

A Karyomorphological Analysis on the Endemic Species *Corydalis hemidicentra* in the Southwest China for the First Time

Tongsiqi Lin¹, Yan Ren¹, Fuming Su¹, Wenguang Sun^{1,2*}, Zhimin Li^{1*}

¹Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy, School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming Yunnan

²Key Laboratory for Plant Diversity and Biogeography of East Asia, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan

Email: ¹lizhimin_vip@163.com, ²sunwenguang@mail.kib.ac.cn

Received: Jun. 24th, 2018; accepted: Jul. 9th, 2018; published: Jul. 17th, 2018

Abstract

In this study, we reported the karyomorphological characteristics of the endemic species *Corydalis hemidicentra* from two different populations of southwest China, which was carried out for the first time. By using the plant root tip cytology research method, the results of *C. hemidicentra* showed that the karyotype formulas is $2n = 2x = 16 = 16m$, and the base chromosome number is $x = 8$, and the karyotype asymmetry is 1A type. A number of satellite chromosomes attaching to the short arms of the sixth chromosomes were observed in Tianbao Mountain population, which was hardly seen in Baima Snow Mountain population. The leaf colours of two different populations matched with their corresponding habitat background, respectively. Our study can provide the karyomorphological characteristics data that may be useful in discussing the polyploidization phenomena among *Corydalis* and exploiting the alpine flower resources of *C. hemidicentra*.

Keywords

Corydalis hemidicentra, Karyotype, Satellite Chromosome, Alpine Flower

中国西南特有高山花卉半荷包紫堇核型的首次研究报道

林桐司¹, 任艳¹, 苏富明¹, 孙文光^{1,2*}, 李志敏^{1*}

¹云南师范大学生命科学学院, 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南 昆明

*通讯作者。

文章引用: 林桐司, 任艳, 苏富明, 孙文光, 李志敏. 中国西南特有高山花卉半荷包紫堇核型的首次研究报道[J]. 植物学研究, 2018, 7(4): 418-424. DOI: 10.12677/br.2018.74050

²中国科学院东亚生物多样性与生物地理学重点实验室, 云南 昆明
Email: lizhimin_vip@163.com, sunwenguang@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2018年6月24日; 录用日期: 2018年7月9日; 发布日期: 2018年7月17日

摘要

利用植物常规压片法对中国西南横断山区特有高山花卉半荷包紫堇(*Corydalis hemidicentra*)两个居群的核型进行首次研究报道。结果表明: 半荷包紫堇两个居群体细胞有丝分裂中期均有16条染色体, 染色体基数 $x = 8$, 为二倍体植物, 核型公式基本相同都为 $2n = 2x = 16 = 16m$, 两居群的核型不对称性均为1A型; 其中发现天宝山居群在6号染色体短臂上常伴有随体染色体, 白马雪山居群随体染色体不常见; 两居群植物大部分个体的叶色均与其生境背景相似。本研究结果可以为紫堇属植物多倍化现象的讨论提供参考资料; 同时, 也为高山花卉半荷包紫堇的开发利用与保护提供细胞学资料。

关键词

半荷包紫堇, 核型, 随体染色体, 高山花卉

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

1. 引言

紫堇属(*Corydalis*)是罂粟科(Papaveraceae)的大属, 约 470 种, 有将近 360 种分布于中国, 其中又有 260 多种是中国特有种。其分布以中国西南部最为集中, 在云南分布有 74 种[1]。紫堇属自 1806 年建立以来, 至今仍在分类系统的划分上存在一些界定不清晰的方面[2] [3]。这主要是由于紫堇属植物的地下器官和地上器官有着不同程度的变异, 特别是花的结构和叶的颜色有着异常复杂的变异, 因而对分类工作产生了较大的挑战。本研究材料半荷包紫堇(*Corydalis hemidicentra*)为多年生草本植物, 是狭域分布于中国西南高山流石滩的特有植物, 主要分布于云南西北部的丽江、中甸、维西、德钦, 常生长在 3600~5500 m 的高山流石滩上。它在形态学上最显著的特征是花序轴不弯曲, 花梗直立; 花的颜色多样, 多以蓝色或蓝紫色较为常见。此外, 半荷包紫堇叶片的颜色比较特殊, 在具有不同基质色彩的群体间会表现出与其当地环境相似的颜色; 在相同的居群下有些个体叶片呈现出绿色, 另外一些个体叶片会呈现出与生长环境类似的颜色。在本研究中, 半荷包紫堇在不同居群中叶片所呈现出来的颜色不尽相同, 天宝山居群叶片上表面呈现灰绿色(见图 1(a)), 白马雪山居群叶片上表面呈现红褐色(见图 1(b)); 花色的变异在居群内存在连续变异, 与叶片颜色没有直接联系。有研究表明此物种叶片颜色的变异是适应高山环境所进化出的一种隐避色[4]。这种独有的特征可以令其躲避潜在天敌的攻击。某些植物特别是高山类群, 其形态学特征的变化是适应高海拔极端地理环境的一种生存方式[5]。

关于本属植物核型方面的研究, 在国内主要是张瑜华等人对紫堇属植物染色体数目进行过一些相应的报道, 其中浙江采集的延胡索(*C. yanhusuo*)其体细胞染色体数目 $2n = 28, 30, 32, 48$ [6] [7], 因其存在多种染色体倍性变化而显得较为特殊。此外, 还有对刻叶紫堇(*C. incise*) $2n = 28$ [8], 小花黄堇(*C. racemosa*) $2n = 16$ [9], 台湾黄堇(*C. balansae*) $2n = 16$ [9], 伏生紫堇(*C. decumbens*) $2n = 32$ [10]等物种体细

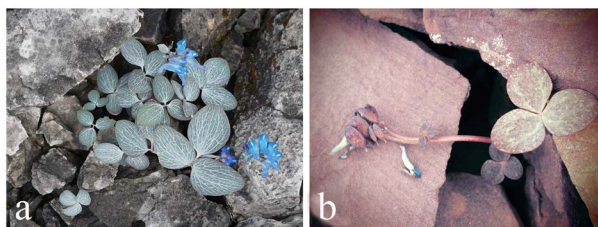


Figure 1. The variation of leaf colour of *Corydalis hemidicentra* from two different populations. (a) Tianbao Mountain population; (b) Baima Snow Mountain population (The colour of leaves of two populations is similar to the conditions around)

图 1. 不同居群的半荷包紫堇个体颜色呈现出的地理分化。(a) 天宝山居群中与背景相似的个体；(b) 白马雪山居群中与背景相似的个体

胞染色体数目的报道。国外也有一些相关的报道，例如堇叶延胡索(*C. fumariifolia*) $2n = 16$ [11]，天祝黄堇(*C. tianzhuensis*) $2n = 16$ [11]，小黄紫堇(*C. raddeana*) $2n = 16$ [12]，囊距紫堇(*C. benecincta*) $2n = 16$ [13]。综上，紫堇属植物染色体基数 $x = 7$ 或 8 ，主要以 $x = 8$ 为主，属内植物存在多种特殊的染色体倍性变化，二倍体和四倍体较为常见。本文对中国西南部横断山区高山流石滩半荷包紫堇两个居群的体细胞核型进行首次报道，目的是为了填补本属植物特别是高山类群在核型研究方面的空白，并为本属植物已有的分类学研究提供参考资料；另外，半荷包紫堇作为一种著名的高山花卉，本研究结果也能为其花卉资源的开发利用与保护提供细胞学基础资料。

2. 材料与方法

2.1. 材料

本研究供试的材料均来源于中国西南部横断山地区，采集地的详细信息见表 1，对应的凭证标本存放于中国科学院昆明植物研究所标本馆(KUN)内，用于镜检的永久装片保存于云南师范大学生命科学学院植物学研究室。

2.2. 方法

用常规植物根尖压片法[14]进行试验探究，具体的方法如下：将野外采集的块茎放置于 4°C 冰箱里，待其萌发的根尖生长至 $0.5\sim 1.0\text{ cm}$ 后离体取材，使用 $0.003\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 8-羟基喹啉避光处理 $3\sim 4\text{ h}$ ，蒸馏水清洗后再用现配制的卡诺氏固定液(无水乙醇：冰乙酸 = $3:1$)于 4°C 冰箱中固定 12 h ，清洗后用 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸于 60°C 水浴锅中解离 $7\sim 8\text{ min}$ ，清洗后用卡宝品红染色 10 h 即可用常规压片法镜检观察。将处于有丝分裂中期且染色体分散程度较好的细胞进行拍照，随后封片制作成永久装片以便保存。

选择至少 6 个有丝分裂中期染色体形态及分散程度良好的细胞图片进行核型分析。根据李懋学和陈瑞阳[14]以及 Levan [15]的标准确定染色体数目和着丝点位置，使用植物核型测量软件 KaryoType 2.0 进行染色体测量和相关核型参数的分析[16]，按照 Arano [17]的方法计算核型不对称系数(Ask %)，参考 Paszko [18]和 Peruzzi [19] [20] [21]对核型参数使用的建议，得出相关核型参数及核型公式，再按照 Stebbins 的标准进行核型不对称性的分类[22]，得出最终的核型分析结果。

本研究中主要涉及到的核型参数的计算公式[16] [17]如下：Ask % (Arano 核型不对称指数) = (染色体组长臂总和/染色体组总长度和) $\times 100$ ； CV_{CL} (染色体长度变异系数) = $(sCL/xCL) \times 100$ ； CV_{CI} (着丝粒指数变异系数) = $(sCI/xCI) \times 100$ ；CL (染色体长度) = $L + S$ ；CI (着丝粒指数) = $S/(L + S)$ ；AI (不对称指数) = $(CV_{CL} \times CV_{CI})/100$ ； M_{CA} (平均着丝粒不对称程度) = $x[(L - S)/(L + S)] \times 100$ ； THL = 染色体组总长度和。其中，L 表示染色体长臂；S 表示染色体短臂；s 表示标准差；x 表示平均值。

Table 1. The locations and vouchers of two populations of *Corydalis hemidicentra* investigated
表 1. 半荷包紫堇供试材料的采集地信息及凭证标本号

居群编号 Population number	采集地 Location	经纬度 Longitude & Latitude	海拔 Altitude (m)	凭证标本号 Voucher specimens	采集时间 Collection date
1	云南省德钦县白马雪山 Baima Snow Mountain, Deqin, Yunnan	99°00'23"E, 28°28'52"N	4820	NSC-001	2016 年 8 月 26 日
2	云南省香格里拉县天宝山 Tianbao Mountain, Shangri-La, Yunnan	99°03'35"E, 28°22'22"N	3800	NSC-002	2016 年 8 月 26 日

3. 结果

本研究结果显示半荷包紫堇两个居群的体细胞分裂中期核整体染色较浅, 且具有一些染色较深的异染色质中心小体, 见图 2(a)。根据 Tanaka [23]对间期核形态划分的标准, 该物种体细胞间期核属于简单染色型。图 2(b)中, 前期染色体染色中心形成的异染色质片段位于邻近染色体的区域, 通常这种类型的染色体在有丝分裂中期多为具中部着丝点的中间型染色体。

半荷包紫堇体细胞有丝分裂中期的染色体都比较小, 见图 2(c)和图 2(d)。其核型不对称性在 Stebbins 分类中均是属于 1A 型。白马雪山居群的体细胞核型公式为 $2n = 2x = 16 = 16m$, 染色体长度范围为 1.64~2.16 m, 染色体长度比(最长染色体长度与最短染色体长度的比值)为 1.32, 臂比范围为 1.24~1.38, Arano 核型不对称系数 Ask % 为 57.00。天宝山居群的体细胞核型公式为 $2n = 2x = 16 = 16m (2sat)$, 在 6 号染色体的短臂上常伴有随体染色体, 见图 2(d) (黑色箭头标示处), 染色体长度范围为 1.67~2.71 m, 染色体长度比为 1.62, 臂比范围为 1.22~1.39, Arano 核型不对称系数(Ask %)为 56.61。两个居群核型分析所得的核型参数详见表 2。

综合两个居群的核型参数, 发现用于描述染色体间变异程度的染色体长度变异系数(CV_{CL})变化范围为 8.35~8.54, 而反映染色体内部变异程度的着丝粒指数变异系数(CV_{CI})变化范围为 1.93~3.21, 显然变化较大; 综合上述两个系数所得的不对称系数(AI)变化范围为 0.16~0.26, 其变化也相对比较大。

4. 讨论

半荷包紫堇的染色体基数、核型不对称性类型以及核型公式均为首次报道。其在白马雪山和天宝山两个居群中的体细胞核型公式基本相同都是 $2n = 2x = 16m$, 仅有天宝山居群在 6 号染色体短臂上的随体染色体较为常见。两个居群的核型不对称性在 Stebbins 分类系统中均是属于 1A 型, 属于在染色体进化上较为原始的类型。尽管随体染色体在分类学上具有重要的意义[24], 但在本研究结果中显示, 同一物种两个居群的体细胞核型在随体染色体的数目上存在差异。这种变异可能是两个居群所处的横断山西南部高山流石滩特定地理环境所引起的; 另外在垂直分布上两居群的海拔差距(约 1000 m)也可能是一个重要的影响因素。当然, 这一变化仍有待更多的研究证据来进一步深入论证。

本研究发现半荷包紫堇这两个居群不仅在体细胞分裂中期的染色体形态上存在差异, 在叶片颜色上也存在差异。天宝山居群叶片颜色呈灰绿色, 花色为蓝色(见图 1(a)), 白马雪山居群叶片颜色则呈红褐色(见图 1(b))。两居群的叶片颜色与各自生境周围岩石基质的颜色比较相近。根据核型分析结果, 天宝山居群在 6 号染色体短臂上伴有随体染色体, 可能导致染色体内部变异较大, 在一定程度上表明了该居群个体与白马雪山居群个体相比染色体存在变异的可能。但是否该物种不同居群之间都存在这种差异还有待更多研究资料的积累。尚宗燕等人在研究葱属(*Allium*)某些类群时曾提出随体染色体数目对植物外部形态特征的影响不大[25]。本研究中发现随体染色体数目是否有可能影响该植物的叶片颜色还有待进一步的

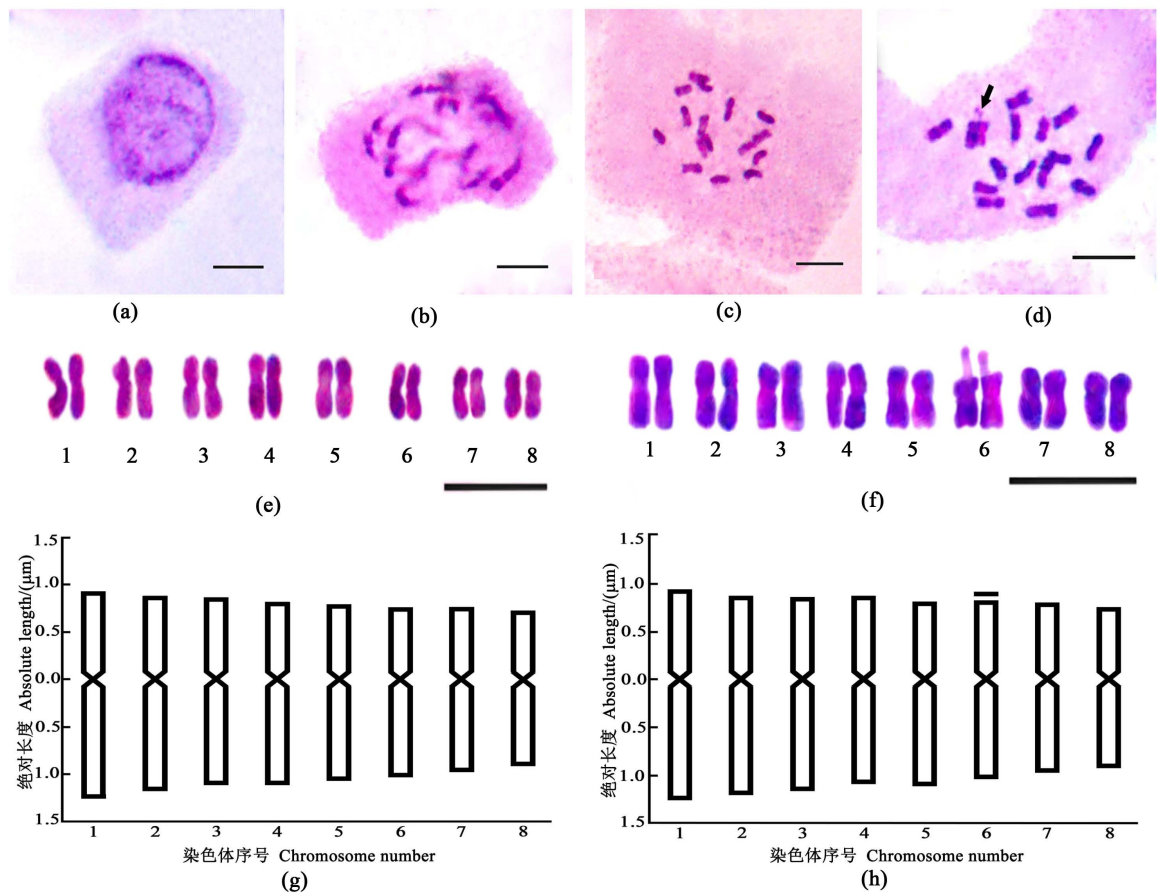


Figure 2. The somatic mitotic resting nucleus, prophase, metaphase chromosomes, karyogram and karyotype ideogram of *Corydalis hemidicentra* from two populations. (a) Resting nuclear; (b) Prophase; (c) and (d): Metaphase chromosomes (Black arrowhead indicates satellite chromosomes); (e) and (f): Karyogram; (g) and (h): Karyotype ideogram; (c), (e), (g): Baima Snow Mountain population; (d), (f), (h): Tianbao Mountain population. (Scale bar = 5 μm; (g), (h): Above zero scale: Short arm, Below zero scale: Long arm; (h): Transverse line represents satellite chromosomes)

图 2. 半荷包紫堇两个居群体细胞有丝分裂间期、前期、中期染色体、核型图和核型模式图。(a): 体细胞有丝分裂间期核; (b): 体细胞有丝分裂前期图; (c)和(d): 体细胞有丝分裂中期图(黑色箭头所指为随体染色体); (e)和(f): 核型图; (g)和(h): 核型模式图; (c), (e), (g): 白马雪山居群; (d), (f), (h): 天宝山居群。(标尺 = 5 μm; (g), (h): 0 刻度以上为短臂, 0 刻度以下为长臂; (h): 6 号染色体上面的横线代表随体染色体)

Table 2. Karyotype and chromosomal data of two populations of *Corydalis hemidicentra*

表 2. 半荷包紫堇两个居群的染色体核型参数

居群	染色体数目/基数/倍性	核型不对称性	CV _{CL}	CV _{Cl}	AI	THL	M _{CA}	AsK %	核型公式
白马雪山	16/8/2x	1A	8.54	1.93	0.16	15.14	13.75	57.00	2n = 2x = 16m
天宝山	16/8/2x	1A	8.35	3.12	0.26	15.43	13.20	56.61	2n = 2x = 16m (2sat)

m: 表示具中部着丝点染色体; sat: satellite 的缩写, 表示随体染色体。

研究。高山流石滩上生存的物种相比低海拔地区的物种其环境更加孤立, 会阻碍物种间的基因流, 有可能促进和巩固表型和基因分化; 叶色和核型的群体间分化可能同时受到这种效应的影响, 但两者之间不一定就有因果联系。

有研究表明, 在高山流石滩地区植物多倍体的频率相比低海拔地区更高[26]。而半荷包紫堇这两个居群虽然位于高海拔地区, 却仍然保持着二倍体的遗传方式, 结合两居群都为 1A 型的核型不对称性类型

及核型公式来看, 暗示半荷包紫堇这两个居群在遗传进化上可能相对比较保守。其他居群是否会存在多倍化的现象还有待进一步的研究。在本属的研究中, 张渝华[6]曾经报道过浙江余杭超山的野生延胡索存在 $2n = 6x = 48$ 的六倍体居群, 但对于这种多倍化现象产生的原因和机制仍不清楚。本研究中的半荷包紫堇染色体基数也为 $x = 8$, 但为二倍体。本属植物的染色体数目和多倍性与海拔之间是否存在特殊的规律还有待更多相关研究资料的填充。由于本研究所涉及到的居群比较少, 因而在开展系统性的统计分析上可能具有一定的局限性。

半荷包紫堇作为一种高山花卉, 其花色和叶色形态独特且存在不同程度的变异, 因而具有极高的观赏价值, 是极具开发潜质的花卉种类。但是由于其生长海拔较高, 目前还没有将其引种作为园林观赏植物的应用, 有条件的地方可以尝试将其引种到高寒地区进行栽培或是在高寒温室里种植, 并且通过杂交等手段培育出既能保持其极高的观赏性、又能解决不易栽培的优良品种。综上, 本研究结果可以在一定程度上为半荷包紫堇花卉资源的开发利用与保护提供细胞遗传学资料。

致 谢

感谢中国科学院昆明植物研究所牛洋副研究员、陈哲先生在野外工作中的帮助, 感谢云南师范大学苏瑞女士、杨慧娴女士在试验开展中提供的帮助, 感谢胡仲萌先生在图片处理方面提供的帮助。

基金项目

国家自然科学基金项目(31670206)。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999, 32: 374.
- [2] 吴征镒, 庄璇, 苏志云. 论紫堇属的系统演化与区系发生和区系分区的关系[J]. 植物分类与资源学报, 1996, 18(3): 241-267.
- [3] 吴征镒, 苏志云. 中国紫堇属伞花紫堇组的初步研究[J]. 植物分类与资源学报, 1982, 4(1): 3-8.
- [4] Niu, Y., Chen, Z., Stevens, M., *et al.* (2017) Divergence in Cryptic Leaf Colour Provides Local Camouflage in an Alpine Plant. *Proceedings B Royal Society*, **284**, Article ID: 20171654. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1654>
- [5] 崔红梅. 海拔梯度上6种高山典型垫状植物叶片形态和结构特征对高寒环境的适应特征[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 兰州大学, 2016.
- [6] 张渝华. 浙江发现野生延胡索六倍体居群[J]. 植物资源与环境学报, 1996(2): 63-64.
- [7] 张渝华, 管启良, 张毓芳, 等. 几种药用植物染色体数目报告[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(11).
- [8] 张渝华, 傅承新. 浙江产三种紫堇的核型报道[J]. 植物分类与资源学报, 1992(4): 454-456.
- [9] 张渝华, 傅承新. 紫堇属3种1变种的染色体数目[J]. 植物科学学报, 1993, 11(4): 383-384.
- [10] 张渝华, 邱江峰. 7种国产野生经济植物的染色体数目[J]. 植物科学学报, 1995, 13(2): 183-184.
- [11] Lidén, M. (1996) New Taxa of Tuberous *Corydalis* (Fumariaceae). *Willdenowia*, **26**, 23-35.
- [12] Fukuhara, T. (1991) *Corydalis kushiroensis*, a New Species of *Corydalis* (Papaveraceae; Fumarioideae) from Hokkaido (Northern Japan). *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, **42**, 107-112.
- [13] Zhang, M.L., Su, Z.Y. and Lidén, M. (2008) Flora of China. Science Press, Beijing, 313-314.
- [14] 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.
- [15] Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A. (1964) Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. *Hereditas*, **52**, 201-220. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>
- [16] Altinordu, F., Peruzzi, L., Yu, Y. and He, X.J. (2016) A Tool for the Analysis of Chromosomes: Karyotype. *Taxon*, **65**, 586-592. <https://doi.org/10.12705/653.9>
- [17] Arano, H. (1963) Cytological Studies in Subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan IX. *Botanical Magazine*, **76**, 32-39. <https://doi.org/10.15281/jplantres1887.76.32>

- [18] Paszko, B. (2006) A Critical Review and a New Proposal of Karyotype Asymmetry Indices. *Plant Systematics and Evolution*, **258**, 39-48. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0389-2>
- [19] Peruzzi, L. and Altinordu, F. (2014) A Proposal for a Multivariate Quantitative Approach to Infer Karyological Relationships among Taxa. *Comparative Cytogenetics*, **8**, 337-349. <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v8i4.8564>
- [20] Peruzzi, L. and Eroğlu, H.E. (2013) Karyotype Asymmetry: Again, How to Measure and What to Measure? *Comparative Cytogenetics*, **7**, 1-9. <https://doi.org/10.3897/compcytogen.v7i1.4431>
- [21] Astuti, G., Roma-marzio, F. and Peruzzi, L. (2017) Traditional Karyomorphological Studies: Can They Still Provide a Solid Basis in Plant Systematics? *Floral Mediterranea*, **27**, 91-98.
- [22] Stebbins, G.L. (1971) *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edward Arnold.
- [23] Tanaka, R. (1971) Types of Resting Nuclei in Orchidaceae. *Botanical Magazine*, **84**, 118-122. <https://doi.org/10.15281/jplantres1887.84.118>
- [24] 张宇澄, 何兴金, 王强, 等. 12 种中国葱属植物的核型分析[J]. 西北植物学报, 2008, 28(10): 2138-2143.
- [25] 尚宗燕, 李汝娟, 崔铁成, 等. 八种国产葱属植物染色体研究[J]. 植物分类学报, 1997, 35(5): 434-444.
- [26] 黄荣福, 沈颂东, 卢学峰. 青藏高原东北部植物染色体数目和多倍性研究[J]. 西北植物学报, 1996, 16(3): 310-318.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: br@hanspub.org