

银白杨×白榆亲子核型分析

杨成超, 彭建东, 李晓宇, 韩兆伟

(辽宁省杨树研究所, 辽宁 盖州 115200)

摘要:对银白杨(*Populus alba*)×[白榆(*Ulmus pumila*) + 新疆杨(*P. alba* var. *pyramidalis*)失活花粉]的亲本和子代进行了核型分析。结果表明:银白杨, $2n=38=1M+30m(1SAT)+4sm+1st+2t$; 银榆杨(*P. × alba* L. 'yinyu') 1号, $2n=38=1M+30m(1SAT)+4sm+1st+2t$; 银榆杨 2号, $2n=38=1M+30m(2SAT)+4sm+1st+2t$ 。白榆的染色体 $2n=28$ 。银白杨和银榆杨的染色体数目相同, 核型差异很小。随体的数量可能与银榆杨和银白杨表型不同有关。推测, 银白杨×白榆的杂种胚在发育时先形成了以银白杨染色体为主的单倍体, 后经染色体自然加倍形成二倍体银榆杨。

关键词:银白杨; 白榆; 核型分析; 亲子关系; 染色体消除

中图分类号: S722.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-7461(2013)04-0080-03

Karyotype Analysis of Parents and Descendants of *Populus alba* × *Ulmus pumila*.

YANG Cheng-chao, PENG Jian-dong, LI Xiao-yu, HAN Zhao-wei

(Poplar Research Institute, Gaizhou, Liaoning 115200, China)

Abstract: The karyotype of parents and descendants of *Populus alba* × (*Ulmus pumila* + DEAD *P. alba* var. *pyramidalis*) were analyzed. The results were as follows: *Populus alba*, $2n=38=1m+30m(1SAT)+4sm+1st+2t$; *P. × alba* 'yinyuY1', $2n=38=1M+30m(1SAT)+4sm+1st+2t$; *P. × alba* 'yinyuY2', $2n=38=1M+30m(2SAT)+4sm+1st+2t$. *Ulmus pumila*, $2n=28$. The same chromosome number between *P. alba* and *P. × alba* 'yinyu'. There was a little difference between them in karyotype. Total number of satellite might relate to phenotype difference. It was speculated that haploid mainly based on *Populus alba* produced in hybrid embryo of *Populus alba* × (*Ulmus pumila* + DEAD *P. alba* var. *pyramidalis*) developed. After chromosome group of hybrid embryo natural doubled, it became diploid *P. × alba* 'yinyu'.

Key words: *Populus alba*; *Ulmus pumila*; karyotype analysis; genetic relationship; chromosome elimination

银白杨(*Populus alba*)是杨柳科杨属白杨派中重要的用材和绿化树种。白榆(*Ulmus pumila*)是榆科榆属树种。利用新疆杨(*P. alba* var. *pyramidalis*)失活花粉蒙导和败育胚挽救技术进行了银白杨×白榆的科间远缘杂交试验, 所获得的幼苗暂定名为银榆杨(*P. × alba* L. 'yinyu')^[1], 目前已应用于园林绿化。通过形态学观察, 银榆杨在叶片、花序、树枝形态等方面都具有白榆特征, 明显不同于银白杨, 试验证明银

榆杨具有有性生殖能力^[2]。在用 AFLP 标记研究了银榆杨的亲子关系后, 发现银榆杨中含有少量的白榆基因^[3]。为进一步鉴定银榆杨的杂种真实性, 明确银榆杨的染色体特征, 对银榆杨、银白杨的染色体进行了核型分析, 并对银白杨和白榆杂交后银榆杨染色体的变化过程进行了讨论。该研究对植物远缘杂交的染色体变化研究有借鉴意义, 为从染色体角度研究远缘杂交亲子关系提供一个范例。

收稿日期: 2012-11-14 修回日期: 2013-01-06

基金项目: 辽宁省自然科学基金“杨与榆远缘杂交障碍克服机理及 AFLP 标记的研究(20062211)”。

作者简介: 杨成超, 男, 高级工程师, 研究方向: 杨树育种与生理基础研究。E-mail: yangchengchao@sina.com

1 材料与方法

1.1 材料

银白杨采自辽宁省盖州市熊岳树木园,银榆杨 2 个无性系银榆杨 1 号(Y1)和银榆杨 2 号(Y2)采自辽宁省杨树研究所院内,采集根尖作为试验材料。

1.2 方法

染色体标本的制备借鉴了去壁低渗火焰干燥法^[4-5],并加以改进,切下根尖置于装有饱和对二氯苯水溶液的小瓶中,16~18℃避光处理 3~5 h,或置于 4℃冰箱中过夜处理。用滴管吸净预处理液,用蒸馏水把材料清洗 3 遍,加入 0.075 mol 的 KCl 处理 20~30 min。去除 KCl,加入 2.5%纤维素酶和果胶酶混合酶液,25℃避光处理 1~2 h。吸去酶液,蒸馏水洗 1~2 遍,加入 0.075 mol 的 KCl 处理 20~30 min。去除 KCl,加入新配制的甲醇:冰醋酸(3:1)固定液,固定 1 h 以上。火焰干燥法制片。20:1 Giemsa 染色 15~30 min。自来水冲洗,晾干。Nikon 80i 显微镜观察,SPOT RTKE 单色冷 CCD 照相,用 100 倍油镜拍摄。每个样本选择 30 个分散良好的中期分裂相细胞观察染色体并计数,核型分析按照李懋学和陈瑞阳^[6]等方法进行。

2 结果与分析

银榆杨的 2 个无性系 Y1(图 1)和 Y2(图 2)以及银白杨(图 3)的染色体数目都是 $2n=38$ 条。

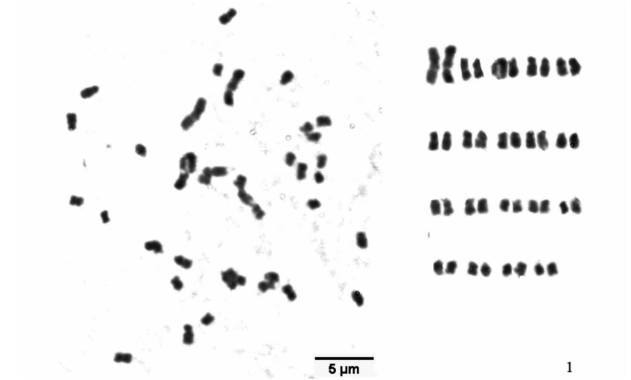


图 1 银榆杨 Y1 的染色体核型
Fig. 1 Karyotype of *P. x alba* L. 'yinyu Y1'

白榆的染色体 $2n=28$ 条^[8]。银白杨和白榆在杂交过程中,如果白榆的花粉在蒙导作用下在银白杨柱头上萌发,花粉管到达子房并完成双受精过程,那么由杂种胚长成苗的染色体数应该是 $2n=33$ 条。而今,银榆杨的染色体数目为 $2n=38$ 条,与母本银白杨的染色体数目相同,可以认定银榆杨不是真杂种。

从核型分析来看,银榆杨 Y1 的核型公式为 $2n=38=1M+30m(1SAT)+4sm+1st+2t$,核型分

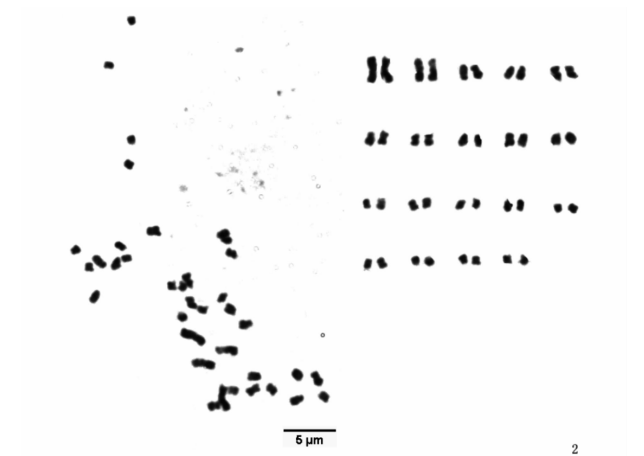


图 2 银榆杨 Y2 的染色体核型
Fig. 2 Karyotype of *P. x alba* L. 'yinyu Y2'

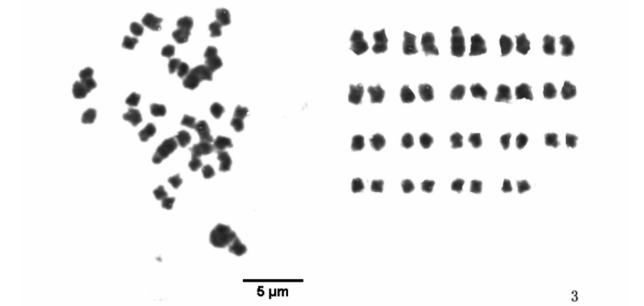


图 3 银白杨的染色体核型
Fig. 3 Karyotype of *P. x alba*

类属于“2B”型,Y1 具有 1 端随体;银榆杨 Y2 的核型公式为 $2n=38=1M+30m(2SAT)+4sm+1st+2t$,核型分类属于“2B”型,Y2 具有 2 个端随体。银白杨染色体核型公式为 $2n=38=1M+30m(1SAT)+4sm+1st+2t$,核型分类属于“2B”型,具有 1 个端随体,核型与齐力旺^[7]等的研究相比少 1 个随体。白榆的核型^[8]大多由近端部和端部着丝点染色体组成,核型公式为 $2n=28=1m+3sm(SAT)+6st+4t$,属于 stebbins 较进化的“3A”类型。从上面可以看出,银榆杨 Y1 和 Y2 2 个无性系与白榆的核型完全不同,而与银白杨的染色体核型差异很小,仅是银榆杨 Y2 比母本银白杨多 1 端随体。这说明银榆杨和银白杨有非常近的亲缘关系,从染色体核型层面已经很难进行区分。

3 结论与讨论

从形态学上看,银榆杨 1 号和 2 号除了叶子背面显绿色不具有白色绒毛外,1 号开花以雄花序为主,还开少量雌花,而 2 号是以开雌花为主。本试验采集的银白杨为雌株,叶片背部白色,密被白色绒毛。由于银榆杨和银白杨的核型差异表现在随体的数量多少的差别,所以随体数量可能与银榆杨和银白杨表型不同有关。不过,随体的个数问题和染色

体标本制备有关,甚至于同一个材料的染色体有时能观察到随体,有时观察不到随体。要想准确确定随体的数目可用 45 s rDNA 为探针进行荧光原位杂交验证。以后将借鉴张守攻^[9]等对欧洲黑杨一号染色体进行显微分离和原位杂交分析的方法,对银榆杨做进一步研究。

银榆杨的染色体变化过程很值得探讨。植物远缘杂交可以分为核型稳定的杂交和染色体消除型杂交(也称为核型不稳定的杂交),前者可形成常规杂交种,后者利用父本染色体被消除获得双单倍体后代^[10]。染色体消除现象在小麦与玉米^[11-14]、小麦与大麦^[15]、小麦与高粱^[16]、小麦与珍珠黍^[17]的远缘杂交中都被观察到。远缘杂交可导致大到异源染色体整条整段的导入,小到发生单基因的渐渗^[10]。推测,“银白杨×白榆”杂种胚在发育过程中大部分白榆的染色体被消除了,只有少量白榆的染色体片段导入到银白杨染色体之中或者白榆的单基因渗入到银白杨染色体之中^[3],形成了以银白杨染色体为主的单倍体,后经染色体自然加倍形成如今的二倍体银榆杨。还没有在林木远缘杂交中见到类似报道。

致谢:本文得到南开大学生命科学学院陈成斌教授的指导,特此表示感谢!

参考文献:

[1] 杨成超,别婉丽,董雁,等. 银白杨与白榆远缘杂交的研究[J]. 西北林学院学报,2006,21(4):54-57.
YANG C C,BIE W L,DONG Y,*et al.* A study on the distant hybridization between *Populus alba* Linn. and *Ulmus pumila* Linn. [J]. Journal of Northwest Forestry University,2006,21(4):54-57. (in Chinese)

[2] 杨成超,王胜东,杨志岩,等. 银白杨与白榆杂交后代有性生殖能力的研究[J]. 西北林学院学报,2010,25(2):56-60.
YANG C C,WANG S D,YANG Z Y,*et al.* Sexual reproduction capability of *Populus alba* L. × *Ulmus pumila* L. [J]. Journal of Northwest Forestry University,2010,25(2):56-60. (in Chinese)

[3] 杨成超,王胜东,杨志岩,等. 利用 AFLP 标记研究银白杨×白榆的亲子关系[J]. 北京林业大学学报:自然科学版,2007,29(2):7-12.
YANG C C,WANG S D,YANG Z Y,*et al.* Genetic relationship between parents and hybrid progenies of *Populus alba* L. × *Ulmus pumila* L. using AFLP marker[J]. Journal of Beijing Forestry University,2007,29(2):7-12. (in Chinese)

[4] 陈瑞阳,宋文芹,李秀兰. 植物有丝分裂染色体标本制作的新方法[J]. 植物学报,1979,21(3):297-298.
CHEN R Y,SONG W Q,LI X L. A new method of preparing mitotic chromosomes from plant [J]. Acta Botanica Sinica,1979,21(3):297-298. (in Chinese)

[5] 陈瑞阳,宋文芹,李秀兰. 植物染色体标本制备的去壁低渗法及其在细胞遗传学中的意义[J]. 遗传学报,1982,9(2):151-159.

CHEN R Y,SONG W Q,LI X L. Wall degradation hypotonic method of preparing chromosome samples in plant and its significance in the cytogenetics[J]. Acta Genetica Sinica,1982,9(2):151-159. (in Chinese)

[6] 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):291-302.
LI M X,CHEN R Y. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. Journal of Wuhan Botanical Research,1985,3(4):291-302. (in Chinese)

[7] 齐力旺,张守攻,韩素英,等. 杨属白杨组种间核型比较[J]. 园艺学报,2005,32(5):849-853.
QI L W,ZHANG S G,HAN S Y,*et al.* Karyotype analysis of section *Populus* in *Populus* [J]. Acta Horticulturae Sinica,2005,32(5):849-853. (in Chinese)

[8] 康向阳,张生,孙显林. 白榆染色体核型分析[J]. 吉林林学院学报,1996,12(1):30-32.
KANG X Y,ZHANG S,SUN X L. Study on the karyotype anlysis of *Ulmus pumila* Linn. [J]. Journal of Jilin Forestry University,1996,12(1):30-32. (in Chinese)

[9] 张守攻,张勇,刘博,等. 欧洲山杨一号染色体显微分离、原位杂交分析及特异文库的构建[J]. 园艺学报,2006,33(4):794-800.
ZHANG S G,ZHANG Y,LIU B,*et al.* Microdissection,in situ snalysis and microcloning of poplar chromosome 1 [J]. Acta Horticulturae Sinica,2006,33(4):794-800. (in Chinese)

[10] 孙敬三,陈纯贤,路铁刚. 禾本科植物染色体消除型远缘杂交的研究进展[J]. 植物学通报,1998,15(1):1-7.
SUN J S,CHEN C X,LU T G. Advances in karyotypically-unstable wide crosses (chromosome elimination system) in gramineae[J]. Chinese Bulletin of Botany,1998,15(1):1-7. (in Chinese)

[11] 孙敬三,路铁刚,辛化伟. 通过和玉米杂交诱导硬粒小麦单倍体[J]. 植物学报,1995,37(6):452-457.
SUN J S,LU T G,XIN H W. Induction of haploid durum wheat plants through pollination of maize pollen[J]. Acta Botanica Sinica,1995,37(6):452-457. (in Chinese)

[12] LAURIE D A,BENNETT M D. Wheat×maize hybridization [J]. Can. J. Genet. Cytol. ,1986,28:313-316.

[13] LAURIE D A,BENNETT M D. The Production of haploid wheat plants from wheat maize crosses[J]. Theor. Appl. Genet. ,1988,76:393-399.

[14] 孙敬三,路铁刚,辛化伟. 利用染色体消除法获得太谷核不育小麦纯合体[J]. 植物学报,1999,41(3):254-257.
SUN J S,LU T G,XIN H W. Obtaining homozygote of taigu genic male-sterile wheat by chromosome elimination[J]. Acta Botanica Sinica,1999,41(3):254-257. (in Chinese)

[15] HO K M,KASHA K J. Genetic control of chromosome elimination during haploid formation in barley[J]. Genetics,1975,81:263-275.

[16] LAURIE D A,BENNETT M D. Cytological evidence for fertilization in hexaploid wheat×sorghum[J]. Plant Breeding,1987,100:73-82.

[17] LAURIE D A. The frequency of fertilization in wheat×pearl millet cross[J]. Genome,1989,32:1063-1067.