

光皮栎木的核型分析

王冬梅, 童再康, 卢泳全

(浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300)

摘要:采用染色体压片方法,对光皮栎木的染色体数目及核型进行分析。结果表明:光皮栎木的染色体数目为 $2n=18$,核型公式 $2n=2x=18=4sm+14m$,臂比值变化范围在 1.02~1.81 之间,核型不对称系数(AS. K%)为 58.06%,核型属于“1B”型。

关键词:光皮栎木;染色体;核型; $2n=18$;1B

中图分类号:S 792.119 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)23-0109-03

光皮栎木(*Swida wilsoniana* (Wanger.) Sojak)为山茱萸科栎木属落叶乔木,又名光皮树、狗骨木、斑皮抽水树等,是我国一种理想的多用途的木本油料植物。光皮栎木主要分布于长江流域及西南各地,垂直分布于海拔 1 000 m 以下。光皮栎木油可作为生物柴油的原料,其生产出的生物柴油与 0#石化柴油燃烧性能相似,是一种安全、洁净的生物质燃油^[1]。同时光皮栎木油含有亚油酸,长期使用可以降低血脂和降低胆固醇^[2]。光皮栎木树形优美,树皮斑驳,枝叶繁茂,是一种良好的观赏绿化树种。光皮树抗逆性强,是一种理想的绿化荒山、改善生态的造林树种。同时,光皮树木材细致均匀,纹理直,易干燥,可供桥梁、枕木、建材、家具、雕刻、农具及胶合板等用。而且光皮树种子榨油后的油饼还可以作为

良好的生物肥料。因此,光皮树是一种集能源、生态、绿化、用材等优质油脂树种,开发前景广阔。

核型是指某物种所特有的一组染色体或一套染色体在有丝分裂中期的表型,其考察指标主要包括染色体的数目、大小和形态结构。核型分析是对生物细胞核内全部染色体的形态特征进行分析,是物种分类的基本依据^[3]。植物染色体的数目和核型是对染色体特征进行定性和定量描述的一种基本方法,对研究植物系统演化、物种之间的亲缘关系、起源、进化与分类、远缘杂交及遗传工程等具有重要的意义^[4]。目前对光皮栎木的栽培繁殖技术、油脂的化学成分和生物柴油制取等方面进行了大量研究,但是尚未有对光皮栎木的染色体数目与核型分析的相关报道。该试验以光皮栎木为试材,利用根尖压片技术,确定光皮栎木的染色体数目与核型,以期为细胞学和遗传学研究提供理论依据,也将对分子生物学的研究奠定理论基础。

第一作者简介:王冬梅(1987-),女,重庆潼南人,硕士,研究方向为林木遗传育种。E-mail:miyanw@163.com.

基金项目:浙江省科技厅资助项目(2008C12018)。

收稿日期:2012-07-23

Comparison on Effects of Different Methods on Extract Genomic DNA of Wild Litchi Leaves

LIU Kai-dong, YUAN Chang-chun, CHEN Yan, MO Qiu-mei, LI Hai-li

(School of Life Science and Technology, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048)

Abstract: Experiment was conducted with three different leaves of wild litchi from Guangdong and Guangxi province. The genomic DNA extraction of three methods namely SDS, CTAB and modified $2\times$ CTAB were compared. The aim was to obtain the high quality DNA extracted method from leaves of wild litchi which contained plenty of secondary substances such as polysaccharide, polyphenols, pigment and protein. The results showed that the modified $2\times$ CTAB method could extract the genomic DNA from wild litchi leaves of the highest purity and best quality. It also could apply on the PCR amplificative analysis on the cpDNA *trnL-F* gene of wild litchi leaves with distinct strips after amplification. Therefore, the modified $2\times$ CTAB method was the better method to extract the genomic DNA from wild litchi leaves.

Key words: wild litchi; genomic DNA; SDS method; CTAB method

1 材料与方法

1.1 试验材料

光皮桫木种子于 2011 年 10 月采集于浙江农林大学植物园。

1.2 试验方法

1.2.1 种子处理 2010 年 10 月,待光皮桫木的果实成熟时,及时采集并用洗衣粉溶液反复搓洗,除去果皮及表面的油脂,然后置于自然低温下湿沙层积贮藏越冬。待第 2 年 50% 以上的种子破壳露白后,细沙常温下发芽。

1.2.2 根尖压片 种子发芽后,待根长到 1.0~2.0 cm 时,中午 12:00~13:00 切取根尖,用饱和对二氯苯水溶液预处理 3~4 h,经蒸馏水冲洗 3 次,再置于卡诺固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1,V/V)中,置于 4℃ 冰箱固定 24 h。固定好后再用 95% 乙醇清洗 2 遍,转入 70% 乙醇中于 4℃ 保存备用。镜检时取出材料流水冲洗 3 min,转入 1 mol/L HCl 溶液中,在 (60±0.5)℃ 水浴锅中解离 10 min,充分冲洗后用改良苯酚品红染色 10 min,常规压片、镜检。

1.2.3 核型分析 观察 50 个染色体分散较好的有丝分裂中期细胞进行染色体计数,核型分析取 5 个细胞的平均值。核型分析按照李懋学等^[5]的统一标准进行,核型分类按照 Stebbins^[6]的标准划分。染色体相对长度、臂比以及类型按照 Levan 等^[7]的命名系统进行。核型不对称系数采用 Arano^[8]的方法计算。

2 结果与分析

2.1 染色体计数

从光皮桫木根尖制片中,观察统计 50 个细胞分裂相对清晰的中期染色体,确定光皮桫木染色体数目为 $2n=18$,基数 $n=9$ (图 1)。

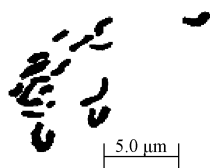


图 1 光皮桫木染色体

Fig. 1 Chromosomes of *S. wilsoniana*

2.2 染色体长度组成和核型分析

取 5 个形态好,染色清晰,分散良好的染色体图像在油镜下用显微摄像系统拍照,利用 Photoshop 软件^[9]准确测量每个细胞染色体的长臂和短臂,取平均值^[10]。计算出每条染色体的臂比值,以确定着丝粒的位置和染色体类型。在大多数情况下,染色体绝对长度数值的可靠性不高。由于预处理的方法和染色体缩短程度不同,即便同一植物,其所测得的染色体绝对长度往往存在明

显差异。而相对长度则是一个比较可靠稳定的可比较数值。因此,该研究使用相对长度作为指标,相对长度计算公式为:每条染色体长度/全组染色体组总长度×100%。核型参数见表 1,染色体相对长度变化范围为 7.05~18.36,臂比值变化范围为 1.02~1.81,核型不对称系数(AS.K%)为 58.06%。在 8 对染色体中,具有中部着丝点染色体(m)为第 1、4、5、6、7、8 和 9 对,具有近中部着丝点染色体(sm)为第 2 和第 3 对。最长染色体长度与最短染色体长度的比值为 2.26,且没有臂比值大于 2 的染色体。根据 Stebbins^[6]划分的核型系统,光皮桫木的核型属于“1B”型,其核型公式为 $2n=2x=18=4sm+14m$ (图 2),核型模式见图 3。

表 1 光皮桫木核型分析参数

Table 1 The karyotype parameters of *S. wilsoniana*

| 编号 No. | 相对长度 Relative length/ % | | | 着丝点指数 Cent romere index/ % | 臂比 Arm ratio | 类型 Types |
|-----------|-------------------------|-----------------|--------------------|----------------------------------|-----------------|-------------|
| | 长臂 Long arm | 短臂 Short arm | 全长 Total length | | | |
| 1 | 9.67 | 6.27 | 15.93 | 0.39 | 1.54 | m |
| 2 | 8.95 | 5.18 | 13.02 | 0.37 | 1.73 | sm |
| 3 | 8.38 | 4.64 | 13.02 | 0.36 | 1.81 | sm |
| 4 | 6.06 | 5.57 | 11.63 | 0.48 | 1.09 | m |
| 5 | 6.80 | 4.65 | 11.45 | 0.41 | 1.46 | m |
| 6 | 6.21 | 4.66 | 10.87 | 0.43 | 1.33 | m |
| 7 | 4.57 | 4.16 | 8.73 | 0.48 | 1.10 | m |
| 8 | 3.63 | 3.56 | 7.19 | 0.50 | 1.02 | m |
| 9 | 3.79 | 3.26 | 7.05 | 0.46 | 1.16 | m |

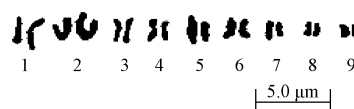


图 2 光皮桫木核型图

Fig. 2 Karyotype image of *S. wilsoniana*

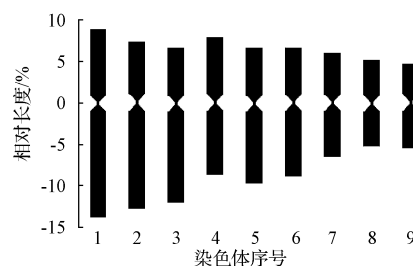


图 3 光皮桫木核型模式

Fig. 3 Karyotype of *S. wilsoniana*

3 结论

每种植物的染色体数目都是一定的,并且各种植物的染色体都有各自特定的形态特征^[11]。植物染色体的数目和形态特征是最稳定的细胞学特征之一,染色体在不同的植物中形态结构迥异,即便在同一物种不同个体中也存在差异性。核型是细胞分类的一个重要标准,对于物种的鉴定、物种的进化地位及物种间进化关系的研究

究都具有十分重要的作用^[12]。在现代进化论的研究中,染色体已成为研究生物微观进化的主要对象,这对进一步丰富和发展进化论无疑是很有意义的^[13]。

有研究表明,栎木属染色体基数为 $x=9、10、11$ ^[14]。Dermen^[4]对该属的 23 种植物的染色体计数和形态描述,同时还发现了草茛萸群的一个种 *CH. canadense* L. 的染色体基数为 $x=11$ 的四倍体种即 $n=4x=44$ 。Clay 等^[15]对栎木属 10 种植物的染色体进行了计数,并提供了 5 个种的减数分裂行为。此外,还对个别种进行了染色体计数和核型的报道。但是关于光皮栎木的染色体数目和核型尚未有报道。该研究结果表明,光皮栎木染色体基数为 9,染色体数目为 $2n=18$ 。染色体形态主要由中部着丝点染色体、近中部着丝点染色体组成。其核型公式是 $2n=2x=18=4sm+14m$,按照 Stebbins 划分标准,光皮栎木核型为“1B”类型,属于较对称型。根据我国学者方文培和胡文光的分类标准,我国的栎木属(广义)植物细分为灯台树属 *Bothrocaryum* (Koehne) Pojark. (互生叶蓝果群)、栎木属 *Swida* Opiz(对生叶蓝果群)、山茛萸属 *Cornus* L.(山茛萸群)、四照花属 *Dendrobenthamia* Hutch. (具大苞叶的四照花群)、草茛萸属 *Chamaeperidymenum* Graebn. (矮生的草茛萸群)。该研究的光皮栎木属于对生叶蓝果群的栎木属。根据李汝娟等^[16]报道,该属植物红瑞木和毛栎的染色体数目都是 22 条,该试验经过反复取材,多次观察,排除了在染色体计数过程中的误差。因此,推测栎木属内存在不同的染色体基数。

Stebbins^[6]认为,在植物系统演化上,处于越古老的或原始的植物具有对称的核型,而进化水平较高或特化的植物具有不对称的核型,同时亲缘关系比较近的物种

往往也具有较相似的核型。因此由上面的核型分析结果可以看出,光皮栎木在植物系统演化史上处于原始类型。

参考文献

- [1] 任晓燕. 浅谈生物柴油的原料资源及研究现状[J]. 轻工科技, 2010(9): 25-26.
- [2] 陈小勤, 罗清连, 许火龙. 光皮栎木在滨海地区的繁殖技术[J]. 林业科技开发, 2004, 18(3): 61-63.
- [3] 闫素丽, 安玉麟, 孙瑞芬, 等. 染色体核型分析及染色体显微分离技术研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(4): 70-74.
- [4] 杨汉民. 细胞生物学实验[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [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, 3(4): 297-302.
- [6] Stebbins G L. Chromosome Evolution in High Plants[M]. London: Edward Arnold LTD, 1971: 87-90.
- [7] Levan A. Nomenclature for Centromere Position in Chromosome[J]. Hereditas, 1964, 52: 201-220.
- [8] Aranoh. Cytological Studies in Subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan. IX[J]. Bot Mag(Tokyo), 1963, 76: 2-9.
- [9] 周劲松, 苏小波, 汤泳萍, 等. 利用 Photoshop 进行芦笋核型分析的研究[J]. 江西农业学报, 2009, 21(2): 73-75.
- [10] 杨汉民. 细胞生物学实验[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 208.
- [11] 李道藩. 遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 10-11.
- [12] 陈细芳, 郝明明, 陈菽, 等. 浙江楠染色体核型分析[J]. 浙江林业科技, 2009, 29(6): 26-28.
- [13] 李懋学. 植物染色体大小变异和进化[J]. 植物学通报, 1985(5): 14-16.
- [14] Dermen I I. Cytological studies of *Corns*[J]. J Am Arb, 1932, 13: 410-417.
- [15] Clay S N, Nath J. Cytogenetics of some species of *Cornus*[J]. Cytologia, 1971, 36: 716-730.
- [16] 李汝娟, 尚宗燕. 五种国产栎木属(广义)植物的核型[J]. 植物分类学报, 2002, 40(4): 357-363.

Karyotype Analysis of *Swida wilsoniana*

WANG Dong-mei, TONG Zai-kang, LU Yong-quan

(The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang University of Agricultural and Forestry, Lin'an, Zhejiang 311300)

Abstract: Chromosome number and karyotype of *Swida wilsoniana* were analyzed by chromosome spreading. The results showed that the chromosome number of *Swida wilsoniana* was $2n=18$. The karyotype formula was $2n=2x=18=4sm+14m$. The ranges of chromosome length's variation were between 1.02 and 1.81, and the index of karyotypic asymmetry was 58.06%. The results showed that the karyotypes of *Swida wilsoniana* belonged to '1B' type.

Key words: *Swida wilsoniana*; chromosome; karyotype; $2n=18$; 1B