

濒危植物峨眉含笑染色体核型分析

陈绪玲¹, 余道平^{1,2*}, 方志强^{1,2}, 李小杰¹, 李策宏¹, 谢孔平^{1,2}

¹峨眉山生物资源实验站, 四川 峨眉山

²四川省自然资源科学研究院, 四川 成都

Email: 879564849@qq.com, *550265856@qq.com

收稿日期: 2020年12月25日; 录用日期: 2021年1月15日; 发布日期: 2021年1月26日

摘要

以峨眉含笑(*Michelia wilsonii* Finet et Gagnep.)种子萌发后的根尖为实验材料, 用DAPI染色法制作染色体标本分析其染色体核型。结果表明, 峨眉含笑为二倍体, 染色体数目38条, 核型公式为 $2n = 38 = 32m + 4sm + 2st$, 核型不对称系数为56.3%, 核型属Stebbins的2A型, 在进化上处于原始的地位。本研究确定了峨眉含笑的核型及进化地位, 为其开发利用和保护提供了细胞学资料。

关键词

峨眉含笑, 染色体类型, 核型分析

A Karyotype Analysis on the Endangered Species *Michelia wilsonii*

Xuling Chen¹, Daoping Yu^{1,2*}, Zhiqiang Fang^{1,2}, Xiaojie Li¹, Cehong Li¹, Kongping Xie^{1,2}

¹Emei Mountain Biotic Resource Experimental Station, Emeishan Sichuan

²Sichuan Provincial Institute of Natural Resource Science, Chengdu Sichuan

Email: 879564849@qq.com, *550265856@qq.com

Received: Dec. 25th, 2020; accepted: Jan. 15th, 2021; published: Jan. 26th, 2021

Abstract

The root tips of *Michelia wilsonii* Finet et Gagnep. was used for experiment to analyze chromosome karyotypes by DAPI staining method. The results show that *Michelia wilsonii* is diploid, there are 38 chromosomes, its karyotype formula is $2n = 38 = 32m + 4sm + 2st$. The karyotype

*通讯作者。

asymmetry coefficient is 56.3%, and the karyotype is Stebbins's 2A, which is in a primordial position in evolution. The study determined the karyotype and evolutionary status of *Michelia wilsonii*, and provided cytological data for its development, utilization and protection of the endangered species.

Keywords

Michelia wilsonii, Chromosome Type, Karyotype Analysis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

植物染色体核型分析是将细胞染色体的数目、形态、长度、着丝点位置等内容进行分析研究,是分类和遗传研究的重要手段[1] [2]。含笑属(*Michelia* Linn.)全世界约 60 种,我国约有 35 种[3]。含笑属的核型分析,李秀兰、陈瑞阳、孟爱平[4] [5] [6] [7]均有报道。峨眉含笑(*Michelia wilsonii* Finet et Gagnep.)为木兰科含笑属常绿乔木,中国特有,自然种群极小,被列为国家二级保护植物[8]。自然种群分布范围狭窄,峨眉山仅分布在海拔 1000~1300 m 的常绿阔叶林中[9]。该树种树形优美,树干笔直,花重瓣黄色,有芳香,是园林绿化的重要观赏树种和珍贵用材树种[10]。本研究利用峨眉含笑的种子初生根尖为材料,进行染色体核型研究,旨在分析峨眉含笑的染色体数目和核型类型,为峨眉含笑进化位置的探讨和进一步开发利用和保护等工作的开展提供细胞学资料。

2. 材料与方法

2.1. 材料

本研究供试材料来源于中国西南的峨眉山,采集地海拔 1050 m,东经 103°22',北纬 29°35'。9 月底待峨眉含笑果实中鲜红色的种粒开始暴露时采收,去掉萼葵,清洗掉红色种皮,水沉法选取籽粒饱满的种子,阴干备用。

2.2. 方法

1) 种子萌发

用 1000 mg/L 的赤霉素浸泡峨眉含笑种子 24 h 后放入人工气候箱,在恒温 25℃、相对湿度 75%、光照强度 6000~8000 lux、光照时间 12 h/d 的条件下进行萌发。

2) 取根与固定

根长至 0.5~2 cm 时取样,放入 0.5 ml EP 管中置于冰上,在其盖上戳一个直径约为 3 mm 左右的小洞,将 EP 管放入 0.9 Mpa 笑气罐中处理 2 h,取出 EP 管置于冰上加入 90%乙酸,固定根尖 8~10 min [11]。

3) 制片与染色

切下长度约 0.5 cm 的根尖部分置于果胶纤维素酶混合酶液中,37℃酶解 1 h。用 70%乙醇洗尽酶液,捣碎根尖,4000 rmp 离心 2 min,加入 15~50 μ l 乙酸,获得根尖细胞悬浮液,滴片。自然风干后 DAPI 染色盖上盖片[12],在 Leica 荧光显微镜 DM2500 下镜检。

4) 染色体检测与核型分析

选择分散良好、着丝点清晰的染色体分裂相，对其进行形态观察和数目统计，用 GIMP 软件分别测量染色体的总长、长臂、短臂。体细胞分裂中期核型分析参照李懋学和陈瑞阳[13]的标准，用二点四区系统标准确定着丝粒位置[14]，核型分类按 Stebbins [15]的标准，核型不对称系数参照 Arano [16]的方法。

3. 结果

3.1. 染色体形态及数目

观察了处于有丝分裂中期、中后期、后期细胞分裂相图片，均未观察到随体和端着丝粒染色体，染色体形态和结构均比较稳定(图 1)。选取分散良好、形态清晰的有丝分裂中后期图，从着丝粒个数可以确定，峨眉含笑染色体数目为 38 条，且为二倍体，故 $2n = 38$ (如图 2)。

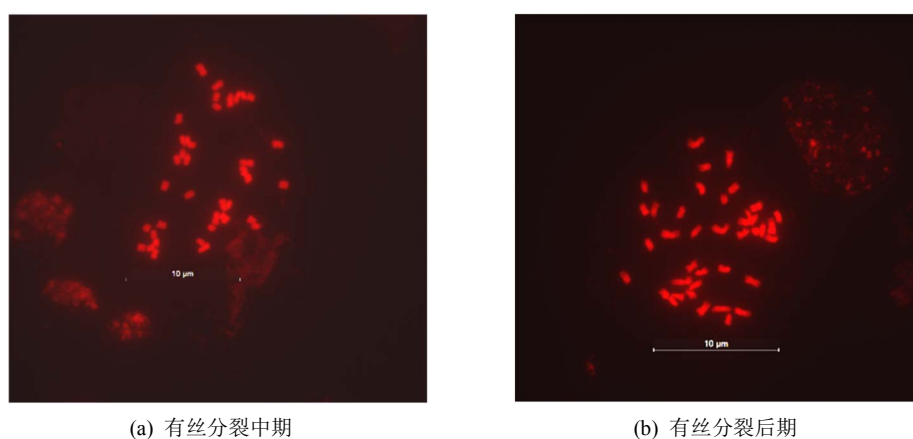


Figure 1. Chromosomes morphology of *Michelia wilsonii*

图 1. 峨眉含笑染色体形态

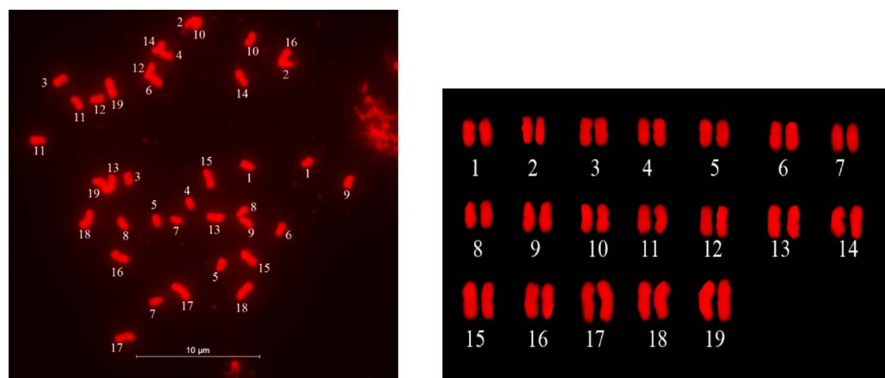


Figure 2. Karyogram of *Michelia wilsonii*

图 2. 峨眉含笑染色体核型

3.2. 核型参数

结果表明(见表 1、图 2、图 3)，19 对峨眉含笑染色体中，中部着丝粒染色体(m)有 16 对(第 1、3~6、9~19 号)，近中部着丝粒染色体(sm)有 2 对(第 7~8 号)，近端部着丝粒染色体(st) 1 对(第 2 号)。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 32m + 4sm + 2st$ 。

基于植物核型分析标准，计算结果(表 1)显示，峨眉含笑染色体绝对变异幅度为 0.94~1.7 μm ，相对

长度为 4~7.07%，臂比值在 1.03~3.62 之间，臂比值大于 2:1 的占 10.5%，核型不对称系数为 56.3%。最长与最短染色体的比值为 1.768。核型不对称性为 2A 型。

Table 1. The chromosome parameters of *Michelia wilsonii*

表 1. 峨眉含笑染色体参数

染色体序号	染色体绝对长度(μm)			相对长度(%)	臂比值(长/短)	着丝点位置
	短臂长	长臂长	染色体长			
1	0.40	0.54	0.94	4.00	1.35	m
2	0.21	0.76	0.97	4.03	3.62	st
3	0.42	0.58	1.00	4.16	1.38	m
4	0.49	0.54	1.03	4.28	1.10	m
5	0.47	0.58	1.05	4.37	1.23	m
6	0.49	0.61	1.10	4.57	1.24	m
7	0.31	0.79	1.10	4.57	2.55	sm
8	0.41	0.71	1.12	4.66	1.73	sm
9	0.51	0.63	1.14	4.74	1.24	m
10	0.56	0.62	1.18	4.91	1.11	m
11	0.52	0.71	1.23	5.11	1.37	m
12	0.59	0.68	1.27	5.28	1.15	m
13	0.63	0.74	1.37	5.70	1.17	m
14	0.70	0.72	1.42	6.00	1.03	m
15	0.77	0.79	1.56	6.00	1.03	m
16	0.67	0.88	1.55	5.70	1.31	m
17	0.71	0.91	1.62	6.74	1.28	m
18	0.73	0.95	1.68	6.99	1.30	m
19	0.76	0.94	1.70	7.07	1.24	m

m: metacentric 的缩写，表示具中部着丝点染色体；sm: submetacentric 的缩写，表示具亚中部着丝点染色体；st: subterminal 的缩写，表示近端部着丝点染色体。

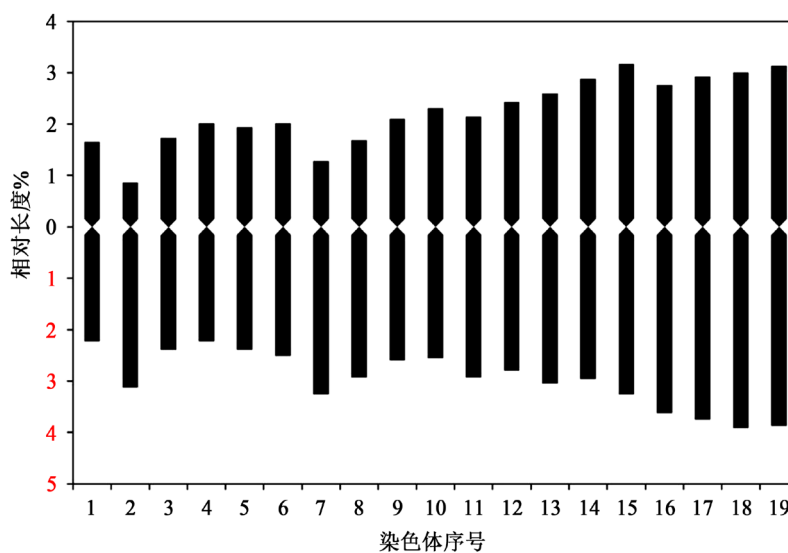


Figure 3. Karyotype pattern of *Michelia wilsonii*

图 3. 峨眉含笑染色体核型模式图

4. 讨论

本研究中峨眉含笑染色体数目 $2n = 38$, 为二倍体, 与前人报道的木兰科大多数属的染色体数目和倍性一致[5] [6] [16]-[21]。核型分类为 2A 型, 属于较整齐的对称核型, 表明峨眉含笑遗传性状稳定、在进化上处于比较原始的地位, 支持了“有花植物中木兰科是最原始的科之一” [7]这一观点。

李秀兰报道的峨眉含笑的核型公式为 $2n = 30m + 8sm$ (2SAT) [4], 本报道中峨眉含笑未发现随体, 核型公式为 $2n = 2x = 38 = 32m + 4sm + 2st$ 。造成核型不同的原因, 可能是人为的不同实验操作[22]影响了染色体的观察, 即使是同一个物种, 不同的人也有不同的研究结果, 李秀兰[4]发现深山含笑核型公式为 $2n = 38 = 32m + 6sm$, 核型为 2A 型, 而孟爱平[7]发现深山含笑核型公式 $2n = 38 = 28m + 10sm$, 核型分类为 2B 型, 核型公式和核型分类均不同; 同一物种核型不同也可能是物种不同来源地导致了这种差异, 有研究证实不同产地的物种, 其核型对称性、核型公式、随体有无, 存在细微差异[23], 本研究结果佐证了这一观点。可能是物种在进化的进程中, 为了适应环境而使染色体变异, 最终表现为物种内部染色体核型多态性[24]。

基金项目

四川省科技计划重点研发项目“峨眉 3 种濒危植物野生种群自然更新能力评估与人工促进措施”(2019YFS0459)、四川省植物资源共享平台建设项目(2019JDPT0028)和峨眉山植物园科普教育基地能力提升创新与示范(2018KZ0006)。

参考文献

- [1] 李懋学, 张赞平. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 1-60.
- [2] 吴琼, 林琳, 张贵友. 普通遗传学实验指导[M]. 北京: 清华大学出版社, 2003: 1-8.
- [3] 郑万钧. 中国树木志. 第 2 册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1985.
- [4] 李秀兰, 宋文芹, 安祝平, 等. 中国含笑属核型分析[J]. 植物分类学报, 1998, 36(2): 145-149.
- [5] 陈瑞阳, 陈祖耕, 李秀兰, 等. 中国部分木兰科植物染色体数目[J]. 植物分类学报, 1985, 23(2): 103-105.
- [6] 陈瑞阳, 张玮, 武全安. 云南部分木兰科植物染色体数目报道[J]. 云南植物研究, 1989, 11(2): 234-238.
- [7] 孟爱平, 王恒昌, 李建强, 等. 中国木兰科 11 属 40 种植物的核形态研究[J]. 植物分类学报, 2006, 44(1): 47-63.
- [8] 向成华, 朱秀志, 张华, 等. 濒危植物峨眉含笑的遗传多样性研究[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(5): 66-69.
- [9] 李振宇, 石雷. 峨眉山植物[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2007.
- [10] 秦爱丽, 马凡强, 许格希, 等. 珍贵濒危树种峨眉含笑种群结构与动态特征[J]. 生态学报, 2020, 40(13): 4445-4454.
- [11] 何倚涟, 刘宏伟, 杨彬, 等. 北柴胡根尖染色体制片技术研究[J]. 种子, 2018, 37(8): 68-71.
- [12] 朱澍, 林辰涛. 一种新型 DNA 荧光染料一的 DAPI 光学特性及其应用[J]. 武汉植物学研究, 1986, 4(1): 91-102.
- [13] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297-302.
- [14] Levan, A. (1964) Nomenclature for Centromeric Positions on Mosomes. *Hereditas*, **51**, 201-220. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>
- [15] Stebbins, G.L. (1971) Chromosome Evolution in Higher Plants. Edward Aronld, London, 88.
- [16] Arano, H. (1963) Cytological Studies in Subfamily Carduoidae of Japan IX. *Botanic Magazine (Tokyo)*, **76**, 32-39. <https://doi.org/10.15281/jplantres1887.76.219>
- [17] 李秀兰, 宋文芹, 安祝平, 等. 木兰科属间核型比较[J]. 植物分类学报, 1998, 36(3): 232-237.
- [18] 张雪梅, 刀志灵, 龙春林, 等. 濒危植物长蕊木兰的核型[J]. 云南植物研究, 2006, 28(3): 268-270.
- [19] 吴文珊, 刘剑秋, 张清其, 等. 观光木染色体核型的研究[J]. 福建师范大学学报, 1997, 14(1): 90-92.
- [20] 王恒昌, 何子灿, 李建强, 等. 乐昌含笑(木兰科)的核型研究[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(5): 469-472.

- [21] 徐涛, 况兆南, 司马永康, 等. 木兰科小果含笑的核型分析[J]. 西部林业科技, 2015, 44(1): 27-40.
- [22] 刘永安, 冯海生, 陈志国, 等. 植物染色体核型分析常用方法概述[J]. 贵州农学科学, 2006, 34(1): 98-102.
- [23] 苏芸芸, 王康才. 不同产地藿香核型及似近系数聚类分析[J]. 核农学报, 2017, 31(6): 1053-1060.
- [24] 左青青, 钱露, 高瑜, 等. 全缘千里光的染色体核型分析及其系统植物学特征[J]. 遵义医科大学学报, 2020, 43(3): 300-304.