

# 黑果枸杞染色体核型分析

陈海魁, 曹君迈, 任 贤, 黄素平, 张 爽

(西北第二民族学院 生命科学系, 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黑果枸杞染色体进行检测分析, 结果表明: 黑果枸杞染色体数为  $2n=24$ , 核型公式是  $2n=24=20m+2sm+2m(sat)$ , 全组染色体总长度为  $86.88\ \mu\text{m}$ , 长臂总长  $49.44\ \mu\text{m}$ , 核型不对称系数(AS.K%)为  $56.9\%$ , 总体积为  $127.58\ \mu\text{m}^3$ 。

**关键词:** 黑果枸杞; 染色体; 核型分析

中图分类号: S 793.9 文献标识码: A 文章编号: 1001—0009(2008)07—0207—03

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr) 系茄科(Solanaceae) 枸杞属(*Lycium* L.) 植物<sup>[1]</sup>, 棘刺灌木, 高20~50 cm, 多分支, 枝条斜生或横卧地面, 白或灰色, 长成之字形曲折, 浆果, 紫黑色, 球状, 无毒, 有甜味, 稀顶端稍凹, 直径4~6 mm。其味甘, 性平, 清心热, 用于治疗心热病, 心脏病, 月经不调, 停经等病症。种子肾形褐色。花果期5~10月, 是我国西北荒漠地区一种特有的、亟待开发的野生植物, 分布于山西北部、宁夏、甘肃、青海、新疆、西藏等省<sup>[2]</sup>。

目前, 国内外关于对黑果枸杞的研究报道不多, 取得的成果比较少, 其染色体核型分析的研究也未见文献报道。通过开展黑果枸杞核型分析的研究, 了解黑果枸杞细胞的染色体数目、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。

第一作者简介: 陈海魁(1980-), 男, 甘肃民勤人, 本科, 助教, 研究方向为植物生态学。E-mail: haikui2000@hotmail.com。  
基金项目: 西北第二民族学院2007年基金资助项目(2007Y047)。  
收稿日期: 2008-02-13

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr)种子采自甘肃民勤县。

### 1.2 方法

1.2.1 试验方法 选取饱满的种子放在培养皿中, 用70℃的水浸泡15 min后置于27℃的气候箱中5 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60℃, 1 mol/L的盐酸中解离15 min, 将材料放在载玻片上, 切取根尖部位1~2 mm, 用45%改良苯酚品红染液染色; 当根尖着色后, 盖盖玻片并压片, 吸取多余染液, 镜检。选取具有染色体分散良好, 核相较好, 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。

1.2.2 计算方法 细胞核型分析按我国1984年8月第1届全国植物染色体学术讨论会上由李懋学、陈瑞阳所作的“关于植物核型的分析标准化问题的标准”, 对染色体进行计数、配对、排列、测量、计算、列表、绘制核型模式

## Tissue Culture and Rapid Propagation of Triploid Crossbred *Plectranthus verticillatus*

CHEN Gang<sup>1</sup>, LI Ling<sup>2</sup>

(1. College of Life Science, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061, China; 2. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China)

**Abstract:** Using stems with axillary buds of *Plectranthus verticillatus* as explants, the effect of different hormones on shooting and rooting was studied. Rapid propagation system of *P. verticillatus* was established. The results indicated that the explants had a high inducement at the medium of MS + 6-BA 2.0 mg/L, the rate was 100%. On the medium of 1/2MS+IBA 1.0 mg/L, the rooting rate was 100%.

**Key words:** *Plectranthus verticillatus*; Triploid crossbred Tissue culture; Rapid propagation

图、核型公式、核型分类等程序<sup>7-8</sup>，并参照 Levan 等人的方法<sup>9</sup> 根据染色体臂比来确定着丝粒位置；参照 Stebbins(1971)核型分类方法<sup>10</sup>，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 Devescovi 等的计算方法<sup>11</sup>。

2 结果与分析

2.1 黑果枸杞染色体数目及形态

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，结果发现有 47 个细胞为 24 条染色体，2 个为 23 条，1 个为 22 条，可见黑果枸杞染色体数目为  $X=12$ (见图 1)。

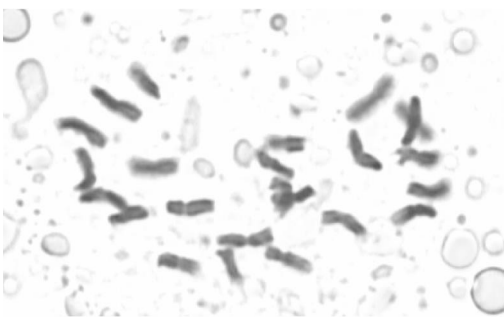


图 1 黑果枸杞体细胞分裂中期(染色体  $2n=24$ )

表 1		黑果枸杞染色体参数							
序号	染色体长度/ $\mu\text{m}$			相对长度/%			相对长度系数	臂比	分类
	长臂	短臂	总长	长臂	短臂	总长			
1	2.59	1.80	4.39	10.46	9.64	10.10	1.26	1.43	m
2	2.22	1.86	4.08	9.98	9.95	9.40	1.08	1.19	m
3	2.15	1.89	4.04	8.68	10.10	9.29	1.04	1.13	m(sat)
4	2.14	1.75	3.89	8.66	9.36	8.96	1.04	1.22	m
5	2.15	1.69	3.84	8.69	9.04	8.84	1.04	1.27	m
6	2.38	1.37	3.74	9.61	7.31	8.62	1.15	1.74	sm
7	2.03	1.47	3.49	8.20	7.84	8.04	0.98	1.38	m
8	1.95	1.44	3.39	7.89	7.71	7.81	0.95	1.35	m
9	1.92	1.43	3.35	7.76	7.65	7.71	0.93	1.34	m
10	1.71	1.49	3.20	6.93	7.94	7.37	0.83	1.15	m
11	1.92	1.20	3.12	7.75	6.42	7.17	0.93	1.59	m
12	1.58	1.32	2.90	6.38	7.05	6.67	0.77	1.20	m

注 黑果枸杞染色体总长为  $86.88\mu\text{m}$ 。

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，见表 1。经测量分析，黑果枸杞的 24 条染色体可配为 12 对，染色体平均长度为  $3.62\mu\text{m}$ ，根据李懋学等<sup>7</sup> 的染色体分类标准，黑果枸杞的 12 对染色体第 6 对为近中部着丝粒(sm)，第 3 对上具随体(sat)；其余全部为中部着丝粒。染色体总长度为  $86.88\mu\text{m}$ ，绝对长度变化范围为  $1.58\sim2.59\mu\text{m}$ ，相对长度变化范围为  $6.67\%\sim10.10\%$ ，臂比变化范围为  $1.13\sim1.74$ 。

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。着丝粒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)。

2.4 染色体核型模式图

核型模式图用绘图纸和坐标纸绘制。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)。

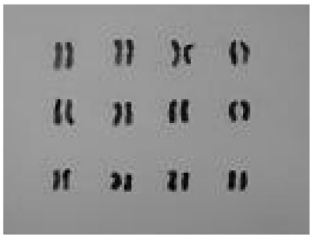


图 2 黑果枸杞染色体核型图

2.5 核型公式及分类

根据上述核型分析，得出：核型公式是  $2n=24=20m+2sm+2m(SAT)$ ，黑果枸杞染色体总长度为  $86.88\mu\text{m}$ ，长臂总长为  $49.44\mu\text{m}$ ，根据 Aeano 的计算方法，核型不对称系数(AS.K%)为  $56.9\%$ 。最长染色体与最短染色体之比是 1.74。根据 Stebbins(1971)的核型分类方法，黑果枸杞染色体核型类型为“1A”。

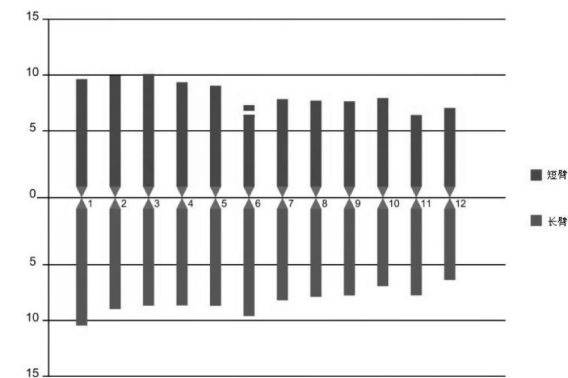


图 3 黑果枸杞染色体核型模式图

表 2 黑果枸杞染色体体积

序号	染色体宽度/ $\mu\text{m}$	染色体长度/ $\mu\text{m}$	染色体体积/ $\mu\text{m}^3$
1	1. 01	4. 39	15. 29
2	0. 89	4. 08	11. 68
3	1. 21	4. 04	15. 52
4	1. 02	3. 89	12. 18
5	1. 04	3. 84	12. 04
6	0. 91	3. 74	10. 03
7	1. 06	3. 49	10. 18
8	1. 09	3. 39	9. 82
9	0. 98	3. 35	8. 63
10	1. 03	3. 20	8. 32
11	0. 87	3. 12	6. 62
12	1. 10	2. 90	7. 27

注:黑果枸杞染色体总体积为 127. 58  $\mu\text{m}^3$ 。

2. 6 染色体体积

根据 De—vescovi 等<sup>[1]</sup> 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 127. 58  $\mu\text{m}^3$ , 黑果枸杞染色体体积在 6. 62 ~ 15. 52  $\mu\text{m}^3$  之间。

3 讨论

黑果枸杞种子为小种子, 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的比例太低, 不便进行核型

分析。

野生的黑果枸杞种子属于硬实, 直接加水放在气候箱中是无法发芽的, 试验观察其在 70  $^{\circ}\text{C}$  的水浸泡 15 min 后其发芽率比较高。通过试验首次报道了黑果枸杞染色体核型  $2n=24=20m+2sm+2m(\text{sat})$ 。

4 结论

黑果枸杞染色体数为  $2n=24$ , 总体积为 127. 58  $\mu\text{m}^3$ , 核型公式是  $2n=24=20m+2sm+2m(\text{sat})$ , 全组染色体总长度为 86. 88  $\mu\text{m}$ , 长臂总长为 49. 44  $\mu\text{m}$ , 核型不对称系数(AS. K%)为 56. 9%。

参考文献

[ 1 ] 白红进 汪河滨. 不同方法提取黑果枸杞多糖的研究[ J ]. 食品工艺科技, 2007(3): 145- 146.  
[ 2 ] 杨春树 马明呈. 不同种源野生黑果枸杞容器育苗试验[ J ]. 陕西农业科技 2007(3): 61- 64.  
[ 3 ] Li G T. Karyotype Analysis of Chlorophytum comosum Chromosome [ J ]. Salitotical Plant Science, 2005, 34(2): 33-35.  
[ 4 ] Du X, Chen M Y, Liu P. et al. Karyotype Analysis of Tow Buckwheat Variety Chromosomes[ J ]. Salitotical Plant Science, 2005, 34(2): 36-38.  
[ 5 ] Zhao Y B, Chen J F. Staining and Slide-preparing Technique of Mitotic Chromosomes and Its Use in Karyotype Determination of Cucumis melo L. [ J ]. Acta Bot. Toreat. - Occident. SIN., 2005, 25(9): 1735- 1739.  
[ 6 ] Wu G T. The application of karyotype anltsis on cytotaxonomy [ J ]. Journal of biology, 2006, 23(1): 39-42.  
[ 7 ] 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): 297-302.  
[ 8 ] 甘青梅 骆桂法. 藏药黑果枸杞开发利用的研究[ J ]. 青海科技 1997, 14(1): 17- 19.  
[ 9 ] Levan Ak, 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 ]. Edward Arnold London, 1971: 88.  
[ 11 ] De vescovi M A, Szikla O. Campartive karyotype analysis of Douglas-fir [ J ]. SilvaeGenet, 1975, 24(2- 3): 4- 12.  
[ 12 ] 陈红军 侯旭杰. 黑果枸杞中的几种营养成分的分析[ J ]. 中国野生植物资源, 2002(2): 55.

Karyotype Analysis of the Chromosome of *Lycium ruthenicum* Murr

CHEN Hai-kui CAO Jun-mai, REN Xian, HUANG Su-ping, ZHANG Shuang

(Department of Life Science, The Second Northwest Institute for Ethnic Minorities Yinchuan, Ningxia 750021, China)

**Abstract:** The chromosomes were tested and analyzed through normal method for preparing sides with the technique of microphotography. The result showed that the chromosome number of *Lycium ruthenicum* Murr was  $2n=24$ . The formula of karyotype was  $2n=24=20m+2sm+2m(\text{sat})$ . The total length of all set of chromosomes was 86. 88  $\mu\text{m}$  and the total length of long arms was 49. 44  $\mu\text{m}$ . Asymmetric coefficient of Karyotype was 56. 9%. The total volume was 127. 58  $\mu\text{m}^3$ .

**Key words:** *Lycium ruthenicum* Murr; Chromosome; Karyotype analysis