

加拿大引进的二倍体燕麦种质的核型鉴定

刘 伟¹,张宗文^{1,2},吴 斌¹

(¹中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081;²国际生物多样性中心东亚办事处,北京 100081)

摘要:采用常规压片法对砂燕麦、西班牙燕麦和短燕麦3个二倍体燕麦种进行了核型研究。结果表明:砂燕麦染色体核型公式为 $2n=2x=14=10m+4sm(2SAT)$,具近中部和中部着丝点染色体,第4对染色体组的短臂上有1对随体,核不对称系数为68.17%;西班牙燕麦染色体核型公式为 $2n=2x=14=10m+4sm(2SAT)$,具近中部和中部着丝点染色体,第7对染色体短臂上有1对随体,核不对称系数为59.31%;短燕麦染色体核型公式为 $2n=2x=14=6m+4sm+4st(2SAT)$,具近端部、近中部和中部着丝点染色体,第6对染色体组的短臂上有1对随体,核不对称系数为63.91%。虽然3个燕麦种的核型均为2A,但它们的染色体形态有明显不同,比较认为砂燕麦相对进化,短燕麦次之,西班牙燕麦较原始。本研究对燕麦种质资源的核型分析及进化地位研究具有参考价值。

关键词:燕麦属;核型;进化

Karyotype Analysis of Diploid Oat Germplasm Introduced from Canada

LIU Wei¹,ZHANG Zong-wen^{1,2},WU Bin¹

(¹Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

²Biodiversity International, Office for East Asia, Beijing 100081)

Abstract: The chromosome karyotype of three diploid oat species was studied with squash method. The results showed that the karyotype formula of *Avena strigosa* was $2n=2x=14=10m+4sm(2SAT)$, with metacentric and submetacentric chromosomes, 1 pair of satellites on the short arm of the 4th chromosome and 68.17% for the asymmetry index. while that of *Avena hispanica*, was $2n=2x=14=10m+4sm(2SAT)$, with metacentric and submetacentric chromosomes, 1 pair of satellites on the short arm of the 7th chromosome and 59.31% for the asymmetry index. And that of *Avena brevis* was $2n=2x=14=6m+4sm+4st(2SAT)$, with acrocentric, metacentric and submetacentric chromosomes, 1 pair of satellites on the short arm of the 6th chromosome and 63.91% for the asymmetry index. Although the karyotypes of all three species were 2A type, there was obvious variation in the morphologies of karyotypes of three species, which comparatively indicated that the karyotype of *A. strigosa* was more advanced in evolution, followed by *A. a brevis* and the karyotype of *A. hispanica* was more original. This study will be a useful reference for the karyotype analysis and evolutionary analysis of oat germplasm resources.

Key words: *Avena* L. Karyotype; evolution

燕麦是禾本科燕麦族燕麦属(*Avena* L.)的一年生草本植物,它是重要的饲草、饲料和粮食作物^[1],

在世界禾谷类作物中,总产量仅次于小麦、水稻、玉米、大麦,位列第5^[2]。依据 Baum^[3]的分类发展形

收稿日期:2011-12-29 修回日期:2012-02-13 网络出版日期:

UEL;

基金项目:农业部农作物种质资源保护专项“小宗作物种质资源保护研究”(NB2010-2130135-25-06)

作者简介:刘伟,在读硕士,燕麦种质资源鉴定与评价。E-mail:luckyw0301@yahoo.cn

通信作者:张宗文,研究员。E-mail:zongwenz@163.com

成的分类体系,燕麦共含有 29 个种,其中有 15 个二倍体物种($2n = 2x = 14$)、8 个四倍体物种($2n = 4x = 28$)和 6 个六倍体种($2n = 6x = 42$)。中国现拥有燕麦种 27 个^[4],据中国农业科学院作物科学研究所种质信息室统计,截止 2000 年入国家种质资源库的资源共 3202 份^[1]。目前,我国有多个燕麦种分布,主要是六倍体种,包括普通栽培燕麦(*A. sativa* L.)、大粒裸燕麦(*A. nuda* L.)和普通野燕麦(*A. fatua* L.)。

染色体核型能反映物种染色体水平的整体特征,研究和比较物种的染色体核型可以确定物种本身的遗传学特征,有助于对物种的亲缘关系进行判断和分析,揭示遗传进化、变异的过程和机制。物种染色体核型分析是植物种质资源遗传研究的重要内容,为植物细胞分类学的研究奠定基础。燕麦细胞染色体数量和形态的观察是燕麦属内种的重要分类依据,也是燕麦种质资源收集、鉴定与种类划分的主要方法^[5]。通过对燕麦细胞形态学的比较研究,可以为燕麦的进化提供有用的线索,所以长期以来燕麦的细胞学研究得到研究者的广泛关注^[6]。然而,对燕麦染色体核型分析的研究多是集中于六倍体燕麦。武生辉等^[7]和谌志伟等^[8]都曾报道过大粒裸燕麦的核型,蔡华等^[9]和盛中飞等^[10]研究的 2 种野燕麦也均为六倍体,而对二倍体种燕麦细胞遗传学研究较少,特别是对于二倍体皮燕麦西班牙燕麦(*A. hispanica*)和短燕麦(*A. brevis*)细胞遗传学的研究,国内鲜见报道。为此,本研究对从加拿大引进的砂燕麦(*A. strigosa*)、西班牙燕麦和短燕麦 3 种二倍体燕麦的染色体核型进行研究,比较西班牙燕麦和短燕麦与栽培种砂燕麦的区别,探讨它们的进化关系,为燕麦种质细胞学鉴定研究提供技术手段,为燕麦育种和分类提供细胞学基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为 2009 年从加拿大引进的 3 个二倍体燕麦种:砂燕麦、西班牙燕麦和短燕麦。

1.2 方法

1.2.1 制片与观察方法 取子粒饱满的燕麦种子放在洁净的培养皿中,加水浸没种子,置于 23 ℃ 恒温培养箱中培养直到露白。将露白种子放在洁净的垫有无菌浸水滤纸的培养皿中,置于 4 ℃ 冰箱 48 h,然后置于 23 ℃ 恒温培养箱。待根长至 1.0 ~ 2.0 cm 时,剪取新生粗壮根尖于冰水中预处理 48 h,

接着将根尖转入卡诺氏固定液(无水乙醇:冰乙酸=3:1,V/V)中 4 ℃ 下固定 24 h,用 1 mol/L HCl 在 60 ℃ 下解离 10 min,再用改良的苯酚品红染色 10 min,进行常规压片。

制好的临时片在 Leica DM2000 光学显微镜下观察并拍照。

1.2.2 核型分析方法 采用李懋学等^[11]的标准,统计 30 个以上染色体分散较好的有丝分裂中期细胞进行染色体计数,利用植物染色体核型分析软件(7.0 版)进行核型分析,核型分析时取其中 5 个细胞的平均值。染色体核型参数相对长度(染色体长度/染色体组总长×100%)、臂比(长臂/短臂)及类型按 Levan 等^[12]的方法进行,核型分类按 Stebbins^[13]的方法进行,根据核型中染色体的长度比(最长染色体长度/最短染色体长度)和臂比大于 2 的染色体的百分比 2 项主要特征,用于区分核型的对称和不对称程度。核型不对称系数(As. K)^[14]计算公式为:As. K = 长臂总长/染色体组总长×100%。

2 结果与分析

显微镜下观察结果显示,3 种燕麦的体细胞染色体数目均为 $2n = 2x = 14$ 。染色体照片、核型图及核型模式图见图 1,主要的核型参数及核型见表 1 和表 2。

2.1 砂燕麦核型

体细胞染色体数目 $2n = 14$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm(2SAT)$,第 4 和第 6 号为近中部着丝点染色体,其余均为中部着丝点染色体。在第 4 对染色体组的短臂上有 1 对随体(图 1-A);染色体相对长度变化范围为 12.31% ~ 17.39%(表 1);最长染色体与最短染色体的比值为 1.41,臂比大于 2 的染色体数目的百分比为 0.29,核不对称系数为 68.17%,核型属 2A 型(表 2)。

2.2 西班牙燕麦核型

体细胞染色体数目 $2n = 14$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm(2SAT)$,第 6 和第 7 号为近中部着丝点染色体,其余均为中部着丝点染色体。在第 7 对染色体组的短臂上有 1 对随体(图 1-B);染色体相对长度变化范围为 12.73% ~ 16.25%(表 1);最长染色体与最短染色体的比值为 1.28,臂比大于 2 的染色体数目的百分比为 0.14,核不对称系数为 59.31%,核型属 2A 型(表 2)。

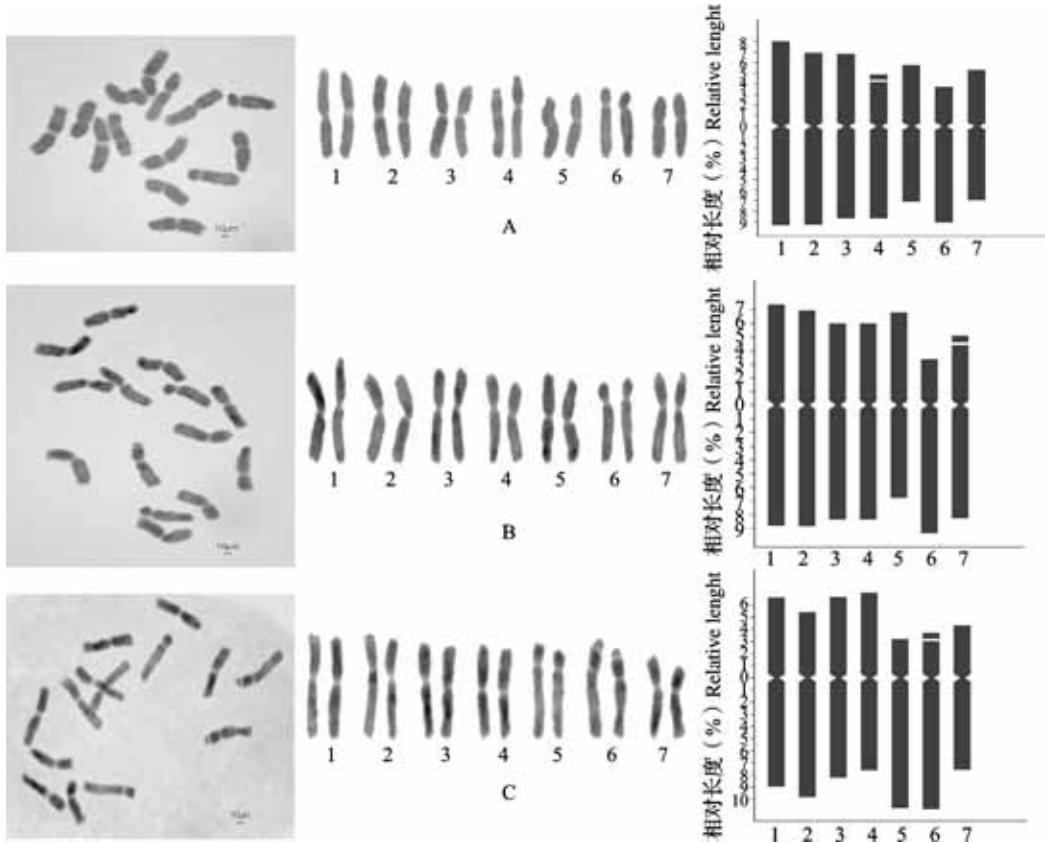


图 1 3 种二倍体燕麦物种的染色体照片(左)、核型图(中)及核型模式图(右)

Fig. 1 Chromosomes shape (left), karyotype and karyotype pattern (right) of 3 diploid oat species

A:砂燕麦;B:西班牙燕麦;C:短燕麦

A:*A. strigosa*., B:*A. hispanica*., C:*A. brevis*

表 1 3 个二倍体燕麦种染色体类型参数

Table 1 Parameters of chromosome types of 3 diploid oat species

种名 Specie	染色体序号 Chromosome No.	相对长度 (%) Relative length(S + L = T)			臂比 AR Arm Ration(L/S)	类型 Type
		S	L	T		
砂燕麦 <i>A. strigosa</i>	1	8.02	9.37	17.39	1.17	m
	2	6.90	9.32	16.22	1.35	m
	3	6.78	8.70	15.48	1.28	m
	4*	4.17	8.72	12.89	2.09	sm
	5	5.73	7.16	12.89	1.25	m
	6	3.71	9.11	12.82	2.46	sm
	7	5.31	7.00	12.31	1.32	m
西班牙燕麦 <i>A. hispanica</i>	1	7.40	8.85	16.25	1.20	m
	2	6.94	8.90	15.84	1.28	m
	3	6.02	8.39	14.41	1.39	m
	4	5.99	8.42	14.41	1.41	m
	5	6.56	7.03	13.59	1.07	m
	6	3.36	9.41	12.77	2.80	sm
	7*	4.42	8.31	12.73	1.88	sm
短燕麦 <i>A. brevis</i>	1	6.62	9.01	15.63	1.36	m
	2	5.40	9.85	15.25	1.82	sm
	3	6.63	8.23	14.86	1.24	m
	4	6.98	7.63	14.61	1.09	m
	5	3.19	10.77	13.96	3.38	st
	6*	2.99	10.84	13.83	3.63	st
	7	4.28	7.58	11.86	1.77	sm

m:中部着丝粒区;sm:近中部着丝粒区;st:近端部着丝粒区;*表示染色体具随体

m:Median region, sm:Submedian region, st:Subterminal region, * presents chromosome has satellite

表 2 3 个二倍体燕麦种的核型

Table 2 Karyotypes of 3 diploid oat species

种名 Specie	核型公式 Karyotype formula	不对称系数 (%) As. K	染色体长度比 The length ratio of between most longest and most hortess	臂比大于 2 的染色 体数目的百分比 Percentage of AR > 2	核型类型 Karyotype type
砂燕麦 <i>A. strigosa</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm(2SAT)$	68.17	1.41	0.29	2A
西班牙燕麦 <i>A. hispanica</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm(2SAT)$	59.31	1.28	0.14	2A
短燕麦 <i>A. brevis</i>	$2n = 2x = 14 = 6m + 4sm + 4st(2SAT)$	63.91	1.32	0.29	2A

2.3 短燕麦核型

体细胞染色体数目 $2n = 14$, 为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 14 = 6m + 4sm + 4st(2SAT)$, 第 2 和第 7 号为近中部着丝点染色体, 第 5 和第 6 号为近端部着丝点染色体, 其余均为中部着丝点染色体。在第 6 对染色体组的短臂上有 1 对随体(图 1-C); 染色体相对长度变化范围为 11.86% ~ 15.63% (表 1); 最长染色体与最短染色体的比值为 1.32, 臂比大于 2 的染色体数目的百分比为 0.29%, 核不对称系数为 63.91%, 核型属 2A 型(表 2)。

2.4 3 个燕麦种的核型比较

通过表 1 的染色体类型比较发现, 3 个二倍体燕麦种的染色体的类型有所不同, 砂燕麦和西班牙燕麦的染色体均有 5 个 m 型和 2 个 sm 型, 表明这 2 个种的染色体类型很相似。短燕麦的染色体类型较复杂, 包括 3 个 m 型、2 个 sm 型和 2 个 st 型, 表明短燕麦的染色体类型更具多样性。但砂燕麦的核型不对称系数、染色体的长度比及臂比大于 2 的染色体数目最高, 说明砂燕麦的染色体形态更具多态性。从表 2 的染色体组型分析可以看出, 3 种燕麦的染色体组型均为 2A 类型。

3 讨论

3.1 二倍体燕麦核型的特征

国内外对砂燕麦的核型研究结果差异较大, 余懋群等^[15]和 Rajhathy 等^[16]的研究结果较一致, 认为砂燕麦具 2 对随体染色体, 1 对近端着丝粒染色体。而本研究的结果与武生辉等^[17]的报道一致, 观察到砂燕麦具有 1 对随体染色体, 2 对近中部着丝点染色体, 且每对染色体的类型与武生辉等^[17]所报道的结果完全一致, 均是第 4 对染色体上有 1 对随体。砂燕麦核型研究结果的差异, 是材料来源地不

同而形成了不同生态型, 还是由于研究的方法不同所致, 尚待更进一步的探索。

砂燕麦、西班牙燕麦和短燕麦的基因组型都为 AsAs^[18], 但这 3 种燕麦核型参数上存在较大差异。由表 1 可以看出, 3 种二倍体燕麦染色体数都为 7 对, 但是染色体类型存在一定的差异, 每种燕麦都有 2 对近中部着丝点染色体 sm, 但是对应的染色体序号不一致, 尤其是短燕麦核型中出现 2 对近端部着丝点染色体 st, 与砂燕麦和西班牙燕麦染色体类型差异明显, 且 3 种燕麦核型中随体在染色体的位置也不同。由表 2 可知, 3 种燕麦核型中不对称系数和染色体长度比都有一定的差异, 这些差异的结果显示了 AsAs 基因组物种间有一定的区别, 这可能是由于 3 种燕麦所处的进化环境不同而产生的。由此可知, 3 种燕麦的不同也体现在染色体核型的特征上, 这有力地证明了染色体核型分析可以为燕麦种质资源的鉴定分类提供方法。

3.2 二倍体燕麦的进化地位

Stebbins^[13]认为, 核型的进化趋势是由对称向不对称方向发展的, 对称性大的核型是更原始的类型。由表 2 可知, 3 种二倍体皮燕麦的核型类型均为 2A, 表明它们是比较对称的核型, 所以这 3 种燕麦在进化程度上都较为原始。通过彭远英^[18]探讨燕麦多系母本起源的研究结果可以看出, 这 3 种二倍体在系统进化树中聚在一起, 可以认为它们的进化程度较为一致。同时, 核型不对称系数是反映染色体对称与否、进化与否的另一个参数指标^[19], 在这 3 种燕麦中, 砂燕麦核型不对称系数最大, 为 68.17%, 是较进化的物种; 西班牙燕麦核型不对称系数最小, 为 59.31%, 是较原始的物种; 短燕麦的核型不对称系数与砂燕麦相对较接近, 为 63.91%, 说明砂燕

麦和短燕麦进化关系较近,这可能与它们均起源于地中海沿岸^[20]有关。

我国现有的燕麦种质资源丰富,但是对其染色体核型分析较少,且都集中于对六倍体栽培种的研究,本研究分析 3 种二倍体燕麦材料的核型,通过 3 种燕麦的核型参数分析,初步推断它们的进化关系,为燕麦的进化研究提供了一定依据。

参考文献

- [1] 董玉琛,刘旭. 中国作物及其野生近缘植物:粮食作物卷[M]. 北京:中国农业出版社,2006
- [2] 杨海鹏,孙泽民. 中国燕麦[M]. 北京:农业出版社,1989
- [3] Baum B R. Oats: Wild and cultivated. A monograph of the genus *Avena* L. (poaceae)[M]. Minister of Supply and Services Canada, Ottawa, Ontario: Agriculture Canada, 1977
- [4] 郑殿升. 中国燕麦的多样性[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(3):249-252
- [5] 云锦凤. 牧草与饲料作物育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2001
- [6] 窦全文,沈裕琥,王海庆. 栽培燕麦和野燕麦 C—带核型比较[J]. 草业学报,2004,13(4):76-79
- [7] 武生辉,李秀娟,张树军,等. 皮燕麦阿缓的核型研究[J]. 内蒙古农牧学院学报,1997,18(2):30-32
- [8] 湛志伟,张飞雄,胡东. 六倍体莜麦染色体的核型分析[J]. 首都师范大学学报:自然科学版,1997,18(4):66-69
- [9] 蔡华,黄鑫龙. 一种野生燕麦的染色体核型分析[J]. 种子,2007,26(1):35-37
- [10] 盛中飞,刘利青,张素勤,等. 葡萄牙野燕麦的核型分析[J]. 湖北农业科学,2010,49(11):2696-2698
- [11] 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
- [12] Levan A, Fredga K. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52:201-210
- [13] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London:Edward Arnold Ltd,1971:85-104
- [14] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoidae of Japan IX. The karyotype analysis and phylogenic consideration on *Pertya* and *Ainsliaea* (2) [J]. Botanical Magazine, Tokyo, 1963, 76:32-39
- [15] 余愨群,马欣荣,张庆勤. 3 种燕麦的核型研究[J]. 武汉植物学研究,1995,13(2):177-179
- [16] Rajhathy T, Thomas H. Cytogenetics of oats (*Avena* L.) [M]. Ottawa: Genetics Society of Canada, 1974
- [17] 武生辉,李秀娟,李明哲. 野生大燕麦和砂燕麦的核型研究[J]. 内蒙古农牧学院学报,1989,10(2):115-120
- [18] 彭远英. 燕麦属物种系统发育与分子进化研究[D]. 雅安:四川农业大学,2009
- [19] 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
- [20] 瓦维洛夫. 主要栽培植物的世界起源中心[M]. 董玉琛,译. 北京:农业出版社,1982.