

# 禺毛茛复合体及其近缘种多倍体分析

聂谷华, 廖亮

(九江学院 生命科学学院, 江西 九江 332000)

**摘要:** 利用细胞学及系统进化方法, 分析了禺毛茛复合体及其近缘种的多倍体现象, 以及多倍体对植物物种形成、形态、生态及生理等方面的影响。结果表明: 禺毛茛复合体及其近缘种的多倍体现象突出, 多倍体在形态上更为粗壮、生态分布上范围更大、生理上由于基因组的相容性水平提高而使得植株的适应性及抗逆性增强。

**关键词:** 禺毛茛; 复合体; 近缘种; 多倍体; 系统进化

中图分类号: Q941 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)05-0583-04

## \* Study on the polyploid in complex of *Ranunculus cantoniensis* and its allied species

NIE Gu-Hua, LIAO Liang

(College of Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

**Abstract:** The polyploid in complex of *Ranunculus cantoniensis* and its allied species as well as the influence which polyploidy affected on speciation, morphology, ecology and physiology were analyzed by cytologic and phylogeny evolution method. The result showed that polyploid in complex of *R. cantoniensis* and its allied species were common. Polyploid was thicker and strong in morphology, distributed range was wider in ecology and its adaptability or stress resistance was bigger because of higher compatibility of genomic.

**Key words:** *R. cantoniensis*; complex; related species; polyploid; evolution

禺毛茛 *Ranunculus cantoniensis* (4x) 复合体作为一个分类单位, 由 Tamura (1978) 提出, 在日本涉及到的禺毛茛、卷喙毛茛 *R. sileriifolius* var. *sileriifolius*、茴茴蒜 *R. chinensis* 及扬子毛茛 *R. sieboldii* 等 4 个种; 复合体部分成员构成多倍体复合体的关系则是 Okada (1984, 1989) 提出, 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 *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, 则认为复合体的组成是在日本所概括成员基础上加上长花毛茛 *R. sileriifolius* var. *dolicathus* (2x), 并通过孢粉学与细胞学研究得出复合体部分成员构成多倍体复合体的关系是长花毛茛和卷喙毛茛杂交形成禺毛茛而来

(聂谷华等, 2007)。

复合体的近缘种主要有: 棱喙毛茛 *R. trigonus*、毛茛 *R. japonicus*、匍枝毛茛 *R. repens*、铺散毛茛 *R. diffusus*、褐鞘毛茛 *R. vaginatus*、石龙芮 *R. sceleratus*。禺毛茛复合体及其近缘种存在高频率的多倍体现象, 多倍体与低倍体在地理分布(生境)、形态及生境等方面有明显不同。生物的这些差异可反映其进化的时间历程。因此, 研究生物类型的多倍体形成及其与正常二倍体的差异, 可追溯它们的进化历程, 为生物进化提供证据。目前毛茛属植物中, 通过多倍性来研究物种进化表现鲜有报道。由于中国大陆对禺毛茛复合体形成关系的研究是从形态学、细胞学及孢粉学等方面开展的(廖亮等, 1995; 聂谷华等, 2007), 而日本对此做了形态实验的研究

\* 收稿日期: 2012-03-19 修回日期: 2012-06-20

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, 副教授, 主要从事植物系统与进化研究工作, (E-mail)niegh1968@126.com。

(Tamura, 1978; Okada, 1984, 1989)。因此本文选择禺毛茛复合体及其近缘种作为研究对象。

## 1 材料和方法

本实验材料是根据中国大陆对该复合体组成定义所选取的,其中,禺毛茛、卷喙毛茛、长花毛茛、扬子毛茛是作为复合体成员进行选取的,其它试材作为该复合体的近缘种选取。实验材料产地、生境、株高及凭证标本号见表 1,凭证标本存于江西九江学院生命科学学院标本室(JJTU)。

每个种选取 10 株,取其根尖用 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。每株观察 5 个中期分裂相细胞进行染色体计数。

## 2 实验结果

禺毛茛复合体及其近缘种的多倍化对其物种进化的影响见图 1。图 1 结果显示,禺毛茛复合体及其近缘种中,除卷喙毛茛( $2n=16=2x$ )和长花毛茛( $2n=16=2x$ )为正常的二倍体外,其它如禺毛茛( $2n=32=4x$ )、扬子毛茛( $2n=48=6x$ , $2n=64-1=8x$ )、铺散毛茛( $2n=32=4x$ )、褐鞘毛茛( $2n=40=5x$ )、石龙芮( $2n=32=4x$ )及匍枝毛茛( $2n=32=4x$ )均为多倍体,有的是混倍体,如匍枝毛茛、扬子毛茛、禺毛茛。

表 1 实验材料采集地点  
Table 1 The place of experiment samples collected

分类群 Taxa	2n	采集地 Provenance	生境 Habitat	株高 (cm) Height	凭证标本 Voucher
禺毛茛 <i>R. cantoniensis</i> DC.	32	广东广州	溪旁	40~50	Nie F6
扬子毛茛 <i>R. sieboldii</i> Miq.	48	贵州贵阳	田沟旁	30~50	A132
	64	贵州贵阳	旱地	>60	F133
长花毛茛 <i>R. sileriifolius</i> var. <i>dolicathus</i> L.	16	云南思茅	水田边	30~45	F50601
卷喙毛茛 <i>R. sileriifolius</i> var. <i>sileriifolius</i> Levl.	16	贵州六盘水	稻田边	30~50	L890702
铺散毛茛 <i>R. diffusus</i> DC.	32	云南昆明	湿润草丛	40~50	Fang0505122
褐鞘毛茛 <i>R. vaginatus</i> Hand-Mazz	40	贵州六盘水	山坡草地	50~60	Fang0505121
石龙芮 <i>R. sceleratus</i> L.	32	贵阳花溪	水田边	30~45	Fang0505126
匍枝毛茛 <i>R. repens</i> L.	32	云南中甸	旱地	50~60	Nie F8
	16	云南中甸	水沟旁	30~40	Nie F9

## 3 结论与讨论

### 3.1 讨论

3.1.1 形成新物种或新类型 多倍体在植物界很普遍,Stebbins(1971)估计被子植物中多倍体频率为 30%~35%,Grant(1981)估计为 47%。植物主要是通过未减数配子融合、体细胞染色体加倍以及多精受精等多倍化方式形成多倍体(陈之端,1998)。多倍化是植物进化变异的自然现象,也是促进植物发生进化改变的重要力量,植物多倍化后能引起广泛变异,扩大基因库并通过重组产生新的基因甚至通过生殖隔离形成新的物种(陈之端,1998; Bullin, 1994; Stephens, 1951)。单子叶和双子叶植物中各有 70% 的种类在其进化史中曾发生过一次或多次多倍化过程(Lewis, 1980; Masterson, 1994; 吴云江等, 2001; 王恒昌等, 2004; 杨俊宝等, 2005; Wendel,

2000; 陈建国等 2010)。如本文中四倍体禺毛茛( $2n=32$ )由二倍体的长花毛茛( $2n=16$ )与卷喙毛茛( $2n=16$ )通过未减数配子杂交的一次多倍化形成;四倍体匍枝毛茛( $2n=32$ )由二倍体匍枝毛茛( $2n=16$ )经染色体加倍一次多倍化形成;六倍体扬子毛茛( $2n=48$ )及八倍体扬子毛茛( $2n=63=64-1$ )则是由其二倍体经多次多倍化过程所形成(聂谷华等, 2007)。

3.1.2 产生形态变异 野外调查中发现扬子毛茛和匍枝毛茛的多倍体种(分别为  $8x$ ,  $4x$ )比其相应的低倍体( $6x$ ,  $2x$ )植株更高大、粗壮。主要是因为植物多倍化后由于多个染色体组的累积效应使其形态上发生多种变异,如植物生物量增大、器官体积增多、花期延长以及实行无性生殖等(晏春耕, 2007)。所有这些特征为它适应多变的环境提供物质基础,也就是说为它自身的生存和进化奠定了基础。

3.1.3 扩大生态分布范围 从地理分布上来看,复



图 1 禹毛茛复合体及其近缘种中期染色体图

Fig. 1 Photomicrograph of chromosome in complex *R. cantoniensis* and its allied species

合体中的长花毛茛目前我们仅在云南思茅发现，而禹毛茛却广泛分布于云南、四川、贵州、广西、广东、福建、台湾、浙江、江西、湖南、湖北、江苏、陕西等省区。且两者的分布区相距较远。这可能由于竞争关

系所致，即多倍体在开始阶段要有特别适合的条件才能留存和生存下来，但是一旦它们站住了脚，它们比亲缘的二倍体具有更大的竞争和扩张能力，通过直接的竞争或相互作用可能把二倍体排挤出去。这

样,有可能是当时新形成的禺毛茛遇到了合适的生存条件,凭借更大的竞争和扩张能力,通过直接的竞争或相互作用,将二倍体长花毛茛排除出自己的分布区。还有一种可能是由于第四纪冰期的作用,使得长花毛茛得以在像思茅这样的避难所幸存下来,冰期过后,因为较弱的适应和竞争能力使得后来的分布区域也非常局限,相反,面临同样的环境巨变,禺毛茛在冰期过后,凭着较强的适应和竞争能力,又逐渐扩张其分布区域,导致形成现在两者分离的局面。

多倍体适应环境能力更强的现象在野外调查时时有发现,如禺毛茛复合体成员及近缘种生活在潮湿有水的环境中,随着倍性的增高杂草性更强,更能忍受干旱环境。*R. sieboldii*(6x,8x)常分布到较干旱的路旁、荒地和菜地等;当二倍体不在时,也可分布到有水湿润的环境中;而二倍体只能分布到有水湿润的环境,如各种水体边。二倍体中,*R. trigonus*(2x)能分布到相对更原始的生境中,如山林溪流边,也能分布到如水沟旁、水田边等受干扰大的次生环境中,*R. sileriifolius*(2x)和*R. chinensis*(2x)常见于次生环境。当二倍体分布到同一生境中时,则采取生育期错开的形式达到竞争平衡。禺毛茛复合体随着倍性增加有向旱地扩展趋势,并更具侵入性。

3.1.4 发生生理变化 植物在多倍化过程中,核基因组被加倍了,而细胞质DNA的量并没有增加,因此,核-质之间DNA量的比例发生了改变,进而引起调控作用的紊乱或失调,尤其在异源多倍化过程中,两个不同的基因组被组合到同一个核中,并处于由单一亲本所提供的细胞质环境中,这样就必须在新的基础上重建核-质之间的平衡关系,即进行基因组重组,以提高相容性水平(陶抵辉,2010)。在多倍化后迅速发生的重组过程使多倍化基因组在基因结构和遗传特性等方面不是表现为祖先基因组特点的简单相加,而是表现出许多非孟德尔式的遗传变异(杨继,2001)。其结果为多倍体植物的适应进化提供了一个遗传变异的源泉,使得多倍体物种更易于适应多变的环境。植株的适应性和抗逆性能增强,如蒸腾作用减弱,更能适应旱生的环境。如本文中观察到的*R. sieboldii*(6x,8x)常分布到较干旱的路旁、荒地和菜地等;而复合体中的二倍体只能分布到有水湿润的环境,如各种水体边。

### 3.2 结论

禺毛茛复合体及其近缘种主要通过多倍化的方式形成新的物种或类群;从正常二倍体到多倍体的

进化过程中,它们的生态适应性(分布格局)、形态特征及生理特性都发生了明显的变化即分布上:随着倍性的增高对恶劣生境的忍耐力更强,二倍体只能分布到有水湿润的环境,如各种水体边;而多倍体则分布到较干旱的路旁、荒地和菜地等;形态上:多倍体种比其相应的低倍体的植株更高大、粗壮;生理上:多倍体通过基因组重组提高相容性水平,使得植株的适应性和抗逆性能增强。

### 参考文献:

- 陈之端. 1998. 植物系统发育学进展[M]. 北京:科学出版社
- Bullin. 1994. Origin and evolution of animal hybrid species[J]. *Tree*, **9**:422-426
- Chen JG(陈建国), Xu B(徐波), Li ZM(李志敏), et al. 2010. Karyological studies on two species of Compositae from the Hengduan Mountains, SW China(横断山区两种菊科植物的核型研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(1):51-54
- Grant V. 1981. Plant Speciation[M]. 2nd ed. USA: Columbia Univ. Press:563
- Lewis WH. 1980. Polyploidy in Species Populations[M]. New York:Plenum Press:103-144
- 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
- Masterson J. 1994. Stomatal size in fossilplants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms[J]. *Science*, **264**:421-424
- Nie GH(聂谷华), Liu ZJ(刘志金), Liao L(廖亮), et al. 2007. Formation of inter-specific relation in *Ranunculus cantoniensis* and its complex(禺毛茛及其复合体种间亲缘关系形成研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(6):832-835
- 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
- Stephens SG. 1951. Possible signifiacnce of duplication in evolution [J]. *Adv Genet*, **4**:247-265
- Stebbins GL. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants [M]. London:Edward Arnold(Publishers)Ltd:15-60
- Tamura M. 1978. *Ranunculus cantoniensis* group in Japan[J]. *Geobot*, **26**:34-40
- Tao DH(陶抵辉). 2010. Studies and application on plant polyploids(植物多倍体研究与应用)[J]. *Biotech Bull*(生物技术通报), **38**(7):22-27
- Wang HC(王恒昌), Meng AP(孟爱平), Li JQ(李建强). 2004. Cytological studies of *Plantago erosa* var. *fengdouensis*, with special (下转第 709 页 Continue on page 709)

### 3 结论与讨论

(1) 罗汉果中含有很高的蛋白质和氨基酸及无机元素, 徐位坤等(1986)用凯氏定氮法分别测定野生罗汉果和传统种薯栽培的罗汉果的蛋白质含量为 8.67%~13.35%。还对罗汉果水解产物中的氨基酸种类以及各种氨基酸的含量进行测定。除色氨酸未被测定外, 罗汉果中含有 18 种或 17 种氨基酸, 其中人体必须的氨基酸有 8 种。徐位坤等(1980)的研究表明, 传统种薯栽培的罗汉果中含糖量均高, 总糖含量为 25.17%~38.31%。孟夏林等(1989)对传统种薯栽培罗汉果果实所含无机元素进行了测定, 成熟果实中有 24 种无机元素(含有人体必需的 16 种微量元素和广泛元素), K、Ca 和 Mg 含量较高, 尤其是 K, 而对人体有害元素 As、Pb 含量则很低, 都没有超过国际辐射防护委员会(ICRP)的标准。本实验对组培苗鲜罗汉果与干罗汉果提取物的营养成分的研究结果表明, 组培苗罗汉果提取物中同样含有很高的蛋白质、总糖、氨基酸及很高的 P、K、Ca、Mg 和 Na 矿质元素, 对组培苗罗汉果提取物的水解产物中的氨基酸种类以及各种氨基酸进行测定, 除未测到色氨酸, 共测出 18 种氨基酸含量, 与文献报道基本一致。

(2) 鲜罗汉果提取物的蛋白质和氨基酸含量分别比干罗汉果提取物提高 2.43% 和 4.15%, 这可能与干罗汉果经高温烘烤, 使果实中蛋白质变性或不易被提取浸出有直接关系。鲜罗汉果提取物的营养成分略优于干罗汉果提取物。

(3) 维生素 E 含量干罗汉果比鲜罗汉果高, 两

者的差异是否与烘烤过程或与生长期有关, 有待进一步深入研究; 鲜罗汉果提取物和干罗汉果提取物都具有很高的超氧化物歧化酶(SOD)活性, 分别为鲜罗汉果 910 U/g、干罗汉果 688 U/g, 这也是罗汉果具有很好抗氧化作用的原因。

#### 参考文献:

- 周良才, 张碧玉, 覃良, 等. 1981. 罗汉果品种资源调查研究和利用意见[J]. 广西植物, 1(3):29
- 徐位坤, 孟丽珊. 1980. 罗汉果糖分的分析[J]. 广西农业科学, (3):29
- 孟夏林, 周琦; 容小邕. 1989. 罗汉果及其根的无机元素测定分析[J]. 广西中医药, 12(6):42
- 徐位坤, 孟丽珊. 1981. 罗汉果营养成分测定[J]. 广西植物, 1(2):50
- 黄健君, 钟仕强. 1997. 罗汉果一年生植株提前结实研究[J]. 广西农业科学, (2):123-124
- Lu AM(路安民), Zhang ZY(张志耘). 1984. The genus *Siraitia* Merr. in China(中国罗汉果属植物)[J]. *Guihaia*(广西植物), 4(1):27-33
- Li F(李锋), Jiang HM(蒋汉明), Jiang XN(江新能). 1990. A study on propagation and cultivation of Luohanguo by seeds and seedlings(罗汉果种子繁殖及其栽培研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 10(3):261-267
- Li DP(李典鹏), Zhang HR(张厚瑞). 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo—a special local product of Guangxi(广西特产植物罗汉果的研究与应用)[J]. *Guihaia*(广西植物), 20:270-276
- Xu LK(徐位坤), Meng LS(孟丽珊). 1986. Quantitative analysis of proteins of Luohanguo(罗汉果蛋白质的含量测定)[J]. *Guihaia*(广西植物), 6:295
- Xu LK(徐位坤), Meng LS(孟丽珊). 1985. Study on the composition of protein of wild Luohanguo(野生罗汉果蛋白质成分的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 5(2):304-306
- Yan CG(晏春耕). 2007. Polyploid and its application in plants(植物多倍体及其应用)[J]. *Bull Biol*(生物学通报), 42(4):14-18
- Yang J(杨继). 2001. The formation and evolution of polyploid genomes in plants(植物多倍体基因组形成与进化)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), 39(4):357-371
- Yang JB(杨俊宝), Peng ZS(彭正松). 2005. Epigenetic phenomena of plant polyploids(多倍体植物的表现遗传现象)[J]. *Hereditas*(遗传), 27(2):335-342
- referenceto its polyploid origin(丰都车前的细胞学研究—兼论它的多倍体起源)[J]. *Guihaia*(广西植物), 24(5):422-425
- Wendel JF. 2000. Genome evolution in polyploids[J]. *Plant Mol Biol*, 42:225-249
- Wu YJ(吴云江), Chen QF(陈庆富). 2001. A cytological study on meiosis of PMCs of diploid and tetraploid tartary buckwheat (二倍体和四倍体栽培苦荞的细胞学比较研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 21(4):341-346

(上接第 586 页 Continue from page 586)