

10 种梅花品种及其 3 种近缘种的核型分析

王伟涛, 杨炜茹, 陈晶鑫, 王金耀, 张 芹, 张启翔*

(花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室, 国家花卉工程技术研究中心, 北京林业大学 园林学院, 北京 100083)

摘 要: 采用压片法, 对 10 种梅花品种及其 3 种近缘种杏、山杏和紫叶李进行了核型分析。结果表明: 10 种梅花品种及杏、山杏和紫叶李均为二倍体 $2n=2x=16$, 核不对称系数为 55.17%~61.71%, 核型类型有 1A、1B、2B 等 3 种类型, 所有品种或种的核型都由其中部或近中部的着丝点染色体组成。‘丰后’和‘俏美人’等 2 个杂种品种染色体信息介于梅花与杏、山杏和紫叶李之间。

关键词: 梅花, 近缘种, 染色体, 核型

中图分类号: Q343.2⁺2 **文献标志码:** A

Analysis of Karyotypes of 10 *Prunus mume* Cultivars and 3 Related Species

WANG Weitao, YANG Weiru, CHEN Jingxin, WANG Jinyao, ZHANG Qin, ZHANG Qixiang*

(Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation and Molecular Breeding, National Engineering Research Center for Floriculture, College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The karyotypes were studied via squash method in 10 *Prunus mume* cultivars and 3 related species that *P. armeniaca* L., *P. sibirica* (L.) Lam. and *P. cerasifera* Ehrh. ‘Pissardii’. The results showed that ploidy levels of all the test materials were diploid ($2n=2x=16$). Asymmetry index ranged from 55.17% to 61.71%. The karyotypes of all the test materials were made of m and sm chromosomes, which include 1A, 1B and 2B. The chromosome information of *P. mume* ‘Fenghou’ and *P. mume* ‘Qiao Meiren’ was between *Prunus mume* and 3 related species.

Key words: *Prunus mume*; related species; chromosome; karyotype

梅(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)原产中国,栽培历史悠久,种质资源丰富,在中国园林和花文化中有着重要的地位和影响。梅花染色体为典型的小染色体,国外学者 Okabe^[1]较早的对梅花染色体数目进行了研究,国内也有一些关于梅花染色体方面的报道,但大都局限于染色体数目方面的研究。黄哲^[2]、包满珠^[3]、黄燕文^[4]和林盛华^[5]等相继报道了一些花梅和果梅的染色体数目,陈晶鑫等^[6]对梅花染色体周年性制片进行了研究,均为梅花的细胞学

研究提供参考资料。同样,关于杏、山杏和紫叶李染色体方面的研究也相对较少,蒲富慎、林盛华等^[7-9]和吕增仁等^[10]对李属和杏属的染色体数目进行了研究。陈俊愉等^[11]在梅花品种群分类新方案中将梅花分为 9 个真梅品种群、杏梅品种群和美人品种群等 11 个品种群,其中杏梅品种群起源于梅与杏(*P. armeniaca* L.)或山杏[*P. sibirica* (L.) Lam.]之间的天然或人工杂交,美人品种群起源于紫叶李[*P. cerasifera* Ehrh. ‘Pissardii’]与宫粉梅的人工

收稿日期:2013-08-03;修改稿收到日期:2013-10-11

基金项目:“863”计划项目(2013AA102607)

作者简介:王伟涛(1986—),女,在读硕士研究生,主要从事园林植物资源与育种研究。E-mail:weitao2106@sina.com

* 通信作者:张启翔,教授,博士研究生导师,主要从事园林植物资源与育种研究。E-mail:zqxbjfu@126.com

杂交。梅花与其近缘种杏、山杏和紫叶李之间有着密切而复杂的关系,从染色体核型的角度研究梅花及其近缘种间遗传和变异、系统演化及远缘杂交显得尤为重要。

关于梅花细胞学方面的研究,虽然曾报道过染色体的数目和部分品种的核型,但对于中国 300 多个梅花品种资源而言,染色体核型的研究还很匮乏。本文以 10 种梅花品种及杏、山杏和紫叶李的染色体为研究基础,利用压片法对其数目及形态进行了研究,旨在为梅花的系统进化、杂交育种以及基因组原位杂交等研究提供一些细胞分类学资料。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为 10 种梅花品种及杏、山杏和紫叶李(表 1),所有梅花品种的凭证标本现保存于北京鹫峰国家森林公园的梅花精品园,杏、山杏和紫叶李的茎尖材料来源于北京林业大学。

1.2 方法

于 2013 年 3~4 月份枝芽萌动时,选择生长良好的一年生嫩枝上的饱满顶芽或侧芽,剥掉鳞片及

大叶,置于卡诺固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1,V/V)固定(≥ 3 h),转入 70%乙醇中保存备用。制片时,切取芽尖分生区,用蒸馏水漂洗 3 遍;在 0.2 mol/L 盐酸溶液中(60 ℃水浴)解离 10 min;蒸馏水冲洗 3 遍;改良卡宝品红溶液染色 8~10 min,常规方法压片,ZEISS Scope A1 显微镜镜检并统计染色体数目、显微观察并拍摄。

利用核型分析软件 Karyo 3.1、Image-Pro Plus 6.0 及 Photoshop CS5 等软件进行数据和图像处理。核型分析参考李懋学和陈瑞阳^[12-13]的标准,核型类型按照 Stebbins^[14]的分类标准,核型不对称系数按照 Arano^[15]的方法计算,染色体相对长度系数(I、R、L)参照 Guo 等^[16]的标准。

2 结果与分析

10 种梅花品种及 3 种近缘种的染色体数目、核型及核型模式见图 1,染色体参数见表 2。

2.1 10 种梅花品种的核型分析

2.1.1 ‘六瓣’ 体细胞染色体数 $2n=16$,为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=10m+6sm$ 。染色体相对长度变化范围为 9.52%~18.93%,相对长度组成 $2n=2L+4M_2+8M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.00~1.95,最长染色体与最短染色体长度比为 1.99,核不对称系数为 57.62%,着丝粒指数变化范围为 33.93%~50.00%,其核型属于 1A 型。

2.1.2 ‘桃干小宫粉’ 体细胞染色体数 $2n=16$,为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=16m$ 。染色体相对长度变化范围为 9.10%~18.13%,相对长度组成 $2n=4L+2M_2+8M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.00~1.71,最长染色体与最短染色体长度比为 1.99,核不对称系数为 56.13%,着丝粒指数变化范围为 36.84%~50.00%,其核型属于 1A 型。

2.1.3 ‘单粉垂枝’ 体细胞染色体数 $2n=16$,为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=16m$ 。染色体相对长度变化范围为 9.33%~20.13%,相对长度组成 $2n=2L+2M_2+10M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.04~1.54,最长染色体与最短染色体长度比为 2.45,核不对称系数为 56.13%,着丝粒指数变化范围为 39.39%~44.12%,其核型属于 1B 型。

2.1.4 ‘龙游梅’ 体细胞染色体数 $2n=16$,为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=14m+2sm$ 。染色体相对长度变化范围为 8.82%~23.4%,相对长度组成 $2n=2L+4M_2+8M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.00~1.78,最长染色体与最短染色体长度比为 2.74,

表 1 10 种梅花品种及 3 种近缘种的基本信息
Table 1 The information of 10 *P. mume* cultivars and 3 related species

材料编号 Code	品种名/种名 Cultivar/species	品种/种类型 Type
1	六瓣 <i>P. mume</i> ‘Liuban’	单瓣品种群 Single Flowered Group
2	桃干小宫粉 <i>P. mume</i> ‘Taogan Xiaogongfen’	宫粉品种群 Pink Double Group
3	单粉垂枝 <i>P. mume</i> ‘Danfen Chuizhi’	垂枝品种群 Pendulous Group
4	龙游梅 <i>P. mume</i> ‘Longyou’	龙游品种群 Tortuosa Group
5	小绿萼 <i>P. mume</i> ‘Xiaolü’e’	绿萼品种群 Green Calyx Group
6	扣子玉蝶 <i>P. mume</i> ‘Kouzi Yudie’	玉蝶品种群 Albo-plena Group
7	红须朱砂 <i>P. mume</i> ‘Hongxu Zhusha’	朱砂品种群 Cinnabar Purple Group
8	俏美人 <i>P. mume</i> ‘Qiaomeiren’	美人品种群 Meiren Group
9	丰后 <i>P. mume</i> ‘Fenghou’	杏梅品种群 Apricot Mei Group
10	复瓣跳枝 <i>P. mume</i> ‘Fuban Tiaozhi’	跳枝品种群 Versicolor Group
11	杏 <i>P. armeniaca</i> L.	杏的野生型 Wild-type of apricot
12	山杏 <i>P. sibirica</i> (L.) Lam.	杏的变种 Variant of apricot
13	紫叶李 <i>P. cerasifera</i> Ehrh. ‘Pissardii’	李 Plum

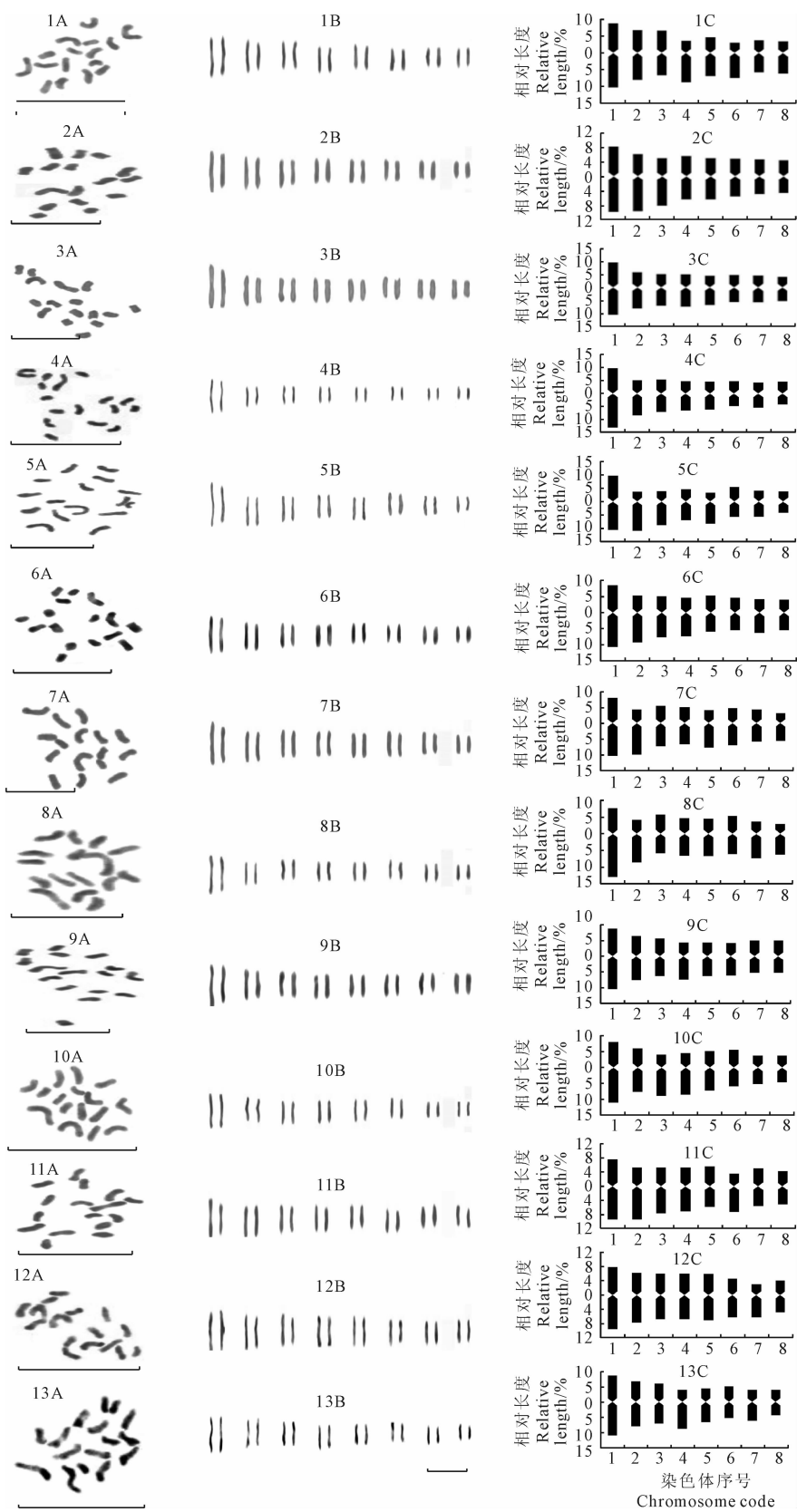


图 1 10 种梅花品种及 3 种近缘种的染色体数目(A)、核型(B)及核型模式(C)图

图中编号对应表 1 中的编号;下同;标尺=10 μm

Fig. 1 The chromosome numbers (A), karyotypes (B) and idiograms (C) of 10 *P. mume* cultivars and 3 related species

The codes in Fig. 1 corresponded to those in Table 1; The same as below; The measurements are 10 μm

表 2 10 种梅花品种及 3 种近缘种的染色体参数

Table 2 Parameters of chromosomes of 10 *P. mume* cultivars and 3 related species

材料编号 Code	相对长度 (S+L=T) Relative length/%	平均臂比 Average arm ratio	最长/最短 Lt/St	核不对称系数 Asymmetry index/%	臂比>2 的染色体比率 Percentage of chromosome with ratio>2/%	核型分类 Karyotype
1	9.52~18.93	1.45	1.99	57.62	0	1A
2	9.10~18.13	1.28	1.99	56.13	0	1A
3	9.33~20.13	1.30	2.45	56.13	0	1B
4	8.82~23.40	1.29	2.74	56.45	0	1B
5	7.93~20.43	1.77	3.05	61.71	37.50	2B
6	9.90~19.36	1.39	2.14	57.85	0	2B
7	8.73~18.57	1.58	2.46	60.26	12.50	2B
8	9.21~20.81	1.61	2.27	60.81	31.25	2B
9	10.31~19.53	1.25	2.00	55.17	0	1B
10	8.30~19.10	1.46	2.47	58.88	12.50	2B
11	9.43~17.09	1.40	2.17	57.62	12.50	2B
12	8.91~17.51	1.31	2.19	55.71	12.50	2B
13	8.37~19.60	1.38	2.65	57.28	12.50	2B

核不对称系数为 56.45%，着丝粒指数变化范围为 36.00%~50.00%，其核型属于 1B 型。

2.1.5 ‘小绿萼’ 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=10m+6sm$ 染色体相对长度变化范围为 7.93%~20.43%，相对长度组成 $2n=2L+4M_2+8M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.06~3.40，最长染色体与最短染色体长度比为 3.05，核不对称系数为 61.71%，着丝粒指数变化范围为 22.71%~48.61%，其核型属于 2B 型。

2.1.6 ‘扣子玉蝶’ 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=14m+2sm$ 。染色体相对长度变化范围为 9.90%~19.36%，相对长度组成 $2n=2L+2M_2+12M_1$ 。臂比值变化范围 1.25~1.91，最长染色体与最短染色体长度比为 2.14，核不对称系数为 57.85%，着丝粒指数变化范围为 34.34%~47.82%，其核型属于 2B 型。

2.1.7 ‘红须朱砂’ 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=10m+6sm$ 。染色体相对长度变化范围为 8.73%~18.57%，相对长度组成 $2n=2L+4M_2+8M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.13~2.24，最长染色体与最短染色体长度比为 2.46，核不对称系数为 60.26%，着丝粒指数变化范围为 29.95%~46.86%，其核型属于 2B 型。

2.1.8 ‘俏美人’ 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=8m+8sm$ 。染色体相对长度变化范围为 9.21%~20.81%，相对长度组成 $2n=2L+2M_2+10M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.00~2.25，最长染色体与最短染色体长度比为

2.27，核不对称系数为 60.81%，着丝粒指数变化范围为 30.76%~50.00%，其核型属于 2B 型。

2.1.9 ‘丰后’ 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=14m+2sm$ 。染色体相对长度变化范围为 10.31%~19.53%，相对长度组成 $2n=2L+2M_2+12M_1$ 。臂比值变化范围 1.00~1.75，最长染色体与最短染色体长度比为 2.00，核不对称系数为 55.17%，着丝粒指数变化范围为 36.36%~50.00%，其核型属于 1B 型。

2.1.10 ‘复瓣跳枝’ 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=12m+4sm$ 。染色体相对长度变化范围为 8.30%~19.10%，相对长度组成 $2n=2L+6M_2+4M_1+4S$ 。臂比值变化范围 1.00~2.19，最长染色体与最短染色体长度比为 2.47，核不对称系数为 58.88%，着丝粒指数变化范围为 31.25%~49.94%，其核型属于 2B 型。

2.2 3 种近缘种的核型分析

2.2.1 杏 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=12m+4sm$ 。染色体相对长度变化范围为 9.43%~17.09%，相对长度组成 $2n=2L+4M_2+8M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.00~2.02，最长染色体与最短染色体长度比为 2.17，核不对称系数为 57.62%，着丝粒指数变化范围为 33.11%~50.00%，其核型属于 2B 型。

2.2.2 山杏 体细胞染色体数 $2n=16$ ，为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=14m+2sm$ 。染色体相对长度变化范围为 8.91%~17.51%，相对长度组成 $2n=2L+8M_2+4M_1+2S$ 。臂比值变化范围 1.11

~2.08,最长染色体与最短染色体长度比为2.19,核不对称系数为55.71%,着丝粒指数变化范围为32.49%~47.41%,其核型属于2B型。

2.2.3 紫叶李 体细胞染色体数 $2n=16$,为二倍体。核型公式为 $2n=2x=16=14m+2sm$ 。染色体相对长度变化范围为8.37%~19.60%,相对长度组成 $2n=2L+6M_2+6M_1+2S$ 。臂比值变化范围1.00~2.33,最长染色体与最短染色体长度比为2.65,核不对称系数为57.28%,着丝粒指数变化范围为30.00%~50.00%,其核型属于2B型。

3 讨 论

本研究报道了10种梅花品种及杏、山杏和紫叶李等13份材料的染色体数目与核型,均为二倍体 $2n=2x=16$,未发现其他倍性,这与前人的相关研究是一致的^[3-5,7-10],梅花栽培品种类型多,是否存在多倍体种质资源,有待进一步发掘。所有供试材料的核型都由其中部或近中部的着丝点染色体组成,核型类型包括1A、1B、2B等3种类型,供试的10种梅花品种的核型信息均为首次详细报道。

Stebbins^[14]认为,在植物界,核型进化的基本趋势是由对称向不对称发展的,系统演化上处于比较古老或原始的植物,大多具有较对称的核型,而不对称的核型则常见于衍生的或进化较高级的植物中。本研究从梅花品种所对应的核型分类来看,从1A到2B的分类及核不对称系数都基本符合这个进化趋势。‘六瓣’和‘桃干小宫粉’的核不对称系数相对较低,均属于1A核型,这与南宋《梅谱》中较早记载了‘江梅’^[16]是相一致的。‘单粉垂枝’的核型分类属于1B核型,支持同工酶分析认为单粉垂枝梅较原始的结论^[17]。‘小绿萼’、‘扣子玉蝶’、‘红须朱砂’均为重瓣品种,其核不对称系数相对较高,均属于2B核型。以上6种梅花的核型分类与黄燕文等^[4]关于梅花同类品种群中的‘日寒红’、‘小宫粉’、‘残雪’、‘长蕊变绿萼’、‘三轮玉蝶’、‘水朱砂’的核型分类结果是一致的,且符合陈俊愉等^[19-20]分析品种演化趋势中江梅、宫粉型较朱砂、绿萼、玉蝶型及跳枝型品种更为原始的观点。

本研究首次报道复瓣品种群的核型信息,‘复瓣

跳枝’核型也属于2B,但与重瓣梅花品种相比,其核不对称系数相对较低,这可能与梅花品种的瓣性有关,推测品种群间可能存在由单瓣→复瓣→重瓣的演化顺序,需要更进一步的研究证明。‘龙游梅’属于1B型,且目前未见关于龙游品种群的核型报道,推测其较其它品种更为原始。本研究中的8种真梅品种的核型分类结果表明不同梅花品种的核型具有相似之处,但又代表了不同的进化类型,这可能与梅花品种遗传多样性有关,需要对品种群进行深入研究探讨。

本研究中‘丰后’核型属于1B,‘六瓣’核型属于1A,杏、山杏的核型属于2B。‘丰后’的最长比最短值要更接近‘六瓣’梅,且都没有臂比 >2 的染色体,从核型分类看,‘丰后’是介于单瓣梅和杏、山杏之间,这一结果与魏文娜等^[21]关于梅、杏之间亲缘关系较近的观点相一致。‘桃干小宫粉’核型属于1A,‘俏美人’和紫叶李的核型属于2B,‘俏美人’较1A型的宫粉梅更为进化,与紫叶李核型分类相同,但是核不对称系数高于紫叶李,且着丝粒类型不同,比紫叶李更为进化。以上试验结果从染色体核型的角度与陈俊愉等^[11]推断杏梅品种群和美人品种群均在形态上表现与父母本相似或居于双亲之间的观点是一致的,同时也支持形态学、孢粉学、同工酶等^[22]关于梅在*Prunus*属中是一个独立的物种,又与其近缘种在性状上有重叠的观点。以上核型分类结果支持黄燕文等^[4]关于真梅系→杏梅系→樱李梅系演化顺序的观点,并且与陈俊愉^[23]对梅花品种的分类观点相一致。本研究中不同品种或种的核型分类相似,说明亲缘关系较为接近,但是这种相似性并不能说明染色体形态特征是完全相似的,花梅品种众多,遗传多样性丰富,从细胞学角度深入了解梅花品种间的丰富变异及进化关系,将有利于培育梅花新品种。

梅花染色体为典型的小染色体,在制片过程中容易与杂质混合,出现染色体叠加或丢失的情况,很难观察到随体,经典的核型分析有一定局限性,笔者正在从事应用荧光原位杂交等先进有效的技术对梅花染色体进行更为精确分析的研究,旨在为梅花的杂交育种、分类起源及基因的染色体定位奠定可靠的细胞学基础。

参考文献:

- [1] DARLINGTON C D, WYLIE A P. Chromosome atlas of flowering plants[M]. London: George Allen and Unwin Ltd, 1955: 143.

- [2] 黄哲. 梅花品种染色体初探[D]. 北京: 北京林业大学, 1989.
- [3] 包满珠. 我国川、滇、藏部分地区野梅种质资源及梅的系统学研究[D]. 北京: 北京林业大学, 1991.
- [4] HUANG Y W(黄燕文), BAO M ZH 包满珠), SHEN Q Y(沈清宇), *et al.* Studies on the number and morphology of chromosomes of Wild Mei and Cultivated Mei[J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 1995, **17**(1): 37—41(in Chinese).
- [5] LIN SH H(林盛华), CHU M Y(褚孟嫒). Studies on chromosome of *Prunus mume* [J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 1999, **21**(2): 91—93(in Chinese).
- [6] CHEN J X(陈晶鑫), YANG B J(杨冰洁), YANG W R(杨炜茹), *et al.* Chromosome sectioning of *Prunus mume* Sieb. et Zucc all the year around[J]. *Acta Agriculture Boreali-Occidentalis Sinica* (西北农业学报), 2013, **22**(1): 150—154(in Chinese).
- [7] PU F SH(蒲富慎), LIN SH H(林盛华), ZHANG J T(张加延), *et al.* The chromosome number observation of *Prunus* and *Apricot* [J]. *China Fruit* (中国果树), 1987, (4): 10—12(in Chinese).
- [8] 林盛华, 张加延, 方成泉. 杏属野生种和栽培品种染色体研究[C]. 中国园艺学会成立 70 周年纪念优秀论文选编, 1999: 121—125.
- [9] LIN SH H(林盛华), PU F SH(蒲富慎). The chromosome number observation of *Prunus* [J]. *China Fruit* (中国果树), 1991, (2): 8—10(in Chinese).
- [10] LÜ Z R(吕增仁), GUO ZH H(郭振怀). Karyotype analysis of *Armeniaca sibirica* (L.) Lam. and *Armeniaca vulgaris* Lam. [J]. *Journal of Agricultural University of Hebei* (河北农业大学学报), 1986, **6**(2): 16—19(in Chinese).
- [11] CHEN J Y(陈俊愉), CHEN R D(陈瑞丹). A new system for classifying China Mei cultivar groups, with special reference to developing superiorities of interspecific hybrid Originated groups[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2009, **36**(5): 693—700(in Chinese).
- [12] LI M X(李懋学), CHEN R Y(陈瑞阳). A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 1985, **3**(4): 297—302(in Chinese).
- [13] 陈瑞阳. 中国主要经济植物基因组染色体图谱(第 3 册)[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [14] STEBBINS G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London: Edward Aronld, 1971: 87—93.
- [15] ARANO H. Cytological studies in subfamily Carduoideae(Corapositae) of Japan IX[J]. *Bot. Mag.*, 1963, **76**: 32.
- [16] GUO X R. Karyotype analysis of some *Formosan gymnosperms* [J]. *Taiwania*, 1972, **17**(1): 66—80.
- [17] CHEN J Y(陈俊愉), CHEN R D(陈瑞丹). On the classification system of *Prunus mume* cultivars[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2007, **34**(4): 1 055—1 058(in Chinese).
- [18] BAO M ZH(包满珠), CHEN J Y(陈俊愉). Studies on isozyme of wild species and cultivars of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. [J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 1993, **20**(4): 375—378(in Chinese).
- [19] 陈俊愉. 花卉分类学[M]. 武汉: 华中农业大学林学系, 1987.
- [20] CHEN J Y(陈俊愉). The disscussion aboout the formation and evolution of *Prunus mume* varitties[J]. *Chinese Landscape Architecture* (中国园林), 1990, (4): 14—15(in Chinese).
- [21] WEI W N(魏文娜), TANG Q R(唐前瑞). Studies on taxonomic relationships of Peach, Plum, Japanese Apricot and Apricot II. Comparison of karyotype and Giemsa C-banding patterns[J]. *Journal of Hunan Agricultural University* (湖南农业大学学报), 1996, **22**(3): 257—258(in Chinese).
- [22] ZHANG Q X(张启翔). The interspecific crossing of Mei flower and cold hardiness breeding[J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 1987, **9**(1): 69—79(in Chinese).
- [23] 陈俊愉. 中国梅花品种图志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 8—10.