

紫毛兜兰的核型研究

杨志娟^{1,2}, 张 显¹, 张孟锦², 朱根发³, 吕复兵³

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100;

2 广东省汕头市 农业科学研究所, 广东 汕头 515021;

3 广东省农业科学院 花卉研究所, 广东 广州 510640)

[摘 要] 采用常规染色体标本制片技术, 研究了紫毛兜兰(*Paphiopedilum villosum*)的染色体核型。结果表明, 紫毛兜兰的体细胞染色体数目为 $2n=26$, 染色体相对长度系数(IRL)= $4L+4M2+12M1+6S$, 核型公式为 $2n=2x=26=24n+2sm$, 由中部着丝粒染色体和近中部着丝粒染色体组成, 未见随体结构; 其核型属于 Stebbins 核型的 1B 型, 核不对称系数为 53.59%, 从染色体水平证明紫毛兜兰在系统演化上属于较原始的特化种类。

[关键词] 紫毛兜兰; 染色体; 核型分析

[中图分类号] S682.31

文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)11-0163-03

紫毛兜兰(*Paphiopedilum villosum*)是兰科兜兰属多年生地生兰。原产于中国, 花形奇特, 与一般兰花相比, 花的结构有巨大变化, 唇瓣呈半椭圆形的袋状, 形状很特别, 深受人们喜爱, 具有很高的观赏价值和经济价值^[1]。由于紫毛兜兰的分布带狭窄, 生活习性比较特别, 野生苗种植十分困难, 尤其是原生于高海拔地段的种更难驯化^[2]; 同时兰花种子只有种胚, 没有胚乳, 在自然状态下极难萌发^[3]。因此, 要获得幼嫩的根尖和茎尖材料进行紫毛兜兰染色体研究相当困难。到目前为止, 国内外对紫毛兜兰这一属植物染色体方面的研究报道还甚少。本研究对紫毛兜兰的染色体数目和核型特征进行了初步分析, 以为其植物细胞分类学的系统研究积累资料, 同时也为兜兰属植物的理论研究、遗传育种和栽培利用, 以及遗传工程提供必要的细胞学证据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为紫毛兜兰, 取自广东省农业科学院花卉研究所兰花种质资源圃。

1.2 方法

取紫毛兜兰成熟植株的幼嫩根尖, 冲洗干净后, 用饱和的 α -溴萘溶液于低温(4℃)条件下处理 20~25 h^[4], 然后用卡诺氏固定液(V(体积分数95%

乙醇) V(冰乙酸)=3:1)于4℃冰箱中固定10~24 h; 制片时用蒸馏水冲洗材料后, 在室温条件下用1 mol/L 盐酸解离5 min, 然后在60℃恒温水浴锅解离4 min, 冲洗后用改良的卡宝品红染色3 min, 进行常规方法压片。利用生物学显微镜Motic BA-400镜检并统计染色体数目, 然后选取染色体形态好且分散的细胞在100倍油镜下拍照, 进行核型分析。

1.3 染色体计数和核型分析

取5~10个紫毛兜兰成熟植株的新生根尖进行核型分析。染色体数目的确定和核型分析根据全国第一届(1985年)植物染色体学术讨论会的约定^[5]。统计30个以上细胞, 其中85%以上细胞具有恒定一致的数目, 则此染色体数即为紫毛兜兰的染色体数目; 取5个细胞的核型平均值, 染色体相对长度、臂比以及类型, 按李懋学等^[5]的方法进行计算; 核不对称系数按Arono^[6]的方法计算, 比值越大越不对称; 核型分类按 Stebbins^[7]的方法划分, “1A”最对称, “4C”最不对称。

染色体相对长度=(染色体长度/染色体组总长度)×100;

染色体相对长度系数=染色体长度/全组染色体平均长度, 即染色体相对长度系数(IRL)<0.76为短染色体(S); $0.76 \leq IRL \leq 1.00$ 为中短染色体(M1); $1.01 \leq IRL \leq 1.25$ 为中长染色体(M2);

° [收稿日期] 2005-11-11

[基金项目] 广东省科技攻关重大专项(2003A2010401)

[作者简介] 杨志娟(1979-), 女, 新疆昌吉人, 硕士, 主要从事花卉育种研究。

[通讯作者] 张 显(1961-), 男, 陕西扶风人, 教授, 博士, 主要从事蔬菜作物育种及生物技术研究。E-mail: zhangxian098@126.com

$IRL \geq 1.26$ 为长染色体(L);
染色体长度比= 最长染色体长度/最短染色体
长度(衡量核型对称与否的主要指标之一);
臂比= 长臂/短臂。

2 结果与分析

紫毛兜兰的染色体参数见表1, 染色体图谱见图
1, 核型模式图见图2。

表1 紫毛兜兰染色体相对长度、臂比和类型

Table 1 Relative length, arm ratio and classification of the chromosome of <i>Paphiopedilum villosum</i>							
编号 No.	染色体相对长度 Relative length of the chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type	编号 No.	染色体相对长度 Relative length of the chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	7.80+ 6.88= 14.68	1.13	m	8	3.46+ 3.20= 6.66	1.08	m
2	5.90+ 5.46= 11.36	1.08	m	9	3.34+ 2.91= 6.25	1.15	m
3	4.26+ 3.98= 8.24	1.07	m	10	3.29+ 2.63= 5.92	1.25	m
4	4.22+ 3.94= 8.16	1.07	m	11	2.94+ 2.81= 5.75	1.05	m
5	5.00+ 2.69= 7.69	1.86	sm	12	2.94+ 2.45= 5.39	1.20	m
6	3.94+ 3.69= 7.63	1.07	m	13	2.60+ 2.57= 5.17	1.01	m
7	3.92+ 3.19= 7.11	1.23	m				

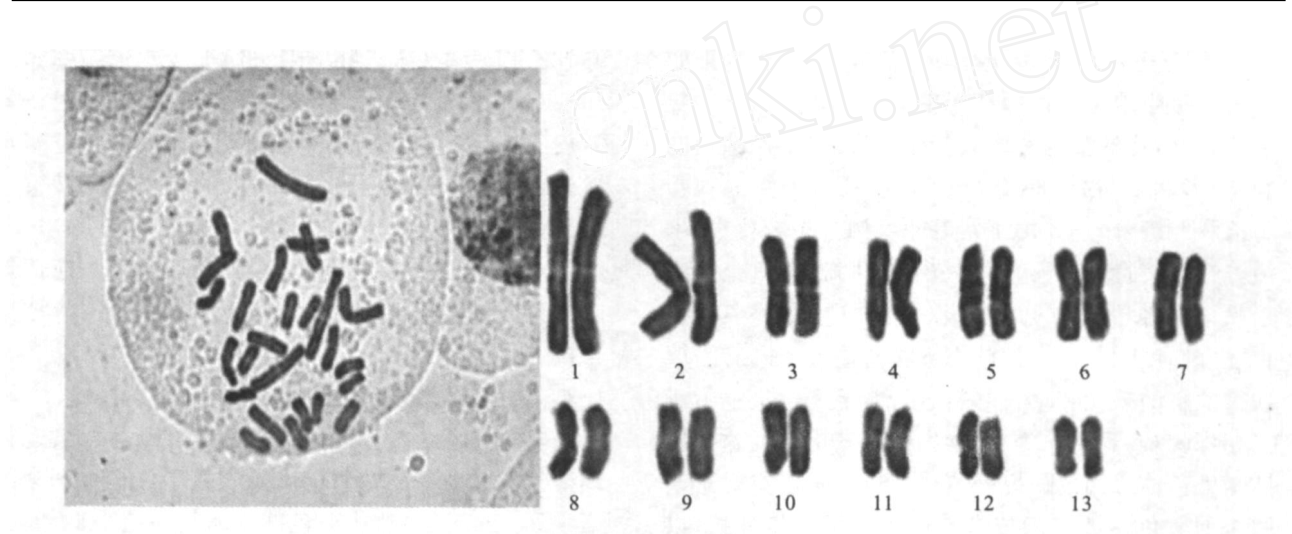


图1 紫毛兜兰染色体图谱

Fig 1 Photomicrographs of chromosomes in *Paphiopedilum villosum*

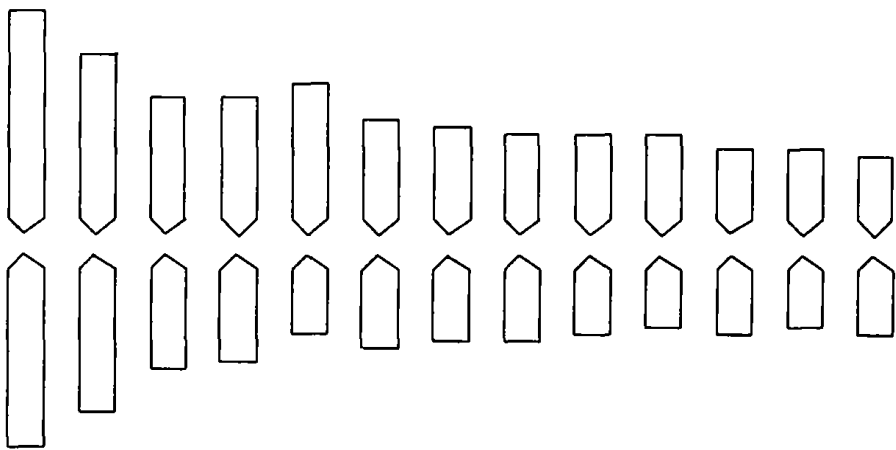


图2 紫毛兜兰的核型模式图

Fig 2 Idiograms of *Paphiopedilum villosum*

观察结果(图1)和核型分析结果(表1, 图2)表明, 紫毛兜兰的体细胞染色体数目为 $2n=26$, 核型公
式 $2n=2x=26=24m+2sm$, 其中除第5对染色体为近中部着丝粒染色体外, 其余均为中部着丝粒染色

体。染色体组总长度为 $78.35 \mu\text{m}$, 染色体绝对长度为 $4.05 \sim 11.50 \mu\text{m}$, 相对长度为 $5.17 \sim 14.68$ 。染色体相对长度系数 (IRL) = $4L + 4M_2 + 12M_1 + 6S$, 染色体长度比 2.84 , 臂比大于 2.1 的染色体比率为 0 。核型属 Stebbins 核型的 1B 型, 核不对称系数为 53.59% 。

3 讨 论

本研究中紫毛兜兰的染色体数目为 $2n = 26$, 与前人的报道^[8]相同。此外本试验中, 并未因使用 α -溴萘溶液而使紫毛兜兰出现多倍体或其他非整倍体变异, 也未见其出现 B-染色体。紫毛兜兰的染色体绝对长度在 $4.05 \sim 11.50 \mu\text{m}$; 也发现其相邻染色体间的相对长度变化不明显, 染色体相对长度系数 (IRL) = $4L + 4M_2 + 12M_1 + 6S$ 。

紫毛兜兰的核型公式为 $2n = 2x = 26 = 24m +$

$2sm$, 为首次报道。按照著名植物分类和进化学家 Stebbins 的观点: 在系统演化上处于比较古老或原始的植物, 往往具有较对称的核型, 而不对称的核型一般出现在较进化或特化的植物中。本研究结果表明, 紫毛兜兰的染色体类型是由中部着丝粒染色体和近中部着丝粒染色体组成; 而且在本试验条件下, 没有观察到随体结构; 核型分类属 1B 型, 核不对称系数为 53.59% 。从紫毛兜兰的形态学特征可以看出, 其所在的兜兰属隶属于兰科植物中最原始的类群——2 雄蕊亚科, 与杓兰属 (*Cypripedium*)、美洲兜兰属 (*Phragmipedium*) 一起被认为是来自同一个祖先, 关系极为密切^[9]; 同时与其他兰花比较, 该种植物的花结构有巨大变化, 唇瓣呈半椭圆形的袋状, 而且 2 枚能育雄蕊着生在蕊柱的两侧。本研究从细胞学角度证明了紫毛兜兰是兰科中较为原始的物种, 与传统形态学的描述相吻合。

[参考文献]

- [1] 王英强 中国兜兰属野生花卉资源[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2000, 13(1): 45-49
- [2] 沈德祖 广东省兜兰属的种类分布与栽培[J]. 广东园林, 1994(4): 10-13
- [3] 吴应祥 中国兰花[M]. 北京: 中国林业出版社, 1992: 67-71
- [4] 李玉阁, 郭卫红, 吴伯骥 4 种国产兰属植物的核型比较研究[J]. 西北植物学报, 2002, 22(6): 1438-1444
- [5] 李懋学, 陈瑞阳 关于核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297-302
- [6] Arano H. Cytological studies in subfamily *Carduoideae* (compositae) of Japan[J]. Bot Mag, 1963, 76: 32-39
- [7] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London: Edward Arnold, 1971: 156-197
- [8] Antony V C, Gregory J A, Michael D B, et al Genome size and karyotype evolution in the Slipper Orchids (*Cypripedioideae*: Orchidaceae) [J]. American Journal of Botany, 1998, 85(5): 681-687
- [9] Cox A V, Pridgeon A M, Mark W C. A molecular phylogeny of the slipper orchids using rDNA ITS sequences[J]. American Journal of Botany, 1995, 82(1): 122-128

A study on karyotype of *Paphiopedilum villosum*

YANG Zhi-juan^{1,2}, ZHANG Xian¹, ZHANG Meng-jin², ZHU Gen-fa³, LU Fu-bing³

(1 College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shantou Agricultural Science Research Institute of Guangdong Province, Shantou, Guangdong 515021, China;

3 Floricultural Research Institute of Guangzhou Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: Karyomorphological study on *Paphiopedilum villosum* was carried out by root tips squash method. The result shows that the number of the somatic chromosome of *P. villosum* is $2n = 26$, the index of relative length $4L + 4M_2 + 12M_1 + 6S$, the karyotype formula $2n = 2x = 26 = 24m + 2sm$. The diploid consists of metacentric and submetacentric chromosomes, but not satellites. The karyotype belongs to 1B type of Stebbins karyotypic symmetry. The index of karyotype asymmetry is 53.59% . The chromosomal characteristics prove that the *P. villosum* belongs to more primitive and specializatonal species.

Key words: *Paphiopedilum villosum*; chromosome; karyotype analysis