

濒危植物三棱栎四个居群的核型*

韩春艳^{1,2}, 孙卫邦^{1,3**}

(1 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2 中国科学院研究生院, 北京 100039;
3 南京林业大学, 江苏 南京 210037)

摘要: 报道了濒危植物三棱栎 4 个居群的染色体数目和核型, 4 个居群的核型公式均为 $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$, 核型类型均为 2A。间期核为复杂染色中心型 (complex chromocenter type), 细胞有丝分裂前期染色体为中间型 (interstitial type)。4 个居群在前期染色体中, 可观察到 2 个 B 染色体, 但在中期染色体中较少发现。根据核型分析结果, 4 个居群间核型变异不明显。

关键词: 三棱栎; 染色体数目; 核型; B 染色体

中图分类号: Q 942 文献标识码: A 文章编号: 0253-2700(2005)01-0095-06

Karyotype of the 4 Populations of *Trigonobalanus doichangensis* (Fagaceae), A Rare and Endangered Plant in China

HAN Chun-Yan^{1,2}, SUN Wei-Bang^{1,3**}

(1 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;
2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;
3 Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The chromosome numbers and karyotypes of *Trigonobalanus doichangensis* in the 4 populations from Yunnan of China were firstly reported in this paper. The karyotype formulas of the 4 populations are all $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$, belonging to Stebbins' 2A type. The species is characterized by the resting nucleus of complex chromocenter type and the interstitial type of chromosomes in the mitotic prophase. Two B chromosomes were observed in the 4 populations at prophase chromosome. This study revealed that the karyotype variation in the 4 populations of *T. doichangensis* is not apparent.

Key words: *Trigonobalanus doichangensis*; Chromosome numbers; Karyotype; B chromosome

濒危植物三棱栎 *Trigonobalanus doichangensis* (Camus) Forman 隶属于壳斗科 Fagaceae 三棱栎属 *Trigonobalanus* Forman。三棱栎属现仅有 3 个种: 轮叶三棱栎 *T. verticillata* Forman 分布于马来西亚和印度尼西亚, 三棱栎分布于泰国北部及我国云南南部和西南部, 南美三棱

* 基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-SW-104)

** 通讯作者: Tel: 0871-5223622 E-mail: wbsun@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2004-06-04, 2004-10-18 接受发表

作者简介: 韩春艳 (1979-) 女, 硕士生, 主要从事保护生物学研究。

栎 *T. excelsa* Lozano 等产于哥伦比亚, 3 个种形成洲际间断分布 (Nixon and Crepet, 1989; 廖海民等, 1998)。三棱栎是唯一分布在中国的物种, 在我国仅分布在云南沧源、澜沧、孟连、西盟等地的常绿阔叶林内, 现处于濒危状态, 被列入国家二级重点保护植物名录 (孙卫邦等, 2004)。

从三棱栎建立以来, 对于三棱栎属内现存 3 个种的分类地位及其系统位置颇有争议, 一些学者认为, 应将三棱栎属的 3 个种划分为 3 个单型属 (Nixon and Crepet, 1989; 王萍莉等, 1998)。三棱栎属植物的染色体资料对进一步探讨其系统位置和分类地位具有重要意义。有关三棱栎属的细胞学研究, 仅轮叶三棱栎的染色体数目有过报道 (Hou, 1971; Nixon and Crepet, 1989)。为深入探讨三棱栎的系统位置和濒危机理提供细胞学资料, 我们首次对分布于云南的 4 个居群的染色体数目和核型进行了研究。

1 材料和方法

三棱栎的种子采自云南省沧源 (CY)、西盟 (XM)、澜沧 (LC) 和孟连 (ML) 4 个野外自然居群 (表 1), 采集植株的凭证标本存中国科学院昆明植物研究所标本室 (KUN)。按周元等 (2003) 的方法进行种子萌发。上午 9:00 取种子萌发根尖, 室温下 0.002 mol/L 8-羟基喹啉预处理 6~7 h; 卡诺固定液 (95% 乙醇:冰乙酸 = 3:1) 于 4℃ 冰箱中固定 1~2 h, 经 50% 乙醇, 蒸馏水漂洗; 用预热到 60℃ 的 1 mol/L 盐酸在 60℃ 水浴锅中解离 30 s; 卡宝品红染色压片, 显微观察照相。

表 1 三棱栎居群名称和产地

Table 1 Localities for the 4 populations of *Trigonobalanus doichangensis*

居群 Populations	采集地 Localities	海拔/m Elevation	凭证标本 Vouchers
沧源 CY	沧源南滚河 Nangunhe, Cangyuan county, Yunnan, China	1550 - 1730	SWB02T61 - 80
西盟 XM	西盟孟梭 Mengsuo, Ximeng county, Yunnan, China	1040 - 1100	SWB02T41 - 60
澜沧 LC	澜沧东回 Donghui, Lancang county, Yunnan, China	1450 - 1500	SWB02T21 - 40
孟连 ML	孟连灯盏寨 Dengzhanzhai, Menglian county, Yunnan, China	1020 - 1100	SWB02T01 - 20

本研究按居群以细胞为单位进行统计, 每个居群观察个体数均在 5 个以上, 每个居群观察细胞数在 30 个以上, 共统计完好有丝分裂中期分裂相 164 个。每个居群均选取 15~18 个分散良好的中期细胞进行照相。间期核形态和分裂前期异染色质收缩方式的分类标准参照 Tanaka (1971) 标准, 体细胞中期染色体核型分析根据李懋学和陈瑞阳 (1985) 的标准, 核型类型按 Stebbins (1971) 的分类标准划分, 核型不对称系数 [As. K (%) = 长臂总长/全组染色体总长] 按 Arano 的方法, 比值愈大, 愈不对称 (虞泓和黄瑞复, 1998; 薛春迎等, 2000)。

2 结果

三棱栎的间期核为一些染色很深的异固缩小球, 称为染色中心, 这些染色中心聚集在一起, 形成几个大小形状各异的异固缩块; 除了这些染色中心, 核的其它一些区域内分布着一些染色很浅的染色粒, 这些染色粒在核内呈不规则分布, 其构型属于复杂染色中心型 (complex chromocenter type)。三棱栎有丝分裂前期染色体异染色质间断分布于染色体的中部、基部和端部, 属于中间型 (interstitial type)。在有丝分裂前期、前中期常易观察到 2 个颗粒状 B 染色体, 但在中期染色体中则较少发现。

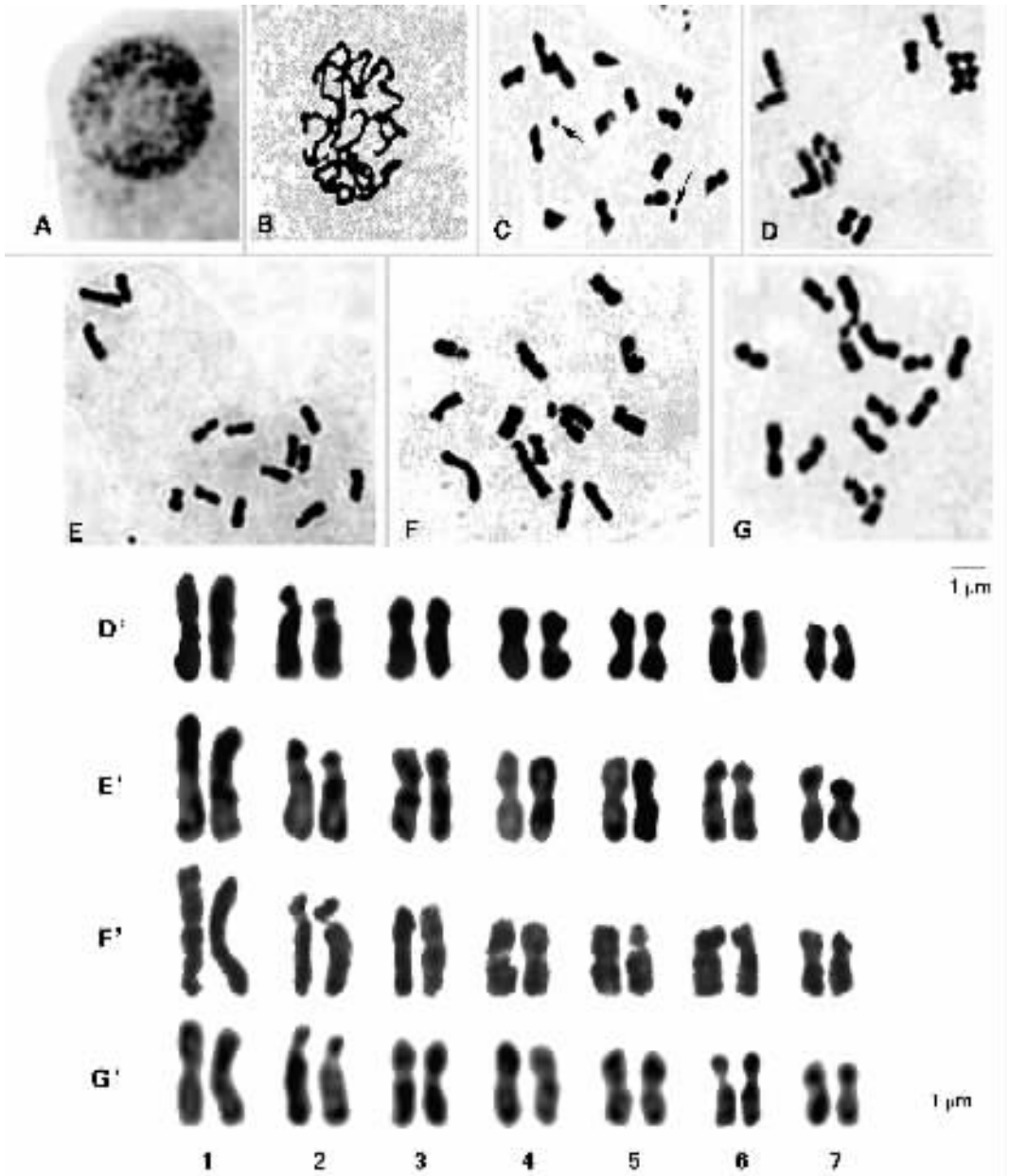


图 1 三棱栎间期、前期、中期 (4 个居群) B 染色体及其居群核型

C, D & D'. 沧源居群 CY; E & E'. 西盟居群 XM; F & F'. 澜沧居群 LC; G & G'. 孟连居群 ML

Fig. 1 Interphase, (A), prophase (B), metaphase (D-G), B chromosomes (C, swords) and the population karyotypes (D', E', F' & G') of *T. doichangensis*

通过对三棱栎 4 个居群的染色体观察计数发现，三棱栎的体细胞染色体数目为 $2n = 14$ (图 1)，4 个居群的核型公式均为 $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$ ，核型类型均为 $2A$ 。染色体组平均总长为 $28.42 \mu m$ ，染色体平均长度为 $2.03 \mu m$ 。在 1 号和 2 号染色体中，短臂和

长臂分别有一个近着丝粒次缢痕。三棱栎染色体中 1 号和 2 号染色体在染色体组中是最长的,属于长染色体;13 号和 14 号染色体为染色体组中最小的一对染色体,与 1 号和 2 号染色体相差非常大,这两对染色体很易分辨,可作为三棱栎的特征染色体。

2.1 沧源居群 (CY)(图 1,表 2,表 3)

体细胞染色体数 $2n = 14$,核型公式为 $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$,染色体组实际总长度 $28.29 \mu\text{m}$,染色体平均长度为 $2.02 \mu\text{m}$,染色体相对长度变化范围 $10.13 \sim 5.38$,平均臂比 1.83;染色体长度比 1.88,臂比值大于 2 的染色体比例为 0.286,核型类型为 2A,As.K (%) 值 62.22。

2.2 西盟居群 (XM)(图 1,表 2,表 3)

体细胞染色体数 $2n = 14$,核型公式为 $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$,染色体组实际总长度 $28.01 \mu\text{m}$,染色体平均长度为 $2.00 \mu\text{m}$,染色体相对长度变化范围 $9.62 \sim 5.56$,平均臂比 1.65;染色体长度比 1.73,臂比值大于 2 的染色体比例为 0.143,核型类型为 2A,As.K (%) 值 60.09。

2.3 澜沧居群 (LC)(图 1,表 2,表 3)

体细胞染色体数 $2n = 14$,核型公式为 $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$,染色体组实际总长度 $27.63 \mu\text{m}$,染色体平均长度为 $1.97 \mu\text{m}$,染色体相对长度变化范围 $10.45 \sim 5.52$,平均臂比 1.80;染色体长度比 1.89,臂比值大于 2 的染色体比例为 0.143,核型类型为 2A,As.K (%) 值 61.53。

表 2 三棱栎居群的染色体参数

Table 2 Parameters of chromosomes for the 4 populations of *T. doichangensis*

序号 No.	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type	序号 No.	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type
沧源居群 CY				西盟居群 XM			
1	5.75 + 4.38 = 10.13	1.31	m	1	5.07 + 4.55 = 9.62	1.11	m
2	6.09 + 1.75 = 7.84	3.48	st	2	5.72 + 1.82 = 7.54	3.14	st
3	4.38 + 2.92 = 7.30	1.50	m	3	4.37 + 2.97 = 7.34	1.47	m
4	3.53 + 2.86 = 6.39	1.23	m	4	3.71 + 3.27 = 6.98	1.13	m
5	3.53 + 2.74 = 6.27	1.29	m	5	3.88 + 2.90 = 6.78	1.34	m
6	4.28 + 1.98 = 6.26	2.16	sm	6	4.13 + 2.09 = 6.22	1.98	sm
7	3.28 + 2.10 = 5.38	1.56	m	7	3.19 + 2.37 = 5.56	1.35	m
澜沧居群 LC				孟连居群 ML			
1	5.70 + 4.75 = 10.45	1.20	m	1	5.37 + 4.37 = 9.74	1.23	m
2	6.62 + 1.83 = 8.45	3.62	st	2	6.05 + 1.87 = 7.92	3.24	st
3	4.29 + 3.15 = 7.44	1.36	m	3	4.24 + 3.09 = 7.33	1.37	m
4	3.36 + 2.93 = 6.29	1.15	m	4	3.82 + 3.04 = 6.86	1.26	m
5	3.42 + 2.57 = 5.99	1.33	m	5	3.53 + 3.06 = 6.59	1.15	m
6	4.21 + 1.69 = 5.90	2.49	sm	6	4.18 + 2.20 = 6.38	1.90	sm
7	3.19 + 2.33 = 5.52	1.37	m	7	2.99 + 2.25 = 5.24	1.33	m

2.4 孟连居群 (ML)(图 1,表 2,表 3)

体细胞染色体数 $2n = 14$,核型公式为 $2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$,染色体组实际总长度 $29.73 \mu\text{m}$,染色体平均长度为 $2.12 \mu\text{m}$,染色体相对长度变化范围 $9.74 \sim 5.24$,平均臂比 1.64;染色体长度比 1.86,臂比值大于 2 的染色体比例为 0.143,核型类型为 2A,As.K (%) 值 60.29。

表 3 三棱栎居群核型的比较

Table 3 Comparison of Karyotypes among populations of *T. doichangensis*

居群	核型公式	染色体长度比	不对称系数	核型类型
Population	Karyotype formula	Ratio (largest/smallest)	As. K/%	Karyotype type
沧源 CY	$2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$	1.88	62.22	2A
西盟 XM	$2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$	1.73	60.09	2A
澜沧 LC	$2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$	1.89	61.53	2A
孟连 ML	$2n = 14 = 10m + 2sm + 2st + 2bs$	1.86	60.29	2A

As. K% : Asymmetry coefficient of karyotype (Arano, 1963)

3 讨论

三棱栎 4 个居群的居群间或居群内个体间的体细胞染色体数目很稳定, 数目为 $2n = 14$ (图 1), 它们的核型公式一致 (表 3), 核型类型都属 2A 型, 不对称系数在 $As.K\% = 60.10\% \sim 62.56\%$ 之间。此外, 三棱栎 4 个居群都具有一对 st 染色体和 sm 染色体, 其余为 m 染色体, 同时都具有 2 个 B 染色体。分析发现, 三棱栎居群间的核型差异非常微小, 属于非常保守的染色体。

壳斗科植物的染色体数多数为 $n = 12$, 稀 $n = 11$ 或 13 (王良民, 1986; 吴若菁和郑清芳, 1991; 中国植物志编辑委员会, 1998), 三棱栎属仅有轮叶三棱栎 1 种有染色体资料报道, 其数目为 $n = 21$, $2n = 40, 42, 44$ (Hou, 1971; 贝克, 1981; Nixon and Crepet, 1989; 洪德元, 1990)。Hou (1971) 报道的染色体图版很不清晰, 仔细观察其原始文献后发现, 轮叶三棱栎的染色体数目 $2n = 42$ 比较可靠。洪德元 (1990) 认为壳斗科的原始基数是 $x = 7$, 由此可知, 轮叶三棱栎的染色体数 $2n = 42$ 是在 7 的基数上加倍的结果。轮叶三棱栎 ($2n = 42$) 和三棱栎 ($2n = 14$) 的染色体数都是 7 的倍数, 可以确定, 三棱栎属的基数 $x = 7$ 。且三棱栎 4 个居群的染色体数均为 14, 染色体数目稳定, 核型非常相近, 变异微小, 可以说它们在遗传上保守, 说明三棱栎是非常古老或原始的物种。因此本实验支持 Nixon 和 Crepet 的推论: 滇泰分布的三棱栎可能是在早第三纪原地起源于现已灭绝的轮叶三棱栎的祖先类型 (转引自李捷, 1994)。

在实验中, 发现三棱栎 4 个居群的某些个体中出现 1~2 个 B 染色体, 目前, 其 B 染色体的来源尚不清楚。但王恒昌等 (2003) 认为, B 染色体积累到一定数量时可能降低植物的能育性, 三棱栎结实率极低的现象 (周元, 2003; 孙卫邦等, 2004) 是否与其 B 染色体的积累有关, 尚有待研究。

〔参 考 文 献〕

- 贝克 C. B. 主编, 1981. 被子植物的起源和早期演化 [M]. 北京: 科学出版社, 150
- 中国植物志编辑委员会, 1998. 中国植物志 (第 22 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 211—213
- 洪德元, 1990. 植物细胞分类学 [M]. 北京: 科学出版社, 308
- Hou D, 1971. Chromosome numbers of *Trigonobalanus doichangensis* Forman (Fagaceae) [J]. *Acta Bot Neerl*, **20** (5): 543—549
- Li J (李捷), 1994. A preliminary study on the floristic elements of the community of *Formanodendron doichangensis* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **16** (1): 17—24
- Liao HM (廖海民), Gou GQ (苟光前), Ye NG (叶能干), 1998. A study on seedling morphology and anatomy and systematic

- position of *Trigonobalanus doichangensis* Forman [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物研究), **16** (3): 223—226
- Nixon KC , Crepet WL , 1989. *Trigonobalanus* (Fagaceae): Taxonomic status and phylogenetic relationships [J]. *Amer J Bot* , **76** (6): 828—841
- Stebbins GL , 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants [M]. London : Edward Arnold
- Sun WB (孙卫邦) , Zhou Y (周元) , Zhao JC (赵金超) , et al , 2004. Current distribution , population attributes and biological characters of *Trigonobalanus doichangensis* in relation to its conservation [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **24** (2): 352—358
- Tanaka R , 1971. Types of resting nuclei in Orchidaceae [J]. *Bot Mag Tokyo* , **84** : 118—122
- Wang HC (王恒昌) , He ZC (何子灿) , Li JQ (李建强) , et al , 2003. Studies on karyotype of *Sinojackia xylocarpa* Hu and observations on its meiosis of pollen mother cell [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), **21** (3): 198—202
- Wang LM (王良民) , 1986. A taxonomic study of the deciduous oaks in China by means of cluster and karyotype analyses [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), **6** (1): 55—69
- Wang PL (王萍莉) , Pu FD (溥发鼎) , Zheng ZH (郑中华) , 1998. Palynological evidence for taxonomy of *Trigonobalanus* (Fagaceae) [J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), **36** (3): 238—241
- Wu RJ (吴若菁) , Zheng QF (郑清芳) , 1991. Karyotype analysis of *Castanopsis kawakamii* and *Castanopsis fargesii* [J]. *J Fujian Col Forest* (福建林学院学报), **11** (4): 428—432
- Xue CY (薛春迎) , Xu JM (许介眉) , Liu JQ (刘健全) , 2000. Karyotype studies of *Allium prattii* among 4 populations in Southern Qinghai [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), **20** (2): 288—293
- Yu H (虞泓) , Huang RF (黄瑞复) , 1998. Study on karyotypical variation and differentiation in populations of *Pinus yunnanensis* Franch [J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), **36** (3): 222—231
- Zhou Y (周元) , Sun WB (孙卫邦) , Li CR (李从仁) , 2003. Preliminary study on germination of *Trigonobalanus doichangensis* [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), **21** (1): 73—76
- Zhou Y (周元) , 2003. Preliminary study on geographic populations of *Trigonobalanus doichangensis* and its effect on seed germination and seedling [J]. *Seed* (种子), **4** : 3—4