

红芪染色体数目及核型分析

李 瑜¹, 蔺海明¹, 程卫东²

1. 甘肃农业大学农学院, 兰州 730070

2. 兰州大学中西医结合研究所, 兰州 730000

摘要 红芪为多年生草本植物。以道地红芪为材料, 采用常规压片法制片, 结合显微摄影技术, 研究了红芪染色体数及其核型, 旨在为红芪种质鉴定、起源分析、物种演替、良种培育提供必要的细胞学依据。结果表明, 红芪的染色体为二倍体, 染色体数目为 14, 染色体核型公式是 $2n=14=10m+4sm$; 其中第 4 号和第 7 号染色体为近中着丝粒染色体, 其余染色体均为中间着丝粒染色体; 核型不对称系数为 60.45%, 属于“2A”型, 是一种原始类型。

关键词 红芪; 染色体数目; 核型分析

中图分类号 R281.4, Q37

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)01-0040-04

Karyotype Analysis of *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz

LI Yu¹, LIN Haiming¹, CHENG Weidong²

1. College of Agronomy, Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070, China

2. Institute of Traditional Chinese and Western Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract The *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz. is a perennial herb. No reports have been seen in literature about the karyotype analysis of *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz. To study the evolution, identification and fine seeds selection through *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz. chromosome number and karyotype, the common (slice-making) method combined with micrograph was used to obtain the chromosome number and karyotype of *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz.. The results show that the fukanensis is diploid, and the chromosome number of somatic cells is $2n=14$. The karyotype formula is $2n=2x=14=10m+4sm$, where the 4th and 7th are submetacentric, and the others are metacentric. Its index of asymmetry is 60.45%. The karyotype of *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz is of "2A" type of stebbins, and it is a primitive species. This study provides a scientific basis for identification of the *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz. and *Astragalus membranaceus*.

Keywords *Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz.; chromosome number; karyotypes analysis

0 引言

红芪(*Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz.)是甘肃省的特产地道药材之一, 在武都、岷县、宕县、舟曲、临潭、漳县、西和、礼县、武山等地野生分布较广, 产品主销甘肃、广州、福建等地并出口。红芪不是黄芪属, 而是岩黄芪属植物, 为多序岩黄芪的根。红芪的根外皮红棕色, 在植物学特征上与黄芪明显不同。过去由于研究不深且宣传误导, 常将红芪与黄芪混用或替代黄芪药用。直至 1982 年由肖培根等将红芪从黄芪中分出^[1]。《中华人民共和国药典》2000 年版(一部)规定正品

红芪为豆科植物岩黄芪属多序岩黄芪 (*Hedysarun polybotrys* Hands.-Mazz) 的干燥根^[2]。

目前很多药用植物在种间鉴别上已上升到细胞学和分子生物学水平。从细胞学角度看, 染色体是植物遗传基因的载体, 其数目、形态、结构是植物体内比较稳定的重要特征, 而染色体的数目、形态及结构的变化是导致生物体差异的原因之一, 所以将染色体分类学的方法和技术应用于中草药研究, 可为药用植物及中药材的鉴定提供比较可靠的客观指标。对五味子^[3]、桔梗^[4]、黄芪^[5]、甘草^[6]、枸杞^[7]等药用植物的核

收稿日期: 2009-11-06

基金项目: 中国博士后科学基金面上项目(20090450017)

作者简介: 李瑜, 硕士研究生, 研究方向为中药村 GAP 研究, 电子信箱: lyxyt_1314@yahoo.cn; 蔺海明(通信作者, 中国科协所属全国学会个人会员登记号: S289300044M), 研究方向为中药村 GAP 研究, 电子信箱: linhm@gsau.edu.cn

型已有研究,但对红芪,特别是甘肃地方产红芪的染色体和核型研究尚未见报道。本实验通过对红芪染色体和核型的研究,可为红芪的种质鉴定、真伪鉴别、育种材料选择及亲缘关系的确定提供细胞学依据。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

红芪种子于 2008 年 10 月采于甘肃省陇西县首阳镇;采用日本 Olympus 公司金相显微镜 Olympus BX61。

1.2 方法

1) 生根。将红芪种子置于 20~25℃ 恒温下催芽,发芽床是在培养皿中置两层湿润滤纸。均匀撒上种子,用喷壶均匀洒水,保持滤纸湿润。

2) 取样。一般的植物细胞染色体分裂高峰期都在上午 8:00—11:00 之间,所以待幼根长至 1~1.5cm 时,选取生长正常、较粗壮的根尖,于上午 09:00—10:00 之间取一批红芪根尖放入小瓶中。

3) 预处理与固定。将根尖分别置于饱和对二氯苯水溶液中处理 3h。预处理后,将红芪根尖转入卡诺固定液(无水乙醇和冰醋酸体积比为 3:1),在黑暗条件下固定 4~24h (4℃ 低温),再经 95%、85% 乙醇各处理 0.5h,最后转入 70% 乙醇中,在 4℃ 条件下保存备用。

4) 解离。取出根尖,用蒸馏水冲洗 3~5 遍后放入 1mol/L 盐酸,60℃ 分别解离 13min,然后用蒸馏水漂洗 2~3 次,每次 3min。

5) 染色与制片。取解离好的茎尖置于载玻片中央,用吸水纸吸去多余的溶液,改良石碳酸品红染色 10min,盖上盖玻片,并在盖玻片上盖上一些吸水纸。左手固定载片,右手拇指在吸水纸上对茎尖施压,或用铅笔的橡皮头轻敲盖玻片,使材料尽量分散。冰冻脱盖片,在约 40℃ 恒温箱中烘干约 1h,取出后在二甲苯中浸泡 15min,用光学树脂胶封片。用 Olympus BX61 显微镜照像,冲洗,放大分析。

1.3 核型分析方法

根据李懋学等^[8](1985 年)提出的标准,选取 50 个清晰且分散良好的分裂中期细胞,统计染色体数目,85% 以上的细胞具有恒定一致的染色体数,即为红芪的染色体数目。染色体的相对长度、臂比及类型按 Levan 等的命名系统^[9]进行。

1.3.1 选材与显微摄影

当永久制片制好后,于显微镜下选出 5 个中期分裂相中染色体数目完整、分散良好、着丝点清晰、无重叠、各条染色体处于同一平面,并且着色鲜明、形态清晰、着丝粒明显、随体明显可见的细胞(如果染色体带有随体),进行显微照相。

1.3.2 核型参数测量与计算

对放大后的照片进行测量。先在每条染色体旁边用笔作临时标记,随测量随记录,包括每条染色体的相对长度、长臂长度、短臂长度、随体有无等。对于有随体的染色体,随体的长度可以记入也可不记入染色体长度之内,但应注明。对于

每条染色体的着丝粒应平分二,记入两臂长度之内。如果染色体弯曲不能用直尺测量,可先用细线量取与染色体等长的长度,再用尺子量出线的长度。

1) 染色体相对长度=染色体长度/染色体组长度×100%。

2) 染色体相对长度系数=染色体长度/全组染色体平均长度。

3) 臂比=长臂/短臂。

1.3.3 配对排列

根据测量数据,比较染色体的大小、形状、相对长度、臂比、着丝粒指数、次缢痕的有无及位置、随体的有无等特征,将照片上的各个染色体分别剪下并进行同源染色体的配对。将配对的染色体按由大到小的顺序进行排列并编号,排列时短臂在上,长臂在下。对于等长的染色体,以短臂长的在前。将排列好的染色体组型图进行翻拍并描绘出染色体组型图。

1.4 核型分类

根据 Stebbins^[10]的按核型中最长染色体与最短染色体之比及臂比大于 2 的染色体所占比例、Arano^[11]提出的长臂总长与全组染色体总长之比的核型不对称系数(AS.K%),确定染色体核型不对称程度。

1.5 绘制染色体核型模式图

以同源染色体的平均相对长度绘制。横坐标为染色体的编号,与染色体编号相对应,纵坐标为染色体的相对长度,其中坐标 0 点为着丝点。

2 结果与分析

2.1 红芪染色体数目

根据对红芪大量根尖细胞染色体压片的观察,选择 50 个染色体分散良好的细胞观察计数^[8],其中 49 个细胞染色体数目为 14 条,占计数总数的 98%;1 个细胞染色体数目为 13 条,占计数总数的 2%。李懋学等^[8]在核型分析标准化问题中提出,85% 以上的细胞具有恒定一致的染色体数目时,即可认为是该植物的染色体数目。由图 1、图 2 可知,红芪染色体为二倍体,染色体数目为 14,染色体基数为 $x=7$ 。因此,确定红芪染色体数目为 $2n=2x=14$ 。



图 1 红芪细胞分裂中期

Fig. 1 Division cells in mitosis metaphase of *Hedysarun polybotrys* H.



4 结论

红芪的不对称系数为 60.45%, 对称程度较高, 为较为对称类型。对称性和非对称性染色体核型是比较形态学的概念。依据 Stabbins^[10]的核型分类法, 在植物界核型进化的基本趋势, 是由对称向不对称发展的, 系统演化上处于比较古老或原始的植物, 大多具有较对称的核型, 而不对称的核型则常见于衍生的或进化较高级的植物中。因此可以推测红芪在进化地位中可能处于比较原始的地位, 是多序岩黄芪属植物中较为原始的物种。

参考文献 (References)

- [1] 蔺海明, 刘学周. 中药材栽培技术[M]. 兰州: 甘肃文化出版社, 2008: 77.
Lin Haiming, Liu Xuzhou. The cultivation techniques of chinese medical materials[M]. Lanzhou: Gansu Culture Press. 2008: 77.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 249.
National Pharmacopoeia Committee. The People's Republic of China Pharmacopoeia[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 249.
- [3] 张虹, 罗鹏. 四川几种常见五味子的核型研究 [J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2): 177-180.
Zhang Hong, Luo Peng. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2000, 22(2): 177-180.
- [4] 杨九艳. 桔梗的染色体核型分析 [J]. 内蒙古医学院学报, 1998, 20(3): 185-186.
Zhang Jiuyan. *Acta Academiae Mdicinae Neimongol*, 1998, 20 (3): 185-186.

- [5] 吴松权, 王立平, 孙丽娜, 等. 黄芪染色体核型分析 [J]. 湖北农业科学, 2006, 45(5): 631-633.
Wu Songquan, Wang Liping, Sun Lina, et al. *Hubei Agricultural Sciences*, 2006, 45(5): 631-633.
- [6] 乔有名, 李宏华, 朱松涛. 黄芪和甘草染色体数目及核型分析[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2001, 3(3): 14-15.
Qiao Youming, Li Honghua, Zhu Songtao. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2001, 3(3): 14-15.
- [7] 简永兴, 马英姿, 彭映辉, 等. 枸杞的染色体核型分析 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(9): 532-534.
Jian Yongxing, Ma Yingzi, Peng Yinhui, et al. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 1997, 22(9): 532-534.
- [8] 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.
Li Maoxue, Chen Ruiyang. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1985, 3(4): 297-302.
- [9] Levan A, Fredga K, Sandberg A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. *Heredita*, 1964, 52: 201-210.
- [10] Stebbins G L. Chromosome evolution in higher plant[M]. London: Edword Arnold, 1971: 88.
- [11] Arano H. Cytological studies in subfamily carduoideae (compositae) of Japan[J]. *IX Bot Mag*, 1963, 76: 32.
- [12] 燕玲, 宛涛, 张众, 等. 膜荚黄芪与蒙古黄芪植物学特征分析[J]. 内蒙古农牧大学学报, 2001, 12(4): 71-77.
Yan Ling, Wan Tao, Zhang Zhong, et al. *Journal of Inner Mongolia Institute of Agriculture and Animal Husbandry*, 2001, 12(4): 71-77.

(责任编辑 李慧政)

本期推理小游戏答案

A 是说假话的小偷。

证明:

假设一:

假设 C 是小偷, 即 C 句句是假, 则 C 必不是推销员。B 说 C 为推销员, 那么 B 说了假话, 则 A 句句为真。

当 A 句句为真时, A 说 B 是教师, C 也说 B 是教师, C 说了真话, 矛盾。

所以 C 不是小偷。

假设二:

假设 B 为小偷, 则 B 句句是假。B 和 C 都说 C 是推销员, 则 C 说了假话, 那么 A 句句为真。

当 A 句句为真时, B 说了“A 肯定说他自己是公司职员”这句真话, 矛盾。

所以, B 不是小偷。

假设三:

假设 A 是小偷, 则 A 句句是假。

当 C 是好人时, 即 C 句句为真, 则 B 是教师, 然而 A 也说 B 是教师, A 说了真话, 矛盾, 不成立。

B 是好人时, B 句句为真, B 说 A 肯定说自己是公司职员, 而 A 也确实是这样说的, 所以 B 的话是真的。

故 A 是小偷, B 是好人, C 是从犯。

上期推理小游戏答案

李梅是编辑人员, 王梅是校对人员, 刘博是出版人员, 张扬是财务人员。

因为刘博在王梅对面, 所以在张扬对面的只能是李梅, 这样, 李梅就是编辑人员。又因刘博在王梅对面, 同时刘博右边是位女性, 所以李梅是在刘博右边。李梅在刘博右边, 王梅在刘博对面, 所以王梅在李梅右边, 题中“校对人员在李梅右边”, 故王梅就是校对人员, 李梅在刘博右边, 王梅在李梅右边, 那么张扬在王梅右边, 刘博在张扬右边。而“出版人员在财务人员右边”, 所以刘博为出版人员, 张扬为财务人员。

