

濒危植物矮沙冬青减数分裂期染色体行为的观察

宋娟娟 唐源江 廖景平* 葛学军

(中国科学院华南植物研究所, 广东 广州 510650)

摘要: 用涂片法和酶解法, 观察了濒危植物矮沙冬青的减数分裂过程。在减数分裂双线期末或终变期初, 可以观察到 9 个二价体, 在中期 I 末至后期 I 初, 同源染色体基本排列在赤道板上, 然后在纺锤丝的牵引下二价体的两条同源染色体分开, 分别移向两极, 每一极有 9 条染色体, 从而确认该属植物的染色体基数为 $x=9$ 。在矮沙冬青减数分裂过程中, 没有发现染色体有异常行为, 认为其小孢子形成过程正常。因此认为矮沙冬青濒危不是染色体行为异常和小孢子发育不正常而造成的。

关键词: 濒危植物; 矮沙冬青; 减数分裂

中图分类号: Q949.751.904 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-3395 (2003) 02-0166-03

Observation on the Chromosome Behavior at Meiosis of *Ammopiptanthus nanus*

SONG Juan-juan TANG Yuan-jiang LIAO Jing-ping* GE Xue-jun

(South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The meiosis of *Ammopiptanthus nanus*, an endangered species of Leguminosae, was observed under Olympus Vanox microscope. The materials collected from Wuqia County in Uygur Autonomous Region of Xinjiang were fixed in Carnot's fluid, then washed in absolute ethanol and preserved in 75% ethanol. Slide specimens were prepared by smear method and enzyme-disaggregated method. There are nine bivalents in pollen mother cells at late diplotene or early diakinesis, and the homologous chromosomes essentially arrange on the equatorial plate at late metaphase I or early anaphase I, then the two homologous chromosomes of each bivalent separate from each other and move to two opposite poles drawn by spindle fibers. Nine chromosomes at each pole are observed, therefore the basic chromosome number of this species should be $x=9$. In addition, abnormal behavior of chromosome is not found in the process of meiosis, so the development of microspores is regarded as normal. It is suggested that the endangerment of the species is not related to the chromosome behavior.

Key words: Endangered plant; *Ammopiptanthus nanus*; Meiosis

矮沙冬青 (*Ammopiptanthus nanus* (M. Pop.) Cheng f.) 隶属于豆科 (Leguminosae) 沙冬青属 (*Ammopiptanthus*), 该属仅含两个种, 即矮沙冬青 (*A. nanus*) 和沙冬青 [*A. mongolicus* (Maxim. Ex Kom.) Cheng f.], 为第三纪孑遗种, 被列为国家一级保护植物^[1]。迄今为止, 国内外关于沙冬青属植物的报道多集中于其抗寒、抗旱机理及与之相关的超微结构的

观察^[2-4], 对其染色体数目及核型也有一些报道^[5-14], 但未见减数分裂期染色体行为的报道。本文对矮沙冬青的减数分裂过程进行了观察分析, 为进一步确认沙冬青属植物的染色体基数, 为探讨该属植物的起源和濒危原因积累细胞学资料。

1 材料和方法

材料采自新疆维吾尔自治区乌恰县巴音库鲁提 (39° 50' N, 75° 35' E, 2 100 m) 和膘尔托阔依 (39° 30' N, 74° 51' E, 2 700 m)。凭证标本: 葛学军

收稿日期: 2002-10-28 接受日期: 2003-02-24

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向性项目 (KSCX2-SW-104); 广东省环保局科技开发项目 (970165)。

* 通讯作者 Corresponding author

075, 存中国科学院华南植物研究所标本馆(IBSC)。玻片凭证标本(slide specimens): 唐源江、宋娟娟等 02-1、02-2, 存中国科学院华南植物研究所结构发育研究组标本室。供试材料采集后用卡诺液固定, 然后转入 75% 酒精中保存, 待检。

制片采用两种方法: 1. 涂片法: 水洗后, 将花药内含物挤压到载玻片上, 用醋酸-地衣红染色, 轻压盖玻片以保持细胞的形状不变。压好后的材料用 Olympus Vanox 显微镜镜检, 拍照。2. 酶解法, 参考庄东红等所用方法^[5]: 水洗后, 将花药置于纤维素酶和果胶酶混合液中, 37℃ 保温、保湿 2 h, 洗去酶液, 制片, 晾干后用 3% 的 Gimesa 染液染色, 镜检、拍照。

2 观察结果

观察发现, 采自新疆两地的材料在减数分裂期染色体行为无差异, 因此以下描述均为对采自臧尔托阔依的材料的结果。

在减数分裂粗线期, 矮沙冬青的染色体呈线状, 相互缠绕(图版 I: 1)。在双线期末或终变期初, 可以看到有 9 个二价体(图版 I: 2)。在中期 I 末或后期 I 初, 同源染色体基本排列在赤道板上(图版 I: 3), 然后在纺锤丝的牵引下, 二价体的两条同源染色体彼此分开, 分别移向两极(图版 I: 4, 5), 同源染色体分离正常, 每一极有 9 条染色体(图版 I: 6)。第一次减数分裂完成后, 胞质不分裂, 形成双核细胞, 第二次分裂时, 花粉母细胞形成两个纺锤体, 两个子核同时分裂, 形成 4 个核, 染色体均等分向两极(图版 I: 7 为后期 II, 示两个子核分为 4 个; 图版 I: 8 为末期 II, 示 4 个子核), 其胞质分裂为同时型, 四核细胞最初为共同的胞质包围, 然后进行胞质分裂, 发育为小孢子四分体(图版 I: 9), 继而形成小孢子, 即花粉粒。花粉粒大小均匀, 染色时着色均匀, 籽粒饱满(图版 I: 10)。

3 讨论

3.1 沙冬青属植物的染色体基数

已经报道的沙冬青属植物的染色体数目列于表 1。潘伯荣^[5]等曾研究了沙冬青属两种植物矮沙冬青(*A. nanus*) 和沙冬青(*A. mongolicus*) 的染色体数及其核型, 认为它们的染色体数目均为 $2n=18$, 并与 Boczantseva^[6], Fedorov^[7]和 Goldblatt^[10,11]的报道进行了比较, 认为 Goldblatt 的报道有误, 造成这种失误的原因可能是由于核型中第 3 对染色体上带有一个长度超过短臂的随体, 该随体与短臂的联

系相当松散, 在制片过程中极易离开原位, 似游离状态而被误认为小染色体。另外, 潘伯荣等对沙冬青的观察结果与袁永明等^[12]及冯显逵等^[6]1987 年报道的数目相同, 但与冯显逵^[7]1988 年报道的 $2n=16$ 不同。因此认为不能简单地根据体细胞数目来确定它们的基数, 须通过减数分裂观察方可确定, 但没有进行有关的研究。我们通过观察矮沙冬青减数分裂过程及其染色体行为, 发现减数分裂终变期初, 可以看到有 9 个二价体(图版 I: 2)。中期 I 末至后期 I 初, 同源染色体基本排列在赤道板上, 在纺锤丝的牵引下, 二价体的两条同源染色体分开, 分别移向两极, 每一极有 9 条染色体(图版 I: 3-6), 从而认为该属植物的染色体基数应为 $x=9$ 。Goldblatt^[13]1981 年报道矮沙冬青的染色体基数为 $x=10$, 我们认为这个报道有误, 原因同潘伯荣等的分析。而且在把矮沙冬青作为 *Piptanthus* 属的一个种时, Fedorov^[7]观察到的染色体基数也为 $x=9$ 。另外, 张寿洲^[14]等也报道过沙冬青的染色体基数为 $x=9$, 因此我们认为沙冬青属的染色体基数为 $x=9$, 与所属野决明族(*Thermopsidae*) 其它属(*Anagyris*, *Piptanthus*, *Thermopsis*, *Baptisia*) 的染色体基数相同^[13]。

表 1 沙冬青属植物的染色体数目
Table 1 Chromosome numbers of *Ammopiptanthus* species

名称 Species	染色体数目 Chromosome numbers		文献 References
	2n	n	
矮沙冬青	18		[5]
<i>A. nanus</i>	18		[8]
	18		[9]
	20		[10,11]
		10	[13]
		9	本文 This paper
沙冬青	18		[6]
<i>A. mongolicus</i>	16		[7]
	18		[5]
	18		[12]
	18	9	[14]

3.2 沙冬青属植物濒危的原因

矮沙冬青和沙冬青是第三纪古老的孑遗种, 是我国新疆荒漠地区十分珍贵的残遗植物, 在研究新疆西南部荒漠地带植物区系的发生和发展以及古地理、古气候的变化等方面, 都有重要的科学价值。我国已将它列入第一批珍稀濒危保护植物^[1]。由于其特有的地理分布及防风固沙和水土保持的重要

作用,一直以来受到极大的关注。研究者在沙冬青的花期物候特性、抗旱及抗寒生理、生态学特性及生殖生物学特性等方面做了大量的工作^[2-4]。然而导致沙冬青濒危的可能原因尚没有较为完善的解释。我们试图通过对矮沙冬青减数分裂期染色体行为的观察,来寻找其濒危是否存在内在因素,然而研究结果显示其减数分裂期染色体行为正常,在后期 I 和 II,染色体均能均等地分向两极,没有发现诸如染色体桥、落后染色体及不均等分裂等异常行为,而且其小孢子颗粒饱满,染色时着色均匀,因而就其小孢子形态来看不育的可能性微乎其微。可能正如刘果厚^[16]认为的那样,生态环境的恶化和落地种子不易获得适宜生长发育的条件是造成沙冬青衰落、稀有的重要原因!当然,最后的结论还需要在进行更深入而细致研究之后才能得出。

致谢:承蒙陈忠毅研究员提出宝贵意见,谨此致谢!

参考文献

- [1] National Environment Protection Bureau (国家环境保护局), Institute of Botany, Academia Sinica (中国科学院植物研究所). The Rare and Endangered Plants of China [M]. Shanghai: Shanghai Educational Press, 1989. 183-185. (in Chinese)
- [2] Han S H (韩善华), Wang S (王双). Electron microscopic observation on mitochondria of an especial cold-hardened plant in winter [J]. Acta Bot Broeali-occidentalia Sin (西北植物学报), 2000, 20(4):539-543. (in Chinese)
- [3] Xu S J (徐世健), An L Z (安黎哲), Feng H Y (冯虎元), et al. Comparative study on drought resistance indexes of two desert plants [J]. Acta Bot Broeali-occidentalia Sin (西北植物学报), 2000, 20(2):224-228. (in Chinese)
- [4] Yin L K (尹林克), Wang Y (王焯). Preliminary study on the phonological characteristics of *Ammopiptanthus* during flowering period [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 1993, 10(2):54-56. (in Chinese)
- [5] Pan B R (潘伯荣), Huang S F (黄少甫). A cytological study of the genus *Ammopiptanthus* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1993, 35(4): 24-31. (in Chinese)
- [6] Feng X K (冯显逵), Song Y X (宋玉霞). A primary report of the chromosome numbers of the shrubs of Ningxia [J]. Ningxia J Agri For Sci Techn (宁夏农林科技), 1987, (1):28-29. (in Chinese)
- [7] Feng X K (冯显逵), Song Y X (宋玉霞). The karyotypes of *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. Ningxia J Agri For Sci Techn (宁夏农林科技), 1988, (3):29. (in Chinese)
- [8] Boczantseva V V. Chromosome numbers of two shrubs from the family Leguminosae [J]. Bot Zh, 1976, 61:1441.
- [9] Fedorov A N. Chromosome Numbers of Flowering Plant [M]. Leningrad: Acad. Sci U S S R, Komarov Botanical Institute, 1969. 314.
- [10] Goldblatt P. Index to plant chromosome numbers for 1975-1978 [J]. Missouri Bot Gard, 1981, 220.
- [11] Goldblatt P. Index to plant chromosome numbers for 1982-1983 [J]. Missouri Bot Gard, 1985, 173.
- [12] Yuan Y M (袁永明), Peng Z X (彭泽祥), Ren T G (任廷国). The chromosome numbers of several species of Lanzhou and its near area [J]. J Northwestern Teach Coll (西北师范学院学报), 1988, (专辑 1 号):58-63. (in Chinese)
- [13] Goldblatt P. Cytology and phylogeny of Leguminosae [A]. In: Polhill R M, Raven P H. Advances in Legume Systematics Part II [C]. Richmond: Roy Bot Gard Kew, 1981. 427-463
- [14] Zhang S Z (张寿洲), Cao R (曹瑞). Study on chromosome number and karyotype of *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. Acta Phytotaxon Sin (植物分类学报), 1990, 28 (2):133-135. (in Chinese)
- [15] Zhuang D H (庄东红), Masashi Ishida (石田雅士). Investigation on meiosis and microsporegenesis in *Diosphyros kaki* L. [J]. J Wuhan Bot Res (武汉植物学研究), 2000, 18(5):356-358.
- [16] Liu G H (刘果厚). Study on the endangered reasons of *Ammopiptanthus mongolicus* in the desert of Alashan [J]. Bull Bot Res (植物研究), 1998, 18(3):341-345. (in Chinese)

图版说明

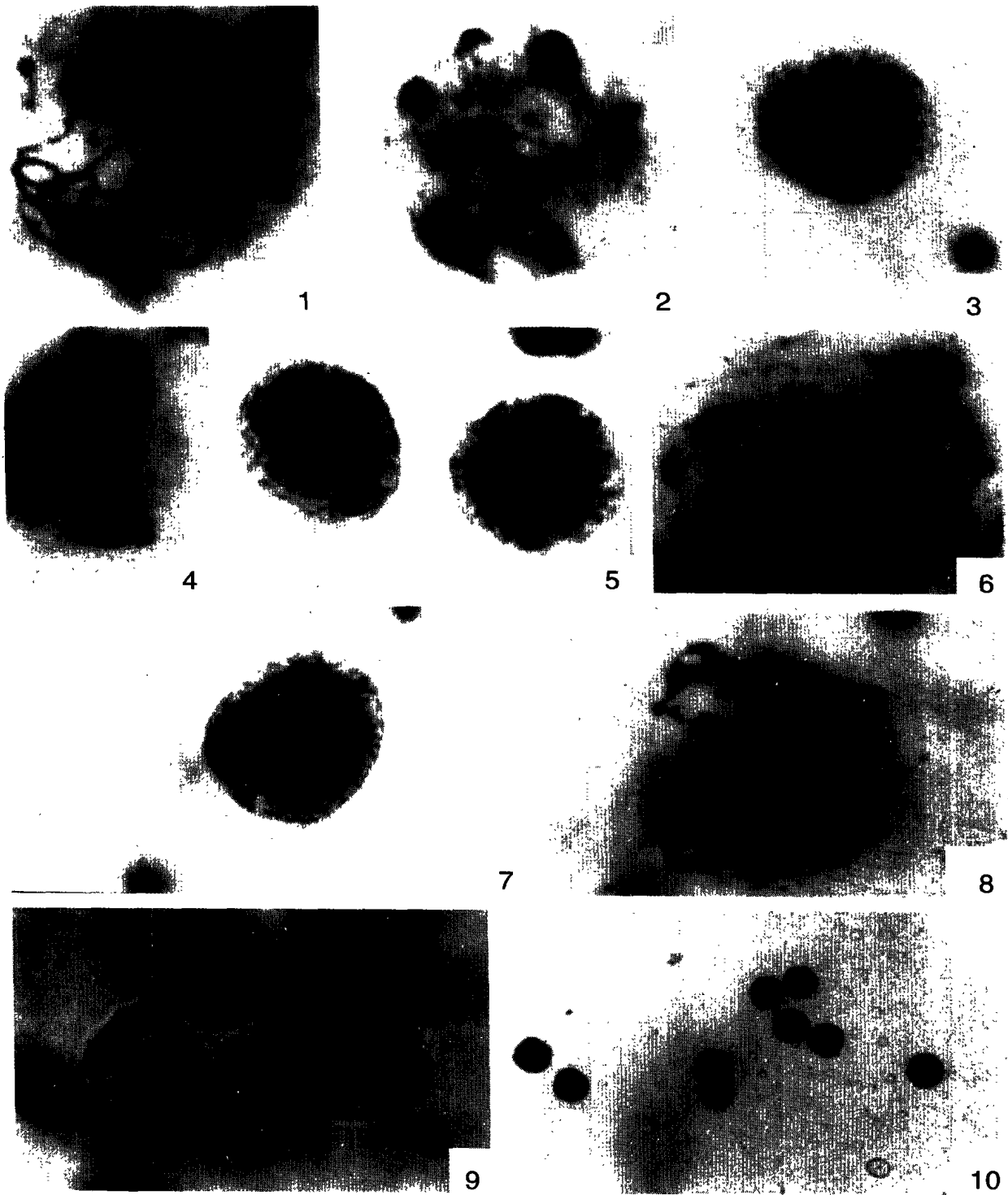
图版 I

1. 粗线期;
 2. 双线期末或终变期初, 示 9 个二价体;
 3. 中期 I 末或后期 I 初, 示染色体排列在赤道板上;
 - 4, 5. 后期 I, 示同源染色体分向两极;
 6. 末期 I, 示每一极有 9 条染色体;
 7. 后期 II, 正常分裂的 PMC, 形成两个纺锤体;
 8. 末期 II, 示四个子核;
 9. 四分体期;
 10. 花粉粒;
- 1-8, ×1620; 9, 10, ×648.

Explanation of plate

Plate I

1. Pachytene;
 2. Late diplotene or early diakinesis, showing 9 bivalents;
 3. Late metaphase I or early anaphase I, showing homologous chromosomes arranged on the equatorial plate;
 - 4, 5. Anaphase I, showing homologous chromosomes separated from each other and moved to two opposite poles drawn by the spindle fibers;
 6. Telophase I, showing 9 chromosomes in each pole;
 7. Anaphase II, showing regular segregation of the PMC and two spindles;
 8. Telophase II, showing 4 nuclei;
 9. Stage of tetrad;
 10. Pollen grains.
- 1-8, ×1620; 9, 10, × 648



See explanation at the text