

Karyotype Analysis of 3 Varieties of *Carthamus tinctorius* L.

Shuai Yue, Hong Liu, Gang Li, Rui Qin, Hanyu Gong*

Engineering Research Center of Protection and Utilization for Biological Resources in Minority Regions,
South-Central University for Nationalities, Wuhan
Email: adolfyue@126.com, *gonghanyu@mail.scuec.edu.cn

Received: Mar. 1st, 2013; revised: Mar. 14th, 2013; accepted: Mar. 24th, 2013

Copyright © 2013 Shuai Yue et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Karyotypes of 3 different *Carthamus tinctorius* L. varieties (Xinjiang, Kuche; Anhui; Yunhong 3#-XJ, AH, YH3#) were investigated. The number of chromosomes in *Carthamus tinctorius* L. was calculated by the method of flame-dyeing protocol after enzyme digestion of cell wall was used to prepare chromosome. Results showed that the number of chromosomes of XJ was 24. Its Karyotype was formulated as $2n = 2x = 24 = 22sm + 2st$ which indicated Stebbins' 3B type. As. K% = 68.82%. The number of chromosomes of AH was 24. Its Karyotype was formulated as $2n = 2x = 24 = 18sm + 4m + 2st$ which indicated Stebbins' 2B type. As. K% = 67.57%. The number of chromosomes of YH3# was 24. Its Karyotype was formulated as $2n = 2x = 24 = 10m + 10sm + 2st + 2m$ which indicated Stebbins's 2B type, As. K% = 60.24%.

Keywords: *Carthamus tinctorius* L.; Chromosome; Karyotype

红花三个品种的核型比较分析

岳 帅, 刘 虹, 李 刚, 覃 瑞, 龚汉雨*

中南民族大学南方少数民族地区生物资源保护及综合利用工程中心, 武汉
Email: adolfyue@126.com, *gonghanyu@mail.scuec.edu.cn

收稿日期: 2013年3月1日; 修回日期: 2013年3月14日; 录用日期: 2013年3月24日

摘 要: 对3个品种的红花(新疆库车无刺红花、安徽红花、云红3号红花)的核型进行研究。采用酶解去壁低渗火焰干燥法进行染色体制片确定其染色体数目。结果表明: 新疆库车无刺红花细胞染色体数目为24条, 核型公式为 $2n = 2x = 24 = 22sm + 2st$, 属于3B型。核型不对称系数为68.82%。安徽红花的染色体数目为 $2n = 24$ 。核型公式为 $2n = 2x = 24 = 18sm + 4m + 2st$ 。属于2B类型, 不对称系数为67.57%。云红3号红花染色体数目为 $2n = 24$ 。核型公式为 $2n = 2x = 24 = 10m + 10sm + 2st + 2M$ 。属于2B类型, 核型不对称系数为60.24%。

关键词: 红花; 染色体; 核型

1. 引言

红花, 菊科红花属, 学名 *Carthamus tinctorius* L., 双子叶植物, 木兰植物门, 木兰纲, 菊亚纲, 菊目,

*通讯作者。

菊科^[1]。红花是一种古老的经济作物, 在古埃及已有4000年的历史, 在我国有2100多年的栽培和药用史^[2]。现在公认的红花属有20~25个种, 红花是红花属中唯一的栽培种, 在黑龙江、辽宁、吉林、河北、山

西、内蒙古、陕西、甘肃、青海、山东、浙江、贵州、四川、西藏，特别是新疆都广有栽培^[1]。红花有效药用成分为红花黄色素和红花红色素，具有活血通经、去瘀疗伤、宣毒透疹等功效。临床上常用来治疗子宫充血、心血管、血栓形成等疾病，也用作止痛，消炎剂^[2-4]。红花对人体有抗癌、杀菌、解毒、降压及护肤的功效^[2-4]，在医药特别是民族药业中得到了广泛的应用。红花种子富含不饱和脂肪酸，是高质食用油，尤其是亚油酸含量很高，且油质好，堪称“亚油酸之王”^[5]，在食品工业和化工方面常用来制作油漆、染料、食品添加剂、高档化妆品、纺织品的染色剂和饲料等。此外，红花还具有适应性强、抗旱、抗寒、耐盐碱和贫瘠等生物学特点^[6]，使这一经济用途广泛的作物具有较强的基础研究价值，为更好地开发利用红花，有必要对其进行系统进化研究，为深入研究其生物学机理和进一步开发其经济价值奠定基础。染色体研究可以为植物分类和进化研究提供有价值的信息^[7]。不同物种的染色体有着各自特定的形态结构(包括染色体的长度、着丝点位置、臂比、随体大小等)特征，而且这种形态特征是相对稳定的。因此，染色体核型分析是植物种质资源遗传学研究的重要内容，是物种进化关系和系统分类的重要参考标准^[8]。植物的染色体数目与核型是对染色体特征进行定性和定量描述的一种基本方法，对研究植物系统演化、物种之间的亲缘关系、起源、进化与分类，远缘杂交及遗传工程中的染色体鉴别具有重要意义^[9]。近年来，国内关于红花染色体核型分析的研究已有报道^[10-12]，但均采用常规制片方法，且未报道红花的具体品种，分析的结果也不一致。本实验采用酶解法，相对于常用的酸解法，酶解法对细胞的处理更加温和，对染色体形态的影响较小，同时使染色体周围不带有或带有少量的细胞质，有利于后期对染色体的观察。另外，我们采用 DAPI 染色，使得在荧光显微镜下观察染色体时有极高的识别率。

本文对三个品种的红花进行常规核型分析，以期以后红花属的起源和演化、鉴定和系统分类、遗传育种、种质资源保存及利用、确立红花标准核型、基因和分子水平的研究提供细胞学资料。

2. 实验材料

材料为中国农科院油料所严兴初老师提供的红

花种子(新疆库车无刺红花、安徽红花、云红 3 号)。

3. 实验方法

将红花种子埋在盛有沙土的小花盆中，保持土壤湿润。在 30℃ 的培养箱中培养 2 天，取出已长出根尖的种子，用蒸馏水洗净泥土，然后截取长约 5 mm 的根尖，立即置于新鲜配制的卡诺氏固定液(V 甲醇:V 冰乙酸 = 3:1)存放于 0℃ 的冰箱固定 24 h。固定后的材料用无菌水洗 5 次，再用 0.075 M KCL 低渗 30 min，然后加入等量的 2% 果胶酶和 2% 纤维素酶于 28℃ 酶解 2 h。酶解后加入新鲜配制的固定液固定 5 min，再用无菌水洗 5 次，最后火焰干燥法制片。制好的片子用 OLYMPUS BX61 显微镜镜检，选取染色体分散较好的细胞，再用 Case Data Manager Expo 2.1.1 图象系统 Cool-1300QS CCD(VDS, Germany)拍摄图片。最后使用 FISH View EXPO 2.0 软件处理图片并进行核型分析，SPOT Advanced 软件测量染色体长度。核型分析参照李懋学等(1985)确定的标准^[12]，染色体的相对长度、臂比及类型按 Leven 等(1964)命名系统^[13]进行分析，核型类型参照 Stebbins(1971)标准^[14]划分，核型不对称系数(As. K%)的计算用 Arano^[15]的方法。

4. 结果与分析

实验结果表明：新疆库车无刺红花的染色体数目为 $2n = 24$ ，12 对染色体中除了第 12 号染色体为近端部着丝粒外其它都为近中部着丝粒。染色体相对长度变化范围为 5.46~11.30，臂比变化范围为 1.95~3.07，核型公式为 $2n = 2x = 24 = 22sm + 2st$ ，最长染色体和最短染色体之比为 2.07。其中臂比值大于 2:1 的染色体占全部染色体的比例为 83%，属于 3B 类型。按照 Aranol 的核型不对称系数(长臂总长/染色体组总长)公式计算(As. K%)为 68.82%，观察到 2 对随体(见表 1，图 1: a1, a2)。

安徽红花的染色体数目为 $2n = 24$ ，12 对染色体中除了第 2 号为近端部着丝粒、第 8 号和第 12 号为中部着丝粒，其它都为近中部着丝粒。染色体相对长度变化范围为 6.41~11.23，臂比变化范围为 1.23~3.39，核型公式为 $2n = 2x = 24 = 18sm + 4m + 2st$ ，最长染色体和最短染色体之比为 1.75。其中臂比大于 2:1 的染色体占全部染色体比例为 50%，属于 2B 类型。核型

红花三个品种的核型比较分析

Table 1. The parameters of chromosomes in 3 varieties in *Carthamus tinctorius* L.
表 1. 三个品种红花的染色体核型分析数据表

品种 Varieties	染色体编号 Chromosome Pair No.	相对长度 Relative Length	臂比 Arm Ratio	类型 Classification
新疆库车无刺红花	1	11.30	1.97	sm
	2	9.30	2.55	sm
	3	9.22	2.49	sm
	4	8.47	2.17	sm
	5	8.28	2.19	sm
	6	8.14	2.45	sm
	7	8.09	2.09	sm
	8	8.04	2.04	sm
	9	8.01	2.05	sm
	10	7.88	2.02	sm
	11	7.81	1.95	sm
	12	5.46	3.07	st
安徽红花	1	11.23	1.90	sm
	2	12.11	3.39	st
	3	9.87	1.85	sm
	4	8.65	2.36	sm
	5	8.46	1.83	sm
	6	8.18	2.25	sm
	7	8.02	2.49	sm
	8	7.96	1.55	m
	9	7.89	2.64	sm
	10	6.72	2.32	sm
	11	6.51	1.89	sm
	12	6.41	1.23	m
云红 3 号	1	23.21	1.02	m
	2	20.97	1.54	m
	3	18.59	1.04	m
	4	17.48	1.60	m
	5	17.08	3.15	st
	6	16.86	1.01	m
	7	14.12	1.82	sm
	8	13.6	1.72	sm
	9	12.95	2.05	sm
	10	12.72	1.84	sm
	11	12.37	2.00	sm
	12	8.94	1.00	m

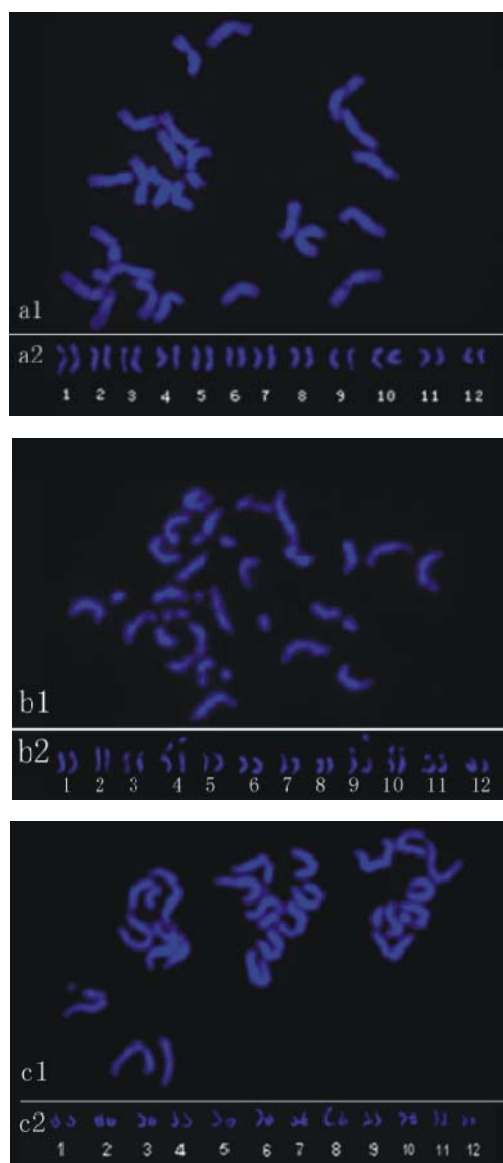


Figure 1. Metaphase and karyotype maps of 3 varieties of *Carthamus tinctorius* L.: a1, a2: Metaphase and karyotype maps of XJ; b1, b2: Metaphase and karyotype maps of AH; c1, c2:

Metaphase and karyotype maps of YH3[#]

图 1. 三个品种红花的分裂相及核型图: a1, a2: 新疆库车无刺红花分裂相及核型图; b1, b2: 安徽红花分裂相及核型图; c1, c2: 云红 3 号红花分裂相及核型图

不对称系数为 67.57%，观察到 4 对随体(见表 1，图 1: b1, b2)。

云红 3 号红花染色体数目为 $2n = 2x = 24$ ，12 对染色体中的 1、2、3、4 和 6 号为中部着丝粒，7、8、9、10 和 11 号为近中部着丝粒，第 5 号为近端部着丝粒，12 号为正中着丝粒。染色体相对长度变化范围为 8.94~23.21，臂比变化范围为 1.00~3.15，核型公式为 $2n = 2x = 24 = 10m + 10sm + 2st + 2M$ ，其中最

长染色体和最短染色体之比为 2.60，臂比大于 2:1 的染色体占全部染色体比例为 41.67%，属于 2B 类型。核型不对称系数为 60.24%。观察到 1 对随体(见表 1，图 1: c1, c2)。

5. 讨论

本研究在 Ren^[16]等人的方法上稍作修改，从而能更准确的反映了染色体的真实形态^[8]。本研究通过对三个红花品种的染色体常规核型进行了分析，确定了三者的染色体数目均为 $2n = 2x = 24$ ，但它们具体核型参数有所不同。

本研究的基本核型分析结果表明新疆库车无刺红花核型不对称系数(As. K%)为 68.82%；安徽红花核型不对称系数(As. K%)为 67.57%；云红 3 号核型不对称系数(As. K%)为 60.24%，三者的对称程度都很高，与牛力涛等人^[6]、赵桦等人^[10]和杨九艳等人^[11]关于红花核型的研究结果相一致。根据 Stebbins^[17]等的观点：高等植物核型进化的基本趋势是由对称向不对称方向发展，由此推测红花在进化过程中处于较为原始的地位。

国内红花核型研究已有报道，但本实验首次同时对 3 个品种的红花材料进行核型分析，且采用酶解法和 DAPI 染色以及荧光显微镜拍照，使实验的准确性得到很大提高，从而更好地显示了不同地域红花品种的核型。本实验结果对红花品种间的鉴定、亲缘关系的确定、培育和开发优质品种等方面具有重要的意义，并为进一步深入研究其内在的生物学机理和开发利用其经济价值奠定基础。

参考文献 (References)

- [1] 中科院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 78 卷, 第 1 分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 187-188.
- [2] 杨玉霞, 吴卫, 郑有良. 红花研究进展[J]. 四川农业大学学报, 2004, 22(4): 365-369.
- [3] D. Li, M. Zhou and V. R. Rao. Characterization and evaluation of safflower germplasm. Beijing: Chinese Press of Science and Technology, 1993.
- [4] D. Li, H. H. Mundel. Safflower, *Carthamus tinctorius* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Rome: 7. IPGCPR, Gatersleben/IPGRI, 1996.
- [5] 薛晓珍, 张敏. 新疆红花的主要营养成分及利用价值[J]. Food and Nutrition in China, 2005, 12: 40-42.
- [6] 牛力涛, 王晓军, 郝秀英, 刘敏, 康喜亮, 袁永娴. 裕民无刺红花染色体制片优化及核型分析[J]. 北方园艺, 2010, 9: 157-160.

红花三个品种的核型比较分析

- [7] 洪德元. 植物细胞分类学[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 198-199.
- [8] 赵侯明, 宋发军, 覃瑞. 冬凌草的染色体数目及核型分析[J]. 中南民族大学学报, 2007, 26(4): 35-37.
- [9] 杨汉民. 细胞生物学实验(第 2 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [10] 赵桦, 杨培君, 李会宁. 三种药用植物染色体组型分析[J]. 汉中师范学院学报(自然科学), 2004, 22(1): 70-73.
- [11] 杨九艳, 王俊杰, 李风云. 蒙药红花的染色体核型分析[J]. 中国民族医药杂志, 1999, 5(4): 31-32.
- [12] 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: 297-302.
- [13] A. Levan, K. Fredga and A. A. Sandberg. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, 52: 201-220.
- [14] G. L. Stebbins. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold, 1971: 85-104.
- [15] H. Arano. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan. *Robot Magazine (Tokyo)*, 1963, 76(1): 32-39.
- [16] N. Ren, Y. C. Song, X. Z. Bi, et al. The physical location of genes *cdc2* and *prh1* in Maize (*Zea mays* L.). *Hereditas*, 1997, 126: 211-217.
- [17] G. L. Stebbins. Chromosome evolution in high plants. London: Edward Arnold Ltd., 1971: 87-90.