

短葶飞蓬减数分裂、雄配子体发育过程 及其花部形态特征

董志渊,王馨,李林玉,杨斌,严世武,杨丽英,李绍平*

(云南省农业科学院药用植物研究所, 昆明 650223)

摘要: 运用压片-透明法对短葶飞蓬(*Erigeron breviscapus*)小孢子母细胞减数分裂、雄配子体的发育过程进行了观察,并探讨了它们与花部形态特征的关系。结果表明,短葶飞蓬小孢子母细胞减数分裂的胞质分裂为同时型,四分体主要为四面体型,成熟花粉为3-细胞型;花序和花蕾形态变化与减数分裂、雄配子体的发育时期具有一定相关性,其中花蕾的长度可有效确定该花蕾中减数分裂与雄配子体发育时期。

关键词: 短葶飞蓬; 减数分裂; 雄配子体发育; 花部形态特征

中图分类号: Q949.783.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2010)06-0685-04

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2010.06.016

Meiosis, Male Gametophyte Development and Flower Morphology of *Erigeron breviscapus*

DONG Zhi-yuan, WANG Xin, LI Lin-yu, YANG Bin, YAN Shi-wu, YANG Li-ying, LI Shao-ping*

(Institute of Medical Plant, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: The meiosis and male gametophyte development of *Erigeron breviscapus* were observed by using squash and transparent preparation technology, and the relationship between the development stage and the flower morphological characteristics was discussed. The results showed that cytokinesis of microspore mother cells in meiosis was simultaneous type, tetrad was tetrahedral, and mature pollen grain was 3-celled. The morphological characteristics of inflorescence and bud had relation to process of meiosis and male gamete development. The stages of meiosis and male gametophyte development could be distinguished according to the length of bud.

Key words: *Erigeron breviscapus*; Meiosis; Male gametophyte development; Flower morphological characteristic

短葶飞蓬(*Erigeron breviscapus*)又名灯盏花,为菊科(Compositae)飞蓬属多年生草本植物,以全草入药,始载于《滇南本草》,云南民间使用历史悠久,目前已载入《中华人民共和国药典》。短葶飞蓬所含的总黄酮及灯盏乙素是主要有效成分,可扩张脑血管,增加脑血流量,改善微循环,并有对抗血小板聚集作用,可用于治疗缺血性脑血管疾病,如脑血栓、脑栓塞、脑溢血等^[1]。

短葶飞蓬主要分布在云南、湖南、广东、广西、

贵州、四川等省(区)^[2],其中云南产的短葶飞蓬品质最佳、产量最大,约占全国短葶飞蓬资源蕴藏总量的95%,是云南重要的天然药用植物和道地药材,现已列为云南省重点发展的五大系列药品之一^[3],国家已对云南省红河地区种植的短葶飞蓬实施地理标志产品保护。目前对短葶飞蓬的研究集中于生态学、引种栽培和组织培养等方面。李鹏和党承林^[4]通过野外观察,运用杂交指数、花粉/胚珠比、套袋实验等方法对短葶飞蓬的花部综合特征与

收稿日期: 2009-12-16

接受日期: 2010-05-07

基金项目: 云南省重点产业创新工程项目(2008IF024)资助

作者简介: 董志渊,男,博士,主要从事药用植物品种选育与繁育研究, email: yndongzhiyuan@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, email: kmkhp@126.com

繁育系统进行研究。但关于短葶飞蓬有性生殖过程和育种研究的报道较少。本研究运用压片-透明技术对短葶飞蓬小孢子母细胞减数分裂、雄配子体发育的细胞学过程及其与花部形态的对应关系进行研究,为短葶飞蓬生殖生物学研究以及育种研究提供依据。

1 材料和方法

材料为云南省农业科学院药用植物研究所从云南省昆明、红河地区引种栽培的短葶飞蓬(*Erigeron breviscapus*)植株。

2009 年 2~9 月,选取直径 1~3 cm 的花序,采用压片法对短葶飞蓬花蕾小孢子母细胞减数分裂和雄配子体发育进行细胞学观察,共观察花蕾约 100 个。采用卡诺氏固定液 I (无水酒精: 冰醋酸 = 3: 1)固定花序 12~24 h,测定花蕾长度,解剖镜下取出花药,用卡宝品红染液染色 5 min,压片,在光学显微镜下进行减数分裂细胞学观察。采用卡诺氏固定液 II (无水酒精: 冰醋酸: 氯仿 = 6: 1: 3)固定花序 12~24 h,媒染剂 4% 硫酸铁铵染色 3 h,蒸馏水冲洗 2 h,0.5% 苏木精染色 2 h,45% 冰乙酸脱色和冬青油透明处理,测定花蕾长度后进行雄配子体发育细胞学观察。

2 结果

2.1 小孢子发生与雄配子体的发育过程

短葶飞蓬小孢子母细胞减数分裂主要分为前期 I (细线期、偶线期、粗线期、双线期、终变期)(图版 I: 1~5)、中期 I (图版 I: 6)、后期 I (图版 I: 7)、末期 I (图版 I: 8)、前期 II (图版 I: 9)、中期 II (图版 I: 10)、后期 II (图版 I: 11)、末期 II (图版 I: 12)和四分体时期(图版 I: 13)。短葶飞蓬的孢质分裂类型为同时型,即减数分裂第一次分裂后不形成细胞壁,第二次分

裂时,两个核同时进行分裂,分裂完成时在 4 个核之间产生壁,形成四面体;四分体类型为四面体型。

短葶飞蓬雄配子体的发育过程可分为 5 个时期:单核居中期(图版 I: 14);单核靠边期(图版 I: 15);双核初期,有丝分裂结束后形成 2 个子核(图版 I: 16),其中 1 个贴近花粉粒的壁,呈凸透镜状,即生殖核,另 1 个占有大部分细胞质,体积大,核位于花粉中央,为营养核,两核之间有明显的细胞壁(图版 I: 17);双核期(图版 I: 18);三核期:生殖细胞继续完成第二次有丝分裂(图版 I: 19),形成 3-细胞型成熟花粉,包括 1 个营养细胞和 2 个精子(图版 I: 20)。

2.2 花部形态特征与雄配子体发育过程的关系

研究表明,短葶飞蓬头状花序和花蕾的形态变化与小孢子母细胞减数分裂和雄配子体发育时期具有一定相关性。伴随小孢子发育,其头状花序的直径不断增加,舌状花瓣逐渐伸出,颜色由淡黄色向紫色转变,管状花发育顺序为从外部到中部,颜色由深绿色逐渐过渡为黄色。依据管状花的长度以及颜色可确定花蕾中小孢子减数分裂和雄配子的发育时期。当花蕾长度为 0~1 cm 时,38.00% 的花蕾处于减数分裂时期,50.75% 的花蕾处于四分体时期,11.25% 的花蕾处于单核居中期;花蕾长度为 2~3 cm 时,34.38% 的花蕾处于单核居中期,49.96% 的花蕾处于单核靠边期,15.67% 的花蕾处于双核期(表 1)。

3 讨论

本研究首次采用压片-透明技术,对短葶飞蓬的小孢子母细胞减数分裂和雄配子体发育过程进行了初步研究。结果表明,短葶飞蓬小孢子发育的胞质分裂为同时型,四分体为四面体型,成熟花粉为 3-细胞型,与革苞菊(*Tugarinovia mongolica*)等菊科植物类似^[5]。

表 1 短葶飞蓬花蕾长度与小孢子母细胞减数分裂、雄配子体发育时期的对应关系

Table 1 Relationship between bud length and stage of meiosis and male gametophyte development of *Erigeron breviscapus*

花蕾长度 Length of bud (cm)	减数分裂时期 Meiosis stage (%)	四分体时期 Tetrad stage (%)	单核居中期 Uniculate medial stage (%)	单核靠边期 Uniculate marginal stage (%)	双核期 Bilcate stage (%)	三核期 Trilete stage (%)
0~1	38.00	50.75	11.25	0.00	0.00	0.00
1~2	14.58	23.75	61.67	0.00	0.00	0.00
2~3	0.00	0.00	34.38	49.96	15.67	0.00
3~4	0.00	0.00	0.00	33.50	42.08	24.43
4~5	0.00	0.00	0.00	0.00	25.63	85.00

在花药培养、游离小孢子培养等研究中,小孢子的发育时期是影响诱导率的决定性因素之一^[6-7],其与花部形态特征的变化具有一定相关性^[8-9]。因此,利用植物的花部特征标记小孢子发育时期,可为花药培养、游离小孢子培养、未减数花粉人工诱导等研究的取材提供依据。韩秀丽等^[10]对新铁炮百合(*Lilium* × *formolongi*)小孢子发育进程进行了研究,确定与小孢子不同发育时期相对应的花蕾长度和花药颜色等外部形态特征,选择单核早、中期的花药进行培养,其愈伤组织诱导率明显高于其它发育时期。方淑桂等^[11]依据花蕾长度,以青花菜(*Brassica oleracea* var. *italica*)单核晚期和双核期的小孢子进行培养,显著提高胚状体的诱导率。董志渊和郭华青^[12]通过研究小花盾叶薯蓣(*Dioscorea parviflora*)穗状花序中小花间距与减数分裂时期的关系,选择减数分裂中期 I 的小花,利用秋水仙素成功诱导获得小花盾叶薯蓣未减数花粉。

本研究表明,短葶飞蓬头状花序的发育顺序为从外部到中部,其头状花序直径、舌状花的花瓣颜色、管状花的花瓣颜色以及花蕾长度等形态特征与小孢子母细胞减数分裂、雄配子体发育时期均有一定的相关性,其中管状花的长度与颜色可用于确定该花蕾的小孢子发育时期(减数分裂时期、四分体时期、单核居中期、单核靠边期、双核初期、双核期和三核期),当管状花长度为 2~3 cm 时,雄配子体主要处于单核中期和单核靠边期。菊科植物万寿菊(*Tagetes erecta*)的研究也获得类似结果,花蕾长度为 2.3~3 cm 时,雄配子体处于单核中晚期^[13]。因此,可利用花蕾长度等外部形态特征确定短葶飞蓬小孢子母细胞减数分裂和雄配子体发育的主要时期,为进一步开展短葶飞蓬游离小孢子培养、未减数花粉诱导等方面研究提供有效可行的形态指标。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典 一部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 100.

[2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴, 第 4 册 [M]. 北京: 科学出版社, 1975: 444.

[3] Qiu L (邱璐), Qu L J (瞿礼嘉), Yu H (虞泓), et al. Advances in studies on *Erigeron breviscapus* [J]. Chin Trad Herb Drug (中草药), 2005, 36(1): 141-144. (in Chinese)

[4] Li P (李鹏), Dang C L (党承林). Floral syndrome and breeding system of *Erigeron breviscapus* [J]. Acta Ecol Sin (生态学报),

2007, 27(2): 571-578. (in Chinese)

[5] Ma H (马虹), Wang Y C (王迎春), Cao R (曹瑞), et al. The embryological study of *Tugarinovia mongolica* I. Megasporogenesis, microsporogenesis and development of gametophytes [J]. Acta Bot Boreali-Occid Sin (西北植物学报), 2000, 20(3): 461-466. (in Chinese)

[6] Guo Y M (郭奕明), Yang Y G (杨映根), Guo Z C (郭仲琛). Current advances in anther culture and haploid breeding of maize [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 2001, 18(1): 23-30. (in Chinese)

[7] Cao L J (曹丽娟), Luan F S (栾非时), Li X X (李锡香). Advance on dissociative microspores cultivation of plant [J]. J NE China Agri Univ (东北农业大学学报), 2005, 36(5): 660-663. (in Chinese)

[8] 杨成民, 崔璐莹, 魏建和, 等. 3 种柴胡种质花器外观形态与小孢子发育时期关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(17): 2191-2193.

[9] Gao P (高鹏), Kang X Y (康向阳), Zhang P D (张平冬), et al. Corresponding relation between MMC and PMC meiosis of *Eucommia ulmoides* [J]. J Beijing For Univ (北京林业大学学报), 2006, 28(1): 60-64. (in Chinese)

[10] Han X L (韩秀丽), Tian X M (田晓明), Jia G X (贾桂霞). Induction of haploid plantlets for *Lilium* × *formolongi* [J]. Acta Hort Sin (园艺学报), 2010, 37(2): 263-268. (in Chinese)

[11] Fang S G (方淑桂), Chen W H (陈文辉), Zeng X L (曾小玲), et al. Several factors affecting isolated microspore culture in broccoli [J]. J Fujian Agri For Univ (Nat Sci) (福建农林大学学报: 自然科学版), 2005, 34(1): 51-55. (in Chinese)

[12] Dong Z Y (董志渊), Guo H C (郭华春). Inducement of unreduced pollen in *Dioscorea parviflora* [J]. J W China For Sci (西部林业科学), 2008, 37(3): 6-12. (in Chinese)

[13] Li F (李甫), Tang D C (唐道成), Liang S X (梁顺祥). Relationship between the male mate development and bud on *Tagetes erecta* [C]// Zhang Q X (张启翔). Advances in Ornamental Horticulture of China, 2007. Beijing: China Forestry Publishing House, 2007: 173-174. (in Chinese)

图版说明

图版 I

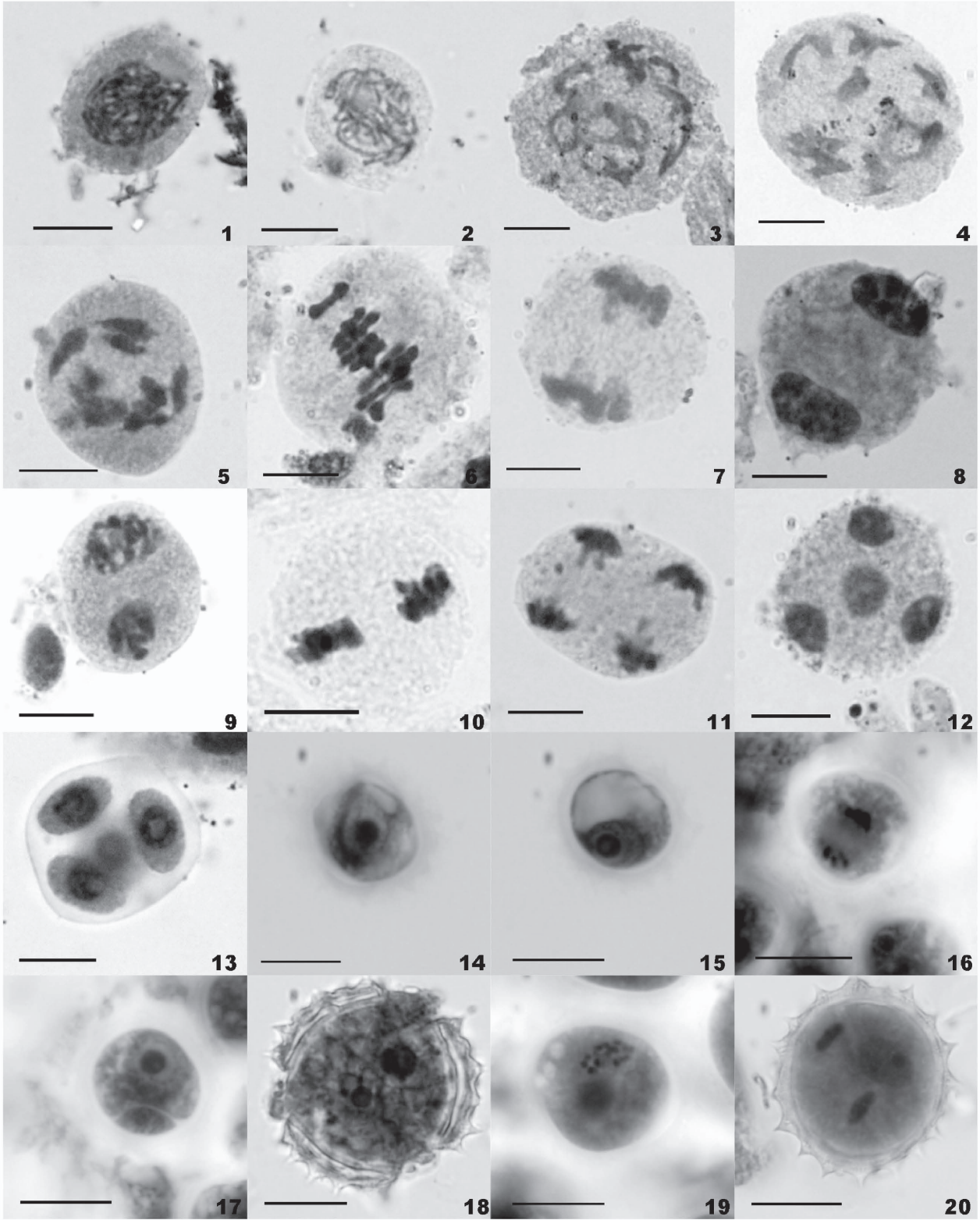
1~13: 短葶飞蓬小孢子母细胞减数分裂过程。1. 细线期; 2. 偶线期; 3. 粗线期; 4. 双线期; 5. 终变期; 6. 中期 I; 7. 后期 I; 8. 末期 I; 9. 前期 II; 10. 中期 II; 11. 后期 II; 12. 末期 II; 13. 四分体; 14~20: 雄配子体发育过程。14. 单核居中期; 15. 单核靠边期; 16. 第一次有丝分裂; 17. 双核初期; 18. 双核期; 19. 第二次有丝分裂; 20. 三核期。标尺 = 10 μm

Explanation of plate

Plate I

1~13: The meiosis of *Erigeron breviscapus* microspore mother cell. 1. Leptonene; 2. Zytonene; 3. Pachytene; 4. Diplotene; 5. Diakinesis; 6. Metaphase I; 7. Anaphase I; 8. Telophase I; 9. Prophase II; 10. Metaphase II; 11. Anaphase II; 12. Telophase II; 13. Tetrad; 14~20. The male gametophyte development of *Erigeron breviscapus*. 14. Uniclate medial stage; 15. Uniclate marginal stage; 16. The first

mitosis; 17. Pre-bileate stage; 18. Bileate stage; 19. The second mitosis; 20. Trileate stage. Bars = 10 μ m



董志渊等: 图版 I

DONG Zhi-yuan, et al.: Plate I