

## 唐古特大黄五个居群的核型\*

胡延萍<sup>1,2</sup>, 谢小龙<sup>1,2</sup>, 温泉<sup>3</sup>, 赵旭东<sup>1,2</sup>, 王莉<sup>1</sup>, 李毅<sup>1\*\*</sup>

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049;  
3 青海湟川中学, 青海 西宁 810008)

**摘要:** 报道了唐古特大黄 (*Rheum tanguticum*) 5 个居群的染色体数目和核型, 结果如下: 大武、柯曲、达卡三个居群均为  $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$ ; 吉卡居群为  $2n = 2x = 22 = 20m + 2M$ ; 松潘居群为  $2n = 2x = 22 = 2sm + 18m + 2M$ 。大武、柯曲和吉卡居群核型类型属于 1A 型, 达卡和松潘居群属于 2A 型。Q 型聚类分析结果表明, 5 个居群在核型上存在一定分化, 这可能是由不同的生境造成的。

**关键词:** 唐古特大黄; 核型; Q 型聚类分析

中图分类号: Q 942

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700 (2007) 04-429-05

## Studies on Karyotypes of Five Populations of *Rheum tanguticum* (Polygonaceae)\*

HU Yan-Ping<sup>1,2</sup>, XIE Xiao-Long<sup>1,2</sup>, WEN Quan<sup>3</sup>, ZHAO Xu-Dong<sup>1,2</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, LI Yi<sup>1\*\*</sup>

(1 Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Qinghai Huangchuan Middle School, Xining 810008, China)

**Abstract:** The chromosome numbers and karyotypes of *Rheum tanguticum* in 5 populations were firstly reported in this paper. The results are as follows: karyotype formulae of DW, KQ and DK populations are all  $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$ ; JK population is  $2n = 2x = 22 = 20m + 2M$ ; SP population is  $2n = 2x = 22 = 2sm + 18m + 2M$ . The karyotypes of DW, KQ and JK populations belong to 1A type while DK and SP populations belong to 2A type. The result of Q cluster analysis of five populations shows that the karyotypes of 5 populations differentiate in some degree, which may be caused by different habitats.

**Key words:** *Rheum tanguticum*; Karyotype; Q cluster analysis

唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.), 又名鸡爪大黄, 为蓼科 (Polygonaceae) 大黄属 (*Rheum* L.) 多年生草本植物, 分布在西藏东部、青海、甘肃, 生于海拔 1 700 ~ 4 300 m 山坡林缘、灌丛及半阴坡石堆中 (中国科学院西北高原生物研究所, 1991), 是中国特有种 (李安仁, 1998; 吴玉虎, 2004)。其干燥根及根茎入药, 性寒, 味苦; 具有泻热通肠, 凉血解毒, 逐瘀通经之功效; 为“正品大黄”之一 (国

家药典委员会, 2005)。

迄今为止, 对唐古特大黄的药用化学成分的提取, HPLC 指纹图谱 (郑俊华, 1991; 曹纬国等, 2004; 张德等, 2005; 李磊等, 2005), 有效成分的药理作用及临床应用 (李淑娟等, 2005) 和组织培养 (董相军等, 2004; 徐文华等, 2004) 进行了大量研究。有关唐古特大黄居群染色体核型未见报道, 本试验从细胞学水平对青海省果洛州及四川省松潘县不同居群的唐古特大黄核型进

\* 基金项目: 2003 年国家科学技术部农业科技成果转化资金项目 编号: 03EFN216300247

\*\* 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: liyi@nwipb.ac.cn; Tel: 13709755921

收稿日期: 2006-10-27, 2007-05-13 接受发表

作者简介: 胡延萍 (1981-) 女, 硕士研究生, 从事植物生物技术研究。

行研究,并探讨了居群间的遗传差异,为唐古特大黄的起源、演化、良种培育、系统分类及进一步的分子生物学研究提供必要的细胞学证据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验材料来源见表 1,凭证标本存于中国科学院西北高原生物研究所生物技术室。

### 1.2 方法

1.2.1 核型分析方法 实验采用常规压片方法(朱激, 1982; 李懋学和张赞平, 1996)。选取纯净的唐古特大黄种子于室温下用蒸馏水浸泡 3 h, 0.1% 的高锰酸钾灭菌 10 min, 蒸馏水冲洗, 室温下培养萌发, 当根尖长至 1 cm 左右时, 于上午 8:30~9:30 取材, 用冰水混合物处理 24 h 后, 卡诺固定液(无水乙醇 冰醋酸 = 3:1)固定 24 h, 蒸馏水冲洗后用 1 mol/L 盐酸在 60 °C 恒温下解离 10 min, 改良石炭酸品红染色, 45% 醋酸压片, 镜检。染色体核型分析按李懋学和陈瑞阳(1985)的标准, 核型分类以 Stebbins (1971) 的方法进行。采用 Arano (1963) 的核型不对称系数 (As. K%) 来确定染色体核型不对称程度(虞泓和黄瑞复, 1998; 韩春艳和孙卫邦, 2005)。着丝粒位置按 Levan 等 (1964) 标准计算。分析时每个居群至少取 5 个染色体分散良好的细胞进行测量计算, 每个居群材料的染色体计数至少观察 100 个完整的中期分裂相。

1.2.2 聚类分析 以每个居群的 11 对染色体相对长度和臂比值为变量, 原始数据用 SPSS11.0 (卢纹岱, 2002) 统计软件计算两两居群之间的欧氏距离平方系数, 并用组内连接 (Within groups linkage) 法进行 Q 型聚类(史刚荣, 2003; 高进红等, 2005), 得出树状图(图 2)。

## 2 结果与分析

### 2.1 核型分析

#### 2.1.1 大武居群(表 2、表 3; 图 1: A, A)

染色体数为  $2n = 22$ , 核型公式为  $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$ , 为二倍体居群。其中第 11 对为亚中部着丝粒染色体, 其余均为中部着丝粒染色

体。最长与最短的染色体比值为 1.70, 不对称性核型为 Stebbins-1A 型。染色体相对长度变化范围为 8.47~10.03。核型不对称系数为 54.86。

#### 2.1.2 柯曲居群(表 2、表 3; 图 1: B, B)

染色体数为  $2n = 22$ , 核型公式为  $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$ , 为二倍体居群。其中第 10 对为亚中部着丝粒染色体, 其余均为中部着丝粒染色体。最长与最短的染色体比值为 1.64, 不对称性核型为 Stebbins-1A 型。染色体相对长度变化范围为 8.48~10.06。核型不对称系数为 54.94。

#### 2.1.3 达卡居群(表 2、表 3; 图 1: C, C)

染色体数为  $2n = 22$ , 核型公式为  $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$ , 为二倍体居群。其中第 10 对为亚中部着丝粒染色体, 其余均为中部着丝粒染色体。最长与最短的染色体比值为 1.73, 臂比值大于 2 的染色体有 1 对, 不对称性核型为 Stebbins-2A 型。染色体相对长度变化范围为 7.81~9.71。核型不对称系数为 55.81。

#### 2.1.4 吉卡居群(表 2、表 3; 图 1: D, D)

染色体数为  $2n = 22$ , 核型公式为  $2n = 2x = 22 = 20m + 2M$ , 为二倍体居群。其中第 8 对为正中部着丝粒染色体, 其余均为中部着丝粒染色体。最长与最短的染色体比值为 1.60, 不对称性核型为 Stebbins-1A 型。染色体相对长度变化范围为 7.88~10.63。核型不对称系数为 54.80。

#### 2.1.5 松潘居群(表 2、表 3; 图 1: E, E)

染色体数  $2n = 22$ , 核型公式为  $2n = 2x = 22 = 2sm + 18m + 2M$ , 为二倍体居群。其中第 7 对为亚中部着丝粒染色体, 第 2 对为正中部着丝粒染色体, 其余均为中部着丝粒染色体。最长与最短的染色体比值为 1.67, 臂比值大于 2 的染色体有 1 对, 不对称性核型为 Stebbins-2A 型。染色体相对长度变化范围为 8.06~10.42。核型不对称系数为 55.16。

表 1 材料来源

Table 1 Source of materials

居群 Population	采集地 Locality	海拔 Altitude (m)	经纬度 Latitude and longitude	凭证标本 Voucher
DW	青海大武 Dawu, Qinghai	3960	E: 100°29'20" N: 34°21'27"	200508dw
KQ	青海柯曲 Kequ, Qinghai	4021	E: 99°48'35" N: 33°48'41"	200509kq
DK	青海达卡 Daka, Qinghai	3973	E: 100°5'50" N: 32°58'33"	200509dk
JK	青海吉卡 Jika, Qinghai	4018	E: 100°17'6" N: 32°50'58"	200509jk
SP	四川松潘 Songpan, Sichuan	3413	E: 103°42'13" N: 32°59'7"	200409sp



图 1 唐古特大黄 5 个居群核型

A, A . 大武居群; B, B . 柯曲居群; C, C . 达卡居群; D, D . 吉卡居群; E, E . 松潘居群

Fig. 1 Karyotypes of five populations of *R. tanguticum*

A, A . DW population; B, B . KQ population; C, C . DK population; D, D . JK population; E, E . SP population

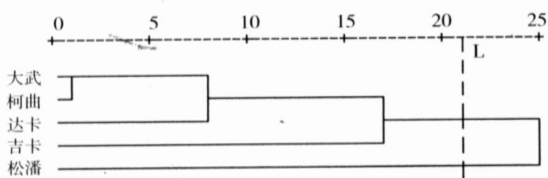


图 2 唐古特大黄居群核型 Q 型聚类图 (欧氏距离平方系数 组内连接法)

Fig. 2 Dendrogram of Q analysis for karyotypes of *R. tanguticum* populations (Squared Euclidean distance, within-groups linkage)

### 2.2 居群染色体核型 Q 型聚类分析

聚类分析是将一批样品，按照它们性质上亲

疏远近的程度进行分类的一种多元统计方法。通过分析得到的树状图直观的显示居群之间的遗传分化情况及亲缘关系的远近。图 2 表明，唐古特大黄 5 个居群在结合线 L = 21 处聚为 2 类：其中大武，柯曲，达卡和吉卡居群聚为一类；四川松潘居群单独聚为一类，其核型不对称性较其它 4 居群大，说明它也是比较进化的居群。

### 3 讨论

唐古特大黄 5 个居群体细胞染色体数目稳定，为  $2n = 22$  (图 1)，其染色体基数  $x = 11$  与已报道的大黄属其它植物一致 (Darlington and Janaki-Ammal, 1945; Darlington and Wylie, 1955)。

表 2 唐古特大黄 5 居群的染色体参数

Table 2 Parameters of chromosomes in five populations of *R. tanguticum*

居群 Population	序号 No.	相对长度 (%) Relative length	臂比值 Arm ratio	类型 Type	居群 Population	序号 No.	相对长度 (%) Relative length	臂比值 Arm ratio	类型 Type
DW	1	10.03 = 4.78 + 5.25	1.10	M	KQ	1	10.06 = 4.77 + 5.29	1.11	m
	2	9.39 = 4.22 + 5.17	1.23	M		2	9.68 = 4.53 + 5.16	1.15	m
	3	9.35 = 4.40 + 4.95	1.12	m		3	9.59 = 4.18 + 5.41	1.30	m
	4	9.26 = 4.55 + 4.71	1.04	m		4	9.19 = 4.26 + 4.93	1.16	m
	5	9.20 = 3.88 + 5.33	1.39	m		5	9.05 = 3.86 + 5.20	1.35	m
	6	9.06 = 3.98 + 5.09	1.28	m		6	9.02 = 4.47 + 4.55	1.02	m
	7	8.95 = 4.34 + 4.60	1.06	m		7	8.90 = 4.02 + 4.88	1.21	m
	8	8.87 = 3.56 + 5.31	1.51	m		8	8.81 = 4.30 + 4.52	1.05	m
	9	8.73 = 4.07 + 4.66	1.14	m		9	8.71 = 3.99 + 4.72	1.19	m
	10	8.69 = 4.33 + 4.36	1.01	m		10	8.51 = 3.17 + 5.34	1.72	sm
	11	8.47 = 3.06 + 5.43	1.81	sm		11	8.48 = 3.53 + 4.95	1.41	m
DK	1	9.71 = 3.72 + 5.99	1.61	m	JK	1	10.63 = 5.03 + 5.61	1.12	m
	2	9.43 = 4.00 + 5.43	1.36	m		2	9.77 = 4.31 + 5.46	1.27	m
	3	9.34 = 4.20 + 5.14	1.23	m		3	9.66 = 4.73 + 4.93	1.04	m
	4	9.27 = 4.30 + 4.97	1.16	m		4	9.43 = 3.93 + 5.50	1.40	m
	5	9.18 = 4.41 + 4.77	1.09	m		5	9.25 = 4.31 + 4.94	1.15	m
	6	9.11 = 4.22 + 4.89	1.17	m		6	9.12 = 3.87 + 5.25	1.36	m
	7	8.97 = 4.39 + 4.57	1.03	m		7	8.93 = 3.44 + 5.49	1.62	m
	8	8.96 = 4.38 + 4.57	1.04	m		8	8.91 = 4.45 + 4.45	1.00	M
	9	8.95 = 4.38 + 4.56	1.05	m		9	8.38 = 3.87 + 4.51	1.17	m
	10	8.28 = 2.67 + 5.61	2.11	sm		10	8.01 = 3.63 + 4.39	1.21	m
	11	7.81 = 3.51 + 5.30	1.50	m		11	7.88 = 3.62 + 4.26	1.18	m
SP	1	10.42 = 5.09 + 5.32	1.05	m					
	2	9.76 = 4.88 + 4.88	1.00	M					
	3	9.75 = 4.43 + 5.32	1.22	m					
	4	9.73 = 4.65 + 5.08	1.08	m					
	5	9.24 = 3.71 + 5.53	1.50	m					
	6	8.80 = 3.43 + 5.38	1.63	m					
	7	8.72 = 2.71 + 6.02	2.22	sm					
	8	8.68 = 4.08 + 4.60	1.14	m					
	9	8.62 = 3.82 + 4.80	1.26	m					
	10	8.23 = 3.53 + 4.71	1.34	m					
	11	8.06 = 3.54 + 4.52	1.28	m					

表 3 唐古特大黄居群核型比较

Table 3 Karyotypic comparison of *R. tanguticum* populations

居群 Population	核型公式 Karyotype formula	染色体长度比 Ratio (largest/smallest)	相对长度范围 Relative length range	不对称系数 As. K/ %	类型 Type
DW	2n = 22 = 2sm + 20m	1.70	8.47 ~ 10.03	54.86	1A
KQ	2n = 22 = 2sm + 20m	1.64	8.48 ~ 10.06	54.94	1A
DK	2n = 22 = 2sm + 20m	1.73	7.81 ~ 9.71	55.81	2A
JK	2n = 22 = 20m + 2M	1.60	7.88 ~ 10.63	54.80	1A
SP	2n = 22 = 2sm + 18m + 2M	1.67	8.06 ~ 10.42	55.16	2A

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、特化的以及比较进化的植物类群中 (Stebbins, 1971; 邵剑文等, 2004)。本研究中唐古特大黄居群的核型为 1A 或 2A 型，属于比较原始的种类。

染色体变异的原因与物种广布和生境多样性有关 (Tzanoudakis, 1983; 王琼等, 2001)。对唐古特大黄居群染色体核型的分析发现，唐古特大黄居群间在同源染色体的相对长度、同源染色体臂比值等方面存在一定程度的分化和变异。其中，松潘居群与青海 4 个居群差异较大，亲缘关系较远，这可能是由于松潘海拔较低、与其它 4

居群在地理位置上相距较远 (表 1) 造成的。

本实验中唐古特大黄不同居群核型存在一定差异, 这表明从细胞学水平来探索唐古特大黄的起源进化是一种行之有效的手段。

### 【参 考 文 献】

- 中国科学院西北高原生物研究所, 1991. 藏药志 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 83
- 朱熹, 1982. 植物染色体与染色体技术 [M]. 北京: 科学出版社, 42—92
- 李懋学, 张赞平, 1996. 作物染色体及其研究技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 23—37
- 国家药典委员会, 2005. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 17—18
- Arano H, 1963. Cytological studies in subfamily Cardioideae (Compositae) of Japan IX [J]. *Bot Mag (Tokyo)*, **76**: 32—39
- Cao WG (曹纬国), Liu ZQ (刘志勤), Shao Y (邵云) *et al.* 2004. Determination of four anthraquinone derivatives in trueborn *Rheum tanguticum* of Qinghai province [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), **24** (11): 2140—2142
- Darlington CD, Janki-Ammal EK, 1945. Chromosome Atlas of Cultivated Plants [M]. London: Printed in Great Britain at the University Aberdeen, 98—99
- Darlington CD, Wylie AP, 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants [M]. 2nd ed. London: Printed in Great Britain at the University Aberdeen, 74
- Dong XI (董相军), Wang L (王莉), Xu WH (徐文华) *et al.* 2004. Plantlet regeneration from dormancy buds of *Rheum tanguticum* [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **40** (4): 457
- Gao JH (高进红), Xing SY (邢世岩), Jiang YZ (姜岳忠) *et al.* 2005. Chromosome karyotype analysis of *Ginkgo* ornamental cultivars [J]. *J Shandong Agric Univ* (Natural Science) (山东农业大学学报 (自然科学版)), **36** (1): 19—24
- Han CY (韩春艳), Sun WB (孙卫邦), 2005. Karyotype of the 4 populations of *Trigonobalanus doichangensis* (Fagaceae), A rare and endangered plant in China [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **27** (1): 95—100
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, **52**: 201—220
- Li AR (李安仁), 1998. *Rheum* [A]. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, **25**: 184—186
- Li L (李磊), Liu R (刘瑞), Yuan B (袁波) *et al.* 2005. Fingerprints analysis of Radix et Rhizoma Rhei by HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), **40** (17): 1302—1305
- Li MX (李懋学), Chen RY (陈瑞阳), 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), **3** (4): 297—302
- Li SJ (李淑娟), Dong XH (董晓华), Wu HX (武海霞) *et al.* 2005. Review of Rhubarb and pharmaceutical effects of its effective constituents [J]. *Medical Recapitulate* (医学综述), **11** (1): 76—78
- Lu WD (卢纹岱), 2002. SPSS for Windows Statistic Analysis (SPSS for Windows 统计分析) [M]. 2nd ed. Beijing: Publishing House of Electronics Industry
- Shao JW (邵剑文), Li XH (李晓红), Han L (韩露) *et al.* 2004. A study on karyotypes of five Species in *Lysimachia* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **26** (4): 427—433
- Shi GR (史刚荣), 2003. Cluster analysis for karyotype of *Astragalus penduliflorus* Lam. Complex (Leguminosae) [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), **23** (2): 220—223
- Stebbins CL, 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants [M]. London: Edward Aronld LTD, 87—93
- Tzanoudakis D, 1983. Karyotypes of the taxa of *Allium* Section *Scorodon* from Greece [J]. *Caryologia*, **36** (3): 259—284
- Wang Q (王琼), Su ZX (苏智先), Song HX (宋会兴) *et al.* 2001. The relationship between chromosome number and its variation in the plants and habitats [J]. *Chin J Ecol* (生态学杂志), **20** (5): 8—11
- Wu YH (吴玉虎), 2004. The Floristic Characteristics in the Region of Bayan Har Mountains [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **26** (6): 587—603
- Xu WH (徐文华), Chen GC (陈桂琛), Li Y (李毅) *et al.* 2004. Studies on tissue culture technique of *Rheum tanguticum* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), **24** (9): 1734—1738
- Yu H (虞泓), Huang RF (黄瑞复), 1998. Study on karyotypical variation and differentiation in populations of *Pinus yunnanensis* Franch [J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), **36** (3): 222—231
- Zhang D (张德), Cheng SP (程树平), Han HH (韩海洪) *et al.* 2005. Extraction of Rhapontinum from the roots of *Rheum tanguticum* Maxim. by Ultrasonic Wave [J]. *Nat Prod R & D* (天然产物研究与开发), **17** (2): 217—219
- Zheng JH (郑俊华), 1991. Analysis of chemical constituents of the genus *Rheum* [J]. *J Beijing Med Univ* (北京医科大学学报), **23** (1): 51—53