

新疆十种野生药用植物核型分析

牛 凯¹, 许 正², 丘佳丽¹, 张力鹏¹, 陈成彬¹

(1. 南开大学 生命科学学院, 天津 300071; 2. 新疆伊犁州园艺研究所, 新疆 伊宁 835000)

摘 要:以新疆伊犁新源县的 4 科 10 种药用植物为试材, 采用植物染色体标本制备的去壁低渗方法, 研究了染色体数目并进行了核型分析。结果表明: 大麻(*Cannabis sativa* L.) $2n=20=12m+8sm$ 、苦豆子(*Sophora alopecuroides* L.) $2n=36=26m+8sm+2st$ 、毛牛蒡(*Arctium tomentosum* Mill.) $2n=36=6m+28sm+2st$ 、牛蒡(*Arctium lappa* L.) $2n=36=8m+26sm+2st$ 、千叶蓍(*Achillea millefolium* L.) $2n=36=26m+10sm$ 、牛至(*Origanum vulgare*) $2n=30=12m+18sm$ 、菊苣(*Cichorium intybus* L.) $2n=18=12m+6sm$ 、新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schang) $2n=14=4m+10sm$ 、草原糙苏(*Phomis protensis* Kar) $2n=22=12m+6sm+4st$ 、乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fish) $2n=16=6m+10sm$, 其染色体数目与前人报道一致。千叶蓍(*Achillea millefolium* L.)、牛至(*Origanum vulgare*)、新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schang) 3 种植物为首次报道。

关键词:新疆药用植物; 染色体; 去壁低渗法

中图分类号:R 282 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)08-0159-05

新疆药用植物的资源丰富, 地产中草药品种颇多, 仅中草药原植物就达 2 014 种。中医药是我国民族医药的瑰宝, 越来越受到世界各国的重视, 正逐步走向世界, 但是我国大部分药用植物都是野生的, 其遗传背景和细胞学的研究甚少, 虽然有关药用植物染色体数目国内外学者做了大量的研究工作, 但对新疆产的药用植物细胞

学研究相对滞后, 近年来部分学者也开展了一些研究^[1-3]。

现以 4 科 10 种采自新疆的药用植物为试验材料, 利用植物染色体标本制备的去壁低渗法, 对其染色体进行计数和核型分析, 以期对药用植物的遗传育种、分析种群间的关系、探索种群间进化发育和演化以及植物细胞分类学方面提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

10 种新疆药用植物材料大麻(*Cannabis sativa* L.)、苦豆子(*Sophora alopecuroides* L.)、毛牛蒡(*Arctium tomentosum* Mill.)、牛蒡(*Arctium lappa* L.)、千叶蓍

第一作者简介:牛凯(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为植物遗传。E-mail: daxyueyaolan@163.com.

责任作者:陈成彬(1972-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为植物遗传学。E-mail: chenccb@nankai.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31371249)。

收稿日期:2016-01-07

Abstract: Taking the garden greening tree species *Duranta repens* as experimental material. Through different concentrations of betaine and calcium chloride treatment, relative conductance, the contents of soluble sugar and proline, the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), oxygen free radical generation rate and hydrogen peroxide (H_2O_2) content were investigated on four different temperature conditions from $-3^{\circ}C$ to $6^{\circ}C$. The results showed that the relative conductance, proline content, POD activity of eight treatments increased to varying degrees with the lowering of the temperature. Overall change trend of the soluble sugar content also increased. The SOD of all treatments activity increased first and then declined. In addition to $-3^{\circ}C$, the oxygen free radical production rate and hydrogen peroxide content of each treatment also showed a trend of first increasing and then decreasing. The physiological indexes with close relation to the cold resistance of the eight treatments were relative conductance, proline content and oxygen free radical production rate. By the comprehensive evaluation with subordinate function, 20 mmol/L calcium chloride and 20 mmol/L betaine + 10 mmol/L calcium chloride treatments had the better effect on cold resistance of *Duranta repens* and the study for garden plant conservation could provide a theoretical guidance.

Keywords: *Duranta repens*; betaine; calcium chloride; low temperature stress; cold resistance; physiological index

(*Achillea millefolium* L.)、牛至(*Origanum vulgare*)、菊苣(*Cichorium intybus* L.)、新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schang)、草原糙苏(*Phomis protensis* Kar)、乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fish)均采自新疆伊犁新源县,由新疆伊犁州园艺研究所许正副研究员鉴定并种植于新源县天山野果林基地。

1.2 试验方法

1.2.1 种子萌发处理及染色体标本制备 使用 0.02% 赤霉素溶液浸泡种子,其中大麻、苦豆子、草原糙苏、牛至和乌拉尔甘草浸泡 48 h;毛牛蒡、牛蒡、千叶蓍、菊苣和新疆鼠尾草浸泡 12 h,浸泡后在培养皿中垫上纱布进行培养,保持适度的湿度。待根尖长到 0.3 cm 时,取长度大约为 0.2 cm 的根尖放入饱和的对二氯苯水溶液中 18℃ 黑暗中处理 3 h;卡诺固定液甲醇:冰醋酸(3:1) 4℃ 固定 30 min 以上;蒸馏水冲洗 30 min,加酶(纤维素酶和果胶酶同为 2.5%)酶解 45 min;去酶液后,低渗,用蒸馏水冲洗 30 min;去水加固定液甲醇:冰醋酸(3:1) 4℃ 固定大于 30 min;将材料移至湿冷而洁净的载片上,加上 1 滴固定液,用镊子迅速将材料压碎涂布,并且去掉大块组织残渣,空气中风干;用 20:1 的 Giemsa 染色 10 min,自来水冲洗,常温晾干;用 Nikon 80i 显微镜观察并将分散良好的染色体用 SPOT RT KE 冷 CCD 照相。

1.2.2 染色体分析方法 依照陈瑞阳等^[4]在第一届全国植物染色体学术讨论会中所提出的标准,染色体核型分析一般以植物体细胞染色体数目为准,并且统计的细胞数目在 30 个以上。该研究选取 30 个处于有丝分裂中期的细胞,用 CCD 采集的染色体图像,直接输入计算机,同时加上标尺,采用德国 Zeiss 公司的 Karyotype 核型分析软件对染色体进行分割、配对、数据测量并直接输出核型图版。最后采用南开大学染色体实验室设计的 NK-Karyotype 3.0 核型分析计算软件,计算并直接输出核型分析数据表。

2 结果与分析

2.1 大麻

大麻属桑科(Moraceae)大麻属(*Cannabis* Linn.)一年生植物,雌雄异株,是我国的重要药用植物之一。大麻根尖体细胞的染色体数目为 20,核型公式为 $2n=20=12m+8sm$,相对长度为 0.845~1.147,全部染色体组的臂比值范围是 1.115~2.428。在其染色体组中,有 12 条为中着丝粒(m)染色体,8 条为近中着丝粒(sm)染色体(图 1A,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为 1.36,根据 STEBINSDE 核型分类属于 2A 型。与前人报道的云南、安徽等地方的大麻相一致^[5-6]。

2.2 苦豆子

苦豆子属豆科(Leguminosae sp.)槐属(*Sophora* Linn.),苦豆子根尖体细胞的染色体数目为 36,核型公

式为 $2n=36=26m+8sm+2st$,相对长度为 0.763~1.201,全部染色体组的臂比值范围是 1.281~3.714。在其染色体组中,有 26 条为中着丝粒(m)染色体,8 条为近中着丝粒(sm)染色体,2 条为近端着丝粒(st)染色体(图 1B,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为 1.57,根据 STEBINSDE 核型分类属于 2A 型。与朱必才等^[7]研究苦豆子和准格尔苦豆子、陈荃等^[8]对荒漠的 2 种豆科植物-苦豆子和骆驼刺的染色体进行观察的结果相一致。

2.3 毛牛蒡

毛牛蒡属菊科(Asteraceae)牛蒡属(*Arctium* L.)二年生草本植物。毛牛蒡根尖体细胞的染色体数目是 36,核型公式为 $2n=36=6m+28sm+2st$,相对长度为 0.660~1.659,全部染色体组的臂比值范围是 1.103~3.001。在其染色体组中,有 6 条为中着丝粒(m)染色体,28 条为近中着丝粒(sm)染色体,2 条为近端着丝粒(st)染色体(图 1C,表 1)。第 6 对染色体有具缢痕的大随体(C);第 7 对染色体含有小随体(S),其染色体长度比为 2.52,根据 STEBINSDE 核型分类属于 3B 型,属于比较进化的类型。与许亮等^[9]对采于辽宁沈阳市苏家屯区白清乡南大山的毛头牛蒡材料的染色体分析结果较一致。

2.4 牛蒡

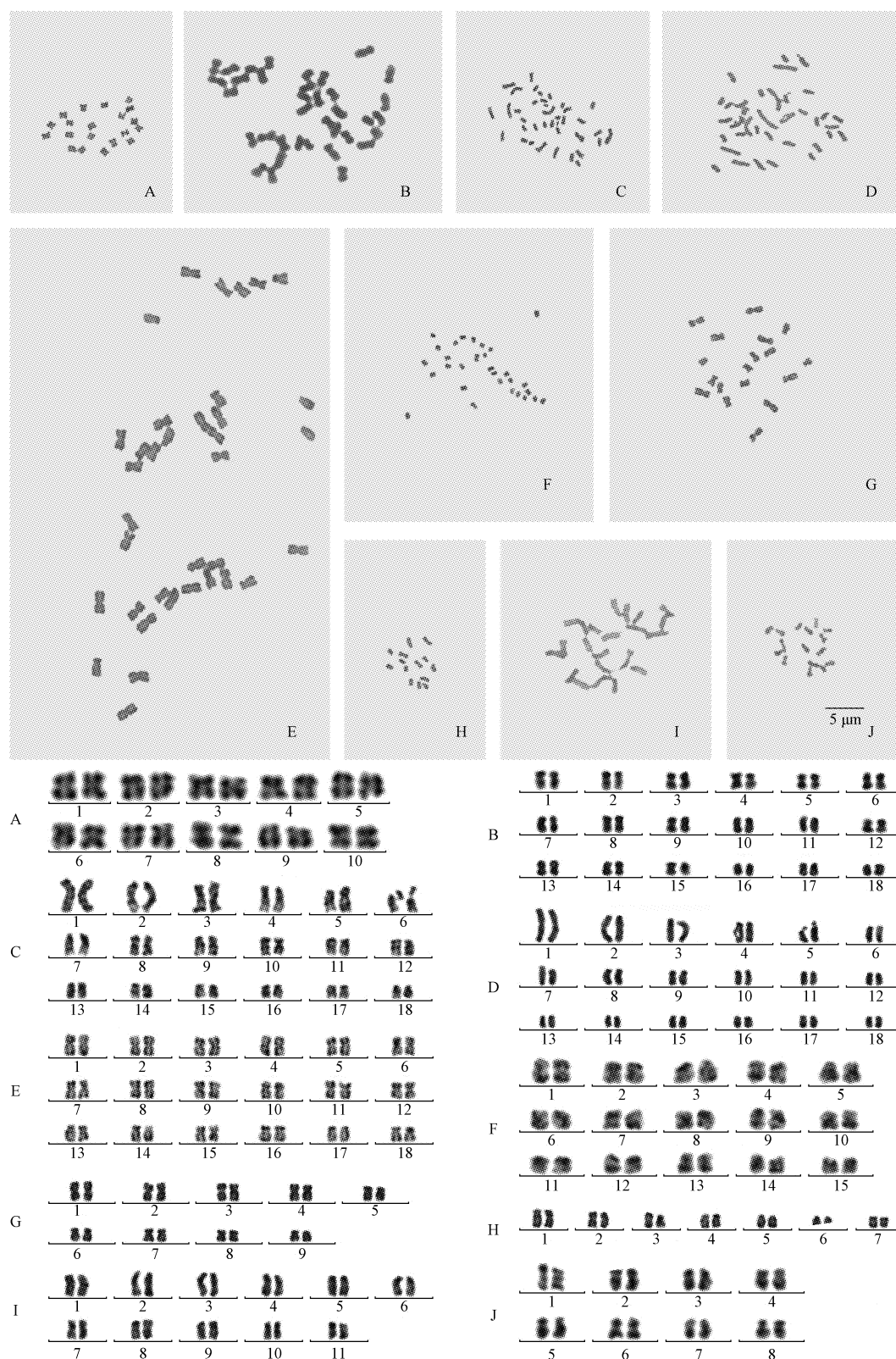
牛蒡属菊科(Asteraceae)牛蒡属(*Arctium* L.)二年生草本植物。牛蒡的根尖体细胞的染色体数目是 36,核型公式为 $2n=36=8m+26sm+2st$,相对长度为 0.720~1.888,全部染色体组的臂比值范围是 1.125~3.587。在其染色体组中,有 8 条为中着丝粒(m)染色体,26 条为近中着丝粒(sm)染色体,2 条为近端着丝粒(st)染色体(图 1D,表 1)。第 5 对染色体有具缢痕的大随体(C),其染色体长度比为 2.62,根据 STEBINSDE 核型分类属于 3B 型。与许亮等^[9]对采于新疆乌鲁木齐齐南山的牛蒡材料的染色体分析结果较一致。

2.5 千叶蓍

千叶蓍属菊科(Asteraceae)蓍草属(*Milfoil* L.)一种较耐寒的宿根草花。千叶蓍的根尖体细胞的染色体数目是 36,核型公式为 $2n=36=26m+10sm$,相对长度为 0.880~1.196,全部染色体组的臂比值范围是 1.130~2.609。在其染色体组中,有 26 条为中着丝粒(m)染色体,10 条为近中着丝粒(sm)染色体(图 1E,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为 1.36,根据 STEBINSDE 核型分类属于 2A 型。

2.6 牛至

牛至属唇形科(Lamiaceae)牛至属(*Origanum*)多年生草本植物。牛至的根尖体细胞的染色体数目是 30,核型公式为 $2n=30=12m+18sm$,相对长度为 0.828~1.234,全部染色体组的臂比值范围是 0.974~2.667。在其染色体组中,有 12 条为中着丝粒(m)染色体,18 条



注: A. 大麻、B. 苦豆子、C. 毛牛蒡、D. 牛蒡、E. 千叶蓍、F. 牛至、G. 菊苣、H. 新疆鼠尾草、I. 草原糙苏、J. 乌拉尔甘草。

Note: A. *Cannabis sativa* L., B. *Sophora alopecuroides* L., C. *Arctium tomentosum* Mill., D. *Arctium lappa* L., E. *Achillea millefolium* L., F. *Origanum vulgare*, G. *Cichorium intybus* L., H. *Salvia deserta* Schang, I. *Phomis protensis* Kar, J. *Glycyrrhiza uralensis* Fish.

图 1 10 种新疆药用植物的核型

Fig. 1 The karyotype of 10 medicinal plants in Xinjiang

为近中着丝粒(sm)染色体(图 1F,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为 1.49,根据 STEBINSDE 核型分类属于 2A 型。

2.7 菊苣

菊苣属菊科(Asteraceae)菊苣属(*Cichorium*)多年生、二年生或一年生草本植物。菊苣的根尖体细胞染色体数目是 18,核型公式为 $2n=18=12m+6sm$,相对长度为 0.769~1.256,全部染色体组的臂比值范围是 1.130~1.858。在其染色体组中,有 12 条为中着丝粒(m)染色体,6 条为近中着丝粒(sm)染色体(图 1G,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为 1.63,根据 STEBINSDE 核型分类属于 1A 型。属于较原始类型。葛荣朝等^[10]以普纳菊苣为对象,发现菊苣有 3 种变异类型,分别是叶裂型、全缘型和红叶型,3 种类型的核型分别为叶

裂型 $2n=18=14m+4sm$;全缘型为 $2n=18=16m+2sm$;红叶型为 $2n=16=12m+4sm$;葛荣朝等^[10]对普纳菊苣的核型进行常规分析,得其核型组成为 $2n=2x=18=18m$,这些结果虽与新疆产的菊苣有些差别,但其染色体数目和染色体特征趋于一致。

2.8 新疆鼠尾草

新疆鼠尾草属唇形科(Lamiaceae)鼠尾草属(*Salvia* Linn.)多年生草本。新疆鼠尾草的根尖体细胞染色体数目是 14,核型公式为 $2n=14=4m+10sm$,相对长度为 0.798~1.260,全部染色体组臂比值范围是 1.353~2.875。在其染色体组中,有 4 条为中着丝粒(m)染色体,10 条为近中着丝粒(sm)染色体(图 1H,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为 1.58,根据 STEBINSDE 核型分类属于 3A 型。

表 1

10 种新疆药用植物的核型参数

Table 1

Karyotype parameters of 10 medicine plants in Xinjiang

材料 Material	核型公式 Karyotype formula	染色体长度组成 Constitution of relative length	核型分类 Karyotype type	核型不对称系数 Asymmetry index
大麻(<i>Cannabis sativa</i> L.)	$2n=2x=20=12m+8sm$	12M2+8M1	2A	61.00
苦豆子(<i>Sophora alopecuroides</i> L.)	$2n=2x=36=26m+8sm+2st$	20M2+16M1	2A	62.20
毛牛蒡(<i>Arctium tomentosum</i> Mill.)	$2n=2x=36=6m+28sm(SAT)+2st$	8L+6M2+12M1+10S	3B	66.41
牛蒡(<i>Arctium lappa</i> L.)	$2n=2x=36=8m+26sm(SAT)+2st$	8L+6M2+12M1+10S	3B	66.49
千叶蓍(<i>Achillea millefolium</i> L.)	$2n=2x=36=26m+10sm$	14M2+22M1	2A	59.90
牛至(<i>Origanum vulgare</i>)	$2n=2x=30=12m+18sm$	18M2+12M1	2A	66.08
菊苣(<i>Cichorium intybus</i> L.)	$2n=2x=18=12m+6sm$	2L+6M2+10M1	1A	59.55
新疆鼠尾草(<i>Salvia deserta</i> Schang)	$2n=2x=14=4m+10sm$	2L+6M1+6M2	3A	65.80
草原糙苏(<i>Phomis protensis</i> Kar)	$2n=2x=22=12m(SAT)+6sm+4st$	10M2+12M1	2A	64.14
乌拉尔甘草(<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fish)	$2n=2x=16=6m+10sm$	8M2+8M1	2A	63.79

2.9 草原糙苏

草原糙苏属唇形科(Lamiaceae)糙苏属(*Phlomis* Linn.)多年生草本植物。草原糙苏根尖体细胞的染色体数目是 22,核型公式为 $2n=22=12m+6sm+4st$,相对长度为 0.853~1.214,全部染色体组臂比值范围是 1.216~3.900。在其染色体组中,有 12 条为中着丝粒(m)染色体,6 条为近中着丝粒(sm)染色体,4 条为近端着丝粒(st)染色体(图 1I,表 1)。第 2 对染色体含有小随体(S),其染色体长度比为 1.42,根据 STEBINSDE 核型分类属于 2A 型。与马兴华等^[2]对天山山区的草原糙苏的染色体进行观察,染色体数目为 $2n=2x=46$,与该试验得到的 $2n=22$ 有所不同,推测可能为四倍体的草原糙苏,还有待于进一步观察。

2.10 乌拉尔甘草

乌拉尔甘草属豆科(Leguminosae sp.)甘草属(*Glycyrrhiza* Linn.)多年生草本或半灌木。乌拉尔甘草根尖体细胞的染色体数目是 16,核型公式为 $2n=16=6m+10sm$,相对长度为 0.901~1.140,全部染色体组臂比值范围是 1.619~2.438。在其染色体组中,有 6 条为中着丝粒(m)染色体,10 条为近中着丝粒(sm)染色体(图 1J,表 1)。没有发现随体染色体,其染色体长度比为

1.27,根据 STEBINSDE 核型分类属于 2A 型。与徐汉杰等^[11]对内蒙古鄂托克前旗、新疆阿勒泰和内蒙喀喇沁旗的乌拉尔甘草染色体组进行 FISH 研究的结果一致。

3 讨论

染色体常常为形态分类提供直接证据,并可以预测物种未来,且染色体分析是杂交育种、倍性育种不可缺少的手段。核型分析是指对植物细胞的染色体的数目、长度、形态和着丝粒的位置等进行分析的研究手段。该试验研究的 10 种药用植物染色体在数目上与前人的结果基本一致。但是在核型分类上跟以往研究结果略有不同,郭运玲等^[5]的研究中大麻属于 1B 型,但是在该试验中大麻属于比较原始的 2A 型;许亮等^[9]的研究中牛蒡和毛头牛蒡的染色体属于 2B 型,但该试验中 2 种材料均属于 3B 型。分析可能跟不同类型和品种遗传组成存在差异有关。与前人不同取材地同一种植物的染色体比较表明,在短距离地理隔离上,这些植物的种属间并没有发生染色体数目上的变异,可能只是由于生长的环境不同导致基因的表达上有差异,进而导致核型分类上的不同。

根据 STEBBINS^[12] 的理论,植物在进化的过程中是由对称性向着非对称性方向发展的,并且将染色体核型按照对称性将植物的进化程度分为了 12 种类型:1A、2A、3A、4A;1B、2B、3B、4B;1C、2C、3C、4C。STEBBINS^[12] 认为,核型对称程度越高的染色体,变异程度就越低,相对而言,非对称程度越高的生物则染色体的变异程度就越大,进化程度也越高。该试验表明,除毛牛蒡和牛蒡属于 3B,进化程度比较高外,其余都是 1A/2A/3A,进化程度相对较低。而且只有毛牛蒡和牛蒡含有具缢痕的大随体(C),有研究表明随体与染色体的进化程度有关,这与根据核型分类的结果一致。

从分类上看,毛牛蒡、牛蒡、菊苣和千叶蓍都属于菊科植物。显然毛牛蒡和牛蒡要比后二者进化程度高,二者同属于牛蒡属,有诸多相似之处。染色体均为 36 条,由 94% 以上的中着丝粒和近中着丝粒染色体组成,在臂比和染色体长度比值上也相差不超过 5%,说明二者的亲缘关系很近。杨晓绒等^[13] 的研究也表明,二者在中药方面的作用相似。千叶蓍和菊苣则属于菊科中较为原始的种属植物,分别是 2A 型和 3A 型,核不对称系数略低于牛蒡和毛牛蒡。牛至、新疆鼠尾草和草原糙苏三者均为较原始的唇形科植物,96% 以上染色体由中着丝粒和近中着丝粒组成,三者的染色体数各不相同,臂比大于 2 的占比也各不一样,说明三者的亲缘关系并不相近。苦豆子和乌拉尔甘草,二者都是豆科植物,染色体是由中着丝粒和近中着丝粒组成,都是 2A 型,核不对称

系数分别为 62.20 和 63.79,臂比大于 2 的占比也十分相近。通过核型分析观察,二者的亲缘关系比较相近。

参考文献

- [1] 马兴华,覃若林,邢文斌. 新疆 20 种药用植物的染色体观察[J]. 西北植物学报,1985,5(2):149-154.
- [2] 马兴华,马晓强,李楠. 新疆部分药用植物的染色体观察[J]. 西北植物学报,1990,10(3):203-210.
- [3] 马晓强,马兴华. 新疆 33 种药用植物染色体观察[J]. 新疆医学院学报,1992,15(3):159-164.
- [4] 陈瑞阳,李秀兰,宋文芹,等. 中国主要经济植物基因组染色体图谱(第二册)[M]. 北京:科学出版社,2003:561-565.
- [5] 郭运玲,熊和平. 大麻染色体核型分析[J]. 中国麻作,1999,21(2):21-23.
- [6] 辛培尧,尚勋武,郭鸿彦,等. 大麻体细胞的染色体数目及其核型分析[J]. 西部林业科学,2008,37(2):66-68.
- [7] 朱必才,许健,张寿洲. 两种苦豆子染色体的初步观察[J]. 植物科学学报,1988,6(2):198-200.
- [8] 陈荃,孔红,焦成瑾,等. 两种豆科荒漠植物的染色体观察[J]. 天水师范学院学报,2003,23(5):43-44.
- [9] 许亮,王冰,窦德强,等. 牛蒡与毛头牛蒡染色体核型比较分析[J]. 中国药理学杂志,2010,45(4):251-255.
- [10] 葛荣朝,赵茂林,高洪文,等. 普那菊苣的核型分析和 C-分带研究[J]. 草地学报,2002,10(3):190.
- [11] 徐汉杰,汤佳立,戚大石,等. 不同地域乌拉尔甘草基因组的 FISH 分析与染色体识别[J]. 西北植物学报,2010(2):262-268.
- [12] STEBBINS G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London: Edward Arnold,1971:87-89.
- [13] 杨晓绒,贾凤勤,塔西买买提·吐尔干. 伊犁地区野生毛牛蒡与牛蒡的成分分析比较研究[J]. 中国野生植物资源,2009,28(1):53-54.

Karyotype Analysis of 10 Species Wild Medicinal Plants in Xinjiang

NIU Kai¹, XU Zheng², QIU Jiali¹, ZHANG Lipeng¹, CHEN Chengbin¹

(1. College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071; 2. Yili Institute of Horticulture, Yining, Xinjiang 835000)

Abstract: Xinyuan County in Xinjiang Yili 4 families and 10 species of medicinal plants as the experimental materials, plant chromosome to wall preparation of low permeability method was used, the chromosome number and karyotype analysis was performed. The results showed that Hemp (*Cannabis sativa* L.) $2n = 20 = 12m + 8sm$, Bitter beans (*Sophora alopecuroides* L.) $2n = 36 = 26m + 8sm + 2st$, Hair Burdock (*Arctium tomentosum* Mill.) $2n = 36 = 6m + 28sm + 2st$, Burdock (*Arctium lappa* L.) $2n = 36 = 8m + 26sm + 2st$, Chiba Achillea (*Achillea millefolium* L.) $2n = 36 = 26m + 10sm$, Oregano (*Origanum vulgare*) $2n = 30 = 12m + 18sm$, Chicory (*Cichorium intybus* L.) $2n = 18 = 12m + 6sm$, Xinjiang salvianin (*Salvia deserta* Schang) $2n = 14 = 4m + 10sm$, Phlomis pratensis (*Phomis pratensis* Kar) $2n = 22 = 12m + 6sm + 4st$, Uraal licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fish) $2n = 16 = 6m + 10sm$. Their chromosome numbers were consistent with previous reports. The chromomose number and karyotype of Chiba Achillea (*Achillea millefolium* L.), Oregano (*Origanum vulgare*) and Xinjiang salvianin (*Salvia deserta* Schang) were first time reported.

Keywords: medicine plant in Xinjiang; chromosome; wall degradation hypotonic method