

香水月季(*Rosa odorata* Sweet) 不同变种的染色体及核型分析

蹇洪英,张 颖,张 婷,李树发,王其刚,晏慧君,邱显钦,唐开学

(云南省农业科学院花卉研究所/云南省花卉育种重点实验室,昆明 650205)

摘要:采用常规压片法对采自 11 个地点的 4 个变种进行了以染色体形态和倍性为主的核型分析。结果表明:(1)香水月季原变种是 2 倍体,核型公式为 $2n=2x=14=12m+2sm$,核型为 1A。(2)大花香水月季 4 个居群的染色体形态很相似,都是 2 倍体,核型全为 1A,核型公式均是 $2n=2x=14=12m+2sm$,居群间差异主要表现在染色体组的相对长度构成上。(3)桔香香水月季是 2 倍体,核型公式为 $2n=2x=14=10m+4sm$,核型为 1A。(4)来自不同地方的粉红香水月季在染色体数量和形态上有较大的差异。木家桥和永春的是 3 倍体,核型公式分别为 $2n=3x=21=18m+3sm$ 和 $2n=3x=21=21m$;红桥、富民和小河的是 2 倍体,核型公式分别为 $2n=2x=14=12m+2sm$ 、 $2n=2x=14=10m+4sm$ 和 $2n=2x=14=12m+2sm$;除富民的核型为 1B 外,其他地方的核型均是 1A。基于研究结果,讨论了香水月季的核型特征、细胞遗传分化模式、丰富的变异及其在育种中的应用。

关键词:香水月季;染色体;倍性;核型

Karyotype Analysis of Different Varieties on *Rosa odorata* Sweet

JIAN Hong-ying, ZHANG Hao, ZHANG Ting, LI Shu-fa, WANG Qi-gang,

YAN Hui-jun, QIU Xian-qin, TANG Kai-xue

(Yunnan Key Laboratory for Flower Breeding /Flower Research Institute,

Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205)

Abstract: The karyological analysis on 4 varieties of *R. odorata* from 11 localities was carried out by conventional pressed slice method. The results showed that: (1) *R. odorata* var. *odorata* was diploidy with a karyotype of 1A and karyotype formula of $2n=2x=14=12m+2sm$. (2) Chromosomal characters of *R. odorata* var. *gigantea* from 4 natural populations were almost similar. All the 4 populations were diploidy with the same karyotype of 1A and karyotype formula of $2n=2x=14=12m+2sm$. The main difference of chromosome morphology among populations lay in the constitution of chromosomal relative length of the genome. (3) *R. odorata* var. *pseudoindica* was diploidy with a karyotype of 1A with a karyotype formula of $2n=2x=14=10m+4sm$. (4) Chromosomal number and morphology of *R. odorata* var. *erubescens* from different places differed greatly. The plants from Mujiaqiao and Yong-chun were both triploid with the karyotype formula of $2n=3x=21=18m+3sm$ and $2n=3x=21=21m$, respectively. Plants from Hongqiao, Fumin and Xiaohe were diploid with $2x=14=12m+2sm$, $2n=2x=14=10m+4sm$ and $2n=2x=14=12m+2sm$, respectively. Karyotypes of all the *R. odorata* var. *erubescens* were 1A, except those plants which from Fumin being 1B. The karyomorphological characteristics, cyto-genetic divergence mode, rich variation and their possible utilization in rose breeding of *R. odorata* were discussed.

Key words: *Rosa odorata* Sweet; Chromosome; Ploidy; Karyotype

收稿日期:2009-12-25 修回日期:2010-03-25

基金项目:云南省科技创新强省计划项目(2007C0003Z);云南省社会发展科技计划项目(2008CD183)

作者简介:蹇洪英,硕士,主要从事月季种质资源与细胞生物学研究。E-mail:ynwildflower@yahoo.com.cn

通讯作者:唐开学,研究员,研究方向为月季遗传育种。E-mail:kxtang@hotmail.com

香水月季(*Rosa odorata* Sweet)属蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rosa* L.)月季组(Section *Chinenses*)，种下包含香水月季原变种(*R. odorata* var. *odorata*)、大花香水月季(*R. odorata* var. *gigantea*)、桔黄香水月季(*R. odorata* var. *pseudoindica*)和粉红香水月季(*R. odorata* var. *erubescens*)4个变种。香水月季是云南的特有植物^[1-2]，被列为国家稀有的Ⅲ级保护植物^[3]，同时也是一类非常重要的园林绿化^[4]和月季育种资源，现代月季的茶香和部分黄色基因都来源于它们^[5-6]。Wisseman等^[7-8]、唐开学等^[9]和邱显钦等^[10]对大花变种、粉红变种在属内的系统地位进行了研究。在染色体研究方面，虽然原变种和大花变种已有核型报道^[11-13]，但粉红变种和桔黄变种还

没有任何相关研究，同时还都缺乏不同分布地点的信息。因此，对香水月季这一重要的种质资源开展系统的染色体研究，一方面可为研究其种下遗传多样性、亲缘关系和居群生物学提供一定的细胞学依据，另一方面可为其在月季种质创制和新品种选育中的应用提供染色体信息。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的香水月季不同变种材料来源及基本性状见表1。它们均以嫁接苗的形式保存于云南省昆明市云南省农业科学院花卉研究所的月季种质资源圃中。

表1 供试的香水月季不同变种材料的来源及基本性状

Table 1 Origins and traits of *R. odorata* complex

变种 Variety	材料来源 Origins of the varieties			基本性状 Basic trait
	地点 Locality	海拔(m) Altitude	生境 Habitat	
香水月季原变种	昆明双龙	2100	杂木林中	白花重瓣，单生，7~10cm，果扁球形，2.5~3.5cm
大花香水月季	玉溪新平	1980	山坡路边	白花单瓣，单生，8~12cm，果扁球形，2~3.5cm
	昆明小河	2119	杂木林中	白花单瓣，单生，6.5~10cm，果扁球形，2~2.5cm
	昆明石林	1841	杂木林中	白花单瓣，单生，7~10.5cm，果扁球形，2~3cm
桔黄香水月季	玉溪江川	2680	密林下	白花单瓣，单生，8~13cm，果扁球形，2.5~3.5cm
	丽江新主	2346	路边(栽培)	黄花重瓣，单生，7.5~10cm，果扁球形，2~3cm
	丽江木家桥	2420	路边杂木林中	粉花重瓣，花单生8~10cm，果扁球形，2.5~3.5cm
粉红香水月季	维西永春	2568	地边	粉花重瓣，花单生8~11cm，果扁球形，2.5~3.5cm
	宁南红桥	2400	路边(栽培)	粉花重瓣，单生或聚生，5~7cm，果卵圆形，0.8~1.2cm
	昆明富民	1850	路边(栽培)	粉花重瓣，1~5朵单生或聚生，5~7cm，果卵圆形，小
	昆明小河	2160	路边杂木林中	粉花重瓣，花单生6~10cm，果扁球形，2.0~3.0cm

1.2 方法

参照李懋学等^[14]的方法。2008年3月下旬，每天9:00~10:00取植株尚未形成花芽且生长旺盛的茎尖，对二氯苯饱和液预处理2.5h，卡诺I固定液(无水乙醇：冰乙酸=3:1)于4℃冰箱中固定40min，1mol/L HCl 60℃水浴解离10min，卡宝品红染色1h后45%乙酸压片。临时片在Olympus CH300显微镜40×下镜检，在Nikon E800显微镜100×下用DXM1200型显微图像捕捉系统拍照。每品种的染色体数至少观测30个细胞。中期染色体的核型分析用Adobe Photoshop软件手工进行照片背景处理、长度测量和染色体配对，核型分析采用李懋学等^[15]的标准，核型类型采用Stebbins^[16]的标准，核不对称

系数(As. k%)按Arano^[17]的方法计算，染色体长度(I、R、L)按Kuo等^[18]的方法进行计算和分类，着丝点指数(centromeric index)和臂指数(number of fundamental, NF)按李懋学等^[19]的方法进行计算。

2 结果与分析

2.1 香水月季原变种的核型

香水月季原变种是2倍体，核型公式为 $2n = 2x = 14 = 12m + 2sm$ ，核型为1A，第5对染色体是近中着丝点(sm)，其他是中着丝点染色体(m)。染色体的相对长度范围为12.07~17.55，其中第1、2对染色体为中长染色体(M2)，其余5对均为中短染色体(M1)(表2，图1-A、A')。

表2 香水月季不同变种的核型

Table 2 Karyotypes of *R. odorata* complex

变种(来源) Variety (Origin)	核型公式 Karyotype formula	臂比>2染色体的 Ratio of chromosome of arm ratio >2						染色体相对长度组成 Constitution of relative length
		N.F	L/St	Ratio of chromosome of arm ratio >2	Asymmetry index	Karyotype type		
原变种(双龙)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(5)$	28	1.45	0	56.48	1A	4M2 + 10M1	
大花变种(新平)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(6)$	28	1.4	0	57.38	1A	6M2 + 8M1	
大花变种(小河)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(6)$	28	1.55	0	58.07	1A	2L + 12M1	
大花变种(石林)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(6)$	28	1.73	0	58.80	1A	2L + 4M2 + 8M1	
大花变种(江川)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(6)$	28	1.5	0	58.05	1A	6M2 + 8M1	
桔黄变种(新主)	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm(3,6)$	28	1.54	0	59.24	1A	2L + 4M2 + 8M1	
粉红变种(木家桥)	$2n = 3x = 21 = 18m + 3sm(6)$	42	1.32	0	57.63	1A	6M2 + 8M1	
粉红变种(永春)	$2n = 3x = 21 = 21m$	42	1.75	0	57.33	1A	2L + 4M2 + 6M1 + 2S	
粉红变种(虹桥)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(3)$	28	1.83	0	58.68	1A	2L + 6M2 + 4M1 + 2S	
粉红变种(富民)	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm(3,6)$	28	2.05	0	58.80	1B	2L + 4M2 + 6M1 + 2S	
粉红变种(小河)	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm(6)$	28	1.58	0	57.72	1A	6M2 + 8M1	

2.2 大花香水月季的核型

大花香水月季4个居群的染色体形态很相似,都是2倍体,核型公式均是 $2n = 2x = 14 = 12m + 2sm$,都是第6对染色体为近中着丝点,核型全为1A。居群间最长染色体的长度范围为17.03(江川)~19.88(石林),最短染色体的长度范围为10.92(石林)~12.80(小河);核不对称系数的范围为57.38(新平)~58.80(石林)。新平和江川居群的第1、2对为中长染色体,其他5对为中短染色体;小河居群的第1对为长染色体,其他全为中短染色体;石林居群的第1对染色体为长染色体,第2、3对为中长染色体,其他4对均为中短染色体(表2,图1-B1~B4、B1'~B4')。

2.3 桔黄香水月季的核型

桔黄香水月季是2倍体,核型公式为 $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$,核型为1A,第3、6对染色体是近中着丝点,其他均是中着丝点。染色体的相对长度范围为11.55~17.82,第1对染色体为长染色体(L),第2、3对为中长染色体,其他4对为中短染色体(表2,图1-C~C')。

2.4 粉红香水月季的核型

来自不同地方的粉红香水月季在染色体数量和

形态上有较大差异。木家桥和永春的粉红香水月季是3倍体,核型都是1A,核型公式分别为 $2n = 3x = 21 = 18m + 3sm$ 和 $2n = 3x = 21 = 21m$ 。虹桥、富民和小河的是2倍体,核型分别为 $2n = 2x = 14 = 12m + 2sm$ 、 $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ 和 $2n = 2x = 14 = 12m + 2sm$,其中富民的核型为1B,其他2个地方的核型为1A。木家桥的第6对染色体是近中着丝点,其他6对均是中着丝点;染色体的相对长度范围为12.49~16.44,第1、2、3对染色体是中长染色体,其他4对是中短染色体。永春的7对染色体全为中着丝点;染色体相对长度范围为10.61~18.51,第1对染色体是长染色体,第2、3对是中长染色体,第7对是短染色体(S),其他3对是中短染色体。虹桥的第3对染色体是近中着丝点,其他6对是中着丝点;染色体相对长度范围为10.11~18.45,第2、3、4对是中长染色体,第5、6对是中短染色体,第7对是短染色体。富民的第3、6对染色体是近中着丝点,其他染色体均为中着丝点;染色体相对长度范围为9.14~18.69,相对长度构成与虹桥的相同。富民的第6对染色体是近中着丝点,其他均是中着丝点;染色体相对长度范围为11.32~17.48,第1、2、3对属中长染色体,其他4对为中短染色体(表2,图1-D1~D5、D1'~D5')。

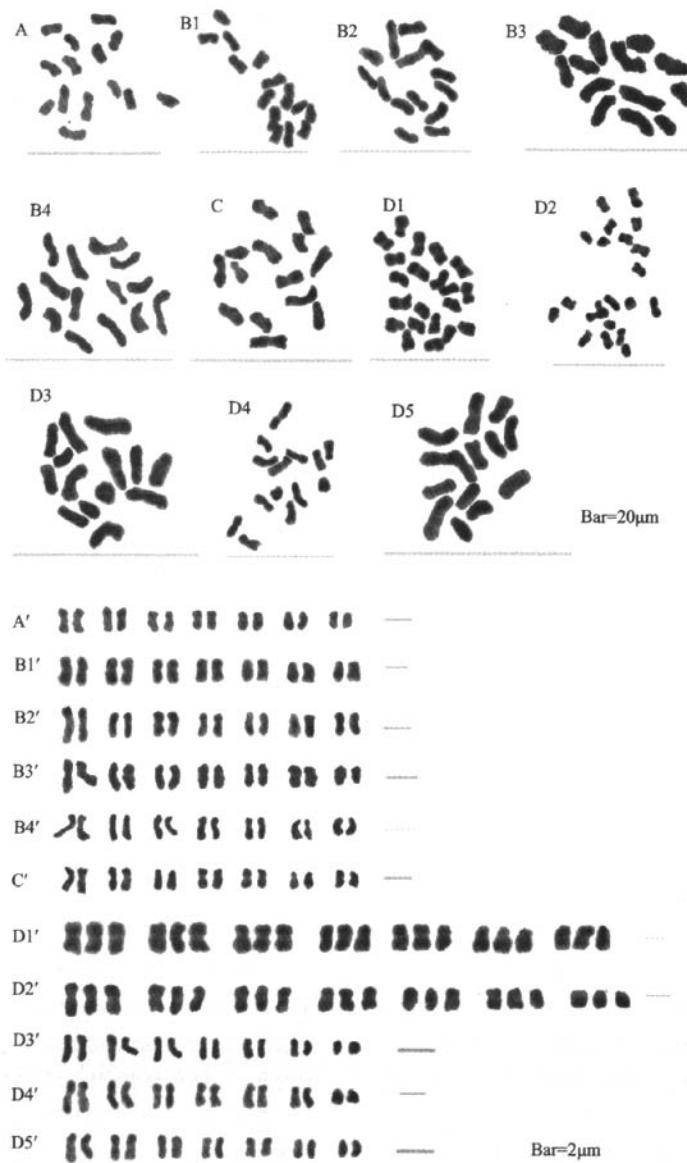


图1 香水月季4变种11个不同来源材料的中期染色体形态(A-D5)及核型(A'-D5')

Fig.1 Metaphase chromosomes (A-D5) and karyotype (A'-D5') of the 4 varieties from 11 origins of *R. odorata*

A,A':香水月季原变种(双龙);B1,B1':大花香水月季(新平);B2,B2':大花香水月季(小河);

B3,B3':大花香水月季(石林);B4,B4':大花香水月季(江川);C:桔黄香水月季(新主);

D1,D1':粉红香水月季(木家桥);D2,D2':粉红香水月季(永春);D3,D3':粉红香水月季(红桥);

D4,D4':粉红香水月季(富民);D5,D5':粉红香水月季(小河)

3 讨论

多倍化在许多种复合群的进化中起着非常重要的作用^[20-21],但在香水月季中,染色体的数目却比较稳定。原变种、大花变种4个居群、桔黄变种和来自3个不同地方的粉红变种都是2倍体。各变种及

不同来源的材料在染色体形态特别是长度构成和染色体组的最长染色体与最短染色体比值上等都存在一定差异,说明香水月季不同变种在细胞遗传上的分化主要是染色体结构上的变异。

香水月季不同变种的细胞遗传分化模式在大花变种的天然居群间表现得最显著。马燕等^[22]的研

究认为大花香水月季是3倍体,但Hurst^[23]和Fernández-Romero等^[12]都报道大花香水月季(巨花蔷薇)是2倍体。本研究发现大花香水月季天然居群都是2倍体而非3倍体,4个天然居群的染色体数量、核型和核型公式都相同,居群间的核不对称系数、染色体形态等也非常相似,但居群间最长染色体和最短染色体的比值以及染色体的相对长度组成的变化较大。本实验的结果表明这种表型变异除了环境的影响和基因位点的突变外,很可能是因为居群间在细胞水平上染色体结构发生变化所导致的。

本研究与陈瑞阳等^[24]和马燕等^[22]对来自昆明附近的香水月季的核型研究结果之间存在一定差异,这很可能是采样不同造成的。因为香水月季的原变种、大花变种和粉红变种在昆明附近都有分布且还有很多过渡类型,民间都通称为“香水月季”,而前人在研究中并没有明确变种材料及其详细来源。这种不同来源的材料在染色体核型上的差异再次表明香水月季这一重要的月季种质资源无论是在形态还是细胞水平都有丰富的遗传多样性。

在笔者开展的多次蔷薇野生资源调查中发现,香水月季的各个变种都已受到因生境破坏而造成各种威胁。其中香水月季原变种仅发现1个天然居群;桔黄香水月季只发现了1株多年的老植株且位于村庄的土路边,取枝条嫁接在昆明的资源圃中长势较差;粉红香水月季亦未发现完全野生的植株;大花香水月季的天然居群较多,但居群内部的个体数量都比较少,如梁王山仅发现3株成年大植株。因此,开展香水月季的资源调查收集与保存、遗传多样性和亲缘关系的研究已迫在眉睫。

香水月季不同变种与现代月季有着非常近的亲缘关系,杂交试验表明它们与多种野生资源杂交都可结实,特别是3倍体的粉红香水月季(虽然是3倍体,但自交的结实率很高)。因此,通过核型研究掌握它们的染色体数量和核型特征,这将促进其在月季新品种创制上的利用。一方面可直接将它们与同倍性的蔷薇野生资源进行杂交以获得既具有野生种质的优异基因又与现代品种亲缘关系接近的育种中间材料,另一方面也可直接或经加倍后与现代栽培品种进行杂交,从中选育新品种。Van等^[25]认为3倍体月季可以产生n和2n雌性或雄性配子,3倍体产生的2n花粉比n花粉更具竞争优势,因此3倍体的粉红香水月季也是一类非常重要的育种中间材料,可直接与2倍体的野生资源和4倍体的栽培品

种杂交,从中获得具有丰富染色体倍性和遗传多样性的杂交后代。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志第三十七卷[M].北京:科学出版社,1985:360-455
- [2] 中国科学院昆明植物研究所.云南植物志第十二卷[M].北京:科学出版社,2006:570-600
- [3] Fu L K. China plant red data book: rare and endangered plants [M]. Beijing: Science Press,1992:556-557
- [4] 白锦荣,张启翔,潘会堂.云南滇西北地区蔷薇属(*Rosa* L.)植物资源调查与评价[J].植物遗传资源学报,2009,10(2):218-223
- [5] Wylie A P. The history of garden roses[J]. Journal of the Royal Horticultural Society,1954:555-571
- [6] 张佐双,朱秀珍.中国月季[M].北京:中国林业出版社,2006
- [7] Wisseman V, Ritz C M. The genus *Rosa* (Rosoideae, Rosaceae) revised: molecular analysis of nrITS-1 and atp Brbc L intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy[J]. Botanical Journal of the Linnean Society,2005,147:275-290
- [8] Wisseman V, Ritz C M. Evolutionary patterns and processes in the genus *Rosa* (Rosaceae) and their implications for host-parasite co-evolution[J]. Plant System and Evolution,2007,266:79-89
- [9] 唐开学,邱显钦,张颖,等.云南蔷薇属部分种质资源的SSR遗传多样性研究[J].园艺学报,2008,35(8):1227-1232
- [10] 邱显钦,张颖,李树发,等.基于SSR分子标记分析云南月季种质资源亲缘关系[J].西北植物学报,2009,29(9):1764-1771
- [11] Ma Y, Islam-faridi M N, Crane C F, et al. In situ hybridization of ribosomal DNA to rose chromosomes[J]. Journal of Heredity,1997,88:158-161
- [12] Fernández-Romero M D, Torres A M, Millán T, et al. Physical mapping of ribosomal DNA on several species of the subgenus *Rosa*[J]. Theor Appl Genet,2001,103:835-838
- [13] 刘承源,王国良,谢秋兰,等.6种蔷薇的核形态学研究[J].江苏林业科技,2008,35(6):5-8
- [14] 李懋学,张费平.作物染色体及其研究技术[M].北京:中国农业出版社,1996:292-297
- [15] 李懋学,陈瑞阳.关于核型分析的标准化问题[J].武汉植物学研究,1985,3(4):297-302
- [16] Stebbins G L. Chromosomal and evolution in higher plants [M]. London: Edward Arnold,1971
- [17] Arano H. Cytological studies in subfamily *Carduoideae* (Compositae) of Japan [J]. Botanical Magazine of Tokyo,1963,76:32-39
- [18] Kuo S R, Wang T T, Huang T C. Karyotype analysis of some *Formosa* gymnosperms [J]. Taiwania,1972,17(1):66-80
- [19] 李懋学,张教方.植物染色体研究技术[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,1991
- [20] Grant V. Plant speciation [M]. New York: Columbia University Press,1981
- [21] Qiu J Z, Hong D Y. A biosystematic study on *Adenophora gmelinii* complex (Campanulaceae) [J]. Acta Phytotax Sin,1993,31(7):17-41
- [22] 马燕,陈俊榆.中国蔷薇属6个种的染色体研究[J].广西植物,1992,12(4):333-336
- [23] Hurst C C. Differential polyploidy in the genus *Rosa* L [C]//Verhandlungen des V. Internationalen Kongresses für Vererbungswissenschaft,1928:867-906
- [24] 陈瑞阳,宋文芹,李秀兰,等.中国主要经济植物基因组染色体图谱(Ⅲ)[M].北京:科学出版社,2003:702
- [25] Van Huylensbroeck J, Leus L, Van Bockstaele E. Interploidy crosses in roses: use of triploids[J]. Acta Hort,2005,690:109-112

香水月季(*Rosa odorata* Sweet)不同变种的染色体及核型分析

作者:

蹇洪英, 张颢, 张婷, 李树发, 王其刚, 晏慧君, 邱显钦, 唐开学, JIAN Hong-ying, ZHANG Hao, ZHANG Ting, LI Shu-fa, YAN Hui-jun, QIU Xian-qin, TANG Kai-xue

作者单位:

云南省农业科学院花卉研究所/云南省花卉育种重点实验室, 昆明, 650205

刊名:

植物遗传资源学报

[ISTC PKU]

JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES

年, 卷(期):

2010, 11 (4)

参考文献(25条)

1. Wisseman V;Ritz C M Evolutionary patterns and processes in the genus Rosa(Rosaceae) and their implications for host-parasite coevolution[外文期刊] 2007(1/2)
2. Wisseman V;Ritz C M The genus Rosa(Rosoideae, Rosaceae) revised:molecular analysis of nrITS-1 and atp Brbc L intergenic spacer(IGS) versus conventional taxonomy[外文期刊] 2005(3)
3. 张佐双;朱秀珍 中国月季 2006
4. 白锦荣;张启翔;潘会堂 云南滇西北地区蔷薇属(*Rosa* L)植物资源调查与评价[期刊论文]-植物遗传资源学报 2009(02)
5. Fu L K China plant red data book:rare and endangered plants 1992
6. 中国科学院昆明植物研究所 云南植物志 2006
7. 唐开学;邱显钦;张颢 云南蔷薇属部分种质资源的SSR遗传多样性研究[期刊论文]-园艺学报 2008(08)
8. Van Huylenbroeck J;Leus L;Van Bockstaele E Interploidy crosses in roses:use of triploids 2005
9. 陈瑞阳;宋文芹;李秀兰 中国主要经济植物基因组染色体图谱(III) 2003
10. Hurst C C Differential polyploidy in the genus rosa L 1928
11. 马燕;陈俊榆 中国蔷薇属6个种的染色体研究[期刊论文]-广西植物 1992(04)
12. Qiu J z;Hung D Y A biasytersatic study on Adenophora gmelinii complex(Campanulaceae) 1993(07)
13. Grant V Plant speciation 1981
14. 李懋学;张教方 植物染色体研究技术 1991
15. Kuo S R;Wang T T;Huang T C Karyotype analysis of some Formosa gymnosperms 1972(01)
16. Arano H Cytological studies in subfamily Carduoideae(Compositae)of Japan 1963
17. Stebbins G L Chromosomal and evolution in higher plants 1971
18. 李懋学;陈瑞阳 关于核型分析的标准化问题[期刊论文]-武汉植物学研究 1985(04)
19. 李懋学;张赞平 作物染色体及其研究技术 1996
20. 刘承源;王国良;谢秋兰 6种蔷薇的核形态学研究[期刊论文]-江苏林业科技 2008(06)
21. Fernández-Rosero M D;Torrea A M;Millan T Physical mapping of ribosomal DNA on several species of the subgenus Rosa[外文期刊] 2001(6/7)
22. Ma Y;Islam-faridi M N;Crane C F In situ hybridization of ribosomal DNA to rose chromosomes 1997
23. 邱显钦;张颢;李树发 基于SSR分子标记分析云南月季种质资源亲缘关系[期刊论文]-西北植物学报 2009(09)
24. Wylie A P The history of garden roses 1954
25. 《中国科学院中国植物志》编辑委员会 中国植物志 1985

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201004013.aspx