

栽培山嵛菜与三个野生种的核型比较^{*}

杜宁, 顾志建^{**}

(中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 研究了山嵛菜属 (*Eutrema*) 广泛栽培的山嵛菜和 3 个野生种的核型。栽培山嵛菜 (*E. wasabi* Maxim) 的体细胞染色体数目和核型为 $2n = 4x = 28 = 7m + 17sm + 4st$, 3 个野生种分别是三角叶山嵛菜 (*E. deltoideum* (Hook. f. et Thoms) O. E. Schulz) 核型为 $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$; 密序山嵛菜 (*E. heterophylla* (W. W. Smith) Hara) 核型为 $2n = 2x = 14 = 6m (2SAT) + 8sm$; 云南山嵛菜 (*E. yunnanense* Franch.) 核型为: $2n = 4x = 28 = 12m (2SAT) + 16sm$ 。对它们的核型进行了比较分析, 其结果为杂交培育新品种提供细胞遗传学资料。

关键词: 山嵛菜属; 核型

中图分类号: Q 943

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700(2004)06-0645-06

A Comparative Karyological Study of the Cultured *Eutrema wasabi* and Its Three Related Wild Species^{*}

DU Ning, GU Zhi-Jian^{**}

(Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: A comparative karyological study of the cultured *E. wasabi* Maxim and its three related wild species (*E. deltoideum*, *E. heterophylla*, *E. yunnanense*) had been performed. The results are as follows: $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ for *E. deltoideum* (Hook. f. et. Thoms) O. E. Schulz. $2n = 2x = 14 = 6m (2SAT) + 8sm$ for *E. heterophylla* (W. W. Smith) Hara. $2n = 4x = 28 = 12m (2SAT) + 16sm$ for *E. yunnanense* Franch. $2n = 4x = 28 = 7m + 17sm + 4st$ for the cultured *E. wasabi* Maxim. The results offer significant theoretical foundation for fostering a new breed.

Key words: *Eutrema*; Karyotype

山嵛菜属 (*Eutrema* R. Br) 属十字花科, 为一年或多年生草本植物, 全属全球共 16 种, 我国云南有 4 种和 2 变种。其中云南山嵛菜 (*E. yunnanense* Franch.) 被认为与栽培种山嵛菜 (*E. wasabi* Maxim) 是最近缘的种 (中科院昆明植物研究所, 1995)。

栽培种山嵛菜, 原产中国和日本, 其根状茎磨成糊, 具有强烈的辛辣味和特殊的芳香, 是一种经济价值很高的蔬菜兼药用植物。具有预防蛀牙, 癌症、防止血液凝块、治疗

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (40332021)

^{**} 通讯作者: Author for correspondence. E-mail: guzhijian@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2004-03-31, 2004-06-10 接受发表

作者简介: 杜宁 (1980-) 女, 硕士研究生, 主要从事植物分子细胞遗传学研究。

气喘,促进食欲、帮助消化等药效、同时具有极强的杀菌力(Chadwick & Lumpkin, 1993; 何万兴和李刚, 2002)。随着山萵菜植物的保健和药用功能日益受到重视,食用范围、栽培面积均在不断扩大。目前在我国的山东、河北、贵州、四川、云南等地均有大面积栽培。随着栽培面积的扩大,相应的病虫害会越来越多,抗逆性会不断减弱,因此培育抗逆性强、品质优良的新品种势在必行。在云南滇西北发现有山萵菜属植物的野生种,均生长在海拔 3 000 m 以上环境条件恶劣的区域,野生状态长势很好,其根状茎的辛辣味和特殊的芳香较栽培种山萵菜强,可选其作为与栽培种杂交组合的亲本种,进行杂交和选育,培育出抗逆性较强,品质好的新品种。

关于该属植物,以前的研究主要集中在种质资源、药理(陈古容等, 2003)、生理(王健美等, 2000; 王广东和李式军, 1998; 杨业正, 2002)和栽培(李正波, 2000; 张禾, 2002)以及病虫害方面(商世吉等, 1998; 张禾, 2003),而对细胞遗传学研究除了苏联科学家对西北山萵菜(*E. edwardsii* R. Br.) $2n = 28, 42$, (Zhukova, 1977; Yurtsev & Zhukova, 1982; Zhukova & Petrovsky, 1984)和日本科学家对栽培山萵菜(*E. wasabi* Maxim) $2n = 28$ (足立昭三, 1987)有过报道外,未见更多报道。

本文比较了栽培山萵菜和分布于滇西北的三角叶山萵菜、密序山萵菜、云南山萵菜 3 个野生种的核型,其结果为选择杂交的亲本组合,培育新品种,提供细胞遗传学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料均采于云南(表 1)。凭证标本存于中国科学院昆明植物所标本馆,活植物栽培于昆明植物园。

表 1 山萵菜属 4 个种的材料来源

Table 1 Locality information of the examined species in *Eutrema*

Taxon	Locality	Voucher specimen	Altitude/m
<i>E. deltoideum</i>	Deqin Yunnan	J. P. Yue 0362	4770
<i>E. heterophylla</i>	Zhongdian Yunnan	J. P. Yue 0368	4370
<i>E. yunnanense</i>	Dali Yunnan	N. Du 03119	3000
<i>E. wasabi</i>	Dali Yunnan*	N. Du 04219	3000

* : It was introduced into Dali, Yunnan from Japan

1.2 实验方法

种子在 24℃ 下萌发,新根长至 2 cm 左右,取约 1 cm 根尖,或是取栽培植株上生长旺盛的根尖。用 0.003 mol/L 的 8-羟基喹啉室温下处理 1.5 ~ 2 h,然后用卡诺固定液(100% 酒精:冰乙酸 = 3:1)在 4℃ 下固定至少 30 min,之后在 60℃ 水浴中用解离液(1 mol/L HCl:45% 乙酸 = 1:1)解离 20 s。用醋酸地衣

红染色过夜。常规压片法压片。在 Zeiss 显微镜下观察,并用德国 Zeiss 公司的 CCD 冷光成像系统和 ikaros 软件进行核型分析,标准按李懋学和陈瑞阳(1985),核型不对称性按 Stebbins(1971)标准划分,并用着丝点端化值(centromeric terminalization value,简称 T.C 值),对核型的不对称性进行比较分析。

2 结果

4 种山萵菜属植物的核型见图 1 和表 2。

2.1 三角叶山萵菜(*E. deltoideum*)

体细胞染色体数 $2n = 14$,核型公式为 $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$,第 1, 3, 4, 5, 6 对染色体为中部着丝点染色体,第 2, 7 对染色体为亚中部着丝点染色体,臂比值大于 2 的染色体的百分比为 28.57%,最长与最短的染色体之间的比值为 1.87, T.C% 值为 61.44%,核型的不对称类型为 2A 型。

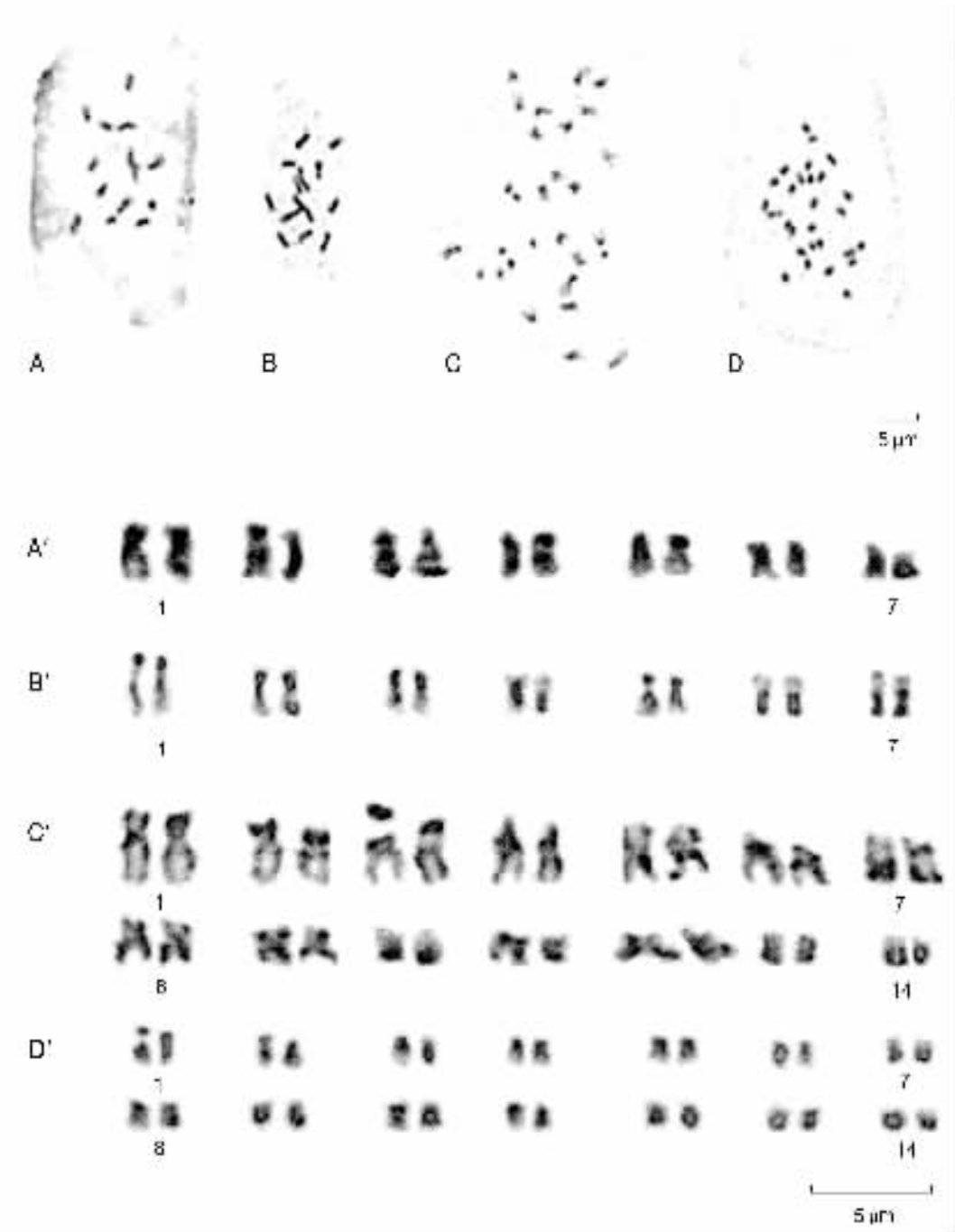


图1 4种山嵛菜属植物的中期染色体与核型

A, A'. 三角叶山嵛菜; B, B'. 密序山嵛菜; C, C'. 云南山嵛菜; D, D'. 山嵛菜

Fig 1 Metaphase chromosomes and karyotypes of four *Eutrema* species

A, A'. *E. deltoideum*; B, B'. *E. heterophylla*; C, C'. *E. yunnanense*; D, D'. *E. wasabi*

表 2 4 种山萵菜属植物的染色体参数

Table 2 The chromosome parameters of four species in *Eutrema*

Chromosome		<i>E. deltoideum</i>					<i>E. heterophylla</i>				
		2n = 14 = 10m + 4sm					2n = 14 = 6m (2SAT) + 8sm				
Number		L	S	RL	AR	PC	L	S	RL	AR	PC
1		5.02	3.76	8.78	1.33	m	6.02	3.92	9.94	1.54	m
2		5.02	3.45	8.46	1.45	m	6.02	3.31	9.34	1.82	sm
3		5.96	2.82	8.78	2.11	sm	5.12	3.01	8.13	1.70	m
4		5.33	2.19	7.52	2.43	sm	4.52	3.31	7.83	1.36	m
5		4.70	3.13	7.84	1.50	m	4.82	2.71	7.53	1.78	sm
6		4.70	3.13	7.84	1.50	m	4.52	3.01	7.53	1.50	m
7		4.08	3.13	7.21	1.30	m	4.52	2.71	7.23	1.67	m
8		4.08	3.13	7.21	1.30	m	4.22	1.81	6.02	2.33	sm
9		3.76	3.13	6.90	1.20	m	4.82	2.11	6.93	2.29	sm
10		4.08	2.51	6.58	1.63	m	4.22	1.81	6.02	2.33	sm
11		3.76	2.51	6.27	1.50	m	4.52	2.11	6.63	2.14	sm
12		3.45	2.82	6.27	1.22	m	4.22	1.81	6.02	2.33	sm
13		4.08	1.57	5.64	2.60	sm	3.31	2.41	5.72	1.38	m *
14		3.45	1.25	4.70	2.75	sm	3.31	1.81	5.12	1.83	sm **

Chromosome		<i>E. yunnanense</i>					<i>E. wasabi</i>				
		2n = 28 = 12m (2SAT) + 16sm					2n = 28 = 7m + 17sm + 4st				
Number		L	S	RL	AR	PC	L	S	RL	AR	PC
1		3.59	1.80	5.39	2.00	sm	3.43	1.60	5.03	2.14	sm
2		3.29	1.80	5.09	1.83	sm	2.97	1.60	4.58	1.86	sm
3		3.14	1.80	4.94	1.75	sm	2.52	1.83	4.35	1.38	m
4		2.99	1.35	4.34	2.22	sm	2.52	1.37	3.89	1.83	sm
5		2.69	2.10	4.79	1.29	m *	2.97	1.14	4.12	2.60	sm
6		2.40	2.25	4.64	1.07	m *	2.75	1.14	3.89	2.40	sm
7		2.69	2.10	4.79	1.29	m	2.52	1.37	3.89	1.83	sm
8		2.25	1.95	4.19	1.15	m	2.52	1.14	3.66	2.20	sm
9		2.54	1.65	4.19	1.55	m	2.29	1.37	3.66	1.67	m
10		2.69	1.50	4.19	1.80	sm	2.29	1.37	3.66	1.67	m
11		2.54	1.65	4.19	1.55	m	2.52	1.14	3.66	2.20	sm
12		2.10	1.35	3.44	1.56	m	2.52	1.14	3.66	2.20	sm
13		2.25	1.50	3.74	1.50	m	2.52	1.14	3.66	2.20	sm
14		2.25	1.50	3.74	1.50	m	2.29	1.14	3.43	2.00	sm
15		2.25	1.35	3.59	1.67	m	2.06	1.60	3.66	1.29	m
16		2.10	1.20	3.29	1.75	sm	2.06	1.14	3.20	1.80	sm
17		1.65	1.35	2.99	1.22	m	2.52	0.92	3.43	2.75	sm
18		1.65	1.20	2.84	1.38	m	2.52	0.92	3.43	2.75	sm
19		1.95	0.75	2.69	2.60	sm	2.06	1.37	3.43	1.50	m
20		1.95	0.75	2.69	2.60	sm	2.06	1.14	3.20	1.80	sm
21		1.95	0.75	2.69	2.60	sm	1.83	1.60	3.43	1.14	m
22		1.95	0.75	2.69	2.60	sm	1.83	1.37	3.20	1.33	m
23		1.80	0.75	2.54	2.40	sm	2.06	1.14	3.20	1.80	sm
24		1.80	0.75	2.54	2.40	sm	2.06	1.14	3.20	1.80	sm
25		1.65	0.90	2.54	1.83	sm	2.29	0.69	2.97	3.33	st
26		1.65	0.75	2.40	2.20	sm	2.29	0.69	2.97	3.33	st
27		1.80	0.60	2.40	3.00	sm	2.29	0.46	2.75	5.00	st
28		1.80	0.60	2.40	3.00	sm	2.29	0.46	2.75	5.00	st

注：* 为具有随体的染色体。

2.2 密序山萵菜 (*E. heterophylla*)

体细胞染色体数为 2n = 14，核型公式为 2n = 2x = 14 = 6m (2SAT) + 8sm，第 1，2，3，

7 对为中部着丝点染色体, 第 2, 4, 5, 6 对染色体为亚中部着丝点染色体。在第 7 对染色体上具有 2 个随体, 臂比值大于 2 的染色体的百分比为 35.71%, 最长与最短的染色体之间的比值为 1.94, T.C% 值为 64.16%, 核型的不对称类型为 2A 型。

2.3 云南山嵛菜 (*E. yunnanense*)

体细胞染色体数为 $2n = 28$, 核型公式为 $2n = 4x = 28 = 12m(2SAT) + 16sm$, 第 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 对染色体为中部着丝点染色体, 第 1, 2, 8, 10, 11, 12, 13, 14 对染色体为亚中部着丝点染色体, 第 3 对染色体具有 2 个随体。臂比值大于 2 的染色体的百分比为 35.74%, 最长与最短的染色体之间的比值为 2.25, T.C% 值为 63.32%, 核型的不对称类型为 2B 型。

2.4 山嵛菜 (*E. wasabi*)

体细胞染色体数为 $2n = 28$, 与先前的足立昭三 (1987) 的报道结果相同, 核型公式为 $2n = 4x = 28 = 7m + 17sm + 4st$, 第 2, 5, 8, 10, 11 对染色体为中部着丝点染色体, 第 1, 3, 4, 6, 7, 9, 12 对染色体为亚中部着丝点染色体, 第 13, 14 对染色体为近端部着丝点染色体。臂比值大于 2 的染色体的百分比为 46%, 最长与最短的染色体之间的比值为 1.83, T.C% 值为 66.82%, 核型的不对称类型为 2A 型。

3 讨论

本文 4 种山嵛菜属植物的体细胞染色体有 $2n = 14$ 和 $2n = 28$, 前人曾报道过西北山嵛菜 (*E. edwardsii* R. Br.) 的染色体数目为 $2n = 28$, 42 (Zhukova, 1977; Yurtsev & Zhukova, 1982; Zhukova & Petrovsky, 1984), 它们均为 7 的倍数, 为此我们认为山嵛菜属植物染色体的基数为 $x = 7$ 。三角叶山嵛菜和密序山嵛菜体细胞染色体数目是 $2n = 14$, 为二倍体 ($2x$), 而云南山嵛菜和栽培山嵛菜体细胞染色体数目是 $2n = 28$, 为四倍体 ($4x$)。

两个二倍体种核型比较相似, 但密序山嵛菜的不对称性比三角叶山嵛菜稍强, 同时在密序山嵛菜的第 7 对染色体上具有 2 个随体, 三角叶山嵛菜没有观察到随体。栽培山嵛菜和云南山嵛菜为四倍体, 前者的核型由中部、亚中部和近端部着丝点染色体组成, 第 3 对染色体上也具有 2 个随体; 后者由中部着丝点染色体和亚中部着丝点染色体组成, 没有近端部着丝点染色体, 也没观察到随体。虽然栽培山嵛菜核型的不对称类型为 2A, 而云南山嵛菜为 2B, 但从它们的核型不对称系数 (T.C% 值) 来看, 栽培山嵛菜核型的不对称程度比野生种强。核型结构与野生的云南山嵛菜也有一些变异。

另外, 从图 1, 表 2 可以看出: 3 种野生型的山嵛菜, 染色体的相对长度 (或是在显微镜下的绝对长度) 比栽培山嵛菜明显的要大, 这也表明栽培山嵛菜的染色体与野生种间的变异特征。

表形特征: 二倍体种的植株高都小于 30 cm, 叶片长 0.6~5.5 cm, 宽 0.5~3.5 cm, 角果长 6~9 mm, 宽 1 mm, 根状茎粗度平均为 5 mm。四倍体种的植株高都在 30 cm 以上; 叶片近圆形, 长 10~16 cm, 角果长 0.9~1.3 cm, 宽 1~2 mm; 根状茎粗度平均为 10 mm; 而且种子比二倍体种的种子略大。由此可见, 二倍体的植株、叶片、根状茎、角果、种子大小都比四倍体种的小, 充分表现出多倍体种与二倍体种在形态上的变异。另外还发现两个野生二倍体种分布于海拔 4 300 m 左右高海拔的极度环境, 而野生四倍体种则分布于 3 000 m

左右,其倍性的变异可能与该类群植物的起源和扩散有关。

野生的三角叶山嵛菜、密序山嵛菜和云南山嵛菜生长在海拔较高,生境条件恶劣的区域,具有很强的抗逆性和适应性。它们都是栽培山嵛菜的近缘种,而且三角叶山嵛菜和密序山嵛菜具有较浓辛辣味和特殊的芳香,云南山嵛菜的辛辣味较轻,但它具有植株较高大,根状茎粗的优良形状。因此三角叶山嵛菜、密序山嵛菜和云南山嵛菜具有优良基因成分,可供栽培山嵛菜选择作为杂交组合的亲本种进行杂交,培育出适应性强,抗逆性好、品质优良的新品种。

致谢 承蒙谢立山老师和乐霁培,涂铁要同学的热心帮助。

〔参 考 文 献〕

- 王健美,游咏,郑柯等,2000. 山葵离体培养研究 [J]. 四川大学学报(自然科学版), 37(6): 954—956
- 中国科学院昆明植物研究所编著,1995. 云南植物志第6卷 [M]. 北京: 科学出版社, 107—112
- 李正波,2000. 山葵在高黎贡山地区的种植推广 [DB/OL]. http://www.glgs.gov.cn/xslw/2001-2003/lw_25.htm
- 足立昭三,1987. 山嵛菜的栽培 [M]. 日本: 秀润社出版
- 陈古容,陈万群,王凯,2003. 山嵛菜药理作用的初步研究 [J]. 重庆中草药研究, (1): 37—42
- 张禾,2002. 山嵛菜旱地栽培技术 [J]. 农村实用技术, (3): 10—12
- 张禾,2003. 山嵛菜常见病虫害及其防治 [J]. 农村实用技术, (2): 26—27
- 商世吉,张颖,于健民等,1998. 山嵛菜的虫害防治 [J]. 中国林副特产, 3: 23
- Chadwick CI, Lumpkin TA, 1993. The botany, use and production of *Wasabia japonica* (Miq.) (Cruciferae), Matsum [J]. *Economic Botany*, 47(2): 113—135
- He WX (何万兴), Li G (李刚), 2002. The uses, cultivation and pest prevention of *Eutrema wasabi* Maxim [J]. *J Yunnan Agric Univ* (云南农业大学学报), 17(4): 408—411
- 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
- Stebbins GL, 1971. *Chromosome Evolution in Higher Plants* [M]. London: Edward Arnold Ltd
- Wang GD (王广东), Li SJ (李式军), 1998. *In vitro* culture and plantlet regeneration of *Eurema wasabi* [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 34(4): 267
- Yang YZ (杨业正), 2002. Immature embryo culture and plantlet regeneration of *Eurema wasabi* [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 38(6): 588
- Yurtsev BA, Zhukova PG, 1982. Chromosome numbers of some plants of the Indigirka River in its middle reaches [J]. *Bot Zurn SSSR*, 67(6): 778—787, (in Russian)
- Zhukova PG, 1977. Chromosome numbers of some plant species in the Eastern Arctic Yakuta [J]. *Bot Zurn SSSR*, 62(2): 229—234, (in Russian)
- Zhukova PG, Petrovsky VV, 1984. A cytotonomical study of some species of the family Brassicaceae in Northern Asia [J]. *Bot Zurn SSSR*, 69(2): 236—240, (in Russian)