

15种榛子种质的染色体核型分析

郭媛媛，邢世岩^{*}，马颖敏，唐海霞，韩克杰

(山东农业大学林学院，山东泰安 271018)

摘要：采用普通压片法，以榛子叶芽为试材对其 15个种质资源的核型进行了研究，结果表明榛子各 种质染色体均为二倍体；核型可分为 3种类型： $2n = 2x = 22 = 22m$ 、 $2n = 2x = 22 = 20m + 2sm$ 和 $2n = 2x = 22 = 16m + 6sm$ ；没有发现随体；所有种质染色体绝对长度平均值为 1.50 μm，属小染色体；除欧榛和 7# 为 1A 型，B-23 为 2B 型外，其余种质皆为 1B 型。种质间核型具有很大的相似性。

关键词：榛子；种质；染色体；二倍体；核型

中图分类号：S 664.4 文献标识码：A 文章编号：0513-353X (2009) 01-0027-06

Analysis of Karyotype on Fifteen Hazelnut Germplasms

GUO Yuan-yuan, XNG Shi-yan^{*}, MA Ying-min, TANG Hai-xia, and HAN Ke-jie
(Forestry College, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: The karyotype of fifteen hazelnut germplasms was studied by method of squash with the young leaves. The results showed that all the chromosomes were diploid; The karyotypes were divided into three types, i.e. $2n = 2x = 22 = 22m$ type, $2n = 2x = 22 = 20m + 2sm$ type and $2n = 2x = 22 = 16m + 6sm$ type. There was no satellites found in the morphological observation of chromosomes; The average of chromosome absolute length on fifteen hazelnut germplasms was 1.50 μm, so it was small in size; The karyotype of the fifteen hazelnut germplasms all belonged to 1B type except that of *Corylus avellana L.* and 7# which were 1A type and B-23 which was 2B type, respectively. There was great similarity of karyotype among the germplasms.

Key words: hazelnut; germplasm; chromosome; diploid; karyotype

榛子为桦木科 (Betulaceae) 榛属 (*Corylus L.*) 植物 (郑万钧, 1998)，其代表种主要有欧榛 (*C. avellana L.*) 和平榛 (*C. heterophylla Fisch.*)。榛子具有重要的营养价值、药用价值和生态价值，综合效益很高。

1929年 Woodworth 报道榛属的各种和种间杂种染色体数为 28条。Jaretsky (1930) 认为除了个别异常形态外，所有的榛属树种染色体均为 22条。陈瑞阳 (1993) 利用去壁低渗法对平榛进行了染色体的核型分析，确认其染色体数为 22条，给出核型公式，同时发现一对大随体。平欧杂种榛在中国育成 (梁维坚和董德芬, 2002) 后，杨青珍 (2004) 曾从形态学、孢粉学和同工酶等方面研究了杂交榛的亲缘关系，冯斌等 (2007) 进行了榛子种质资源遗传多样性的 RAPD 分析。目前在国内外尚没有开展欧榛、平榛、种间杂种榛及平榛半同胞家系细胞学的研究。

作者以平榛、欧榛及 13个种间杂种榛为试材，研究了不同种质的染色体形态、倍性、数目、核型特性，以期为进一步杂交育种亲本的选择及杂种后代的预选提供理论依据。

收稿日期：2008-07-26；修回日期：2008-11-03

基金项目：山东省教委基金项目 (J05K03)；山东农业大学博士基金项目 (ND200208)

* 通讯作者 Author for correspondence (Email: xingsy@sdau.edu.cn)

1 材料与方法

材料取自山东农业大学榛子种质资源库，共计 15个种质（表 1）。

表 1 15种榛子种质的来源

Table 1 Sources on fifteen hazelnut germplasms

种质名称 Germplasm	来源地 Source	种质名称 Germplasm	来源地 Source
欧榛 <i>C. avellana</i> L.	泰安 Tai'an	85-41	大连 Dalian
平榛 <i>C. heterophylla</i> Fisch	泰安 Tai'an	7#	泰安 Tai'an
81-23	大连 Dalian	H ₂	泰安 Tai'an
82-11	大连 Dalian	H ₄	泰安 Tai'an
84-226	大连 Dalian	B-21	大连 Dalian
84-254	大连 Dalian	B-23	大连 Dalian
84-263	大连 Dalian	B-3	大连 Dalian
84-545	大连 Dalian		

注：除欧榛和平榛外，其它种质均为平榛×欧榛杂交种。

Note: Except *C. avellana* L. and *C. heterophylla* Fisch, the others are hybrids between *C. heterophylla* Fisch and *C. avellana* L.

自 2007年 3月，榛子叶芽膨大但尚未展叶时，采集嫩叶置于饱和对二氯苯溶液预处理 2 h，卡诺固定液固定 4~24 h后于 1 mol·L⁻¹ HCl解离 10 min，改良卡宝品红染色，Nikon E200光学显微镜 10 ×40、10 ×100倍数下观察染色体分裂中期状况，每个材料至少观察 30个细胞，选择染色体分散较好的照相。每个种质以 5个细胞的各项指标数得出核型的数值。核型分析采用 Levan等（1964）两点四区系统法，核型分类依据 Stebbins（1971）的对称性标准，同时参照李懋学和陈瑞阳（1985）的核型分析标准。

通过主成分分析，并采用 $D_{ij}^2 = \sum_{k=1}^p (G_{ik} - G_{jk})^2$ 公式计算种质间遗传距离。式中 G_{ik} 和 G_{jk} 分别表示种质 i 和 j 第 k 个性状的标准化基因型值。对 D_{ij}^2 采用 SAS程序进行 Q型聚类。

2 结果与分析

2.1 染色体数及倍性观察

经观察发现，平榛、欧榛及 13个种间杂种榛的染色体没有非整倍及加倍现象（图 1），染色体数为 2n=2x=22，核型公式如表 2所示。

2.2 核型分析

15种榛子的核型比较如表 2所示。15个种质染色体平均长度为 1.50 μm，变异系数（CV）为 28.61%。81-23为最短染色体，长度为 0.79 μm；B-23最长，为 3.76 μm。同一种质间染色体长度差异亦不大，除B-23为 2.26 μm外，其余集中在 0.96~1.27 μm之间。根据 Lima-Dei-Farra的“染色体场”（Chromosome field）理论（岳爱琴 等，2001），榛子染色体属小染色体。

15个种质中，B-21的染色体相对长度最短，为 5.70%，B-23最长，为 15.18%，CV为 23.02%。相对长度的变化以 B-23为最大；除种质欧榛与 7#的染色体最长 最短小于 2之外，其余种质的染色体最长/最短均在 2~3之间。但各种质 11对染色体中除 B-23的第 8对和第 10对染色体臂比大于 2.0 外，其余各种质各对染色体臂比均小于 2.0。

在所有种质中，84-226为具 3对近中部着丝粒染色体，H₄与 B-21为具 1对近中部着丝粒染色体外，其余的皆为中部着丝点染色体。15个种质核型不对称系数比较集中，分布在 56.08%~61.47% 之间。按照 Stebbins（1971）的核型分类标准，15个种质的核型可以分为 3类：2n=2x=22=22m、2n=2x=22=20m+2sm 和 2n=2x=22=16m+6sm，具体如表 2所示。同时可知 E、7#为 1A型，B-23为 2B型，其余全为 1B型（表 2）。

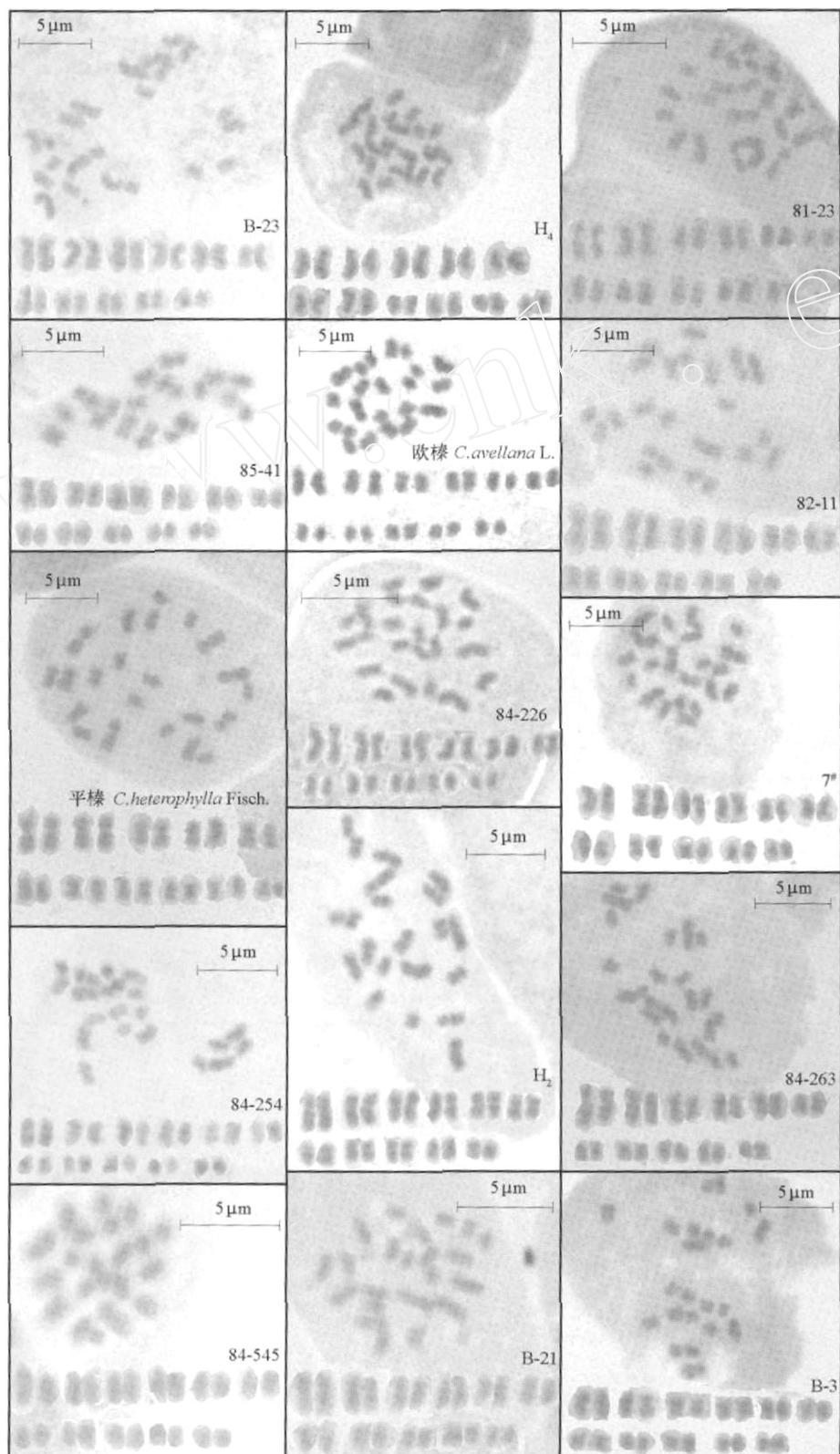


图 1 15 种榛子种质核型图

Fig. 1 The photo of karyotypes and katyograms of fifteen *Corylus L.* germplasms

表 2 15种榛子种质核型比较

Table 2 Comparison of karyotypes in fifteen Hazelnut germplasms

种质 Germplasm	核型公式 Formula of karyotypes	相对长度变幅 /% Range of relative length	最长染色体 /μm Longest chromosome	最短染色体 /μm Shortest chromosome	最长 /最短 L/S	核型分类 Classification of karyotypes
欧榛 <i>C. avellana</i> L.	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.43 ~ 12.56	2.01	1.03	1.96	1A
平榛 <i>C. heterophylla</i> Fisch	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.16 ~ 13.54	2.29	1.04	2.21	1B
81-23	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.12 ~ 14.14	1.83	0.79	2.29	1B
82-11	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.26 ~ 13.35	2.40	1.13	2.13	1B
84-226	$2n = 2x = 22 = 16m + 6sm$	6.26 ~ 13.72	2.08	0.95	2.19	1B
84-254	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.26 ~ 13.76	1.95	0.89	2.20	1B
84-263	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.37 ~ 13.42	2.72	1.08	2.10	1B
84-545	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.04 ~ 12.99	2.07	0.96	2.18	1B
85-41	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.30 ~ 12.95	1.90	0.92	2.06	1B
7 [#]	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.83 ~ 12.79	2.05	1.10	1.87	1A
H ₂	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.27 ~ 12.85	2.17	1.06	2.06	1B
H ₄	$2n = 2x = 22 = 20m + 2sm$	6.32 ~ 12.73	1.96	0.98	2.05	1B
B-21	$2n = 2x = 22 = 20m + 2sm$	5.70 ~ 13.46	2.49	1.05	2.35	1B
B-23	$2n = 2x = 22 = 16m + 6sm$	6.06 ~ 15.18	3.76	1.50	2.52	2B
B-3	$2n = 2x = 22 = 22m$	6.10 ~ 13.78	2.03	0.90	2.25	1B

2.3 核型指标的邓肯氏检验

对榛子各种质的 15个细胞核型指标进行邓肯氏检验，结果如表 3所示。

84-226核型不对称系数和臂比分别为 60.33% 和 1.536, 而平榛分别为 56.00% 和 1.28, 其余各品种差异不大；B-23最长与最短的比值为 2.52, 而 7[#]仅为 1.87; B-23绝对长度平均值为 1.85 μm, 81-23为 1.17 μm; 其余品种差别不大。

表 3 15种榛子种质核型指标邓肯氏检验

Table 3 The Duncan's test of karyotypes in fifteen hazelnut germplasms

种质 Germplasm	核型不对称系数 /% As. K. C	臂比 AR	最长 /最短 L/S	绝对长度 /μm AL
平榛 <i>C. heterophylla</i> Fisch	56.00C	1.28 C	2.21 ABC	1.53 ABCD
欧榛 <i>C. avellana</i> L.	57.55 ABC	1.34 BC	1.96 BC	1.45 BCDE
81-23	56.24 BC	1.32 BC	2.29 ABC	1.17 E
82-11	59.36 AB	1.46 AB	2.13 ABC	1.63 ABC
84-226	60.33 A	1.53 A	2.19 ABC	1.38 BCDE
84-254	56.80 BC	1.31 BC	2.20 ABC	1.28 DE
84-263	59.40 AB	1.46 AB	2.10 ABC	1.53 ABCD
84-545	57.50 ABC	1.37 ABC	2.18 ABC	1.44 BCDE
85-41	57.00 BC	1.33 BC	2.06 ABC	1.33 CDE
7 [#]	57.50 ABC	1.36 ABC	1.87 C	1.45 BCDE
H ₂	57.40 ABC	1.34 BC	2.06 ABC	1.53 ABCD
H ₄	58.00 ABC	1.40 ABC	2.05 BC	1.4 BCDE
B-21	57.50 ABC	1.34 BC	2.35 AB	1.67 AB
B-23	58.61 ABC	1.42 ABC	2.52 A	1.85 A
B-3	58.80 ABC	1.42 ABC	2.25 ABC	1.34 CDE

2.4 聚类分析结果

利用 SAS 软件对 15 个榛子种质核型不对称系数、臂比、最长/最短和绝对长度等 4 个指标进行聚类分析, 结果(图 2)表明, 当阈值取 1.0 时, 可将 15 个种质分为 3 类: 第 I 类包括 82-11、84-263、84-226, 第 II 类只有 B-23, 其余种质划为第 III 类。划为同一类的种质染色体的形态特征相似性大。

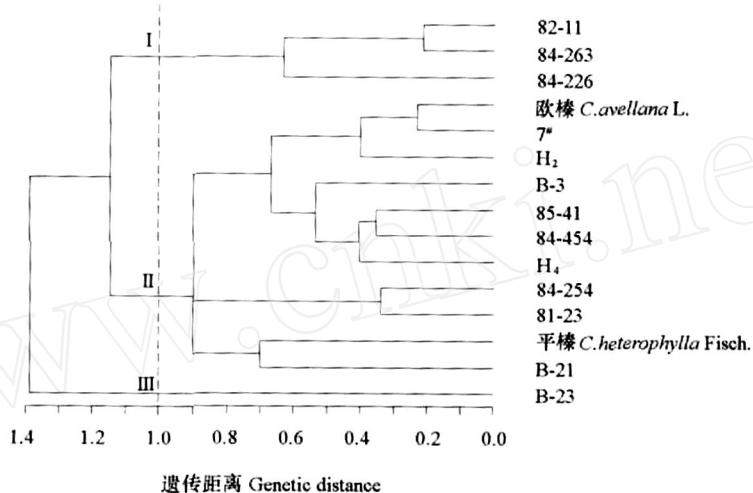


图 2 15 种榛子种质聚类分析结果

Fig. 2 The results of Q-cluster analysis in fifth hazelnut germplasm

由聚类结果(表 4)可知, 第 I 类 82-11、84-263、84-226 的 As. K. C 值和 AR 值最大。第 II 类的 B-23 这一品种的 L/S 值和 AL 值分别为 2.5240 和 1.8540 μm 。第 III 类种质 As. K. C 值为 57.4227%, AR 值为 1.3545。

表 4 榛子种质距离聚类分析

Table 4 The results of Q-cluster in hazelnut germplasm

种类 Class	品种数 Number of cultivars	核型不对称系数 /% As. K. C	臂比 AR	最长/最短 L/S	绝对长度 / μm AL
3	59.7000 (0.92809)	1.4873 (2.2560)	2.1430 (2.1670)	1.5160 (8.3945)	
11	57.4227 (1.4551)	1.3545 (3.2722)	2.1486 (6.6938)	1.4397 (9.6481)	
1	58.6180	1.4280	2.5240	1.8540	

注: 括号内数值为变异系数 (%)。

Note: CV (%) in brackets

3 讨论

榛子染色体均为二倍体, 目前还没有发现多倍体与非整倍体现象。孟爱平等(2004)认为桦木科染色体基数有两种: 其一为 $x=14$, 有桤木属(*Alnus* Mill.)、桦木属(*Betula* L.)、榛属(*Corylus* L.); 鹅耳枥属、铁木属、虎榛子属(*Ostryopsis* Decne.)为 $x=8$ 。本试验中欧榛、平榛及各种间杂种榛染色体均为 22 条, 这与陈瑞阳(1993)报道的平榛数一致。这样看来, 桦木科染色体基数应有 3 种。

本研究中得出平榛核型为 $2n=2x=22m$, 并未发现大随体, 这与陈瑞阳(1993)报道的平榛核型公式 $2n=2x=22=2M+18m+2sm$ (2SAT) 不符, 有待于进一步探讨。

榛子染色体属于小染色体。这类染色体已具有正常的着丝点和端粒, 不过由于两者相距太近, 其

基因调动的自由度非常小，相邻基因有着很强的相互影响，其染色体场是严格的，由此决定了其遗传性状的稳定性。壳斗科各属种间种质亦是小染色体，种质间核型差异很小（王妍，2003）。本试验所用的试材为平榛与欧榛的杂交品种，核型同样具有相似性，但是差异也是明显存在的。种质核型间的相似性充分说明了榛子种质遗传性状的稳定性。

References

- Chen Rui-yang. 1993. Chromosome atlas of major economic plants genome in China I Chromosome atlas of fruit trees and its wild closely related plants in China. Beijing: International Academic Publishers: 341 - 342. (in Chinese)
- 陈瑞阳. 1993. 中国主要经济植物染色体图谱. 第一册：中国果树及其野生近缘植物染色体图谱. 北京：万国学术出版社：341 - 342.
- Danielsson B. 1946. Polyploid types of hazel. Sveriges Pom Foren Arsskrift, 46: 116 - 122. (in Swedish)
- Feng Bin, Zhang Xi-chuo, Xie Ming, Zhang Kai-chu. 2007. Analysis of genetic diversity in *Corylus* by RAPD markers. Journal of Liaoning Normal University: Natural Science Edition, 30 (2): 216 - 219. (in Chinese)
- 冯斌, 张希踔, 解明, 张开春. 2007. 榛子种质资源遗传多样性的 RAPD 分析. 辽宁师范大学学报: 自然科学版, 30 (2): 216 - 219.
- Jaretzky R. 1930. On the cytology of the Fagales. Planta, 10 (1): 120 - 137. (in German)
- Kuo S R, Wang T T, Huang T C. 1972. Karyotype analysis of some formosan gymnosperms. Taiwania, 17 (1): 66 - 80.
- Levan A, Fredgak, Sandberg A A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201 - 220.
- Liang Weijian, Dong De-fen. 2002. Breeding and cultivation of the big fruits hazel. Beijing: Chinese Forestry Press. (in Chinese)
- 梁维坚, 董德芬. 2002. 大果榛子育种与栽培. 北京: 中国林业出版社.
- Li Mao-xue, Chen Rui-yang. 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants. Journal of Wuhan Botanical Research, 3 (4): 297 - 302. (in Chinese)
- 李懋学, 陈瑞阳. 1985. 关于植物核型分析的标准化问题. 武汉植物学研究, 3 (4): 297 - 302.
- Meng Ai-ping, He Zi-can, Li Jian-qiang, Xu Li-ming. 2004. Chromosome numbers of two threatened species of Betulaceae. Journal of Wuhan Botanical Research, 22 (2): 171 - 173. (in Chinese)
- 孟爱平, 何子灿, 李建强, 徐立铭. 2004. 桤木科两种濒危植物的染色体数目. 武汉植物学研究, 22 (2): 171 - 173.
- Stebbins G L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold Ltd: 87 - 123.
- Wang Yan. 2003. Analysing karyotype and inter-relationship of Fagaceae in Fujian [M. D. Dissertation]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
- 王妍. 2003. 福建壳斗科植物核型及亲缘关系分析 [硕士论文]. 福州: 福建农林大学.
- Xing Shi-yan, Gao Jin-hong, Jiang Yue-zhong, Li Shimei, Li Bao-jin, Wang Li. 2007. Karyotype evolution trend in *Ginkgo biloba* special germplasms. Scientia Silvae Sinicae, 43 (1): 21 - 27. (in Chinese)
- 邢世岩, 高进红, 姜岳忠, 李士美, 李保进, 王利. 2007. 银杏特异种质核型进化趋势. 林业科学, 43 (1): 21 - 27.
- Yang Qing-zhen. 2004. The genetic polymorphisms and genetic relationship analysis of *Corylus heterophylla* Fisch., *Corylus avellana* L. and inter-specific hybrid cultivars or lines [M. D. Dissertation]. Taigu: Shanxi Agricultural University: 7 - 34. (in Chinese)
- 杨青珍. 2004. 平榛、欧榛及种间杂种榛品种(系)的遗传多态性及亲缘关系分析 [硕士论文]. 太谷: 山西农业大学: 7 - 34.
- Yue Ai-qin, Li Gui-quan, Du Wei-jun, Kong Zhao-sheng. 2001. Study on the karyotype analysis method of three chromosome types in *Leguminosae* plants. Journal of Shanxi Agricultural University, 21 (2): 118 - 121. (in Chinese)
- 岳爱琴, 李贵全, 杜维俊, 孔照胜. 2001. 豆类植物三种类型染色体核型分析方法研究. 山西农业大学学报, 21 (2): 118 - 121.
- Zheng Wan-jun. 1998. Records of Chinese trees. Beijing: Chinese Forestry Press. (in Chinese)
- 郑万钧. 1998. 中国树木志. 北京: 中国林业出版社.