禺毛茛及其复合体种间亲缘关系形成研究

聂谷华^{1,2}, 刘志金³, 廖亮^{1*}, 史军伟¹, 徐玲玲¹

(1. 九江学院 生命科学学院, 江西 九江 332000; 2. 南京林业大学 资源环境学院, 南京 210037; 3. 江西林业实验中心, 江西 信丰 341608)

摘要: 在 Tamura M., Okada 及廖亮研究的基础上, 通过禺毛茛复合体(禺毛茛 *R. cantoniensis* 4x, 卷喙毛茛 *R. sileriifolius* var. *sileriifolius* 2x, 长花毛茛 *R. sileriifolius* var. *dolicathus* 2x, 茵茵蒜 *R. chinensis* 2x, 扬子毛茛 *R. sieboldii* 6x 及 8x) 的核型分析, 结合地球环境的演变历史, 进一步研究了禺毛茛的形成方式和时间, 并对禺毛茛复合体种间亲缘关系的形成进行了探讨, 为毛茛属系统进化研究提供资料。

关键词: 禺毛茛; 复合体; 核型分析; 亲缘关系; 形成

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2007)06-0832-04

Formation of inter-specific relation in *Ranunculus cantoniensis* and its complex

NIE Gu-Hua^{1,2}, LIU Zhi-Jin³, LIAO Liang^{1*},
SHI Jun-Wei¹, XU Ling-Ling¹

(1. College of Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China; 2. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3. Forest Experimental center of Jiangxi Province, Xinfeng 341608, China)

Abstract: The karyotypes of *R. cantoniensis*, *R. sileriifolius* var. *sileriifolius*, *R. sileriifolius* var. *dolicathus*, *R. chinensis* and *R. sieboldii* in *R. cantoniensis* complex were studied by means of the cytological observation of root-tips on the basis of previous studies. In combination with the history which earth evolved, the forming way and time of *R. cantoniensis* was further studied, and the forming mechanism of inter-specific relation in *R. cantoniensis* complex was discussed so as to offer more data for the study of phylogenetic and evolution in genus *Ranunculus*.

Key words: *Ranunculus cantoniensis*; complex; karyotype analysis; relation; formation

生物的遗传变异和进化是与染色体稳定性和变异性分不开的。染色体的差异不同于基因原初产物和次生产物一连串相互作用导致的形态差异、生理差异及生态差异, 它能多少直接地反映生物的基因内容和调节机制上的差异, 因而常用于探讨生物的亲缘关系和进化(洪德元, 1990; 伊艳杰, 2005; 何新华等, 2007)。

禺毛茛 *Ranunculus cantoniensis* (4x) 及其近缘

种作为一个分类上的复合体, 由 Tamura M. (1978) 提出, 在日本涉及到禺毛茛, 卷喙毛茛 *R. sileriifolius* var. *sileriifolius*, 茵茵蒜 *R. chinensis*, 扬子毛茛 *R. sieboldii* 等 5~6 个种, 而复合体部分成员构成多倍体复合体的关系则是 Okada (1984, 1989) 通过人工合成四倍体杂种提出的, Okada 将 *R. sileriifolius* (2x) 和 *R. chinensis* (2x) 人工杂交、加倍成种间四倍体杂种, 并经实验分析比较, 认为接近天然的

收稿日期: 2007-08-01 修回日期: 2007-10-30

基金项目: 国家自然科学基金 (30160008); 江西省自然科学基金 (963255) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (30160008); Natural Science Foundation of Jiangxi Province (963255)]

作者简介: 聂谷华(1968-), 男, 江西上高人, 博士, 主要从事植物系统与进化学研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: Liaol58@yahoo.com.cn)

R. cantoniensis (4x), 故而推断禺毛茛是由卷喙毛茛和茴茴蒜杂交而来; 在中国大陆, 廖亮(1996)通过孢粉学研究, 认为禺毛茛是经长花毛茛和卷喙毛茛杂交而来, 复合体成员包括禺毛茛 *R. cantoniensis* (4x), 卷喙毛茛 *R. silerifolius* var. *silerifolius* (2x), 长花毛茛 *R. silerifolius* var. *dolicathus* (2x), 茴茴蒜 *R. chinensis* (2x), 扬子毛茛 *R. sieboldii*。本文在上述研究的基础上, 进一步分析了禺毛茛及禺毛茛复合体种间亲缘关系的形成机制, 为毛茛属植物系统进化的研究提供更多的资料。

1 材料和方法

本实验材料(表 1)凭证标本存于江西九江学院生命科学学院标本室(JJTU)。根尖用 0.1%秋水仙素溶液 20 °C 预处理约 2 h, 用卡诺氏液固定 12 h, 75%乙醇保存, 用 1 mol/L 盐酸在 60 °C 下解离 7~10 min, 改良卡宝红染色压片, 常规方法制片。核型分析采用李懋学(1985)的标准。核型不对称性系数计算用 Arano(1963)的方法。核型图中多倍体染色体是根据长度和着丝点位置综合考虑进行排列, 以便分析多倍体的染色体组成。

实验材料产地、生境及凭证标本号见表 1。

表 1 实验材料采集地点

Table 1 Origin of experiment materials

分类群 Taxa	2n	采集地 Locality	生境 Habitat	凭证标本 Voucher
禺毛茛 <i>R. cantoniensis</i>	32	广东广州	溪旁	Nie F6
扬子毛茛 <i>R. sieboldii</i>	48	云南昆明	旱地	A132
	64	云南昆明	旱地	F133
长花毛茛 <i>R. silerifolius</i> var. <i>dolicathus</i>	16	云南思茅	水田边	F50601
茴茴蒜 <i>R. chinensis</i>	16	云南昆明	田埂边	L51017
卷喙毛茛 <i>R. silerifolius</i>	16	贵州六盘水	稻田边	L890702

2 结果

用于分析的禺毛茛、扬子毛茛中期染色体分裂相及核型如图 1 所示, 复合体四成员中期染色体分裂相及核型如图 2 所示。

3 讨论

3.1 禺毛茛的形成

3.1.1 禺毛茛的形成方式 从图 1 可看出, 四倍体

图 1 禺毛茛和扬子毛茛中期染色体分裂相及核型图

Fig. 1 Photomicrographs of chromosomes and karyograms of *R. cantoniensis* and *R. sieboldii*

A. 禺毛茛 (2n=4x); B. 扬子毛茛 (2n=6x); C. 扬子毛茛 (2n=8x), 其中 4x, 6x, 8x 放大倍数分别为 1 000, 800, 800。标有下划线者为短 m-型染色体。

A. *R. cantoniensis* (2n=4x); B. *R. sieboldii* (2n=6x); C. *R. sieboldii* (2n=8x) among which 2n=4x, 6x, 8x are amplified 1 000, 800 and 800 times respectively. The chromosomes which are marked subdividing lines are short m-type ones.

禺毛茛中短 m 型染色体数并不像六倍体和八倍体的扬子毛茛那样与倍性成比例, 而是只有 2 个, 这就意味着在形成四倍体禺毛茛时, 两个亲本中, 有一个还保留着祖先种 P 的短 m 型染色体特征, 而另一个亲本, 此时可能由于适应变化了的外界环境条件发生变异而导致短 m 型丢失, 从目前的资料来分析, 在日本, 发现卷喙毛茛细胞型具有四种类型 (Matsuyama, Mugi, Otaru and Karatsu) 其中 Karatsu 型中含有短 m 型染色体 (Chigusa Takahashi, 2003); 另外, 长花毛茛的分布非常局限, 国内只发现在云南南部的思茅地区有分布, 且不含有短 m 型染色体; 而卷喙毛茛的远比它广泛, 据此可推测, 长花毛茛曾在外界环境激变过程中, 如冰川作用, 为适应变化的环境相应地发生染色体变异, 同时由于冰川过后, 扩张能力较弱, 导致长花毛茛只在目前的避

难所中保存下来,形成非常局限的分布格局。由此可知,禺毛茛很可能是经卷喙毛茛的原始型与因变异而丢失短 m 型的长花毛茛(进化型)杂交而来。

图 2 禺毛茛复合体四成员中期染色体分裂相及核型图

Fig. 2 Photomicrographs of chromosomes and karyograms of 4 species in *R. cantoniensis* complex

A. 长花毛茛 $\times 1\ 000$; B. 卷喙毛茛 $\times 1\ 000$; C. 茴茴蒜 $\times 1\ 000$; D. 禺毛茛 $\times 1\ 000$.

A. *R. sileriifolius* var. *dolicathus* $\times 1\ 000$; B. *R. sileriifolius* $\times 1\ 000$; C. *R. chinensis* $\times 1\ 000$; D. *R. cantoniensis* $\times 1\ 000$.

3.1.2 禺毛茛的形成时间 结合地球历史重大的环境变化事件来看,导致禺毛茛短 m 型染色体数不与倍性成比例(是 2 个而不是 4 个)的应该是最近一次发生的冰川作用即第四纪冰川作用,结合禺毛茛形成方式讨论的结果:禺毛茛很可能是经卷喙毛茛的原始型与因变异而丢失短 m 型的长花毛茛(进化型)杂交而来。这样一来,可能存在这么一种情况,那就是面临最近一次冰川作用即第四纪冰川,卷喙毛茛和长花毛茛由于适应已变化的外部环境的能力不同,长花毛茛先于卷喙毛茛将短 m 型染色体丢失,这样,在长花毛茛丢失短 m 型染色体之后卷喙毛茛丢失短 m 型染

色体之前,两者相遇,经杂交形成只包含 2 个短 m 型染色体的禺毛茛,随着冰川作用的延续,根据不平衡进化的理论:突变和基因重组在二倍体进化中要比在多倍体进化中来得有效,在二倍性水平演化的可能性要比在多倍体中大得多;另一方面,多倍体种能够获得大的生态幅(洪德元,1990)可知,另一个二倍体卷喙毛茛有可能因染色体变异而将原始的短 m 型染色体丢失,而多倍体则因具有高度缓冲能力历经冰川作用而将这一特征保留下来。这样,禺毛茛就只含有一个亲本的短 m 型染色体,也就是目前观察到的两个短 m 型染色体,而不是 4 个了。由此看来,禺毛茛的形成时间应该是在第四纪冰川作用时期(200 多万年前)。

图 3 禺毛茛复合体可能的亲缘关系发生图

Fig. 3 Interspecific relation among *R. cantoniensis* complex

P 为含短 m 型染色体组的原始二倍体

P=the original diploid species which had short m-type genome

3.2 禺毛茛复合体种间亲缘关系的形成

在廖亮(1995)及 Tamura (1978) Okada (1984 1989)的研究基础上,结合核型研究结果,本文将毛茛组毛茛系的禺毛茛、卷喙毛茛、长花毛茛、茴茴蒜以及扬子毛茛作为一个复合体来处理,其中卷喙毛茛的原始类型与长花毛茛以杂交的方式形成禺毛茛。从 *R. cantoniensis*(4x)和 *R. sieboldii*(6x,8x)的核型分析(图 1)及两者形态有过渡现象来看,在 4x、6x 和 8x 间存在一个短 m 型的枢纽染色体组。并且这个短 m 型染色体组也极可能在早期的二倍体种内存在过,只是在后来的进化过程中,遇到环境条件较大的变化,由于二倍体比多倍体演化的可能性大得多(洪德元,1990),另一方面,多倍体对环境变化具有高度的缓冲能力等原因,使得短 m 型的特征在多倍体中保留下

来,而在二倍体中丢失(图 2 中的三个二倍体种:长花、卷喙毛茛及茴茴蒜)。因此,复合体成员间是通过短 m 型染色体组作纽带而构成一个完整的复合体。复合体种间可能亲缘关系可用图 3 表示。

参考文献:

- 洪德元. 1990. 植物细胞分类学[M]. 北京: 科学出版社
- Arano H. 1963. Cytological studies in subfamily carduoideae (Compositae) of Japan, IX. The karyotype analysis and phylogenetic considerations on *Pertya* and *Ainsliea*(2)[J]. *Bot Mag Tokyo*, **76**:32-39
- Chigusa Takahashi. 2003. Physical mapping of rDNA sequences in four karyotypes of *Ranunculus sileriifolius* (Ranunculaceae)[J]. *Plant Res*, **116**:331-336
- He XH(何新华), Li YR(李杨瑞), Guo YZ(郭永泽), et al. 2007. Identification of closely related mango cultivars by ISSR (ISSR 鉴定亲缘关系非常近的芒果栽培品种)[J]. *Guihaia* (广西植物), **27**(1):44-47
- Li MX(李懋学), Chen RY(陈瑞阳). 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants (关于植物核型分析的标准化问题)[J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), **3**(4):297-302
- Liao L(廖亮), Xu LL(徐玲玲), Chen Y(陈晔), et al. 1995. Studies of karyotype of *Ranunculus cantoniensis* polyploidy complex and its allied species(禺毛茛多倍体复合体及其近缘种核型研究)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **33**(3):230-239
- Liao L(廖亮), Xu LL(徐玲玲). 1996b. A study on pollen morphology of sect. *Ranunculus* from China(国产毛茛组植物孢粉形态学研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **16**(3):255-261
- Okada H. 1984. Polyphyletic allopolyploid origin of *Ranunculus cantoniensis*(4x) from *R. sileriifolius*(2x) × *R. chinensis*(2x)[J]. *Pl Syst Evol*, **148**:89-102
- Okada H. 1989. Cytogenetical changes of offsprings from the induced tetraploid hybrid between *Ranunculus sileriifolius* (2n=16) and *R. chinensis* (2n=16) (Ranunculaceae)[J]. *Pl Syst Evol*, **167**:129-136
- Tamura M. 1978. *Ranunculus cantoniensis* group in Japan[J]. *Geobot*, **26**:34-40
- Yi YJ(伊艳杰), Huang Y(黄莹), Shang FD(尚富德). 2005. Identifying *Osmanthus fragrans* cultivars in Guilin City and evaluating their genetic relationships by RAPD markers (利用 RAPD 研究桂林桂花品种间的亲缘关系)[J]. *Guihaia*(广西植物), **25**(2):129-133
- (上接第 825 页 Continue from page 825)
- 态、生态诸多层次。本研究表明,嵩草属植物在长期进化过程中,其叶片内部结构和表皮特征发生了较大程度的特化,对该类群在青藏地区的适应与繁荣有重要意义。嵩草属植物叶结构的一系列特征,是高原植物物种在解剖学层次适应严酷生境的典型代表。
- Fei SL(费松林), Fang JY(方精云), Fan YJ(樊拥军), et al. 1999. Anatomical characteristics of leaves and woods of *Fagus lucida* and their relationship to ecological factors in Mountain Fanjingshan, Guizhou, China(贵州梵净山亮叶水青冈叶片和木材的解剖学特征及其与生态因子的关系)[J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **41**(9):1 002-1 009
- Ivanova NA. 1939. The genus *Kobresia* Willd., its morphology and systematics[J]. *Botaniceskij Zurnal SSSR*, **24**:255-503
- Pan KY(潘开玉), Lu AM(路安民), Wen J(温洁). 1990. Characters of leaf epidermis in Hamamelidaceae(S. L.) (金缕梅科(广义)的叶表皮特征)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **28**(1):10-26
- Timonen T. 1985. Synflorescence morphology and anatomy in *Kobresia laxa* (Cyperaceae)[J]. *Ann Bot Fennici*, **22**:153-171
- Yu Z(于卓), SAIGE Suguru. 2001. Differences of leaf epidermal microstructure among 12 perennial grasses(12 种牧草叶表面微细构造的差异)[J]. *Grassland of China*(中国草地), **23**(5):1-7
- Zhang R, Liang Songyun, Dai Lunkai. 1995. A study on the geographical distribution of the genus *Kobresia*[J]. *Acta Phytotax Sin*, **33**(2):144-160
- Zhang R. 2001a. A preliminary revision of the supraspecific classification of *Kobresia* (Cyperaceae)[J]. *Bot J Linnean Society*, **135**:289-294
- Zhang R. 2001b. Culmanatomy of *Kobresia* (Cyperaceae) from China[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, **21**(4):706-710
- Zhang ZY(张志耘), Lu BR(卢宝荣), Wen J(温洁). 1998. The structural features of leaf epidermis in opyza and their systematic significance(稻属叶表皮结构特征及其系统学意义)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **36**(1):8-18
- Zhang SR(张树仁), Liang SJ(梁松筠), Dai LK(戴伦凯). 1998. Leaf anatomy of fourteen species in *Carex* subg. *Indocarex* (Cyperaceae)(苔草属复序苔草亚属十四种植物的解剖学研究)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **36**(4):333-340
- Zhou XM(周兴民). 1979. A preliminary study of morphological ecological characteristics of eight species of genus *Kobresia* in Qinghai-Tibet Plateau (青藏高原嵩草属八种植物的形态—生态学特性的初步研究)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **21**(2):135-142