

苹果属植物的核型分析

华利源 王 轩 钱关泽

(聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘 要 因为种间杂交、多倍化和无融合生殖等现象, 苹果属植物以难于分类和鉴定而闻名, 其中尤以山荆子种复合体为甚. 本文针对山荆子种复合体中的主要自然分布植物和关系可能较密切的花楸苹果组植物进行了染色体分析, 十五个苹果属分类群包括一个四倍体, 四个三倍体, 十个二倍体, 天目山湖北海棠、泰山海棠、日瓦海棠(新拟)、紫花海棠、冬红果染色体数目为首次报道; 核型多为中部着丝点染色体(m)、亚中部着丝点染色体(sm), 属较原始的类型, 沧江海棠核型为 1A, 最为原始, 三叶海棠核型为 3B, 最为进化. 试验结果提示分布于天目山顶部的很可能并非湖北海棠, 而可能是一个独立的种, 它可能与平邑甜茶和泰山海棠的杂交亲本有关; 山荆子也有可能与其亲本有关; 四川西部发现的日瓦海棠与锡金海棠近似, 但其核型及染色体数目差异很大, 因此也支持该种成立. 核型分析结果也为后续的基因组原位杂交研究积累了资料.

关键词 苹果属; 去壁低渗; 染色体; 核型分析

中图分类号 Q944

文献标识码 A

0 引言

人类染色体制片技术是从上个世纪 70 年代开始引用到植物材料中的^[1-5]. 染色体作为生物遗传信息的载体, 生物细胞中最重要的成分, 具有极高的稳定性, 一般来讲, 它的数目和结构是特定的, 在进行植物分类研究中弄清楚染色体数目, 对其核型进行分析是十分重要的. 核型分析的研究对象为处于分裂中期的染色体, 通过对苹果属植物染色体的数目、长度、形态、着丝点位置、长短臂比例、随体的有无等特征的研究, 为细胞遗传分类、物种间的亲缘关系以及染色体数目和结构变异的研究提供重要依据. 苹果属植物染色体小, 数目多, 进行核型分析难度大. 目前, 染色体分析技术应用在苹果属植物中的报道依然很少, 以梁国鲁和陈瑞阳为主要代表. 梁国鲁^[6]对苹果属植物 31 个种类的核型分析结果为其核型均为中部着丝点染色体(m)和近中部着丝点染色体(sm); 梁国鲁和陈瑞阳^[7]对其染色体数目观察结果均发现苹果属植物存在混倍体现象; 肖艳^[8]等研究发现不同生活环境会引起苹果属植物染色体倍性变异. 参考前人的研究结果, 可以看出苹果属植物核型的复杂性, 本试验对所采集的试验材料进行染色体数目观察及核型分析, 补充苹果属植物核型资料, 为苹果属植物分类提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用材料为十五个苹果属分类群种子萌发的根尖, 具体采集时间、采集地点等(表 1). 将采集的种子用 75% 酒精消毒后, 着床于培养皿中的湿纱布内进行变温萌发试验, 纱布及培养皿经高温高压灭菌处理. 待种子萌发, 选取长至 1-2 cm 的根尖制作染色体制片, 发芽培养箱为杭州托普仪器有限公司 GTOP-450BH 光照培养箱.

1.2 方法

本试验对比压片法^[9-19]和涂片法^[20, 21]发现, 涂片法制备的染色体在形态和分散性上相较于压片法好. 结合去壁低渗法^[22-28]涂片法制备根尖染色体制片, 主要试验过程为: (1) 取材, 在每天上午 9:00-11:00 根尖细胞分裂旺盛时间段内取根尖, 对试验材料进行预处理. (2) 预处理, 为了同步化染色体, 获取更多的染色体中

期分裂相,将取好的根尖放在 4℃ 冰水中处理 24 h 或放在 0.2% 8-羟基喹啉中处理 4 h。(3) 固定,将预处理好的根尖放在卡诺固定液(乙醇:冰醋酸=3:1)中固定 24 h。(4) 前低渗,将固定好的根尖取出,去离子水冲洗 3 次后,再用去离子水浸泡 10 min。(5) 酶解,取浓度为 2.5% 的果胶酶纤维素酶混合液 40 μ L,将前低渗处理之后的根尖用去离子水冲洗 3 次后去除根冠,将白色分生组织切成小块放在酶液中 37℃ 处理 60-90 min。(6) 后低渗,将酶解之后的根尖细胞在室温下用去离子水浸泡 20-30 min,让根尖细胞吸水更加膨胀,使细胞壁破裂,细胞质破散,染色体更容易分散,细胞膜失去约束容易破裂,所以后低渗时间应控制在一定范围,最合适的后低渗时间也因试验材料不同略有差异。(7) 制片,取处理好的根尖在载玻片上,镊子捣碎,加 60% 乙酸在 55℃ 烤片机上涂片,用卡诺固定液冲洗一遍,室温下干燥;晾干后的玻片用稀释的吉姆萨染液染色 5-10 min,去离子水冲掉多余的液体,室温下晾干。(8) 镜检,将做好的染色体制片在 NIKON ECLIPSE 80 i 显微镜下镜检并在图像分析系统下拍照。(9) 染色体核型分析,每种试验材料拍摄 50 张中期分裂相图像进行计数,85% 以上的细胞染色体数目为一固定数值,则为该试验材料的染色体数目。十五个苹果属分类群染色体中期分裂相,如图 1(a)。

表 1 试验材料采集信息

种名	采集日期	采集地点	种名	采集日期	采集地点
平邑甜茶	2017. 10. 05	平邑蒙山	沧江海棠	2018. 10. 25	云南省维西县
泰山海棠	2017. 10. 20	山东泰山	山荆子	2017. 10. 29	陕西省黄龙县
湖北海棠	2018. 12. 05	浙江天目山	台湾林檎	2017. 10. 15	广西省柳州市
丽江山荆子	2018. 10. 16	云南香省格里拉县	西府海棠	2017. 10. 26	聊城大学
三叶海棠	2018. 10. 21	云南省维西县	紫花海棠	2017. 10. 24	聊城大学
变叶海棠	2018. 10. 26	四川省雅江县	冬红果	2017. 10. 30	聊城大学
锡金海棠	2018. 10. 15	云南省德钦县	八棱海棠	2017. 10. 15	北京妙峰山
日瓦海棠	2018. 10. 24	四川省稻城县			

核型分析按照李懋学和陈瑞阳的标准;按照 Levan^[29]等的标准计算染色体的相对长度、臂比值和类型;根据 Stebbins^[30]的分类标准进行核型分类;用 Arano^[31]的方法计算核型不对称系数。

选出染色体长度适中、形态较好、分散良好的 5 个中期染色体图片,用 photoshop CS5 软件处理,染色体核型图,如图 1(b)。选取染色体分散良好,缢痕明显的中期分裂相,测量每条染色体长度(长短臂长度,随体不计),进行核型分析,各项核型参数(表 2)。每种试验材料的核型组成主要为中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm)。根据染色体相对长度指数(I. R. L)将每个种的染色体组组成分为四个组:长染色体(L)、中长染色体(M2)、中短染色体(M1)和短染色体(S)。利用 Excel 软件制作的十五个苹果属分类群核型模式图(图 2)。

2 结果分析

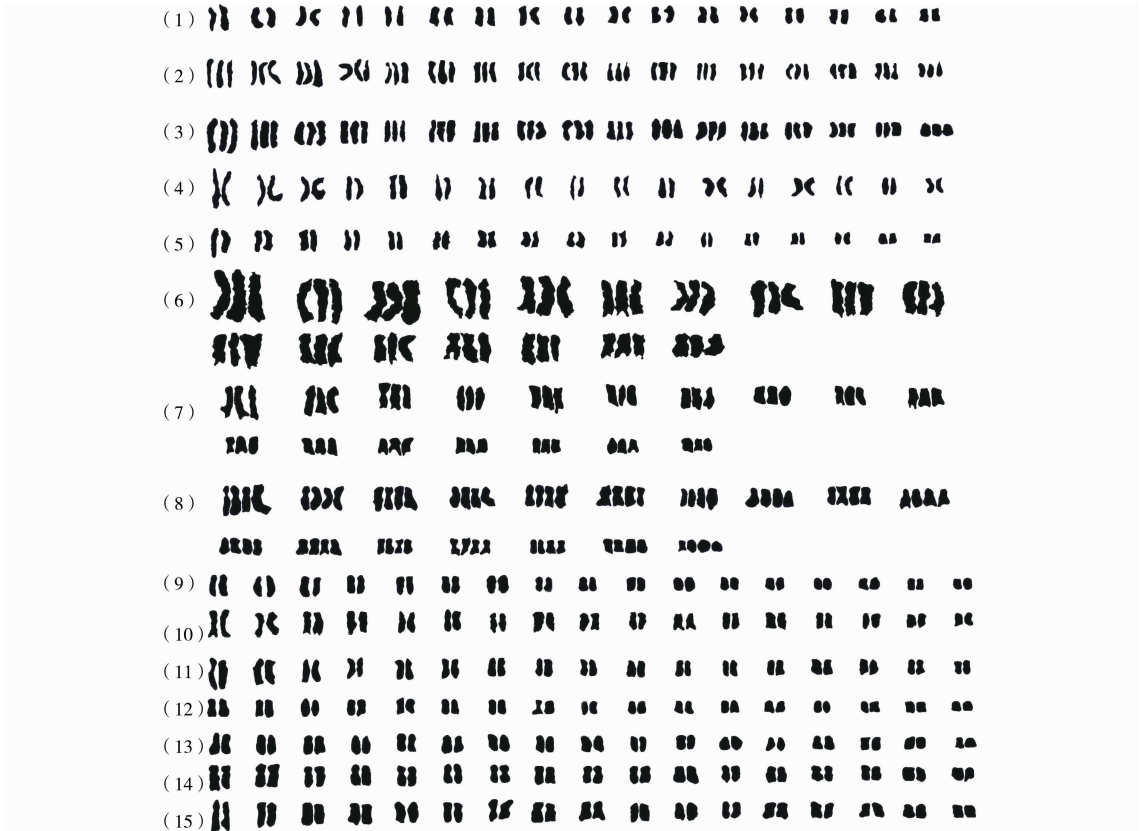
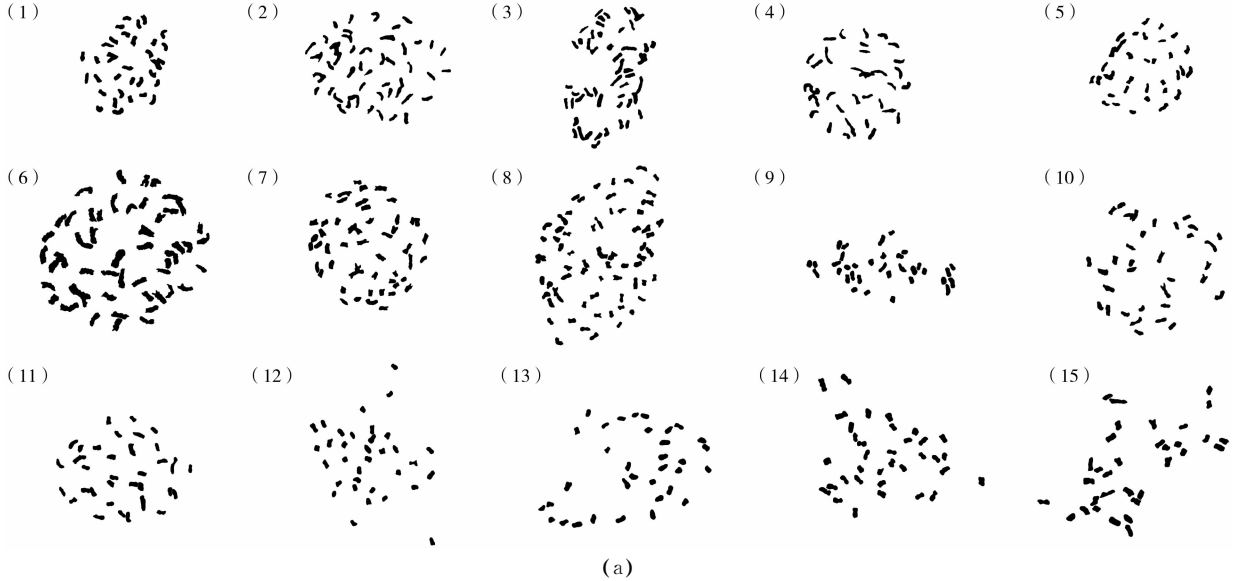
2.1 染色体数目

山荆子(*M. baccata* (L.) Borkh)、丽江山荆子(*M. rockii* Rehder)、日瓦海棠(Riwa crabapple)、天目山湖北海棠(Tianmushan crabapple)、沧江海棠(*M. ombrophila* Hand. -Mazz.)、台湾林檎(*M. doumeri* (Bois.) Chev.) 和栽培种八棱海棠(*M. × robusta* Rehd.)、西府海棠(*M. micromalus* Makino)、紫花海棠(*M. purpurea*)、冬红果(*M. 'Donghongguo'*) 的染色体数目为 34 条,为二倍体,即 $2n=2x=34$;平邑甜茶(*M. hupehensis* (Pamp.) Rehd. var. *mengshanensis*)、泰山海棠(*M. hupehensis* Rehd. var. *taiensis*)、三叶海棠(*M. toringo* De Vriese)、变叶海棠(*M. toringoides* (Rehd.) Hughes) 染色体数目为 51 条,为三倍体,即 $2n=3x=51$;锡金海棠(*M. sikkimensis* (Wenz.) Koehne) 染色体数目为 68 条,为四倍体,即 $2n=4x=68$ 。

2.2 十五个苹果属分类群的核型比较

本试验结果显示,十五个苹果属分类群中,锡金海棠为四倍体,平邑甜茶、泰山海棠、三叶海棠和变叶海棠为三倍体,其余皆为二倍体;染色体类型多为中部着丝点染色体(m)和近中部着丝点染色体(sm),三叶海棠、变叶海棠和天目山湖北海棠存在近端部着丝点染色体(st);沧江海棠核型为 1A,西府海棠和紫花海棠核型为 2A,丽江山荆子和台湾林檎核型为 1B,山荆子、平邑甜茶、泰山海棠、八棱海棠、变叶海棠、锡金海棠、日瓦海棠、湖北海棠以及冬红果核型为 2B,三叶海棠核型为 3B;台湾林檎、丽江山荆子和沧江海棠不存在臂比值>2 的染色体;其中,平邑甜茶第 10 对染色体短臂端有随体,八棱海棠第 5 对染色体短臂端有随

体,其他试验未发现随体;染色体相对长度组成分别为山荆子: $2n=34=4L+14M2+12M1+4S$,平邑甜茶: $2n=51=12L+9M2+27M1+3S$,泰山海棠: $2n=51=12L+6M2+24M1+9S$,八棱海棠: $2n=34=6L+6M2+20M1+2S$,台湾林檎: $2n=34=6L+8M2+12M1+8S$,三叶海棠: $2n=51=6L+12M2+27M1+6S$,变叶海棠: $2n=51=9L+12M2+21M1+9S$,锡金海棠: $2n=68=8L+20M2+32M1+8S$,丽江山荆子: $2n=34=6L+8M2+16M1+4S$,日瓦海棠: $2n=34=4L+10M2+16M1+4S$,湖北海棠: $2n=34=4L+8M2+20M1+2S$,沧江海棠: $2n=34=4L+10M2+18M1+2S$,西府海棠: $2n=34=2L+16M2+14M1+2S$,紫花海棠: $2n=34=4L+10M2+18M1+2S$,冬红果: $2n=34=4L+12M2+12M1+6S$,十五个苹果属植物试验材料核型比较(表 3)。



注: (1) 山荆子, (2) 平邑甜茶, (3) 泰山海棠, (4) 八棱海棠, (5) 台湾林檎, (6) 三叶海棠, (7) 变叶海棠, (8) 锡金海棠, (9) 丽江山荆子, (10) 日瓦海棠, (11) 湖北海棠, (12) 沧江海棠, (13) 西府海棠, (14) 紫花海棠, (15) 冬红果。

图 1(a) 十五个苹果属分类群中期染色体; (b) 十五个苹果属分类群染色体核型图

3 讨论

苹果属植物种子存在休眠现象,所以,探究打破种子休眠的条件是获取试验材料最重要的一步.本研究发现 4℃培养 21 天左右基本能打破种子休眠,之后 28℃恒温培养,种子即可萌发^[32],不同的种所需打破休眠时间存在差异.获取材料后染色体制片是本试验最关键的一步,作为木本植物,苹果属植物木质化严重,具有坚实的细胞壁,酶解去壁低渗法能有效去除细胞壁,获取较好的染色体中期分裂相.同时优化了染色体制片过程中的试验条件,相较于 8-羟基喹啉,冰水预处理获得的染色体分散效果更好,前低渗时间 10 min,苹果属植物根尖酶解时间 90 min,后低渗时间 20 min 效果最佳,不同试验材料的最佳试验条件略有差异.

本试验所研究的十五个苹果属植物试验材料包括十一个野生种材料(平邑甜茶、泰山海棠、天目山湖北海棠、山荆子、丽江山荆子、湖北海棠、三叶海棠、变叶海棠、锡金海棠、日瓦海棠、沧江海棠)和四个栽培种材料(八棱海棠、西府海棠、紫花海棠、冬红果),天目山湖北海棠、泰山海棠、日瓦海棠(新拟)、紫花海棠、冬红果染色体数目为首次报道.在苹果属植物研究中,湖北海棠是典型的异源三倍体,存在无融合生殖现象,泰山海棠和平邑甜茶为其两个变种.本研究中采自天目山的湖北海棠为二倍体,与湖北海棠在染色体数目上存在较大差异,故其很可能并非湖北海棠,而是一个独立的种,但考虑其各项核型参数与平邑甜茶和泰山海棠相近,且在形态上与两者相似,故推测其与平邑甜茶和泰山海棠的杂交亲本有关;除天目山湖北海棠外,本试验中的山荆子在各项核型参数上也与平邑甜茶和泰山海棠相近,且在形态上也与两者存在很多相似的地方,故推测其可能也与两者的杂交亲本有关;日瓦海棠为二倍体,与锡金海棠形态相似,但果实和叶等特征有明显不同,且两者核型及染色体数目差别很大,因此,本文作者支持该种成立;变叶海棠、三叶海棠、丽江山荆子、锡金海棠和西府海棠的染色体数目除本研究所得出的结果外,还存在其他倍性,梁国鲁对其进行了统计^[33],如变叶海棠和三叶海棠还存在二倍体和四倍体,丽江山荆子还有三倍体、四倍体存在,锡金海棠还存在二倍体和三倍体,西府海棠也有三倍体存在.一般认为,核型是由对称向不对称进化发展的^[34],即植物越原始,核型越对称,植物越进化,核型对称程度越低,本研究中苹果属植物从染色体进化程度上看,大多为中部染色体和近中部染色体,核型多为 2B,属较为原始的类型,沧江海棠核型为 1A,最为原始,三叶海棠核型为 3B,最为进化.

中国苹果属植物种类繁多,分类困难,仅靠传统分类法难以得出准确的分类结果,分子标记技术虽然在苹果属植物中获得广泛应用,但提供的证据依然有限^[35-38].核型分析技术是细胞分类学研究中不可缺少的手段,本研究通过对部分苹果属植物进行核型分析,为他们的亲缘关系和进化程度提供了参考依据,在接下来的研究中,还将借助分子生物学技术获得更直观可靠的证据,完善苹果属植物分类系统.

表 2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L)	臂比(L/S)	着丝粒型
	1	2.56+5.62=8.18	1.39	2.20	sm
	2	2.66+4.76=7.42	1.26	1.79	sm
	3	2.76+4.36=7.12	1.21	1.58	m
	4	2.94+4.14=7.08	1.20	1.41	m
	5	2.53+3.85=6.38	1.08	1.52	m
	6	2.24+4.04=6.28	1.07	1.80	sm
	7	2.33+3.84=6.17	1.05	1.65	m
山荆子 (<i>M. baccata</i> (L.) Borkh)	8	2.66+3.50=6.16	1.05	1.32	m
	9	1.92+4.04=5.96	1.01	2.10	sm
	10*	2.35+3.33=5.68	0.97	1.42	m
	11	2.23+3.34=5.57	0.95	1.50	m
	12	2.02+3.23=5.25	0.89	1.60	m
	13	2.02+3.17=5.19	0.88	1.57	m
	14	1.72+3.13=4.85	0.82	1.82	sm
	15	1.63+2.85=4.48	0.76	1.75	sm
	16	1.82+2.53=4.35	0.74	1.39	m
	17	1.68+2.20=3.88	0.66	1.31	m

(续)表 2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L.)	臂比(L/S)	着丝粒型
	1	2.36+5.84=8.20	1.39	2.47	sm
	2	2.57+4.88=7.45	1.27	1.90	sm
	3	2.63+4.80=7.43	1.26	1.83	sm
	4	2.98+4.44=7.42	1.26	1.49	m
	5	2.07+4.42=6.49	1.10	2.14	sm
	6	2.15+4.31=6.46	1.10	2.00	sm
	7	1.98+4.14=6.12	1.04	2.09	sm
平邑甜茶 (<i>M. hupehensis</i> (Pamp.) Rehd. var. <i>mengshanensis</i>)	8	2.01+3.72=5.73	0.97	1.85	sm
	9	1.78+3.81=5.59	0.95	2.14	sm
	10	1.67+3.80=5.47	0.93	2.28	sm
	11	2.11+3.11=5.22	0.89	1.47	m
	12	1.94+3.19=5.13	0.87	1.64	m
	13	2.11+2.98=5.09	0.87	1.41	m
	14	2.15+2.86=5.01	0.85	1.33	m
	15	1.95+2.65=4.60	0.78	1.36	m
	16	2.03+2.56=4.59	0.78	1.26	m
	17	1.83+2.19=4.02	0.68	1.20	m
	1	2.64+6.94=9.58	1.63	2.63	sm
	2	2.61+5.60=8.21	1.40	2.15	sm
	3	2.13+4.87=7.00	1.19	2.29	sm
	4	2.32+4.38=6.70	1.40	1.89	sm
	5	2.49+3.71=6.20	1.05	1.49	m
	6	2.25+3.83=6.08	1.03	1.70	m
	7	2.01+3.77=5.78	0.98	1.88	sm
泰山海棠 (<i>M. hupehensis</i> Rehd. var. <i>taiensis</i>)	8	2.19+3.53=5.72	0.97	1.61	m
	9	2.61+3.10=5.71	0.97	1.19	m
	10	2.66+3.04=5.70	0.97	1.14	m
	11	2.13+3.28=5.41	0.92	1.54	m
	12	2.17+3.15=5.32	0.90	1.45	m
	13	2.19+2.98=5.17	0.88	1.36	m
	14	2.13+2.80=4.93	0.84	1.31	m
	15	2.07+2.31=4.38	0.75	1.12	m
	16	1.98+2.35=4.33	0.73	1.19	m
	17	1.55+2.22=3.77	0.64	1.43	m

(续)表2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L.)	臂比(L/S)	着丝粒型
八棱海棠(<i>M. × ro-</i> <i>busta</i> Rehd.)	1	4.06+5.49=9.55	1.62	1.35	m
	2	2.32+5.49=7.81	1.33	2.37	sm
	3	2.54+4.84=7.38	1.26	1.91	sm
	4	1.76+4.42=6.18	1.05	2.51	sm
	5*	2.09+4.06=6.15	1.04	1.94	sm
	6	1.73+4.28=6.01	1.02	2.47	sm
	7	1.98+3.74=5.72	0.97	1.89	sm
	8	2.00+3.71=5.71	0.97	1.86	sm
	9	2.16+3.54=5.70	0.97	1.64	m
	10	2.09+3.52=5.61	0.95	1.68	m
	11	1.87+3.40=5.27	0.90	1.82	sm
	12	2.14+3.07=5.21	0.89	1.43	m
	13	1.56+3.63=5.19	0.88	2.33	sm
	14	1.82+3.29=5.11	0.87	1.81	sm
	15	1.76+3.19=4.95	0.84	1.81	sm
	16	1.76+2.75=4.51	0.77	1.56	m
	17	1.76+2.41=4.17	0.67	1.37	m
台湾林檎(<i>M. doumeri</i> (Bois.) Chev.)	1	3.45+6.20=9.65	1.64	1.80	sm
	2	2.65+4.98=7.63	1.30	1.88	sm
	3	2.91+4.70=7.61	1.29	1.62	m
	4	2.76+4.59=7.35	1.25	1.66	m
	5	2.30+4.37=6.67	1.13	1.90	sm
	6	2.32+4.26=6.58	1.12	1.84	sm
	7	2.88+3.46=6.34	1.08	1.20	m
	8	2.30+3.55=5.85	0.99	1.54	m
	9	2.53+3.21=5.74	0.98	1.27	m
	10	2.53+2.77=5.30	0.90	1.09	m
	11	2.53+2.76=5.29	0.90	1.09	m
	12	2.30+2.90=5.20	0.88	1.26	m
	13	1.91+2.91=4.82	0.82	1.52	m
	14	1.61+2.75=4.36	0.74	1.71	sm
	15	1.99+2.21=4.20	0.71	1.11	m
	16	1.61+2.38=3.99	0.67	1.48	m
	17	1.53+1.99=3.52	0.60	1.30	m

(续)表 2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L.)	臂比(L/S)	着丝粒型
三叶海棠 (<i>M. toringo</i> De Vriese)	1	3.56+5.35=8.91	1.51	1.50	m
	2	2.11+5.45=7.56	1.29	2.58	sm
	3	1.68+5.69=7.38	1.25	3.39	st
	4	2.14+4.89=7.03	1.20	2.29	sm
	5	2.42+4.29=6.71	1.14	1.77	sm
	6	1.80+4.33=6.13	1.04	2.40	sm
	7	1.71+4.08=5.79	0.98	2.38	sm
	8	1.54+4.20=5.74	0.98	2.72	sm
	9	1.95+3.75=5.70	0.97	1.93	sm
	10	1.58+3.92=5.51	0.94	2.48	sm
	11	2.22+3.23=5.46	0.93	1.46	m
	12	1.56+3.70=5.27	0.90	2.37	sm
	13	1.83+3.37=5.20	0.88	1.85	sm
	14	1.76+3.06=4.82	0.82	1.74	sm
	15	1.53+3.26=4.79	0.81	2.13	sm
	16	1.60+2.53=4.13	0.70	1.58	m
	17	1.54+2.34=3.88	0.66	1.51	m
变叶海棠 (<i>M. toringoides</i> (Rehd.) Hughes)	1	2.38+7.20=9.58	1.63	3.03	st
	2	2.17+6.00=8.16	1.39	2.76	sm
	3	2.88+4.61=7.49	1.27	1.60	m
	4	2.20+5.09=7.29	1.24	2.31	sm
	5	2.15+4.66=6.81	1.16	2.17	sm
	6	2.55+3.68=6.23	1.06	1.44	m
	7	1.73+4.40=6.13	1.04	2.54	sm
	8	2.23+3.45=5.67	0.96	1.55	m
	9	2.07+3.58=5.65	0.96	1.72	sm
	10	1.64+3.90=5.55	0.94	2.37	sm
	11	2.29+2.77=5.07	0.86	1.21	m
	12	1.87+3.10=4.97	0.84	1.66	m
	13	1.82+2.80=4.62	0.79	1.54	m
	14	1.74+2.72=4.47	0.76	1.57	m
	15	1.59+2.65=4.24	0.72	1.67	m
	16	1.61+2.60=4.21	0.72	1.61	m
	17	1.69+2.17=3.86	0.66	1.28	m

(续)表2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L.)	臂比(L/S)	着丝粒型
锡金海棠 (<i>M. sikkimensis</i> (Wenz.) Koehne)	1	2.82+6.61=9.44	1.60	2.34	sm
	2	2.60+5.00=7.60	1.29	1.93	sm
	3	2.49+4.81=7.30	1.24	1.94	sm
	4	2.34+4.47=6.81	1.16	1.91	sm
	5	2.88+3.90=6.78	1.15	1.35	m
	6	2.58+3.74=6.32	1.07	1.45	m
	7	1.99+4.10=6.09	1.04	2.06	sm
	8	1.93+3.98=5.91	1.00	2.06	sm
	9	2.51+3.22=5.73	0.97	1.29	m
	10	1.83+3.80=5.63	0.96	2.08	sm
	11	2.23+2.98=5.21	0.89	1.34	m
	12	2.01+2.98=4.99	0.85	1.49	m
	13	2.03+2.78=4.81	0.82	1.37	m
	14	2.11+2.68=4.79	0.81	1.27	m
	15	1.79+2.69=4.48	0.76	1.51	m
	16	1.93+2.43=4.36	0.74	1.26	m
	17	1.63+2.13=3.76	0.64	1.30	m
丽江山荆子 (<i>M. rockii</i> Rehder)	1	3.04+5.40=8.44	1.43	1.77	sm
	2	2.87+5.40=8.27	1.41	1.88	sm
	3	2.53+4.90=7.43	1.26	1.93	sm
	4	3.04+4.05=7.09	1.21	1.33	m
	5	2.53+4.39=6.92	1.18	1.73	sm
	6	2.62+3.97=6.59	1.12	1.52	m
	7	2.87+3.71=6.58	1.12	1.29	m
	8	2.36+3.29=5.66	0.96	1.39	m
	9	2.36+2.95=5.32	0.90	1.25	m
	10	2.20+3.05=5.25	0.90	1.39	m
	11	2.15+3.08=5.23	0.89	1.43	m
	12	2.24+2.62=4.85	0.82	1.17	m
	13	2.11+2.62=4.73	0.80	1.24	m
	14	1.98+2.58=4.56	0.78	1.30	m
	15	2.07+2.41=4.48	0.76	1.17	m
	16	1.78+2.62=4.40	0.75	1.48	m
	17	1.94+2.28=4.22	0.72	1.17	m

(续)表 2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L)	臂比(L/S)	着丝粒型
日瓦海棠 (Riwa crabapple)	1	2.81+6.27=9.08	1.54	2.23	sm
	2	2.09+5.60=7.70	1.31	2.68	sm
	3	2.13+4.95=7.07	1.20	2.32	sm
	4	2.41+4.57=6.99	1.19	1.90	sm
	5	2.38+4.26=6.63	1.13	1.79	sm
	6	2.84+3.62=6.46	1.10	1.27	m
	7	1.84+4.11=5.96	1.01	2.23	sm
	8	2.16+3.72=5.89	1.00	1.72	sm
	9	1.83+3.74=5.57	0.95	2.05	sm
	10	2.09+3.37=5.46	0.93	1.61	m
	11	1.67+3.44=5.11	0.87	2.06	sm
	12	1.95+3.09=5.04	0.86	1.58	m
	13	2.09+2.87=4.96	0.84	1.37	m
	14	1.99+2.87=4.86	0.83	1.45	m
	15	1.74+2.94=4.68	0.80	1.69	m
	16	1.63+2.73=4.36	0.74	1.67	m
	17	1.95+2.23=4.19	0.71	1.14	m
湖北海棠(天目山) (Tianmushan crabapple)	1	2.35+7.48=9.83	1.67	3.18	st
	2	2.24+5.93=8.17	1.39	2.65	sm
	3	2.13+5.13=7.26	1.23	2.41	sm
	4	2.69+3.78=6.46	1.10	1.41	m
	5	2.17+4.22=6.39	1.09	1.95	sm
	6	2.31+3.86=6.17	1.05	1.67	m
	7	2.60+3.28=5.88	1.00	1.26	m
	8	2.35+3.32=5.67	0.96	1.42	m
	9	2.13+3.14=5.27	0.90	1.47	m
	10	1.77+3.43=5.20	0.88	1.94	sm
	11	1.81+3.28=5.09	0.87	1.82	sm
	12	1.88+3.14=5.02	0.85	1.67	m
	13	1.96+2.92=4.87	0.83	1.49	m
	14	2.17+2.67=4.84	0.82	1.23	m
	15	2.17+2.64=4.80	0.82	1.22	m
	16	2.13+2.64=4.77	0.81	1.24	m
	17	1.73+2.56=4.30	0.73	1.48	m

(续)表2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L.)	臂比(L/S)	着丝粒型
沧江海棠(<i>M. ombrophila</i> Hand. -Mazz.)	1	3.00+4.70=7.71	1.31	1.57	m
	2	2.62+4.90=7.51	1.28	1.87	sm
	3	2.81+4.51=7.32	1.24	1.60	m
	4	2.67+4.27=6.94	1.18	1.60	m
	5	3.05+3.50=6.55	1.11	1.15	m
	6	2.81+3.59=6.41	1.09	1.28	m
	7	2.62+3.74=6.36	1.08	1.43	m
	8	2.28+3.59=5.88	1.00	1.57	m
	9	1.94+3.69=5.64	0.96	1.90	sm
	10	1.99+3.50=5.49	0.93	1.75	sm
	11	1.99+3.35=5.35	0.91	1.68	m
	12	2.23+2.97=5.20	0.88	1.33	m
	13	2.15+2.96=5.11	0.87	1.38	m
	14	2.04+3.06=5.11	0.87	1.50	m
	15	1.90+2.83=4.73	0.80	1.49	m
	16	1.75+2.82=4.58	0.78	1.61	m
	17	1.90+2.25=4.14	0.70	1.18	m
西府海棠(<i>M. micromalus</i> Makino)	1	2.97+4.74=7.71	1.31	1.60	m
	2	2.47+4.91=7.38	1.25	1.99	sm
	3	2.22+4.74=6.96	1.18	2.13	sm
	4	2.18+4.70=6.88	1.17	2.15	sm
	5	2.81+3.70=6.50	1.11	1.32	m
	6	2.26+4.12=6.38	1.08	1.82	sm
	7	2.63+3.58=6.21	1.06	1.36	m
	8	2.10+4.07=6.17	1.05	1.94	sm
	9	2.18+3.82=6.00	1.02	1.75	sm
	10	1.88+3.87=5.75	0.98	2.05	sm
	11	2.34+3.03=5.38	0.91	1.30	m
	12	1.89+3.24=5.13	0.87	1.72	sm
	13	1.64+3.49=5.13	0.87	2.13	sm
	14	2.18+2.91=5.08	0.86	1.33	m
	15	1.60+3.25=4.84	0.82	2.03	sm
	16	1.71+2.87=4.58	0.78	1.67	m
	17	1.47+2.45=3.92	0.67	1.67	m

(续)表 2 十五个苹果属分类群染色体各项参数

种	染色体编号	相对长度(S+L)/%	相对长度系数(I. R. L.)	臂比(L/S)	着丝粒型
紫花海棠 (<i>M. purpurea</i>)	1	2.23+5.75=7.99	1.36	2.58	sm
	2	2.75+4.83=7.58	1.29	1.76	sm
	3	1.90+4.83=6.74	1.15	2.54	sm
	4	2.38+4.32=6.70	1.14	1.81	sm
	5	1.98+4.61=6.59	1.12	2.33	sm
	6	2.64+3.80=6.44	1.09	1.44	m
	7	2.46+3.47=5.93	1.01	1.41	m
	8	1.90+3.88=5.78	0.98	2.04	sm
	9	1.76+3.96=5.72	0.97	2.26	sm
	10	2.02+3.62=5.63	0.96	1.79	sm
	11	2.01+3.54=5.56	0.95	1.76	sm
	12	2.07+3.38=5.46	0.93	1.63	m
	13	1.83+3.32=5.15	0.88	1.82	sm
	14	2.12+3.00=5.12	0.88	1.42	m
	15	2.13+2.69=4.82	0.82	1.26	m
	16	1.67+2.93=4.60	0.78	1.75	sm
	17	1.56+2.63=4.20	0.71	1.68	m
冬红果 (<i>M.</i> ‘Donghongguo’)	1	2.76+6.83=9.60	1.63	2.47	sm
	2	2.20+5.52=7.72	1.31	2.51	sm
	3	1.89+4.84=6.73	1.14	2.56	sm
	4	1.84+4.67=6.52	1.11	2.53	sm
	5	2.37+4.07=6.45	1.10	1.72	sm
	6	2.16+4.11=6.27	1.07	1.90	sm
	7	3.05+3.12=6.16	1.05	1.02	m
	8	2.13+3.86=5.98	1.02	1.81	sm
	9	2.50+3.21=5.71	0.97	1.28	m
	10	1.91+3.72=5.63	0.96	1.94	sm
	11	2.15+3.30=5.45	0.93	1.53	m
	12	2.43+2.81=5.24	0.89	1.16	m
	13	2.18+2.82=4.99	0.85	1.29	m
	14	2.27+2.61=4.89	0.83	1.15	m
	15	2.06+2.31=4.37	0.74	1.12	m
	16	1.66+2.69=4.36	0.74	1.62	m
	17	1.43+2.50=3.93	0.67	1.75	sm

注 1. m:中部着丝粒;sm:近中部着丝粒;* :具随体染色体;2. 随体长度不计入染色体全长。

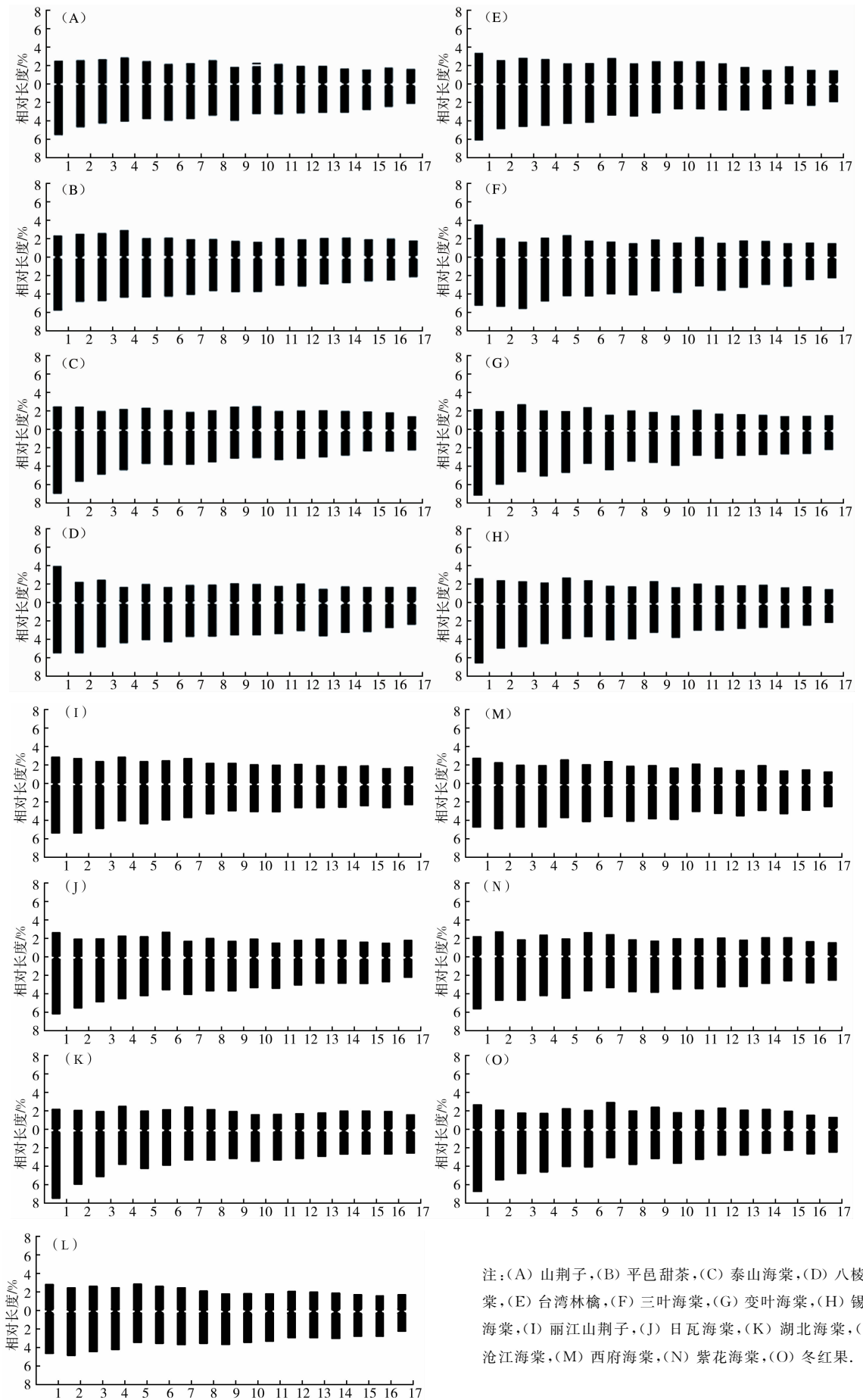


图2 十五个苹果属分类群染色体核型图

表 3 十五个苹果属分类群核型参数

种	核型公式	相对长度 范围/%	臂比范围	平均臂比	臂比>2 的 比例/%	核型不对称 系数(Ask)/%	类型
山荆子	$2n=2x=34=22m+12sm$	3.88-8.18	1.31-2.20	1.63	11.76	61.90	2B
平邑甜茶	$2n=3x=51=24m+27sm(3sat)$	4.02-8.20	1.20-2.47	1.76	29.41	63.70	2B
泰山海棠	$2n=3x=51=36m+15sm$	3.77-9.58	1.12-2.63	1.61	17.65	61.87	2B
八棱海棠	$2n=2x=34=12m+22sm(2sat)$	4.17-9.55	1.35-2.51	1.87	23.53	63.76	2B
台湾林檎	$2n=2x=34=24m+10sm$	3.52-9.65	1.09-1.90	1.49	0	59.92	1B
三叶海棠	$2n=3x=51=12m+36sm+3st$	3.88-8.91	1.46-3.39	2.12	52.94	67.46	3B
变叶海棠	$2n=3x=51=30m+18sm+3st$	3.86-9.58	1.21-3.03	1.88	35.29	65.38	2B
锡金海棠	$2n=4x=68=40m+28sm$	3.76-9.44	1.26-2.34	1.64	23.53	62.32	2B
丽江山荆子	$2n=2x=34=26m+8sm$	4.22-8.44	1.17-1.93	1.44	0	59.31	1B
日瓦海棠	$2n=2x=34=16m+18sm$	4.19-9.08	1.14-2.68	1.81	35.29	64.40	2B
湖北海棠	$2n=2x=34=22m+10sm+2st$	4.30-9.83	1.22-3.18	1.74	17.65	63.43	2B
沧江海棠	$2n=2x=34=28m+6sm$	4.14-7.71	1.15-1.90	1.52	0	60.24	1A
西府海棠	$2n=2x=34=14m+20sm$	3.92-7.71	1.30-2.15	1.76	29.41	63.47	2A
紫海棠	$2n=2x=34=12m+22sm$	4.20-7.99	1.26-2.58	1.84	29.41	64.58	2A
冬红果	$2n=2x=34=16m+18sm$	3.93-9.60	1.02-2.56	1.73	23.53	63.00	2B

参 考 文 献

- [1] 陈瑞阳,宋文芹.植物 Giemsa 分带技术的研究[J].植物学报,1979,21(1):11-18.
- [2] Bikram S G, Kimber G. The Giemsa C-banding karyotype of rye[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1974, 71:1247-1249.
- [3] Kurata N, Omura T. Karyotype analysis in rice 1 A new method for identifying all chromosome pairs[J]. Japan J Genetics, 1978, 53(4): 252-255.
- [4] Waheeb K H. Chromosome morphology in inbred rye[J]. Hereditas, 1962, 48:182-200.
- [5] 张力鹏, 郑书行, 徐仲凯, 等. 六个金银花栽培品种的核型分析[J]. 北方园艺, 2017, (6): 103-107.
- [6] 梁国鲁. 中国苹果属 (*Malus*) 植物的核型比较研究[J]. 西南农业大学学报, 1986, (1): 1-6.
- [7] 陈瑞阳, 宋文芹, 李秀兰. 中国苹果属植物染色体数目报告[J]. 武汉植物学研究, 1986, 4(4): 12-31.
- [8] 肖艳, 黄建昌, 成明昊. 几种苹果属植物核型分析[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1997, 1(2): 53-60.
- [9] 阿斯古丽·伊斯马伊力, 牙库甫江·阿西木, 张霞, 等. 盐穗木的染色体数目与核型分析[J]. 草木科学, 2013, 30(9): 1366-1368.
- [10] 王金耀, 于超, 罗乐, 等. 疏花蔷薇与现代月季品种及其杂交后代的染色体核型分析[J]. 西北植物学报, 2014, 34(3): 0488-0494.
- [11] 梁国玲, 周青平, 刘文辉, 等. 燕麦 I-D 品系及其亲本的染色体核型分析[J]. 草地学报, 2016, 24(5): 5-15.
- [12] 陈丹. 7 种花楸属植物核型和种子形态学研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2014.
- [13] 杨宁, 谈永霞, 李巧霞, 等. 百里香染色体制片优化及核型分析[J]. 草木学报, 2012, 21(1): 184-189.
- [14] 刘玉红. 草木樨属 (*Melilotus*) 九个种的核型分析[J]. 植物研究, 1984, 4(4): 147-159.
- [15] 袁建民, 党选民, 詹园凤, 等. 二倍体及同源四倍体小果型西瓜核型分析[J]. 北方园艺, 2013: 2569-2572(23): 40-43.
- [16] 李军乔, 蒋红霞, 温馨, 等. 六倍体蕨麻的核型分析[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(11): 2569-2572.
- [17] 刘磊, 王宗礼, 李志勇, 等. 苜蓿属 3 种不同花色基因型的染色体核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(2): 273-279.
- [18] 李磊, 沈吉焚, 何梦玲, 等. 小花吊兰染色体制片优化也核型分析[J]. 北方园艺, 2016, (1): 76-79.
- [19] 王胜, 张春发, 邓柳红, 等. 紫万年青的核型分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(2): 327-331.
- [20] 周海鹏, 郑会敏, 张素勤, 等. 以色列野生二粒小麦和光稃野燕麦杂交亲本与后代核型分析[J]. 云南农业大学学报, 2012, 27(1): 1-6.
- [21] 周劲松, 苏小波, 汤泳萍, 等. 利用 Photoshop 进行芦笋核型分析的研究[J]. 江西农业学报, 2009, 21(2): 73-75.
- [22] 杨汉波, 饶龙兵, 郭红英, 等. 5 种柃木属植物的核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1203-1207.
- [23] 霍辰思, 白锦荣, 窦晓莹, 等. 8 个 LA 百合品种的核型分析[J]. 山西农业大学学报, 2018, 38(3): 57-62.
- [24] 李桂芬, 何毅, 覃斯华, 等. 多倍体西瓜染色体制片技术改良及其核型分析[J]. 西南农业学报, 2017, 48(4): 663-668.
- [25] 杨俊年, 黄隆为, 徐丽兰. 黄葛树染色体核型分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(32): 15767-15768.

- [26] 张志刚,何方. 山茶属部分种的核型分析[J]. 经济林研究,1989,7(1):31-52.
- [27] 李光涛,梁涛,张梅莉. 山茶属三种植物的核型分析[J]. 热带作物学报,1994,15(2):47-51.
- [28] 马梦茹,王英. 四个橡胶树主要栽培品种的核型分析[J]. 基因组学与应用生物学,2017,36(1):311-317.
- [29] Levean A, Fredga K, Sandberg A. Nomenclature for centromeric position on chromosome[J]. Hereditas,1964,17(1):66-80.
- [30] Stebbins G. L. Chromosomal evolution in higher plants [M]. London: Edward Arnold,1971.
- [31] Arano H. Cytological studies in subfamily Cardioideae(Compositae)of Japan I X The karyotype analysis and phylogenetic considerations on *Pertya* and *Ains liaea*[J]. Botanic Magazine(Tokyo),1963,76:32-40.
- [32] 王彦,华丽源,钱关泽. 平邑甜茶根尖染色体制片技术优化及核型分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(1):91-96.
- [33] 梁国鲁,李晓林. 中国苹果属植物染色体数目新观察[J]. 西南农业学报,1991,4(4):25-29.
- [34] 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.
- [35] 丁芳兵. 湖北海棠(*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd.)及近缘种的 matK 和 ITS 序列分析[D]. 南京:南京林业大学,2012.
- [36] 罗思谦,王彦,钱关泽. 利用 ITS 技术研究苹果砧木遗传多样性[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(5):25-28.
- [37] 王雷宏,郑玉红,汤庚国. 基于 SSR 标记的 8 个山荆子居群遗传多样性和遗传关系分析[J]. 植物资源与环境学报,2012,21(1):42-46.
- [38] 陈曦. 湖北海棠(*Malus hupehensis*)不同居群变异式样及遗传多样性的研究[D]. 南京:南京林业大学,2009.

Karyotype Analysis of *Malus* Mill

HUA Li-yuan WANG Xuan QIAN Guan-ze

(School of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract There exist interspecific hybridization, polyploidy and apomixis phenomenon in the *Malus* Mill, so they are known for their difficulty in classification and identification, the complex species of *Malus baccata* (L.) Borkh is even more difficult. In this paper, chromosome analysis was carried out on the main plants of the complex species of *Malus baccata* (L.) Borkh and the Sect. *Sorbomalus zabel*, which is possibly closely related plants. Fifteen taxa of the *Malus* Mill. consist of one tetraploid, four triploids and ten diploids. The chromosome materials of Tianmushan crabapple, *Malus hupehensis* Rehd. var. *taiensis* G. Z. Qian, Riwa crabapple, *Malus purpurea* and *Malus* ‘Donghongguo’ were published for the first time. The karyotypes are mostly belong to metacentric chromosome (m) and submetacentric chromosome (sm), which belong to the more primitive type. The karyotype of *Malus ombrophila* Hand. -Mazz. is 1A, which is the most primitive, and the karyotype of *Malus toringo* De Vriese is 3B, which is the most evolutionary one. The experimental results suggested that it is probably not the *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. that distributes at the top of Tianmu Mountain, but it could be an independent species, it is related to the parents of *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. var. *mengshanensis* G. Z. Qian et W. H. Shao and *Malus hupehensis* Rehd. var. *taiensis* G. Z. Qian; *Malus baccata* (L.) Borkh probably is related to the parents too; the Riwa crabapple, which found in the western of Sichuan is resemble with *Malus sikkimensis* (Wenz.) Koehne, but there are great differences in karyotype and chromosome number, so it also supports the independent species. The results of karyotype analysis also accumulated datas for further studies of genomic in situ hybridization.

Key words *Malus* Mill; wall degradation and hypotomis methods; chromosome; karyotyping