

油用型向日葵矮大头杂交种染色体核型分析

马 军¹, 宋承泽², 丁海燕^{3*}, 汪洪敏⁴, 任国领³, 段立秋³, 赵天彪⁵, 李志勇^{5*}

(1. 黑龙江省农业科学院经济作物研究所, 哈尔滨 150086; 2. 中国农业大学园艺学院, 北京 100193; 3. 黑龙江省油田应用化学与技术重点实验室/大庆师范学院生物工程学院, 黑龙江 大庆 163712; 4. 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨 150080; 5. 黑龙江省农业科学院植物保护研究所, 哈尔滨 150086)

摘要:为了探索油用型向日葵根尖细胞染色体制片技术及核型分析的方法, 本研究以油用矮大头杂交种种子为研究材料, 采用去壁低渗火焰干燥法和常规染色制片法进行比较, 试验表明常规染色制片效果较好, 可以用于核型分析, 矮大头向日葵 F₁ 种子的染色体核型为 $2n=34=24m(\text{Sat})+2\text{St}+8\text{Sm}(\text{Sat})$ 。

关键词:向日葵; 染色体; 核型分析

中图分类号: S565.5

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)05-0047-03

Karyotype Analysis of Oil Sunflower Hybrid Aidatou

MA Jun¹, SONG Chengze², DING Haiyan^{3*}, WANG Hongmin⁴, REN Guoling³, DUAN Liqiu³, ZHAO Tianbiao⁵, LI Zhiyong^{5*}

(1. Institute of Industrial Crops, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 2. College of Horticulture, China Agricultural University, Beijing 100193; 3. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Oilfield Applied Chemistry and Technology/School of Biological Engineering, Daqing Normal University, Daqing 163712; 4. Life Science and Technology Academy, Harbin Normal University, Harbin 150080; 5. Institute of Plant Protection, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to explore the techniques of chromosome production and karyotype analysis of sunflower root tip cells, the Aidatou seed of sunflower was used as the research material. The experiments were performed using the dehulled hypotonic flame drying method and the conventional dyeing method. The results showed that the conventional dyeing method was better and could be used for karyotype analysis. Chromosome analysis of sunflower chromosomes was performed by selecting clear chromosome images. The karyotype of Aidatou F₁ seed was $2n=34=24m(\text{Sat})+2\text{St}+8\text{Sm}(\text{Sat})$.

Key words: Sunflower; Chromosome; Karyotype analysis

向日葵(*Helianthus annuus* L.)是大家最为熟悉的一种油料作物, 是菊科向日葵属的一年生草本植物, 原产于北美洲的西南部, 被俄罗斯、玻利维亚及秘鲁等国称为国花^[1]。在中国, 向日葵是种植面积较大的油料作物之一, 主要分布在 20 个省, 有五个主要产区: 东北、内蒙古区, 华北区, 新

疆区, 黄河河套区和云贵高原区。目前, 向日葵种植面积最大的地区是内蒙古和新疆地区^[2]。

向日葵可划分为三种类型: 油用型、食用型和兼用型, 向日葵不仅耐干旱, 而且含油量还很高, 向日葵油作为世界性四大重要食用油之一, 它含有丰富的不饱和脂肪酸, 是有益健康的高级植物性油脂。向日葵种子及秸秆在建材、化工造纸、制药及化妆品方面等均有广泛的用途^[3]。

核型分析是对染色体核型的各种特征进行定量和定性的表述^[4]。在以往向日葵的研究中, 涉及很多方面, 但是关于染色体制片及核型分析的研究却不多^[5-6], 尚未见有关矮大头油用向日葵的核型报道。不同品种的向日葵染色体数目不同、随体数不同、着丝点位置也大不相同, 因此, 对油

收稿日期: 2019-12-22

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200607); 国家现代农业技术体系建设项目(CARS-14); 大庆师范学院科学研究基金(19ZR15)

作者简介: 马 军(1981-), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向: 种质资源利用与遗传改良。

通讯作者: 丁海燕, 女, 教授, E-mail: dinghaiyan2004@126.com
李志勇, 男, 研究员, E-mail: 15645195711@163.com

用型向日葵矮大头杂交种进行实验研究,对其染色体制片及核型组成的研究加以补充。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

油用型向日葵矮大头杂交种种子由河北粒尔田种业有限公司生产,购买于黑龙江省大庆市林甸县种子农资市场。

1.2 实验方法

染色体制片技术分别采用常规染色制片技术和去壁低渗火焰干燥法两种方法。

(1)常规染色制片法。将挑选好的形态较好的向日葵种子在室温下浸种 2 h^[6],之后放入均匀铺入三层湿润滤纸的培养皿中,放置在 25 °C 的恒温培养箱中萌发,保持湿润。当幼根长到 15~20 mm 剪下,时间是 9:30~10:00^[7]。预处理时将剪下的根尖先放在冰水混合物中,将其放置于 4 °C 的冰箱处理 24 h。然后,将根尖从冰水混合物中取出,吸干水分,放到卡诺固定液中。固定 24 h 后的根尖用 70% 乙醇冲洗 2~3 次,再放入 70% 乙醇中,放置在冰箱中保存备用。制片时先将根尖从 70% 乙醇中取出,用水冲洗 2~3 次后,将其放入含有 1 mol/L HCl 的离心管中,放在温度为 60 °C 的水浴锅中解离 5~10 min。将解离后的根尖全部取出,放入水中,一根完整的根尖分生组织大约可以分成 3~4 段;将切好的根尖放在载玻片上,吸干水分,滴适量卡宝品红染液,染色后盖片,在盖玻片的一角垫上双面刀片,对着的另一角放上一张吸水纸,左手食指按在吸水纸上,右手拿竹签在材料周围垂直敲片,使材料细胞分散,在盖玻片的一侧再次滴加少许卡宝品红染液,盖玻片上边放一滤纸。将载玻片放在酒精灯的外焰上火烤,待盖玻片有雾状且散开为宜。

(2)去壁低渗火焰干燥法。参照李展^[8]的方法。

(3)核型分析。根据李懋学等^[9]提出的标准进行核型分析,根据 Levan 等^[10]的命名法则来确定染色体的着丝点位置。选择染色体形态较好、比较分散、染色清晰的图像进行观察并计数,找出随体,并打印出来,将染色体剪下来进行测量,测量出长臂长度、短臂长度,计算臂比、相对长度,得出每条染色体的类型,然后将染色体配对,并在计算机上用 Excel 构建模式图。

2 结果与分析

通过对矮大头杂交种根尖细胞的镜检观察,对 100 个根尖细胞进行计数及分析,有 7 个含有

28 条染色体,3 个含有 29 条染色体,5 个含有 30 条染色体,2 个含有 31 条染色体,13 个含有 32 条染色体,5 个含有 33 条染色体,65 个含有 34 条染色体。综上所述,认为向日葵矮大头杂交种的染色体数目为 $2n=34$ 。

通过核型分析实验得出 $2n=34=24m(\text{Sat})+2\text{St}+8\text{Sm}(\text{Sat})$ 的结果(表 1、图 1、图 2)。本实验对染色体的分析结果如下:含两条随体(Sat),其中有 1 对属于近端部着丝点(St),有 4 对属于近中端部着丝点(Sm),有 12 对属于中端着丝点(m),两条随体分别在近中端部着丝点(Sm)、中端着丝点(m)上,编号分别是 7、15。

表 1 矮大头杂交种(F_1)向日葵核型参数表

染色体 编号	相对长度(%)			臂比	类型
	长臂	短臂	全长		
1	4.19±0.12	2.75±0.07	6.94±0.15	1.53±0.05	m
2	3.61±0.10	3.32±0.05	6.94±0.11	1.08±0.03	m
3	5.20±0.07	1.30±0.05	6.51±0.08	4.00±0.20	St
4	3.47±0.11	2.89±0.12	6.37±0.16	1.20±0.06	m
5	3.18±0.02	3.18±0.02	6.36±0.04	1.00±0.00	m
6	3.33±0.04	2.89±0.04	6.22±0.06	1.15±0.02	m
7	3.47±0.04	2.60±0.03	6.07±0.05	1.33±0.02	m*
8	4.20±0.05	1.88±0.07	6.08±0.10	2.23±0.08	Sm
9	3.76±0.13	2.31±0.04	6.07±0.15	1.62±0.05	m
10	3.76±0.09	2.03±0.03	5.79±0.09	1.86±0.05	Sm
11	3.18±0.02	2.60±0.03	5.78±0.03	1.22±0.02	m
12	3.18±0.03	2.31±0.01	5.49±0.04	1.37±0.01	m
13	3.76±0.08	1.74±0.08	5.50±0.10	2.17±0.12	Sm
14	2.89±0.03	2.60±0.03	5.49±0.05	1.11±0.01	m
15	3.47±0.01	1.59±0.09	5.06±0.09	2.19±0.12	Sm*
16	2.89±0.04	2.17±0.04	5.06±0.03	1.33±0.04	m
17	2.31±0.01	1.88±0.02	4.19±0.03	1.23±0.02	m

注:“*”为带随体染色体,随体长度计算在内

向日葵染色体细胞的中期核型分析结果表明:染色体的总长度是 69.3 μm ,染色体的长度比为 1.66,染色体的长度变化很小,没有特别长或特别短的染色体。



图 1 向日葵染色体核型图

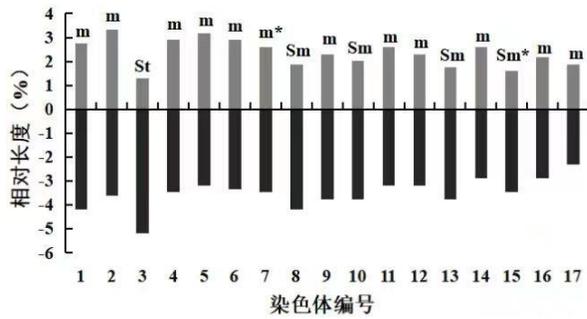


图2 向日葵染色体模型图

3 结论与讨论

3.1 染色体制片结果的分析

根据李懋学等^[1]植物核型分析标准,向日葵的染色体属于小染色体,故在做向日葵染色体数目统计和核型分析实验时,有一定困难。本实验研究发现,向日葵根尖细胞的染色体数大多数都是34条,矮大头杂交种的染色体核型具有特异性,其原因可能是材料来源引起的,即同物种核型随着品种、地理隔离而可能存在不同,故同一物种植物的一些细胞染色体数会存在不同。另外,制片时压片角度不同所导致。在压片过程中,手要垂直于盖玻片向下压片,盖玻片不可左右移动,否则会造成染色体损伤、染色体丢失,观察到的染色体数与实际染色体数有差别。

在染色体制片中,对材料进行预处理的目的是阻断纺锤体的形成,使细胞分裂被迫终止在中期阶段,中期分裂相的出现频率可提高^[12]。不同植物存在物种间差异性,所以不同植物间所适合的预处理液一般不同。本实验发现采用卡诺固定液预处理24 h,得到较多中期分裂相细胞,可以找出更适宜做核型分析的染色体,得到较为准确的研究结果。

3.2 染色体不同制片方法的比较

通过对两种制片方法的效果进行比较,认为

常规染色制片法比较好,得到的图像更清晰,且操作简单、方便,更适用于核型分析。材料预处理方式如是否低温处理、染色方法以及不同的制片方法对制片效果都有一定影响,本实验结果表明:(1)根尖通过低温处理的方法较好;(2)利用卡宝品红染液染色的效果更好;(3)经敲片后,将载玻片放在酒精灯上火烤后再压片的方法更好。

通过核型分析认为向日葵矮大头杂交种的染色体数目为 $2n=34$ 。核型公式 $2n=34=24m(Sat)+2St+8Sm(Sat)$,含有两条带随体的染色体。

参考文献:

- [1] 国家向日葵产业体系.中国现代农业产业可持续发展战略研究(向日葵分册)[M].北京:中国农业出版社,2018:1-12.
- [2] 李 洋,朱统国,李晓伟,等.浅谈吉林省向日葵育种历程及未来育种方向[J].东北农业科学,2019,44(1):7-11.
- [3] 曾佑玲,吉庆发,易 琼,等.向日葵叶抗氧化成分24-亚甲基环木菠萝烷醇的分离提取[J].中兽医医药杂志,2010(2):40-41.
- [4] 邓可京,曲志才,沈大棱.植物染色体图形分析的现状和展望[M].上海:上海科学技术出版社,1995:80-81.
- [5] 王新风,朴铁夫.EDTA对向日葵根尖细胞染色体的诱变分析[J].吉林农业科学,2007,32(1):8-9,13.
- [6] 阎素丽.向日葵染色体核型分析及单染色体微切割、微分离和微克隆[D].呼和浩特:内蒙古大学,2009.
- [7] 徐振东,兰秀红,杨 曼,等. Co^{60} - γ 辐射对2种高羊茅染色体核型的影响[J].东北农业科学,2016,41(3):18-24.
- [8] 李 展.用去壁低渗火焰干燥法制片,进行玉米染色体的组型和带型分析[J].安徽农业科学,1982(3):42-47.
- [9] 李懋学,陈瑞阳.关于植物核型分析的标准化问题[J].武汉植物研究,1985,3(4):297-302.
- [10] Levan A, Fredga K, Sandberg A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J].Hereditas, 1964,52(2): 201-220.
- [11] 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,1996:1-37.
- [12] 杨 宁,谈永霞,李巧峡,等.百里香染色体制片优化及核型分析[J].草业学报,2012,21(1):184-189.

(责任编辑:刘洪霞)