

不同基因型割手密无性系的核型分析

王先宏¹, 郭超¹, 娄红波¹, 李富生¹, 何丽莲¹, 何顺长¹, 唐荣平², 杨清辉¹

(¹云南农业大学甘蔗研究所, 昆明 650201; ²云南临沧高等师范专科学校数理系, 临沧 677000)

摘要:为探讨不同基因型割手密无性系间的亲缘关系, 采用酶解去壁低渗法对不同基因型的割手密材料进行核型分析。10份供试材料的绝大多数染色体为中部着丝点(m)染色体, 少数为近中部着丝点(sm)染色体及正中部着丝点(M)染色体, 部分材料中还具有端部着丝点(T)染色体及近端部着丝点区染色体(t); 依据分析结果总结了参试材料的核型公式; 参试材料中有2份为1B核型、7份为2B核型、1份为2C核型。参试材料间的核型均存在差异且不对称。

关键词:甘蔗; 割手密; 无性系; 核型

Karyotype Analysis of Different *Saccharum spontaneum* Genotype Clones

WANG Xian-hong¹, GUO Chao¹, LOU Hong-bo¹, LI Fu-sheng¹, HE Li-lian¹,
HE Shun-chang¹, TANG Rong-ping², YANG Qing-hui¹

(¹Sugarcane Research Institution of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

²Department of Mathematics and Physics, Lincang Normal College, Lincang 677000)

Abstract: To study the relationship between different *Saccharum spontaneum* L. genotype clones, karyotype analysis of these clones were performed by using the method of wall degradation and low osmosis. The results showed that most of the chromosomes were median region (m) types, only a few were sub-median region (sm), median point (M), terminal point (T), and terminal region (t) types in all of the materials used for study. The karyotype formulas of each accession were summarized based on the datum. The karyotype of 2 accessions exhibited 1B type, 7 accessions for 2B, and 1 accession for 2C. All of the materials showed karyotypic difference and asymmetry types.

Key words: Sugarcane; *Saccharum spontaneum*; clone; karyotype

甘蔗(*Saccharum* spp.)不仅是我国食糖工业的主要原料, 而且在能源和动物饲料开发等方面具有广阔的利用前景。甘蔗属于禾本科(Gramineae)甘蔗亚族(Saccharastrae)甘蔗属(*Saccharum*)。甘蔗亚族中还有一些与甘蔗关系密切、对甘蔗育种有重要利用价值的近缘植物, S. K. Mukgeriee^[1]将这些属的植物, 连同 *Saccharum* 一起统称为“*Saccharum* 复合

体”, 这些植物中具有许多诸如分蘖性强、抗逆性好、耐瘠薄等优良性状, 对甘蔗品种的改良具有潜在利用价值, 是重要的甘蔗种质资源, 也是甘蔗品种改良和育种的基础。因此, 多年来各主产蔗糖国都把甘蔗种质资源的收集保存和研究作为甘蔗育种工作的一个重要方面^[2], 并做了大量资源评价及研究工作^[3-6]。

收稿日期: 2013-08-30 修回日期: 2013-09-15 网络出版日期: 2014-06-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140609.1432.029.html>

基金项目:国家自然科学基金项目(31260348); 云南省现代农业甘蔗产业技术体系(云农发科[2009]12号); 云南农业大学高原山地作物可持续生产系统研究省创新团队“高原山地特色作物种质创新及利用”(云科人发[2012]18号); 云南农业大学博士科研基金项目(A2002181); 云南省应用基础研究面上项目(2012FB150, 2013FB037)

第一作者研究方向为分子及细胞遗传学。E-mail: x.h_wang@163.com

通信作者: 杨清辉, 研究方向为甘蔗资源研究与利用。E-mail: yangqinghui@163.com

割手密 (*Saccharum spontaneum* L.) 是甘蔗属 (*Saccharum*) 多年生草本植物,在我国 $18^{\circ}15' \sim 33^{\circ}20' N$, $97^{\circ} \sim 122^{\circ} E$,海拔 1 ~ 2460 m 的广大地区都有分布^[7-8]。其植株具有横走的长根状茎,具有早萌生、快发芽、分蘖多、生长快、抗性强、耐旱、耐脊及宿根性好等特点,是甘蔗育种的重要亲本材料。19 世纪后,为提高育成品种的抗逆性及适应性等,甘蔗育种学家将栽培种(品种)与割手密进行杂交,将其成功应用于甘蔗新品种的培育,目前在生产上应用的绝大部分甘蔗品种都含有割手密的血缘^[9-10],割手密在现代甘蔗栽培品种的开发中扮演着重要的角色,是现代甘蔗育种最重要的也是最有价值的亲本资源之一。

云南农业大学甘蔗研究所曾组织人员于 1975 - 1990 年间在我国 18 个省(区)进行过多次的甘蔗野生种质资源的考察与采集活动^[11-12],其间共采集、保育了近 400 份割手密无性系材料。细胞学研究发现这些割手密材料具有较多的染色体数目类型^[13-14]及较丰富的 RAPD 多态性^[15],在甘蔗育种中具有极好的潜在利用价值。对这些割手密资源进行深入的细胞学研究,可为其起源、进化等提供科学依据,对其在甘蔗育种中的进一步利用具有重要的参考价值。核型分析是研究染色体的基本方法,是细胞遗传学研究的一项基础工作,是研究物种演化、分类以及染色体结构、形态与功能之间的关系所不可缺少的重要手段,可以阐明生物染色体组的构成,鉴别出各条染色体的形态特点,可为种质资源鉴定和利用提供细胞学基础。本研究对不同基因型割手密材料的根尖染色体中期分裂相进行核型分析,以期对这些材料在甘蔗杂交育种及品种改良中的进一步应用提供细胞学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选取云南农业大学甘蔗研究所采集并保育于资源圃的 8 份及从国家甘蔗种质资源圃引进的 2 份(印度 1 号和印度 2 号)共 10 份不同基因型割手密材料(表 1),集中种植在云南农业大学甘蔗研究所温室大棚,采集各材料的幼根并进行预处理,制备染色体玻片后带到云南省高校作物种质创新与可持续利用重点实验室拍照并挑选好的分裂相进行染色体计数及核型分析。

表 1 供试割手密材料采集地、海拔、染色体数目及植物学性状

Table 1 The collected places, elevation, chromosome number, and botanical characters of the tested *S. spontaneum* materials

编号 Code	采集地 Locality	海拔 (m) Elevation	染色体数 (2n) Chromosome number	株高 (cm) Height	茎径 (cm) Stalk diameter	锤度 (%) Brix
I91-7	四川西昌	1800	96	125	0.4	11
I91-10	四川冕宁	2100	96	86	0.5	11
90-15	西藏察隅	1460	90	146	0.6	8
印度 1 号	印度	-	85	-	-	-
84-261	贵州兴义	1280	84	198	0.7	14
88-301	云南开远	1100	82	140	0.7	10
90-2	云南中甸	1800	78	122	0.3	12
印度 2 号	印度	-	77	-	-	-
I91-61	四川渠县	-	67	98	0.7	11
88-283	云南腾冲	1700	64	129	0.7	4

- 表示相关数据缺失

- indicates the related data is missed

1.2 试验方法

以盆栽方式培养并采集根尖,参照 A. D'Hont 等^[10]的方法并加以优化的酶解去壁低渗法制备根尖体细胞染色体,挑选好的分裂相用蔡司 Imager A2 显微镜拍照计数染色体,每份材料选用 5 个左右分散性好的中期分裂相,参照李懋学等^[16]的标准以 Ikaros 软件进行核型分析。

2 结果与分析

本试验所研究的 10 份割手密无性系的核型分析结果见表 2,中期染色体分裂相、核型见图版 I 至图版 II。

染色体参数分析结果表明,10 份参试材料的染色体大多为近中部着丝点(m)染色体,材料 I91-7 至 88-283(表 1 中材料编号依次从上至下)具中部着丝点的染色体数所占该份材料染色体总数的比例分别为 95.83%、79.17%、80.00%、80.00%、80.95%、85.37%、94.87%、77.92%、89.55% 及 93.75%;各材料的近中部着丝点(sm)染色体数占该份材料染色体总数的比例均在 21% 以下;正中部着丝点(M)染色体则较少,仅材料印度 2 号中有 4 条,I91-7、印度 1 号、84-261、88-301 和 90-2 中各有 2 条;在材料印度 1 号、84-261、88-301 和 I91-61 中还发现部分端部(T)着丝点染色体。核型分析结果表明 10 份参试材料中有 2 份为 1B 核型、7 份为 2B 核型、1 份为 2C 核型。

表 2 参试割手密材料的核型参数

Table 2 Karyotype parameter of tested *S. spontaneum* materials

编号 Code	核型公式 Karyotype formula	相对长度组成 Relative length formula	相对长度(%) Relative length	臂比 >2 的比率(%) Percentage of arm ratio more than 2	最长/最短 Longest/ Shortest	类型 Type	不对称系数(%) Asymmetric coefficient
I91-7	$2n = 96 = 2M + 92m + 2sm$	$4L + 40M2 + 44M1 + 8S$	1.41 ~ 3.21	0	2.27	1B	54.98
I91-10	$2n = 96 = 76m + 20sm$	$6L + 40M2 + 40M1 + 10S$	1.37 ~ 3.27	12.50	2.40	2B	58.89
90-15	$2n = 90 = 72m + 18sm$	$16L + 24M2 + 34M1 + 16S$	1.10 ~ 3.07	2.22	2.79	2B	57.55
印度 1 号	$2n = 85 = 2M + 68m + 14sm + 1T$	$16L + 24M2 + 28M1 + 17S$	0.86 ~ 4.29	9.41	4.97	2C	57.19
84-261	$2n = 84 = 2M + 68m + 10sm + 4T$	$12L + 28M2 + 30M1 + 14S$	1.09 ~ 3.48	11.90	3.19	2B	58.37
88-301	$2n = 82 = 2M + 70m + 8sm + 2T$	$10L + 28M2 + 34M1 + 10S$	1.22 ~ 4.27	4.88	2.93	2B	58.55
90-2	$2n = 78 = 2M + 74m + 2sm$	$10L + 20M2 + 40M1 + 8S$	1.83 ~ 3.80	0	2.08	1B	55.54
印度 2 号	$2n = 77 = 4M + 60m + 8sm + 5t$	$12L + 28M2 + 30M1 + 7S$	1.13 ~ 3.68	7.79	3.25	2B	57.69
I91-61	$2n = 67 = 60m + 4sm + 3T$	$10L + 26M2 + 20M1 + 11S$	1.51 ~ 4.94	8.96	3.26	2B	57.27
88-283	$2n = 64 = 60m + 4sm$	$4L + 30M2 + 26M1 + 4S$	1.79 ~ 4.02	3.13	2.24	2B	56.21

3 讨论

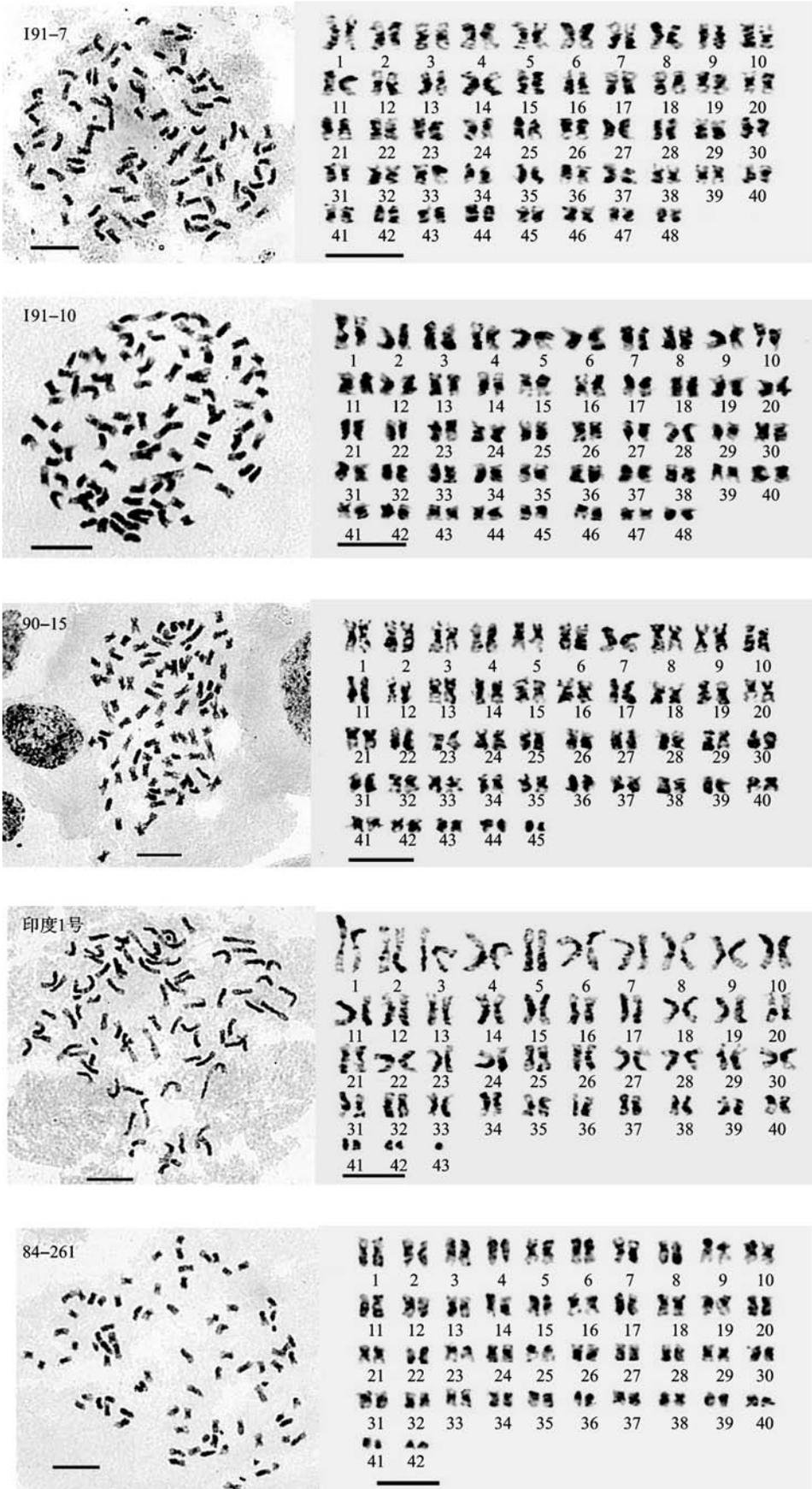
相比较于其他作物而言,甘蔗的遗传方式较为复杂和独特,其复杂和独特之处主要源于其染色体的组成及传递方式的复杂性。甘蔗的遗传背景及遗传方式历来是甘蔗育种者所关注的问题,因为育种者已普遍认识到甘蔗品种目标性状的优劣主要取决于品种本身的血缘组成,认为甘蔗品种中野生种的血缘含量低是导致育成品种的生活力、适应性、抗逆性及宿根性普遍下降的主要原因^[17],而这些性状的退化又直接导致甘蔗产量的下降。为解决这些问题,甘蔗育种者一直在进行着甘蔗种质资源的采集、保存和研究工作,希望能将这些种质资源中一些野生种的优良性状引入甘蔗品种,以培育出新的优良品种或对旧有品种的相关性状进行改良,其中对所收集到的资源植物进行染色体的研究是一个主要的方面。

研究表明不同基因型割手密资源形态差异较大,植株从矮小(不足 1 m)、无茎、丛生至大茎,高度超过 7 m 的各种类型都有^[18],其适应性极强,从热带高温以及冰雪严寒条件下干旱的沙漠、淹水的沼泽以及海边的盐碱地都有分布^[19]。细胞学研究发现割手密是典型的整倍或非整倍的多倍体植物,不同基因型的染色体数目类型具有 $2n = 36, 40, 48, 50, 51, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 63, 64, 71, 72, 78, 80, 81, 88, 90, 96, 105, 106, 112, 113, 120, 124, 126, 127, 128$ 共 30 种类型^[20],但不同基因型割手密间的关系仍不清楚。对不同基因型割手密材料进行核型分

析,可为进一步亲缘关系分析提供一定的科学依据。

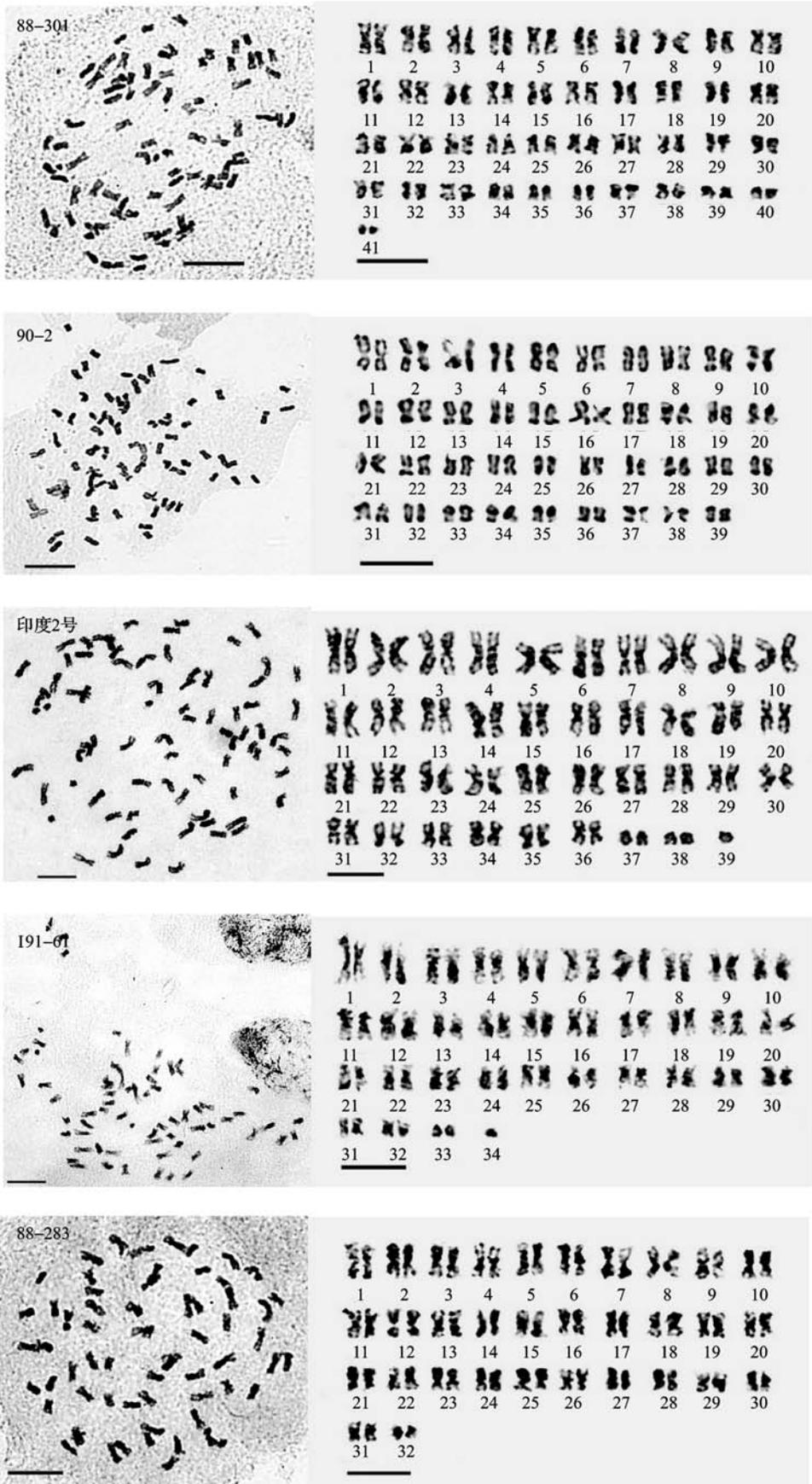
本研究对 10 份割手密无性系材料的染色体进行核型分析,结果表明这些材料的体细胞染色体数中绝大多数染色体为中部着丝点(m)染色体,而少部分为近中部着丝点(sm)染色体,除 88-283、90-15、I91-10、I91-61 没有正中部着丝点(M)染色体外,其他材料均有正中部着丝点(M)染色体。84-261、88-301、I91-61、印度 1 号均有端部着丝点(T)染色体,印度 2 号有近端部着丝点区(t)染色体。除 90-2、I91-7 为 1B 核型,印度 1 号为 2C 核型外其他材料均为 2B 核型,这与郑成木^[21]、黄东益等^[22]、王英等^[23]及王宏等^[24]的研究结果基本一致。

由于甘蔗资源植物多为高度复杂的多倍体植物,其染色体组成及传递方式较为复杂和独特^[25],郑成木^[21]的研究表明甘蔗的染色体数目在种内、种间甚至同一无性系材料内、不同无性系材料间都有明显的变化。郑成木^[21]、刘文荣等^[26]、邓祖湖等^[27]的研究结果表明,甘蔗染色体多为较对称的中部及近中部着丝点染色体。本研究结果显示虽然 10 份供试材料的体细胞中中部及近中部着丝点染色体的比例较高,但各自的比例不一样,且部分材料的体细胞中还有一定比例的近端部及端部着丝点染色体。洪德元^[28]认为着丝粒位于中部的染色体是最对称的也是最原始的,植物染色体是由对称向不对称的方向进化的,因此一般来说,具中部着丝点染色体的百分比越小和核型不对称系数越大,则材料的染色体核型越不对称,因此也越进化。因此,10 份供试材料中最原始的是 I91-7,最进化的是印度 2



图版 I I91-7、I91-10、90-15、印度 1 号、84-261 的中期染色体及核型

Plate I Chromosomes and karyotype of 84-261, India No. 1, 90-15, I91-10, I91-7



图版 II 98-301、90-2、印度 2 号、I91-61、88-283 的中期染色体及核型

Plate II Chromosomes and karyotype of 88-283, I91-61, India No. 2, 90-2, 98-301

号。研究表明不同基因型割手密无性系材料间的核型均存在一定的差异,但染色体数目最多的无性系的核型并不是最不对称的,而染色体数目最少的无性系材料的核型也不是最对称的,表明这些核型上的差异并不直接与参试材料的染色体数目多少直接相关,这可能与不同基因型割手密染色体的遗传组成及进化有关。

参考文献

- [1] Mukgerjee S K. Origin and distribution of *Saccharum* [J]. Bot Gaz, 1957, 119: 55-61
- [2] 李富生, 林位夫, 何顺长. 甘蔗杂种的染色体和 RAPD 鉴定研究[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(1): 48-52
- [3] 吴才文, Jackson P, 范源洪, 等. 甘蔗割手密远缘杂交后代产量性状的遗传及分离[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2): 262-266
- [4] 吴才文, Jackson P, 刘家勇, 等. 甘蔗野生种割手密远缘杂交后代品质性状的遗传研究[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(1): 59-63
- [5] 黄忠兴, 周峰, 王勤南, 等. 国内外割手密资源农艺性状表型遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(5): 825-829
- [6] 周会, 雷敬超, 桂意云, 等. 甘蔗种植资源自然条件下耐寒性评价[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6): 968-973
- [7] He S C, Yang Q H, Xiao F H, et al. Collection and description of basic germplasm of sugarcane (*Saccharum* complex) in China [J]. Int Sugar J, 1999, 101(1201): 23-28
- [8] 何顺长. 甘蔗野生种质资源考察采集日记[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003: 118-200
- [9] 彭绍光. 甘蔗育种学[M]. 北京: 农业出版社, 1990
- [10] D'Hont A, Grivet L, Feldmann P, et al. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics [J]. Mol Gen Genet, 1996, 250: 405-413
- [11] 何顺长, 杨清辉, 萧凤回, 等. 西藏甘蔗亚族植物资源考察采集报告[J]. 云南农业大学学报, 1991(3): 12-14
- [12] 何顺长, 杨清辉, 萧凤回, 等. 全国甘蔗野生种质资源的采集和考察[J]. 甘蔗, 1994(1): 15-21
- [13] 杨清辉, 何顺长. 云南割手密染色体数目及其地理分布研究[J]. 甘蔗, 1996, 3(1): 10-13
- [14] 杨清辉, 李富生, 萧凤回, 等. 割手密染色体数目及其地理分布研究[C]//云南省作物学会甘蔗协会. 甘蔗论文集, 1998
- [15] 杨清辉, 李富生, 萧凤回. 割手密 RAPD 指纹图谱分析[J]. 云南农业大学学报, 1998, 13(4): 347-351
- [16] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297-302
- [17] 陈如凯. 现代甘蔗育种的理论与实践[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 1-20
- [18] Nair N V, Jebadhas A W, Sreenivasan T V. *Saccharum* germplasm collections in Arunachal Pradesh [J]. Ind J Plant Genet Res, 1993, 6(1): 21-26
- [19] 林国栋, 陈如凯. 甘蔗的分类 II *Saccharum* L. 属[J]. 甘蔗, 1995, 2(1): 13-20
- [20] Irvine J E. *Saccharum* species as horticultural classes [J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 186-194
- [21] 郑成木. 甘蔗核型及其染色体数目变化的研究[J]. 热带作物学报, 1993, 14(2): 47-51
- [22] 黄东益, 郑成木, 庄南生, 等. 甘蔗染色体组构成系统演化的研究[J]. 热带作物学报, 2000, 20(1): 43-51
- [23] 王英, 高和琼, 庄南生, 等. 崖城割手密 11 号与拔地拉核型比较分析[J]. 中国农学通报. 2008, 24(3): 52-57
- [24] 王先宏, 杨清辉, 李富生, 等. 基于 GISH 的甘蔗与蔗茅属间杂交 F₁ 后代的染色体组成及核型分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(6): 1085-1091
- [25] D'Hont A. Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH; examples of sugarcane and banana [J]. Cytogenet Genome Res, 2005, 109: 27-33
- [26] 刘文荣, 邓祖湖, 张木清, 等. 甘蔗斑茅的杂交利用及其杂种后代鉴定系列研究 III. 甘蔗斑茅远缘杂交后代细胞遗传分析[J]. 作物学报, 2004, 30(11): 1093-1096
- [27] 邓祖湖, 赖丽萍, 林炜乐, 等. 甘蔗斑茅杂交后代 BC₁ 的染色体核型及染色体遗传分析[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2007, 36(6): 561-566
- [28] 洪德元. 植物细胞分类学[M]. 北京: 科学出版社, 1990