

雪松雌雄株的核型分析

尹海燕, 丰震, 莫镇华, 孙庆春, 杨科家, 朱红梅

(山东农业大学 林学院, 山东 泰安 271018)

摘 要:采集新梢茎尖, 采用常规压片法对雪松雌株、雄株处于有丝分裂中期细胞的染色体进行观察并做核型分析, 旨在了解雪松雌、雄株分化的细胞学依据。结果表明: 雪松雌株、雄株染色体数目均为 24, 染色体长度、平均臂比、核型不对称系数差异不大, 核型不对称类型均为 1A 型, 但在随体数目上存在一定差异, 雌株染色体 1、2、9 对均存在随体, 而雄株在 1、2 对染色体上均有随体, 第 9 对染色体仅有 1 条有随体。这对研究雪松雌株与雄株的分化机理具有重要的价值。

关键词:雪松; 染色体; 核型; 雌株; 雄株; 性别

中图分类号:S 791.21 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)05-0179-04

雪松[*Cedrus deodara* (Roxb.) G. Don] 为松科 (Pinaceae) 雪松属 (*Cedrus* Trew)。我国引种雪松始于 20 世纪初, 目前旅顺、大连以南, 特别是长江中、下游各大城市已普遍栽培作为庭园观赏树、风景树和行道树, 南京市已用于造林。

松科植物大多数为雌雄同株, 雪松为雌雄异株, 稀同株。据在南京观察近 95% 的雪松植株为雌雄异株, 大约只有 5% 的植株为雌雄同株^[1]。因此, 雪松是研究松科性别分化机理的好材料。雪松是重要的城市绿化树种, 但雪松雄株花粉量大, 撒粉期不仅污染城市环境, 还使人过敏^[3], 并且雪松 20~30 a 才开花, 因此雪松性别早期鉴定具有重要的理论意义和实践价值。近年来, 植物性别分化研究取得了较大进展^[4], 为研究雪松具备了一定的基础条件。该试验做了雪松雌株、雄株的核型比较分析, 以研究雪松雌雄株分化在细胞学水平上的差异, 并结合前人对雪松属不同种间的核型分析, 来分析雪松雌株与雄株之间的核型差异性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自山东省泰安市, 树龄均在 20 a 以上, 均达到开花年龄。试验前对泰城内已达到开花年龄的雪松进行性别调查, 选择 10 株雌、雄明显者进行试验, 其中包括 5 株雄株, 5 株雌株。

第一作者简介: 尹海燕 (1981-), 女, 在读硕士, 研究方向为园林植物观赏园艺学。E-mail: yinhaiyan0419@163.com。

通讯作者: 丰震 (1961-), 男, 教授, 现从事园林植物遗传育种教学与研究工作。E-mail: fengzn408@126.com。

基金项目: 山东省农业良种工程资助项目 (鲁科农字[2005] 99 号)。

收稿日期: 2008-12-17

1.2 试验方法

在 8~11 月期间, 选择早晨 9~11 时晴朗的天气, 采集新梢茎尖, 用镊子取下茎尖立即放入配好的饱和对二氯苯溶液中, 于室温下活体预处理 16 h, 水洗 3 次, 用卡诺固定液固定 2~24 h, 经各级乙醇转入蒸馏水中, 用 1 N HCl 于室温下酸解 30 min, 后用自来水冲洗干净备用。试验中将酸解好的茎尖用镊子置于载玻片中央, 用解剖针挑取茎尖生长椎部位, 用改良卡宝品红染色 20~30 min, 加盖盖玻片压片。用 NIKON E200 数码摄影显微镜对处于分裂中期且分散良好的染色体照相。每个性别株观察 50 个细胞, 选取 5 个染色体分散度较好细胞的照片, 采用李懋学和陈瑞阳的标准^[5], 用 Photoshop 软件优化图片, 用 CAD 软件测量染色体各参数, 并将染色体配对, 进行核型分析, 其中染色体类型按 Leavan 等方法^[6]划分, 核型类型根据 Stehbins 的分类标准^[7]划分, 核型不对称系数 (A s. K. c) 采用 Arano^[8]计算方法。

2 结果与分析

2.1 雪松雌株、雄株染色体数目相同

雪松的雌株和雄株体细胞染色体数皆为 24 (表 1), 未见染色体非整倍性和多倍性变异现象, 也未见 B 染色体。Mehra 和 Khoshoo^[9]首次以雪松的雌配子体为材料、邓辉胜^[10]以小孢子叶球为材料的研究均表明雪松的性细胞染色体数为 $n=12$ 。该研究以茎尖为材料的研究结果与李林初^[11]取长至 2 cm 左右的发芽种子的胚根为材料、Hizume^[12]以幼苗根尖为材料的研究结果相同。

2.2 雌株、雄株雪松染色体形态分析

观测数据统计分析得出雪松雌株、雄株染色体都是由中部 (m)、近中部 (sm) 着丝粒染色体组成, 没有近端部 (st) 着丝粒类型的染色体存在 (表 1)。核型公式皆为 $K(2n)=24=18m+6sm$, 其中 10、11、12 对染色体具有近中部着丝粒, 其余为中部着丝粒染色体。差 (d) 与着丝

点指数*G*)在染色体上的差异也存在 10、11、12 对(表 1)。这与 Hizume^[12] 以雪松幼苗根尖为材料进行的核型分析所得结论一致。染色体长度差异不大,其中雄株 1.839,雌株 1.798。臂比>2 的染色体为 0,臂比均小于 2,核型

类型均为 1A 类型(表 2)。其中核型不对称系数(*A.s.K.c*),雄株 0.570,雌株 0.568。这些数据表明雪松雌株、雄株的核型均比较接近并且相当对称。



图1 雪松雌株的模式照片、核型图、核型模式图

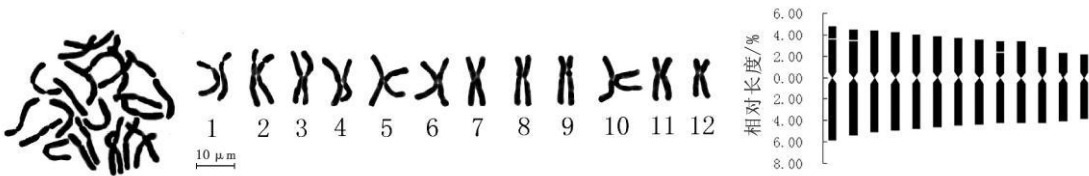


图2 雪松雄株的模式照片、核型图、核型模式图

雪松雌株、雄株染色体相对长度、臂比和类型									
编号	染色体长度=长臂+短臂/μm		相对长度/%			差(d)=长臂-短臂	着丝点指数 i=100(r+1)	臂比(L/S)	类型
	短臂S	长臂L	短臂S	长臂L	全长T				
雌株	1	17.15=7.82 sm +9.34	4.95	5.91	10.86	1.52	45.66	1.19	m
	2	15.72=7.16 sm +8.56	4.53	5.42	9.96	1.40	45.45	1.20	m
	3	15.04=6.88+8.16	4.35	5.17	9.52	1.28	45.66	1.19	m
	4	14.47=6.62+7.85	4.19	4.97	9.16	1.23	45.66	1.19	m
	5	13.99=6.30+7.70	3.99	4.87	8.86	1.40	45.05	1.22	m
	6	13.55=6.14+7.41	3.89	4.69	8.58	1.27	45.25	1.21	m
	7	13.09=5.82+7.27	3.68	4.60	8.29	1.45	44.44	1.25	m
	8	12.55=5.55+7.00	3.51	4.43	7.95	1.45	44.25	1.26	m
	9	12.03=5.23 sm +6.80	3.31	4.31	7.62	1.58	43.48	1.30	m
	10	11.12=4.36+6.76	2.76	4.28	7.04	2.40	39.22	1.55	sm
	11	10.09=3.85+6.24	2.44	3.95	6.39	2.39	38.17	1.62	sm
	12	9.14=3.49+5.65	2.21	3.58	5.79	2.16	38.17	1.62	sm
雄株	1	16.10=7.17 sm +8.93	4.78	5.95	10.73	1.76	44.44	1.25	m
	2	14.92=6.72 sm +8.20	4.48	5.47	9.95	1.48	45.05	1.22	m
	3	14.25=6.52+7.72	4.35	5.15	9.50	1.20	45.87	1.18	m
	4	13.77=6.31+7.46	4.21	4.97	9.18	1.15	45.87	1.18	m
	5	13.18=5.98+7.22	3.99	4.81	8.79	1.24	45.25	1.21	m
	6	12.76=5.76+6.99	3.84	4.66	8.50	1.23	45.25	1.21	m
	7	12.36=5.54+6.82	3.69	4.55	8.24	1.29	44.84	1.23	m
	8	11.95=5.27+6.68	3.51	4.45	7.96	1.40	44.05	1.27	m
	9	11.46=5.01 ^m +6.45	3.34	4.30	7.64	1.44	43.67	1.29	m
	10	10.65=4.20+6.45	2.80	4.30	7.10	2.25	39.37	1.54	sm
	11	9.69=3.44+6.25	2.29	4.17	6.46	2.81	35.46	1.82	sm
	12	5.80=3.15+5.80	2.10	3.87	5.97	2.65	35.21	1.84	sm

注 * 为具有随体的染色体对 m 为中部着丝粒染色体 sm 为近中部着丝粒染色体。

2.3 雌株、雄株雪松染色体随体分析

随体是次缢痕区至染色体的末端呈小圆球或柱状部分,具有随体的染色体简称为 SAT 染色体,随体也是识别染色体的主要特征之一^[13]。曾有学者观察到随体在雌雄异株的植物中,两性之间不同^[14]。该研究显示雪松雌株、雄株都是在第 1、2、9 对染色体的短臂上有随体

但是雄株的第 9 对染色体中仅一条染色体有随体, 而另一条无随体(图 2), 其染色体相对长度 5. 83% ~ 10. 72% 之间(表 1)。雌株的第 1、2、9 对染色体的短臂上均有随体(图 1), 雌株相对长度在 6. 01% ~ 10. 81% 之间(表 1); 这与取自种子发芽幼根为材料(不知性别)的结果不同^[11], 其结果为在第 3、7 对染色体短臂上有随体。该研究结果显示第 9 对染色体的随体不同可能与雪松的性别分化有关, 即第 9 对染色体异型为雄株, 同型为雌株。

2. 4 雪松雌株、雄株与雪松属不同种比较

雪松雌株、雄株与李林初^[11]研究雪松、北非雪松、黎巴嫩雪松进行比较(表 2)。雪松雌株、雄株、李林初^[11]研究雪松、北非雪松的核型公式均为 $2n=24=18m+6sm$, 仅有黎巴嫩雪松核型公式为 $2n=24=20m+4sm$ 。其染色体相对长度组成有差异, 染色体长度比、平均臂比、核型不对称系数差异不大(表 2)。染色体臂比大于 2 者均为 0, 核型类型均为 1A 型。而短叶雪松未见其染色体核型研究及属间比较的相关报道。

表 2 雪松属的核型资料	雪松		雪松	北非雪松	黎巴嫩雪松
	雌株	雄株			
核型公式	$18m+6sm$	$18m+6sm$	$18m+6sm$	$18m+6sm$	$20m+4sm$
染色体相对长度组成	$2L+10M2+$	$2L+10M2+$	$12M2+$	$14M2+$	$12M2+$
	$10M1+2S$	$10M1+2S$	$12M1$	$10M1$	$12M1$
染色体长度比	1. 798	1. 839	1. 55	1. 48	1. 4
平均臂比	1. 365	1. 384	1. 29	1. 35	1. 43
臂比大于 2 的染色体对数	0	0	0	0	0
核型类型	1A	1A	1A	1A	1A
核型不对称系数/%	56. 8	57	55. 14	56. 24	57. 4

3 结论与讨论

在雪松及雪松属核型分析的研究中, 取材主要用种子发芽的幼根尖^[11-12]和小孢子叶球^[10], 该研究是以雪松雌株、雄株成龄开花大树的茎尖为材料。比较 3 种取材, 用幼根尖为材料研究技术比较成熟, 不受时间限制, 只要存在有生命力的种子, 在适宜条件下进行培养, 取长至 2 cm 左右的根尖即可, 但是雪松雌雄花期不一致导致雪松的结实率不高^[1], 影响根尖取材, 更为关键的问题是所取的材料的性别不详。雪松 6 月底开始长小孢子叶球, 核型分析选择减数分裂中期分散较好的染色体, 但其减数分裂中期很难把握, 这决定了用小孢子叶球机遇性太强, 且限于雪松雄株, 不适用于雌株。取材成龄大树茎尖受时间限制小, 取材方便, 从春季雪松开始发芽到冬季休眠为止均可取新梢茎尖部位作为试材, 做雪松核型研究。

雪松雌株、雄株与雪松属其它种的核型一致, 最长染色体与最短染色体之比均小于 2, 臂比大于 2 : 1 的染色体为 0, 均属于对称型核型。而松树最长染色体与最短染色体之比为 1. 345, 臂比均小于 2 : 1, 属于对称核型^[15]。雪松雌株、雄株最长染色体与最短染色体之比与

松树的核型相近, 均属于 1A 型, 这与雪松属的核型相关报道一致^[10-11]。

性别决定概括起来有性染色体决定性别、性别决定基因、性染色体与常染色体间基因平衡决定性别、环境条件等^[6], 其中植物性染色体决定方式又分为单纯型和复合型 2 种, 单纯型包括 XY 型、XO 型、ZO 型、ZW 型等, 复合型有 XnY 型、XYn 型和 XnYn 型等^[7]。雪松雌株、雄株染色体数目一致, 因此雪松的性别决定方式即不是 XO 型也不是 ZO 型。在许多雌雄异株植物中, 性别决定可以从细胞学上鉴别出性染色体, 即雌株为同型性染色体, 雄株为异型性染色体^[8]。该研究结果表明雪松雄株第 9 对染色体异型, 雌株第 9 对染色体同型, 因此可以初步推断雪松的性别决定方式为 XY 型, 这与陈学森^[15]对银杏性别分化研究结果相似, 可以概括雪松雄株核型为 $2n=2x=24=22A[16m(4sat)+6sm]+XY$, 雌株核型为 $2n=2x=24=22A[16m(4sat)+6sm]+XX$ 。

染色体的核型分析受很多因素的影响, 由于研究人员所用材料、试验方法和数据处理方式不同, 有时会有相互矛盾的结果。因此, 今后有待在分子水平上进一步研究, 以找到对雪松进行更快更有效的性别鉴定方法。

参考文献

[1] 郑万钧, 傅立国. 中国植物志[M]. 7 卷. 北京: 科学出版社, 1978: 167-203.

[2] Dallimore W, Jackson A B. rev. Harrison S G. A Handbook of Coniferae and Ginkgoaceae[M]. London: Edward Arnold, 1966: 137-146.

[3] Raw at A, Singh A, Singh A B. et al. Clinical and immunologic evaluation of Cedrus deodara pollen: a new allergen from India[J]. Allergy, 2000, 55: 620-626.

[4] 寿森炎, 汪俏梅. 高等植物性别分化研究进展[J]. 植物学通报, 2000, 17(6): 528-535.

[5] 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, 4(3): 297-302.

[6] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for Centromeric position on Chromosome[J]. Hereditas 1964, 52: 201-220.

[7] Stebbins G L. Chromosomal Evolution in Higher Plant[M]. London: Edward Arnold Ltd (Publishers), 1971: 85-104.

[8] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoideae(Compositae) of Japan[J]. IX. Bot. Mag. Tokyo, 1963, 76: 32-39.

[9] Mehra P N, Khoshoo T N. Cytology of Conifers[J]. Ital J Genet, 1956, 54(1): 165-180.

[10] 邓辉胜. 松科三属植物的染色体研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2005: 10.

[11] 李林初, 傅煜西. 雪松属的细胞分类学及历史植物地理学研究[J]. 云南植物研究, 1995, 17(1): 41-47.

[12] Hizume M. Karyomorphological studies in the family Pinaceae[J]. Mem Fac Educ Ehime Univ Ser III Nat Sc, 1988(8): F-108.

[13] 李懋学, 张赞平. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 42-98.

[14] 李懋学. 染色体的次缢痕、核仁组成区和随体[J]. 生物学通报, 1985(7): 12-14.

苯甲酸钠对切花瓶插效果的影响研究

申玉华, 段永平, 谯元, 张 娇

(内蒙古赤峰学院 生命科学系 内蒙古 赤峰 024000)

摘 要:以在百合鲜切花中筛选出的最佳配方 20 mg/L 蔗糖+150 mg/L 8-HQ+16 mg/L 苯甲酸钠为保鲜剂,研究其在康乃馨、扶郎及月季等鲜切花中的保鲜效应。结果表明:用含苯甲酸钠的保鲜剂能延长康乃馨等切花瓶插寿命、增大花径,维持花瓣细胞膜结构的相对稳定性,增加可溶性糖的含量,减少花瓣中丙二醛和游离脯氨酸的积累,可明显提高其观赏品质。

关键词:苯甲酸钠;切花;保鲜效果

中图分类号:S 482.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)05-0182-04

目前,花卉产业已成为农业产业中前所未有的极具发展潜力的高效产业,其中,鲜切花更是花卉市场的主导产品。我国鲜切花生产主要集中在云南省、珠江三角洲和长江三角洲地区。鲜切花采后流通要经过采收、整理、分级、包装和运输等环节,每年花卉由于采后流通而造成的经济损失一般在 40%左右,高者达 50%以上,损耗症状主要表现为花朵不能正常开放,花瓣过早萎蔫、脱落、花颈弯曲等,严重影响了鲜切花的观赏效果及其经济价值,由此可见,研究切花采后的生理变化及探讨缓解这些变化的方法具有重要的经济意义,已成为一项

十分重要的研究课题。

近几年,关于切花保鲜剂的研究有了很大的进展但最常见的是一种保鲜剂配方适用一种切花,这样就使保鲜剂在推广与应用上受到一定的限制,该试验所用配方是在前期试验《苯甲酸钠对百合切花保鲜效果的影响》^[1]中筛选出来的,旨在月季、扶郎和康乃馨等深受人们喜爱的切花上进行推广,以期苯甲酸钠在切花保鲜上的进一步应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种月季(*Rosa hybrida*)、扶郎(*Gerbera jamesonii*)和康乃馨(*Dianthus caryophyllus*),于 2008 年 6 月 23 日购自内蒙古赤峰市宣美鲜花店,均为当天从北京运输回来的鲜切花。选择生长开放程度整齐一致的健壮

第一作者简介:申玉华(1971-),女,内蒙古赤峰人,硕士,讲师,现从事植物学领域研究工作。E-mail:shenyuhua520@sohu.com.

收稿日期:2008-12-23

[15] 陈学森,邓秀新,章文才,等.银杏雌雄株核型及性别早期鉴定[J].果树科学,1997,14(2):87-90.

[16] 赵光强.植物的性、性染色体及性别决定[J].生物学通报,2002,37(12):19-21.

[17] 马铁华.植物的性别决定[J].农业与技术,2001,21(2):52-54.

[18] 姜群峰,余纪柱,陈劲枫,等.植物性别分化的遗传基础与标记物研究[J].植物学通报,2002,19(6):684-691.

The Karyotypes of Female and Male *Cedrus deodara*

YIN Hai-yan, FENG Zhen, MO Zhen-hua, SUN Qing-chun, YANG Ke-jia, ZHU Hong-mei

(College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: The fresh shoot tips were collected from the female, male in *Cedrus deodara* for knowing the basis of cytology on sex differentiation, then chromosome morphology of mitotic metaphase cell and karyotype analysis were carried out by common pressing plates method. The results showed that the chromosome numbers of female, male in *Cedrus deodara* were $2n=24$. The chromosome ratio, ean arm ratio and the A.s. K% of female, male in *Cedrus deodara* were similar, and all of them belongs to "1A" type chromosome. The only difference was that there were satellites on the 1th, 2th, 9th pair of chromosome in Female but satellites on the 1th, 2th pair of chromosome, a satellite 9th in male. It's very important for the study of sex differentiation between female and male in *Cedrus deodara*.

Key words: *Cedrus deodara*; Chromosome; Karyotype; Female; Male; Sex