

# 沙苑子的染色体数目观察及核型分析

李国军, 荆瑞勇, 王丽艳\* (黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江大庆 163319)

**摘要** [目的] 对沙苑子染色体的数目及核型进行分析研究。[方法] 根尖用0.002 ml/L 8-羟基喹啉处理3 h, 卡诺固定液固定30 min以上, 1 mol/L 盐酸水解5 min, 卡宝品红染色5 min, 然后制片。[结果] 沙苑子的染色体是二倍体, 染色体数目为16, 染色体核型公式为 $2n = 2x = 16 = 10m(2SAT) + 4sm + 2st$ , 第8号染色体有随体, 核型类型为“2B”型。

**关键词** 沙苑子; 染色体; 核型分析

中图分类号 S567.23+9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)09-03944-01

## Chromosome Number Observation and Karyotype Analysis of Semen astragali Complanati

Li Guojun et al (School of Life Science, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing, Heilongjiang 163319)

**Abstract** [Objective] The research aimed to analyze and study the chromosome number and karyotype of Semen astragali Complanati. [Method] The young roots were treated with 0.002 mol/L 8-hydroxyquinoline for 3 h and immobilized with Carnoy's fixative for 30 min. And hydrolysis with 1 mol/L HCl for 5 min and dyed with carbol fuchsin for 5 min to make the plate for observation. [Result] The chromosome of S. astragali was diploid. The chromosome number was 16 and the karyotype formula was  $2n = 2x = 16 = 10m(2SAT) + 4sm + 2st$ . The 8<sup>th</sup> chromosome of S. astragali had satellites and the karyotype multiple was “2B” type.

**Key words** Semen astragali Complanati; Chromosome; Karyotypes analysis

沙苑子(Semen astragali Complanati)为豆科植物扁茎黄芪(Astragalus complanatus R. Br)的干燥成熟种子<sup>[1]</sup>。据报道,沙苑子具有保肝、抗炎、降血脂、降血压、抗癌、镇痛、抗衰老等药理作用<sup>[2]</sup>。

该研究的目的在于确定我国目前栽培的沙苑子的染色体数目,及对染色体进行核型分析,为其鉴定、起源、演化、良种培育等提供必要的细胞学资料。

### 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 沙苑子。试材根尖染色体凭证标本玻片保存于黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院。

**1.2 试验方法** 采用常规染色体压片技术。核型分析依据李懋学等<sup>[3]</sup>的植物核型分析标准进行,染色体类型按照Levan等<sup>[4]</sup>的分类系统,核型类型参照Stebbins<sup>[5]</sup>的分类标准。

### 2 结果与分析

**2.1 染色体数目** 该试验共观察了50个根尖,选择了30个染色体分散良好、清晰可数、而且染色体数目恒定一致的分裂细胞为依据,对其染色体数目进行了观察计数,发现所有细胞染色体均为16条,占计数细胞总数的100%,因此确定沙苑子染色体数目为 $2n = 16$ (图1)。在观察的细胞中未发现非整倍体细胞,也未发现有B染色体,有一对染色体上带有中间随体。

**2.2 核型分析** 由表1、图2可见,沙苑子为二倍体,由中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm)及近端部着丝粒染色体(st)组成,其中第8对染色体上带有中间随体。最长染色体与最短染色体的比值为2.06,臂比大于2的染色体占染色体组的25%,属“2B”类型。其核型公式为: $2n = 2x = 16 = 10m(2SAT) + 4sm + 2st$ 。

### 3 讨论

据王冰等<sup>[6]</sup>报道,认为扁茎黄芪的染色体没发现有随体存在,该研究发现第8对染色体上有中间随体存在。分析可能是因为其观察的中期染色体缩的较短,不容易观察到次缢痕的存在,因此观察不到随体。



图1 沙苑子染色体数目

Fig.1 The chromosome number of S. astragali

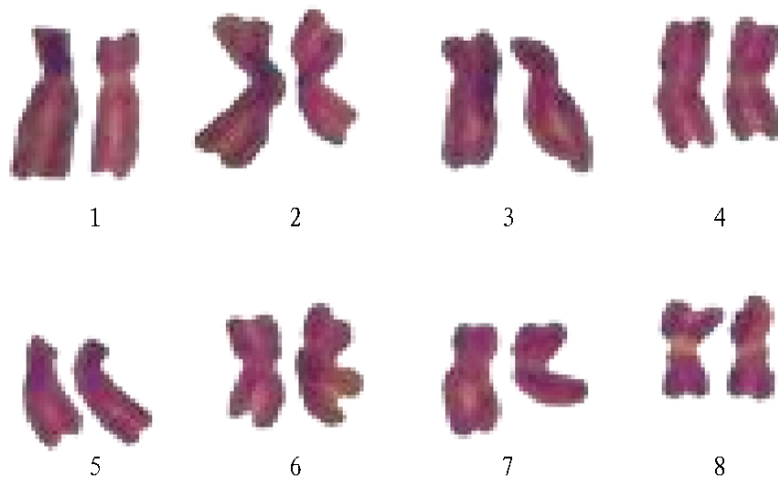


图2 沙苑子的核型

Fig.2 The karyotype of S. astragali

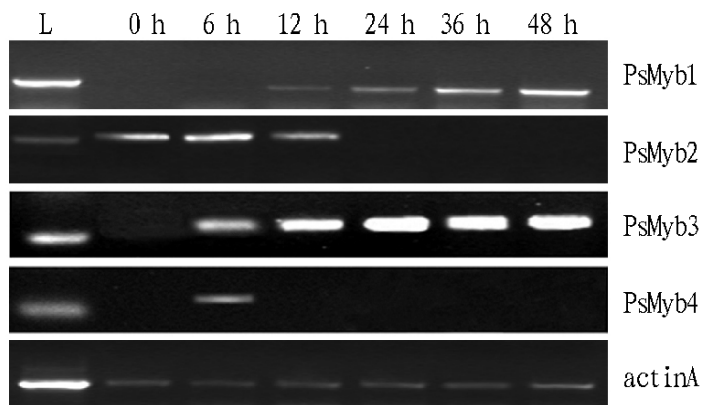
表1 沙苑子的核型参数

Table 1 The karyotype parameters of Semen astragali Complanati

染色体序号 Serial number of chromosome	相对长度 Relative length	臂比值(长臂/短臂) Arm ratio (long arm/short arm)	染色体类型 Chromosome types
1	11.55+5.63=17.18	2.05	sm
2	8.59+6.69=15.28	1.28	m
3	8.88+4.78=13.66	1.86	sm
4	6.90+6.34=13.24	1.09	m
5	8.55+2.84=11.39	3.01	st
6	6.25+5.71=11.96	1.10	m
7	7.00+4.40=11.40	1.59	m
8*	4.20+4.12=8.32	1.02	m(SAT)

注:\* 随体长度不计算在内。

Note: \* indicated that the satellite length was not calculated.



注:L 为分子量标准(250 bp);0 h 表示未接种疫霉的培养产物的表达;6~48 h 表示在大豆叶片上接种大豆疫霉6、12、24、36 和48 h 后 Myb 基因的表达;actinA 作对照;基因对应的蛋白质编号为:PsMyb1, 121308;PsMyb2, 142552;PsMyb3, 134946;PsMyb4, 131353。

Note:L, Molecular weight standard;0 h, Expression of culture products with vaccination;6-48 h, Expression of Myb gene after inoculating soybean vaccine on soybean leaves 6,12,24,36 and 48 h respectively;actinA is taken as control. The protein code of genes are as follows: PsMyb1, 121308; PsMyb2, 142552; PsMyb3, 134946; PsMyb4, 131353.

图3 Myb 基因的 RT-PCR 分析

### Fig.3 RT-PCR analysis of the expression of Myb genes

以调节生物的次生代谢<sup>[9]</sup>、细胞分裂与形成<sup>[10]</sup>、致病性<sup>[11]</sup>、孢子形成与萌发<sup>[12]</sup>等生理功能。大豆疫霉游动孢子、休止孢萌发、侵染和菌丝数据库中均有 Myb 因子,说明 Myb 可能与以上几个阶段的发育有关。

有研究表明,转录因子 NFS 和 NFC 控制马铃薯晚疫病菌孢子囊中的原生质割裂<sup>[13]</sup>。大豆疫霉 C2H2 类锌指蛋白转录因子(DV738013)的干扰突变体完全丧失致病性,说明转录因子在调控疫霉菌发育与致病性中起着重要作用<sup>[14]</sup>。大豆疫霉 Myb 基因家族具有至少 50 个 Myb 基因,但对其功能的研究较少<sup>[15]</sup>。该研究对大豆疫霉的 4 个 Myb 基因在大豆疫霉与大豆互作过程中的表达模式进行了分析,发现其在

不同互作时段的表达量不同,但其代谢途径有待于进一步研究。随着大豆疫霉遗传转化体系的逐步完善及 TILLING 等基因干涉技术的发展,大豆疫霉 Myb 因子的生理功能及其在大豆疫霉致病过程中的作用机理将得到进一步研究。

### 参考文献

- [1] TYLER B M. Genetics and genomics of the oomycete-host interface[J]. *Trends Genet*, 2001, 17:611-614.
- [2] THOMPSON MA, RAMSAY R G. MYB: an old oncogene with new roles[J]. *Biessays*, 1995, 17:341-350.
- [3] STRACKE R. The R2R MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4:447-456.
- [4] CAJENDRAN K, GONZALES M D, FARMER A, et al. Phytophthora functional genomics database (PFGD): functional genomics of phytophthora plant interactions[J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34:465-470.
- [5] WRAITER J A, ANDERSON T R, ARSYAD D M, et al. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean producing countries in 1998[J]. *Can J Plant Pathol*, 2001, 23:115-117.
- [6] COVERS F, GJZEN M. Phytophthora genomics: the plant destroyers' genome decoded[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19:1295-1301.
- [7] TYLER B M, TRIPATHY S, ZHANG X, et al. Phytophthora genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis[J]. *Science*, 2006, 313:1261-1266.
- [8] JUDELSON H S. The genetics and biology of *Phytophthora infestans*: Modern approaches to a historical challenge[J]. *Fungal Genet Biol*, 1997, 22:65-76.
- [9] HARDHAMA R. The cell biology behind *Phytophthora* pathogenicity[J]. *Australian Plant Pathol*, 2001, 30:91-98.
- [10] VAN WP, DEJ AJ, JUDELSON H S, et al. The ipi1 gene of *Phytophthora infestans* is highly expressed in invading hyphae during infection[J]. *Fungal Genet Biol*, 1998, 23:126-138.
- [11] TYLER B M. Molecular basis of recognition between *Phytophthora* pathogens and their host[J]. *Ann Rev Phytopathol*, 2002, 40:137-167.
- [12] JUDELSON H S, BLANCO F A. The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3:47-58.
- [13] TAN S, KIM K S, JUDELSON H S. A cluster of NF transcriptional regulators with divergent patterns of spore-specific expression in *Phytophthora infestans*[J]. *Fungal Genet Biol*, 2005, 42:42-50.
- [14] CHEN X R, SHEN G, WANG Y L, et al. Identification of *Phytophthora sojae* genes upregulated during the early stage of soybean infection[J]. *FEMS Micro Letters*, 2007, 269:280-288.
- [15] WANG Z Y, WANG Y C, CHEN X R, et al. Differential screening reveals genes differentially expressed in low and high virulence near-isogenic *Phytophthora sojae* lines[J]. *Fungal Genet Biol*, 2006, 43:826-839.

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典[M]. 广州: 广东科技出版社, 1995:155.
- [2] 张卫明, 钱学射, 顾龚平. 沙苑子的保健功效与药膳[J]. *中国野生植物资源*, 2004, 23(5):7-8.
- [3] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型的标准化问题[J]. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4):297-302.
- [4] LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG A A. Nonrandomness for centromeric position of chromosomes[J]. *Hereditas*, 1964, 52:201-220.
- [5] STEBBINS G L. Chromosome evolution in higher plants[M]. London: Academic Press, 1971:87-123.
- [6] 王冰, 白云, 陈连庚. 扁茎黄芪染色体的核型分析[J]. *中药材*, 2002, 25(8):541-543.

(上接第3944页)

其报道的核型公式为:  $2n = 2x = 16 = 10m + 6sm$ , 仅由中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm)组成, 属“2A”类型。该研究结果核型公式为:  $2n = 2x = 16 = 10m(2SAT) + 4sm + 2st$ , 除中部着丝粒染色体(m)和近中部着丝粒染色体(sm), 还有近端部着丝粒染色体(st), 属“2B”类型。

植物染色体的数目与形态是其最稳定的细胞学特征之一, 对沙苑子染色体数目和形态的精确研究在其良种培育、驯化及生药鉴定等方面具有重要价值。