

罗布麻染色体核型分析

陈彦云¹, 曹君迈², 李国旗¹, 任辉丽¹, 谢敏¹

(1. 宁夏大学 生命科学学院 宁夏 银川 750021; 2. 西北第二民族学院 宁夏 银川 750021)

摘要: 采用染色体常规制片法, 结合显微摄影技术对罗布麻染色体进行检测分析。结果表明: 罗布麻染色体数为 $2n=14$, 核型公式是 $2n=14=6M+2m+4sm(1SAT)+2T$, 全组染色体总长度为 $35.92\mu\text{m}$, 长臂总长为 $21.92\mu\text{m}$, 核型不对称系数(AS.K%)为 60.97%, 总体积为 $15.19\mu\text{m}^3$ 。

关键词: 罗布麻; 染色体; 核型分析

中图分类号: S 567.7⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)01-0200-03

罗布麻是夹竹桃科罗布麻属, 为多年直立宿根草本植物, 成活期可达 30 a 以上。罗布麻药用成分主要是西麻甙, 黄酮类, 酸类和三萜类物质, 其药理作用主治“平肝安神、清热利水”, 用于肝阳眩晕, 心悸失眠, 浮肿尿少, 高血压, 神经衰弱, 肾炎浮肿等症, 为《中华人民共和国药典》(2005)年版收录。我国对罗布麻在栽培方面的研究工作始于 20 世纪 50 年代, 罗布麻属植物种类在我国非常贫乏, 只占世界的 1/25^[1]。罗布麻的利用较早, 但开发和深层次的研究起步较晚^[2]。目前关于其他植物的染色体核型分析较多^[3-6], 但对罗布麻染色体核型分析的研究尚未见报道。通过开展罗布麻核型分析的研究, 了解罗布麻细胞的染色体数目、形态、核型及其他相

关信息, 对探索物种遗传机制、亲缘关系与进化、远缘杂种的鉴定等都有重要价值。

1 材料与方法

1.1 材料

供试罗布麻(*Apocynum Venetum* Linn)种子采自新疆库尔勒。

1.2 方法

1.2.1 试验方法 选取饱满的种子放在培养皿中, 置于 24℃ 的恒温箱中发芽 2 d, 待胚根长至 0.3~0.5 cm 时于上午 9~10 时切取胚根; 在室温下用 0.05% 的秋水仙素处理 4 h, 用蒸馏水冲洗 2~3 次后用卡诺固定液处理 4~12 h, 放入 2.5% 的纤维素酶和 2.5% 的果胶酶 1:1 混合液中 25℃, 30 r/min 振荡解离 4 h, 将材料放在载玻片上, 切取根尖部位 1~2 mm, 用 45% 醋酸乳酸地衣红染色; 当根尖着色后, 盖盖玻片并按压, 吸取多余染液, 镜检。选取具有染色体分散良好, 核相比较好, 符合分析要求的片子, 冰冻法揭片, 干燥后用中性树胶封片, 然后进行显微摄影及分析。

第一作者简介: 陈彦云(1964), 男, 研究员, 现从事植物资源学教学与研究工作。

基金项目: 国家林业局“948”高科技引进资助项目(2004-4-10); 国家自然科学基金资助项目(30660039); 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-05-0896); 教育部科技基础数据平台(505016)。

收稿日期: 2007-08-16

Studies on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Perilla frutescens* (Linn) Britt

HUANG Mei-juan, ZHANG Lei, HUANG Hai-quan

(College of Landscape Architecture, Southwest Forestry College, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract: The seeds of *Perilla frutescens* (Linn) Britt were used as explants to germinate and develop into the aseptic plantlets in vitro. The primary factors influenced the proliferation and rooting of *Perilla frutescens* (Linn) Britt in vitro were studied by using its aseptic stems with nodes as explants. The results indicated that the optimal sterilization method for seeds of *Perilla frutescens* (Linn) Britt was 75% ethanol 20 s+0.1% HgCl₂ 8 min; that its optimal proliferation culture medium among all tested media was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; that its optimal rooting culture medium among all tested ones was 1/2 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L.

Key words: *Perilla frutescens*(Linn)Britt; Tissue culture; Rapid propagation

1.2.2 计算方法 细胞核型分析按我国 1984 年 8 月第一届全国植物染色体学术讨论会上由李懋学、陈瑞阳所作的“关于植物核型分析的标准化问题的标准”,对染色体进行计数、配对、排列、测量、计算、列表、绘制核型模式图、核型公式、核型分类等程序⁷⁻⁸,并参照 Levan 等人的方法⁹根据染色体臂比来确定着丝粒位置;参照 Stebbins(1971)的核型分类方法¹⁰,按核型中最长染色体与最短染色体之比及臂比大于 2 的染色体所占的比例来确定染色体核型对称与不对称程度;染色体体积采用 de Vescovi 等的计算方法¹¹。

2 结果与分析

2.1 罗布麻染色体数目及形态

选择 50 个染色体数目清晰的分裂中期细胞对染色体进行计数,结果发现所有罗布麻细胞染色体数均为 14 条,未发现非倍性细胞,因此罗布麻染色体数目为 $2n=14$ 见图 1。



图 1 罗布麻体细胞分裂中期 示染色体 $2n=14$

2.2 染色体长度组成

用 OLYMPUS 显微镜对染色体和标有尺寸的镜台测微尺在相同的放大倍数下进行拍照,然后将染色体和镜台测微尺的照片放大成相同的尺寸打印,再用小剪刀剪贴、目测、配对、排队,随后对染色体进行数据测量,即可测得染色体的绝对长度。再根据染色体绝对长度计算出染色体其它参数,其结果见表 1。经测量分析,罗布麻的 14 条染色体可配为 7 对,染色体平均长度 $2.57 \mu\text{m}$,根据李懋学等⁷的染色体分类标准,罗布麻的 7 对染色体,第 3、第 5、第 6 对染色体为正中部着丝粒(M);第 4 对为中部着丝粒(m),和第 1、第 2 对为近中部着丝粒(sm),第 1 对上具有随体(sat);第 7 对为顶端着丝粒。染色体总长度为 $35.92 \mu\text{m}$,绝对长度变化范围为 $1.22 \sim 3.33 \mu\text{m}$,相对长度变化范围为 $6.79\% \sim 18.54\%$,臂比变化范围为 $1 \sim \infty$ 。

2.3 染色体核型图

根据染色体绝对长度、相对长度、臂比、随体的形状和大小等进行同源染色体的染色体排列按染色体由长到短同源染色体重新编号,由左向右顺序贴在纸上。着

丝点排列在同一水平线上,短臂在上,长臂在下。完成上述步骤的染色体剪贴后,再附一张同一照片的中期分裂相,即成为染色体核型图(见图 2)。

表 1 罗布麻染色体参数

序号	染色体长度 μm	相对长度 /%	相对长度 系数	分类	臂比	分类
1	$1.11+2.00=3.33^*$	$6.18+12.36=18.54$	1.30	L	2	sm(sat)
2	$1.10+2.20=3.31$	$6.12+12.31=18.43$	1.29	L	2.21	Sm
3	$1.65+1.65=3.30$	$9.19+9.19=18.37$	1.29	L	1.00	M
4	$1.11+1.67=2.78$	$6.18+9.30=15.48$	1.09	M	1.50	m
5	$1.10+1.10=2.20$	$6.12+6.12=12.24$	0.86	M	1.00	M
6	$0.89+0.89=1.64$	$4.95+4.95=9.9$	0.69	S	1.00	M
7	$0+1.22=1.22$	$0+6.79=6.79$	0.48	S	∞	T

注:罗布麻染色体总长为 $35.92 \mu\text{m}$ 。



图 2 罗布麻染色体核型图

2.4 染色体核型模式图

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,横座标为染色体序号,纵座标为染色体的相对长度。绘染色体时,长臂在下,短臂在上(见图 3)。

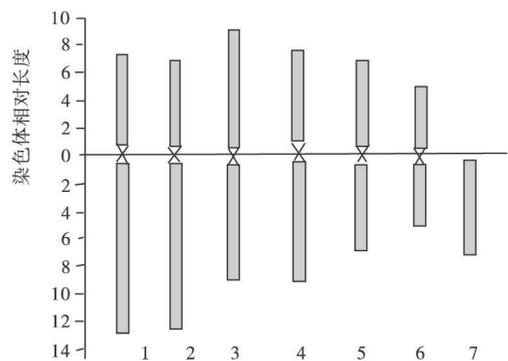


图 3 罗布麻染色体核型模式图

2.5 核型公式及分类

根据上述核型分析,得出:核型公式是 $(2n) = 14 = 6M + 2m + 4sm(SAT) + 2T$,染色体相对长度组成 = $4S + 4M + 6L$ 。

罗布麻染色体总长度为 $35.92 \mu\text{m}$,长臂总长为 $21.92 \mu\text{m}$,根据 Arano¹⁵的计算方法,核型不对称系数(AS.K%)为 60.97% 。最长染色体与最短染色体之比是 $2.73 : 1.0$ 臂比大于 2 的染色体有 2 对,为全组染色

体的 28.57%。根据 Stebbins(1971 年)的核型分类方法, 罗布麻染色体核型类型为“2B”。

2.6 染色体体积

根据 De-vescovi 等^[1]的染色体计算公式得出各对染色体体积, 见表 2。全组染色体体积为 15.19 μm³, 罗布麻染色体体积在 0.78~3.76 μm³ 范围之间。

表 2 罗布麻染色体体积

编号	染色体宽度/μm	染色体长度/μm	染色体体积/μm ³
1	1.2	3.33 *	3.76
2	1.1	3.31	3.14
3	0.9	3.30	2.10
4	1.1	2.78	2.64
5	1.0	2.20	1.73
6	0.9	1.64	1.04
7	0.9	1.22	0.78

注 罗布麻染色体总体积为 15.19 μm³。

3 问题讨论

罗布麻种子为小种子(形似芝麻种子), 在利用生根取材时, 经过多次试验观察, 其适宜的根尖长度为 0.3~0.5 cm, 超过其长度分裂中期相所占比例太低, 不便进行核型分析。

在细胞染色体制片过程中, 尝试用 45%醋酸乳酸地衣红对染色体进行染色, 虽然着色较浅, 为淡红色, 但染色体主、次缢痕清晰, 经过酶处理后, 再压片获得了分散性好的中期分裂相, 形态清晰, 便于观察(图 1)。

通过试验首次报道了罗布麻染色体核型(2n)=14=6M+2m+4sm(SAT)+2T, 染色体相对长度组成=4S+4M+6L。

罗布麻染色体核型分类为“2B”。染色体的形态、数目等具有稳定的细胞学特征。试验对于进一步研究罗布麻细胞的抗逆性原理、良种培育及驯化等方面有重要的作用。

Karyotype Analysis of the chromosome of *Apocynum Venetum* Arnold Linn

CHEN Yan-yun¹, CAO Jun-ma², LI Guo-qi¹, REN Hui-li¹, XIE Min¹

(1. Life Sciences School, Ningxia University Yinchuan 750021, China; 2. Department of Life Sciences, the Second Northwest Institute for Ethnic Minorities Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: The chromosomes were tested and analyzed through normal method for prepreparing slides with the technique of microphotography. The results showed that the chromosom number of *Apocynum Venetum* Linn. was 2n=14. The formula of karyotype was 2n=14=6M+2m+4sm(1SAT)+2T. The total length of all set of chromosomes was 35.92 μm and the total length of long arms was 21.92 μm. A symmetric coefficient of karyotype was 60.97%. The total volum was 15.19 μm³.

Key words: *Apocynum Venetum* Linn; Chromosome; Karyotype Analysis; Chromosome volume

4 结论

罗布麻染色体总体积为 15.19 μm³, 染色体为小染色体。罗布麻染色体数为 2n=14, 核型公式是 2n=14=6M+2m+4sm(SAT)+2T, 全组染色体总长度为 35.92 μm, 长臂总长为 21.92 μm, 核型不对称系数(AS.K%)为 60.97%。

参考文献

- [1] 李国旗, 陈彦云, 孟军, 等. 极具开发潜力的生态经济型植物—罗布麻[C]. 宁夏生态环境恢复重建的理论与实践. 银川: 宁夏人民出版社, 2004: 200-202.
- [2] 张卫明, 张玖, 赵伯涛, 等. 植物资源开发研究与应用[M]. 南京: 东南大学出版社, 2005: 44-46.
- [3] Li G T(李国泰). Karyotype Analysis of Chlorophytum comosum Chromosome[J]. Salitotical Plant Science(亚热带植物科学), 2005, 34(1): 33-35(in Chinese).
- [4] DU X, CHEN M Y, LIU P, et al. Karyotype Analysis of Two Buckwheat Variety Chromosomes[J]. Salitotical Plant Science(亚热带植物科学), 2005, 34(2): 36-38(in Chinese).
- [5] ZHAO Y B(张永兵), CHEN J F(陈劲枫), YI H P(伊鸿平), et al. Staining and Slide-preparing Technique of Mitotic Chromosomes and Its Use in Karyotype Determination of Cucumis melo L. [J]. Acta Bot. Toreal.-Occident. Sin. (西北植物学报), 2005, 25(9): 1735-1739(in Chinese).
- [6] Wu G T(吴甘霖). The application of karyotype analysis on cytotoxonomy [J]. JOURNAL OF BIOLOGY(生物学杂志), 2006, 23(1): 39-42(in Chinese).
- [7] LI C X(李懋学), CHEN R Y(陈瑞阳). A Suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants [J]. Journal of Wuhan Botanical Research(武汉植物学研究), 1985, 3(4): 297-302(in Chinese).
- [8] 杨汉民. 细胞生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998: 208-211.
- [9] Levan A k Fredga, A Sanderg. Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52: 197-201.
- [10] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London Arnold Edward, 1971: 88.
- [11] De-vescovi M A, Szikka O. Campartive karyotype analysis of Douglas-fir[J]. SilvaeGenet. 1975, 24(2-3): 4.