

文章编号:1674-7054(2011)03-0241-05

甜瓜属 12 份种质的核型分析

成善汉¹, 王吉明², 林师森¹, 李春子¹, 候凯腾¹

(1. 海南大学 园艺园林学院/热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室 海南 海口 570228;

2. 中国农业科学院 郑州果树研究所 河南 郑州 450009)

摘要: 利用染色体压片技术对 1 份野生种甜瓜和 11 份近缘野生种甜瓜的核型进行分析, 结果表明, 除西印度瓜、迪普沙瓜各有 1 份种质染色体分别为 $2n=48$ 、 $2n=44$ 外, 其余种质染色体均为二倍体 $2n=24$ 。10 份染色体数为 24 的甜瓜种质核型可分为 5 种类型: 迪普沙瓜、普拉菲瓜为 $24m$; 马包瓜为 $2M+18m+4sm$; 泡状瓜、非洲瓜、小果瓜、无花果叶瓜、西印度瓜为 $20m+4sm$; 酸黄瓜为 $14m+10sm$; 吉赫瓜为 $12m+12sm$, 未发现随体。除马包瓜属 2A 型, 迪普沙瓜、普拉菲瓜为 1B 型, 非洲瓜为 2C 型外, 其余种质皆为 2B 型。

关键词: 甜瓜; 近缘植物; 染色体计数; 核型中图分类号: S 652.9; Q 343.2⁺²

文献标志码: A

甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 是葫芦科甜瓜属一年生草本植物, 原产于非洲热带沙漠地区。甜瓜属植物类型多样, 根据地理起源和染色体基数理论, Jeffrey 将甜瓜属分为甜瓜亚属和黄瓜亚属, 其中黄瓜亚属染色体基数是 7, 甜瓜亚属染色体基数是 12^[1]。除常见的栽培作物甜瓜和黄瓜外, 甜瓜属还有约 30 种的近缘植物, 对这些甜瓜近缘野生种, 以前的研究多集中在栽培和种间杂交上, 还没有细胞学特别是核型分析的相关报道^[2]。笔者以 11 种甜瓜近缘野生种和 1 种甜瓜野生种为试材, 研究其染色体形态、倍性、数目、核型特性, 旨在为研究甜瓜属植物的遗传变异、系统进化、种间亲缘关系及杂交育种选育等方面提供试验依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 本试验选用 1 份野生种甜瓜和 11 份近缘野生种甜瓜为材料, 野甜瓜采自河南郑州的野生状态的马包瓜, 11 份近缘野生种甜瓜中, 酸黄瓜采自云南西双版纳山上的自然株群, 其余材料来自美国中北地区引种站, 产地为非洲(见表 1)。

表 1 12 份甜瓜近缘野生种和野生种的来源

植物名称	来源	植物名称	来源
野甜瓜(马包瓜) (<i>C. bisexualis</i>)	河南郑州	吉赫瓜 (<i>C. zeyheri</i>)	美国
酸黄瓜 (<i>C. hystrix</i>)	云南西双版纳	无花果叶瓜 (<i>C. ficifolius</i>)	美国
迪普沙瓜 (<i>C. dipsaceus</i>) 2 份	美国	非洲瓜 (<i>C. africanus</i>)	美国
普拉菲瓜 (<i>C. prophetarum</i>)	美国	西印度瓜 (<i>C. anguria</i>) 2 份	美国
小果瓜 (<i>C. myriocarpus</i>)	美国	泡状瓜 (<i>C. pustulatus</i>)	美国

1.2 制片和镜检方法 制片和镜检方法参见文献 [3] 的方法, 略做修改。取饱满、大小一致、无病虫害的甜瓜种子, 温烫浸种后放置在 33 ℃ 培养箱中催芽。于上午 8:00 左右取生长旺盛的根尖(约 0.5 cm), 于室温条件下采用饱和对二氯苯预处理 2.5 h, 蒸馏水冲洗 2~3 次, 卡诺固定液固定 24 h, 然后放入 $\varphi=70\%$ 的酒精中备用。

收稿日期: 2011-09-09

基金项目: 热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室项目(2009); 中国农业科学院基本科研业务费项目(0032009029); 海南省教育厅 2008 年高校研究生创新研究项目(Hxwsy2008-05)

作者简介: 成善汉(1975-), 男, 湖北阳新人, 海南大学农学院副教授, 博士, 硕士生导师。

采用酸解法对实验材料进行离解: 60 °C 条件下用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 酸解约 10 min, 水洗 3 次, 再用卡宝品红染色液染色, 将根尖置于载玻片上, 加入 $w = 45\%$ 的醋酸 1 滴, 加盖玻片, 轻轻敲打、挤压盖玻片, 使根尖细胞均匀散开。统计的细胞数目应在 30 个以上, 以其中 85% 以上的细胞具有恒定一致的染色体数目作为该植物种染色体数目。选择染色较好, 且染色体较为分散的无重叠的有丝分裂细胞拍照并观察。

1.3 核型及亲缘关系分析 将 10 种甜瓜的染色体核型图打印在纸上, 用剪刀将对染色体的形状剪下来, 用游标卡尺进行逐一测量和比对并记录数据, 每个类群取 5 个细胞的核型平均值。核型分析采用 Levan 等两点四区系统法^[4], 核型分类依据 Stebbins 的对称性标准划分^[5], 同时参照李懋学和陈瑞阳的核型分析标准^[6]。利用 6SQ 软件对各甜瓜材料亲缘关系进行分析。

2 结果与分析

2.1 染色体数及倍性观察 各甜瓜近缘及野生种有丝分裂中期染色体分布见图 1。野甜瓜(马包瓜)、酸黄瓜、普拉菲瓜、小果瓜、无花果叶瓜、吉赫瓜、泡状瓜和非洲瓜体细胞染色体数为 $2n = 24$; 迪普沙瓜 2 份材料染色体数分别为 $2n = 24$ 、 $2n = 44$; 西印度瓜 2 份材料体细胞染色体数分别为 $2n = 24$ 、 $2n = 48$ 。可见, 在甜瓜近缘野生种中存在非整倍体及染色体加倍现象。

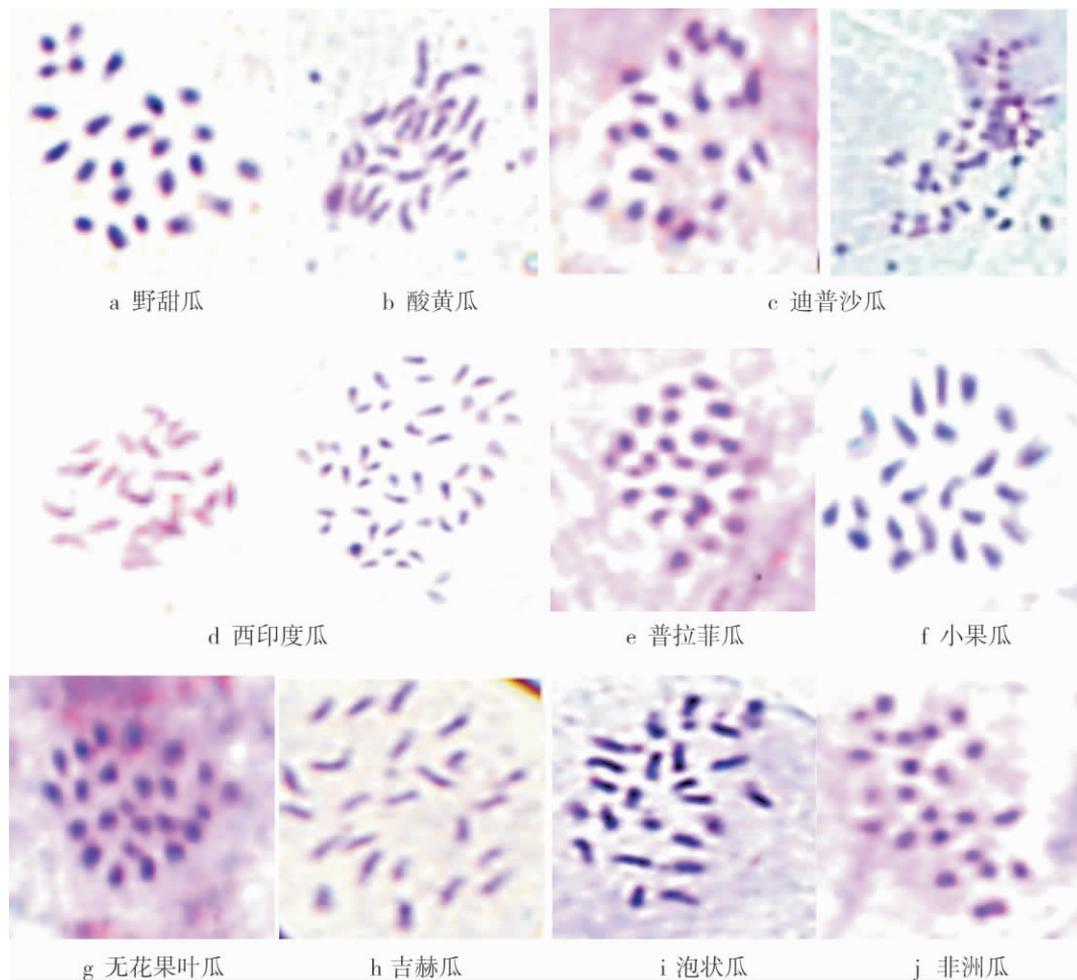


图 1 12 份(10 种)甜瓜有丝分裂中期图(显微倍数为 40×10)

2.2 染色体的核型分析

2.2.1 各野生材料染色体核型图 核型(karyotype)是一个细胞内的染色体按照一定的顺序排列起来, 所构成的染色体图像; 通常是将显微摄影得到的染色体照片粘贴或染色体核型分析系统软件处理生成的染色体图像。图 2 是通过 photoshop 软件处理得到的其中 10 种甜瓜的核型图。

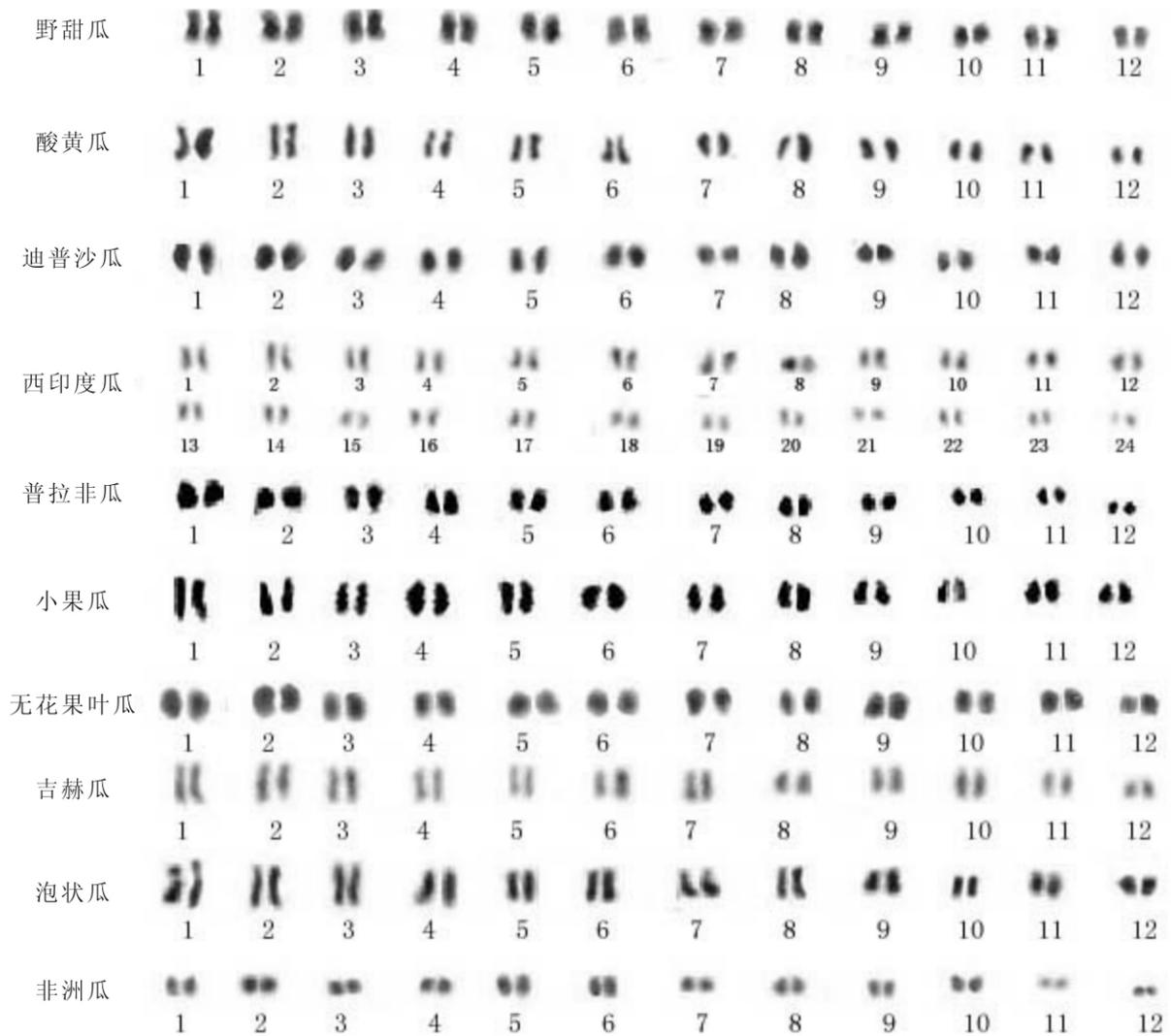


图2 10种甜瓜的核型图(显微倍数为40×10)

2.2.2 核型分析 经测量得10种甜瓜的每条染色体的相对长度、短臂、长臂相对长度、臂比、类型,并根据数据计算整理得染色体平均相对长度、相对长度范围、最长染色体/最短染色体、臂比平均值(见表2)。

表2 10种甜瓜的核型比较

种质	染色体平均相对长度/ μm	染色体相对长度范围/ μm	最长染色体/最短染色体	臂比平均值
野甜瓜	4.22	5.35 ~ 3.19	1.68	1.52
酸黄瓜	4.16	5.99 ~ 2.53	2.37	1.63
迪普沙瓜	4.16	6.66 ~ 2.45	2.71	1.24
西印度瓜	4.09	3.53 ~ 1.29	2.23	1.37
普拉非瓜	4.27	6.06 ~ 2.52	2.40	1.11
小果瓜	4.16	6.82 ~ 2.52	2.71	1.47
无花果叶瓜	4.14	5.61 ~ 2.49	2.25	1.35
吉赫瓜	4.26	6.36 ~ 1.88	3.38	1.64
泡状瓜	4.11	6.45 ~ 2.04	3.16	1.59
非洲瓜	4.16	6.63 ~ 1.56	4.25	1.46

西印度瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 20m + 4sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为15.3%,核型属2B型。

野甜瓜(马包瓜):核型公式为 $2n = 2x = 24 = 2M + 18m + 4sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为12.5%,核型属2A型。

酸黄瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 14m + 10sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为25%,核型属2B型。

迪普沙瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 24m$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为0%,核型属1B型。

小果瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 20m + 4sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为12.5%,核型属2B型。

普拉非瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 24m$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为0%,核型属1B型。

无花果叶瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 20m + 4sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为4.2%,核型属2B型。

吉赫瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 12m + 12sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为28.3%,核型属2B型。

泡状瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 20m + 4sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为4.2%,核型属2B型。

非洲瓜:核型公式为 $2n = 2x = 24 = 20m + 4sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体,臂比大于2的染色体所占比例为4.2%,核型属2C型。

2.3 亲缘关系分析 利用6SQ软件对10种甜瓜的染色体的臂比、相对长度,进行差异显著性分析,结果表明,无花果叶瓜和小果瓜无显著差异,普拉非瓜和迪普沙瓜无显著差异,这些种质可能为近缘种,而普拉非瓜则分别与马包瓜、酸黄瓜、吉赫瓜、非洲瓜存在显著性差异,迪普沙瓜和吉赫瓜存在显著性差异,这些种质的亲缘关系可能较远。

3 讨论与结论

马包瓜是我国原产的野生甜瓜,曾有资料将其划分为一个新种,但综合近年各种资料,将其划入甜瓜种下的野甜瓜亚种(*C. bisexualis* ssp. *agrestis*)更为合适^[8]。笔者观察,马包瓜体细胞染色体数为24,与前人结果一致^[9]。酸黄瓜是个比较特殊的甜瓜近缘种,植物学形态特征与黄瓜更近,被Kirkbride等划入黄瓜亚属。但陈劲枫等发现其体细胞染色体数与甜瓜相同,并认为酸黄瓜可能是研究甜瓜属植物系统发育以及两基数染色体之间进化关系的关键物种^[7]。本实验的酸黄瓜采自野生株群,观察表明,其体细胞染色体 $2n = 24$,与甜瓜染色体数相同。根据资料^[10],西印度瓜体细胞染色体为 $2n = 24$,目前尚未见有 $2n = 48$ 或其他数目的报道。笔者发现了体细胞染色体为 $2n = 48$ 的现象,表明甜瓜野生近缘种可能存在仅从植物学形态上难以发现的染色体自然加倍现象。迪普沙瓜,1份材料染色体数为 $2n = 24$,与有关文献记载相符^[10],但另一份材料出现体细胞染色体为 $2n = 44$ 的现象,不符合甜瓜属植物的染色体基数特征,可能与材料栽培过程中染色体产生自然加倍和缺失有关。其他5种近缘野生甜瓜没有出现染色体加倍现象,染色体数都是 $2n = 24$,说明甜瓜的染色体在数目上是比较恒定的。

在核型分析中,酸黄瓜、小果瓜、无花果叶瓜、吉赫瓜、泡状瓜的核型都是2B型,迪普沙瓜和普拉非瓜的核型都是1B型,马包瓜和非洲瓜的核型则分别是2A型和2C型,并且无花果叶瓜和小果瓜的核型公式同为 $2n = 2x = 24 = 20m + 4sm$,由此可知,无花果瓜与小果瓜的染色体组形态学相似,无花果叶瓜和小果瓜很可能存在着较近的亲缘关系。此外,普拉非瓜和迪普沙瓜的核型公式和核型也相同,所以这2种瓜也很可能有较近的亲缘关系,这与Chebretinsae等^[11]研究结果相似。结合利用6SQ软件对10种甜瓜的染色体的臂比、相对长度进行差异显著性分析,结果表明,无花果叶瓜和小果瓜、普拉非瓜和迪普沙瓜无

显著差异,由此证实了笔者以上的推测,而普拉非瓜则分别与马包瓜、酸黄瓜、吉赫瓜、非洲瓜存在显著性差异,迪普沙瓜和吉赫瓜存在显著性差异。这些种质亲缘关系较远,在杂交过程中可能会产生不亲和的现象。

参考文献:

- [1] JEFFREY C. A review of the Cucurbitaceae [J]. Bot J Linn Soc, 1980, 81: 233 - 247.
- [2] 王吉明,尚建立,马双武. 甜瓜近缘植物引进观察初报 [J]. 中国瓜菜 2007(6): 31 - 33.
- [3] 张永兵,陈劲枫,伊鸿平,等. 甜瓜有丝分裂染色体制片技术及核型分析 [J]. 西北植物学报 2005 25(9): 1735 - 1739.
- [4] LEVAN A, FREDGAK, SANDBERG A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52: 201 - 220.
- [5] STEBBINS G L. Chromosomal Evolution in Higher Plants [M]. London: Edward Arnold, 1971: 85 - 104.
- [6] 李懋学,陈瑞阳. 关于核型分析的标准化问题 [J]. 武汉植物学研究, 1985 3(4): 297 - 302.
- [7] 陈劲枫,林茂松,钱春桃,等. 甜瓜属野生种及其与黄瓜种间杂交后代抗根结线虫初步研究 [J]. 南京农业大学学报, 2001 24(1): 21 - 24.
- [8] 钱春桃,娄群峰,陈劲枫. 我国甜瓜属蔬菜作物特异基因资源的挖掘和利用 [J]. 中国蔬菜 2006(7): 30 - 32.
- [9] 马德伟. 甜瓜篇. 见: 中国农业科学院郑州果树研究所编. 中国西瓜甜瓜 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 358.
- [10] DANE F, TSUCHIYA T. chromosomes studies In the Genus cucumis [J]. Euphytica, 1976 25: 367 - 374.
- [11] GHEBRETINSAE A G, THULIN M, BARBER J. Relationships of cucumber and melons unraveled molecular phylogenetics of cucumis and related genera (Benincaseae, Cucurbitaceae) [J]. American Journal of Botany, 2007 94(7): 1256 - 1266.

Karyotype Analysis of Ten *Cucumis melo* Germplasm

CHENG Shan-han¹, WANG Ji-min², LIN Shi-sen¹, LI Chun-zi¹, HOU Kai-teng¹

(1. Key Laboratory of Protection and Development Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Ministry of Education;

College of Horticulture and Gardening, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China)

Abstract: The root tips of germinating seeds were used as materials and chromosome counting and karyotype analysis were performed in eleven melon relative plants and one wild melon plant. The results showed that chromosome number in somatic cells of most samples were $2n = 24$, except one accession *C. anguria* with 48 chromosomes and one accession *C. dipsaceus* with 44 chromosomes in somatic cells; The karyotypes were divided into five types: *C. bisexualis* is $2n = 2x = 2M + 14m + 10sm$, *C. hystrix* is $2n = 2x = 24 = 24m$, *C. dipsaceus* and *C. prophetarum* $2n = 2x = 20m + 4sm$, *C. myriocarpus*, *C. ficifolius*, *C. africanus* and *C. pustulatus* is $2n = 2x = 12m + 12sm$, *C. zeyheri* is $2n = 2x = 24 = 2M + 18m + 4sm$, and there were no satellites detected in hemorphological observation of chromosomes.

Key words: melon; related plant; chromosome counts; karyotype