狗头枣染色体数目与核型分析

齐向英,李 宁,陈宗礼　(延安大学生命科学学院陕西省区域生物资源保育与利用工程技术研究中心,陕西延安 716000)

摘要　[目的]研究狗头枣的染色体数目与核型。[方法]以狗头枣幼嫩茎尖为试验材料,采用酶解去壁低渗法观察染色体,并作核型分析。[结果]狗头枣细胞经改良品红染色、压片后获得良好的有丝分裂相。[结论]狗头枣的染色数目为 $2n=24$,核型为 2B 型,核型公式为:$2n=2X=24=5\ m+5\ sm+2\ st$。

关键词　狗头枣;染色体;核型
中图分类号　S665.1　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　0517 - 6611(2008)26 - 11305 - 02

Chromosome Number and Karyotype Analysis of Chinese Date Goutouzao

QI Xiang-ying et al　(College of Life Sciences, Yan' an University, Shaanxi Engineering & Technological Research Center of Conversation & Utilization of Biological Resources, Yan' an, Shaanxi 716000)

Abstract　[Objective] The chromosome number and karyotype in Chinese date Goutouzao were studied. [Method] Taking the young shoot tips of Chinese date Goutouzao as the experimental materials, chromosome were observed by digestion of the cell wall with enzyme. [Result] The better mitotic phase was obtained after dyeing by improved stained magenta. [Conclusion] The chromosome number of Goutouzao was $2n=24$. Karyotype type was 2B, and karyotype formula was $2n=2X=24=5\ m+5\ sm+2\ st$.

Key words　Chinese date Goutouzao; Chromosome; Karyotype analysis

狗头枣是陕北特有的鲜食兼制干优良品种[1],但其地域性强,仅在陕西省延川县张家河一带表现出优良的生产性能。前人对狗头枣的研究主要集中在快繁育苗,解剖结构观察等方面[2-5],狗头枣细胞学研究相对滞后,至今未见报道。该研究目的在于确定狗头枣的染色体数目与核型,以期为狗头枣新品种选育及多倍体的育种提供细胞学依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试材料。试验材料采自陕西省红枣繁育工程重点实验室苗木品种园示范园。

1.1.2　试剂。秋水仙碱,无水乙醇,冰醋酸,氯化钾,改良苯酚品红染液,盐酸。

1.1.3　仪器。OLYMPUS BX41 PM10 全自动显微照相系统。

1.2 方法

1.2.1　染色体制片方法。于茎生长旺盛的 5 月份,8:00 ~ 9:00剪取幼茎,蒸馏水冲洗干净,并用滤纸吸干水分,经过浓度0.02%秋水仙碱预前处理 4 h,转入卡洛氏固定液(无水乙醇:冰醋酸体积比为 3:1)中固定 12 h,再用蒸馏水泡洗 3 ~ 5 次,然后用吸水滤纸吸干多余水分,在浓度 0.075 mol/L 氯化钾溶液中低渗 30 min,用浓度 0.25% 果胶酶:0.25% 纤维素酶为 1:1 的混合酶液处理 4 h,倒掉酶液,重新加入浓度 0.075 mol/L 氯化钾溶液低渗 30 min,用镊子夹取组织块,放入盛有改良苯酚品红染液的染色缸中整体染色 2 h,压片,镜检,用 PM10 捕捉图像。

1.2.2　染色体数目确定与核型分析方法。染色体数目统计:随机观察 60 个中期分裂相细胞,分别对染色体数目进行统计,并统计含有不同染色体数目的细胞数,计算其在观察细胞的总数中的百分比和 95% 置信区间。

核型分析按照文献[6]方法进行:冲洗 5 张放大的照片,剪下染色体测量长度,并进行同源染色体配对。染色体形态测量公式:

染色体总长度 = 单细胞全部染色体长度之和　(1)

相对长度 = (每一个染色体长度/总染色体长度) × 100%　(2)

相对长度系数 = 染色体长度/全组染色体平均长度　(3)

着丝粒指数 = 短臂/染色体全长 × 100%　(4)

臂比 = 长臂(q)/短臂(p)　(5)

核型不对称系数(As. K%) = 长臂总长/全组染色体总长 100%　(6)

2　结果与分析

2.1　染色体数目　通过对 60 个细胞分裂相的观察,得出结果见表 1。其中含 24 条染色体的细胞共计 50 个,占观察细胞总数的 83.33%。95% 置信区间在 78.5% ~ 88.2%。大于 24 条染色体的细胞共计 10 个,占观察细胞总数的 16.66%。其中有 8 个细胞中含有 25 条染色体,占观察总数的13.33%,2 个细胞含 29 条染色体,占观察总数的 3.33%。

表 1　狗头枣染色体数目及置信区间

Table 1　Confidence interval and chromosome number in Chinese date Goutouzao

细胞个数 Number of cells	染色体数目 Chromosome number	所占比例//% Proportion	95% 置信区间 95% confidence interval
50	24	83.33	78.5 ~ 88.20
8	25	13.33	8.9 ~ 17.72
2	26	3.33	1.01 ~ 5.65

2.2　狗头枣染色体长度与核型　狗头枣 12 对染色体的长度变化范围在 0.651 6 ~ 1.422 2 μm(见表 2),全组染色体总长度是 10.945 8 μm,平均长度为 0.912 3 μm,最长染色体与最短染色体之比为 1.846 8,臂比变异范围为 4.403 5 ~ 1.081 2,臂比大于 2:1 的染色体有 6、10、11 3 组,占全组染色体的 25%,按 Stebbins 的核型不对称标准,属于 2B 型。核型不对称系数为 64.54%。配对的 12 组染色体中,有 5 组为中部着丝粒染色体,即第 2、7、8、9、12 组;有 5 组为近中部着丝粒染色体,即第 1、3、4、5、11 组。有 2 组染色体为近端部着丝

基金项目　陕西省重大科技攻关项目(2006KZ05-G4)。
作者简介　齐向英(1980 -),男,陕西宝鸡人,助教,从事植物生物技术方面的研究。
收稿日期　2008-06-13

粒染色体,即第6、10组。因此,狗头枣的染色体核型公式为 $2n=2X=24=5m+5sm+2st$。核型图及核型模式图见图1、图2。

表2 狗头枣染色体相对长度、臂比与类型

Table 2 Relative length, arm ratio and type of chromosome in Chinese date Goutouzao

序号 No.	相对长度(短臂+长臂=全长)//% Relative length	相对长度系数 Relative length coefficient	着丝粒指数//% Centromere index	臂比(长/短) Arm ratio(Long/short)	类型 Type
1	0.500 7+0.921 5=1.422 2	12.993 1	35.21	1.840 4	sm
2	0.431 2+0.665 5=1.096 7	10.019 4	39.32	1.543 4	m
3	0.356 6+0.665 8=1.022 4	9.340 6	34.87	1.867 1	sm
4	0.350 6+0.665 3=1.015 9	9.281 2	34.51	1.897 6	sm
5	0.300 3+0.590 0=0.890 3	8.133 7	33.73	1.964 7	sm
6	0.207 5+0.663 9=0.871 4	7.961 0	23.81	3.199 5	st
7	0.401 5+0.434 1=0.835 6	7.634 0	48.04	1.081 2	m
8	0.385 0+0.433 0=0.818 0	7.473 2	88.91	1.124 7	m
9	0.311 2+0.504 9=0.816 1	7.455 8	38.13	1.622 4	m
10	0.142 5+0.627 5=0.770 0	7.034 7	22.71	4.403 5	st
11	0.210 3+0.525 3=0.735 6	6.720 4	28.59	2.497 9	sm
12	0.280 7+0.370 9=0.651 6	5.953 0	43.08	1.321 3	m

图1 狗头枣染色体及核型图

Fig.1 Chromosome and karyotype of Chinese date Goutouzao

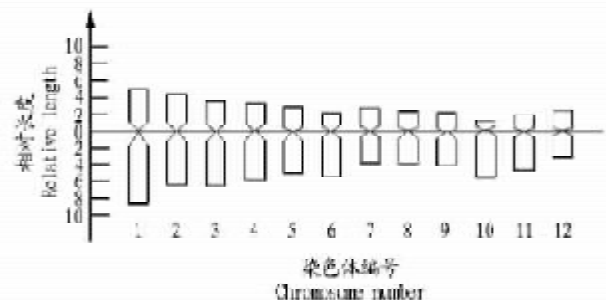

图2 狗头枣染色体核型模式图

Fig.2 Karyotype pattern of chromosome in Chinese date Goutouzao

3 讨论

3.1 染色体数目 染色体是基因的载体,它控制遗传和变异,每一种生物的染色体数目都是稳定的。对枣树染色体研究在国内较早的学者有石荫坪等,他们报道了金丝小枣的染色体数目和染色体基数[7]。曲泽洲等对我国境内分布的111个枣树品种做了染色体数目的鉴定,发现除"赞皇大枣"为三倍体($2n=3X=36$),其余均为二倍体($2n=2X=24$),在其所研究的枣树品种中包括在陕西分布的晋枣等7个品种,但未见狗头枣染色体数目的报道[8]。该研究通过对60个细胞分裂相观察得到,含24条染色体的细胞数为50个,占总观察细胞数的83.33%。陈瑞阳等确定物种染色体数目时建议最少统计30个细胞,其中85%以上的细胞具有恒定一致的染色体数[6]。该研究的百分比数据与他们的建议数据十分接近,而且研究中染色体数目为24条的细胞数占总观察细胞数的95%的置信区间在78.5%~88.2%。所以认为狗头枣染色体是24条。

3.2 染色体大小 枣的染色体长度较小,属于小染色体(1~4 μm)。狗头枣的染色体也在这一范围内[9]。全组染色体总长度只有10.945 8 μm,最长染色体仅有1.422 2 μm。其长度均小于彭建营等[10]观察的赞皇大枣和王震星等[11]观察的金丝小枣试管苗,但相对长度差别不大。

3.3 核型 核型是指染色体组在有丝分裂中期的表型,是染色体数目、大小、形态特征的总和。在对染色体进行测量计算的基础上,进行分组、排队、配对,并进行形态分析的过程叫核型分析。枣树的核型分析文献资料不多。曲泽洲等对栽培的襄汾圆枣和刺酸枣的研究结果表明,按Stebbins的核型不对称标准二者均属于3A类型[8]。陈永利对1个酸枣类型和金丝小枣栽培的研究表明,二者都属于2A类型[12]。彭建营等对赞皇大枣不同株系的染色体数核型分析进行分析,结果表明42个株系的核型分别属于2A、2B类型[10]。该研究得到的狗头枣核型属于2B类型。

参考文献

[1] 曲泽周,王永蕙.中国果树志.枣卷[M].北京:中国林业出版社1993:449.
[2] 陈宗礼,延志莲,齐龙,等.砂糖对狗头枣茎段培养的影响[J].延安大学学报:自然科学版,1996,15(4):50-52.
[3] 陈宗礼,延志莲,齐龙,等.狗头枣组培苗试管内生根的研究[J].延安大学学报:自然科学版,1996,15(4):40-45.
[4] 曹娟云,刘世鹏,白重炎,等.干旱胁迫条件下狗头枣叶片解剖学结构比较研究[J].安徽农业科学,2008,36(8):3310-3311.
[5] 齐向英,陈宗礼,张向前,等.三种组培枣树气孔研究初报[J].福建林业科技,2006,33(3):158-160.
[6] 陈瑞阳,李懋学.关于植物核型分析的标准化问题[J].武汉植物学研究,1985(4):297-302.
[7] 石荫坪,王强生.金丝小枣细胞学研究[J].中国果树,1981(4):7-11.
[8] 曲泽洲,王永德,吕增仁,等.枣和酸枣的染色体数目研究[J].园艺学报,1986,11(4):232-236.
[9] 李懋学.植物染色体的大小变异和进化[J].生物学通报,1985(5):14.
[10] 彭建营,刘平,周俊义,等.赞皇大枣不同株系的染色体数及其核型分析[J].园艺学报,2005,32(5):798-801.
[11] 王震星,刘贵仁.金丝小枣组培快繁试管苗核型的研究[J].天津农业科学,1997(3):14-15.
[12] 陈永利.酸枣与金丝小枣的核型研究[J].中国果树,1988(1):37-38.