

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2019.50559

杨利平, 符勇耀, 范军好, 黄渝. 龙牙百合 3 个地方品种的形态特征及核型分析[J]. 植物科学学报, 2019, 37(5): 559~568

Yang LP, Fu YY, Fan JH, Huang Y. Morphological characteristics and karyotype analysis of three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum* [J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(5): 559~568

龙牙百合 3 个地方品种的形态特征及核型分析

杨利平, 符勇耀*, 范军好, 黄渝

(长江师范学院现代农业与生物工程学院, 重庆涪陵 408100)

摘要: 采用经典测量和染色体常规压片法, 对龙牙百合 (*Lilium brownii* var. *viridulum* Baker) 3 个地方品种的形态特征及核型进行研究。植株形态分析结果显示: ‘江西’龙牙的株高、开花口径、种球重量和周长、中外层鳞片重量和长度以及鳞片扦插产生小鳞茎数等指标均显著大于‘大叶’龙牙和‘平头’龙牙; ‘大叶’龙牙的叶片最长, 均值为 14.54 cm。花粉、叶表皮气孔及鳞片淀粉粒的微形态特征分析结果显示: ‘江西’龙牙的花粉粒径最大, 均值达 111.76 μm ; ‘平头’龙牙的叶表皮气孔最长, 气孔密度也最大(约 47.6 个/ mm^2); ‘大叶’龙牙的淀粉粒径最大, 均值为 47.61 μm ; ‘江西’龙牙的淀粉粒大小分布更集中, 差异性小。染色体核型分析结果显示: 龙牙百合 3 个品种的染色体数目均为 $2n = 2x = 24$, 为二倍体, 其中‘江西’龙牙核型公式为 $2n = 2x = 24 = 2m(2\text{SAT}) + 6sm(2\text{SAT}) + 12st(4\text{SAT}) + 4t$; ‘平头’龙牙核型公式为 $2n = 2x = 24 = 4m + 8sm + 10st(4\text{SAT}) + 2t$; ‘大叶’龙牙核型公式为 $2n = 2x = 24 = 2m(2\text{SAT}) + 6sm + 14st(4\text{SAT}) + 2t$, 三者核型均为 3B 型。

关键词: 龙牙百合; 地方品种; 形态特征; 核型分析; 品种鉴定

中图分类号: S644.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2019)05-0559-10

Morphological characteristics and karyotype analysis of three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

Yang Li-Ping, Fu Yong-Yao*, Fan Jun-Hao, Huang Yu

(School of Advanced Agriculture and Bioengineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

Abstract: We investigated the morphological characteristics and chromosome karyotypes of three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum* (‘Jiangxi’, ‘Pingtou’, and ‘Daye’ lilies) by classical measurements and chromosome routine tableting. Plant morphological analysis indicated that the plant height, flowering diameter, bulb weight and size, scale weight and size in the outer and / or middle layer of bulb, and germination number of scales in ‘Jiangxi’ were significantly larger than those in ‘Daye’ and ‘Pingtou’; furthermore, the leaves of ‘Daye’ were the longest, with a mean value of 14.54 cm. Micromorphological feature analysis

收稿日期: 2019-01-04, 退修日期: 2019-01-30。

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31500245); 教育部春晖计划项目(Z2016182); 重庆市科技局基础研究与前沿探索项目(cstc2019jcyj-msxmX0014); 重庆市教委科学研究项目(KJQN201801428); 重庆市人力社保局 2017 年出站留(来)渝博士后科研资助项目(0108/01096101); 长江师范学院引进人才科研资助项目(2017KYQD63); 长江师范学院生物工程与现代农业专业群科研资助项目(CSZKY1813)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31500245), Ministry of Education, “Chunhui Plan” (Z2016182), Basic Research and Frontier Exploration of Chongqing Science and Technology Bureau (cstc2019jcyj-msxmX0014), Youth Science and Technology Project from Chongqing Education Science Committee (KJQN201801428), Postdoctoral Research Funding Support from Human Resources and Social Security Bureau of Chongqing (0108/01096101), Research Funding Project of Yangtze Normal University (2017KYQD63), and Research Funding Project of Bioengineering and Modern Agriculture Specialty Group of Yangtze Normal University (CSZKY1813).

作者简介: 杨利平(1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向为花卉栽培与种质资源创新(E-mail: 836711655@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: 34331107@qq.com)。

revealed that the pollen grains in ‘Jiangxi’ were the largest, with a mean size of 111.76 μm . The leaf epidermis in ‘Pingtou’ showed the longest stomata and the maximum stomata density, with a mean value of 47.6 individual / mm^2 . In addition, the starch grains in ‘Daye’ were the largest, with an average particle size of 47.61 μm , and the starch grain size distribution in ‘Jiangxi’ was more consistent than that in others. Karyotype analysis showed that the chromosome numbers of the three local varieties were diploid, with the formula $2n = 2x = 24$. The karyotype formula of ‘Jiangxi’ was $2n = 2x = 24 = 2\text{m}(2\text{SAT}) + 6\text{sm}(2\text{SAT}) + 12\text{st}(4\text{SAT}) + 4\text{t}$, of ‘Pingtou’ was $2n = 2x = 24 = 4\text{m} + 8\text{sm} + 10\text{st}(4\text{SAT}) + 2\text{t}$, and of ‘Daye’ was $2n = 2x = 24 = 2\text{m}(2\text{SAT}) + 6\text{sm} + 14\text{st}(4\text{SAT}) + 2\text{t}$. All three karyotypes belonged to type 3B.

Key words: *Lilium brownii* var. *viridulum*; Local variety; Morphological feature; Karyotype analysis; Variety identification

龙牙百合(*Lilium brownii* var. *viridulum* Baker)是野百合(*L. brownii* F. E. Brown ex Miellez)的变种,为多年生球根类草本植物,自然分布在我国的山西、河南、湖北、湖南、江西、安徽和浙江等省区海拔300~920 m的山地^[1]。龙牙百合的地下鳞茎不仅是我国三大食用百合之一,同时也是中国药典指定的中药百合基源生药之一,具有润肺止咳、清热安神的功效^[1, 2]。其鳞茎主要含有甾体皂苷、秋水仙碱、酚性甘油苷,还含有多糖、氨基酸、磷脂以及丰富的铜、锌、镁、钙等微量元素^[2-7],是深受市场欢迎的药食同源养生品。目前,龙牙百合在我国江西万载、泰和、高安,湖南隆回、安化、龙山以及广西永福、资源、柳州等市县有大面积栽培,其中,湖南隆回和江西万载的龙牙百合种植历史已有500年之久^[8]。

目前,有关龙牙百合的研究多集中在栽培和繁殖^[8-10]、有效成分的提取和鉴定^[2-7]等方面,而对品种选育的研究极为少见。由于植物种群的分布区域和生长环境不同,种群间很容易产生不同程度差异的生态型,并成为重要的多样化种质资源。如凤丹(*Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang)经过长期栽培,群体的表型发生了明显的变异分化^[11];泸定百合(*L. sargentiae* Wilson)、山丹(*L. pumilum* DC.)野生居群间染色体数相对稳定,但在形态结构上出现了变异^[12, 13]。研究表明,由于龙牙百合栽培历史悠久和民间选育,不同产地的群体产生变异和分化,形成不同产地间种质资源在分子生物学(ISSR)上的差异^[14]。根据相关文献报道^[8-10]和对主产区的调研发现,龙牙百合已先后出现‘江西’龙牙(小柳叶)、‘平头’龙牙(有高片、中片和

矮片之分)和‘大叶’龙牙(广西龙牙)等一批地方品种。但这些栽培品种仅为民间口传,其相应的形态、遗传背景和药用生理差异等基础资料未见文献报道,市场销售过程中也是品种混杂。因此,我们对龙牙百合3个地方品种的形态、微形态特征和染色体核型开展研究,以期从细胞学水平上弄清地方品种间的进化关系,为生产实践提供更多的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

龙牙百合3个地方品种(‘江西’龙牙、‘平头’龙牙、‘大叶’龙牙)种球分别购自江西、湖南和广西,种植于试验栽培基地(重庆市南川区的重庆市药物种植研究所)。

1.2 形态学测量

选择同一批(2年生)鳞片紧实、无明显色斑的3种龙牙百合种球各50个,分别种植于试验栽培基地的苗圃中。

于现蕾时分别测量株高、茎粗以及植株中部叶片的长和宽;盛花期测量其开花口径,并取少许花粉,在显微镜下观察花粉粒形态、测量粒径;取16:00~17:00时间段内的百合叶片制作成表皮装片,在显微镜下观察叶片下表皮细胞形态,并分别测量叶片下表皮细胞大小、叶片下表皮气孔大小和叶下表皮气孔密度。当植株地上部枯黄后,于10月上旬取出百合种球,测量种球周长、种球重量、鳞片厚度和鳞片重量。选取3种龙牙百合性状优良、无病斑、大小一致的种球鳞片各50片,以草炭土为基质,埋片法黑暗扦插室内,比较其鳞片

扦插后的子球繁殖率。

以上所有测量重复3次, 取平均值。利用DPS软件整理数据并统计分析, 方差分析采用Duncan-新复极差法(SSR)。

1.3 淀粉粒测定

取1g百合鳞片干品, 研磨成粉末, 加入预热的25mL蒸馏水, 混合摇匀后在1000r/s离心10min, 取上层液与沉淀交界处溶液1~2滴, 制片, 在显微镜下进行观察、拍照。每个品种分析3~5个个体, 随机选取10张照片, 每张选30个淀粉粒进行统计分析。

1.4 细胞学观察

采用常规压片制片法。具体步骤为: 取百合鳞片生根培养, 待根长到1~2cm时, 切下1cm左右的根尖, 放入0.20%秋水仙素中, 4℃处理24h。取出处理后的根尖, 清洗后放入卡诺氏固定液中固定24h。将根尖转入1mol/L HCl中, 在60℃条件下, 解离10min, 切下根尖生长点, 置于载玻片上, 滴1滴苯酚品红, 盖上盖玻片, 用力敲打并吸去多余的染色液。在显微镜(物镜40×)下仔细观察、拍照。

表1 龙牙百合3个地方品种的主要形态特征
Table 1 Morphological characteristics in three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

性状 Traits	‘江西’龙牙 ‘Jiangxi’	‘平头’龙牙 ‘Pingtou’	‘大叶’龙牙 ‘Daye’
株高 Height (cm)	71.96 ± 1.36a	59.91 ± 1.39b	62.53 ± 1.00b
茎粗 Stem diameter (mm)	5.50 ± 0.15a	5.27 ± 0.20a	5.50 ± 0.17a
叶长 Leaf length (cm)	12.12 ± 0.22b	12.98 ± 0.31b	14.54 ± 0.34a
叶长宽比 Leaf length-width ratio	6.82 ± 0.11a	6.99 ± 0.26a	6.54 ± 0.12a
开花口径 Flower diameter (cm)	14.51 ± 0.13a	6.93 ± 0.13c	12.40 ± 0.14b
花粉粒径 Pollen maximum length (μm)	111.76 ± 1.47a	101.12 ± 1.73b	103.16 ± 0.89b
花粉粒投影面积 Pollen area (μm ²)	6010.04 ± 121.29a	5881.06 ± 218.03a	5040.76 ± 101.76b
叶下表皮细胞长 Leaf abaxial epidermis length (μm)	345.21 ± 13.51a	301.75 ± 12.47b	374.53 ± 14.80a
叶下表皮细胞长宽比 Leaf abaxial epidermis cell length-width ratio	5.79 ± 0.37a	5.35 ± 0.27a	6.12 ± 0.30a
叶下表皮气孔长 Stoma length (μm)	54.41 ± 1.22b	65.54 ± 2.07a	44.34 ± 0.82c
叶下表皮气孔长宽比 Stoma length-width ratio	4.48 ± 0.19a	4.16 ± 0.20a	3.47 ± 0.12b
叶下表皮气孔密度 Stoma density (individual / mm ²)	36.27 ± 1.91b	47.60 ± 2.04a	37.47 ± 1.75b
种球周长 Bulb perimeter (cm)	21.17 ± 1.35a	16.837 ± 0.60b	14.67 ± 0.95b
种球重量 Bulb weight (g)	101.41 ± 15.90a	40.84 ± 7.46b	36.33 ± 3.11b
中外层鳞片重量 Scale weight in outer and / or middle layer (g)	1.62 ± 0.09a	1.26 ± 0.05b	0.59 ± 0.03c
中外层鳞片长 Scale length in outer and/or middle layer (mm)	41.33 ± 0.98a	38.17 ± 0.47b	25.73 ± 0.51c
中外层鳞片长宽比 Scale length-width ratio in outer and / or middle layer	2.11 ± 0.13a	1.66 ± 0.06b	1.65 ± 0.07b
中外层鳞片厚度 Scale thickness in outer and / or middle layer (mm)	5.36 ± 0.26a	5.66 ± 0.22a	3.83 ± 0.18b
中外层鳞片扦插出芽数 Scale germination number in outer and / or middle layer (individual)	1.23 ± 0.09a	0.83 ± 0.08b	0.97 ± 0.08b

注: 同行数据后不同小写字母表示差异显示($P < 0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters show differences after peer data ($P < 0.05$). Same below.

1.5 核型分析

每个品种分析5~10个体, 选取30个以上形态良好、结构清晰的细胞进行染色体观察和数目统计; 选5个分散良好的中期分裂相进行测量, 计算核型数据^[15]。核型分析按李懋学和陈瑞阳(1985)^[16]的分类标准, 染色体相对长度、相对长度系数、臂比及类型参照张凯丽和刘辉^[17]的方法计算, 按Levan等^[18]的命名系统命名, 核型按Stebbins^[19]的分类标准, 核型不对称系数参考沈云光等^[20]的方法计算。染色体排列和编号按染色体的长度由长至短的顺序进行。采用Photoshop CS 5.0和CAD进行染色体配对和测量。

2 结果与分析

2.1 龙牙百合3个地方品种的形态特征分析

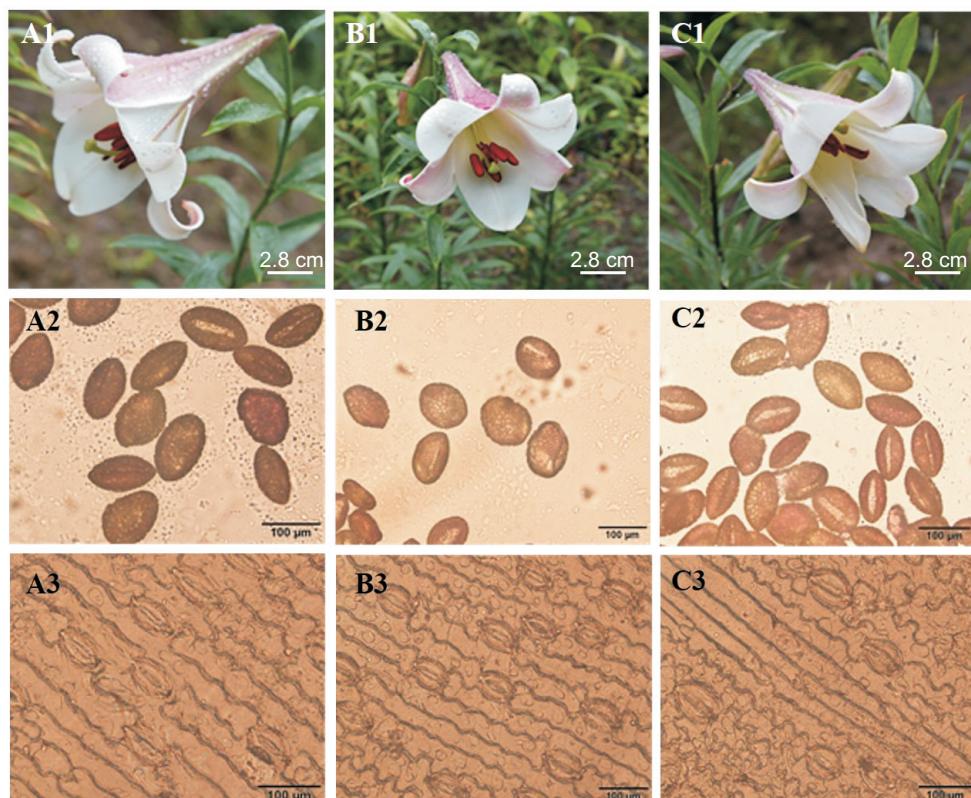
2.1.1 主要形态特征

对3个地方品种植株形态测量数据显示(表1), ‘江西’龙牙的株高显著大于‘大叶’龙牙和‘平头’龙牙, 后两者之间无显著差异; ‘大叶’龙牙的叶片最长, 平均达14.54cm; 此外, 3个地方品种龙牙百合的茎粗、叶形长宽比均无显著差异。

3个地方品种花期均在6—7月,单花的开放时间存在差异,花朵开放时间分别为15:00~19:30(‘江西’龙牙)、14:00~19:00(‘平头’龙牙)和16:00~20:00(‘大叶’龙牙);‘江西’龙牙开花日期最早(约5月23日),‘平头’龙牙开花最晚(5月末)。对花部形态观察和测量结果显示(图1: A1, B1, C1),‘江西’龙牙的开花口径显著大于‘大叶’龙牙,而‘大叶’龙牙的开花口径显著大于‘平头’龙牙。对花粉粒形态观察和分析发现(图1: A2, B2, C2),‘江西’龙牙的花粉投影粒径显著大于‘大叶’龙牙和‘平头’龙牙,后两者之间粒径大小无显著差异;并且‘江西’龙牙花粉粒投影面积显著大于‘大叶’龙牙,而与‘平头’龙牙间无显著差异,表明‘平头’龙牙的花粉粒长宽比更小。对叶下表皮细胞、气孔的观察及统计分析结果显示(图1: A3, B3, C3),‘江西’龙牙和‘大叶’龙牙的叶下表皮细胞长显著大于‘平头’龙牙,但是3个品种的叶下表皮细胞长宽比值并无显著差异;

‘平头’龙牙的气孔最长,约为65.54 μm ,其次是‘江西’龙牙,‘大叶’龙牙的气孔最短;单位面积内‘平头’龙牙气孔密度最大,为47.6个/ mm^2 。‘江西’龙牙和‘平头’龙牙的气孔长宽比并无显著差异,但均明显大于‘大叶’龙牙。

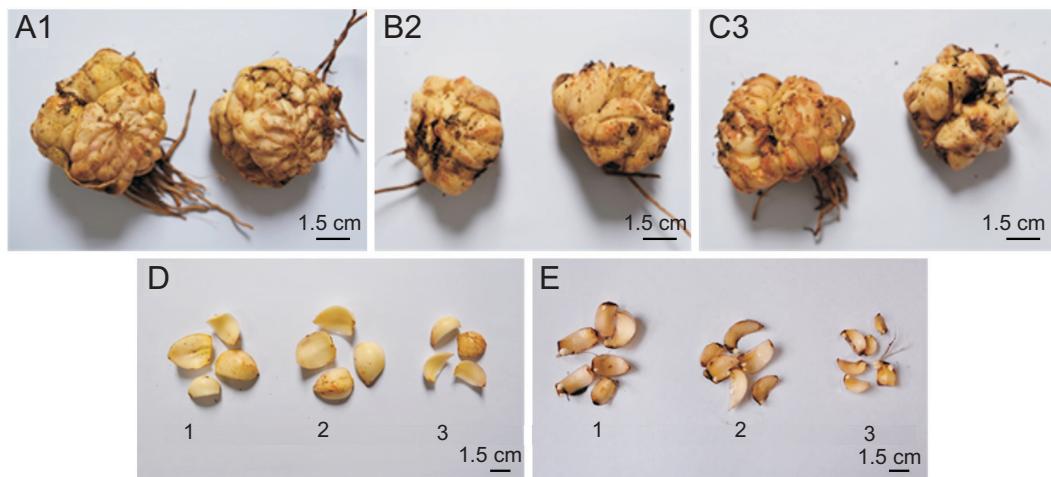
对龙牙百合的鳞茎形态分析结果显示,‘江西’龙牙单个种球重量和周长明显大于‘平头’龙牙和‘大叶’龙牙,而后两者之间无显著差异(图2: A, B, C)。对鳞片的特征分析发现(图2: D),‘江西’龙牙中外层鳞片长度和重量均显著大于‘平头’龙牙,且后者中外层鳞片长度和重量又显著大于‘大叶’龙牙;‘江西’龙牙的中外层鳞片形态长宽比显著大于‘平头’龙牙和‘大叶’龙牙,后两者之间差异不显著;‘江西’龙牙和‘平头’龙牙的中外层鳞片厚度无明显差异,均显著大于‘大叶’龙牙(图2: D)。鳞片扦插实验显示,‘江西’龙牙鳞片产生的小鳞茎平均数显著大于‘平头’龙牙和‘大叶’龙牙,而后两者扦插产生的小鳞茎差异不显著(图2: E)。



A, B, C: 分别为‘江西’龙牙、‘平头’龙牙、‘大叶’龙牙。1, 2, 3: 分别表示花形态、花粉粒形态、叶下表皮形态。A, B, and C indicate *L. brownii* var. *viridulum* ‘Jiangxi’, ‘Pingtou’, and ‘Daye’ respectively. 1, 2, and 3 indicate morphology of flower, pollen, and leaf abaxial epidermis, respectively.

图1 龙牙百合3个地方品种的花、花粉粒及叶下表皮形态

Fig. 1 Morphology of flower, pollen, and leaf abaxial epidermis in three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*



A, B, C: 鳞茎形态; D: 鳞片形态; E: 鳞片扦插出芽形态。1, 2, 3: 分别表示‘江西’龙牙、‘平头’龙牙、‘大叶’龙牙。

A, B, C: Bulb morphology; D: Scale morphology; E: Germination of bulb scale. 1, 2, and 3 indicate *L. brownii* var. *viridulum* ‘Jiangxi’, ‘Pingtou’, and ‘Daye’, respectively.

图2 龙牙百合3个地方品种的鳞茎及鳞片特征

Fig. 2 Characteristics of bulb and scale in three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

2.1.2 淀粉粒形态比较

淀粉粒形态观察结果显示, 龙牙百合3个地方品种的淀粉粒均为单粒形态, 为类圆球形、椭圆形和卵圆形, 有脐点和层纹, 层纹表现为典型的螺纹形态, 品种间没有显著区别。对淀粉粒大小的统计分析表明, 单个淀粉粒径以‘江西’龙牙最大(达98 μm), ‘平头’龙牙最小(约11 μm); 但‘大叶’龙牙的淀粉粒径均值明显大于‘江西’龙牙和‘平头’龙牙, 而后两者之间粒径无显著差异(表2)。研究发现, 3个品种龙牙百合的淀粉粒直径均在0~100 μm 范围内(图3: A), 其中, 在0~20 μm 和40~60 μm 区间内, ‘江西’龙牙淀粉粒占比最多, 分别为3.3%和52%; 在20~40 μm 区间内, ‘平头’龙牙淀粉粒占比最多, 为35.5%; 而在60~80 μm 区间内, ‘大叶’龙牙淀粉粒占比最多, 为24.7%。另外, 他们在80~100 μm 区间内的淀粉粒数目占比相同, 均为1.3%, 因此, ‘大叶’龙牙淀粉粒径均值最大(图3: A)。比较3个地方品种的淀粉粒投影面积发现, ‘江西’龙牙淀粉粒投影面积均值显著大于‘平头’龙牙, 而与‘大叶’龙牙之间差异不显著(表2)。在不同区间的投影面积内(图3: B), 他们的分布也有差异, 在0~300 μm^2 、1500~2000 μm^2 和2000~3000 μm^2 范围内, ‘平头’龙牙淀粉粒所占

比例最大, 分别为17%、9.7%和4.7%; 在300~500 μm^2 和3000~4000 μm^2 范围内, ‘大叶’龙牙所占比例最大, 分别为18.7%和1.7%, 且‘平头’龙牙淀粉粒在3000~4000 μm^2 范围内无分布; 而在500~1000 μm^2 和1000~1500 μm^2 范围内, ‘江西’龙牙淀粉粒所占比例最大, 分别为38%和28.7%(图3: B)。可见, ‘江西’龙牙的淀粉粒大小分布更加集中, 差异性较小。

2.2 龙牙百合3个地方品种的染色体数目及核型分析

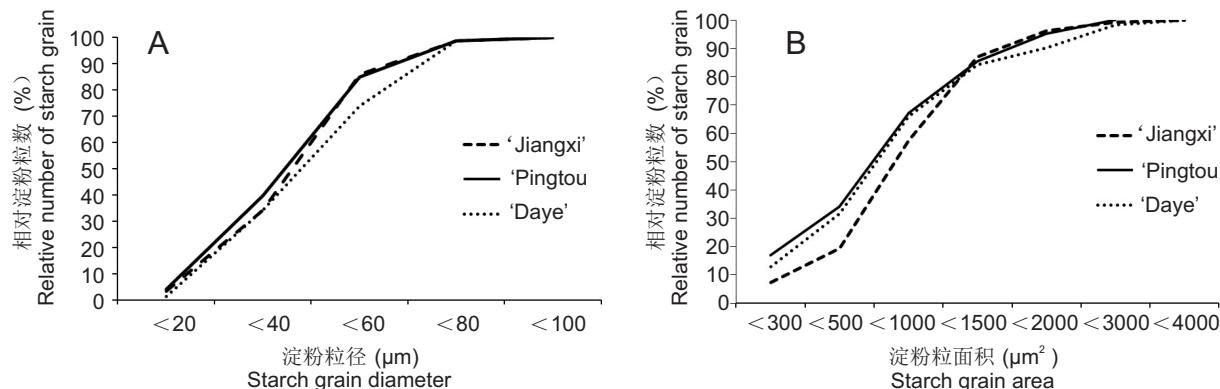
2.2.1 染色体数目

染色体统计结果显示, ‘江西’龙牙120个形态良好、结构清晰的细胞中, 有116个细胞的染色体数目为24, 占总数的96.67%; 其余4个细胞的染色体数目为26, 占总数的3.33%。‘平头’龙牙67个细胞中, 有62个细胞的染色体数目为24, 占总数的92.54%; 有4个细胞的染色体数目为26, 占总数的5.97%; 有1个细胞的染色体数目为28, 占总数的1.49%。‘大叶’龙牙96个细胞中, 有88个细胞的染色体数目为24, 占总数的91.67%, 其余8个细胞的染色体数目为26, 占总数的8.33%。

根据核型分析标准化建议^[8], 确定龙牙百合3个地方品种的染色体数目均为 $2n = 2x = 24$ (图4), 核型模式图见图5, 染色体参数见表3。

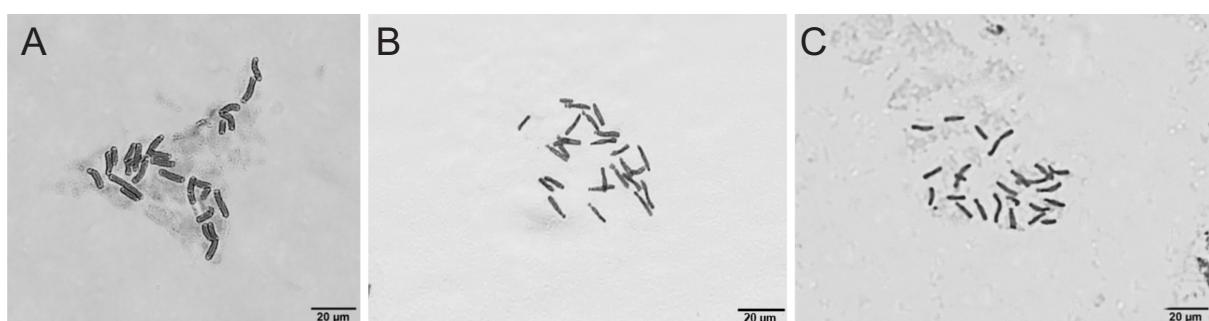
表2 龙牙百合3个地方品种的淀粉粒投影粒径及面积比较
Table 2 Starch grain diameter and area in three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

性状 Traits	‘江西’龙牙 ‘Jiangxi’	‘平头’龙牙 ‘Pingtou’	‘大叶’龙牙 ‘Daye’
最小粒径 (μm) Minimum grain diameter (μm)	14	11	12
最大粒径 (μm) Maximum grain diameter (μm)	98	94	87
粒径平均值 (μm) Average grain diameter (μm)	44.88 ± 0.91b	43.24 ± 0.97b	47.61 ± 0.99a
最小投影面积 (μm ²) Minimum projected area (μm ²)	122	39	91
最大投影面积 (μm ²) Maximum projected area (μm ²)	4042	2889	4742
投影面积平均值 (μm ²) Average projected area (μm ²)	955.98 ± 32.69a	815.92 ± 45.61b	867.30 ± 35.04ab



A: 淀粉粒投影粒径; B: 淀粉粒投影面积。
A: Projected diameters of starch grains; B: Projected area of starch grains.

图3 龙牙百合3个地方品种的鳞茎淀粉粒形态特征
Fig. 3 Characteristics of starch grain in three bulbs of *Lilium brownii* var. *viridulum*



A: ‘江西’龙牙; B: ‘平头’龙牙; C: ‘大叶’龙牙。
A: ‘Jiangxi’; B: ‘Pingtou’; C: ‘Daye’.

图4 龙牙百合3个地方品种的染色体形态
Fig. 4 Chromosome morphology in three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

2.2.2 核型分析

‘江西’龙牙染色体数目为 $2n = 2x = 24$ ，为二倍体，核型公式为 $2n = 2x = 24 = 2m(2SAT) + 6sm(2SAT) + 12st(4SAT) + 4t$ 。最长与最短染色体的比值为 2.02，臂比值大于 2:1 的染色体占全部染色体的 93.33%，核型不对称系数为 77.20%，属于 3B 型(图 5: A)。第 1 对是中部 (m) 着丝点区且染色体长臂上都带有随体，第 2、

3、4 对是亚中部 (sm) 着丝点区且第 4 对染色体长臂上带有随体，第 5、6、7、8、9、10 对是亚端部 (st) 着丝点区且第 7、第 8 对染色体长臂上带有随体，第 11、第 12 对是端部 (t) 着丝点区(表 3)。

‘平头’龙牙的染色体数目也为 $2n = 2x = 24$ ，为二倍体，核型公式为 $2n = 2x = 24 = 4m + 8sm + 10st(4SAT) + 2t$ 。最长与最短的染色体比值为 2.22，臂比值大于 2:1 的染色体占全部染色

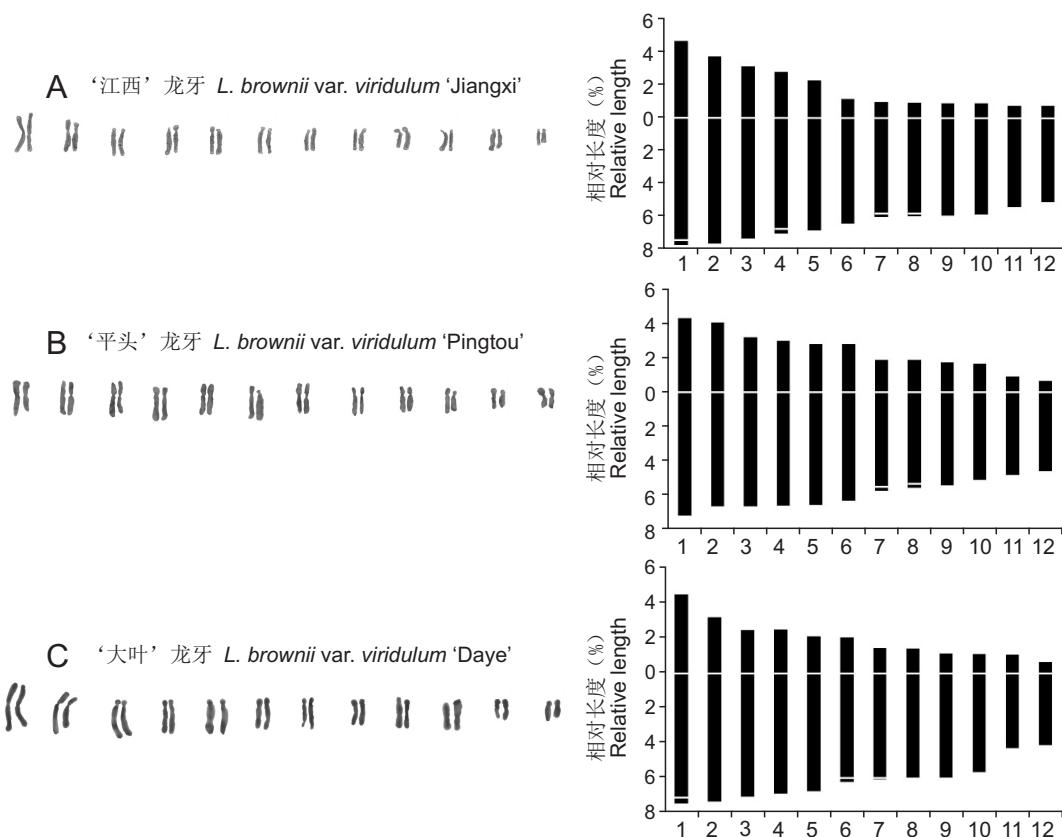


图5 龙牙百合3个地方品种的核型模式图
Fig. 5 Idiograms of three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

体的83.33%，核型不对称系数为71.40%，属于3B型(图5: B)。第1、第2对是中部(m)着丝点区，第3、4、5、6对是亚中部(sm)着丝点区，第7、8、9、10、11对是亚端部(st)着丝点区且第7、第8对染色体长臂上带有随体，第12对是端部(t)着丝点区(表3)。

‘大叶’龙牙的染色体数目也为 $2n=2x=24$ ，为二倍体，核型公式为 $2n=2x=24=2m(2SAT)+6sm+14st(4SAT)+2t$ 。最长与最短染色体的比值为3.16，臂比值大于2:1的染色体占全部染色体的93.33%，核型不对称系数为76.87%，属于3B型(图5: C)。第1对是中部(m)着丝点区且染色体长臂上带有随体，第2、3、4对是亚中部(sm)着丝点区，第5、6、7、8、9、10、11对是亚端部(st)着丝点区且第6、第7对染色体长臂上带有随体，第12对是端部(t)着丝点区(表3)。

3 讨论

植物形态学特征记录简便易行，能直观地表现

个体或群体的差异，已经广泛应用于物种遗传多样性、种质资源鉴定和育种材料的选择等方面^[11, 21, 22]。植物叶表皮微形态特征可为属内种的亲缘关系和种间分化提供有价值的依据，同时也适合于某些属的种下分类^[23, 24]。研究发现，百合野生种群形态及遗传多样性普遍存在，如野百合和宜昌百合(*L. leucanthum* (Baker) Baker)^[25]野生种群的形态变异丰富，不同居群山丹的花器官和果实形态性状具有一定差异^[13, 26]。种内不同居群间显著的表型差异表明百合对生境的适应范围较广、环境对该物种的形态可塑性较高。

龙牙百合3个地方品种从形态学上一些指标来看已产生了一定差异，如‘江西’龙牙种球重量和周长明显大于‘平头’龙牙和‘大叶’龙牙，而两者间无显著差异；‘江西’龙牙鳞茎的中外层鳞片长度和重量均显著大于‘平头’龙牙，‘江西’龙牙的中外层鳞片长宽比显著大于‘平头’龙牙和‘大叶’龙牙，后两者间差异不显著。从微形态指标上看同样有一定差异，如‘江西’龙牙花粉粒径明显大于其他2个品种，而‘江西’龙牙叶下表皮气孔长

表3 龙牙百合3个地方品种的染色体参数
Table 3 Chromosome parameters of three local varieties of *Lilium brownii* var. *viridulum*

材料 Material	染色体序号 Chromosome number	相对长度(%) Relative length	相对长度系数 Relative length coefficient	相对长度的分类 Relative length classification	臂比值 Arm ratio	类型 Type
‘江西’龙牙 <i>L. brownii</i> var. <i>viridulum</i> ‘Jiangxi’	1	7.74 + 4.67 = 12.41	1.49	L	1.66	m*
	2	7.62 + 3.72 = 11.34	1.36	L	2.05	sm
	3	7.33 + 3.14 = 10.47	1.26	L	2.33	sm
	4	7.02 + 2.78 = 9.80	1.18	M2	2.53	m*
	5	6.82 + 2.26 = 9.08	1.09	M2	3.03	st
	6	6.42 + 1.13 = 7.55	0.91	M1	5.68	st
	7	5.99 + 0.97 = 6.96	0.84	M1	6.18	st*
	8	5.98 + 0.91 = 6.89	0.83	M1	6.57	st*
	9	5.91 + 0.89 = 6.80	0.82	M1	6.68	st
	10	5.85 + 0.87 = 6.72	0.81	M1	6.70	st
	11	5.42 + 0.75 = 6.17	0.74	S	7.24	t
	12	5.09 + 0.72 = 5.81	0.70	S	7.06	t
‘平头’龙牙 <i>L. brownii</i> var. <i>viridulum</i> ‘Pingtou’	1	7.19 + 4.26 = 11.45	1.38	L	1.68	m
	2	6.67 + 4.01 = 10.68	1.28	L	1.66	m
	3	6.64 + 3.15 = 9.79	1.18	M2	2.11	sm
	4	6.62 + 2.95 = 9.57	1.15	M2	2.24	sm
	5	6.57 + 2.79 = 9.36	1.13	M2	2.36	sm
	6	6.34 + 2.78 = 9.12	1.10	M2	2.28	sm
	7	5.77 + 1.86 = 7.63	0.92	M1	3.10	st*
	8	5.59 + 1.84 = 7.43	0.89	M1	3.04	st*
	9	5.43 + 1.72 = 7.15	0.86	M1	2.98	st
	10	5.13 + 1.62 = 6.75	0.81	M1	3.17	st
	11	4.82 + 0.89 = 5.71	0.69	S	5.41	st
	12	4.61 + 0.64 = 5.25	0.63	S	7.15	t
‘大叶’龙牙 <i>L. brownii</i> var. <i>viridulum</i> ‘Daye’	1	7.48 + 4.46 = 11.94	1.47	L	1.67	m*
	2	7.39 + 3.15 = 10.54	1.30	L	2.35	sm
	3	7.12 + 2.41 = 9.53	1.16	M2	2.95	sm
	4	6.92 + 2.47 = 9.39	1.09	M2	2.80	sm
	5	6.78 + 2.06 = 8.84	1.02	M2	3.29	st
	6	6.26 + 1.99 = 8.25	0.99	M1	3.14	st*
	7	6.11 + 1.42 = 7.53	0.91	M1	4.30	st*
	8	6.02 + 1.37 = 7.39	0.89	M1	4.39	st
	9	6.01 + 1.08 = 7.09	0.87	M1	5.56	st
	10	5.69 + 1.07 = 6.76	0.83	M1	5.32	st
	11	4.34 + 1.01 = 5.35	0.66	S	4.29	st
	12	4.15 + 0.59 = 4.74	0.58	S	7.02	t

注: L、S、M1 和 M2 分别表示长染色体、短染色体、中短染色体和中长染色体。* 表示随体随长度计人。

Notes: L, S, M1, and M2 are long chromosome, short chromosome, medium-short chromosome, and medium-long chromosome, respectively. * indicates chromosome satellite is involved in relative length.

宽比与‘平头’龙牙接近, 但明显大于‘大叶’龙牙; 三者淀粉粒的螺纹形态没有明显区别, 但是‘江西’龙牙的淀粉粒大小分布最为均匀。通过分析众多形态和微形态指标发现, 只有鳞茎的中外层鳞片长度、重量和叶下表皮气孔长度指标在龙牙百合3个地方品种间差异显著, 可以作为品种鉴定的可靠依据, 而其他指标可以作为辅助参考。

染色体核型表示个体或物种细胞内染色体的组成和染色体形态, 对研究生物的遗传变异、系统演化、种质资源鉴定及居群亲缘关系等都有重要意义^[27], 植物种内染色体核型的差异是环境因素和结构变异共同作用的结果^[21]。百合属植物的染色体通常较大, 染色体基数 $X = 12$, 以二倍体 ($2n = 2x = 24$) 最为常见, 该属的核型也比较稳

定, 目前仅在卷丹(*L. lancifolium* Thunb.)、川百合(*L. davidii* Duchartre ex Elwes)等少数种中发现三倍体($2n = 2x = 36$)^[28]。本研究中龙牙百合3个地方品种都为二倍体, 且核型都为3B型, 有至少两对近中部或中部染色体, 其余全由亚端部或端部组成, 总体符合百合属植物所具有的共同特征, 但三者染色体的相对长度、臂比、次缢痕数目及分布等结构变异明显。

龙牙百合的遗传多样性是环境因子和人工选择的结果。最初分布广泛的龙牙百合染色体分化极可能是环境因子的差异造成的, 后来不同产地在生产中以分球或鳞片扦插等无性繁殖方式为主, 这有利于不同群体保存其染色体所发生的结构变异, 从而使龙牙百合3个地方品种间存在明显的核型变化^[12]。本栽培试验中发现‘江西’龙牙长势最好, 其次是‘大叶’龙牙, 最差的是‘平头’龙牙, 这与民间口传描述的特点基本吻合。‘江西’龙牙的核型不对称系数最高为77.20%, 其次是‘大叶’龙牙为76.87%, ‘平头’龙牙最低为70.40%。根据被子植物核型不对称系数越大其进化程度也越高的理论^[8], 龙牙百合3个地方品种的进化程度为‘江西’龙牙>‘大叶’龙牙>‘平头’龙牙。可见龙牙百合的核型对称性(进化程度)与生长势呈明显的正相关。本研究可为龙牙百合的系统区分提供重要的参考资料。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第14卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1980: 121-124.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 123.
- [3] 傅春燕, 刘永辉, 李娟娟, 王晓慧, 唐虹, 尹文清. 紫外可见分光光度法测定不同产地龙牙百合中皂苷含量[J]. 广东微量元素科学, 2011, 18(5): 55-58.
- Fu CY, Liu YH, Li MJ, Wang XH, Tang H, Yin WQ. Determination of the content of total saponins in *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker by UV spectrophotometry [J]. *Guangdong Weiliang Yuansu Kexue*, 2011, 18(5): 55-58.
- [4] 唐湘伟. 高效液相色谱法检测不同采收期邵阳龙牙百合的秋水仙碱含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(5): 1013-1016.
- Tang XW. Determination of colchicine content in Shaoyang *Lilium brownii* var. *viridulum* with different harvest time by high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2018, 9(5): 1013-1016.
- [5] 薛梅, 李晓英, 周卫平. 龙牙百合叶总黄酮提取工艺及抗氧化性研究[J]. 北方园艺, 2016(11): 127-130.
- Xue M, Li XY, Zhou WP. Study on extraction technology and antioxidant property of total flavonoids from *Lilium brownii* var. *viridulum* leaves [J]. *Northern Horticulture*, 2016(11): 127-130.
- [6] 陈小蒙, 刘成梅, 刘伟. 龙牙百合多糖的纯化及其分子量的测定[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 305-307.
- Chen XM, Liu CM, Liu W. Purification and molecular weight determination of *Longya lilium* polysaccharide [J]. *Food Science*, 2008, 29(11): 305-307.
- [7] 孙双姣, 简红霞, 刘梯楼. 药用龙牙百合中微量元素含量测定[J]. 广东微量元素科学, 2010, 17(11): 50-54.
- Sun SJ, Jian HX, Liu TL. Determination of the content of trace elements in *Longya lily* [J]. *Guangdong Weiliang Yuansu Kexue*, 2010, 17(11): 50-54.
- [8] 李润根, 曾巧灵, 罗霞. 龙牙百合生殖特性及繁育规律[J]. 北方园艺, 2017(5): 93-96.
- Li RG, Zeng QL, Luo X. Reproduction characteristics and rule of *Lilium brownii* var. *viridulum* [J]. *Northern Horticulture*, 2017(5): 93-96.
- [9] 李润根, 杨世平, 王小文. 万载百合及其栽培技术[J]. 中国蔬菜, 1995, 15(4): 42-43.
- Li RG, Yang SP, Wang XW. ‘Wanzai’ lily and its cultivation techniques [J]. *China Vegetables*, 1995, 15(4): 42-43.
- [10] 刘中阳. 邵阳龙牙百合鳞片繁殖技术研究及应用[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
- [11] 彭丽平, 成仿云, 钟原, 徐兴兴, 鲜宏利. 凤丹栽培群体的表型变异研究[J]. 植物科学学报, 2018, 36(2): 170-180.
- Peng LP, Cheng FY, Zhong Y, Xu XX, Xian HL. Phenotypic variation in cultivar populations of *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang [J]. *Plant Science Journal*, 2018, 36(2): 170-180.
- [12] 李璇, 段青, 王祥宁, 崔光芬, 贾文杰, 马璐琳, 等. 云南泸定百合12个野生居群的核型研究[J]. 园艺学报, 2014, 41(5): 935-945.
- Li X, Duan Q, Wang XN, Cui GF, Jia WJ, Ma LL, et al. Karyotypes of 12 wild populations of *Lilium sargentiae* from Yunnan Province [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(5): 935-945.
- [13] 杨利平. 不同种源细叶百合生殖器官形态及核型变异[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(11): 56-58, 65.
- Yang LP. Karyotype and reproductive organs diversity on different sources of *Lilium pumilum* [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2013, 41(11): 56-58, 65.
- [14] 李恩香, 黄玉琴, 蒋满英, 方明, 付晨熙, 杨柏云. 江西省龙牙百合种质资源遗传多样性研究[J]. 园艺学报, 2010, 37(5): 811-816.

- Li EX, Huang YQ, Jiang MY, Fang M, Fu CX, Yang BY. ISSR analysis of genetic diversity of *Lilium brownii* var. *viridulum* Baker in Jiangxi Province [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(5): 811–816.
- [15] 刘冬云, 张晓曼, 李艳, 史宝胜. 不同居群山丹的核型分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(1): 199–204.
- Liu DY, Zhang XM, Li Y, Shi BS. Karyotype analysis of different populations of *Lilium pumilum* DC [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(1): 199–204.
- [16] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型的标准化问题 [J]. 武汉植物研究, 1985, 3(4): 297–302.
- Li MX, Chen RY. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1985, 3(4): 297–302.
- [17] 张凯丽, 刘辉. 一种确定染色体图像着丝点位置的方法 [J]. 昆明理工大学学报(自然科学版), 2001(3): 110–113.
- Zhang KL, Liu H. A method of obtaining the centromere index in chromosome images [J]. *Journal of Kunming University of Science and Technology (Natural Sciences Edition)*, 2001(3): 110–113.
- [18] Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201–220.
- [19] Stebbins GL. Chromosomal Evolution in Higher Plant [M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971: 87–89.
- [20] 沈云光, 王仲朗, 管开云. 国产13种鸢尾属植物的核型研究 [J]. 植物分类学报, 2007, 45(5): 601–618.
- Shen YG, Wang ZL, Guan KY. Karyotypical studies on thirteen *Iris* plants from China [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2007, 45(5): 601–618.
- [21] 杨艳, 刘强, 尹翔, 陈景震, 蒋丽娟. 湖南白檀居群形态多样性及与环境的相关性 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(1): 80–86.
- Yang Y, Liu Q, Yin X, Chen JZ, Jiang LJ. Phenotypic diversity and environment relations in *Symplocos paniculata* of Hunan [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(1): 80–86.
- [22] 罗刚军, 肖月娥, 徐文姬, 毕晓颖, 李卉, 廉笑音, 等. 3种花色野鸢尾形态性状变异及染色体核型分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(2): 266–272.
- Luo GJ, Xiao YE, Xu WJ, Bi XY, Li H, Lian XY, et al. Studies on morphological variations and karyotypes of three *Iris dichotoma* accessions with different flower colors [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(2): 266–272.
- [23] 李晓霞, 杨虎彪, 范志伟, 黄乔乔, 刘丽珍, 程汉亭. 海南莎草属植物叶下表皮微形态的研究 [J]. 植物研究, 2012, 32(3): 260–265.
- Li XX, Yang HB, Fan ZW, Huang JJ, Liu LZ, Cheng HT. Leaf abaxial epidermis structures of *Cyperus* from Hainan [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2012, 32(3): 260–265.
- [24] 王虹, 张卫红, 魏晓丽, 邹星月, 苏迈艳, 王咏星. 新疆12种黄芩属植物叶表皮微形态结构的研究 [J]. 西北植物学报, 2013, 33(5): 952–962.
- Wang H, Zhang WH, Wei XL, Zou XY, Su MY, Wang YX. Leaf epidermal micro-morphology structures of twelve species of *Scutellaria* L. from Xinjiang [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 2013, 33(5): 952–962.
- [25] 向地英, 张延龙, 牛立新. 秦巴山区及毗邻地区野生百合的形态多样性研究 [J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(4): 385–388.
- Xiang DY, Zhang YL, Niu LX. Study on morphological diversity of wild lily from Qinba Mountain and its adjacent area [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2005, 23(4): 385–388.
- [26] 刘冬云, 刘燕. 山丹不同居群花器官的形态多样性研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6): 997–1004.
- Liu DY, Liu Y. Floral diversity of the different populations of *Lilium pumilum* DC [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13(6): 997–1004.
- [27] 袁艺, 王莲, 王小娟. 不同居群鱼腥草的核型比较 [J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1377–1383.
- Yuan Y, Wang L, Wang XJ. Comparative analysis on karyotype of different populations of *Houttuynia cordata* Thunb [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008, 35(9): 1377–1383.
- [28] 王斐, 胡凤荣. 百合染色体细胞学研究进展 [J]. 分子植物育种, 2012, 10(5): 620–627.
- Wang F, Hu FR. Cytological progress of the chromosome analysis in *Lilium* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2012, 10(5): 620–627.

(责任编辑: 张平)