

21 个百合栽培品种的核型分析

杨雪珍¹ 张克中^{1*} 贾月慧¹ 范佳林¹ 刘 燊²

(1. 北京农学院 园林学院, 北京 102206; 2. 中国农业大学 农业生物技术国家重点实验室, 北京 100193)

摘 要 采用常规压片法,对百合 21 个栽培品种的染色体进行核型分析,结果表明:所试验品种染色体数均为 $2n=24$ 。染色体呈现多态性,大部分品种都是由近中部(sm)、近端部(st)和端部(t)着丝粒染色体组成。亚洲百合、东方百合的染色体相对长度变动范围分别为 5.1%~14.39%和 5.11%~13.66%;最长与最短染色体的比值分别为 2.09~2.61 和 2.01~2.64;核型不对称系数分别在 78.54%~84.05%和 77.04%~86.08%。21 个品种核型类型有 13 个为“3B”型,8 个为“4B”型;17 个有随体的品种中,仅 6 个具有中间随体,其余均为端部随体;可以通过不同类型染色体数量以及它们在核型中排序位置的差异、随体的位置与数量差异对 21 个百合品种做早期鉴定。

关键词 百合;栽培品种;染色体;核型分析

中图分类号 S 682.2

文章编号 1007-4333(2011)03-0100-07

文献标志码 A

Karyotype analysis of 21 cultivars in *Lilium*

YANG Xue-zhen¹, ZHANG Ke-zhong^{1*}, JIA Yue-hui¹, FAN Jia-lin¹, LIU Shen²

(1. College of Landscape, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China;

2. State Key Laboratories for Agrobiotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract The karyotypes of 21 lily cultivars were studied using traditional squash method. The results showed that the chromosome number of all tested cultivars was 24. Diversity of chromosome morphology was observed. Submetacentric acrocentric and telocentric chromosomes coexisted in most cultivars. The chromosome relative length varied from 5.1% to 14.39% and 5.11% to 13.66% in Asiatic Hybrids and Oriental Hybrids respectively. The ratio of the length of the longest chromosome to that of the shortest one varied from 2.09 to 2.61 and 2.01 to 2.64 respectively. The AS. K of the tested Asiatic cultivars and Oriental cultivars were 78.54%~84.05% and 77.04%~86.08% respectively. Of the 21 tested cultivars, 13 cultivars belonged to the stebbins ‘3B’ karyotype, the rest 8 cultivars belonged to the stebbins ‘4B’ karyotype. 6 of 17 cultivars with satellites were intermediate satellites, the other 11 were telocentric satellites. 21 cultivars could be discriminated by means of the number and position of different kinds of chromosomes as well as the number and position difference of satellite in different cultivars.

Key words *Lilium*; cultivars; chromosome; karyotype analysis

百合栽培品种分为亚洲百合杂种系(*Asiatic Hybrids*)、东方百合杂种系(*Oriental Hybrids*)、麝香百合杂种系(*Longiflorum Hybrids*)、LA 杂种系(*Longiflorum* × *Asiatic*)、LO 杂种系(*Longiflorum* × *Oriental*)、OA 杂种系(*Oriental* × *Asiatic*)和 OT (*Oriental* × *Trumpet lily*)杂种系等。不同类型杂种系由百合属不同类型种质反复杂交而来,遗传背景

复杂。其中前 3 个杂种系由百合属同组内或杂种系内杂交而来,称为组内杂种(*intra-section hybrids*);后 4 个杂种系由百合属同组或杂种系间杂交而来,称为组间杂种(*inter-section hybrids*)。例如亚洲百合杂种系主要由原产东亚的 10 余种广义卷瓣组(*Section Sinomartagon*)野生原种之间和野生种与亚洲百合栽培品种之间杂交或亚洲百合品种之间反

收稿日期:2010-09-03

基金项目:北京市科技新星项目资助(2003B013);北京市教委科技创新平台项目资助(PXM2009-014207-078529)

第一作者:杨雪珍,硕士研究生,E-mail:xuezhencau@163.com

通讯作者:张克中,副教授,博士,主要从事花卉遗传育种研究,E-mail:zkzxd@vip.sina.com

复杂交而来。据报道广义卷瓣组中山丹(*Lilium pumilum*)、渥丹(*L. concolor*)、卷丹(*L. lancifolium*)、川百合(*L. davidii*)、垂花百合(*L. cernum*)、大花卷丹、大花百合和朝鲜百合(*L. amabile*)等遗传物质渗入了亚洲百合的品种中^[1]。而东方百合由原产日本的具叶柄组(*Section Archelirion*)野生百合,例如天香百合(*L. auratum*)、鹿子百合(*L. speciosum*)和日本百合(*L. japonicum*)以及它们与湖北百合(*L. henryi*)反复杂交而来^[1]。麝香百合则是由麝香百合与台湾百合衍生出的种或杂交种,但不包括它们的任何类型和多倍体^[2]。正因为如此,百合栽培品种遗传背景复杂。近年来,国内外学者对于百合属植物的染色体核型研究作了大量工作,其中以野生百合居多,如南川百合(*L. rosthornii* Diels)、青岛百合(*L. tsingtauense* Gilg)、山丹(*L. pumilum* DC.)和岷江百合(*L. regale* Wilson)^[3]等。栽培品种报道的并不多,只有东方百合杂种系的‘Siberia’、‘Acapulo’、‘Sorbonne’、‘Alma Ata’、‘Expression’、‘Marco Polo’、‘Muscadet’和‘Star Gazer’,亚洲百合杂种系的‘Pollyanna’、‘Prato’、‘Cordelia’和‘Negro’,麝香百合杂种系的‘Snow Queen’等^[4-8]。Schmitzer于1991年就报道了多种栽培百合的核型,并指出亚洲百合栽培品种多数为二倍体,但是也有三倍体、四倍体以及非整倍体^[9]。

对栽培品种核型背景进行完善研究,将为杂交育种亲本选配提供细胞遗传学依据。百合染色体中的次隘痕(或随体)特征能为亲子鉴定提供可靠的依据。黄济明发现王百合×玫红百合的杂种F₁根尖染色体具有母本双亲核型的特征:第2条染色体近着丝点位置具有次隘痕(母本特征),第4和第10条染色体长臂具有次隘痕(父本特征),从而证明了杂种的真实性^[10]。国外的许多学者^[11-12]通过次隘痕(或随体)特征进行了百合杂种的早期鉴定。Marasek分析了百合4个野生种和5个栽培品种的核型,发现第4~10条染色体上的次隘痕特征可以作为区分不同基因型的细胞学标记,同时分析出栽培品种与野生种杂交后进行杂种鉴定可利用的核型标记,并建议次隘痕难以确定时,可通过银染技术进行补充验证^[8]。在北京市科技新星项目和北京市教委科技创新平台资助下,本研究进行了5年的杂交

育种试验,大规模的百合杂交育种研究和百合核型分析可为百合亲本选配及杂种真实性早期鉴定提供细胞学依据。

1 材料及方法

1.1 材料

本试验所用的21种栽培百合购自北京克劳沃园艺有限公司。其中亚洲百合有6个品种:‘Landini’、‘Lolly pop’、‘Renoir’、‘White pixels’、‘Yellow pixels’和‘Black out’,东方百合有15个品种:‘Corvara’、‘La mancha’、‘Briancon’、‘Energetic’、‘Francia’、‘Caruso’、‘Canberra’、‘Justina’、‘Laguna’、‘Rubato’、‘Santander’、‘Tiara’、‘Vitarra’、‘Montezuma’和‘Constanta’。

1.2 方法

1.2.1 培育良好根系

取上述不同品种百合的外层鳞片,将鳞片基部(按生理极性)用200 mg/L NAA处理12 h,然后采用埋片法将鳞片扦插于蛭石中。在蛭石中生长1~1.5月左右,鳞片基部长出小仔球,小仔球基部长出1~2 cm长的根系。将上述根系用于染色体制片。

1.2.2 取材及预处理

取材的适宜时间为上午9:00—11:00点左右。取出鳞片,挑选白嫩粗壮根系,剪取0.5~1.0 cm长根尖,用蒸馏水冲洗干净,然后将其用0.04%秋水仙素处理24 h。

1.2.3 固定及保存

材料经过秋水仙素处理24 h后,用蒸馏水冲洗干净,于室温下放置到卡诺氏固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1)中固定24 h。固定好的材料如不能及时解离及制片可将材料换至70%酒精中,冰箱4℃保存备用。

1.2.4 染色体制片

将上述保存在冰箱中的百合根尖用蒸馏水清洗,然后加入1 mol/L盐酸中,置于60℃的水浴锅解离,时间5~15 min左右;然后用蒸馏水清洗,完全清洗掉附着其上的盐酸。将材料置于载玻片上,用吸水纸吸干水分,切取先端根尖2~4 mm左右,用解剖针将其展开,压平,滴取1~2滴卡宝品红溶液染色,静置10~15 min,盖上盖玻片,将片子置酒

精灯火焰上烤 1~3 s(以不烫手为宜)。然后把片子用吸水纸包好,用铅笔头轻轻敲片,使染色体分散良好,以便观察。

1.2.5 核型分析

制好的片拿到显微镜上观察,观察百合染色体中期分裂时期,照下能清晰数出染色体数目的好照片,每种材料均观察 30 个左右细胞进行染色体计数。分别选用 5 个分散良好的中期分裂相进行分析测量,得到核型数据。核型分析按照李懋学制定的标准进行^[13],染色体的相对长度、臂比及类型遵循

Levan 等^[14]的命名系统,核型类型参照 Stebbins^[15]标准,按核型中最长染色体与最短染色体之比及臂比大于 2 的染色体所占比例划分。核型不对称系数($As \cdot k(\%) = \text{长臂总长} / \text{全组染色体总长}$)用 Arano^[16]的方法。

2 结果与分析

供试 21 个百合品种染色体数均为 $2n=2x=24$,染色体参数和核型特征分别见表 1。中期染色体照片与核型图分别见图 1 和图 2,核型模式图见图 3。

表 1 21 种栽培百合的核型特征

Table 1 Karyotype characteristics of 21 Cultivars in *Lilium*

品种	核型公式	不对称系数 $As \cdot k/\%$	最长/最短	核型分类
Landini	$2n=2x=24=6sm(SAT)+16st+2t$	81.38	2.53	4B
Lolly pop	$2n=2x=24=2m(SAT)+22st(2SAT)$	80.59	2.19	3B
Renoir	$2n=2x=24=2sm+10st(2SAT)+12t(2SAT)$	84.05	2.13	4B
White pixels	$2n=2x=24=4sm+20st$	79.49	2.23	3B
Yellow pixels	$2n=2x=24=4sm(SAT)+16st(SAT)+4t(SAT)$	82.14	2.61	4B
Black out	$2n=2x=24=4m(2SAT)+18st(4SAT)+2t(SAT)$	78.54	2.09	3B
Corvara	$2n=2x=24=4m(SAT)+20st(3SAT)$	78.29	2.10	3B
La mancha	$2n=2x=24=2sm+16st+6t(SAT)$	78.00	2.01	3B
Briancon	$2n=2x=24=2sm+20st(SAT)+2t$	81.20	2.64	4B
Energetic	$2n=2x=24=2sm+22st$	81.89	2.09	3B
Francia	$2n=2x=24=6sm(SAT)+18st$	80.36	2.22	3B
Caruso	$2n=2x=24=2m+2sm(SAT)+20st(2SAT)$	78.14	2.23	3B
Canberra	$2n=2x=24=2m(SAT)+2sm+20st(4SAT)$	76.63	2.44	3B
Justina	$2n=2x=24=2m+2sm(SAT)+12st(2SAT)+8t$	82.62	2.49	3B
Laguna	$2n=2x=24=22st(SAT)+2t$	83.53	2.10	4B
Rubato	$2n=2x=24=6sm(2SAT)+18st(2SAT)$	78.88	2.31	4B
Santander	$2n=2x=24=4sm(SAT)+20st$	81.58	2.50	4B
Tiara	$2n=2x=24=16st+8t(SAT)$	86.08	2.52	4B
Vitara	$2n=2x=24=2m+2sm+6st+14t(SAT)$	83.01	2.38	3B
Montezuma	$2n=2x=24=4m+20st$	77.04	2.05	3B
Constanta	$2n=2x=24=6sm+18st$	77.97	2.41	3B

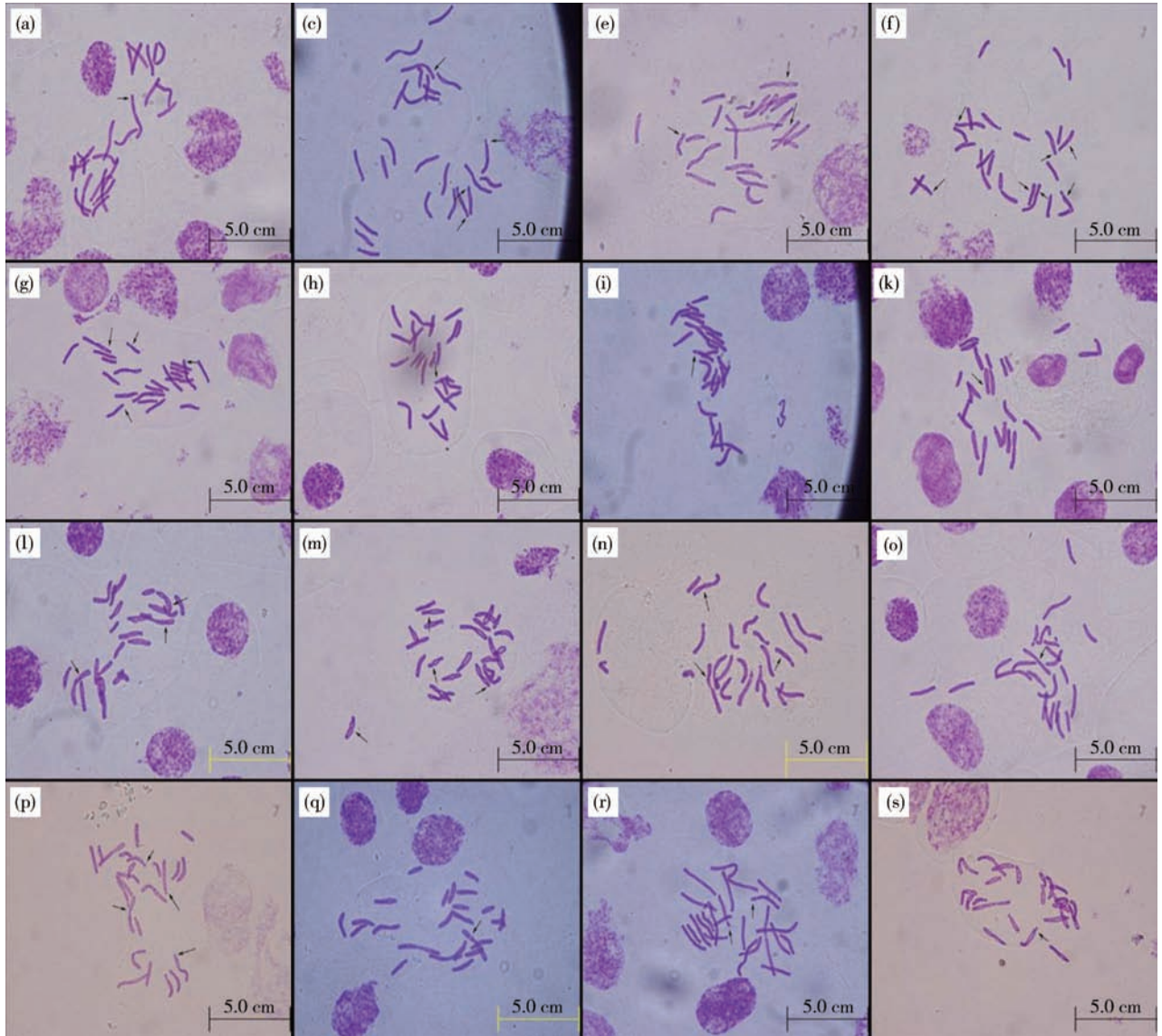
2.1 亚洲百合的染色体核型

核型分析:6 个亚洲百合品种主要由近中部(sm),近端部(st)和端部(t)着丝粒染色体组成,

‘Landini’有 3 对 sm、8 对 st 和 1 对 t 着丝粒染色体;‘Lolly pop’有 1 对中部(m)着丝粒染色体和 11 对 st 着丝粒染色体;‘Renoir’有 1 对 sm、5 对 st 和

6 对 t 着丝粒染色体；‘White pixels’有 2 对 sm 和 10 对 st 着丝粒染色体；‘Yellow pixels’有 2 对 sm、8 对 st 和 2 对 t 着丝粒染色体；‘Black out’有 2 对 m、9 对 st 和 1 对 t 着丝粒染色体。染色体相对长度变动范围 5.1%~14.39%，最长与最短染色体的比值为 2.09~2.61，核型不对称系数为 78.54%~84.05%。除‘White pixels’外，其他 5 个品种均有

随体(SAT)。“Landini”的随体只出现在短臂上(图 1(a))，‘Yellow pixels’的随体只出现在长臂上(图 1(e))，除‘Renoir’和‘Black out’既有中间随体又有端部随体外(图 1(c)和(f))，其他 3 个品种均为端部随体。‘Landini’、‘Renoir’和‘Yellow pixels’的核型类型为“4B”型；‘Lolly pop’、‘White pixels’和‘Black out’的核型类型为“3B”型。



(a) Landini;(c) Renoir;(e) Yellow pixels;(f) Black out;(g) Covara;(h) La mancha;(i) Briancon;(k) Francia;
(l) Caruso;(m) Canberra;(n) Justina;(o) Laguna;(p) Rubato;(q) Santander;(r) Tiara;(s) Vitara.

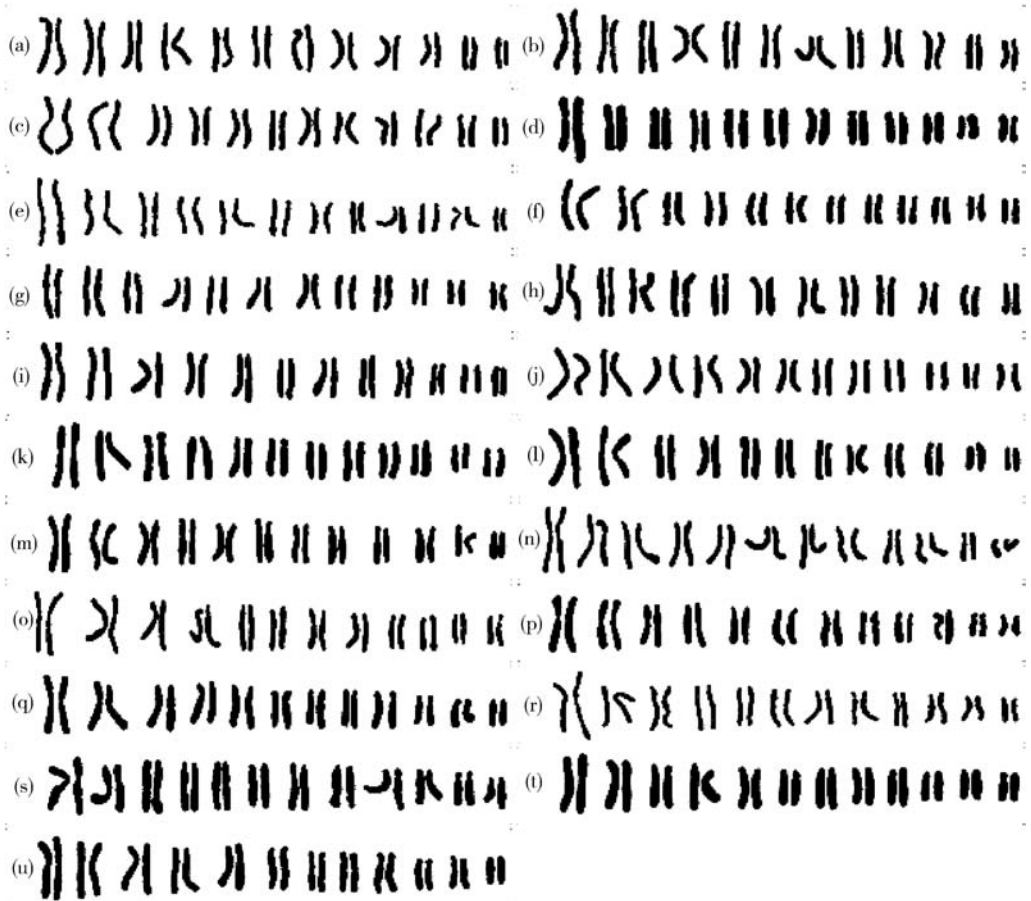
图 1 栽培百合有丝分裂中期染色体

Fig.1 Mitotic chromosomes at metaphase of lilium cultivars

2.2 东方百合的染色体核型

核型分析表明: 15 种东方百合品种中, ‘Corvara’、‘Caruso’、‘Canberra’、‘Justina’、‘Santander’、‘Vitara’和‘Montezuma’是由 2 对 m 或 sm 着丝粒染色体以及 10 对 st 或 t 着丝粒染色体所组成; ‘La mancha’、‘Briancon’和‘Energetic’只含有 1 对 sm 着丝粒染色体; ‘Francia’、‘Rubato’和‘Constanta’含有 3 对 sm 染色体; ‘Laguna’和‘Tiara’的 12 对染色体都是 st 或 t 着丝点染色体。染色体相对长度变动范围 5. 11%~13. 66%, 最长与最短染色体比值为 2. 01~2. 64, 核型不对称系数

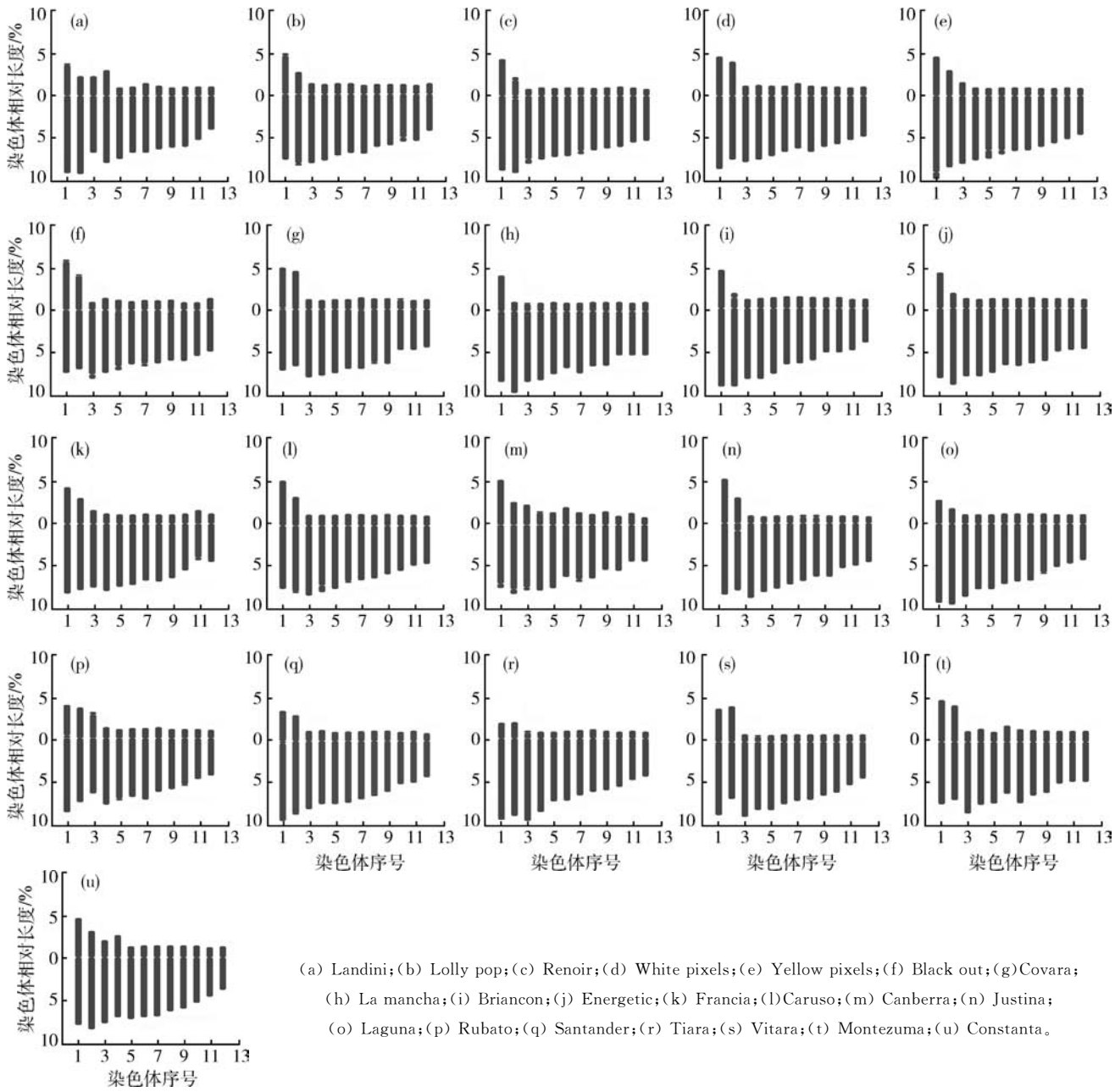
为 77. 04%~86. 08%。除‘Energetic’、‘Montezuma’、‘Constanta’不含随体外, 其余品种都具有随体, ‘La mancha’、‘Briancon’、‘Tiara’和‘Vitara’只在短臂上出现随体(图 1(h)、(i)、(r)和(s)); ‘Francia’、‘Caruso’和‘Laguna’只在长臂上出现随体(图 1(k)、(l)和(O)); ‘Santander’只含有中间随体(图 1 Q); 在‘Corvara’、‘Justina’和‘Rubato’中既有中间随体又有端部随体(图 1(g)、(n)和(p))。‘Briancon’、‘Laguna’、‘Rubato’、‘Santander’和‘iara’的核型类型为“4B”型, 其他品种均为“3B”型。



(a) Landini; (b) Lolly pop; (c) Renoir; (d) White pixels; (e) Yellow pixels; (f) Black out; (g) Covara; (h) La mancha; (i) Briancon; (j) Energetic; (k) Francia; (l) Caruso; (m) Canberra; (n) Justina; (o) Laguna; (p) Rubato; (q) Santander; (r) Tiara; (s) Vitara; (t) Montezuma; (u) Constanta.

图 2 21 种栽培百合有丝分裂中期染色体核型

Fig. 2 Chromosome karyotype of 21 *Lilium* cultivars during mitosis metaphase



(a) Landini; (b) Lolly pop; (c) Renoir; (d) White pixels; (e) Yellow pixels; (f) Black out; (g) Covara; (h) La mancha; (i) Briancon; (j) Energetic; (k) Francia; (l) Caruso; (m) Canberra; (n) Justina; (o) Laguna; (p) Rubato; (q) Santander; (r) Tiara; (s) Vitara; (t) Montezuma; (u) Constanta.

图 3 21 个百合栽培品种核型模式

Fig. 3 Idiograms of 21 *Lilium* cultivars

3 讨论

百合属植物的染色体多为大型, 染色体基数 $x=12$, 以二倍体 ($2n=2x=24$) 最为常见, 百合属核型中, 大部分种类的第 1 号和第 2 号染色体均为 m 或 ms, 且短臂紧靠着丝点处均有一个缢痕, 有的种类较大, 有的种类则不明显^[17]。本研究中 21 个品种的染色体均为 24 条, 其中有 10 个品种都是由 2 对 m 或 sm 着丝点染色体以及 10 对 st 或 t 着丝点染色体所组成, 占所试品种的 47.6%; 有 90.48% 的

品种至少含有 1 对 m 或 sm 着丝点染色体, 只有 9.5% 的品种完全由 st 或 t 着丝点染色体所组成。百合属植物之间核型差异主要表现在各种不同类型染色体数量以及它们在核型中排序位置的差异^[13], 本研究也印证了上述观点。周树军^[19]曾用基因组荧光原位杂交技术检测了东方百合和亚洲百合的 BC_1 (亲本种或品种不详), 并得出东方百合和亚洲百合的核型模式图, 从其图上来看, 二者的差异主要在于东方百合第 2 对染色体的着丝点接近中部 (m 或 sm 染色体), 而亚洲百合第 2 对染色体的着丝点

靠近端部(st或t染色体)。本研究所试6个亚洲百合第2对染色体的着丝点靠近端部(st或t染色体)的有50%,15个东方百合第2对染色体的着丝点接近中部(m或sm染色体)的占53.3%,这与周树军报道的不尽相同。

一般认为百合属植物的染色体核型为稳定的‘3B’型,本试验中有13个品种的核型类型为‘3B’型,有8个品种为‘4B’型。根据Levitzky-Stebbins对有花植物核型进化中的对称-原始,不对称-进化的观点^[18]以及核型不对称的分类标准,百合属所有核型均为极不对称型,而且最长染色体与最短染色体比值较大,是比较进化的类型,本文中21个栽培品种亚洲百合核型不对称系数介于78.54%~84.05%之间,最长与最短染色体的比值为2.09~2.61,东方百合核型不对称系数介于77.04%~86.08%之间,最长与最短染色体比值为2.01~2.64,这些数据都证实了上述结论。

所试品种的核型多型性主要表现为染色体数,臂比值,次缢痕及随体的数目位置有差异。构成核型的染色体形态多样性表现在具有不同位置着丝粒的染色体数,次级缢痕的有无及其位置,随体的大小等。本研究发现:21个栽培品种多数存在随体,其中以端部随体居多,17个有随体的栽培品种中,仅6个具有中间随体,其余均为端部随体;而且,随体位置不仅限于前面的2个大形的m和sm染色体上,在其他小型染色体上也有。这与李懋学^[10]报道的百合染色体的随体多为中间随体,极小,一般位于2对大型的m和sm染色体的两臂之间有很大出入。我们分析这主要是由于他们都是在野生百合中研究得出的结论,栽培品种均为野生百合之间或者野生百合与栽培品种之间杂交形成的,在杂交过程中,以及后面染色体配对的过程中,可能发生染色体臂内倒位或臂间倒位,从而形成端部随体。

目前亚洲百合品种群、东方百合品种群还无法找出各自的共同特征,可能与仅进行核型分析反映的遗传信息太少、不足以进行分辨有关。如果能进行染色体带型分析以及分子水平上的分析,则反映的遗传信息增多,有可能将亚洲百合和东方百合品种群的特征分辨出来。尽管如此,目前所提供的染色体核型数据,已经足以将不同的品种区分出来。这将为百合杂交亲本选配、品种分类及亲缘关系鉴

定提供细胞遗传学依据。

参 考 文 献

- [1] Michael J B, Harris H. The gardener's guide to growing lilies [J]. Portland, Oregon: Timber Press, 1995, 60-93
- [2] 陈俊瑜, 程绪珂. 中国花经[M]. 上海: 上海文化出版社, 1980: 183-184
- [3] 刘华敏, 智丽, 赵丽华, 等. 4种野生百合核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(4): 469-473
- [4] 陈琼, 穆鼎, 义鸣放, 等. 不同倍性百合杂交后代的核型及分子标记鉴定[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1477-1484
- [5] 李雪, 常国华, 陈宏彬, 等. 2种亚洲百合的核型分析[J]. 甘肃高师学报, 2010, 15(2): 32-33
- [6] 王树红, 李巧峡, 赵庆芳, 等. 4种观赏百合的核型分析[J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2007, 43(4): 93-97
- [7] 戴小红, 牛立新, 张延龙. 百合三品系代表品种的核型分析[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(4): 58-61
- [8] Marasek A, Orlikowska T. Karyology of nine lily genotypes [J]. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 2003, 45(2): 159-168
- [9] Schmitzer E. A survey of named polyploid lilies of the Asiatic section [J]. Quarterly Bulletin of the North American Lily Society, 1991, 45, 6-12
- [10] 黄济明, 赵晓艺, 张国民, 等. 玫红百合为亲本育成百合种间杂种[J]. 园艺学报, 1990, 17(2): 153-157
- [11] North C, Wills A B. Inter-specific hybrids of *Lilium lankongense* franchet produced by embryo-culture [J]. Euphytica, 1969, 18: 430-434
- [12] Roh M S, Griesbach R J, Gross K C, et al. Identification and evaluation of the interspecific hybrid of *Lilium longiflorum* and *L. callosum* [J]. Acta Horticulturae, 1996, 414: 111-124
- [13] 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: 1-37
- [14] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52: 201-220
- [15] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants [M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971: 72-123
- [16] Arano H. The Karyotypes and the speciations insubfamily Cardioideae of Japan [J]. Jap Journ Bot, 1965, 19(3): 31-67
- [17] Stewart R N. The morphology of somatic chromosomes in *Lilium* [J]. Amer J Bot, 1947, 34: 9-26
- [18] 洪德元. 植物细胞分类学[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 91-96
- [19] 周树军. 基因组荧光原位杂交区分百合回交一代的不同基因组 [J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 485-486

(责任编辑: 王燕华)