



角堇与大花三色堇染色体核型分析

王梦叶, 杜晓华, 贾文庆, 穆金艳, 朱小佩, 刘会超*

(河南科技学院 园艺园林学院, 河南新乡 453003)

摘 要:以 2 份角堇与 4 份大花三色堇自交系为试验材料, 采用染色体常规压片方法, 观察和分析了它们的细胞染色体数目、相对长度、平均臂比等核型指标, 以明确两种植物细胞学特点, 为分类以及育种提供理论依据。结果表明: (1) 2 份角堇自交系染色体数目均为 $2n=2x=26$, 染色体基数为 $x=13$, 染色体核型公式分别为 $2n=2x=26=8m+12sm+6st$, $2n=2x=26=4m+16sm+6st$, 核型不对称系数为 $67.20\% \sim 70.10\%$, 核型分类均属于 3B。(2) 4 份大花三色堇自交系均为四倍体, 其中 2 份(EYO-1-2-1-4、DSRFY-1-1-2)染色体数目为 44, 核型公式为 $2n=4x=44=4m+16sm+6st$, $2n=4x=44=16m+24sm+4st$; 2 份(G10-1-3-1-4、XXL-YB-1-1-1)染色体数目为 48, 核型公式分别为 $2n=4x=48=8m+20sm+20st$, $2n=4x=48=4m+36sm+8st$, 核型不对称系数为 $66.74\% \sim 71.77\%$, 核型分类属于 2B、3B。

关键词:角堇; 大花三色堇; 核型分析

中图分类号: Q343.2⁺2

文献标志码: A

The Analysis of Chromosome Karyotype of *Viola cornuta* and *Viola wittrockiana*

WANG Mengye, DU Xiaohua, JIA Wenqing, MU Jinyan, ZHU Xiaopei, LIU Huichao*

(School of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxing, Henan 453003, China)

Abstract: Two kinds of *Viola cornuta* and four kinds of *Viola wittrockiana* were used as experiment materials to analyze chromosome karyotype including the chromosome number, relative length and average arm ratio by traditional squash method. The studies on chromosome karyotype of pansy will provide a better understanding of their cytology characteristics and classification, which will lay the foundation for the pansy breeding. The results showed that: (1) chromosome number and the basic chromosome number in the *V. cornuta* were $2n=2x=26$ and $x=13$, respectively, and the karyotype formula of these two kinds of plants were $2n=2x=26=8m+12sm+6st$ and $2n=2x=26=4m+16sm+6st$. The index of karyotypic asymmetry was $67.20\% - 70.10\%$ and their karyotype were classed into 3B type. (2) All kinds of *V. wittrockiana* belong to tetraploid, two of which had 44 chromosomes and their karyotype formula were $2n=4x=44=4m+16sm+6st$ and $2n=4x=44=16m+24sm+4st$, respectively, and their karyotype were classed into 2B type. The other two of *V. wittrockiana* had 48 and their karyotype formula were $2n=4x=48=8m+20sm+20st$ and $2n=4x=48=4m+36sm+8st$, and their karyotype were classed into 3B type. The index of karyotypic asymmetry of all *V. wittrockiana* was $66.74\% - 71.77\%$.

Key words: *Viola cornuta*; *Viola wittrockiana*; karyotype analysis

收稿日期: 2017-08-28; 修改稿收到日期: 2017-12-07

基金项目: 河南省产学研合作计划项目(15210700028); 河南省科技攻关项目(152102110088)

作者简介: 王梦叶(1995-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事园艺植物种质资源研究。E-mail: 18338928035@163.com

* 通信作者: 刘会超, 博士, 教授, 主要从事观赏植物种质资源创新与利用研究。E-mail: huichaoliu2012@163.com

染色体核型分析是细胞遗传学的基本研究方法,是研究物种演化、染色体结构以及分类、功能与形态之间关系所不可缺少的重要手段,是细胞形态学、细胞分类学和细胞遗传学研究中的基本方法之一^[1]。了解物种的核型也是开展杂交育种工作的重要基础。染色体核型已被广泛应用于洋水仙^[2]、百合^[3]、李^[4-5]等园艺作物,为研究它们的遗传关系、起源演化以及开展育种工作等提供了必要的细胞学证据。大花三色堇(*Viola wittrockiana*)和角堇(*Viola cornuta*)均属于堇菜科(Violaceae)堇菜属(*Viola*)草本花卉,近年来在中国城乡绿化中,作为花坛、花境、地被植物材料大量应用^[6]。目前关于角堇及大花三色堇的细胞学特征比较的研究较少。弄清 2 种植物的细胞学特征对于堇菜属植物的分类和杂交育种具有重要的价值。本研究选取河南科技学院三色堇课题组选育的 2 份角堇和 4 份大花三色堇自交系为试验材料,采用根尖常规压片法对染色体数目和核型进行分析与比较,旨在为 2 种堇菜属植物亲缘关系分析、杂交育种等方面研究提供借鉴。

1 材料和方法

1.1 材 料

试材为河南科技学院三色堇课题组选育的 2 份角堇和 4 份大花三色堇自交系,其来源见表 1。

1.2 方 法

1.2.1 染色体制片 将种子在室温下浸种 15 min,然后温汤浸种(55 ℃,浸种 20 min)。将处理后的种子放在培养皿中,置于 20 ℃的恒温培养箱内避光催芽。当种子胚根长至 0.8~1.0 cm 时,切取根尖(1~2 mm),置于 0.002 mol/L 的 8-羟基喹啉中,4 ℃环境下处理 4 h 后用 FAA(无水乙醇∶冰乙酸=3∶1)固定液中固定 12~24 h。将固定好的根尖用蒸馏水冲洗 2~3 次后置于预热 60 ℃的 1 mol/L 的盐酸中解离 6~8 min。取出根尖反复冲洗后,截

取 1~2 mm,卡宝品红染色 2~3 min 后常规压片。

1.2.2 细胞学观察 封片后在 Nikon Eclipse 80i 显微镜的 100×油镜下观察,按照李懋学等^[7]的植物核型分析标准,每份材料取 30 个处于有丝分裂的细胞进行染色体计数,并从中选取 5 个染色体形态和着丝粒清晰、数目完整的细胞进行显微分析。

1.2.3 数据分析 染色体相对长度、臂比及类型采用 Levan et 等^[8]的命名系统,染色体相对长度系数按照 Kuo 等^[9]的方法划分,核型分类采用 Stebbins^[10]的标准。并用 Excel 和 Photoshop CS 软件处理数据并绘制核型模式图。染色体相对长度=染色体绝对长度/染色体组总长度×100;着丝粒指数=短臂长度/染色体全长×100%;臂比=长臂/短臂;核型不对称系数=长臂总长/全组染色体总长。

2 结果与分析

2.1 角堇和大花三色堇染色体数目差异

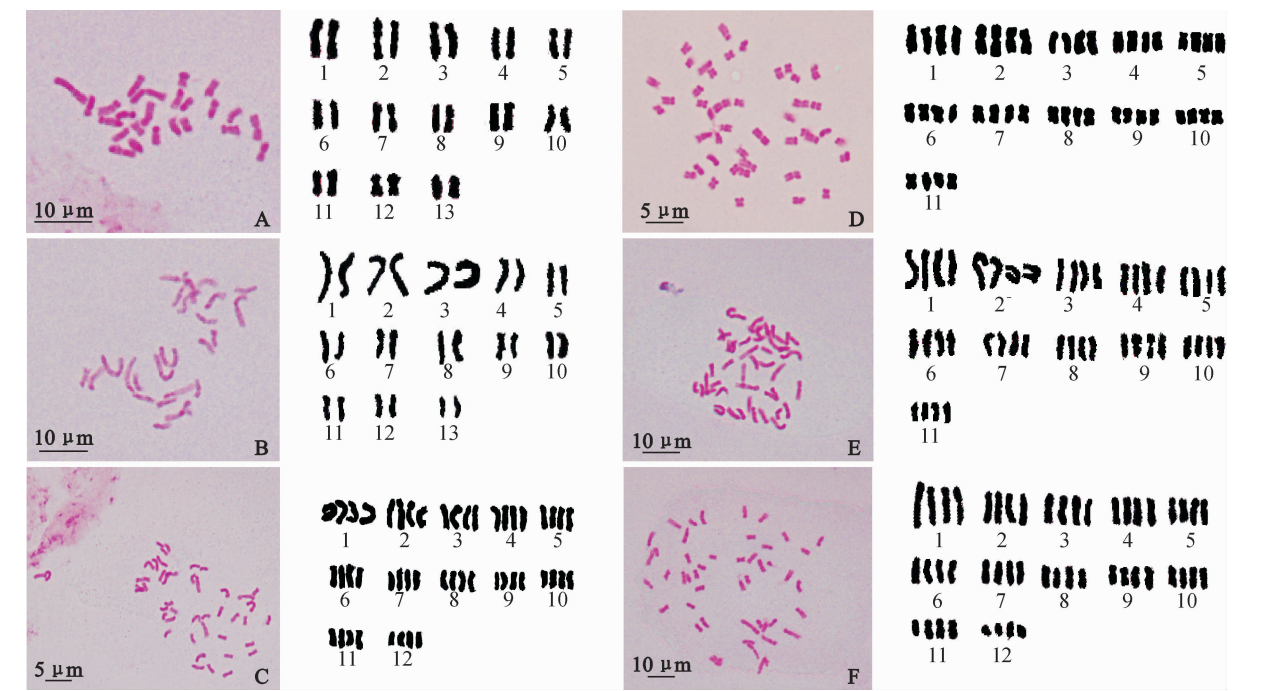
对 6 份试验材料染色体分散良好的细胞观察发现,2 份角堇自交系 JB-1-1-2、JP-1-1-2 的染色体数目均为 26 条,均占计数细胞的 100%(图 1,A、B);4 份大花三色堇中,G10-1-3-1-4 和 XXL-YB-1-1-1-1 的染色体数目为 48(图 1,C、F),分别占计数细胞总数的 80.0%和 83.3%;EY0-1-2-1-4 和 DSRFY-1-1-2 染色体数目为 44(图 1,D、E),分别占计数细胞的 80.5%和 83.5%。

2.2 核型分析

根据李懋学等^[7]提出的植物核型分析标准,染色体核型可分为长染色体(L)、中长染色体(M₂)、中短染色体(M₁)以及短染色体(S)。从 2 份角堇和 4 份大花三色堇自交系染色体长度特征来看(图 1),其中 M₂ 型染色体最多,其次是 S 型染色体。除 JP-1-1-2 没有中短染色体(M₁)外,其他 5 份材料均含有 4 种染色体类型。由表 2 和表 3 可以看出,6 份自交系染色体相对长度范围为 4.01~15.59,其中角

表 1 角堇和大花三色堇材料来源
Table 1 Origin of the *Viola cornuta* and *Viola wittrockiana*

自交系名称 Name	类型 Type	原产地 Native	花色 Flower color
JB-1-1-2	角堇 <i>Viola cornuta</i>	美国 U. S. A	蓝色 Blue
JP-1-1-2	角堇 <i>Viola cornuta</i>	美国 U. S. A	紫色 Purple
G10-1-3-1-4	大花三色堇 <i>Viola wittrockiana</i>	中国甘肃 Gansu, China	黑色 Black
EY0-1-2-1-4	大花三色堇 <i>Viola wittrockiana</i>	中国上海 Shanghai, China	黄色 Yellow
DSRFY-1-1-2	大花三色堇 <i>Viola wittrockiana</i>	德国 Germany	黄色带斑 Yellow with blotch
XXL-YB-1-1-1-1	大花三色堇 <i>Viola wittrockiana</i>	美国 U. S. A	黄色带斑 Yellow with blotch



A. JB-1-1-2; B. JP-1-1-2; C. G10-1-3-1-4; D. EYO-1-2-1-4; E. DSRFY-1-1-2; F. XXL-YB-1-1-1.

图 1 角堇和大花三色堇的染色体数目及核型图

Fig. 1 Chromosome and karyotype image of *V. cornuta* and *V. wittrockiana*

表 2 角堇染色体参数

Table 2 Chromosome parameters of *Viola cornuta*

自交系 Name	染色体序号 Chromosome number	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度系数 Index of relative length
JB-1-1-2	1	2.72+7.71=10.43	2.83	sm	L
	2	2.31+8.12=10.43	3.52	st	L
	3	2.29+7.31=9.60	3.19	st	L
	4	2.16+6.48=8.64	2.99	sm	M ₁
	5	2.31+5.63=7.94	2.44	sm	M ₁
	6	2.13+5.21=7.34	2.44	sm	M ₂
	7	2.79+4.59=7.37	1.65	m	M ₂
	8	2.91+4.38=7.29	1.50	m	M ₂
	9	2.10+4.80=6.90	2.28	sm	M ₂
	10	1.58+5.61=7.20	3.54	st	M ₂
	11	2.52+3.60=6.12	1.43	m	M ₂
	12	2.31+2.70=5.01	1.17	m	S
	13	1.76+3.97=5.73	2.25	sm	S
JP-1-1-2	1	4.15+8.15=12.31	1.96	sm	L
	2	4.72+7.90=12.61	1.67	m	L
	3	6.77+7.91=14.67	1.17	m	L
	4	1.73+5.58=7.31	3.22	st	M ₂
	5	1.90+4.97=6.87	2.62	sm	M ₂
	6	1.66+5.24=6.90	3.16	st	M ₂
	7	2.08+4.29=6.37	2.06	sm	M ₂
	8	2.44+5.02=7.46	2.06	sm	M ₂
	9	1.68+4.15=5.83	2.48	sm	M ₂
	10	1.93+3.92=5.85	2.03	sm	M ₂
	11	1.58+3.57=5.15	2.26	sm	S
	12	1.08+3.57=4.65	3.30	st	S
	13	1.09+2.92=4.01	2.67	sm	S

表 3 大花三色堇染色体参数

Table 3 Chromosome parameters of *V. wittrockiana*

自交系 Name	染色体序号 Chromosome number	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度系数 Index of relative length
G10-1-3-1-4	1	6.24+6.95=13.19	1.11	m	L
	2	2.65+7.90=10.55	2.98	sm	L
	3	2.18+7.55=9.73	3.46	st	M ₁
	4	2.28+7.35=9.62	3.23	st	M ₁
	5	2.54+5.82=8.36	2.29	sm	M ₂
	6	1.87+6.37=8.25	3.40	st	M ₂
	7	1.86+6.01=7.88	3.22	st	M ₂
	8	1.85+5.16=7.02	2.79	sm	M ₂
	9	1.55+5.16=6.71	3.34	st	M ₂
	10	1.75+4.85=6.60	2.77	sm	M ₂
	11	2.76+4.22=6.98	1.53	m	M ₂
	12	1.56+3.56=5.11	2.29	sm	S
EYO-1-2-1-4	1	3.10+10.59=13.69	3.42	st	L
	2	5.62+7.63=13.25	1.36	m	L
	3	3.32+8.39=11.71	2.53	sm	L
	4	2.71+6.88=9.59	2.54	sm	M ₁
	5	2.09+6.50=8.59	3.12	st	M ₂
	6	2.91+4.99=7.91	1.71	sm	M ₂
	7	2.69+5.17=7.86	1.93	sm	M ₂
	8	3.04+4.53=7.58	1.49	m	M ₂
	9	2.91+3.75=6.66	1.29	m	S
	10	2.43+3.70=6.12	1.52	m	S
	11	2.68+4.36=7.04	1.63	m	M ₂
DSRFY-1-1-2	1	2.74+10.81=13.55	3.95	st	L
	2	6.64+8.52=15.16	1.28	m	L
	3	2.44+6.68=9.13	2.74	sm	M ₂
	4	2.36+7.04=9.41	2.98	sm	M ₁
	5	3.24+6.08=9.32	1.88	sm	M ₁
	6	2.67+6.43=9.09	2.41	sm	M ₂
	7	2.38+5.50=7.88	2.32	sm	M ₂
	8	2.92+4.21=7.13	1.44	m	M ₂
	9	3.20+3.94=7.14	1.23	m	M ₂
	10	2.22+4.34=6.56	1.96	sm	S
	11	2.46+3.19=5.65	1.29	m	S

续表 3 Continued Table 3

自交系 Name	染色体序号 Chromosome number	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度系数 Index of relative length
XXL-YB-1-1-1-1	1	2.85+12.74=15.59	4.46	st	L
	2	2.20+9.32=11.52	4.23	st	L
	3	3.62+6.38=10.00	1.76	sm	M ₁
	4	3.08+6.81=9.89	2.21	sm	M ₁
	5	3.04+5.70=8.74	1.88	sm	M ₁
	6	2.17+6.11=8.28	2.82	sm	M ₂
	7	2.42+5.25=7.67	2.17	sm	M ₂
	8	1.98+4.47=6.45	2.26	sm	M ₂
	9	1.55+4.28=5.83	2.77	sm	S
	10	1.95+4.10=6.04	2.10	sm	S
	11	1.46+4.04=5.50	2.77	sm	S
	12	1.92+2.56=4.49	1.33	m	S

表 4 角堇和大花三色堇核型分析

Table 4 Comparison of karyotype of *V. cornuta* and *V. wittrockiana*

自交系 Name	核型公式 Karyotype formula	最长/最短 L/S	平均臂比 Arm ratio	核不对称系数 As. k/%	核型种类 Type
JB-1-1-2	2n=2x=26=8m+12sm+6st	2.08	2.40	70.10	3B
JP-1-1-2	2n=2x=26=4m+16sm+6st	3.66	2.36	67.20	3B
G10-1-3-1-4	2n=4x=48=8m+20sm+20st	2.58	2.70	70.91	3B
EYO-1-2-1-4	2n=4x=44=4m+16sm+6st	2.24	2.05	67.20	2B
DSRFY-1-1-2	2n=4x=44=16m+24sm+4st	2.68	2.13	66.74	2B
XXL-YB-1-1-1-1	2n=4x=48=4m+36sm+8st	3.47	2.57	71.77	3B

堇染色体相对长度范围为 4.01~14.67;大花三色堇染色体相对长度范围为 4.49~15.59。6 份材料均未发现随体。

从染色体结构特征来看,6 份材料均具有中部染色体(m)、近中部染色体(sm)和近端部染色体(st),染色体长度比范围为 2.08~3.66,其中 JB-1-1-2 的最小,JP-1-1-2 的最大 2 份角堇的染色体平均臂比范围为 2.40~2.36,核不对称系数范围为 67.20%~70.10%,核型分类均为 3B 型;4 份大花三色堇染色体平均臂比范围为 2.05~2.57,核不对称系数范围为 66.74%~71.77%,核型分类(表 4)分别为 2B(EYO-1-2-1-4、DSRFY-1-1-2)和 3B(G10-1-3-1-4、XXL-YB-1-1-1-1)。

3 讨 论

染色体数目及特征是重要的生物学数据,同一物种或品种的染色体数目比较恒定,对阐述植物进化程度和分类方面有重要意义^[11]。目前普遍认为

大花三色堇(*Viola wittrockiana*),为美丽堇菜科亚属园艺杂交种,由原种黄堇(*V. lutea*)、原种三色堇(*V. tricolor*)和开蓝色花阿尔泰堇菜(*V. altaica*)种间多年杂交而来。其中三色堇染色体基数为 x=13,黄堇的染色体基数为 x=24,阿尔泰堇菜染色体基数为 x=11。由于参与杂交的野生种染色体基数不一,大花三色堇的染色体数目及倍性呈现一定的复杂性^[12],本研究所用的 4 份大花三色堇材料,其中 2 份为 48 条,2 份为 44 条,也证明了大花三色堇染色体数目的差异性。本研究结果显示 4 份三色堇染色体基数分别为 11,12 条,均为四倍体材料,与穆金艳等^[13]的研究结果相似;角堇的染色体数目稳定,均为 26 条,染色体基数 x=13,关于角堇的染色体数目还未见报道。三色堇的染色体数目为 26 条^[14],染色体基数为 x=13,三色堇和角堇是一种什么样的关系,还有待于进一步研究。

Sebbins 通过对植物核型资料的分析,将染色体核型按对称性程度的高低分为 12 种类型(1A、

2A、3A、4A;1B、2B、3B、4B;1C、2C、3C、4C),认为核型对称性程度高的生物,其染色体变异越小,进化程度也越低;对称性程度越低的生物,其染色体变异也越大,进化程度越高^[15]。本研究角堇 JB-1-1-2、JP-1-1-2 的核型均为 3B;大花三色堇 G10-1-3-1-4、

XXL-YB-1-1-1-1 的核型为 3B;EYO-1-2-1-4、DSR-FY-1-1-2 的核型为 2B。说明 2 份角堇和 2 份染色体数目为 48 条的大花三色堇类型,进化程度低于染色体数为 44 条的大花三色堇类型。

参考文献:

[1] 李懋学.植物的染色体组和组型分析[J].生物学通报,1981,(4):18-21.
LI M X. The analysis of genome and genotype plants[J]. *Bulletin of Biology*,1981,(4):18-21.

[2] 王春彦,罗凤霞,李玉萍,等.4 个洋水仙品种的核型分析[J].西北植物学报,2011,**31**(8):1 577-1 581.
WANG C Y, LUO F X, LI Y P, *et al.* Karyotype analysis of four exotic daffodil cultivars[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*,2011,**31**(8):1 577-1 581.

[3] 段青,崔光芬,贾文杰,等.云南泸定百合 8 个野生居群的染色体核型分析[J].西北植物学报,2016,**36**(3):472-478.
DUAN Q, CUI G F, JIA W J, *et al.* Karyotypes analysis of eight wild populations of *Lilium sargentiae* from Yunnan Province [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*,2016, **36**(3):472-478.

[4] 林盛华,蒲富慎,张加延,等.李属植物染色体数目观察[J].中国果树,1991,(2):8-10.
LIN S H, PU F S, ZHANG J Y, *et al.* Observation of chromosome number of *Prunus*[J]. *China Fruits*,1991,(2):8-10.

[5] 蒲富慎,林盛华,张加延,等.李属杏属植物的染色体数目观察[J].中国果树,1987,(4):10-12.
PU F S, LIN S H, ZHANG J Y, *et al.* Observation of chromosome number of *Prunus* and *Armeniaca*[J]. *China Fruits*,1987,(4):10-12.

[6] 张其生,包满珠,卢兴霞,等.大花三色堇育种研究进展[J].植物学报,2010,(1):128-133.
ZHANG Q S, BAO M Z, LU X X, *et al.* Research advances in breeding of pansy(*Viola wittrockiana*)[J]. *Chinese Bulletin of Botany*,2010,(1):128-133.

[7] 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.
LI M X, CHEN R Y. A suggestion on the standerdization of karyotype analysis in plants[J]. *Jourant of Wuhan Botanical Research*,1985,**3**(4):297-302.

[8] LEVAN A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*,1964,**52**(2):201-220.

[9] KUO S R, WANG T T, HUANG T C. Karyotype analysis of some formosam gymnosperms[J]. *Talwante*,1972, **17**(1):66-80.

[10] STEBBINS G L. Chromosomal Evolution in Higher Plant[M]. London:Edward Arnold Ltd,1971:87-89.

[11] 杨光穗,冷青云,王呈丹,等.16 个红掌品种的核型分析[J].热带作物学报,2016,(12):2 283-2 287.
YANG G S, LENG Q Y, WANG C D, *et al.* A karyological study of 16 *Anthurium* cultivars[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*,2016,(12):2 283-2 287.

[12] 包满珠.园林植物育种学[M].北京:中国农业出版社,2004:232-237.

[13] 穆金艳,杜晓华,刘会超,等.大花三色堇的核型分析[J].东北林业大学学报,2013,**41**(7):75-78.
MU J Y, DU X H, LIU H C, *et al.* Karyotype in pansy (*Viola wittrockiana* Gams.)[J]. *Journal of Northeast Forestry University*,2013,**41**(7):75-78.

[14] 何丽君,周小燕.三色堇染色体核型分析[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2007,**28**(2):200-204.
HE L J, ZHOU X Y. Karyotype analysis of (Ganden pansy) *viola tricolor* varhortensis[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University* (Natural Science Edition),2007,**28**(2):200-204.

[15] HUANG J, ZHAO Y X, LIU X H. Karyotype analysis on chromosome of *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang[J]. *Medicinal Plant*,2010,**1**(9):41-42,46.

(编辑:潘新社)