

西藏白菜型黄籽油菜地方品种的核型分析

李梦寒¹, 次仁白珍², 安克杰¹, 何燕¹, 旦巴^{1*}

(1. 西藏大学农牧学院, 西藏 林芝, 860000; 2. 西藏农牧科学院农业研究所, 西藏 拉萨, 850002)

摘要:为研究西藏白菜型黄籽油菜遗传种质特性的细胞学信息, 选取 8 份西藏白菜型黄籽油菜地方品种为材料, 采用常规压片法进行核型分析, 并利用染色体主要核型参数进行进化和聚类分析。结果表明: 供试材料的染色体数目一致, 均为 $2n=20$, 染色体均由中部着丝粒染色体(m)和亚中部着丝粒染色体(sm)组成, 均带有 1 对随体。核型类型均为对称型 2A 型。染色体形态结构存在一定的差异, 染色体长度比变幅为 1.60 ~ 1.91, 平均臂比为 1.33 ~ 1.52, 不对称指数介于 56.08% ~ 58.85% 之间。以核型不对称性评定参试材料进化程度, 塔巴寺黄籽的进化程度最高, 夏鲁寺黄籽的进化程度最低; 核型特征聚类将 8 份材料分为 3 组。进化和聚类分析发现, 西藏白菜型黄籽油菜进化速度较慢, 在系统演化过程中处于较为原始的地位。

关键词:白菜型油菜; 黄籽; 西藏地方品种; 核型分析

中图分类号: S565.403 文献标识码: A 文章编号: 1007-9084(2016)05-0549-06

Karyotype study of yellow – seed rape landraces (*Brassica rapa* L.) of Tibet China

LI Meng – han¹, CIREN Bai – zhen², AN Ke – jie¹, HE Yan¹, DAN Ba^{1*}

(1. Agricultural and Animal Husbandry College of Tibet University, Linzhi 860000, China;

2. Agricultural Research Institute of Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850002, China)

Abstract: To gain more information of the cytological of Tibetan yellow – seed rape (*Brassica rapa* L.), 8 yellow – seed rape landraces from Tibet China were selected and performed by tableting observation based on karyotypic parameters. Results showed that each material had 20 chromosomes composed by median region chromosomes (m) and sub – median region chromosomes (sm) with a pair of satellites. Their karyotype belonged to 2A type. Their chromosome morphology was different. The differences included Lt/St (1.60 – 1.91) (with average arm ratio of 1.33 – 1.52) and asymmetry index from 56.08% to 58.85%. According to karyotype dissymmetry coefficient, their evolution degree showed that Taba Monastery yellow – seed was the highest, and Xialu Monastery yellow – seed was the lowest. 8 landraces could be divided into 3 groups by karyotype features. Evolution and cluster analysis results showed that the evolutionary rate of yellow – seed rape landraces from Tibet was slow. These landraces were still at their original evolutionary stage.

Key words: Yellow seed rape; *Brassica rapa* L.; Landraces from Tibet China; Karyotype

白菜型油菜是油菜三大栽培种之一, 作为栽培油菜基本种, 其种皮颜色多样, 蕴藏着丰富的黄籽种质资源。已有的研究认为黄籽性状由数个独立的基因位点控制^[1], 但不同学者对控制白菜型油菜黄籽性状的基因类型、数目以及基因间的互作关系存在

不同观点, 多数学者认为白菜型油菜的黄籽性状受隐性基因控制。Mohammad 等^[2]通过对黄籽沙逊油菜的研究提出黄籽性状受 3 对隐性基因控制, Stringam^[3]则认为黄籽沙逊油菜的种皮颜色受 2 对独立隐性基因控制; Ahmed^[4]的研究表明白菜型油

收稿日期: 2016-05-17
基金项目: 国家自然科学基金(31160292); 林芝地区农林作物新品种引进示范种植技术研究项目; 西藏特色农牧资源研发协同创新中心—作物研究方向(XZXTCX-03)
作者简介: 李梦寒(1984-), 女, 回族, 河南兰考县人, 讲师, 硕士, 主要从事高原作物栽培和选育研究, E-mail: limenghan009@163.com
* 通讯作者: 旦巴, 男, 藏族, 西藏仁布县人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事油菜遗传研究, E-mail: dbtebit@163.com

菜的黄籽性状受 1 对基因控制; Padmaja^[5]、Rahman^[6]等提出白菜型油菜的黄籽性状由 2 个隐性基因位点控制。而何余堂等^[7]则认为白菜型油菜的黄籽颜色受 2 对共显性基因控制。黄籽油菜具有含油量高、饼粕蛋白质含量高,纤维素含量低,油质透亮,营养价值高等特点^[8],在相同遗传背景下,黄籽品种含油量比黑籽、褐籽品种高 1~5 个百分点^[9],故黄籽性状是油菜育种的重要目标之一。

核型是生物染色体水平上的表型,每一物种都有其特定的核型。核型分析是细胞遗传学中研究染色体特性的最常用和最基本的方法。通过核型分析有助于判断物种之间的亲缘关系,揭示物种的进化过程和机制^[10]。目前,我国学者已对油菜物种进行了大量的细胞学研究^[11~14],但有关西藏油菜种质核型的研究却鲜有报道。西藏白菜型油菜具有千粒重大、含油量高的显著特点^[15,16],且存在多种黄籽油菜地方品种,种皮色泽丰富。本研究选取 8 份西藏白菜型黄籽油菜地方品种进行体细胞染色体核型分析,以了解西藏白菜型黄籽油菜的染色体数目、大小和形态,通过分析其细胞染色体的差异,揭示品种间的亲缘关系、进化趋向,为西藏油菜的分型、鉴定、保存和利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

8 份西藏原生型白菜型黄籽油菜地方品种(表 1)。

表 1 实验材料名称及来源

Table 1 Name and origin of tested materials (landraces)

序号 Code	名称 Landraces	来源地 Origin
1	白居寺 1 号 Baiju Monastery 1	日喀则市江孜县 Jiangzhi, Rikaze
2	白居寺 2 号 Baiju Monastery 2	日喀则市江孜县 Jiangzhi, Rikaze
3	贡噶萨黄籽 Gonggasa yellow - seed	山南地区曲松县 Qusong, Shannan
4	占堆黄籽 Zhandui yellow - seed	山南地区乃东县 Naidong, Shannan
5	藏噶黄籽 Zangga yellow - seed	山南地区桑日县 Sangri, Shannan
6	卡乃黄籽 Kanai yellow - seed	山南地区桑日县 Sangri, Shannan
7	夏鲁寺黄籽 Xialu Monastery yellow - seed	日喀则市 Rikaze
8	塔巴寺黄籽 Taba Monastery yellow - seed	拉萨市墨竹工卡县 Mozhugongka, Lasa

1.2 方法

所有材料于 2014 年在西藏大学农牧学院实习

农场内进行隔离繁殖、收获种子,于 2015 年在华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室完成核型分析实验。

1.2.1 核型分析 每份材料取 20 粒种子放置于垫有滤纸的培养皿内,倒入蒸馏水浸泡种子 6h 后,将多余的蒸馏水吸出,置于 20℃ 下暗培养 28h(要保持滤纸始终处于湿润状态)。当根尖长度在 1cm 左右时,用剪刀剪取根尖置于 0.002mol/L 的 8-羟基喹啉中,室温下暗处理 2~3h。将根尖转入卡诺氏固定液中固定过夜。次日将材料转入新鲜的卡诺液中保存备用。制片时取出材料于 1mol/L HCL 中 60℃ 水浴 6min,蒸馏水浸泡 1min,将材料置于干净的载玻片上,用解剖针或者镊子将其捣碎。弃掉大块的残渣后,加一滴卡宝品红染色液染色 30s 后常规方法压片,置显微镜下观察拍照。

1.2.2 数据分析 染色体数目的确定依据李懋学和陈瑞阳^[17]的方法和标准,选取 30 个体细胞进行染色体数目统计,85% 以上的细胞具有相同的染色体数目认定为该品种的染色体数目。利用 ImageJ 软件测定染色体长度、长臂、短臂、次缢痕及随体等,利用 Excel 计算臂比、着丝粒指数、核型不对称指数、染色体长度比等核型参数,有随体的染色体,其随体长度及次缢痕长度未计入全长。依据 Levan 的二点四区系统标准^[18]确定染色体着丝粒位置、核型公式。依据 Stebbins^[19]的染色体长度比和臂比两项特征标准确定核型分类。利用 Photoshop 及 Excel 制作核型图、核型模式图。

参照周娅^[20]以平均臂比为横坐标,染色体长度比为纵坐标的方法绘制核型不对称性散点图。参照刘慧民^[21]和戴小红^[22]的方法利用 DPS 软件将不对称系数、染色体长度比、平均臂比等核型参数原始数据进行标准化转化,采用欧氏距离,最长距离法进行系统聚类分析。

2 结果与分析

2.1 核型特征分析

8 份西藏白菜型黄籽油菜地方品种的主要核型参数见表 2,染色体分裂相、核型图、核型模式图见图 1。供试材料均为二倍体,体细胞染色体数目均为 $2n=2x=20$,染色体均由中部着丝粒染色体(m)和亚中部着丝粒染色体(sm)组成,且均具有 1 对随体染色体,核型分类均为对称核型 2A 型,但 8 份材料的染色体形态结构存在一定的差异,主要反映在不同类型染色体数目、随体所处位置,不对称指数、染色体长度比、臂比等。

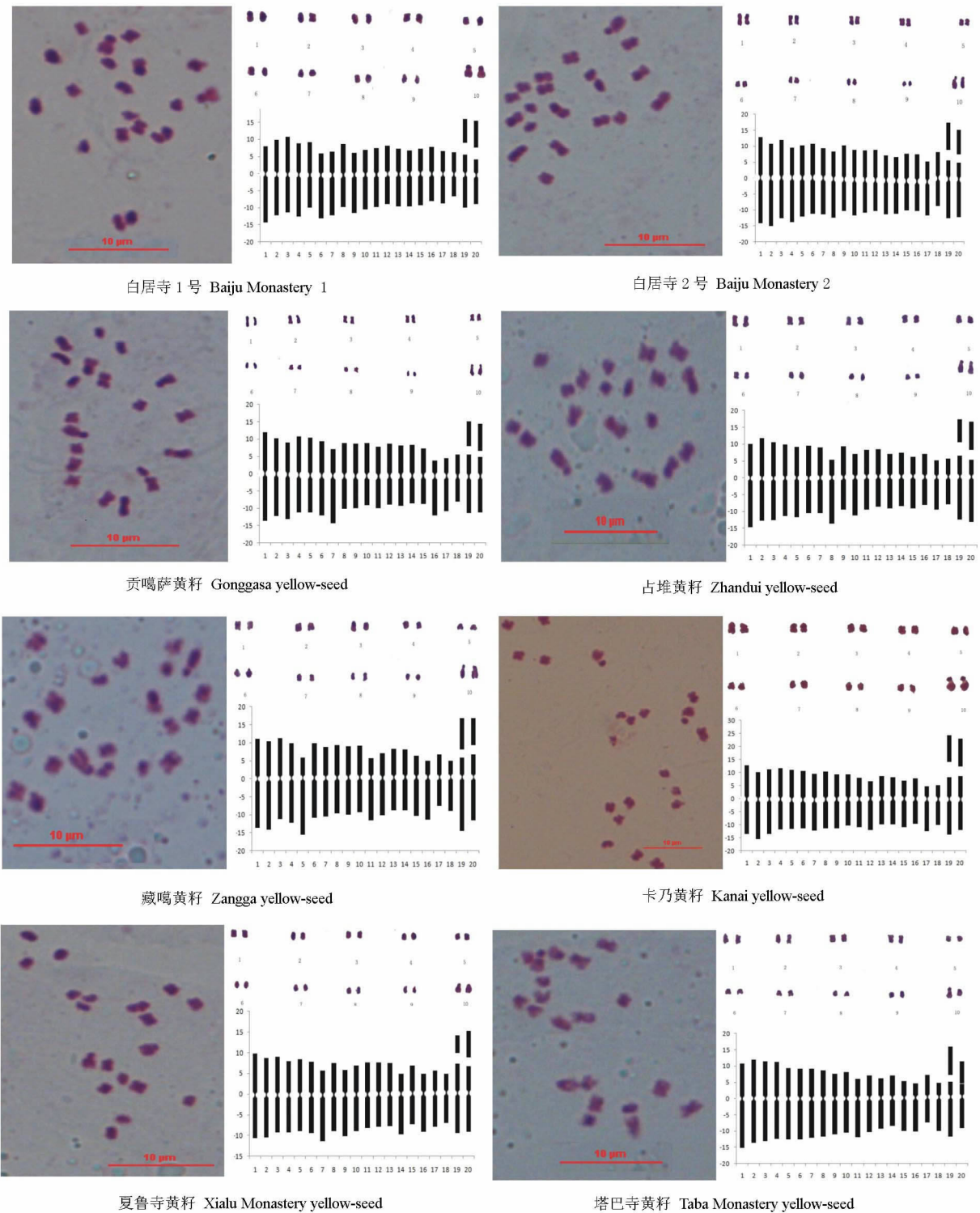


图 1 8 份材料的分裂相、核型图及核型模式
Fig. 1 Division cells at prometaphase, karyotype and karyotype pattern of the 8 landraces

由表 2 可见,白居寺 1 号、藏嘎黄籽、塔巴寺黄籽等 3 份材料染色体由 14 条中部着丝粒染色体、6 条亚中部着丝粒染色体组成,随体位于亚中部着丝粒染色体上。白居寺 2 号、贡嘎萨黄籽、占堆黄籽均为 16 条中部着丝粒染色体、4 条亚中部着丝粒染色体,随体位于亚中部着丝粒染色体上。而卡乃黄籽、

夏鲁寺黄籽与白居寺 2 号等材料具有相同的染色体组成,但其随体位于中部着丝粒染色体上。供试材料的不对称指数介于 56.08% ~ 58.85% 之间,染色体长度比变幅为 1.60 ~ 1.91,平均臂比为 1.33 ~ 1.52。参试材料的核型特征较为相似,说明参试材料之间的亲缘关系较近,进化差异不显著。参试材

料的核型类型均为对称型,说明西藏白菜型黄籽油 中处于较为原始的地位。
菜的进化程度较低,进化速度较慢,在系统演化过程

表 2 8 份西藏黄籽油菜的核型参数
Table 2 Karyotypic parameters of 8 yellow – seed rape landraces

品种 Material	核型公式 Karyotype formula	不对称指数 Karyotype asymmetry index/%	染色体长度比 Chromosome length ratio	平均臂比 Mean arm ratio	核型分类 Karyotype type
白居寺 1 号 Baiju Monastery 1	2n = 2x = 20 = 14m + 6sm(2SAT)	58.35	1.73	1.45	2A
白居寺 2 号 Baiju Monastery 2	2n = 2x = 20 = 16m + 4sm(2SAT)	57.48	1.60	1.44	2A
贡噶萨黄籽 Gonggasa yellow – seed	2n = 2x = 20 = 16m + 4sm(2SAT)	57.49	1.91	1.46	2A
占堆黄籽 Zhandui yellow – seed	2n = 2x = 20 = 16m + 4sm(2SAT)	57.03	1.85	1.41	2A
藏嘎黄籽 Zangga yellow – seed	2n = 2x = 20 = 14m + 6sm(2SAT)	57.93	1.75	1.47	2A
卡乃黄籽 Kanai yellow – seed	2n = 2x = 20 = 16m(2SAT) + 4sm	56.59	1.73	1.38	2A
夏鲁寺黄籽 Xialu Monastery yellow – seed	2n = 2x = 20 = 16m(2SAT) + 4sm	56.08	1.70	1.33	2A
塔巴寺黄籽 Taba Monastery yellow – seed	2n = 2x = 20 = 14m + 6sm(2SAT)	58.85	1.89	1.52	2A

2.2 进化分析

以平均臂比为横坐标,染色体长度比为纵坐标绘制核型不对称性散点图,坐标点的位置可表示其核型不对称性及进化程度。核型不对称性越大,进化程度越高,核型不对称越小,进化程度越低。坐标点越靠近左下方说明核型不对称性越小,进化程度越为原始,坐标点越靠近右上方说明核型不对称性

越大,进化程度越高。由图 2 可知,8 份材料中夏鲁寺黄籽的核型不对称性最小,进化程度最为原始。其次是卡乃黄籽、占堆黄籽、贡噶萨黄籽。塔巴寺黄籽核型不对称性最大,进化程度最高。以上 5 份材料在平均臂比和染色体长度比方向进化趋势较为一致。而白居寺 2 号、白居寺 1 号、藏嘎黄籽仅在平均臂比方向进化趋势较快。

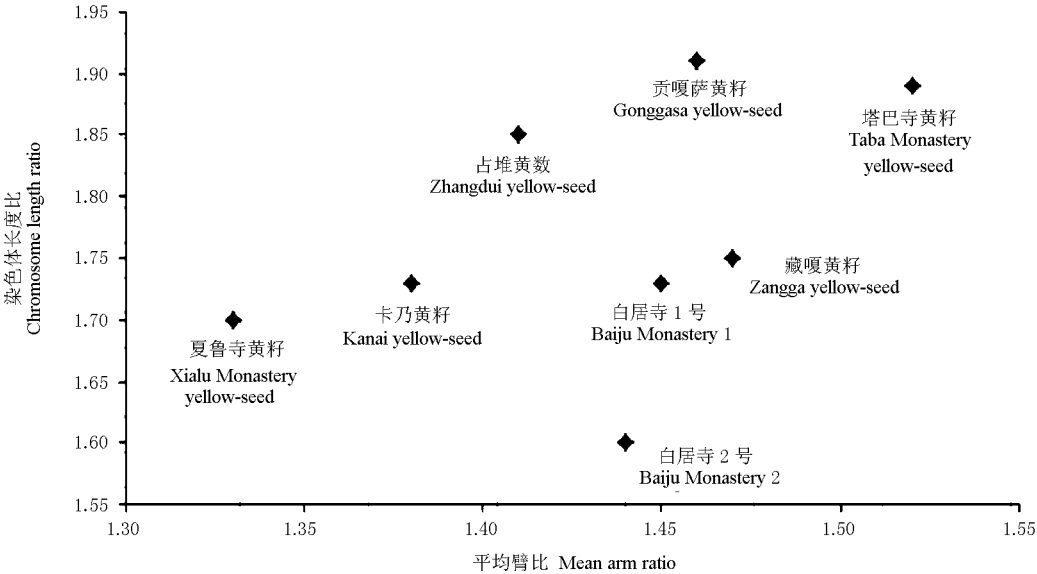


图 2 8 份黄籽油菜的核型不对称性散点图
Fig.2 Scatter diagram of 8 yellow – seed rape landraces based on their degree of karyotype asymmetry

2.3 聚类分析

由图 3 可知,当阈值为 2.88 时,可将 8 份材料分为三个类群,第Ⅰ类群包括白居寺 1 号、藏嘎黄籽和白居寺 2 号,此类群在平均臂比方向进化较快。第Ⅱ类群包括卡乃黄籽和夏鲁寺黄籽,此类群核型

不对称性较小,进化较为原始。第Ⅲ类群包括贡噶萨黄籽、占堆黄籽和塔巴寺黄籽,此类群在染色体长度比、平均臂比方向进化较为一致,且核型不对称指数相对较大,进化程度相对较高。

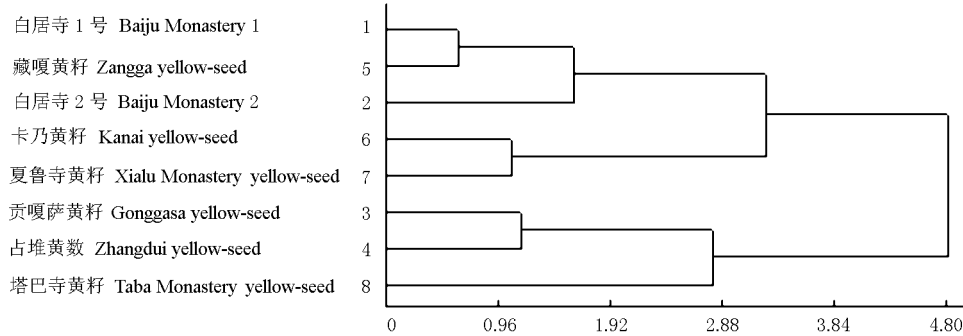


图 3 8 份黄籽油菜的聚类分析图
Fig.3 Dendrogram of cluster analysis of 8 yellow-seed rape landraces

3 讨论

8 份西藏白菜型黄籽油菜地方品种的染色体数目一致,均为 $2n = 20$,且均有 1 对染色体带随体。染色体均由 m 和 sm 两种染色体类型组成。该结果与杜新^[11]、唐泽静^[12]的研究结果较为一致。不同品种的染色体形态、大小、组成及随体所处的位置有细微差异,表明品种间的起源及亲缘关系较近,进化速度较慢。

Levitzy 在 1930 年^[23]首次提出核型的对称与不对称概念,并指出有花植物中核型不对称性程度可以衡量核型的进化程度。本研究中供试品种的核型类型均为对称型 2A 型,结合核型不对称性指数、散点图和聚类分析图可以看出,8 份西藏白菜型黄籽油菜地方品种在物种系统演化中所处的地位较为原始,这可能与西藏地区油菜选育水平较落后,所选材料没有受到人工选择作用的影响有关。其中,夏鲁寺黄籽、卡乃黄籽进化速度最慢,进化程度最低。贡嘎萨黄籽、占堆黄籽、塔巴寺黄籽进化速度较快,进化程度较高,且在染色体长度比、平均臂比方向进化较为一致。而白居寺 1 号、白居寺 2 号、藏嘎黄籽仅在平均臂比方向进化较快。该结果与王建林^[24]提出的西藏芸薹属发生以来就没有发生过巨大的灾害性的环境变化,从而使西藏原始的、古老的类群得以保存,并得以分化和形成各种类型的观点较为一致。尽管用染色体资料可以在一定程度上说明各材料间的亲缘关系、进化趋向,但在进一步的研究中还应获取更多的西藏白菜型黄籽油菜的核型资料,并结合栽培观察试验、化学与分子生物学等方面的分类资料全面分析,以更好地揭示西藏白菜型黄籽油菜地方品种间的亲缘关系和进化趋向。

致谢:感谢华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室的李再云教授、朱斌博士对实验的大力支持和精心指导。

参考文献:

[1] Mittapalli O, Rowland G. Inheritance of seed color in flax [J]. Crop Sci, 2003, 42: 1 945 - 1 951.

[2] Mohammad A, Irka S M, Aziz M A. Inheritance of seed color in some *Brassica oleiferous* [J]. Ind J Genet Breed, 1942, 2: 112 - 127.

[3] Stringam G R, McGregor D I, Pawlowski S H. Chemical and morphological characteristics associated with seed coat color in rapeseed [A]. Proceedings of the 4th International Rapeseed Congress [C]. Giessen, Germany, 1974. 99 - 108.

[4] Ahmed S U, Zuberi M I. Inheritance of seed coat color in *Brassica campestris* L. variety Toria [J]. Crop Sci, 1971, 11: 309 - 310.

[5] Padmaja K L, Arumugam N, Gupta V, et al. Mapping and tagging of seed coat colour and the identification of microsatellite markers for marker-assisted manipulation of the trait in *Brassica juncea* [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 8 - 14.

[6] Reham M, McVetty P B E, Li G. Development of SRAP, SNP and multiplexed SCAR molecular markers for the major seed coat color gene in *Brassica rapa* L. [J]. Theor Appl Genet, 2007, 115: 1 101 - 1 107.

[7] 何余堂,涂金星,傅廷栋,等. 白菜型油菜黄籽与多室性状的遗传研究 [A]. 2003 年全国作物遗传育种学术研讨会论文集 [C]. 北京:中国作物学会, 2003. 113 - 117.

[8] 刘后利. 我国油菜育种研究的进展 [J]. 中国农学通报, 1988 (5): 18 - 22.

[9] 刘后利. 甘蓝型黄籽油菜的遗传研究 [J]. 作物学报, 1992, 18 (4): 241 - 249.

[10] 李懋学. 植物染色体的大小变异和进化 [J]. 生物学通报, 1985, (5): 14 - 16.

[11] 杜新,唐泽静. 从油菜 6 个物种的核型追溯其进化和关系 [J]. 西南农业大学学报, 1989, 11 (3): 275 - 278.

[12] 唐泽静,杜 新. 六个油菜物种的染色体组型分析[J]. 西南农业大学学报,1987,9(1):59-65.

[13] 杨 萍,利容千,曾子申. 新疆野生油菜和西德“尤嫩斯”黑芥的细胞学研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版),1987,2:88-92.

[14] 刘 勇,林 刚,何光源,等. 两个油菜种的染色体核型分析[J]. 华中科技大学学报(自然科学版),2005,33(3):119-121.

[15] 刘后利. 几种芸薹属油菜的起源和进化[J]. 作物学报,1984,10(1):10-17.

[16] 钱秀珍,伍晓明,胡 琼,等. 油菜种质资源的搜集鉴定保存和利用[J]. 中国油料,1996,18(1):60-63.

[17] 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.

[18] Levan A. Nomenclature for centromere position in chromosome[J]. Hereditas,1964,52:201-220.

[19] Stebbins G L. Chromosome evolution in high plants[M]. London: Edward Arnold,1971. 87-90.

[20] 周 娅. 九种松属植物的核型研究[D]. 雅安:四川大学农业大学,2012.

[21] 刘慧民,陈雅君,吕贵娥,等. 17种绣线菊核型特征及核型参数分析[J]. 园艺学报,2010,37(9):1456-1462.

[22] 戴小红. 秦巴山区百合属植物的核型多样性与亲缘关系分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2006.

[23] Levitzky G A. The karyotypein systematics[J]. Bulletin Appl Bot Genet Plant Breeding,1931,27:220-240.

[24] 王建林,何 燕,栾运芳. 中国芸薹属植物的起源、演化与散布[J]. 中国农学通报,2006,22(8):489-494.

(责任编辑:郭学兰)