Asymmetrical separation	65.68
		染色体桥 Chromosome bridge	9.46
		落后染色体 Lagging chromosome	7.05
中期 II Metaphase II	558	平行纺锤体 Parallel spindle	41.76
后期 II Anaphase II	532	不均等分离 Asymmetrical separation	83.08
		落后染色体 Lagging chromosome	6.77

表 2 三倍体葡萄‘夏黑’的 n 分体类型及频率

Table 2 Types and frequency of tetrads in triploid grape

类型 Type of tetrads	数量 Number	比例 Percentage/%
四分体 Tetrads	475	72.52
三分体 Triads	76	11.60
四分体+微核 Tetrads+micronuclei	57	8.70
二分体 Dyads	27	4.12
三分体+微核 Triads+micronuclei	17	2.60
二分体+微核 Dyads+micronuclei	3	0.46
细胞总数 Total of cells	655	

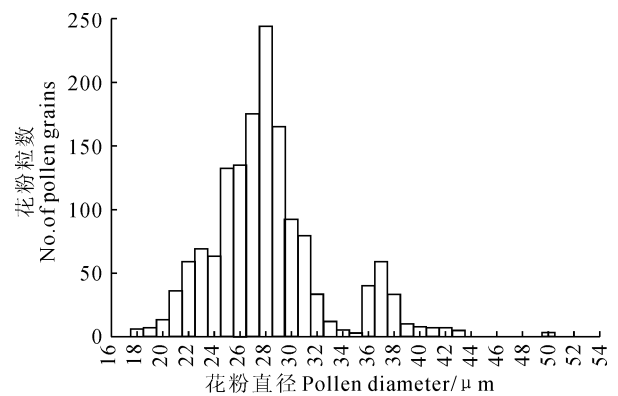


图 1 三倍体葡萄‘夏黑’的花粉直径分布频率

Fig. 1 Frequency distribution of pollen diameter in triploid grape

其中,花粉直径在 18.0~35.0 μm 之间的约占 88.53%,直径在 36.0~43.0 μm 之间的约占 11.27%。此外,还观察到极少量直径超过 50.0 μm 的巨大花粉粒,推测它们可能具有较高的倍性水平。

2.3 三倍体葡萄‘夏黑’的杂交亲和性

三倍体葡萄‘夏黑’作为亲本与不同倍性品种杂交的结实率和萌发率存在较大差异(表 3)。当‘夏黑’作为父本时,与‘巨玫瑰’杂交共授粉花朵 153 朵,获得了 9 粒杂交种子,结实率为 5.9%,最终获得 3 株杂交子代,萌发率为 33.3%,而与‘京香玉’杂交则没有获得杂交种子。由表 3 还可以看出,作为对照组合的‘巨玫瑰’×‘京香玉’共授粉 164 朵花,获得杂交种子 9 粒,杂交结实率为 5.5%,播种后获得杂交子代 3 株,萌发率为 33.3%,而另一个对照组合‘巨玫瑰’×‘蜜红’的杂交结实率和萌发率分别为 27.3%和 41.3%,说明不同倍性间的杂交亲和性较差,而四倍体与二倍体、三倍体的杂交亲和性差异不大。此外,‘夏黑’作为母本时,与‘京香玉’杂交共授粉花朵数 134 朵,获得了 9 粒杂交种子,结实率为 6.7%,但获得的种子不饱满,播种后均没能萌发。反而与‘巨玫瑰’杂交虽只得到 2 粒杂交种子,结实率仅为 1.3%,但成功获得了 1 株杂交子代。说明三倍体‘夏黑’无论作为父本还是母本均具有一定的育性,而且与四倍体杂交的育种效率相对较高。

表 3 不同倍性品种间的杂交结实情况

Table 3 Fertility of interspecific crosses between different ploidies

组合 Cross combination		授粉数 No. of pollination	坐果数 No. of fruits	结实率 Fruit set/%	萌发数 Germinated seeds	萌发率 Germination rate/%
母本 Female parent	父本 Male parent					
巨玫瑰 Jumeigui	夏黑 Summer Black	153	9	5.9	3	33.3
巨玫瑰 Jumeigui	蜜红 Mihong	399	109	27.3	45	41.3
巨玫瑰 Jumeigui	京香玉 Jingxiangyu	164	9	5.5	3	33.3
京香玉 Jingxiangyu	夏黑 Summer Black	171	0	0	0	0
夏黑 Summer Black	京香玉 Jingxiangyu	134	9	6.7	0	0
夏黑 Summer Black	巨玫瑰 Jumeigui	154	2	1.3	1	50.0

3 讨 论

三倍体孢子母细胞减数分裂的异常现象主要以归类为以下几种:①染色体桥,即当一条染色体具有 2 个着丝粒时,2 个着丝粒在减数分裂后期会分别向两极移动,从而造成染色单体的两个着丝粒之间的部分在两极之间被拉紧而形成桥。②落后染色体,即大部分染色体在减数分裂后期时移向两极后,一些落后的染色体或小断片,有的位于赤道板上,有的移向一极。这些随机分布的落后染色体在末期时或丢失、或游离于主核之外形成微核,从而导致遗传物质减少或增加,最终影响孢子的育性。③不均等分离,即染色体在减数分裂后期并不是均等地分向两极,从而造成染色体的不均等分离,最终影响孢子的育性。④多分体,即在减数分裂末期Ⅱ时形成二分体、三分体以及更高分体的多分体现象。上述这些减数分裂的异常现象在很多三倍体物种的花粉母细胞减数分裂过程中都有观察到,而且这些减数分裂的异常现象通常并不是单独出现,而是有机的联系在一起,从而造成三倍体孢子的败育^[7-16]。本研究中三倍体葡萄花粉母细胞减数分裂进程中同样存在着这些异常现象,而且在减数分裂的不同时期均会表现出不同的异常现象,正是这些异常现象的存在导致其大部分配子中遗传物质不平衡,最终形成没有育性的配子,降低了花粉的育性。此外,三倍体葡萄减数分裂的异常现象以染色体不均等分离出现的频率最高。这也可以解释三倍体葡萄为何在减数分裂末期Ⅱ时以四分体为主而花粉活力极低的原因。

目前,对于三倍体育性的研究和评价主要集中在花粉活力的测定,因为通过醋酸洋红染色和花粉离体萌发培养等方法就能很直观地测定花粉的育性,不仅简单方便,而且易于操作。刁卫平等^[10]分别通过醋酸洋红和花粉离体萌发的方法测得三倍体黄瓜花粉的可染率和萌发率分别为 18.8% 和 11.3%。郭启高等^[17]研究发现不同基因型的三倍体枇杷花粉可染率最低为 3.83%,最高为 28.7%。不同基因型的三倍体火龙果的花粉育性同样存在差

异,可染率的范围为 9.8%~18.6%^[8]。Park 等^[6]通过花粉离体萌发法测定不同基因型的三倍体葡萄的花粉育性,研究发现其萌发率的范围为 0~5.88%。本研究中通过花粉离体萌发法测得三倍体葡萄‘夏黑’的萌发率为 1.65%。表明不同三倍体物种的花粉育性存在显著差异,且同一物种的不同三倍体基因型的花粉育性也存在差异。

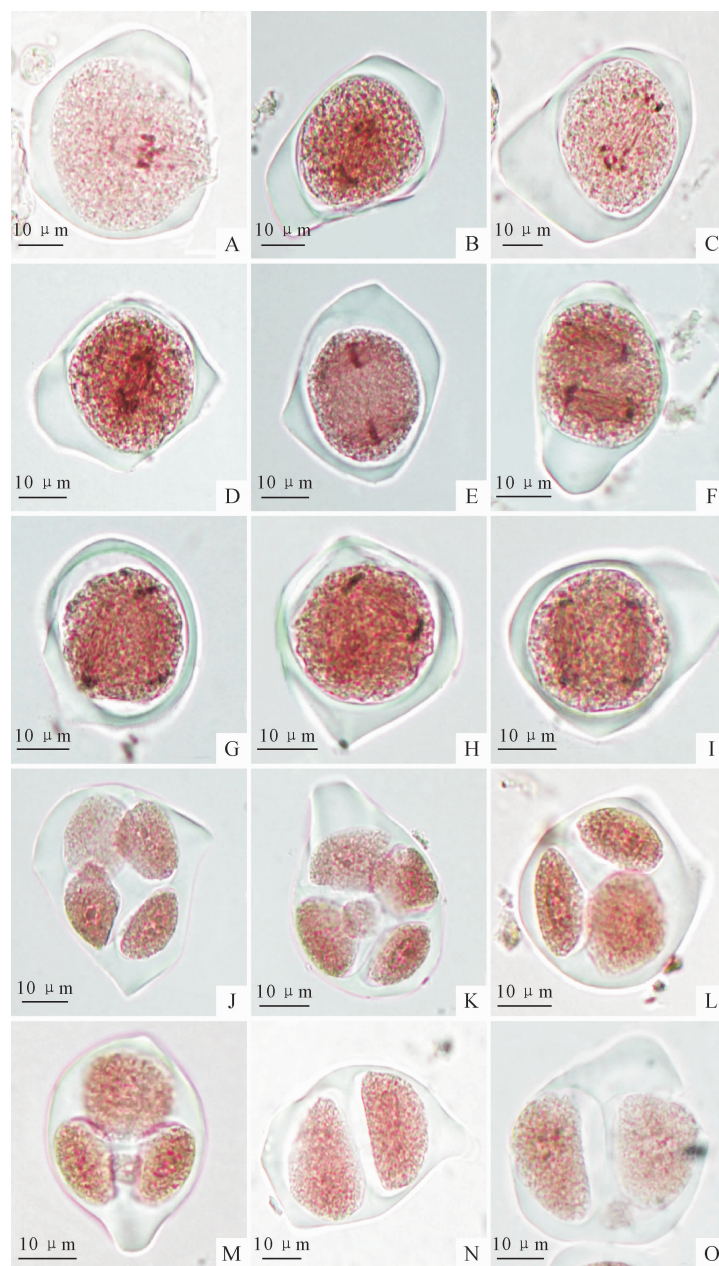
花粉粒的大小在一定程度上代表了花粉的倍性水平,因为细胞大小是随着 DNA 含量的增加而增加^[18]。在三倍体中,花粉大小的范围往往分布较广,表明由于不规则的染色体配对和不均衡染色体分离而产生了具有各种染色体数的花粉粒^[11,14]。本研究发现,三倍体葡萄的花粉大小同样存在较大差异,预示其花粉粒间倍性水平存在较大变化。此外,研究表明正常二倍体植株产生的花粉粒直径频率呈高斯分布,而 2n 花粉则呈双峰分布^[19]。本研究中三倍体葡萄‘夏黑’花粉直径分布总体呈双峰曲线型表明有一定数量的未减数花粉的产生,其中可能有较高倍性水平的花粉粒存在。

由于三倍体可产生具有育性的未减数配子,所以利用三倍体作为桥梁进行杂交育种在很多物种上有过成功的报道^[20-24]。在葡萄上, Park 等^[6]以筛选出的 10 个花粉萌发率大于 1% 的三倍体葡萄优系作为母本分别与二倍体、四倍体品种进行杂交,成功获得了 9 株杂交子代。郭印山等^[25]以三倍体‘无核早红’作为父本分别与二倍体、四倍体品种进行杂交,均成功获得了杂交子代。本研究中利用三倍体葡萄‘夏黑’作为亲本分别与二倍体、四倍体品种杂交,其中与四倍体杂交均获得了杂交子代,而与二倍体杂交均未能得到杂交子代。表明三倍体葡萄‘夏黑’中存在可育的未减数配子,且与高倍性品种的杂交亲和性更好,可以作为中介材料应用于葡萄育种中。然而,由于倍性育种一般影响到胚乳的倍性和发育,进而导致种子发育不正常,所以在本研究中利用三倍体进行常规杂交育种的效率很低。因此,后续的研究重点是探索适宜的胚挽救技术体系以提高三倍体作为杂交亲本的育种效率,这对于三倍体更好地应用于葡萄育种中有着极其重要的意义。

参考文献:

- [1] BAKRY F, HORRY J P. Tetraploid hybrids from interploid 3x/2x crosses in cooking bananas[J]. *Fruits*, 1992, 47(6): 641—647.
- [2] KIKUCHI S, IWASUNA M, KOBORI A, et al. Seed formation in triploid loquat (*Eriobotrya japonica*) through cross-hybridization with

- pollen of diploid cultivars[J]. *Breeding Science*, 2014, **64**(2): 176–182.
- [3] LIANG W J(梁武军), XIE K D(解凯东), XIE Z ZH(谢宗周), *et al.* Exploitation of polyploids from open-pollinated triploid grapefruit progenies and their genetic identification by SSR molecular markers[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2015, **32**(1): 13–18(in Chinese).
- [4] JACKSON R C. Evolution and systematic significance of polyploidy[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1976, **7**: 209–234.
- [5] PARK S M, HIRAMATSU M, WAKANA A. Aneuploid plants derived from crosses with triploid grapes through immature seed culture and subsequent embryo culture[J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1999, **59**(2): 125–133.
- [6] PARK S M, WAKANA A, KIM J H, *et al.* Male and female fertility in triploid grapes(*Vitis* complex) with special reference to the production of aneuploid plants[J]. *Vitis*, 2002, **41**(1): 11–19.
- [5] DWEIKAT I M, LYRENE P M. Production and viability of unreduced gametes in triploid interspecific blueberry hybrids[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, **76**(4): 555–559.
- [8] TEL-ZUR N, ABBO S, MIZRAHI Y. Cytogenetics of semi-fertile triploid and aneuploid intergeneric vine cacti hybrids[J]. *Journal of Heredity*, 2005, **96**(2): 124–131.
- [9] VAFATIE-TABAR M, CHANDRASHEKARAN S. Meiosis in a triploid hybrid of *Gossypium*: high frequency of secondary bipolar spindles at metaphase II [J]. *Journal of Genetics*, 2007, **86**(1): 45–49.
- [10] DIAO W P(刁卫平), CUI L(崔利), JIANG B(江彪), *et al.* Creation and meiosis studies of autotriploid in cucumber[J]. *Acta Bot. Boreo-Occident. Sin.*(西北植物学报), 2009, **29**(1): 36–42(in Chinese).
- [11] 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.
- [12] GAO J(高娟), YI H L(伊华林), HU ZH Y(胡志勇). Meiotic observations on pollen mother cells of sexual progenies of citrus somatic hybrid[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2010, **27**(1): 8–12(in Chinese).
- [13] XU CH Y(许重阳), WANG J(王君), YE S(叶粟), *et al.* Meiosis of microsporocyte and variation of pollen in an allotriploid white poplar[J]. *Acta Bot. Boreo-Occident. Sin.*(西北植物学报), 2011, **31**(12): 2 554–2 558(in Chinese).
- [14] FENG Z(封紫), WEI CH(魏迟), JIA G X(贾桂霞). Meiotic chromosome behavior in allotriploid cultivar of *Lilium* hybrids[J]. *Journal of Beijing Forestry University*(北京林业大学学报), 2012, **34**(2): 118–124(in Chinese).
- [15] FARCO G E, DEMATTEIS M. Meiotic behavior and pollen fertility in triploid and tetraploid natural populations of *Campuloclinium macrocephalum* (Eupatorieae, Asteraceae)[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2014, **300**(8): 1 843–1 852.
- [16] LIU X SH(刘学生), CHEN L(陈龙), WANG J X(王金鑫), *et al.* Discovery and identification of natural triploid ploidy of Chinese jujube cultivar ‘Pingguozao’[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2013, **40**(3): 426–432(in Chinese).
- [17] GUO Q G(郭启高), JI K(季昆), WU Q(吴琼), *et al.* Pollen morphology and viability of Longquan No. 1 natural triploid of loquat [J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2010, **27**(3): 391–396(in Chinese).
- [18] 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.
- [19] TONDINI F, TAVOLETTI S, MARIANI A, *et al.* A statistical approach to estimate the frequency of n, 2n and 4n pollen grains in diploid alfalfa[J]. *Euphytica*, 1993, **69**(1–2): 109–114.
- [20] HAUNOLD A. Fertility studies and cytological analysis of the progeny of a triploid×diploid cross in hop, *Humulus lupulus* L.[J]. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1970, **12**: 582–588.
- [21] ADIWILAGA K D, BROWN C R. Use of 2n pollen-producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild species germ plasm to cultivated tetraploid potato gene pool[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, **81**(5): 645–652.
- [22] KANG X Y(康向阳), MAO J F(毛建丰). Gamete fertility and morphological variations in offsprings of triploid clones *Populus tomentosa* [J]. *Journal of Beijing Forestry University*(北京林业大学学报), 2001, **23**(4): 20–23(in Chinese).
- [23] LI SH L(李树玲), CAO Y F(曹玉芬), HUANG L S(黄礼森), *et al.* Observation on chromosome number of F₁ generation from triploid pear cultivars[J]. *Journal of Tianjin Agricultural College*(天津农学院学报), 2002, **9**(3): 1–4(in Chinese).
- [24] ZHOU J J(周建金), ZENG R ZH(曾瑞珍), LIU F(刘芳), *et al.* Investigation on chromosome ploidy of the hybrids of *Phalacnopsis* polyploids[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2009, **36**(10): 1 491–1 497(in Chinese).
- [25] GUO Y SH(郭印山), GUO X W(郭修武), LI K(李坤), *et al.* Studies on the crossing compatibility and ploidy variation in chromosome in the crossing progenies of different ploidy varieties in grape[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*(沈阳农业大学学报), 2004, **35**(3): 192–194(in Chinese).



图版 I A. 中期 I, 染色体提前分向两极; B. 后期 I, 不均等分离; C. 后期 I, 染色体桥; D. 后期 I, 具落后染色体; E. 中期 II, 平行纺锤体; F~H. 后期 II, 不均等分离; I. 后期 II, 具落后染色体; J. 四分体; K. 四分体+微核; L. 三分体; M. 三分体+微核; N. 二分体; O. 二分体+微核。

Plate I Fig. A. Metaphase I with precocious migration of chromosomes to the poles; Fig. B. Anaphase I with asymmetrical separation; Fig. C. Anaphase I with chromosome bridge; Fig. D. Anaphase I with lagging chromosome; Fig. E. Metaphase II with parallel spindle; Fig. F—H. Anaphase II with asymmetrical separation; Fig. I. Anaphase II with lagging chromosomes; Fig. J. Tetrad; Fig. K. Tetrad with micronuclei; Fig. L. Triad; Fig. M. Triad with micronuclei; Fig. N. Dyad; Fig. O. Dyad with micronuclei.

(编辑:潘新社)