

## 二倍体及同源四倍体小果型西瓜核型分析

袁建民<sup>1</sup>, 党选民<sup>2</sup>, 詹园凤<sup>2</sup>, 李易蓉<sup>1</sup>, 但忠<sup>1</sup>, 杨长楷<sup>1</sup>

(1. 云南省农业科学院 热区生态农业研究所, 云南 元谋 651300; 2. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 海南 儋州 571737)

**摘 要:**以二倍体小果型西瓜及其同源四倍体为试材, 采用根尖染色体制片及染色体分析技术, 对二倍体及同源四倍体西瓜进行了核型分析。结果表明:二倍体小果型西瓜核型公式为  $2n=2x=22=22m$ , 11 对染色体均为中部着丝粒染色体, 核不对称系数为 58.90%, 核型类型属于 1A 型, 为基本对称型; 四倍体小果型西瓜核型公式为  $2n=4x=44=44m$ , 核不对称系数为 56.45%, 核型特征与二倍体基本一致。表明四倍体小果型西瓜是由其二倍体加倍得到的, 为同源四倍体。

**关键词:**小果型西瓜; 二倍体; 四倍体; 染色体; 核型分析

**中图分类号:**S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0040-04

西瓜(*Citrullus lanatus*)属葫芦科西瓜属 1a 生草本蔓生植物, 原产于非洲撒哈拉沙漠地带, 被誉为“夏季水果之王”。小果型西瓜, 又名迷你西瓜、礼品西瓜, 其果实大小适中、外观优美、风味品质俱佳, 深受广大消费者的青睐, 近年来在国内外发展非常迅速。四倍体小果型西瓜新种质是培育三倍体无籽小果型西瓜新品种的重要材料, 具有少籽、丰产、耐贮、对病虫害抗性较强、抗

逆性好、果实含糖量高等优点, 利用价值高<sup>[1]</sup>, 因而深受市场欢迎。

西瓜属于小染色体作物, 染色体制片难度大, 很少得到满意的结果, 所以做核型分析存在一定困难。有关西瓜作物的染色体标本制作和核型分析已有少量研究, 赵虎基等<sup>[2]</sup>对 12 个西瓜籽瓜品种进行了核型分析及亲缘关系研究; 李琦等<sup>[3]</sup>对大果型西瓜进行了染色体的 rDNA 定位及核型分析; 但有关小果型西瓜的核型分析尚鲜见报道。小果型四倍体西瓜, 由于材料稀少, 植株育性较低, 种子发芽率也较低, 因此细胞学研究较少。前人对同源四倍体及二倍体西瓜的研究主要集中在生理生化特性方面<sup>[4-6]</sup>, 目前尚鲜见关于同源四倍体及二倍体小果型西瓜核型分析的细胞学研究报道。该研究在培育出小果型西瓜四倍体植株的基础上, 采用根尖染色体制片及染色体分析技术, 进行二倍体、四倍体西瓜

**第一作者简介:**袁建民(1984-), 男, 硕士, 研究实习员, 现主要从事蔬菜遗传育种工作。E-mail: yuanjianmin0710@163.com

**责任作者:**杨长楷(1969-), 男, 本科, 副研究员, 现主要从事产业开发与研究工作。E-mail: changkaiyang@msn.com

**基金项目:**海南省重点科技计划资助项目(080117); 海南省自然科学基金资助项目(80647); 云南省富民强县计划资助项目(2009EB077)。

**收稿日期:**2013-06-19

## Study on Phenotypic Variation of Seed and Fruit on *Prunus miakoehne* in Tibet

ZHOU Shu-xiang<sup>1</sup>, FU Ya-ru<sup>2</sup>, WANG Chao<sup>2</sup>, LI Rong-qin<sup>2</sup>

(1. Heilongjiang Agricultural Economy Vocational College, Mudanjiang, Heilongjiang 157041; 2. Agriculture and Animal Husbandry College, Tibet University, Linzhi, Tibet 860000)

**Abstract:** With nine different walnut(*Prunus miakoehne*) from the Tibet as materials, the main measures which were the fruit of the wide, flat, vertical diameter and thick pulp and seed of the wide, flat and the longitudinal diameter of a total of indices of physical morphology were determined, and phenotypic characters of fruit and seed and its variability were studied. The results showed that, fruit phenotypic traits and fruit traits 6.62% to 9.54%, the variation coefficient of seed traits 7.27% to 10.35%, the variation coefficient of variance analysis of the fruit phenotypic traits *P* values were less than 0.05, seed width, flat *P* value was less than 0.05, it showed that the phenotypic traits of the seed were the main source of variation to *prunus miakoehne*.

**Key words:** *prunus miakoehne*; fruit; seed; phenotype trait; variation

核型分析,旨在为西瓜细胞遗传学、倍性育种以及分子生物学研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为组织培养条件下利用秋水仙素以小果型西瓜优良自交系‘048’子叶为外植体诱导获得的四倍体植株及其二倍体植株,均由中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所蔬菜研究中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 染色体制片 切取再生植株的新鲜幼嫩根尖1~2 mm,用0.002 mol/L 8-羟基喹啉常温预处理2~4 h;乙醇:冰醋酸(3:1)固定液常温固定约4 h,然后将固定后的材料转入50%乙醇中浸泡5 min,再转入蒸馏水中换洗3次以上,将乙醇彻底洗净;用1 mol/L的盐酸于60℃恒温解离约10 min,去掉盐酸并水洗几次,用固定液固定30 min后进行涂片;待片自然干燥后用20:1的Giemsa染液染色8~10 min,于Olympus DH-70显微镜下对制片进行观察并拍照,以备核型分析之用。

1.2.2 染色体核型分析 从各个材料制片中分别选取5张中期分裂相良好的照片,利用Photoshop软件进行

染色体核型配对分析,并参照 Leven 等<sup>[7]</sup>、李懋学等<sup>[8]</sup>的植物核型分析标准进行分析测量,求平均值,制成染色体参数表,按 Stebbins<sup>[9]</sup>的分类标准进行核型分类。

2 结果与分析

2.1 二倍体小果型西瓜核型分析

由表1、2可知,二倍体西瓜染色体绝对长度变化范围为2.80~4.32 μm,相对长度变化范围为7.10%~10.95%,臂比值范围为1.15~1.67,着丝点指数变化范围为37.50%~46.43%,相对长度系数变化范围为0.78~1.20,染色体组绝对总长度为39.46 μm。在染色体核型方面,11对染色体均为中部着丝粒染色体(m),关于染色体相对长度组成方面,二倍体西瓜由6对短染色体(M1)和5对中长染色体(M2)组成。最长与最短染色体的比值为1.54,小于2:1,臂比值大于2的染色体比率为0。按照 Stebbin 核型分类标准判断,该二倍体核型属于1A型,为基本对称型,核不对称系数为58.90%。核型公式为 $2n=2x=22=22m$ 。二倍体西瓜根尖细胞有丝分裂中期分裂相、核型图和核型模式见图1。

表1 小果型西瓜二倍体和四倍体的核型分析

Table 1 Karyotype analysis of diploid and autotetraploid mini-watermelon

材料	染色体序号	绝对长度/μm	染色体相对长度/%			着丝点指数/%	臂比	染色体类型	相对长度系数	染色体相对长度组成
			短臂	长臂	总长					
2x	1	4.32	4.11	6.84	10.95	37.50	1.67	m	1.20	M2
	2	4.20	4.03	6.61	10.64	37.86	1.64	m	1.17	M2
	3	4.13	4.33	5.64	10.47	41.40	1.30	m	1.15	M2
	4	3.90	4.31	5.57	9.88	43.59	1.29	m	1.09	M2
	5	3.71	3.55	5.85	9.40	37.74	1.65	m	1.03	M2
	6	3.52	3.34	5.58	8.92	37.50	1.67	m	0.98	M1
	7	3.40	3.29	5.33	8.62	38.24	1.62	m	0.95	M1
	8	3.31	3.83	4.56	8.39	45.62	1.19	m	0.92	M1
	9	3.25	3.42	4.82	8.24	41.54	1.41	m	0.91	M1
	10	2.92	3.09	4.31	7.40	41.78	1.39	m	0.81	M1
	11	2.80	3.20	3.80	7.10	46.43	1.15	m	0.78	M1
4x	1	3.70	4.46	5.72	10.18	43.78	1.28	m	1.12	M2
	2	3.63	3.72	6.27	9.99	37.19	1.69	m	1.10	M2
	3	3.58	4.27	5.58	9.85	43.30	1.31	m	1.08	M2
	4	3.38	4.13	5.17	9.30	44.38	1.25	m	1.02	M2
	5	3.35	4.41	4.81	9.22	47.76	1.09	m	1.02	M2
	6	3.33	3.71	5.45	9.16	40.54	1.47	m	1.01	M2
	7	3.20	3.85	4.95	8.80	43.75	1.29	m	0.97	M1
	8	3.18	3.72	5.03	8.75	42.45	1.36	m	0.96	M1
	9	3.15	4.02	4.65	8.67	46.35	1.16	m	0.95	M1
	10	3.05	3.58	4.81	8.39	42.26	1.35	m	0.92	M1
	11	2.80	3.71	3.99	7.70	48.21	1.07	m	0.85	M1

表2 小果型西瓜二倍体和四倍体的染色体核型参数

Table 2 The karyotype parameters of diploid and autotetraploid mini-watermelon

材料	染色体数目	核型公式	绝对长度/μm	相对长度/%	最长/最短染色体	臂比>2的染色体比率/%	核不对称系数/%	核型分类
2x	22	$2n=2x=22=22m$	2.80~4.32	7.10~10.95	1.54	0.00	58.90	1A
4x	44	$2n=4x=44=44m$	2.80~3.70	7.70~10.18	1.32	0.00	56.45	1A

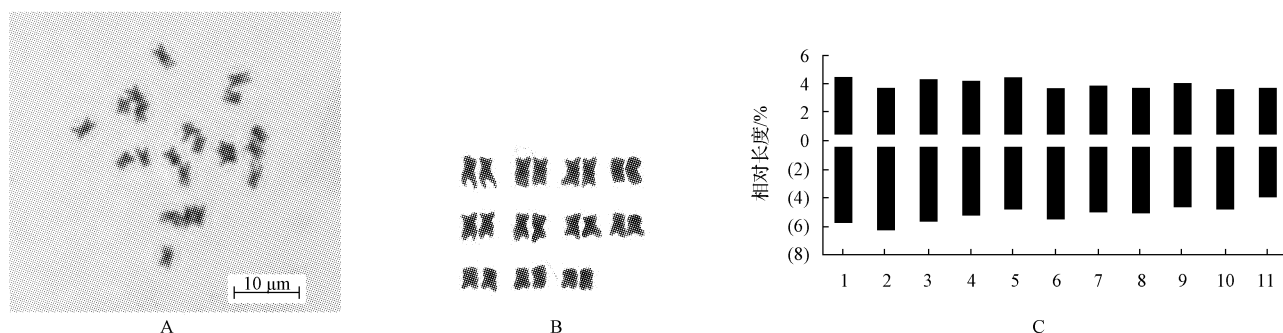


图1 二倍体小果型西瓜根尖染色体中期分裂相、核型及核型模式

注:A. 中期分裂相( $\times 1\,000$ );B. 核型;C. 核型模式图( $\times 1\,000$ )。下同。

Fig. 1 Metaphase chromosomes and karyotype of diploid mini-watermelon

Note: A. Mitosis metaphase chromosomes( $\times 1\,000$ ); B. Karyotype; C. Idiogram( $\times 1\,000$ ). The same below.

## 2.2 四倍体小果型西瓜核型分析

由表1、2还可知,四倍体西瓜染色体绝对长度变化范围为 $2.80\sim 3.70\ \mu\text{m}$ ,相对长度变化范围为 $7.70\%\sim 10.18\%$ ,臂比值范围为 $1.07\sim 1.28$ ,着丝点指数变化范围为 $37.19\%\sim 48.21\%$ ,相对长度系数变化范围为 $0.85\sim 1.12$ ,染色体组绝对总长度为 $36.35\ \mu\text{m}$ 。在染色体核型方面,11对染色体均为中部着丝粒染色体(m),关于染色体相对长度组成方面,四倍体西瓜由5对

中短染色体(M1)和6对中长染色体(M2)组成。最长与最短染色体的比值为1.32,小于 $2:1$ ,臂比值大于2的染色体比率为0。按照Stebbin核型分类标准判断,该四倍体核型属于1A型,为基本对称型。核不对称系数为56.45%。核型公式为 $2n=4x=44=44m$ 。四倍体西瓜根尖细胞有丝分裂中期分裂相、核型图和核型模式图见图2。

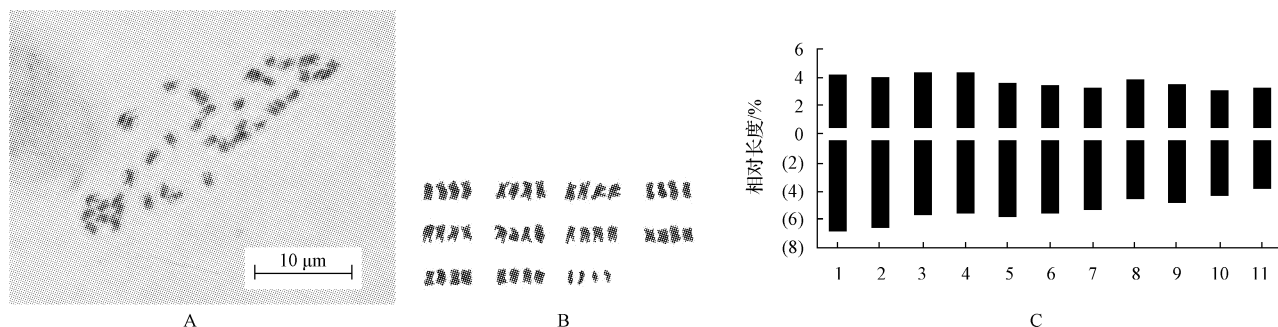


图2 四倍体小果型西瓜根尖染色体中期分裂相、核型及模式

Fig. 2 Metaphase chromosomes and karyotype of autotetraploid mini-watermelon

## 3 结论与讨论

关于二倍体西瓜的核型,不同研究者获得的结果存在一定差异。吴国江<sup>[10]</sup>认为西瓜的核型公式为 $2n=2x=20m+2sm$ ,染色体绝对长度范围为 $1.98\sim 3.31\ \mu\text{m}$ ,第2号染色体为近中部着丝粒染色体。该研究的核型公式、染色体绝对长度、核型类型等参数与李琦等<sup>[3]</sup>的研究结果基本一致,不同的是李琦认为第7号染色体为近中部着丝粒染色体,而陈瑞阳等<sup>[11]</sup>报道的西瓜染色体中第9号染色体为近中部着丝粒染色体。另外,赵虎基等<sup>[2]</sup>研究认为西瓜染色体存在1A型和2A型2种核型。该研究表明,二倍体小果型西瓜核型公式为 $2n=2x=22=22m$ ,11对染色体均为中部着丝粒染色体,未发现着丝点区和随体的变异,核型类型属于1A型,为基本对称型。这与李琦等<sup>[3]</sup>的研究结果基本一致,不同之处在于

该研究未观察到近中部着丝粒染色体。以上各种差异可能预示着不同来源不同种质的西瓜,其染色体数目虽然相同,但染色体核型、染色体结构组成存在一定差异,说明不同种质的西瓜在染色体水平上存在遗传多样性,其原因可能是染色体在重组过程中发生基因的缺失、倒位、易位与插入等细微变化的积累而引起染色体形态结构发生变化<sup>[12]</sup>。

多数学者认为同种作物不同倍性间核型一般比较接近,例如,二、四倍体番木瓜的核型基本相似<sup>[13]</sup>;二、四倍体青花菜核型无明显差异<sup>[14]</sup>;二、四倍体不结球白菜核型基本一致<sup>[15]</sup>。该试验结果同样表明,同源四倍体西瓜核型与二倍体的基本相似,其共同特征为:染色体相对长度范围均在 $7\%\sim 11\%$ 之间;染色体结构较对称,核型分类都属于1A型,是较对称的原始核型类型;都是由

m 染色体组成;尽管最长与最短染色体长度比值不同,但均小于 2;核不对称系数均小于 60%;均未发现着丝点区和随体的变异。这些重要特征说明它们之间具有相似的遗传特性,在起源和演化中存在极为亲缘的联系。

然而,无论是种间还是种内,核型间也存在一定的区别<sup>[16-18]</sup>。该研究对同一物种内不同倍性水平材料进行核型分析比较表明,与二倍体相比,同源四倍体西瓜染色体在绝对长度、相对长度、臂比值、相对长度系数等参数方面的变化范围存在细微差异,染色体组总长度、最长与最短染色体的比值、核不对称系数、染色体长度类型组成等参数值也存在细微差异。如染色体长度类型组成,二倍体为 6M1+5M2,四倍体为 5M1+6M2。以上差异可能是由于预处理、制片方法或测量工具和标准等的差异造成,也可能是由于染色体处于不同时期,凝缩程度有所不同造成的。综上所述,二倍体及其同源四倍体西瓜的核型及其参数差异不明显,且在主要特性上基本一致。这表明所获得的西瓜四倍体是由二倍体直接加倍所产生的同源四倍体。

西瓜属于小染色体作物,制片和核型测量时难度较大,该试验在采用常规的制片方法的同时采用 Giemsa 染液染色,获得了较清晰的染色体图像,一定程度上保证了试验结果的准确性和可靠性,为了获得更加准确、可靠的试验结果有待于采用银染技术或荧光原位杂交技术进一步研究。

小果型西瓜四倍体新种质是进行三倍体无籽西瓜品种选育和倍性育种的宝贵材料,因此关于四倍体染色体组成和来源等细胞学方面的研究对于研究多倍体遗传特性和育种优势具有重要的理论与实践意义。

(该文作者还有苏银玲、木万福,单位同第一作者。)

#### 参考文献

[1] 王镇,党选民,詹园凤. 不同倍性小型西瓜主要农艺性状的比较分析

[J]. 中国蔬菜,2010(2):51-55.

[2] 赵虎基,乐锦华,李红霞,等. 西瓜种染色体核型与品种(系)间亲缘关系研究[J]. 北方园艺,2000(1):22-23.

[3] 李琦,马璐,黄婧,等. 西瓜、苦瓜与罗汉果染色体的 rDNA 定位及其核型分析[J]. 武汉大学学报,2007,53(4):449-456.

[4] 刘文革,阎志宏,王鸣. 不同染色体倍性西瓜光合速率日变化的研究[J]. 中国西瓜甜瓜,2003(2):4-6.

[5] 刘文革,阎志宏,王鸣. 不同染色体倍性西瓜植株光合色素的研究[J]. 中国西瓜甜瓜,2003(1):1-3.

[6] 阎志宏,刘文革,石玉宝,等. NaCl 胁迫对不同染色体倍性西瓜种子发芽特性的影响[J]. 中国农学通报,2005,21(1):204-207.

[7] Levan A K, Fredga A S. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas,1964(52):197-201.

[8] 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.

[9] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plant[M]. London: Edward Arnold;1971:216.

[10] 吴国江. 西瓜染色体组型分析的研究[J]. 新疆农业大学学报,1988(4):74-75.

[11] 陈瑞阳,林盛华,宋文芹,等. 中国主要经济植物染色体图谱[M]. 北京:万国学术出版社,1993:325-328.

[12] Chiarini F, Bernardello G. Karyotype studies in South American species of *Solanum* subgen. *Leptostemonum* (Solanaceae)[J]. Plant Biology, 2006, 8(4):486-493.

[13] 汪卫星,李春艳,向素琼,等. 番木瓜四倍体与二倍体的核型分析及 45S rDNA-FISH 研究[J]. 园艺学报,2007,34(2):345-348.

[14] 张红梅,张蜀宁,于旭红,等. 同源四倍体青花菜的核型分析[J]. 西北植物学报,2010,30(1):63-67.

[15] 郑金双,张蜀宁,孙成振,等. 二倍体及同源四倍体不结球白菜核型分析[J]. 南京农业大学学报,2012,35(1):131-134.

[16] 郭媛媛,邢世岩,马颖敏,等. 15 种榛子种质的染色体核型分析[J]. 园艺学报,2009,36(1):27-32.

[17] 于海清,丁春邦,周永红. 拟鸢观草属 3 种植物的核型研究[J]. 西北植物学报,2009,29(8):1590-1594.

[18] 乔海云,张合龙,刘伟,等. 几种菊科蔬菜种子的核型研究[J]. 中国蔬菜,2012(12):42-46.

## Karyotype Analysis of Diploid and Autotetraploid Mini-watermelon

YUAN Jian-min<sup>1</sup>, DANG Xuan-min<sup>2</sup>, ZHAN Yuan-feng<sup>2</sup>, LI Yi-rong<sup>1</sup>, DAN Zhong<sup>1</sup>, YANG Chang-kai<sup>1</sup>, SU Yin-ling<sup>1</sup>, MU Wan-fu<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Tropical Eco-agricultural Sciences, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yuanmou, Yunnan 651300; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737)

**Abstract:** Taking the diploid and autotetraploid mini-watermelon as material, the diploid and autotetraploid mini-watermelons' karyotype were analyzed using traditional tableting method. The results showed that the diploid mini-watermelon karyotype formula was  $2n=2x=22=22m$  with the index of the As. k (karyotypic asymmetry) of 58.90%, with 11 pairs metacentric chromosomes. The karyotype belonged to 1A, with ultimately symmetry karyotype. In addition, the tetraploid mini-watermelon karyotype formula was  $2n=4x=44=44m$ , As. k was 56.45%, same as diploid. The results proved that tetraploid mini-watermelon resulted in the chromosome doubling of diploid.

**Key words:** mini-watermelon; diploid; tetraploid; chromosome; karyotype analysis