云 南 植 物 研 究 1999, **21** (4): 477~ 482
Acta Botanica Yunnanica

黄牡丹八个居群的 Giemsa C- 带比较研究*

龚 洵, 肖调江, 顾志建, 鲁元学
(中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 应用 BSG 方法对黄牡丹 (*Paeonia delavayi* var. *lutea*) 8 个居群的 Giemsa C- 带进行了比较研究。8 个居群的所有染色体都在着丝点附近显示出了 C- 带, 所有染色体的长臂上都没有显示 C- 带, 而短臂上的 C- 带数量和位置在居群之间表现出了一定的差异。花甸坝居群的第二、第三、第四和第五对染色体显示了端带; 卓干山居群的第一、第三、第四和第五对染色体的短臂端显示了 C- 带。在所研究的 8 个居群中, 这两个居群的端部 C- 带最多。而翁水居群的短臂上没有显示 C- 带, 但第三和第五对染色体的短臂上有随体, 且第五对染色体上的随体显示出了 C- 带, 是 8 个居群中端部 C- 带最少的。土官村居群的第三、第四和第五对染色体的短臂端部显示出了 C- 带。鲁甸居群的第二和第五对染色体的短臂端部显示出了 C- 带, 且第一和第四对染色体各有一条染色体的短臂端部显示出了 C- 带, 表现出了异染色质的杂合性。尼西居群的第一、第三和第五对染色体的短臂上显示出了端带。西山居群和梁王居群的 C- 带式样完全相同, 第四和第五对染色体的短臂端部显示出了 C- 带。8 个居群的 Giemsa C- 带式样各不相同, 这种居群水平上的 C- 带式样的多样性反映出了黄牡丹的遗传多样性, 且 C- 带式样的多样性与其形态多样性相关。

关键词: 黄牡丹; Giemsa C- 带; 变异式样
中图分类号: Q 942 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2700(1999)04- 0477- 06

Giemsa C- banding Patterns in 8 Populations of *Paeonia delavayi* var. *lutea*

GONG Xun, XIAO Tiao- Jiang, GU Zhi- Jian, LU Yuan- Xue
(*Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650204)

Abstract: The C- banding patterns in 8 populations of *Paeonia delavayi* var. *lutea* were investigated by using a modified BSG technique. Each population examined here showed there were C- bands at the centromeric regions of all ten chromosomes. However, C- bands were not observed on long arms of any chromoseme. There are differences in the C- band numbers and positions in the terminal regions on the short arms. In Ludian population, C- band occupies one terminal region on the short arms of the first and 4th pairs of chromosomes respectively, which means the homologous chromosomes of the first and 4th pair of chromosomes are heterogeneous. Each population has the unique C- banding pattern except two populations of Xishan and Liangwangshan, which share the same C- banding pattern. Namely, there are 7 C- banding patterns in 8 populations examined here. The diversity of C- banding patterns indicated that the genetic diversity occurs in *P. delavayi* var. *lutea*.

*收稿日期: 1998- 12- 03, 1999- 03- 19 接受发表
© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://ww

Key words: *Paeonia delavayi* var. *lutea*; Giemsa C- banding; Variation pattern

黄牡丹 *Paeonia delavayi* var. *lutea* (Delavay ex Franch..) Finet et Gagnep. 是我国西南地区的特有类群，也是芍药属中形态变异较大的类群之一，其分类问题至今没有得到很好的解决。Stern (1944)、李思锋等 (1989) 和杨涤清等 (1989) 分别对黄牡丹的核型进行了研究，试图为解决其分类问题提供一些核型方面的资料。然而，研究结果却表明黄牡丹居群水平上的核型变异较大，表现出了核型的多样性。作者 (1991) 对 7个黄牡丹居群的核型进行了研究，探讨了其核型在居群水平上的变异。肖调江等 (1997) 对昆明西山的黄牡丹居群的Giemsa C- 带进行了研究。本文对云南的 8 个黄牡丹居群的Giemsa C- 带进行比较研究，试图探讨其 Giemsa C- 带在居群水平上的变异及其染色体的结构变异与形态变异之间的关系。黄牡丹为渐危植物，被列为国家三级保护，对其 Giemsa C- 带变异式样的研究，可为其遗传多样性保护提供理论依据。

1 材料与方法

供实验的材料采自云南中部至西北部，见表 1和图 1，现栽于昆明植物园，凭证标本存放于昆明植物园标本室。

表 1 材料来源

Table 1 The origin of *Paeonia delavayi* var. *lutea* materials

No.	Locality	Alt. (m)	Voucher spec.
1	Wengshui, Zhongdian	2960	GongX 89- 07
2	Zhuoganshan, Luquan	2850	GongX 88- 01
3	Tuguancun, Zhongdian	2800	GongX 89- 03
4	Ludian, Lijiang	2830	GongX 89- 01
5	Xishan, Kunming	2100	GongX 88- 03
6	Liangwangshan, Songming	2500	GongX 88- 02
7	Huadianba, Dali	2910	GongX 92- 12
8	Nixi, Zhongdian	3200	GongX 89- 06

常规方法制片。取幼嫩根尖在 0.1%的秋水仙素溶液中预处理 3h，用 95%的酒精与冰醋酸 (3∶1) 的固定液于冰水中 20 min，然后用 1 mol/L 的HCl 与 45%的醋酸 (1∶1) 的混合液于 60℃水解 30 s，蒸馏水洗 2 min，再用 45%的醋酸压片。经镜检后，好的片子冰冻揭片，于 35℃下干燥 48 h 以上，备用。

将Tanaka 和Taniguchi (1975) 的BSG 法改进后应用于本研究。具体步骤如下：(1) 在 45℃下，准备好的片子于 5%的$Ba(OH)_2$溶液中处理 5 min，蒸馏水洗 10 min。(2) 于 60℃下，在 2×SSC 缓冲液 (0.3 mol/L NaCl+ 0.03 mol/L $C_6H_5Na_3 \cdot 2H_2O$) 中复性 2h，蒸馏水洗 10 min。(3) 于 2%的 Giemsa- PBS 液 (pH6.8) 中染色数分钟 (室温)。水洗，干燥。(4) 经二甲苯中透明 30 min 后，封片。核型分析采用 Leven 等 (1964) 的标准，Giemsa- C 带的分类采用Taniguchi 等 (1975) 的方法。

2 结果

所研究的 8 个居群中，大理花甸坝居群的核型为 2n= 10= 6m+ 2sm+ 2st，为首次报道。其它居群的核型都进行过研究 (龚洵等，1991)。8 个居群的 Giemsa C- 带式样如图版

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www

Ⅰ和图2，带型特征列在表2中。

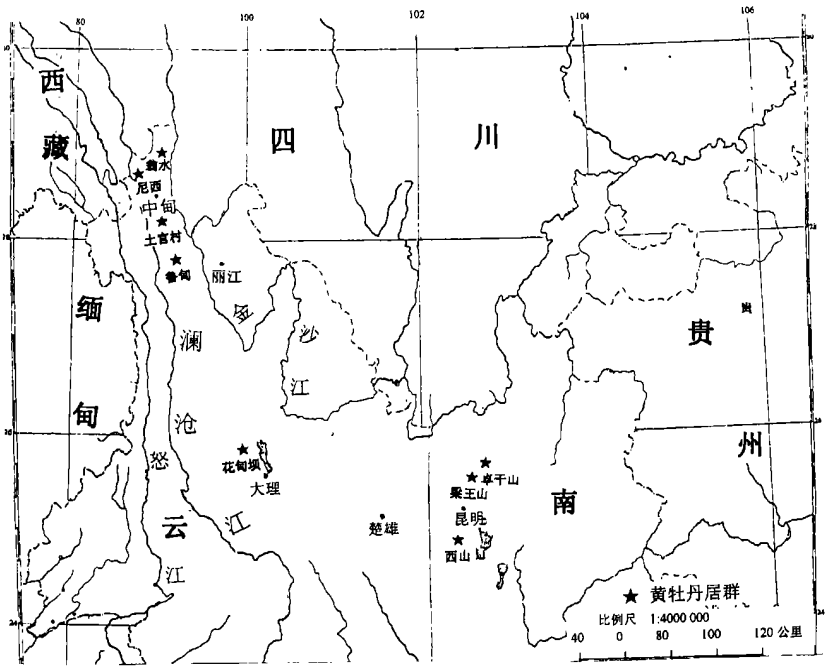


图1　8个黄牡丹居群地理分布图

Fig 1　The distribution of 8 populations of *Paeonia delavayi* var. *lutea*

经BSG处理后，8个居群的间期核和前期核的形态基本相同。在每个居群的间期核中央观察到染色较深的圆点，且这些黑点的数目大致与染色体的数目相同，约为10（图版Ⅰ：A）。在前期核中，每条染色体的中部出现了C-带（图版Ⅰ：B）。

各居群中期染色体的C-带如下：

(1) 翁水居群　所有染色体都显示着丝点带，第三对和第五对染色体的短臂上具有随体，且第五对染色体的随体显示端带。共显示12条C-带。

(2) 卓干山居群　所有染色体都显示着丝点带，且第一、第三、第四和第五对染色体的短臂上显示了端带。共显示18条C-带。

(3) 土官村居群　所有染色体都显示着丝点带，第三、第四和第五对染色体的短臂上显示出了端带。共显示16条C-带。

(4) 鲁甸居群　所有染色体都显示着丝点带，第二和第五对染色体显示了端带，且第一和第四对中各有一条染色体显示了端带，表现出了这两对染色体的结构上的差异。共显示16条C-带。

(5) 西山居群　所有染色体都显示着丝点带，第四和第五对染色体的短臂上显示了端带。共显示14条C-带。

(6) 梁王山居群　所有染色体都显示着丝点带，第四和第五对染色体的短臂上显示了端带。共显示14条C-带。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://ww

表2 黄牡丹8个居群的C-带式样*

Tabl 2 C- banding patterns in 8populations of Paeonia delavayi var. lutea

Po. no	Chromosome N.										No. C- band
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	DCO	DCO	12
2	DCO	DCO	OCO	OCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	18
3	OCO	OCO	OCO	OCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	16
4	DCO	OCO	DCO	DCO	OCO	OCO	DCO	OCO	DCO	DCO	16
5	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	DCO	DCO	DCO	DCO	14
6	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	OCO	DCO	DCO	DCO	DCO	14
7	OCO	OCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	DCO	18
8	DCO	DCO	OCO	OCO	DCO	DCO	OCO	OCO	DCO	DCO	16

Note: OCO= C- banding occupies the centromeric region of chromosome;

DCO= C- banding occupies the distal region of short arm (or sat- chromosomes) and the centromeric region of Chromosome.

* The number of population is the same as in Table 1.

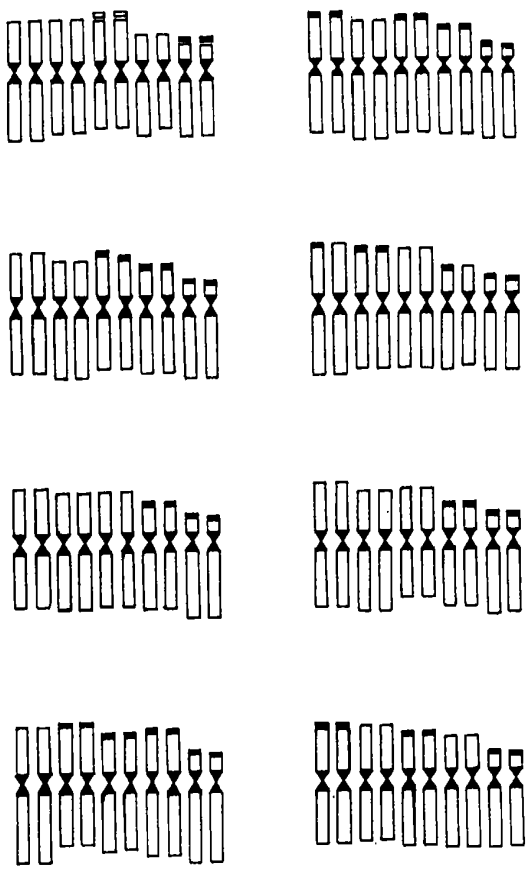


图2 8个黄牡丹居群C-带式样的模式图

Fig 2 Idiograms of C- banding patterns in 8 populations of *Paeonia delavayi* var. *lutea*

(7) 花甸坝居群 该居群的核型为2n= 10= 6m+ 2sm+ 2st 为首次报道。所有染色体

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www

都显示着丝点带，第二、第三、第四和第五对染色体的短臂上都有端带。共显示 18 条 C- 带。

(8) 尼西居群　所有染色体都显示着丝点带，第一、第三和第五对染色体的短臂上显示了端带。共显示 16 条 C- 带。

3　讨论

在所研究的 8 个居群中，所有染色体都显示了着丝点带，而长臂上都没有显示出 C- 带。居群之间的 C- 带式样差异主要表现在短臂的端带上，短臂上有端带的染色体数目从 2 至 8。除了西山居群和梁王山居群的 C- 带式样完全相同外，其它居群的 C- 带式样各不相同，这种居群水平的 C- 带变异式样的多样性反映了黄牡丹的遗传多样性。

Stern、李思锋等和杨涤清等对不同居群的核型研究结果表明了居群间的核型变异，作者还对 7 个居群的核型变异进行了比较研究。这些研究结果表明黄牡丹居群间的核型的第二、第三和第五对染色体相对稳定，而第一和第四对染色体存在着变异，且第四对染色体的变异较大，存在着结构上的杂合性，其杂合性不仅表现在其长度上，而且表现在其臂比值上。C- 带式样同样显示出了居群间的差异，且这种差异与其形态特征的差异密切相关。西山和梁王山居群之间距离较近，生境基本相同，形态相同，花瓣基部都有紫红色的斑点，它们的 C- 带式样也相同。而其它各居群之间存在着或多或少的形态差异，C- 带式样也表现出了相应的差异。

Stebbins (1938) 曾指出，在芍药中，存在着一些因倒位和易位而形成的结构上的杂合性。作者曾在《黄牡丹七个居群的细胞学研究》一文中讨论过鲁甸居群核型的杂合性。本研究中的鲁甸居群的 C- 带同样表现出了杂合性，第一和第四对染色体各只有一条染色体显示了 C- 带，很可能是第一对和第四对之间发生了染色体片段的交换而形成的结构上杂合性。这种染色体的结构变异引起了其形态形状的变异。鲁甸居群的个体较其它居群的高大，可达 2.0 m，花也较大，花径在为 6~ 8 cm。

黄牡丹的叶形和花变异较大。花色有白色、黄绿色、黄色和金黄色，有的花瓣基部有紫红色的斑点；花开放时，有的几乎张开成一个平面，有的不完全张开而呈钟形。叶的裂片有披针形、狭披针形、线状披针形等各种形状。Stern (1946) 和方文培 (1958) 根据叶形和花色将黄牡丹分为黄牡丹 (*P. lutea* Delavay ex Franch.) 和金莲牡丹 (*P. potanini* Komarov var. *trollioides* (Stapf ex F. C. Stern) F. C. Stern)。而潘开玉 (1979) 恢复黄牡丹作为滇牡丹 (*P. delavayi* Franch.) 一个变种 (*P. delavayi* Franch. var. *lutea* (Delavay ex Franch.) Finet et Gagnep.) 的分类地位，并将金莲牡丹归入黄牡丹中。最近，洪德元等 (1998) 对滇牡丹复合群 (*P. delavayi* complex) 的各类群进行了大量的野外调查和标本分析，认为滇牡丹复合群的叶形和花色变异是连续的，只是一种数量形状的变化，主张作一个分类群处理，即滇牡丹 (*P. delavayi* Franch.)。尼西居群和翁水居群的花为金黄色，且不完全张开而呈钟形；叶为狭披针形，应属于 Stern 和方文培分类中的金莲牡丹。尽管这两个居群的形态相同，但它们的 C- 带式样有着明显的差异。尼西居群的第一、第二和第三对染色体的短臂上显示了端带，共有 16 条 C- 带；而翁水居群没有显示端带，但第三和第五对染色体的短臂上有随体，且第五对的随体显示了 C- 带，只有 12 条 C- 带。这两个居群间的 C- 带式样差异甚至比与其它居群间的差异还要大。从 C- 带式样来看，翁水

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://ww

居群的与其它居群的有明显差异，但尼西居群的与其它居群的差异又很小。我们认为，这种C- 带式样的差异只是居群间的差异，而不能作为分类群之间的差异；并认为潘开玉将金莲牡丹并入黄牡丹中的分类处理比较合理。野外调查结果表明，尼西居群附近分布有滇牡丹和Stern、方文培分类中的黄牡丹以及保氏牡丹（*P. potanini* Komarov），它们之间有可能存在基因交流；而翁水居群附近没有发现其它的类群。

西山居群的C- 带式样与肖调江所报道的同一居群的C- 带式样相同，即表明在西山居群内没有发现C- 带式样的变异。可能的原因是居群的个体数量相当少，生境很一致。这是符合生存在片断化生境中的居群演化规律的，由于生境的片断化，造成居群间的隔离而彼此缺乏基因交流，朝着适应其特有生境的方向演化。

从材料来源来看，本文所研究的8个居群来源于云南黄牡丹的整个分布区（图1），从黄牡丹分布区东部边缘的卓干山居群经大理花甸坝居群至西北部的翁水居群，从海拔2 100 m的西山居群到海拔3 200 m的尼西居群，因此，这8个居群的Giemsa C- 带式样具有一定的代表性，至少能反映出其居群间的差异和地理变异式样。除了西山居群和梁王山的C- 带式样完全相同外，其它居群的C- 带式样各不相同，即在所研究的8个居群中，出现了7种C- 带式样，反映出了黄牡丹的遗传多样性。从黄牡丹的现在分布式样来看，由于其生境的片断化，黄牡丹残存于一定的生境中，居群对其各自的生境产生适应性，因居群间彼此隔离，缺乏基因交流而形成了其遗传多样性，Giemsa C- 带式样的多样性即是其遗传多样性的表现之一。

参 考 文 献

方文培，1958. 中国芍药属植物的研究［J］. 植物分类学报，**7**（4）：297~323

李思锋，于兆英，周俊彦，1989. 黄牡丹的核型分析［J］. 武汉植物学研究，**7**（2）：107~111

肖调江，龚洵，夏丽芳等，1997. 滇牡丹复合群的Giemsa C- 带比较研究［J］. 云南植物研究，**19**（4）：395~401

杨涤清，朱燮稃，1989. 草芍药，野牡丹和黄牡丹的核型研究［J］. 云南植物研究，**11**（2）：139~144

龚洵，顾志建，武全安，1991. 黄牡丹七个居群的细胞学研究［J］. 云南植物研究，**13**（4）：402~410

潘开玉，1979. 芍药属，中国植物志第二十七卷［M］. 北京：科学出版社，37~48

Finet F C, Gagnepain F, 1904. Contributions a La Flore de l' Asie Orientale［J］. *Bull Soc Bot France*, **51**: 524

Franchet A, 1886. Plantae Yunnanensis XXX *Paeonia*［J］. *Bull Soc Bot France*, **33**: 382~383

Hong D. Y, Pan K. Y. And Yu H, 1998. Taxonomy of the *Paeonia delavayi* complex (Paeoniaceae)［J］. *Ann Missouri Bot Gard*, **85**: 554~564

Levan A, Fredga K, Sandberg A A, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes［J］. *Hereditas*, **62**: 201~220

Stern F C, 1944. Geographical distribution of the genus *Paeonia*［J］. *Proc Linn Soc London Bot*, **155**（2）: 76~80

Stern F C 1946. A Study of the genus *Paeonia*［M］. London: The Royal Horticulture Society, Vincmt Squar, S. W. I. 46~47

Stebbins G L, Ledyard G. 1938. Cytogenetic studies in *Paeonia*, 2［J］. *Genetics*, **23**: 83~110

Tanaka R, Taniguchi K, 1975. A banding method for plant chromosomes［J］. *Jap J Genetics*, **50**（2）: 163~168

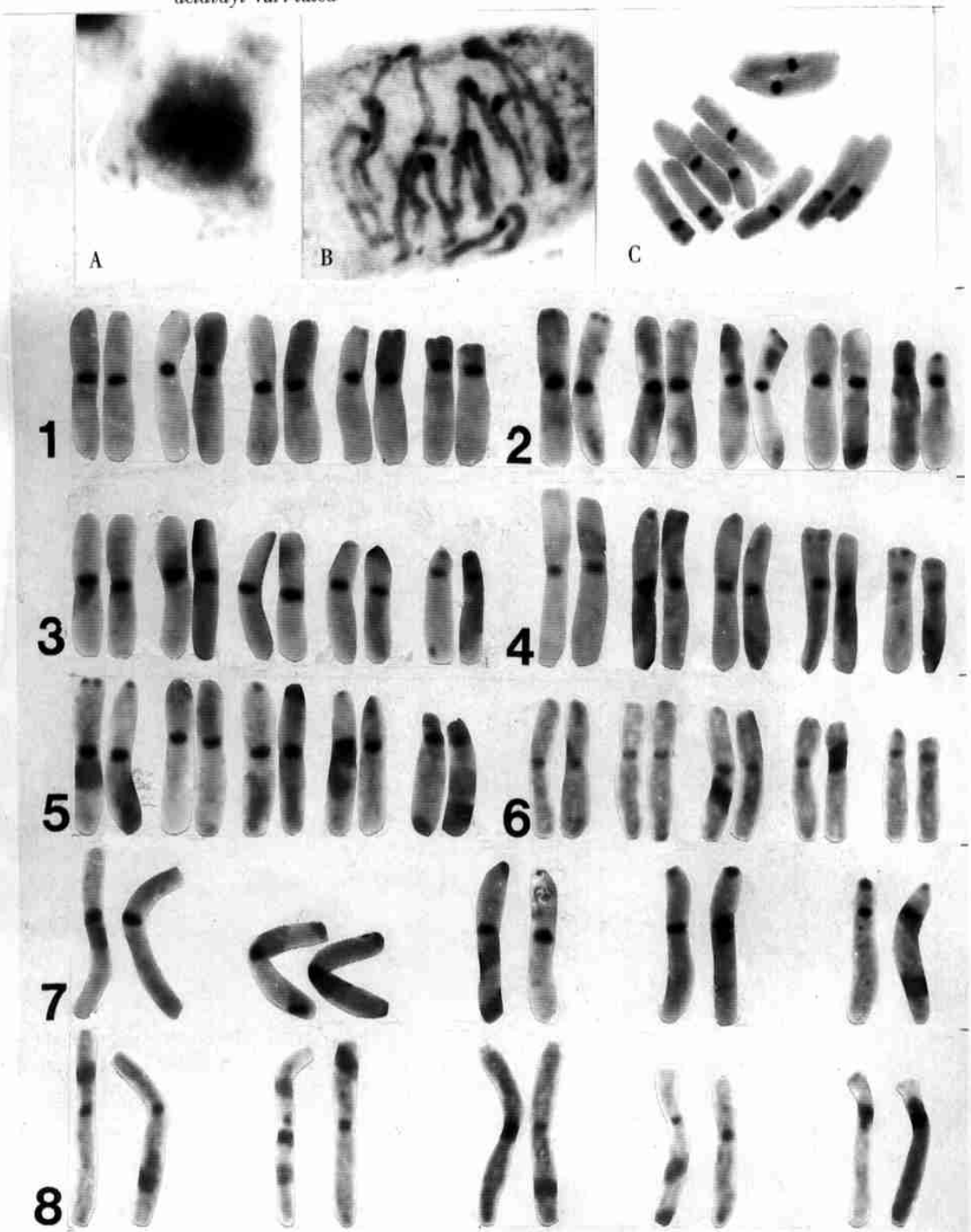
Taniguchi K, Tanaka R, Yonezawa Y *et al*, 1975. Types of banding patterns of plant chromosomes by modified BSG method［J］. *La Kromosomo*, **100**: 3123~3135

Explanations of Plate

Giemsa C- banding patterns in 8 populations of *Paeonia dalavayi* var. *lutea*

1. Xishan; 2. Nixi; 3. Liangwangshan; 4. Ludian; 5. Zhuoganshan; 6. Tuguancun; 7. Huadianba; 8. Wengshui

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://ww



See explanation at the end of text

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://ww