

杨 婷,王 亚,张素勤,等.佛手瓜染色体核型分析[J].湖北农业科学,2019,58(23):215-217,226.

## 佛手瓜染色体核型分析

杨 婷<sup>1</sup>,王 亚<sup>1</sup>,张素勤<sup>1</sup>,陈星灼<sup>1</sup>,耿广东<sup>1</sup>,陈 丽<sup>2</sup>  
(1.贵州大学农学院,贵阳 550025;2.普定县农业示范园区,贵州 安顺 562100)

**摘要:**采用滴片技术获得佛手瓜(*Sechium edule* Swartz)根尖细胞染色体片子,并进行染色体核型分析,以探索佛手瓜染色体核型特点,为佛手瓜及相近植物遗传育种提供细胞学依据。结果显示,佛手瓜具有 14 对染色体,均为中部着丝粒染色体(m),每条染色体上均未发现随体,其核型公式为  $2n=2x=28=28m$ ;核型不对称系数为 53.55%,属于对称核型;佛手瓜的核型为 1A,是一种进化程度低的葫芦科蔬菜作物。

**关键词:**佛手瓜(*Sechium edule* Swartz);染色体;核型

中图分类号:S642.9

文献标识码:A

文章编号:0439-8114(2019)23-0215-03

DOI:10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2019.23.053

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Chromosomal karyotype analysis of *Sechium edule* Swartz

YANG Ting<sup>1</sup>,WANG Ya<sup>1</sup>,ZHANG Su-qin<sup>1</sup>,CHEN Xing-zhuo<sup>1</sup>,GENG Guang-dong<sup>1</sup>,CHEN Li<sup>2</sup>

(1.College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2.Agricultural Park of Puding, Anshun 562100, Guizhou, China)

**Abstract:** To provide cytological basis for genetics and breeding for *Sechium edule* Swartz and its similar plants, chromosome preparations from root tip cell of *Sechium edule* Swartz were obtained by using dropping slide technique, and its karyotype was analyzed in order to understand chromosomal karyotype characteristics. The result showed that the genome of *Sechium edule* Swartz possessed 14 pairs of chromosomes, all of which were metacentric chromosomes (m), and no any satellite was found in them. Its karyotype formula was  $2n=2x=28=28m$ . The asymmetrical karyotype coefficient was 53.55%, which was symmetrical karyotype. Its karyotype belonged to the type 1A. Therefore, the evolution degree of *Sechium edule* Swartz was low among Cucurbitaceae.

**Key words:** *Sechium edule* Swartz; chromosome; karyotype

佛手瓜(*Sechium edule* Swartz)又名长寿瓜、保健瓜、拳头瓜、手瓜、菜肴梨等,为葫芦科(Cucurbitaceae)佛手瓜属多年生攀缘草本植物<sup>[1]</sup>。佛手瓜果实营养丰富,钙、镁、铁、锌等有益元素含量非常高,可作为一种理想的补锌食品;且佛手瓜热量低,微量元素和钾含量高,钠含量低,是很好的低热量和低钠食品,有利于预防、治疗高血压和肾脏等疾病。佛手瓜果肉中含有丰富的赖氨酸、组氨酸,其理想的赖氨酸含量有助于人体对蛋白质的吸收,而组氨酸具有抗溃疡、促进细胞再生的作用,如果幼儿缺乏组

氨酸可能产生贫血,因此,佛手瓜是极为理想的婴幼儿食品。佛手瓜汁与牛乳混合进行乳酸发酵,其产品不仅营养丰富,而且有良好的风味和外观,是一种理想的酸奶食品<sup>[2-5]</sup>。近年来关于佛手瓜的研究越来越受到人们的重视,目前已有佛手瓜营养成分<sup>[2]</sup>、叶绿素性质<sup>[6]</sup>、多酚氧化酶酶学特性<sup>[7]</sup>、微量元素<sup>[8]</sup>等方面的研究报道。

对植物的染色体进行核型分析,一方面有助于了解生物的遗传组成、遗传变异规律与发育机制;另一方面对鉴定种间杂交和多倍体育种材料,了解基

收稿日期:2019-01-17

基金项目:贵州省科技厅重大专项计划项目(黔科合重大专项字[2016]3002号);贵州省农业攻关项目(黔科合支撑[2016]2603号;黔科合支撑[2018]2330号)

作者简介:杨 婷(1991-),女,贵州德江人,在读硕士研究生,研究方向为遗传育种,(电话)18785171705(电子信箱)yangting\_122@163.com;

共同第一作者,王 亚(1992-),男,河南息县人,在读硕士研究生,研究方向为遗传育种,(电话)17337529132(电子信箱)

1530026291@qq.com;通信作者,耿广东,男,教授,主要从事蔬菜栽培生理与生物技术方面的教研工作,(电子信箱)genggd213@163.com。

基因组、物种起源、进化和种族关系的鉴定都具有重要的参考价值;最后,还可以在栽培上用于良种筛选,为遗传育种等提供实际应用价值。周明等<sup>[9]</sup>采用压片法对黄连不同品系植株的染色体数目进行统计及核型分析,发现大花叶黄连和有光叶黄连核型类型均为 1A,而小花叶黄连核型类型为 3B,从而发现黄连不同品系间染色体进化程度有所差异。佛手瓜种子少,一个瓜只能结一粒种子,较难获得其根尖细胞,且其染色体小、染色能力较弱<sup>[10]</sup>。目前国内外关于佛手瓜根尖细胞染色体核型分析方面的文献鲜见报道。本试验对佛手瓜根尖细胞的染色体核型进行分析,以期确定佛手瓜根尖细胞染色体的条数,了解根尖细胞染色体的核型特点,为佛手瓜的遗传研究和合理开发利用提供细胞学依据,为相近科属植物的细胞学分析提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为贵州省毕节市野生的绿皮佛手瓜品种。

### 1.2 方法

**1.2.1 染色体滴片** 将佛手瓜果实置于湿润草炭基质上常温培养生根,待根长至 1.0~3.0 cm 时,选长势粗壮的根系,剪取约 0.4~1.0 cm 的根尖放入打孔的离心管中,根尖朝上;充入  $N_2O$  处理 2 h,使得其根尖细胞的染色体最大程度地缢缩在中期状态,易于观察;接着加 90% 乙酸固定 8 min,用去离子水冲洗 2~3 遍;取出根尖,切取根尖露白处放入加有纤维素果胶酶溶液的离心管中,置于 37 ℃ 的水浴锅中加热酶解 55 min 后,挑取根尖并捣碎,然后放入离心机中以 6 000 r/min 离心 1 min 后倒掉上清液,晾干后加无水乙酸滴片。

**1.2.2 核型分析** 将滴好的片子先用 DAPI (4',6-

二脒基-2-苯基吡啶)DNA 荧光染料染色后,在 OLMPUS BX60 荧光显微镜(奥林帕斯公司)下选取染色体分散相好、形态清晰的中期细胞,用 Cellsens Standard 摄像系统(奥林帕斯公司)照相。

选取 60 个染色体分散较好的中期细胞统计染色体数目,选取至少 5 个分裂相好且染色清晰的细胞用于核型分析。使用 MicroMeasure 3.0 软件对 5 个细胞的染色体进行测量,对测量数据进行整理,取其平均值。按照李懋学等<sup>[11]</sup>的标准,使用 Excel 2007 软件对染色体的相对长度、臂比及类型进行核型分析;按 Stebbins<sup>[12]</sup>的标准进行核型分类;染色体相对长度系数采用 Kuo<sup>[13]</sup>等的方法作计算标准;核型不对称系数参照 Arano 等<sup>[14]</sup>的标准,比值愈大,愈不对称<sup>[15]</sup>;按照乔永刚等<sup>[16]</sup>的方法绘制佛手瓜根尖细胞染色体的核型模式图。

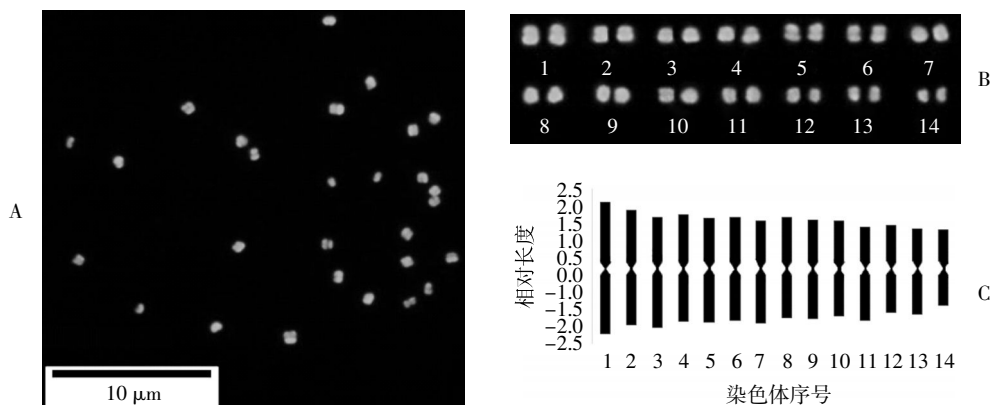
## 2 结果与分析

### 2.1 佛手瓜染色体数目及形态分析

根据所选取的 60 个染色体清晰且分散良好的细胞计数,发现佛手瓜的染色体数目为  $2n=2x=28$  (图 1A 和 1B),佛手瓜中期染色体又短又粗,因此其外观形态呈现长圆形或椭圆形等近圆形特点;每条染色体上均未发现随体。核型模式图可以直观地、量化地表现出植物染色体组内每条染色体的相对长度。本试验以佛手瓜染色体长臂和短臂的相对长度为纵坐标,以同源染色体编号为横坐标绘制核型模式图(图 1C),染色体用条形图来表示,其中 1 号染色体最长,14 号染色体最短,1—14 号染色体长度从大到小依次排列。

### 2.2 佛手瓜染色体核型分析

采用 MicroMeasure 3.0 软件测量 5 个分裂相比较好的佛手瓜中期染色体的长臂长度、短臂长度、总长度,计算其相对长度,以其平均值为核型参数进行核



比例尺为 10 μm

图 1 佛手瓜根尖细胞染色体核型(A、B)及核型模式(C)

型分析。结果(表 1)显示,14 对染色体的臂比分布为 1.05~1.38,都为中部着丝点染色体(m),其染色体核型公式为  $2n=2x=28=28m$ 。染色体长度比(最长染色体与最短染色体的比值)为 1.74;核型不对称系数(长臂总长/全组染色体总长 $\times 100\%$ )为 53.55%,其比值越大越不对称,由此可推出佛手瓜属于对称核型,核型是 1A 类型。

表 1 佛手瓜染色体核型分析参数

染色体编号	相对长度			臂比	类型
	长臂	短臂	总长		
1	2.18	2.07	4.25	1.05	m
2	1.89	1.79	3.68	1.06	m
3	1.98	1.58	3.56	1.25	m
4	1.78	1.66	3.44	1.07	m
5	1.82	1.53	3.35	1.19	m
6	1.76	1.56	3.32	1.13	m
7	1.84	1.45	3.29	1.27	m
8	1.67	1.57	3.24	1.06	m
9	1.69	1.49	3.18	1.13	m
10	1.61	1.47	3.08	1.10	m
11	1.75	1.27	3.02	1.38	m
12	1.51	1.31	2.82	1.15	m
13	1.57	1.19	2.76	1.32	m
14	1.28	1.16	2.44	1.10	m

### 3 讨论

由于佛手瓜一个瓜只能结一粒种子,并且其种子在脱离果肉后就不能正常萌发,很难获得足够多的幼根根尖来研究染色体。此外,葫芦科植物的染色体较小,且染色能力较弱,形态上也较难识别<sup>[17]</sup>。因此,本试验采用  $N_2O$  处理佛手瓜根尖细胞,让根尖细胞的染色体最大程度地缢缩在中期状态,以便于观察计数,试验中设置多组酶解时间、 $N_2O$  处理时间进行对比,最后发现在酶解 55 min、 $N_2O$  处理 2 h 时佛手瓜根尖细胞细胞壁裂解较彻底,染色体缢缩程度最佳,最易于观察计数。将滴好的片子在镜检前用 DAPI 复染,更易于观察细胞分裂状态和染色体清晰程度,从而获得更清晰的制片效果,得到更准确的试验结果。试验发现佛手瓜中期染色体又短又粗,其外观形态呈长圆形或椭圆形等近圆形特点。钱春桃等<sup>[10]</sup>利用卷须制片发现佛手瓜染色体数目为 28 条,但他们的研究方法中应用化学药剂如 8-羟基喹啉处理,如果预处理时间过长,可能会导致中期染色体收缩过度等情况发生,从而影响对染色体随体的识别。本研究结果显示,佛手瓜的染色体数目为  $2n=2x=28$  条,获得了与前人一致的结果。葫芦科植物中

罗汉果的染色体数目为 28 条<sup>[18]</sup>,而南瓜等其他葫芦科植物的染色体数目通常为 22、24、26 和 40 条等<sup>[17-20]</sup>。从葫芦科植物的染色体数目来看,佛手瓜与罗汉果的染色体数目是一样的,它们之间的亲缘关系可能较近。

前人报道葫芦科植物多为二倍体,丝瓜、菜瓜、西瓜、苦瓜和香瓜属植物的核型都较为对称,染色体主要为中部着丝点,其次是亚中部着丝点或近中部着丝点<sup>[17,19]</sup>。本试验佛手瓜核型分析结果显示,佛手瓜的染色体数目为  $2n=2x=28$  条,为二倍体蔬菜作物,其 14 对染色体的臂比分布在 1.05~1.38,均为中部着丝点染色体,染色体核型公式为  $2n=2x=28=28m$ 。根据 Stebbins<sup>[12]</sup>理论,将染色体核型按对称性程度的高低分为 12 种类型(1A~4A,1B~4B,1C~4C),核型对称性程度越高的生物,其染色体变异越小,进化程度越低;而非对称性程度越高的生物,其染色体变异越大,进化程度越高。本试验佛手瓜最长染色体是最短染色体的 1.74 倍,核型是 1A 类型,核型不对称系数为 53.55%,属于对称核型。本试验佛手瓜核型与西瓜<sup>[18]</sup>的核型是一致的,皆为 1A 类型,而菜瓜、哈密瓜和丝瓜的核型属于 2A 类型,冬瓜和苦瓜的核型属于 2A 或 2B 类型<sup>[17-20]</sup>。根据生物核型进化的基本趋势是由对称或同型的向不对称型、异型化发展理论,结合试验核型分析结果可推测,该佛手瓜比这些葫芦科植物的进化程度低。

#### 参考文献:

- [1] 关佩聪.佛手瓜.中国农业百科全书(蔬菜卷)[M].北京:中国农业出版社,1990.
- [2] 杜先锋.佛手瓜营养成分的分析研究[J].食品科技,2002(2):72-73.
- [3] 杨海涛.佛手瓜黄酮类化合物提取工艺的优化[J].湖北农业科学,2008,47(4):460-462.
- [4] 莫凤珊,陈 杰,李尚德.佛手瓜微量元素含量的测定[J].广东微量元素科学,2005,12(9):71-72.
- [5] 张奇志,邓欢英,林丹琼,等.佛手瓜果实中营养保健成分的分析研究[J].食品研究与开发,2007,28(8):139-142.
- [6] 李家洲,黄荣林,肖玉平,等.佛手瓜叶绿素提取及稳定性研究[J].食品科技,2011,36(9):242-246,250.
- [7] 张福平,张喜春.佛手瓜多酚氧化酶酶学特性研究[J].食品科学,2010,31(1):161-164.
- [8] 王 莹,辛士刚,曲 娜,等.佛手与佛手瓜中微量元素的测定[J].光谱实验室,2006,23(2):360-362.
- [9] 周 明,司海倩,张 凡,等.不同品系黄连的核型分析[J].湖北农业科学,2017,56(11):2079-2081.
- [10] 钱春桃,罗向东,陈劲枫,等.利用卷须制片确认佛手瓜染色体数目[J].南京农业大学学报,2002,25(2):113-114.
- [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.