

5 种桤木属植物的核型分析

杨汉波^{1,2}, 饶龙兵², 郭洪英³, 段红平¹, 陈益泰²

(¹ 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201; ² 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 富阳 311400;

³ 四川省林业科学研究院, 成都 610081)

摘要: 利用改良去壁低渗法对桦木科 (Betulaceae) 桤木属 (*Alnus* Mill.) 分布于东亚地区的 5 个种进行染色体数目与核型分析。结果表明: 所试验物种的染色体形态比较一致, 多是由中部 (m) 及近中部 (sm) 着丝点染色体组成。其中 *A. nitida* 染色体数为 $2n = 28$, 核型公式为 $K(2n) = 28 = 22m + 4sm(2SAT) + 2st(2SAT)$; *A. hirsuta* 染色体数为 $2n = 42$, 核型公式为 $K(2n) = 42 = 36m + 6sm$; *A. cremastogyne*, *A. formosana* 染色体数均为 $2n = 56$, 核型公式分别为 $K(2n) = 56 = 2M + 40m(1SAT) + 14sm(1SAT)$ 和 $K(2n) = 56 = 46m + 8sm + 2st$; *A. firma* 染色体数为 $2n = 112$, 核型公式为 $K(2n) = 112 = 80m + 28sm + 4st$ 。

关键词: 桤木属; 染色体; 核型分析

Karyotyping of Five Species of *Alnus* in East Aisa Region

YANG Han-bo^{1,2}, RAO Long-bing², GUO Hong-ying³, DUAN Hong-ping¹, CHEN Yi-tai²

(¹ School of Agriculture and Biological Technic, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

² Insitute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400; ³ Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081)

Abstract: The chromosome number and karyotype of five species in east aisa region of *Alnus* was studied by shedding cell wall and dialysis methods. The results showed that the karyotypes among them were not distinct and most chromosomes were metacentric or submetacentric. The chromosome number of *A. nitida* was 28, the karyotype formula was $K(2n) = 28 = 22m + 4sm(2SAT) + 2st(2SAT)$, $2n = 42$ and $K(2n) = 42 = 36m + 6sm$ for *A. hirsuta*, $2n = 56$ and $K(2n) = 56 = 2M + 40m(1SAT) + 14sm(1SAT)$ for *A. cremastogyne*, $2n = 56$ and $K(2n) = 56 = 46m + 8sm + 2st$ for *A. formosana*, and $2n = 112$ and $K(2n) = 112 = 80m + 28sm + 4st$ for *A. firma*.

Key words: *Alnus*; chromosome; karyotyping

桤木属 (*Alnus* Mill.) 是从桦木科 (Betulaceae) 植物的祖先中最早分出的一个分支^[1], 主要分布于北半球寒温带、温带和亚热带地区, 美洲最南达秘鲁。桤木属树种根系发达, 可固沙保土, 大多数物种的根部具有和固氮细菌形成的根瘤, 能固定空气中游离的氮素增加土壤肥力。该属多数种喜水湿, 多生于溪沟两岸及低湿地, 能防止河水对堤岸的侵蚀, 起到很大的生态作用, 为河岸固堤及水湿地带重要造林树种; 木材质软供建筑、乐器、家具等用; 果序、树皮可作燃料及提制栲胶; 木炭可制黑色火药; 花粉供蜜蜂酿蜜, 为蜜源树种^[2]。近些年来, 桤木已成

为长江流域山地丘陵水土保持林、江湖滩地防护林和短周期工业用材的重要造林树种, 在我国南方生态和经济建设中发挥着重要作用。

植物染色体是遗传信息的载体, 控制遗传变异, 支配生长发育。核型分析主要通过研究其染色体数目及染色体形态特征来反映不同物种或品种之间存在的细胞学差异, 不但能研究种间的遗传变异、系统演化以及亲缘关系, 还可以为杂交育种选育以及杂种后代鉴定等提供理论依据^[3]。张蕾等^[4]对蛋黄果和人心果进行核型分析, 发现 2 种果树亲缘关系较远; 卫尊征等^[5]利用普通压片法对 3 个彩色马蹄

收稿日期: 2013-03-26 修回日期: 2013-05-07 网络出版日期: 2013-10-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20131022.1535.002.html>

基金项目: “十二五”国家科技支撑项目 (2012BAD01B604); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (RISF2013010)

第一作者研究方向为植物遗传育种。E-mail: yanghanbo6@163.com

通信作者: 饶龙兵, 研究方向为林木遗传育种。E-mail: raolb@163.com

莲引进品种进行了核型分析,证实了 3 个引进品种均为组内杂交种,且品种极为原始;陈龙等^[6]在核型分析的基础上探讨了 3 个枣品种的进化关系;陈涛等^[7]采用常规根尖压片法对黄麻属 2 个栽培种及其 4 个野生类型和 3 个野生近缘种进行了染色体数目和核型研究,并讨论了黄麻野生近缘种甜麻的分类学地位;综上可知,染色体数目及核型类型在植物分类与进化研究中占有重要地位。桤木属植物种类较多,染色体遗传变异丰富,任保青等^[8-9]探索出桤木属植物染色体制片不同预处理液和不同解离液处理的最佳浓度和时间,并利用改进的去壁低渗法对中国地区分布的 11 种桤木属植物进行了核型分析;易鼎杰^[10]利用去壁低渗-火焰干燥法,对台湾桤木根尖和幼苗叶尖进行染色体计数,进行非整倍体筛

选。本研究为作桤木属核型的进一步研究,在对前人染色体制片技术改良的基础上利用改良去壁低渗法(0.25 mol/L HCl、5% 纤维素酶和 1% 果胶酶组合去壁)对分布于东亚地区的 5 种桤木属植物进行染色体数目及核型观察和分析,为揭示种间关系及系统发育提供资料,以期为今后桤木属植物倍性育种研究中相关细胞遗传学规律阐述及倍性鉴定等内容提供一定的细胞学基础和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的 5 种桤木属植物均来源于东亚地区(表 1),并引种栽培于中国林科院亚热带林业研究所大棚。核型分析试验于中国林科院亚热带林业研究所进行。

表 1 材料来源与分布

Table 1 Distribution and source of materials

种名 Species	分布地区 Distribution region	引种地区 Introduced location	引种时间(年) Introduced time
喜马拉雅灰桤木 <i>A. nitida</i>	克什米尔、阿富汗、伊朗	印度	2010
毛赤杨 <i>A. hirsuta</i>	日本、中国、俄罗斯东亚地区	中国	2012
桤木 <i>A. cremastogyne</i>	中国四川、贵州北部、陕西、甘肃南部	中国	2010
台湾桤木 <i>A. formosana</i>	中国台湾	中国台湾	2012
日本特有桤木 <i>A. firma</i>	日本	日本	2012

1.2 方法

染色体制片全部采用种子发芽的根尖。种子于 28 ℃ 恒温发芽,待幼根生长至 1.00 ~ 1.50 cm 时,切取根尖并用 2.00 mmol/L 的 8 - 羟基喹啉于 4 ℃ 避光处理 4 h,现配的卡诺固定液(无水乙醇:冰醋酸 = 3:1)于暗处固定 24 h,0.25 mol/L HCl 室温解离 10 min,5% 纤维素酶和 1% 果胶酶室温酶解 30 min,改良苯酚品红染色,常规压片,镜检并统计染色体数目。最后选取染色体形态好又分散的细胞用显微镜拍照做核型分析。染色体核型分析根据李

懋学等^[11]的分析标准,染色体类型分析按照 A. Levan 等^[12]的分类系统,核型类型分析按照 G. L. Stebbins^[3]的分类标准。核型不对称系数按 H. Arano^[13]的方法计算,比值越大越不对称。

2 结果与分析

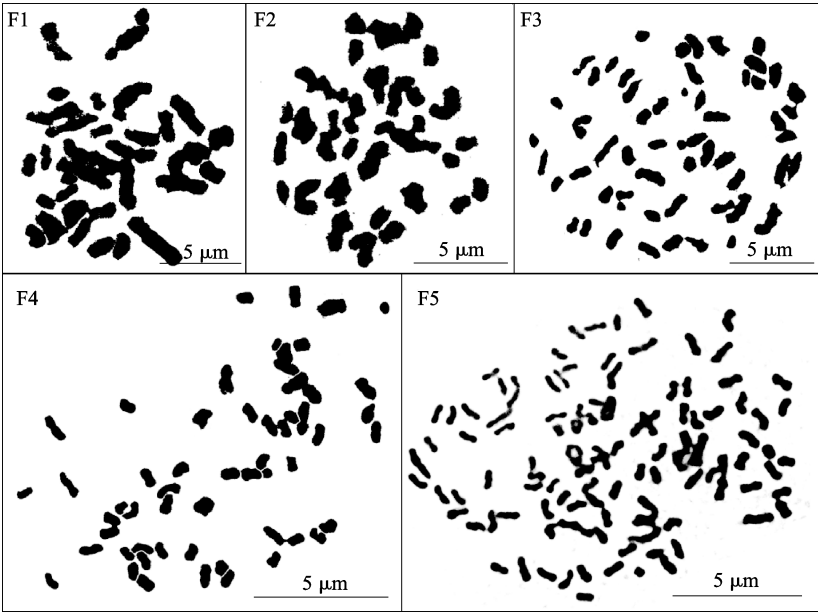
东亚地区 5 种桤木属植物染色体参数和核型特征见表 2;中期染色体、核型图及核型模式图见图 1 ~ 3。

表 2 东亚地区 5 种桤木属植物核型参数

Table 2 Karyotype parameter of five *Alnus* in east asia region

种名 Species	核型公式 Karyotype formula	平均臂比 AAR	最长/最短 Lt/St	臂比 > 2 的 比率 PCA	不对称系数 (%) Ask	类型 Type
喜马拉雅灰桤木 <i>A. nitida</i>	$K(2n) = 28 = 22m + 4sm(2SAT) + 2st(2SAT)$	1.50	4.04	0.21	59.86	2C
毛赤杨 <i>A. hirsuta</i>	$K(2n) = 42 = 36m + 6sm$	1.33	2.73	0.14	57.02	2B
桤木 <i>A. cremastogyne</i>	$K(2n) = 56 = 2M + 40m(1SAT) + 14sm(1SAT)$	1.44	3.93	0.11	58.26	2B
台湾桤木 <i>A. formosana</i>	$K(2n) = 56 = 46m + 8sm + 2st$	1.40	7.43	0.14	57.06	2C
日本特有桤木 <i>A. firma</i>	$K(2n) = 112 = 80m + 28sm + 4st$	1.47	6.06	0.11	58.60	2C

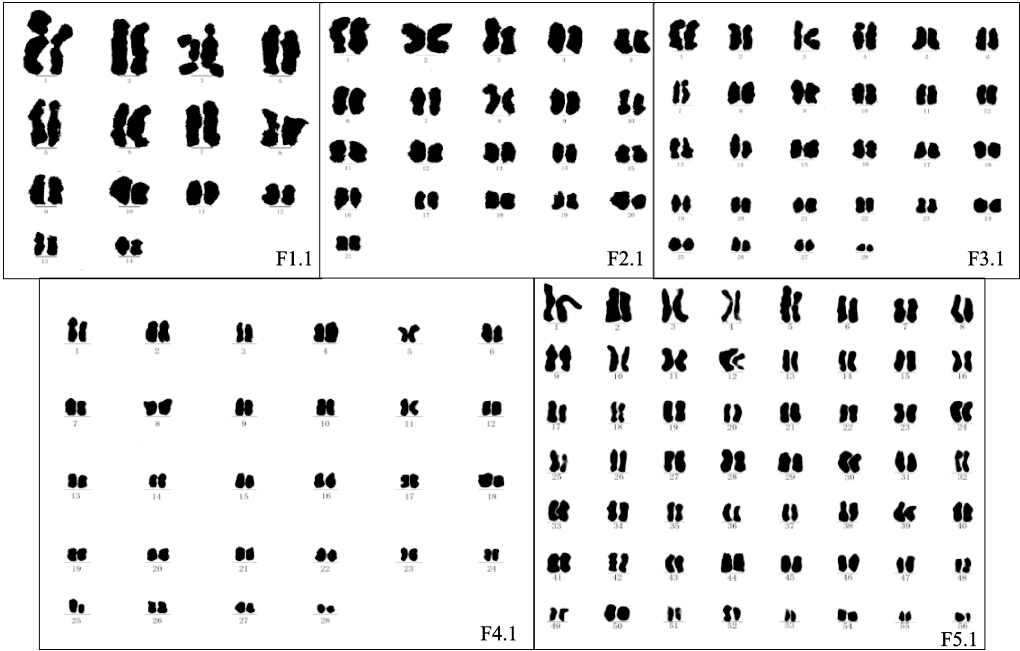
AAR: Average arm ratio, Lt/St: longest/shortest, PCA: Percentage of arm ratio, Ask: Asymmetry index



F1 :*A. nitida*, F2 :*A. hirsuta*, F3 :*A. cremastogyne*, F4 :*A. formosana*, F5 :*A. firma*

图 1 东亚地区 5 种桤木属植物中期染色体图

Fig. 1 Metaphase chromosome of five *Alnus* in east asia region



F1. 1 :*A. nitida*, F2. 1 :*A. hirsuta*, F3. 1 :*A. cremastogyne*, F4. 1 :*A. formosana*, F5. 1 :*A. firma*

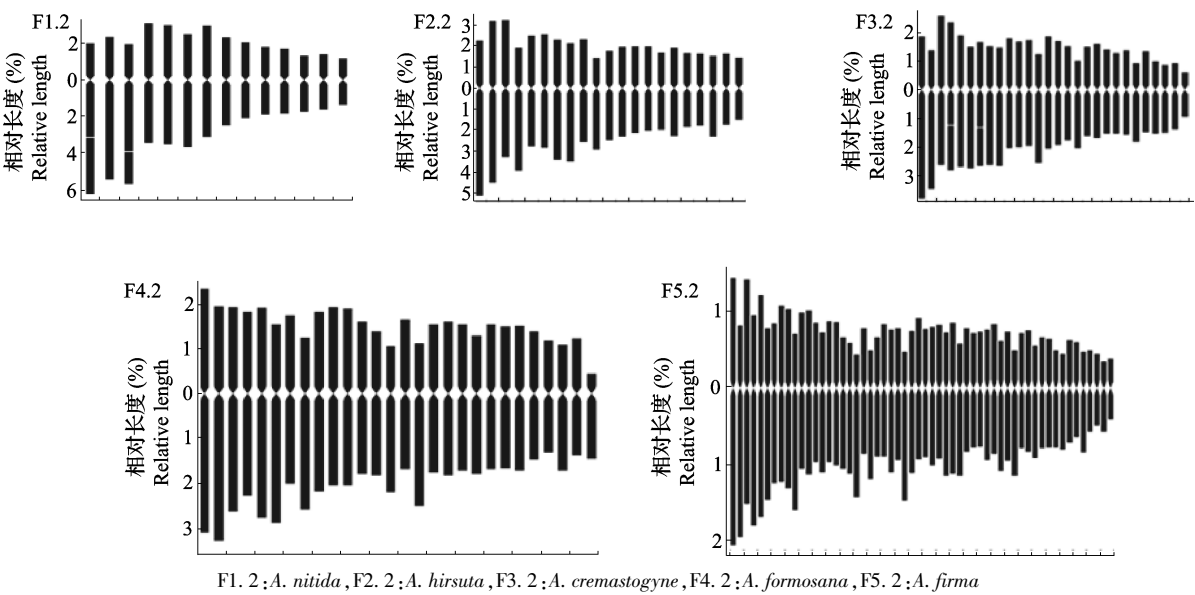
图 2 东亚地区 5 种桤木属植物核型图

Fig. 2 Karyotype of five *Alnus* in east asia region

2.1 *A. nitida* 核型分析

喜马拉雅灰桤木(*A. nitida*)分布区从喜马拉雅克什米尔到阿富汗和伊朗东部。共生花序,夏季至秋季开放,芽具柄。体细胞染色体数 $2n = 4x = 28$, 为四倍体。核型公式为 $K(2n) = 28 = 22m + 4sm$

(2SAT) + 2st(2SAT)。其中第 1 对染色体为近端部着丝点染色体,第 2 和第 3 对染色体为近中部着丝点染色体,其余为中部着丝点染色体。另外,在本试验条件下观察到第 1 和第 3 对染色体长臂均具随体染色体,有明显的次缢痕。染色体相对长度范围



F1. 2; *A. nitida*, F2. 2; *A. hirsuta*, F3. 2; *A. cremastogyne*, F4. 2; *A. formosana*, F5. 2; *A. firma*

图3 东亚地区 5 种桤木属植物核型模式图

Fig. 3 Idiogram of five *Alnus* in east asia region

为 3.41% ~ 11.17%, 平均臂比 1.50, 臂比大于 2 的染色体比例为 0.21, 最长与最短染色体的比值为 4.04, 核型不对称系数为 59.86%, 染色体相对长度组成为 6L + 8M1 + 4M2 + 10S, 臂指数 54, 核型为 2C 型。

2.2 *A. hirsuta* 核型分析

毛赤杨(*A. hirsuta*) 分布于中国山东中南部、胶东半岛等地。体细胞染色体数 $2n = 6x = 42$, 为六倍体。核型公式 $K(2n) = 42 = 36m + 6sm$ 。其中第 1、4 及第 10 对染色体为近中部着丝点染色体, 其余为中部着丝点染色体。染色体相对长度范围为 2.96% ~ 7.68%, 平均臂比 1.33, 臂比大于 2 的染色体比例为 0.14, 最长与最短染色体的比值为 2.73, 核型不对称系数为 57.02%, 染色体相对长度组成为 6L + 12M2 + 16M1 + 8S, 臂指数 84, 核型为 2B 型。

2.3 *A. cremastogyne* 核型分析

桤木(*A. cremastogyne*) 为落叶乔木, 雌花序为单生叶腋, 雌雄花序同在春季出现, 同在当年春季开放, 分布于中国四川、贵州北部、甘肃南部和陕西西南部, 生于海拔 3000 m 以下。体细胞染色体数 $2n = 8x = 56$, 为八倍体。核型公式 $K(2n) = 56 = 2M + 40m(1SAT) + 14sm(1SAT)$ 。其中第 1、2、6、9、13、17 及 23 共 7 对染色体为近中部着丝点染色体, 第 3 对为正中部着丝点染色体, 其余均为中部着丝点染色体。本试验还观察到第 4 和第 7 对染色体长臂具随体染色体, 有明显的次缢痕。染色体相对长度范围为 1.53% ~ 5.63%, 平均臂比 1.44, 臂比大于 2 的染色体比例为 0.11, 最长与最短染色体的比

值为 3.93, 核型不对称系数为 58.26%, 染色体相对长度组成为 10L + 18M2 + 20M1 + 8S, 臂指数 112, 核型为 2B 型。

2.4 *A. formosana* 核型分析

台湾桤木(*A. formosana*) 又名台湾赤杨、水柯子, 为落叶阔叶大乔木, 芽具柄, 雄花序春季开放, 为中国台湾特有种, 在省内分布普遍, 分布于海拔 3000 m 以下地区。体细胞染色体数 $2n = 8x = 56$, 为八倍体。核型公式 $K(2n) = 56 = 46m + 8sm + 2st$ 。第 28 对染色体为近端部着丝点染色体, 第 6、8、14 和第 16 对染色体为近中部着丝点染色体, 其余均为中部着丝点染色体。染色体相对长度范围为 1.89% ~ 5.43%, 平均臂比 1.40, 臂比大于 2 的染色体比例为 0.14, 最长与最短染色体的比值为 7.43, 核型不对称系数为 57.06%, 染色体相对长度组成为 8L + 16M2 + 26M1 + 6S, 臂指数 110, 核型为 2C 型。

2.5 *A. firma* 核型分析

A. firma 雌花序单生叶腋或聚生, 芽无柄, 为日本特有种。体细胞染色体数 $2n = 16x = 112$, 为十六倍体。核型公式 $K(2n) = 112 = 80m + 28sm + 4st$ 。其中第 19 和第 26 对染色体为近端部着丝点染色体, 第 2、4、6、10、16、18、21、29、34、40、42、46、49 和 52 共 14 对染色体为近中部着丝点染色体, 其余均为中部着丝点染色体。染色体相对长度范围为 0.79% ~ 3.50%, 平均臂比 1.47, 臂比大于 2 的染色体比例为 0.11, 最长与最短染色体的比值为 6.06, 核型不对称系数为 58.60%, 染色体相对长度组成为 16L + 30M2 + 46M1 + 20S, 臂指数 220, 核型为 2C 型。

3 讨论

S. Murai 等^[14]报道 *A. inokumae* 的染色体数为 $2n = 14$, 染色体基数为 $x = 7$; C. Shigeru 等^[15]报道 *A. hirsuta* var. *Microphylla* 染色体数为 $2n = 14$, 染色体基数为 $x = 7$; K. Chittaranjana 等^[16]也认为桫木属染色体基数为 7, 因此本研究以染色体基数为 $x = 7$ 确定本试验各物种的倍性。本研究中东亚地区 5 种桫木属植物具有 4 种染色体数目, 即 $2n = 28, 42, 56, 112$; 分别为四倍体 (*A. nitida*)、六倍体 (*A. hirsuta*)、八倍体 (*A. formosana* 和 *A. cremastogyne*) 和十六倍体 (*A. firma*), 说明桫木属植物为属内多倍化植物, 染色体倍性变异大。本研究结果表明 *A. nitida* 染色体数为 $2n = 28$, 为四倍体, 与 P. S. Sandhu 等^[17]研究结果一致; *A. formosana* 及 *A. cremastogyne* 的核型分析结果与任保青等^[8-9]的研究结果基本一致, 染色体数均为 $2n = 8x = 56$, 为八倍体, 但核型参数有较小差异, 这可能与预处理液的浓度、预处理时间、解离液的选择、解离液的浓度、解离时间、制片方法等差异有关; *A. hirsuta* 染色体数 $2n = 42$, 为六倍体, 与 N. S. Probatova 等^[18]的研究结果一致。本试验观察到 *A. firma* 染色体数 $2n = 112$, 为十六倍体, 该物种的染色体数为国内外首次报道。

本试验观察到 5 个桫木属植物的体细胞染色体组成大部分为中部着丝粒染色体 (m), 少数为近中部着丝粒染色体 (sm), 极少数的近端部着丝粒染色体 (st), 仅八倍体 *A. cremastogyne* 具正中部着丝点染色体。根据染色体核型分析结果显示, 供试的 5 个桫木属植物染色体数在 *A. nitida* ($2n = 28$) ~ *A. firma* ($2n = 112$) 范围内变化; *A. hirsuta* 和 *A. cremastogyne* 的核型为 2B 型, 其余 3 种均为 2C 型, 不对称系数在 57.02% ~ 59.86% 之间, 平均臂比在 1.33 ~ 1.50 之间, 最长/最短染色体值在 2.73 ~ 7.43 之间变化, 变化幅度较大, 表明随着桫木属植物染色体数目的增加, 体细胞染色体之间的差异变大, 染色体形态特征等趋于复杂化。根据染色体核型类型、不对称系数以及染色体组成, 可以看出在供试的 5 个种中, *A. nitida* 和 *A. formosana* 具有相似核型, 可能较另外 3 个种 (*A. hirsuta*、*A. firma*、*A. cremastogyne*) 亲缘关系更为接近; 其中中国有分布的 3 个种 (*A. hirsuta*、*A. cremastogyne*、*A. formosana*) 中 *A. hirsuta* 和 *A. cremastogyne* 的亲缘关系可能较近。

大量事实证明, 多倍化在科甚至目的进化中扮演着及其重要的角色。但属内多倍化在木本植物中

是比较少见的, 本研究的桫木属是一个属内多倍化的代表。桫木属染色体数目具有倍性上的差异, 有自然加倍的现象, 从二倍体到十六倍体均有报道^[18-19]。不同倍性天然多倍体的存在, 为桫木属植物种间杂交和新品种选育提供了许多便利, 通过人工杂交, 可得到更多类别多倍体, 如四倍体和六倍体杂交可以得到 $2n = 5x = 35$ 的五倍体; 六倍体和八倍体杂交可得到 $2n = 7x = 49$ 的七倍体等更多倍性的育种材料。不同倍性桫木属种间杂交, 更加丰富了桫木属遗传变异, 具有很大的育种潜力, 有待发掘。

参考文献

[1] 陈之端, 路安民. 桦木科植物的起源和早期进化[J]. 中国科学院研究生院学报, 1995, 2(12): 199-204

[2] 匡可任. 中国植物志: 第二十一卷[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 94-103

[3] Stebbins G L. Chromosome evolution in higher plants[M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971: 87-123

[4] 张蕾, 王家保, 陈业渊, 等. 人心果和蛋黄果染色体核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(3): 486-488

[5] 卫尊征, 殷选红, 熊敏, 等. 3 个彩色马蹄莲引进品种的核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 650-654

[6] 陈龙, 彭建营. 3 个枣品种的核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 321-324

[7] 陈涛, 祁建民, 陶爱芬, 等. 黄麻两个栽培种及其野生类型与三个近源种的核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(4): 619-624

[8] 任保青. 中国桫木属植物的细胞学研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2005

[9] 任保青, 刘军. 中国桫木属植物的细胞学研究(I)[J]. 广西植物, 2006, 26(4): 356-359

[10] 易鼎杰. 台湾桫木非整倍体筛选与 ISSR 分析[D]. 重庆: 西南大学, 2011

[11] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物研究所, 1985, 3(4): 297-302

[12] Levan A, Fredga K, Sandberg A K. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201-220

[13] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoideae of Japan IX[J]. Bot Mag, 1963, 76(5): 32-39

[14] Murai S. Phytotaxonomical and geobotanical studies on gen. *Alnus* in Japan III. Taxonomy of whole world species and distribution of each sect[J]. Bull Gov For Exp Stn Jpn, 1964, 171: 1-107

[15] Shigeru C. Studies on the breeding of *Betula* and *Alnus* species. (1) On the differences of morphological characters and chromosome number between *Alnus hirsuta* and *Alnus hirsuta* var. *Microphylla*[J]. J Jpn For Soc, 1962, 44(9): 237-239

[16] Chittaranjana K. Wild crop relatives: genomic and breeding resources forest trees [M]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2011: 1-15

[17] Sandhu P S, Mann S K. SOCGI plant chromosome number reports-VIII[J]. J Genet Cytol, 1989, 24: 179-183

[18] Probatova N S, Sokolovskaya A P. Chromosome numbers in vascular plants from Primorye Bot Zhurn Territory, the Amur region, Sakhalin, Kamchatka and Kuril Islands[J]. Bot Zhurn, 1989, 74(1): 15-23

[19] Kazuo O, Kazuko F, Masahiro H, et al. Chromosomal evolution of three genera in the Betulaceae concerning polyploidy revealed by in hybridization using 5S rDNA[J]. Chromosome Sci, 2000, 4: 47-55