果洛唐古特大黄染色体观察

胡延萍[1,2],温 泉[3],赵旭东[1,2],王 莉[1],李 毅[1 *]
(1.中科院西北高原生物研究所,青海西宁 810001;2.中国科学院研究生院,北京 100049;3.青海湟川中学,青海西宁 810008)

摘要　对蓼科(Polygonaceae)植物唐古特大黄(*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.)染色体核型进行了研究。结果表明,唐古特大黄体细胞染色体数目为 2n = 22;核型公式为 K(2n) = 22 = 20 m + 2 sm,核型为"1A"型,少数细胞中发现有随体存在。
关键词　唐古特大黄;染色体数目;核型;随体
中图分类号　Q343.2　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　0517 - 6611(2007)03 - 00744 - 02

Study on the Chromosome of Rheum tanguticum **Maxim. ex Balf. in Guoluo**

HU Yan-ping et al　(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai 810001)

Abstract　The chromosome number and karyotype of *Rheum tanguticum* were reported in this paper. Sections combined with micrograph were used to analyze chromosome karyotype. The best pretreatment and dyeing methods were found. The results were as follows: normal diploid 2n = 22; karyotype formula was K(2n) = 22 = 20m + 2 sm, belonging to Stebbins's 1A type. Satellite chromosome was found in few cells.
Key words　*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.; Chromosome number; Karyotype; Satellite chromosome

唐古特大黄(*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.)为蓼科(Polygonaceae)大黄属(*Rheum* L.)多年生草本植物[1],其干燥根及根茎入药,具有泻热通肠、凉血解毒、逐瘀通经之功效,为《中国药典》记载的"正品大黄"之一[2]。近年来,国内外学者对唐古特大黄的化学成分[3-6],药用功效[7],组培快繁[8-9]等进行了较广泛的研究,但有关大黄属掌叶组植物的染色体报道,仅杨美华[10]提到掌叶大黄和药用大黄,其染色体数目均为 2n = 22 和 2n = 44。笔者对青海省果洛州唐古特大黄进行染色体观察研究,探讨其遗传变异,为该植物的鉴定、起源、演化、良种培育及进一步的分子生物学研究提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料　唐古特大黄种子采自青海省果洛州,原植物由中科院西北高原生物所刘尚武研究员鉴定为唐古特大黄(*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.)。

1.2　方法　挑选纯净饱满的种子于室温下用蒸馏水浸泡 3 h,0.1 %的高锰酸钾灭菌 10 min,蒸馏水冲洗,室温下培养,当根尖长至 1 cm 左右时,于上午 8:30～9:30 取材,用不同的方法(表 1)进行预处理,卡诺固定液(纯酒精∶冰醋酸 = 3∶1)固定 24 h,蒸馏水冲洗后用 1 mol/L 盐酸在 60 ℃恒温下解离 10 min,最后用不同的染色液(表 2)染色,常规压片[11]观察,镜检。取 100 个染色体分散良好的细胞进行染色体计数,并对其中着丝点清晰的细胞进行显微摄影。染色体核型分析按李懋学等[12]的标准。

2　结果与分析

2.1　不同预处理对有丝分裂效果的影响　材料的预处理对获得优良的染色体图像影响很大,它可以改变细胞质的粘度,抑制和破坏纺锤丝的形成,促使染色体缩短和分散,有利于有丝分裂过程中染色体的观察和计数[13]。由表 1 可知,以 0 ℃冰水处理 24 h,有丝分裂观察效果最好。

表 1　不同预处理方法的有丝分裂效果比较

预处理	时间/h	温度/℃	效果比较
冰水低温处理	24	0	获得较多的中期分裂相,染色体收缩适中,利于核型分析
0.002 mol/L 8-羟基喹啉	4	4	中期分裂相少
0.05 %秋水仙素	2	4	获得较多的中期分裂相,但染色体分散不好,常粘连在一起

2.2　不同染色液的染色效果　由表 2 可知,在有丝分裂时观察,采用不同的染色液效果差别明显。采用改良卡宝品红染色效果较好,胞质不着色,背景清晰,反差明显,易于核型分析。

表 2　不同染色液的染色效果比较

染色液	染色效果
改良卡宝品红	细胞质不着色,反差明显,染色体无变形
醋酸洋红	染色较浅,形状不清晰,细胞质与染色体颜色差异不明显
锡夫试剂	染色体几乎不能染上颜色
铁矾-苏木精	染色体呈黑色,形状不清晰,细胞质与染色体颜色差异不明显

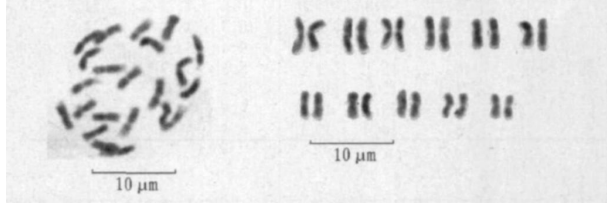

图 1　唐古特大黄染色体核型图

2.3　染色体核型分析结果　通过观察 100 个唐古特大黄根尖体细胞的染色体,确认其染色体数目为 2n = 22(图 1)。根据李懋学等[12]提出的植物核型分析标准,唐古特大黄每对染色体的相对长度、臂比值、染色体类型、相对长度系数等参数见表 3,染色体核型及核型模式见图 1、2。核型公式为 2n = 2x = 22 = 20 m + 2 sm。唐古特大黄体细胞的 11 对染色体 10 对为中部着丝点区染色体(m),1 对为亚中部着丝点区染色体(sm)。唐古特大黄的核型中,相对长度变化范围为 8.47 %～10.03 %,臂比变化范围为 1.01～1.81,平均臂比 1.24,臂比大于 2 的染色体为 0,染色体长度比 1.70,按照 Stebbins[14]的

基金项目　2003 年国家科学技术部农业科技成果转化资金项目(03EFN216300247)。
作者简介　胡延萍(1981 -),女,山东菏泽人,硕士研究生,研究方向:植物生物技术。*通讯作者,研究员,E-mail:liyi@nwipb.ac.cn。
收稿日期　2006-10-23

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

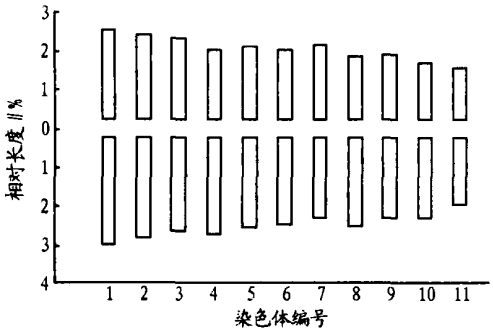

图 2　唐古特大黄染色体核型模式图

核型分类标准,唐古特大黄的核型属"1A"型,核型不对称系数 As. K% = 54.86 %,接近于 50 %,具有较大的对称性,可见,唐古特大黄在进化中处于比较原始的地位。另外,在部分细胞中观察到随体,但随体的数目呈现多样性(图 3、4)。

图 3　具有 1 个随体的细胞

图 4　具有 3 个随体的细胞

表 3　唐古特大黄染色体的核型参数

染色体编号	相对长度 %	臂比值 L/S	类型	相对长度系数
1	10.03 = 4.78 + 5.25	1.10	m	1.10
2	9.39 = 4.22 + 5.17	1.23	m	1.03
3	9.35 = 4.40 + 4.95	1.12	m	1.03
4	9.26 = 4.55 + 4.71	1.04	m	1.02
5	9.20 = 3.88 + 5.33	1.39	m	1.01
6	9.06 = 3.98 + 5.09	1.28	m	1.00
7	8.95 = 4.34 + 4.60	1.06	m	0.99
8	8.87 = 3.56 + 5.31	1.51	m	0.98
9	8.73 = 4.07 + 4.66	1.14	m	0.96
10	8.69 = 4.33 + 4.36	1.01	m	0.96
11	8.47 = 3.06 + 5.43	1.81	sm	0.93

3　讨论

3.1　预处理方法的选择　经秋水仙素处理的唐古特大黄细胞,染色体分散效果差。8 - 羟基喹啉较适宜于具中、小型染色体的植物,显示缢痕清晰,但是不易积累中期染色体,因此不利于对植物染色体进行核型分析。低温处理,也可抑制微管蛋白的合成和纺锤丝的形成,多适用于禾本科植物。在该研究中,用冰水混合物处理唐古特大黄,得到较好的效果。

3.2　随体的发现及其意义　SAT (随体) 的数目及位置常被作为染色体的一个形态特征。从理论上讲,无 SAT-染色体核型是不成立的[15]。因为 SAT 是和 NOR (核仁组成区) 并存的,而没有 NOR 的细胞是不生存的。除非 NOR 位于染色体端部,从而不具 SAT,造成上述问题的原因,主要是由于该植物 SAT 太小,随体柄太纤细以至于难以观察确认或在制作压片过程中易于丢失。在观察中发现了 1 个或 3 个随体,有些细胞没有发现随体,可能与制片操作中浓缩过度和施加重压有关;另外,也与染色方法有关,确定 SAT 的数目及分布位置的最有效方法是用 Ag-NOR 和 Ag-核仁染色法显示。而在该试验中是用改良卡宝品红染色。因此,有关 SAT 的数目及位置有待进一步研究。

植物染色体的数目、形态等是最稳定的细胞学特征之一。染色体的核型、类型等也是表明该种系统演化位置以及和相近种亲缘关系的重要依据。作为细胞生物学的主要研究内容,药用植物染色体核型分析技术将逐渐渗透到生药学的研究领域,对植物物种的鉴定、亲缘关系的确定、新药源的寻找和开发、良种培育及驯化等有特殊的意义。研究果洛州唐古特大黄染色体核型,为以后分子生物学研究奠定了基础,并为唐古特大黄育种提供细胞生物学依据。

参考文献

[1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991:83.
[2] 中华人民共和国药典(2005 版):1 部[S]. 2005:17 - 18.
[3] 郑俊华. 大黄属植物化学成分分析[J]. 北京医科大学学报,1991(1):51 - 53.
[4] 肖艳,杜智敏. 大黄中有效成分提取分离条件的优化[J]. 中国临床药理学与治疗学,2003,8(1):98 - 100.
[5] 曹纬国,刘志勤,绍云,等. 青海省道地药材唐古特大黄中 4 种蒽醌衍生物德含量测定[J]. 西北植物学报,2004,24(11):2140 - 2142.
[6] 张德,程树平,韩海洪,等. 超声法从唐古特大黄根茎中提取大黄降脂素[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(2):217 - 219.
[7] 李淑娟,董晓华,武海霞,等. 大黄及其有效成分药理作用研究进展[J]. 医学综述,2005,11(1):76 - 78.
[8] 董相军,王莉,徐文华,等. 唐古特大黄休眠芽诱导植株再生[J]. 植物生理学通讯,2004,40(4):457.
[9] 徐文华,陈桂琛,李毅,等. 唐古特大黄组织培养技术的研究[J]. 西北植物学报,2004,24(9):1734 - 1738.
[10] 杨美华. 正品大黄的分子鉴定及其系统亲缘关系[C]. 北京:北京大学,2001:4.
[11] 朱澂. 植物染色体及染色体技术[M]. 北京:科学出版社,1982:42 - 92.
[12] 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.
[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,1996:5 - 7.
[14] STEBBINS GL. Chromosome evolution in higher plants[M]. London: Edward Aronld,1971:881.
[15] 张赞平,侯小改. 杨山牡丹的核型分析[J]. 遗传,1996,18(5):3 - 6.

科技论文写作规范 ——工作单位

在圆括号内书写作者的工作单位(用全称)、城市名及邮政编码。若为外国的工作单位,则加国名。多个作者不同工作单位时,在名字的右上角分别加注 1、2,和地址前注 1.、2.。

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net