

段院生,朱 斌,舒少华,等. 药用植物湖北罗田苍术亚种的花粉母细胞减数分裂过程[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):273-274.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.098

# 药用植物湖北罗田苍术亚种的花粉母细胞减数分裂过程

段院生<sup>1,2</sup>, 朱 斌<sup>1</sup>, 舒少华<sup>1</sup>, 王 沫<sup>1</sup>

(1. 华中农业大学植物科学技术学院药用植物研究所,湖北武汉 430070; 2. 黄冈职业技术学院生物化工学院,湖北黄冈 438002)

**摘要:**药用植物湖北罗田苍术因其特有的形态和地理分布被划分为一个新亚种。对罗田苍术的花粉母细胞减数分裂过程进行了观察,结果表明,染色体( $2n=24$ )正常配对与分离,没有出现未配对染色体,在 2 次分裂后期和末期没有落后染色体及形成微核,最后产生较高比例的可育花粉。研究结果为罗田苍术的较高结实率及种子的高成活率提供了细胞学解释。

**关键词:**苍术;减数分裂;花粉母细胞;繁殖方式;花粉育性

**中图分类号:**S567.23<sup>+</sup>9.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0273-02

药用植物苍术(*Atractylodes lancea*)为菊科苍术属多年生草本植物,分布并栽培于我国的许多地区,收获其根状茎干燥后作药用。根茎含挥发油,主要成分为茅术醇、桉叶油醇、苍术酮等;可制成祛湿药、健脾药、解表药,主治湿困脾胃、胞痞腹胀、食欲不振、呕吐泄泻、湿肿、夜盲等症。湖北省罗田和英山一带的苍术植株、叶、头状花序及花的各部均较大,与其他地区的苍术有明显的形态和地理分布差异,罗田苍术含丰富的挥发油,含量比其他产地的高,因此被分为一个新亚种(*Atractylodes lancea* ssp. *luotianensis*)<sup>[1]</sup>。罗田苍术的特征是根状茎香味浓郁、横断面有橙黄色或棕红色油点,俗称“珠砂点”,于 2011 年获中国地理标志产品保护。近期细胞学研究表明,该地区苍术的染色体数为  $2n=24$ ,与其他地区的相同,但只有 1 对染色体的短臂上出现随体<sup>[2]</sup>,相关报道表明,相同染色体数的苍术均有 2 对染色体带有随体<sup>[3-4]</sup>。另用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术,在罗田苍术的染色体上检测到 1 对染色体带有 5S rDNA 位点,另外 2 对染色体带有 45S rDNA 位点,其中 1 对为随体染色体<sup>[2]</sup>。故 1 对染色体上的 45S rDNA 位点没有表达,没有随体的形成。因此,罗田地区的苍术可能在占据该地区后发生了染色体水平上的分化,为其亚种的分类地位提供了细胞学证据。

由于苍术产生两性花或单性花,两者多异株,单性花一般为雌花;两性花植株具有一定结实率而产生种子。苍术的繁殖方法有种子繁殖、分株繁殖、根茎繁殖,但仅两性花产生种子,且种子成熟后易霉烂,致使种子繁殖较困难。鉴于罗田苍术较其他苍术有不同的形态及细胞学特征,本研究观察了花粉母细胞减数分裂过程,为罗田苍术繁殖方式提供细胞学证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料制备

收稿日期:2014-08-29

基金项目:国家科研重大专项子课题(编号:2012ZX09304006)。

作者简介:段院生(1966—),男,湖北英山人,博士,副教授,主要从事药用植物遗传育种研究。E-mail: dys0331@163.com。

通信作者:王 沫,教授,博士生导师,主要从事药用植物资源、昆虫毒理学研究。E-mail: wangmo@mail.hzau.edu.cn。

苍术花序采自湖北省英山县陶家河乡。在 7 月苍术的初花期,上午在地里辨认两性花植株,将花序取下直接投入准备好的固定液中(95%乙醇:冰醋酸=3:1),带回武汉换入新鲜固定液,放置过夜,次日将固定的材料转入 70%乙醇溶液中置于 4℃的冰箱中备用。

### 1.2 细胞学观察

观察花粉母细胞减数分裂时,将固定的花序用自来水洗去乙醇后,用解剖针挑出不同时期的花药,放于盛 1 mol/L 盐酸溶液的小杯中,于 60℃水浴锅中酸解 3 min;将花药置于清洁载玻片中央的 1 小滴水中,用解剖针捣碎并挑除大块花药壁杂质,加 1 滴卡宝品红染色液染色,取干净的盖玻片盖上,用滤纸包住盖片,用手指轻轻挤压盖片除去多余的染色液,并使细胞散开。然后在显微镜下观察细胞学制片,辨认细胞分裂的时期,将合适及清晰的细胞图像储存于计算机中供分析。

### 1.3 花粉育性观察

观察花粉育性时,在晴天采当天开放的花朵,用镊子取出花药置于载玻片上,加 1 滴醋酸洋红染色液,用镊子挤压出花粉粒并去除药壁组织后,盖上盖玻片,用滤纸包住盖片并用手轻轻挤压盖片除去多余的染色液,在光学显微镜下观察。可育的花粉大而圆并能着色,不育花粉小而瘪并不能着色。每个单株观察 200~300 个花粉粒。

## 2 结果与分析

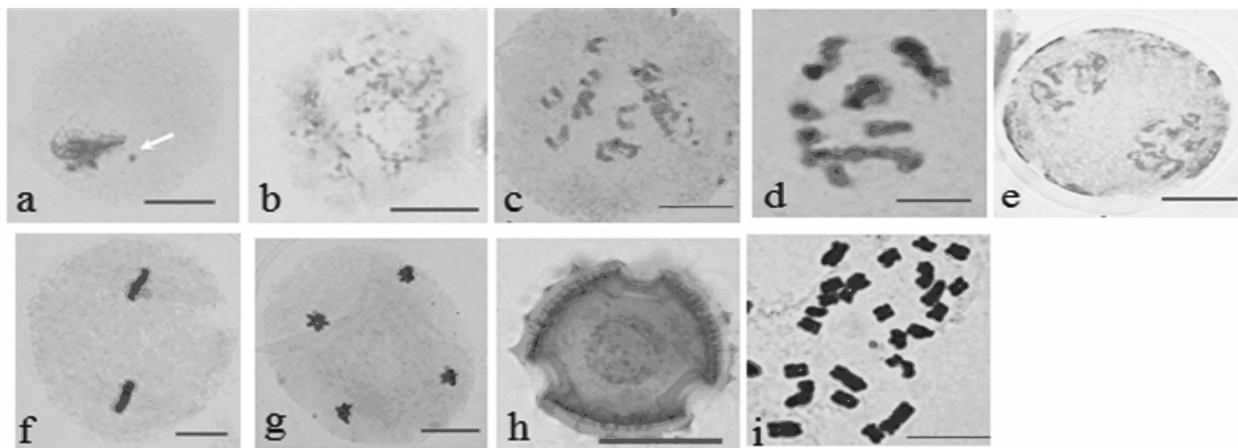
### 2.1 取材时间及方式

因苍术的两性花与单性雌花多异株,要在开花后才能在群体中分辨出两性花植株,取其花序固定观察花粉母细胞减数分裂。苍术为头状花序,单个花蕾很小,特别是处于花粉母细胞减数分裂期的花蕾更小。固定的未开放的不同大小的花序中,处于花粉母细胞减数分裂期的花序比例较小,有时即使很小的花序里面的花药都已产生花粉。要从大量固定的花序中才能挑选到合适的花药,观察到减数分裂的全过程。表明苍术花粉母细胞减数分裂在花序与花发育的较早时期进行,始花时 1 株苍术上大多数花序的分裂高峰已过。较理想的取材方式为在第 1 年鉴定出两性花植株,第 2 年将其无性繁殖,在未开花前取幼小的花序固定。

## 2.2 花粉母细胞减数分裂过程

在第 1 次减数分裂的前期 I, 细线期花粉母细胞 (pollen mother cells, PMCs) 的细胞轮廓清晰可见, 呈圆形或卵圆形, 细胞质染色均匀, 染色体呈一团细线缠绕在一起, 只在线团的边缘可见向外伸展的单条染色体, 仅占据细胞的较小体积 (图 1-a); 但在少部分细胞中, 除大的染色体团外, 还观察到 1 至数个染色较深、体积小很多的染色团, 从染色特性及形态判断不是外来的杂质, 而可能是染色质, 这些额外染色质的来源可能是 PMCs 间的细胞融合 (cytomixis) 时发生的染色质穿壁, 使其他细胞的部分染色体转移过来。这种现象在某些植物的减数分裂过程中已有报道, 可引起群体中染色体数目的变异<sup>[5-6]</sup>。该结果为苍术种间与种内的染色体数目变异提供了解释, 在苍术中常观察到非整倍体的细胞<sup>[2-3]</sup>。在偶线期, 染色体变粗, 分布在整个细胞内 (图 1-b); 但未能观察到染色体形态理想的粗线期 PMCs。在双线期及终变期 PMCs 内, 染色体变得粗短, 可见多数染色体并排成对出现, 没有明显的

交叉结; 只在较大的染色体对 (二价体) 间可见明显的交叉结, 可区分每个二价体, 计数有 12 个二价体 (图 1-c); 在中期 I 时, 二价体排列在细胞中央, 二价体中每条染色体定向细胞两极, 可见较小二价体的 2 条染色体已分开但仍有染色质丝相联, 而较大二价体的 2 条染色体还由末端交叉结连接 (图 1-d); 在后期与末期 I 时, 染色体达到两极后形成 2 个子细胞 (图 1-e), 但没有细胞质分裂而进入第 2 次减数分裂。在显微镜下较难区分后期/末期 I 与前期 II PMCs。在中期 II, 在同一个细胞内染色体分两组呈一字形排列 (图 1-f); 在后期/末期 II, 染色体分裂后产生 4 个子核/子细胞, 细胞外的肝胼质壁出现 (图 1-g); 最后由 4 个子细胞发育成花粉粒 (图 1-h)。花粉的可染率 (可育率) 为 93.7%。故苍术表现的是同时型小孢子发生, 即在减数分裂的 2 次分裂中细胞质只分裂 1 次, 且具有 3 孔花粉 (图 1-g)。染色体间的长短差异显著, 与染色体核型分析结果一致, 最长染色体与最短染色体的长度比超过 2:1<sup>[2]</sup> (图 1-i)。



a. 细线期, 箭头示深染颗粒; b. 偶线期; c. 终变期; d. 中期 I; e. 后期 I; f. 中期 II; g. 后期/末期 II; h. 三孔花粉粒; i. 根尖细胞染色体,  $2n=24$ 。标尺: 5  $\mu\text{m}$ 。重点在显示染色体特征, 各细胞的放大比例不同。

图1 苍术花粉母细胞减数分裂过程

## 3 讨论

在观察的材料中, 苍术花粉母细胞减数分裂过程中没有出现染色体落后及微核, 显示正常的染色体配对与分离, 最后产生较高可育的花粉。为苍术的较高结实率提供了细胞学解释。正常的减数分裂也保证了苍术染色体数目的稳定, 因苍术属所有种 (包括白术, *Atractylodes macrocephala* Koidz) 和亚种的染色体数都为  $2n=24$ <sup>[2-4]</sup>。少数细胞中出现的其他染色体数的原因有待进一步研究。

苍术在自然条件下通过根茎无性繁殖, 但同时仍进行较正常的种子繁殖。这与天南星科的半夏 (*Pinellia ternata*) 有明显差别, 因其以珠芽和块茎繁殖的无性繁殖为主, 因种子结实率低及种子发芽差而有性繁殖退化。细胞学观察表明, 染色体数变化较大的多倍体系列群体, 减数分裂过程常出现不配对染色体、落后染色体及微核, 导致花粉育性很低<sup>[5]</sup>。三百草科的鱼腥草 (*Houttuynia cordata*) 也是多倍体系列, 主要以地下茎繁殖; 花粉母细胞减数分裂中发生高频率的细胞融合及异常, 花粉育性极低; 但可能由孤雌生殖产生较多种子, 且种子萌发好<sup>[6]</sup>。苍术为二倍体物种 ( $2n=2x=24$ ), 不能忍

耐染色体数的变化, 至少罗田一带苍术的有性生殖还未退化, 而其他苍术的减数分裂过程还有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 胡世林, 冯学锋, 王 玠, 等. 中国苍术属一新亚种 [J]. 植物分类学报, 2001, 39(1): 84-86.
- [2] 王 臣, 邢秀芳, 王宗霞, 等. 东北产苍术属植物的细胞学研究 [J]. 植物研究, 1997, 17(1): 79-84, 128.
- [3] 李俊英, 李茂辉. 东北苍术属三种主要核型的研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 1988, 19(4): 58-61.
- [4] 葛传吉, 李岩坤, 周 月, 等. 白术染色体核型分析 [J]. 云南植物研究, 1987, 9(1): 116-118.
- [5] Liu Y, Hui R K, Deng R N, et al. Abnormal male meiosis explains pollen sterility in the polyploid medicinal plant *Pinellia ternata* (Araceae) [J]. Genetics and Molecular Research, 2012, 11(1): 112-120.
- [6] Guan J Z, Wang J J, Cheng Z H, et al. Cytomixis and meiotic abnormalities during microsporogenesis are responsible for male sterility and chromosome variations in *Houttuynia cordata* [J]. Genetics and Molecular Research, 2012, 11(1): 121-130.