

# 热研 11 号黑籽雀稗染色体核型分析

虞道耿<sup>1</sup>, 刘国道<sup>1</sup>, 白昌军<sup>1</sup>, 黄杰梅<sup>2</sup>

(1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南 儋州 571737; 2. 海南大学农学院, 海南 儋州 571737)

**摘要:** 试验采用了染色体压片法研究了热研 11 号黑籽雀稗 *Paspalum atratum* cv. ‘Reyan 11’ 的染色体数目和核型。结果表明: 热研 11 号黑籽雀稗的染色体数目  $2n=40$ , 核型公式为  $2n=2x=40=32m+4sm+2st+2M$ 。核型分类为“2A”型, 比较对称。研究确定了热研 11 号黑籽雀稗染色体的数目, 并分析了其核型, 这为热研 11 号黑籽雀稗的起源演化及分子生物学提供了细胞学研究基础。

**关键词:** 热研 11 号黑籽雀稗; 染色体; 核型分析

**中图分类号:** S543<sup>+</sup>.9

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-0629(2010)01-0109-05

热研 11 号黑籽雀稗 *Paspalum atratum* cv. ‘Reyan 11’, 为禾本科雀稗属多年生丛生牧草。中国热带农业科学院热带牧草研究中心于 1996 年从印度尼西亚引进黑籽雀稗后, 开展了生态适应性评价, 1998 年开始一系列试验并推广种植, 结果表明, 该草种具有适应性强、叶量大、可饲用比例高、茎叶脆嫩、适口性好、耐刈割再生能力强、种子量大、易于扩繁的特点。2003 年 12 月经全国牧草品种审定委员会审定, 登记为引进品种, 准予在适宜地区推广种植, 定名为热研 11 号黑籽雀稗<sup>[1]</sup>。

染色体研究是细胞分类学的重要证据之一, 也是植物遗传育种和探讨植物亲缘关系和进化趋势的一个重要途径。Belling 提出染色体的常规制片技术后, 植物压片已成为植物染色体研究中广泛应用的常规技术。此后陈瑞阳<sup>[2]</sup>提出了植物染色体标本制备的去壁低渗法。目前, 有关雀稗属染色体核型的研究报道不多, 热研 11 号黑籽雀稗染色体数目及核型分析尚未见相关报道。为此对热研 11 号黑籽雀稗染色体核型进行分析, 旨在为其开发利用提供细胞遗传学研究基础<sup>[3-4]</sup>。

## 1 材料与方 法

**1.1 供试材料** 材料为热研 11 号黑籽雀稗, 种子由中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所热带牧草研究中心提供。

## 1.2 试验方 法

**1.2.1 染色体标本的制备** 将种子在室温条件下浸泡 8~24 h, 放在培养皿中于 37 °C 冰箱中培

养, 待根尖长至 1~2 cm(3~7 d) 取出切下根尖, 取种子的初生根根尖饱满部位, 加入预处理液——对二氯苯或 8-羟基喹啉, 置于冰箱中处理, 预处理 2~4 h。自来水冲洗 30 min 后用卡诺氏固定液于冰箱中固定 6~24 h, 固定后的材料用蒸馏水冲洗后放入预热的 1 mol/L 的盐酸于 60 °C 恒温水浴中解离 12~20 min, 解离后的材料用蒸馏水冲洗 30 min 后, 置于 45% 冰醋酸中软化 30 min 或直接用 Giemsa 染色液染色。染色后压片观察, 在显微镜下镜检, 选择染色体分散良好、形态清晰的片子, 经冰冻脱水封片法制成永久制片, 统计染色体数目。

**1.2.2 取材及处理** 取种子的初生根根尖饱满部位, 加入预处理液——对二氯苯或 8-羟基喹啉, 置于冰箱中处理 1.5~2 h。用对二氯苯如果时间控制好, 染色体的浓缩效果比较好, 但其有毒性容易使细胞受伤害, 用 8-羟基喹啉染色体的缢痕区比较清晰。

**1.2.3 固定** 将根尖转入自制的蒸馏水中洗涤 3~5 次, 每次 5 min, 后加入固定液卡诺氏; 在冰箱中固定 6~24 h。若固定的材料较多, 可以将

收稿日期: 2009-06-17

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项“人工草地优质牧草生产技术与示范”(nybyzx07-022); 科技部科技基础性平台项目“热带作物种质资源标准化整理、整合及共享试点”(2005DKA21000-5-60)

作者简介: 虞道耿(1979-), 男, 海南屯昌人, 研究实习员, 学士, 主要研究方向为热带牧草选育、牧草种质资源和牧草综合利用。  
E-mail: geng0209@126.com

材料换至体积分数 70% 酒精中,于冰箱中保存。

**1.2.4 解离** 取已固定好的根尖,经蒸馏水冲洗后,加入 1 mol/L 盐酸在 6065 °C 恒温水浴锅中解离 1520 min(16 min 左右为宜),解离完毕,用流水冲洗 30 min。

### 1.2.5 染色制片

1)用卡宝品红染色并压片。

2)用苏木精染色,漂洗液冲洗,45%冰乙酸压片。

**1.2.6 镜检及显微摄影** 经镜检对各条染色体处于同一平面、分散均匀、着丝点处不断裂的细胞进行显微摄影,冲洗底片,印相,放大。

**1.3 核型分析方法** 根据李懋学等<sup>[5]</sup>提出的标准,染色体计数统计 50 个细胞。

染色体相对长度 = 染色体长度 × 100 / 染色体组长度;

染色体长度比 = 最长染色体长度 / 最短染色体长度;

臂比 = 长臂 / 断臂。

核型对称程度的分类采用 Stebbins<sup>[6]</sup>的核型分类标准。

## 2 结果与分析

**2.1 染色体数目** 在进行核型分析时,通常按李懋学等<sup>[7]</sup>的标准来确定染色的数目、分析染色体的形态,按 Stebbins<sup>[6]</sup>的方法确定染色体核型类别要确定一种植物染色体的数目,必须对它的一些细胞中含有的染色体数目进行统计分析。在实际操作中,不同学者所统计细胞的数目有很大差别。一般认为至少应该统计 30 个染色体分散良好的细胞(染色体大且数目少的材料,可以少统计一些细胞,而染色体小且数目多的材料,可多统计一些细胞),而且 85% 以上的细胞具有相同染色体数时,才能确定该植物染色体数目<sup>[7-8]</sup>。从热研 11 号黑籽雀稗的大量制片中选择了 50 个染色体分散良好的细胞进行观察、计数,其中有 46 个细胞的染色体数目为 40 条。占所统计细胞总数的 92%,超过了 90%。据此确定热研 11 号黑籽雀稗的体细胞染色体数目为  $2n=40$ ,其中期分裂相片如图 1。

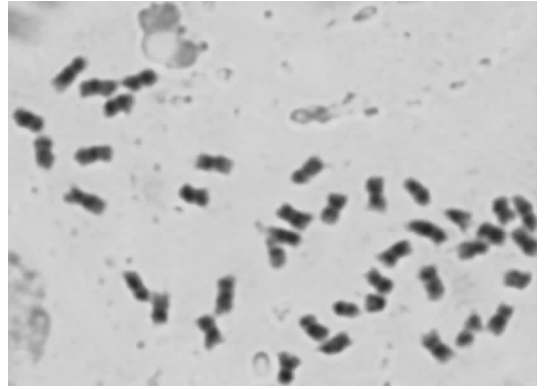


图 1 热研 11 号黑籽雀稗体细胞染色体中期分裂数目

**2.2 染色体核型** 根据 Levan 等<sup>[9]</sup>的染色体分类标准,热研 11 号黑籽雀稗的染色体核型分析结果见表 1,核型模式见图 2、图 3。其核型公式为  $2n=2x=40=32m+4sm+2st+2M$ ,在试验条件下,未观察到热研 11 号黑籽雀稗的随体染色体,可能本身不具有或在制片时丢失了。染色体绝对总长 173.6  $\mu\text{m}$ ,长臂总长 102.17  $\mu\text{m}$ ,短臂总长 71.43  $\mu\text{m}$ ,最长染色体 11.15  $\mu\text{m}$ ,最短染色体 5.64  $\mu\text{m}$ ;最长染色体与最短染色体之比为 1.98,臂值数(NF)为 78,相对总长 197.9  $\mu\text{m}$ ,平均相对长 4.95  $\mu\text{m}$ ,相对长臂总长 115.62  $\mu\text{m}$ ,相对短臂总长 82.28  $\mu\text{m}$ ,相对长度变化为围 3.54%-6.22%,臂比变化为 1.014.07,其中第 4、13、20 对染色体臂比大于 2,占全组染色体 7.5%。根据 Stebbins 的核型分类标准,其核型属于“2A”型,不对称系数为 58%,属于较对称核型。

在进行染色体形态分析时,根据染色体的长度、臂比、着丝粒的位置、随体的有无和位置以及染色体的带型等进行同源染色体的配对。然后根据染色体的长度给染色体编号,长度最长的染色体编为 1 号,依次排列,等长的染色体把短臂长的染色体排在前面。接着将配好对的同源染色体按编号由小到大排列在与照片底色一样的纸上,并且粘好,排列时把染色体的着丝粒放在一条直线上,可把染色体排成 2 行或 2 行以上,染色体纵向与直线垂直,短臂放在上边。排好后进行翻拍,得到热研 11 号黑籽雀稗的染色体核型图(图 2)。

核型模式图用绘图纸和座标纸绘制。座标纸放在绘图纸下作为标记,横座标为染色体编号,纵

表1 热研11号黑籽雀稗的核型参数

染色体编号	相对长度 (%)	臂比 (长/短)	着丝点位置	染色体相对 长度系数	染色体类型
1	2.86+2.36=5.22	1.64	m	1.24	M2
2	3.74+2.32=6.06	1.61	m	1.21	M2
3	3.20+2.75=5.95	1.16	m	1.19	M2
4	4.13+1.77=5.90	2.33	sm	1.18	M2
5	3.32+2.30=5.62	1.44	m	1.12	M2
6	2.90+2.35=5.25	1.23	m	1.05	M2
7	2.87+2.34=5.21	1.23	m	1.04	M2
8	2.88+2.30=5.18	1.25	m	1.04	M2
9	2.81+2.26=5.07	1.24	m	1.01	M2
10	2.93+1.99=4.92	1.47	m	0.98	M1
11	2.86+2.04=4.90	1.40	m	0.98	M1
12	2.59+2.30=4.89	1.13	m	0.98	M1
13	3.24+1.58=4.82	2.05	sm	0.96	M1
14	2.94+1.85=4.79	1.59	m	0.96	M1
15	2.35+2.33=4.68	1.01	m	0.94	M1
16	2.85+1.72=4.57	1.66	m	0.91	M1
17	2.25+2.24=4.49	1.00	M	0.90	M1
18	2.30+1.75=4.05	1.31	m	0.81	M1
19	2.02+1.88=3.90	1.07	m	0.78	M2
20	2.83+0.71=3.54	3.99	st	0.71	S

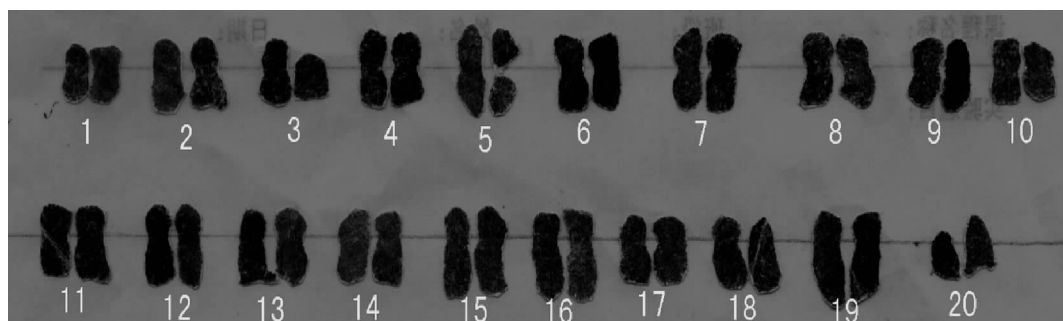


图2 热研11号黑籽雀稗染色体核型

座标为染色体的相对长度。绘染色体时,长臂在下,短臂在上,按热研11号黑籽雀稗的染色体核型图绘制染色体核型模式图(图3)。

### 3 讨论与结论

热研11号黑籽雀稗为禾本科雀稗属,禾本科雀稗属牧草的核型的染色体数目 $2n=40$ ,核型公

式为 $2n=2x=40=32m+4sm+2st+2M$ ,核型分类为“2A”型,比较对称。张新全等<sup>[10]</sup>对长叶雀稗根尖细胞染色体数目为40,与热研11号黑籽雀稗研究结果一致。而长叶雀稗核型公式为 $2n=4x=40=8sm(4SAT)+32m$ ,由16对中部着丝粒染色体和4对近中部着丝粒染色体组成,其中第1对

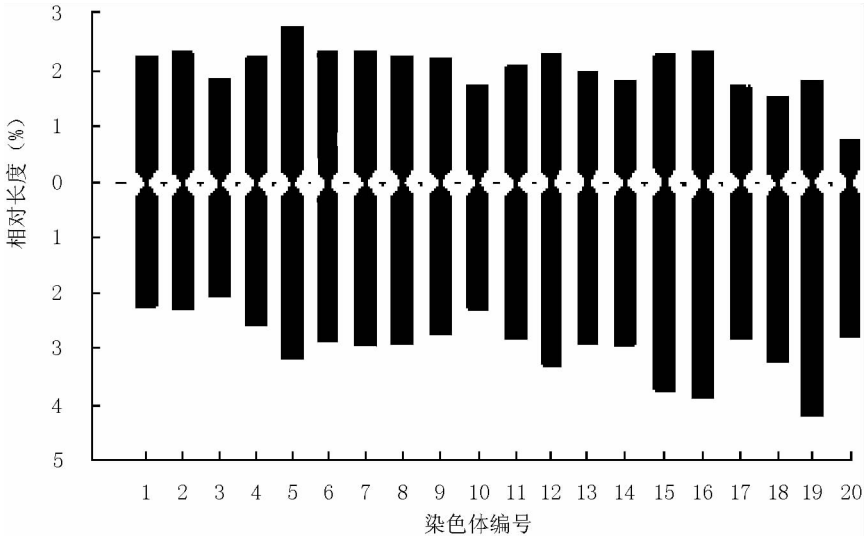


图3 热研11号黑籽雀稗染色体核型模式

和第3对染色体长臂具随体,染色体长度比为2.69:1,臂比 $>2:1$ 的染色体比例为5%,属2B型。与热研11号黑籽雀稗存在差异,说明雀稗属品种间存在遗传多样性,这可为研究雀稗属品种的起源、进化以及育种提供参考。

关于核型分析的文献很多,但大多数文献的试验方法和结果分析各不相同,甚至对同一种植物的试验方法及结果分析差别也很大。主要原因是不同的研究者具有的理论知识和试验技巧不同,所用的药品和试验设备也有很大差别。如果对不同取材方式、材料预处理、材料解离、染色方法、压片永久制片等方法进行随机组合,则可有成千上百种不同的方法。不同的处理方式对染色体的影响是不完全相同的,如不同的处理使染色体缩小的程度不同而造成染色体的绝对长度不同;由于染色体不同部位的物质组成不同,不同的处理会使染色体不同部位按不同的比例缩小而造成染色体的臂比不同<sup>[1]</sup>。于是这些试验结果之间的可比性就减小,给植物的分类及遗传研究造成诸多不便。因此,有必要在国内外实行统一的试验方法和结果分析方法(至少在植物的一个属内实行统一的试验方法和结果分析方法)以及使用统一标准的仪器设备,建立一些专门从事植物染色体研究的机构,并且对试验操作人员进行统一培训,从而有利于植物分类和遗传的研究。绝对长度值在某些情况下有相对的比较价值,在许多

情况下,它不是一个可靠的比较数值。由于预处理的条件和染色体缩短的程度不同,因此即使同种植物,不同研究者所测得的绝对长度值也往往有明显差异,这是无法避免的。但是,相对长度值则是稳定的可比较数值。在近年国内外多数核型分析研究的文献中,往往只用相对长度值,这种简化是可取的。试验过程中,通过对每个步骤设不同的梯度,从而获得分裂相比较好的相片,从中挑选几张分裂相对较好的中期相片进行分析。从所获中期相片可看出,所获染色体浓缩程度比较好,由此可说明在预处理时间控制上比较合理;所得染色体比较分散,说明解离时间把握合理,敲片到位。所获染色体比较直,因此比较便于测量,使其误差减少,便于配对,利于结果的分析,提高正确性。

### 参考文献

- [1] 虞道耿,刘国道,白昌军,等.不同刈割周期对热研11号黑籽雀稗产草量及品质的影响[J].中国农学通报,2007,23(7):564-567.
- [2] 陈瑞阳,宋文芹.植物染色体及染色体技术[M].北京:科学出版社,1982:99-114.
- [3] 詹秋文,高丽,张天真.苏丹草与高粱染色体核型比较研究[J].草业学报,2006,15(2):100-106.
- [4] 王长山,徐香玲,张月学,等.不同熟期苦苣菜的染色体数目及核型分析[J].草业科学,2006,23(4):

- 32-35.
- [5] 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.
- [6] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London: Edward Arnold,1971:85-104.
- [7] 李懋学,张赞平.作物染色体及其研究技术[M].北京:中国农业出版社,1996:1-60.
- [8] 李国珍.染色体及其研究方法[M].北京:科学出版社,1985:109-130.
- [9] Levan Fredga A K. Nomenclature far centrem eric- position on chromosomes [J]. Hcreditas, 1964, 52: 197-201.
- [10] 张新全,杜逸,郑德成,等.湖南稷子和长叶雀稗染色体核型分析[J].四川草原,1996(2):16-18.
- [11] 香香,施季森,刘晓健.两种预处理方法对杉木核型的影响[J].南京农业大学学报,2001,25(1):23-26.

### Chromosome karyotype analysis of *Paspalum atratum* cv. Reyan 11

YU Dao-geng<sup>1</sup>, LIU Guo-dao<sup>1</sup>, BAI Chang-jun<sup>1</sup>, HUANG Jie-mei<sup>2</sup>

(1. Tropical Crops Genetic Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Hainan, Danzhou 571737, China;

2. Agronomy College, Hainan University, Hainan, Danzhou 571737, China)

**Abstract:** The chromosome number and the karyotype of *Paspalum atratum* cv. Reyan 11 were investigated by the method of root tip squash. The result showed that the chromosome number of somatic cells was  $2n=40$ , the karyotype formula was  $2n = 2x = 40 = 32m + 4sm + 2st + 2M$ . The karyotype belonged to type "2A", and it was quite symmetrical. This confirmed the chromosome number of *P. atratum* cv. Reyan 11 and analyzed its karyotype, which would provide basis for the research of cytology in genesis evolution and molecular biology of *P. atratum* cv. Reyan 11.

**Key words:** *Paspalum atratum* cv. Reyan 11; chromosome; karyotype analysis

## 全国牧草产业发展培训班暨草原处长座谈会在浙江召开

12月8—10日全国牧草产业发展培训班暨草原处长座谈会在浙江省萧山召开。来自全国25个省区及新疆生产建设兵团和黑龙江农垦总局负责草原建设保护的负责人近60人参加会议。农业部畜牧业司杨振海副司长、全国畜牧总站何新天书记、农业部草原监理中心刘加文副主任等领导与农业部发展计划司、草原监理中心、畜牧业总站等相关单位负责人参加了会议。

会议由农业部畜牧业司草原处李维蔚主持,杨振海副司长在会议上作小结讲话。中国农业大学张英俊教授和浙江大学动物科学学院刘建新教授分别作了国家牧草产业技术体系建设和我国南方饲草畜牧业前景展望的专题讲座,并就我国牧草产业体系建设、饲草饲料开发利用、草原保护等专题进行了认真的讨论。与会代表还兴致勃勃地到临安实地查看了杭州正兴牧业有限公司黑麦草基地、青贮饲料车间以及波尔山羊省级繁育场等。内蒙古、青海、西藏、黑龙江和浙江省代表分别在会上作了典型交流。

会议高度评价了浙江省根据当地资源条件,紧紧围绕农牧结合生态畜牧业发展特色,积极推广冬闲田“饲、饲、粮”高效种植模式、青粗饲料加工调制贮存技术研究应用、奶牛和肉羊生态高效饲养模式、规模养殖粪尿处理工程模式,实现牧草产业的开发利用,使草产业与草食畜禽的发展有机结合的具体做法。