

# 药用栀子和二种观赏型栀子的细胞学研究

郝大翠, 惠荣奎, 程志号, 张 倩, 刘 焰

(华中农业大学 植物科技学院, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:**采用压片法对药用栀子、狭叶栀子及大花栀子的花粉母细胞减数分裂及核型进行了研究。结果表明:3 种栀子的绝大多数花粉母细胞减数分裂过程中染色体的行为正常, 仅在 3 种栀子少数花粉母细胞中观察到落后染色体和染色体桥等异常行为; 药用栀子的花粉粒育性最高, 约为 99%, 狭叶栀子的花粉粒育性较低, 约为 45.5%, 而大花栀子的花粉粒育性最低, 为 39.5%; 3 种栀子的染色体数目均为  $2n=2X=22$ , 其中药用栀子的核型公式为  $K(2n)=2X=22=2x=4m+7sm$ , 其核型为“3B”型, 狭叶栀子的核型公式为  $K(2n)=2x=22=6m+5sm$ 、大花栀子的核型公式为  $K(2n)=2x=22=7m+4sm$ , 后 2 种观赏型栀子的核型均为“2B”型。

**关键词:** 栀子; 花粉母细胞; 减数分裂; 核型

**中图分类号:** 687.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2010)11—0193—04

栀子(*Gardenia jasminoides* Elli)为茜草科栀子属木本植物, 广泛分布于热带和亚热带地区, 全世界约有 250 种。据《中国植物志》记载, 我国仅有栀子、海南栀子、匙叶栀子、狭叶栀子和大黄栀子 5 种。另一些学者认为, 除了上述 5 种外还有水栀子、雀舌栀子、重瓣栀子、大花栀子、花叶栀子。主流品种栀子为常用中药, 而重瓣栀子, 多为观赏, 少作药用<sup>[1]</sup>。栀子以其干燥成熟果实入药, 性苦、寒, 归心、肺、三焦经。能泻火除烦, 清热利尿, 凉血解毒。用于热病心烦, 黄疸尿赤, 血淋涩痛, 血热吐衄, 目赤肿痛, 等症<sup>[2]</sup>, 历代本草均有记载。栀子的栽培适应性强, 枝叶繁茂, 四季常青, 其花色白, 香气浓郁, 是我国南方庭院常见的观赏植物, 著名的八大香花之一<sup>[3]</sup>。在长期引种驯化的过程中, 人工选育出了染用、药用和观赏用不同类型的栀子品种, 如花而不实的大花重瓣栀子、小枝小叶小花的徽州栀子、四季花栀子以及叶镶白边的银边栀子等<sup>[4]</sup>。栀子属植物主产于我国长江以南, 资源十分丰富, 以江西、福建、浙江、湖南、湖北、广西和海南等省区分布最广泛, 有着广泛的应用前景。迄今对栀子的分类、生药、化学、药理等研究报道较多, 但有关栀子属植物的细胞学研究报道很少, 现对药用栀子、狭叶栀子和大花栀子的花粉母细胞减数分裂、花粉

粒育性及体细胞核型进行研究, 为栀子属植物的种质资源分类及其进一步的开发利用提供细胞学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所用药用型栀子(*Gardenia jasminoides* Elli)采自湖北蕲春, 2 种观赏型栀子即: 狭叶栀子(*G. jasminoides* Elli var. *angustifolia* Nakai)和大花栀子(*G. jasminoides* Elli var. *grandiflora* Nakai)取自华中农业大学校园绿化带, 由华中农业大学植物科技学院刘焰副教授鉴定, 材料形态特征见表 1。

表 1 3 种类型栀子的形态特征

材料	植株高度/ m	花瓣性状/ cm	果实性状
药用栀子	1. 2	单层, 香味浓, 花冠直径 5. 3	果大, 饱满
狭叶栀子	0. 4	花小重瓣, 花冠直径 3. 6	果小, 结实率低
大花栀子	2. 5	花大重瓣, 花冠直径 7. 2	不结实

### 1.2 试验方法

1.2.1 减数分裂观察方法 于 4 月初, 当大花栀子花蕾长 1.5~3 cm、狭叶栀子花蕾长 1.0~1.6 cm、药用栀子花蕾长 1.5 cm 左右时, 分别取 3 种栀子的花蕾, 用 5 : 2 : 1 氯仿卡诺固定液 25℃ 恒温固定 48 h。从花蕾中剥取花药, 置 1 mol/L 盐酸中, 60℃ 恒温解离 3 min。改良卡宝品红染色 5 min, 显微镜下观察摄影<sup>[5]</sup>。

1.2.2 花粉粒育性鉴定方法 分别取 3 种栀子成熟的花粉粒于载玻片上, 用 1%醋酸洋红染色 3 min 后, 在光学显微镜下观察、计数, 并照相。染色深, 外形圆的计为可育花粉粒, 不染色或染色浅, 外形皱瘪的计为败育花粉粒。1 朵花至少统计 300 个花粉粒, 计算可育花粉粒百分率。

1.2.3 体细胞观察方法 采用枝条水培的方法获得 2

第一作者简介: 郝大翠(1956-), 女, 大专, 工程师, 主要研究方向为药用植物细胞遗传学。  
通讯作者: 刘焰(1956-), 女, 副教授, 现主要从事药用植物种质资源分类及药用植物细胞遗传学研究。E-mail: yanl@mail.hzau.edu.cn.  
基金项目: 华中农业大学创新基金资助项目。  
收稿日期: 2010-03-01

种观赏栀子的根尖。取当年生枝条剪下 10 ~ 15 cm, 插入盛有自来水的容器里, 在 22 ~ 25℃ 室温下培养, 待根长至 0.6 ~ 2.0 cm 时, 切取根尖置于 0.002 mol/L 8-羟喹啉预处理 2 ~ 2.5 h 后, 用卡诺氏固定液固定 48 h, 1 mol/L 盐酸, 60℃ 恒温解离 16 min, 改良卡宝品红染色 30 min 后压片, 在显微镜下观察摄影。药用栀子取种子置于 23℃ 培养箱中发芽, 待根长到 0.5 ~ 1.0 cm 时, 切取根尖, 处理方法同上。

1.2.4 核型分析方法 3 种栀子各取 50 个分散良好、着丝点清晰的中期分裂相进行染色体计数, 并各从中选择染色体数目完整、无重叠的 5 个分散较好的分裂相进行显微摄影。染色体相对长度、臂比及核型按 Levan (1964)<sup>[6]</sup> 命名系统, 染色体相对长度系数按 Kuo (1972)<sup>[7]</sup> 方法划分, 核型分类用 Stebbins (1971)<sup>[8]</sup> 的标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 花粉母细胞减数分裂过程观察结果

3 种栀子的绝大多数花粉母细胞减数分裂过程中染色体的行为正常, 与药用栀子相比, 2 种观赏型栀子的花粉母细胞减数分裂过程中染色体行为存在较多异常, 在大花栀子统计的 482 个细胞中, 异常率为 4.2%, 在狭

叶栀子统计的 479 个细胞中, 异常率为 2.3%。药用栀子的异常率仅有约 0.3%, 3 种栀子在前中期 I 的粗线期, 终变期同源染色体配对后, 可形成 11 个高度浓缩、形态清晰的二价体 (图 1-a, j), 佐证了栀子的染色体数目为  $2n=2X=22$ , 该时期是染色体计数的最佳时期。在中期 I, 可观察二价体排列到赤道面上形成赤道板 (图 1), 少数细胞有染色体落后现象 (图 1-c)。后期 I, 配对的同源染色体彼此分离, 分别走向细胞的一极, 此时, 在细胞两极可见各有 11 条染色体, 该时期也是染色体计数的好时期 (图 1-d, n), 在后期 I, 少数细胞可观察到染色体落后和染色体桥现象 (图 1-h, m)。末期 I, 在细胞两极分别形成 2 个新的子核, 但细胞质不分裂。中期 II, 2 个子细胞中的染色体都排列到细胞的赤道面上 (图 1-o), 后期 II, 每条染色体上的 2 个姐妹染色单体分开, 分别走向细胞一极, 此时在细胞内可看到 4 组染色体 (图 1-f), 此期也观察到少数细胞中出现落后染色体 (图 1-p)。末期 II, 在细胞内形成了 4 个子核 (图 1-q), 最后细胞质分裂同时形成 4 个子细胞, 即四分体 (图 1-r)。结果表明 3 种栀子的减数分裂方式属于同时型。

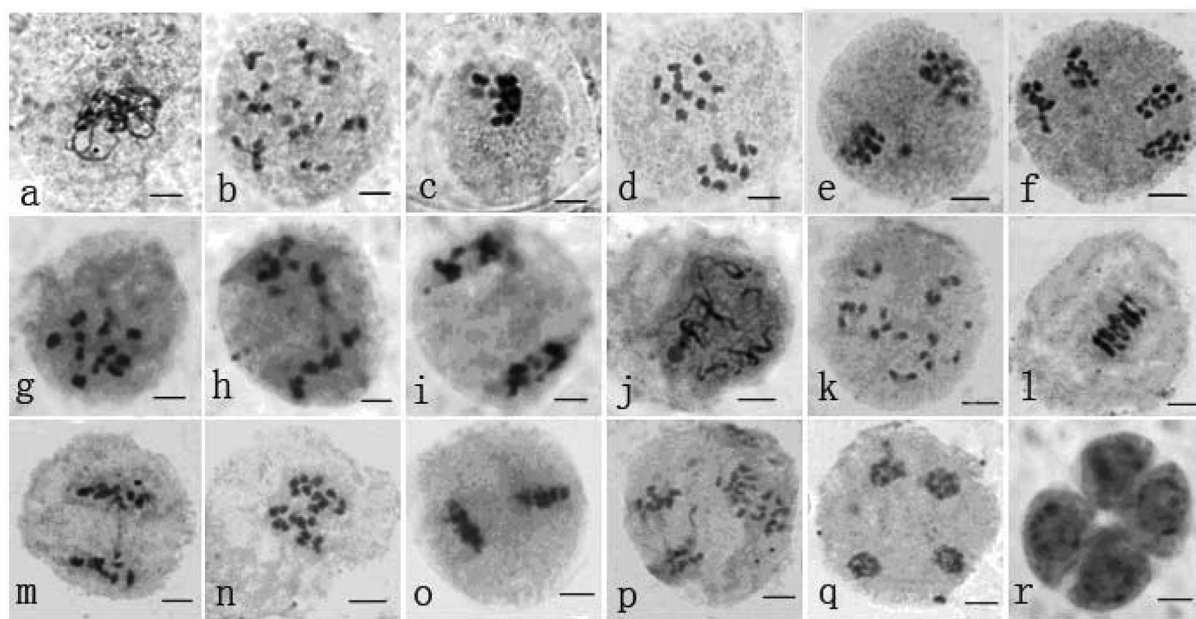


图 1 3 种栀子花粉母细胞减数分裂

a~f. 狭叶栀子 (*G. jasminoides* Ellis var. *angustifolia* Nakai) a. 粗线期; b. 终变期; c. 中期落后; d. 后期; e. 后期落后; f. 后期 II; g~i. 大花栀子 (*G. jasminoides* Ellis var. *grandiflora* Nakai) g. 终变期; h. 后期落后; i. 后期 II 落后; j~r. 药用栀子 (*Gardenia jasminoides* Ellis) j. 粗线期; k. 终变期; l. 中期; m. 后期染色体桥; n. 后期; o. 中期 II; p. 后期 II 落后染色体; q. 末期 II; r. 四分体 l. (bar=5 μm)。

### 2.2 花粉粒育性观察结果

随机取样, 观察统计了 3 种栀子成熟花粉粒的醋酸洋红染色反应结果, 其中观察的 433 个大花栀子花粉粒中, 可育率为 39.5%, 760 个狭叶栀子花粉粒中可育率为

45.5%, 药用栀子花粉粒的可育率约为 99% (见图 2)。

### 2.3 体细胞核型分析结果

从 3 种栀子的大量细胞学制片中各观察了 50 个根尖细胞的中期染色体, 确定 3 种栀子的体细胞染色体数

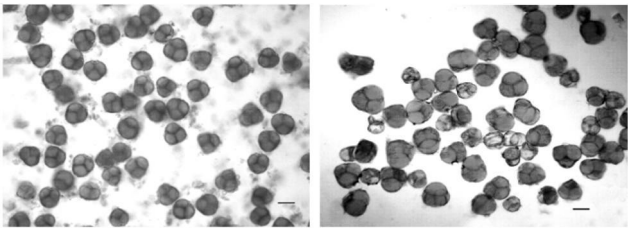


图 2 药用橘子和大花橘子花粉粒醋酸洋红染色反应

目均为 2n=22。根据其花粉母细胞减数分裂终变期,同源染色体配对形成 11 个二价体,可以确定 3 种橘子均为二倍体。未发现非整倍性变异和 B 染色体,3 种橘子各测量了 5 个分散良好、着丝点清晰的中期细胞染色体,分别获得 3 种橘子相应的 5 个细胞的数据结果,分别计算其平均值供核型分析(表 2)及核型模式图分析(图 4),3 种橘子的同源染色体配对后的核型图见图 3。结果表明,狭叶橘子的核型公式为  $K(2n)=2x=22=6m+5sm$ ,最长染色体和最短染色体的比值为 2.58,臂比大于 2:1 的染色体的百分比为 18.18%,核型不对称系数为 61.88%,核型为“2B”型。大花橘子核型公式为  $K(2n)=2x=22=7m+4sm$ ,最长染色体和最短染色体的比值为 2.24,臂比大于 2:1 的染色体的百分比为 9.09%,核型不对称系数为 60.46%,核型为“2B”型。药用橘子的核型公式为  $K(2n)=2x=22=4m+7sm$ ,最长染色体和最短染色体的比值为 2.59,臂比大于 2:1 的染色体的百分比为 54.54%,核型不对称系数(长臂总长/全组染色体总长)为 66.06%,核型为“3B”型。

表 2 3 种橘子染色体相对长度、臂比及类型

材料	染色体 序号	相对长度 S+L=T	臂比 / L · S <sup>-1</sup>	相对长度系数	类型
药用橘子	1	4.15+9.42=13.57	2.27	1.51	sm
	2	4.36+7.04=11.40	1.61	1.27	m
	3	3.14+6.84=9.98	2.18	1.11	sm
	4	2.90+6.03=8.93	2.08	0.99	sm
	5	2.64+5.51=8.15	2.09	0.91	sm
	6	2.40+5.02=7.41	2.09	0.82	sm
	7	1.94+4.55=6.49	2.35	0.72	sm
	8	2.40+3.69=6.09	1.53	0.68	m
	9	2.12+3.54=5.65	1.67	0.63	m
	10	1.65+3.23=4.87	1.96	0.54	sm
	11	1.51+2.30=3.81	1.53	0.42	m
大花橘子	1	5.08+8.15=13.23	1.61	1.46	m
	2	4.37+7.29=11.66	1.67	1.28	m
	3	4.01+7.11=11.12	1.77	1.22	sm
	4	3.78+6.67=10.45	1.77	1.15	sm
	5	3.15+6.42=9.57	2.04	1.05	sm
	6	3.27+6.10=9.37	1.86	1.03	sm
	7	3.71+4.34=8.05	1.17	0.89	m
	8	3.12+4.34=7.46	1.39	0.82	m
	9	3.22+3.83=7.06	1.19	0.78	m
	10	2.91+3.22=6.13	1.11	0.67	m
	11	2.91+2.99=5.90	1.02	0.65	m
狭叶橘子	1	4.78+9.87=14.65	2.06	1.60	sm
	2	4.19+7.77=11.96	1.86	1.31	sm
	3	4.34+5.98=10.32	1.38	1.13	m
	4	3.59+6.28=9.87	1.75	1.13	sm
	5	3.89+5.68=9.57	1.46	1.05	m
	6	3.89+5.38=9.27	1.38	1.02	m
	7	3.89+4.78=8.67	1.23	0.95	m
	8	2.09+5.08=7.18	2.43	0.79	sm
	9	2.99+3.74=6.73	1.25	0.74	m
	10	2.09+4.04=6.13	1.93	0.67	sm
	11	2.39+3.29=5.68	1.38	0.62	m

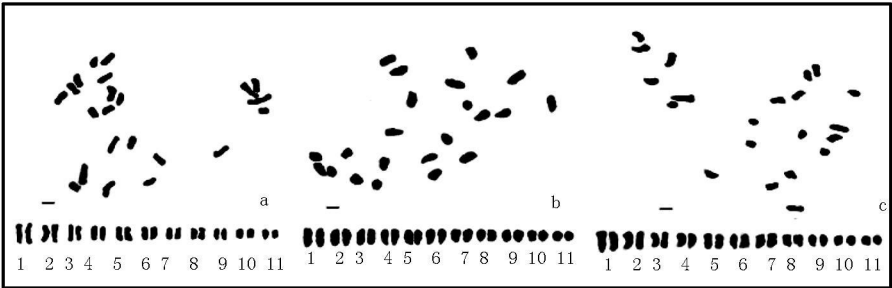


图 3 3 种橘子的体细胞中期照片和核型图

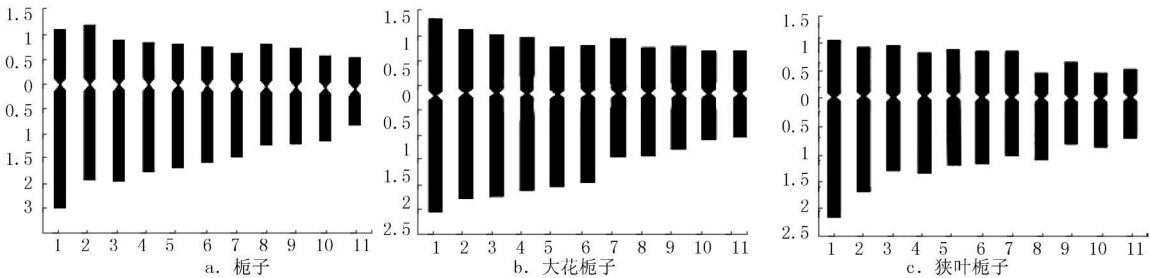


图 4 3 种橘子的体细胞核型模式图

## 3 讨论

目前,关于栀子的细胞学研究的报道较少,在我国仅杨兆起<sup>[9]</sup>等报道了栀子染色体数目为  $2n=22$ , 并对作为药用的栀子和水栀子的核型进行比较,认为 2 种栀子核型都为“2B”型,核型无明显差异。栀子为多年生植物,分布范围广,长期生长过程中受不同地理环境的影响,有较多遗传分化,加上我国自汉代栽培栀子以来已有 2 000 多年的历史,品种选育不断进行,导致栀子种下变异异常丰富。该研究发现在生产中作为药用的栀子和 2 种观赏型栀子的染色体数目虽然相同,均为 22 条,但是其核型组成存在一定的差异,其中药用栀子的核型属于“3B”型,2 种观赏型栀子的核型均属于“2B”型,较药用栀子原始。Stebbins<sup>[8]</sup>认为,植物界核型进化的基本趋势是从对称向不对称方向发展,即系统演化上较原始的类群,往往具有较对称的核型,随着进化的进行,核型越来越不对称。因此,该研究结果不仅为栀子的良种选育、真伪品的鉴别、种质资源分类提供了细胞学依据,而且从染色体水平上证明了栀子在系统演化上属于较进化的物种。

3 种栀子花粉母细胞的减数分裂观察结果说明,药用栀子的减数分裂几乎完全正常,花粉的可育性最高,果饱满,结实率高,而 2 种作为观赏用栀子的减数分裂存在异常,其花粉可育性低,结实率极低或不结实,仅能靠无性繁殖,这可能与人工长期选择有关。该研究还发现 3 种栀子的少数花粉母细胞减数分裂过程中出现了染色体落后、染色体桥等异常现象,说明有个别同源染色体配对、分离行为异常<sup>[10]</sup>。王新宇等认为,额外的染色体断片是染色体直接断裂的产物,染色体桥是染色体断裂的间接产物<sup>[11]</sup>。李雪等认为兰州百合小孢子母细胞减数分裂异常是导致败育花粉产生的主要因素<sup>[12]</sup>。王恒昌等对秤锤树的研究发现,其减数分裂过程中断片、落后染色体和染色体桥出现的比例与花粉粒败育性

比例比较一致,表明秤锤树的小孢子在发生和发育过程中较高频率的败育现象可能存在一定的细胞学原因<sup>[13]</sup>。落后染色体和染色体桥造成了染色体的不均等分配,导致了遗传组成不平衡的配子的形成,产生不同遗传组成的花粉粒<sup>[14]</sup>,这可能是导致花粉败育的原因之一。在该试验中观察到的减数分裂异常比例与花粉粒败育性比例相差较大,不结实或结实率极低的现象,其原因还有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 刘晓棠,赵伯涛,张玖,等.栀子的综合开发与利用[J].中国野生植物资源,2008,27(1):19-23.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:化学工业出版社,2005:173.
- [3] 付小梅,周光雄,葛菲,等.栀子类药材的研究概况及展望[J].中国野生植物资源,2000(2):24-26.
- [4] 舒迎澜.栀子花史话[J].园艺,2003(9):39-40.
- [5] 吴建国,李再云,刘焰,等.一种鉴定油菜远缘杂种的细胞学方法[J].遗传,1999,21(5):51-52.
- [6] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas 1964 52: 201-220.
- [7] Kuo S R, Wang T T, Huang T C. Karyotype analysis of some formosan gymnosperms [J]. Talwante, 1972, 17(1):66-80.
- [8] Stebbins G L. Chromosomal evolution in high plants [M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971: 87-90.
- [9] 杨兆起,程尧楚,魏爱华,等.栀子染色体核型带型研究[J].中国中药杂志,1995,20(10):588-590.
- [10] 杜玉娟,程志号,王沫,等.半枝莲花粉母细胞减数分裂观察及核型分析[J].华中农业大学学报,2009,28(1):93-96.
- [11] 王新宇,郑国铝.蚕豆花粉母细胞染色体畸变同染色质质转移的关系[J].植物学报,1985,27(2):141-146.
- [12] 李雪,陈丽梅,杜捷,等.兰州百合小孢子母细胞减数分裂异常现象的观察[J].西北植物学报,2003,23(10):1796-1799.
- [13] 王恒昌,何子灿,李建强,等.秤锤树的核型研究及其减数分裂过程的观察[J].武汉植物学研究,2003,21(3):198-202.
- [14] 李润芳,吕松,邓瑞宁,等.荠菜的花粉母细胞减数分裂及核型分析[J].中国油料作物学报,2008,30(4):506-510.

## Cytological Study of Two Ornamental *Gardenia jasminoides* and Medicinal *Gardenia jasminoides*

HAO Da-cui, HUI Rong-kui, CHENG Zhi-hao, ZHANG Qian, LUI Yan

(College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070)

**Abstract:** The meiosis of pollen mother cells and karyotype analyzed for the Medicinal *Gardenia jasminoides*, *G. jasminoides* Elli var. *angustifolia* Nakai and *G. jasminoides* Elli var. *grandiflora* Nakai by applying squash method. The result showed that in three kinds of *Gardenia* most pollen mother cells meiosis chromosome behavior was normal. In a few pollen mother cells of three kinds of *Gardenia* lagging chromosome and chromosomal bridge were founded during meiosis. The stainability of the pollen grains of Medicinal *Gardenia* was the highest, about 99%; The stainability of the pollen grains of *G. jasminoides* Elli var. *angustifolia* Nakai was 45.5%, the lowest one was *G. jasminoides* Elli var. *grandiflora* Nakai, about 39.5%; The chromosome numbers of three types of *Gardenia* all were  $2n=2X=22$ . The karyotype formula of medicinal gardenia was  $K(2n)=2X=22=2x=4m+7sm$ , and karyotype belonging to “3B”. The karyotype formula of *G. jasminoides* Elli var. *angustifolia* Nakai was  $K(2n)=2x=22=6m+5sm$ , with karyotype belonging to “2B”. The karyotype formula of *G. jasminoides* Elli var. *grandiflora* Nakai was  $K(2n)=2x=22=7m+4sm$ , with karyotype belonging to “2B”, too.

**Key words:** *Gardenia jasminoides* Elli; karyotype; meiosis; pollen fertility