

# 国产毛茛科驴蹄草属两种植物的细胞学研究

王龙远, 任琛, 杨亲二\*

(中国科学院华南植物园, 中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650)

**摘要:** 为探讨国产毛茛科(Ranunculaceae)驴蹄草属(*Caltha* L.)植物的细胞学特征, 对驴蹄草(*C. palustris* L.) 3个居群和花葶驴蹄草(*C. scaposa* Hook. f. & Thoms.) 5个居群进行了细胞学研究。驴蹄草贵州纳雍居群的染色体数目为  $2n = 32$  (四倍体), 两个云南中甸居群的染色体数目均为  $2n = 64$  (八倍体)。花葶驴蹄草四川红原、康定、石渠居群的染色体数目均为  $2n = 32$  (四倍体), 该数目为首次报道; 西藏林芝和云南德钦居群的染色体数目均为  $2n = 64$  (八倍体)。驴蹄草的染色体比花葶驴蹄草大。这两种植物的32或64条染色体分别以4条或8条为单位大致能够排列为8组同源染色体, 但同一组内的染色体经常具有明显的异形性(heteromorphy), 不同居群的核型组成多少具有差异。同时, 还分析了驴蹄草和花葶驴蹄草的不同倍性细胞型在我国的地理分布式样。

**关键词:** 驴蹄草属; 染色体数目; 细胞地理; 核型; 毛茛科

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.01.003

## Cytology of Two Species in the Genus *Caltha* (Ranunculaceae) from China

WANG Long-yuan, REN Chen, YANG Qin-er\*

(Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** Three populations in *Caltha palustris* and five in *C. scaposa* from China, two closely related species in the small genus *Caltha* of the Ranunculaceae, have been cytologically investigated. Of the populations checked in *C. palustris*, the Nayong population from Guizhou has the chromosome number of  $2n = 32$  (tetraploid), and the two Zhongdian populations from Yunnan have the number of  $2n = 64$  (octoploid). Among those checked in *C. scaposa*, the Hongyuan, Kangding, and Serxu populations from Sichuan all have the tetraploid number of  $2n = 32$ , and the Nyingchi population from Xizang and the Deqen population from Yunnan both have the octoploid number of  $2n = 64$ . We have performed a karyotypic analysis on most of these populations. The present results, together with those reported previously, show that both *C. palustris* and *C. scaposa* from China may have undergone strong differentiation among populations in ploidy level and karyotypic constitution. *Caltha palustris* from China includes at least three cytotypes with different ploidy levels, namely, the tetraploid cytotype with  $2n = 32$ , the hexaploid cytotype with  $2n = 48$ , and the octoploid cytotype with  $2n = 64$ . The tetraploid cytotype is the commonest and the most widespread, and currently only in northwestern Yunnan all the three cytotypes have been found to co-occur. *Caltha scaposa* from China includes two cytotypes, the tetraploid cytotype with  $2n = 32$  and the octoploid cytotype with  $2n = 64$ , with the former occurring in the northeastern part of the geographical range of the species while the latter in the southwestern part. Although the 32 or 64 chromosomes in both *C. palustris* and *C. scaposa* can be roughly arranged into eight groups of four or eight homologues, in some of the groups there often exists obvious heteromorphy among the presumably homologous chromosomes, and thus

收稿日期: 2012-04-05

接受日期: 2012-05-15

基金项目: 科技部基础性工作专项基金(2007FY110100)资助

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qeyang@scib.ac.cn

different populations are more or less distinct in karyotypic constitution. Although *C. palustris* and *C. scaposa* are the two most closely related species in the genus, they are revealed to be rather well differentiated chromosomally, particularly in chromosome size. The chromosomes in *C. scaposa* are smaller than those in *C. palustris*, which may represent a derived condition.

**Key words:** *Caltha*; Chromosome number; Cytogeography; Karyotype; Ranunculaceae

驴蹄草属(*Caltha* L.)是毛茛科(Ranunculaceae)一个小属,由于其中有些种类的划分相当困难而导致难以确认其物种数目,全世界估计有 10 种<sup>[1]</sup>或 12 种<sup>[2]</sup>,广泛分布于全世界温带和寒带地区。我国记载有 4 种,即驴蹄草(*C. palustris* L.)、白花驴蹄草(*C. natans* Pall.)、花葶驴蹄草(*C. scaposa* Hook. f. & Thoms.)和细茎驴蹄草(*C. sinogracilis* W. T. Wang)<sup>[3]</sup>。其中细茎驴蹄草有时被处理为花葶驴蹄草的异名<sup>[1]</sup>。

早在 1927 年,驴蹄草属的染色体基数已确定为  $x = 8$ <sup>[4]</sup>。该属驴蹄草这一种植物在北温带地区极为广布,外部形态变异很大,其分类处理颇多争议<sup>[1]</sup>。我国的居群有时也被处理为多个变种或其他种下等级<sup>[3]</sup>,但这些种下分类群彼此之间在外部形态上不易区分,故 Smit<sup>[1]</sup>在其对全世界驴蹄草属的分类修订中将这些种下分类群予以归并。该种的染色体研究长期以来颇受关注,不少国家的居群已有染色体资料的报道,结果表明其染色体数目变化很大,包括  $2n = 16$ 、32、48、56、64 和 88 的多倍体系列变异、非整倍性变异和 B 染色体数目变异<sup>[2,5]</sup>。该种在我国广布于西藏、云南、四川、浙江、甘肃、陕西、河南、山西、山东、河北、辽宁、吉林、黑龙江、内蒙古、新疆<sup>[3]</sup>。Yuan 和 Yang<sup>[5]</sup>对其四川红原和甘肃迭部各 1 个居群以及云南西北部 11 个居群进行了染色体研究,发现四川红原和甘肃迭部居群为四倍体( $2n = 32$ ),云南西北部的 11 个居群中,8 个居群为四倍体,1 个为六倍体( $2n = 48$ ),2 个为八倍体( $2n = 64$ ),而且细胞型之间(无论相同还是不同倍性水平者)在染色体形态上也有明显变异,不同居群的细胞型在核型组成上往往不同。这些事实表明该种的核型(染色体数目和染色体形态)在我国尤其是西南横断山区分化颇为强烈,其核型在我国的变异式样应当是一个十分有趣的问题,值得深入研究。花葶驴蹄草是中国-喜马拉雅地区的特有种,分布于我国(西藏东南部、云南西北部、四川西部、青海南部、甘肃南部)和尼泊尔、锡金、不丹、印度北部<sup>[3]</sup>,分子系统学证据<sup>[6]</sup>揭示其与驴蹄草

最为近缘。其染色体数目目前仅见一次报道:Yuan 和 Yang<sup>[5]</sup>报道云南西北部中甸 1 个居群的染色体数目为  $2n = 64$ ,并可能含有两个 B 染色体;由于染色体制片不够理想,他们未进行核型分析。作为驴蹄草属中一个分布也相对较广的种,花葶驴蹄草是否与其近缘种驴蹄草一样,也有明显的染色体数目和染色体形态的种内变异,以及这两个近缘种之间在染色体性状上有无区别,无疑都是值得研究的问题。

本文对驴蹄草 3 个居群和花葶驴蹄草 5 个居群进行了细胞学研究。结合以前的资料,对这两种植物在我国的细胞地理进行了初步分析,并讨论了它们在染色体性状上的区别。本研究不但有助于加深我们对驴蹄草属植物染色体分化式样的理解,也为目前正在编研的“泛喜马拉雅植物志”提供了染色体数据。

## 1 材料和方法

材料来源见表 1。所有材料均采自野外,移栽于中国科学院植物研究所和中国科学院华南植物园实验温室中。

取生长良好的根尖用 0.1% 秋水仙素溶液预处理 2.5 h,卡诺液(冰醋酸:纯酒精 = 1:3)低温下固定 1 h,用  $1 \text{ mol L}^{-1}$  盐酸与 45% 醋酸溶液(1:1)的混合液在 37℃ 恒温水浴中解离 45 min,卡宝品红染色,常规压片。

核型分析根据 Levan 等<sup>[7]</sup>的方法描述,即:具中部着丝粒染色体(median centromeric chromosome,简称 m)的臂比值(arm ratio)为 1.0 ~ 1.7,具近中部着丝粒染色体(submedian centromeric chromosome,简称 sm)的臂比值为 1.7 ~ 3.0,具近端部着丝粒染色体(subterminal centromeric chromosome,简称 st)的臂比值为 3.0 ~ 7.0,具端部着丝粒染色体(terminal centromeric chromosome,简称 t)的臂比值 > 7.0。

凭证标本保存于中国科学院植物研究所标本馆(PE)和中国科学院华南植物园标本馆(IBSC)。

表 1 材料来源及其染色体计数  
Table 1 Source of material studied and chromosome counts

分类群 Taxon	产地 Locality	凭证标本 Voucher	2n
驴蹄草 <i>Caltha palustris</i>	贵州纳雍县居仁镇干坝村 Ganba Village, Juren Town, Nayong County, Guizhou	刘莹等(Y. Liu et al.) W49 (IBSC)	32
	云南中甸县红山 Hongshan Mt., Zhongdian County, Yunnan	杨亲二等(Q. E. Yang et al.) 3069 (IBSC)	64
	云南中甸县毕桑谷 Bisanggu, Zhongdian County, Yunnan	杨亲二等(Q. E. Yang et al.) 3130 (IBSC)	64
花葶驴蹄草 <i>C. scaposa</i>	四川红原县 Hongyuan County, Sichuan	杨亲二等(Q. E. Yang et al.) 1038 (IBSC)	32
	四川康定县新都桥 Xinduqiao, Kangding County, Sichuan	杨亲二、袁琼(Q. E. Yang & Q. Yuan) 533 (PE)	32
	四川石渠县 Serxu County, Sichuan	杨亲二、袁琼(Q. E. Yang & Q. Yuan) 441 (PE)	32
	西藏林芝县色季拉山 Sejilashan Mt., Nyingchi County, Xizang	杨亲二、袁琼(Q. E. Yang & Q. Yuan) 515 (PE)	64
	云南德钦县白马雪山 Baimaxueshan Mt., Deqen County, Yunnan	杨亲二等(Q. E. Yang et al.) 3236 (IBSC)	64

2 结果和讨论

驴蹄草 3 个居群和花葶驴蹄草 5 个居群的染色体数目见表 1。图 1 ~ 3 显示了各居群的染色体形态和大小。下面将每种植物的核型作一简述,并结合以前的资料,对这两种植物在我国的细胞地理进行了分析,同时比较了它们在染色体性状上的主要异同。

2.1 驴蹄草 (*Caltha palustris* L.)

贵州纳雍县居群的染色体数目为  $2n = 32$  (图 1: A), 为四倍体。染色体大小变化范围为  $3.13 \sim 8.84 \mu\text{m}$ 。结合染色体大小和形态,该居群 32 条染色体以 4 条假设为同源的染色体为一组,大致可以排列为 8 组(图 2: A)。第 1 组和第 2 组明显大于其他组。第 3、5、8 组的两对染色体具有明显的异形性(heteromorphy)。核型公式为  $2n = 32 = 16m + 2sm + 14st$ 。

云南中甸红山居群的染色体数目为  $2n = 64$  (图 1: B), 为八倍体。染色体大小变化范围为  $2.38 \sim 8.85 \mu\text{m}$ 。结合染色体大小和形态,该居群 64 条染色体以 8 条假设为同源的染色体为一组,大致可以排列为 8 组(图 2: B)。各组染色体在大小上逐渐过渡,在大小或形态上都多少具有异形性。核型公式为  $2n = 64 = 31m + 15sm + 15st + 3t$ 。

云南中甸毕桑谷居群的染色体数目也为  $2n = 64$  (图 1: C), 为八倍体。染色体大小变化范围为  $2.06 \sim 8.49 \mu\text{m}$ 。结合染色体大小和形态,该居群 64 条染色体以 8 条假设为同源的染色体为一组,也大致可以排列为 8 组(图 2: C)。各组染色体在大小上逐渐过渡。除第 1 组的染色体彼此没有明显的异形性外,其他各组在染色体大小或形态上都多少具有异形性。核型公式为  $2n = 64 = 38m + 14sm + 13st + 1t$ 。

根据本文的结果,结合以前关于我国驴蹄草一些居群染色体数目的报道<sup>[5]</sup>,目前已在我国这一植物中发现了 3 种染色体倍性细胞型:四倍体、六倍体和八倍体。图 4 显示了这些细胞型的分布,其中以四倍体细胞型分布最广和最常见,特别值得注意的是 3 种细胞型在云南西北部同时出现。这一结果表明驴蹄草在我国横断山区南部的染色体倍性分化较为强烈。我们发现 3 种不同细胞型在植物外部形态上难于区分。

从我们的核型分析结果还可以看出,在染色体形态上,驴蹄草不同居群的明显特点是由于同源染色体之间通常具有明显的异形性,所以同源染色体的识别和配对通常相当困难;同一倍性的不同居群在核型组成上有时差异很大,即不同居群通常具有不同的核型。Yuan 和 Yang<sup>[5]</sup>发现同样的现象。在植物外部形态上,我们发现这些具有不同核型的居



群彼此似没有本质区别,难于区分。

显然,驴蹄草在我国无论其染色体数目还是染色体形态都具有相当惊人的变异,要阐明其在我国的染色体分化和细胞地理特征还有大量工作需要进行。考虑到该种的染色体倍性和染色体形态变异与地理分布以及其他性状的相关性似不明显,我

们同意 Smit<sup>[1]</sup>观点,认为对该种暂不宜作过多的种下划分。我们认为今后有必要对驴蹄草进行广泛而精心设计的移栽实验(transplant experiment),综合考虑遗传和环境因素对该种形态性状的影响,以更好地理解其形态性状变异式样,从而更合理地解决其分类处理问题。

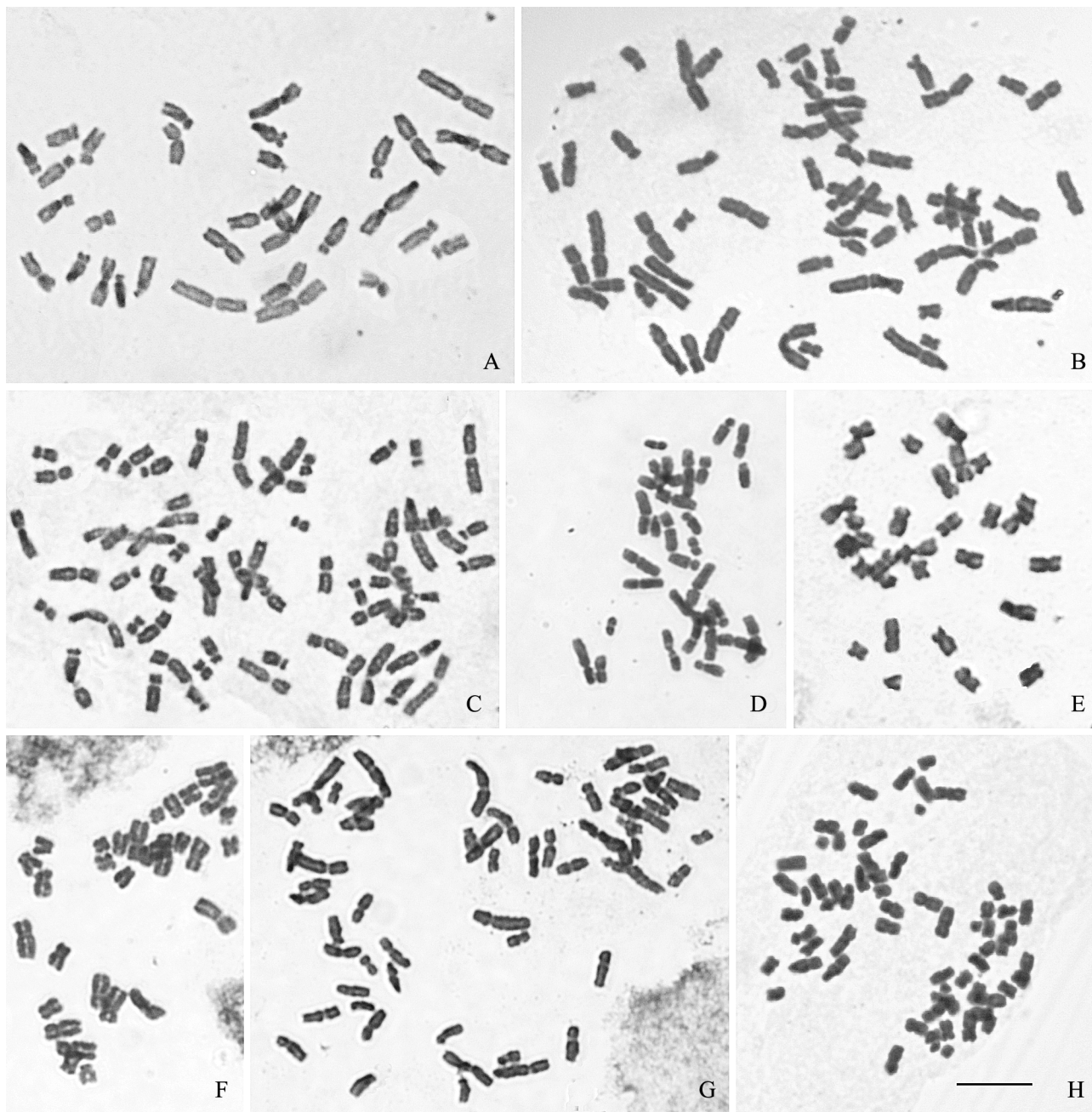


图1 驴蹄草属两种植物的中期染色体。A~C. 驴蹄草。A. 纳雍居群,  $2n=32$ ; B. 红山居群,  $2n=64$ ; C. 毕桑谷居群,  $2n=64$ 。D~H. 花葶驴蹄草。D. 红原居群,  $2n=32$ ; E. 康定居群,  $2n=32$ ; F. 石渠居群,  $2n=32$ ; G. 林芝居群,  $2n=64$ ; H. 德钦居群,  $2n=64$ 。标尺为  $8\mu\text{m}$

Fig. 1 Metaphase chromosomes in two species of *Caltha*. A – C. *C. palustris*. A. Nayong population,  $2n=32$ ; B. Hongshan population,  $2n=64$ ; C. Bisanggu population,  $2n=64$ ; D – H. *C. scaposa*. D. Hongyuan population,  $2n=32$ ; E. Kangding population,  $2n=32$ ; F. Serxu population,  $2n=32$ ; G. Nyingchi population,  $2n=64$ ; H. Deqen population,  $2n=64$ . Scale bar =  $8\mu\text{m}$

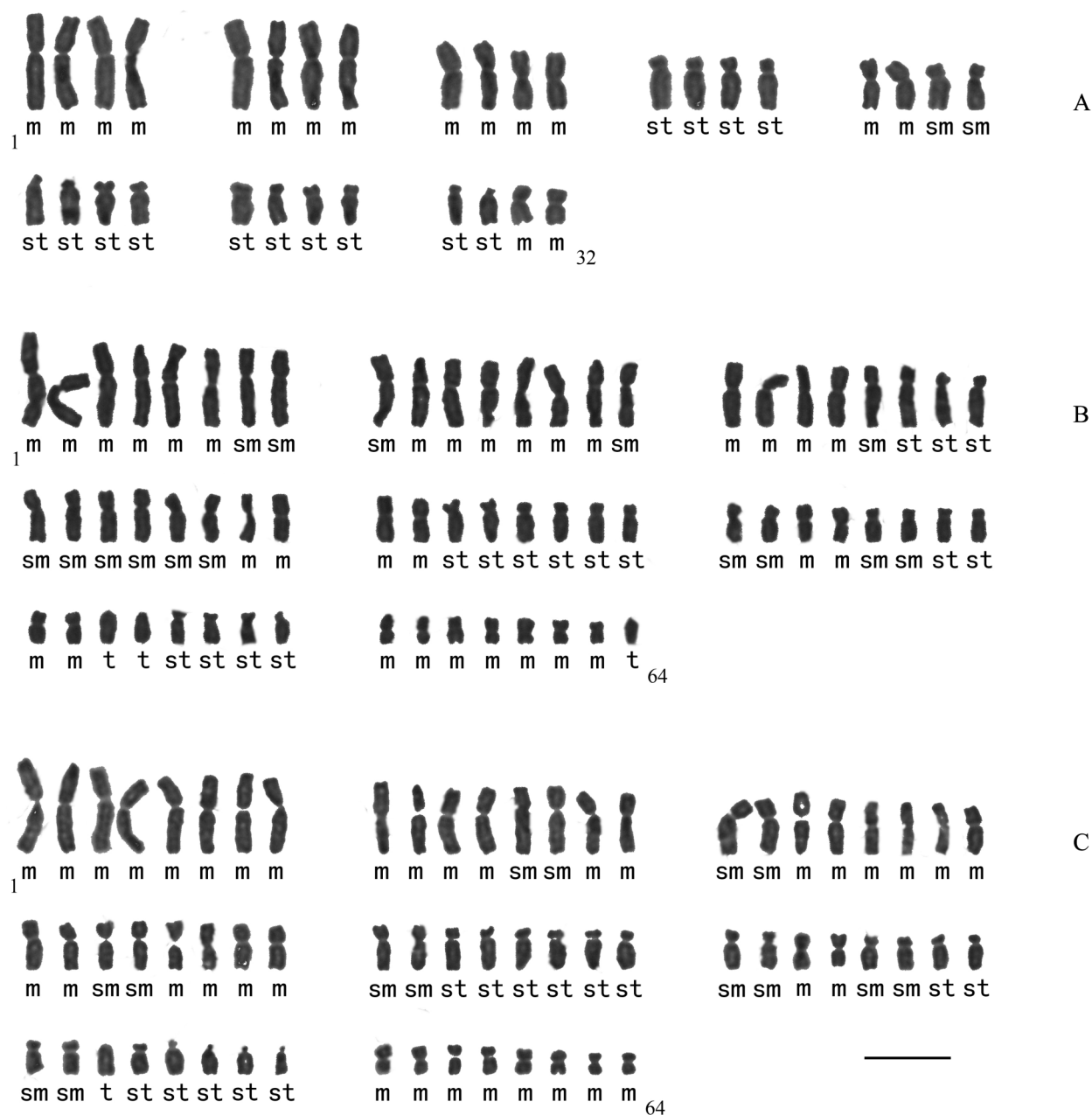


图2 驴蹄草的核型。A. 纳雍居群,  $2n = 32$ ; B. 红山居群,  $2n = 64$ ; C. 毕桑谷居群,  $2n = 64$ 。标尺为8  $\mu\text{m}$ 。

Fig. 2 Karyotypes in *Caltha palustris*. A. Nayong population,  $2n = 32$ ; B. Hongshan population,  $2n = 64$ ; C. Bisanggu population,  $2n = 64$ . Scale bar = 8  $\mu\text{m}$ .

## 2.2 花葶驴蹄草(*C. scaposa* Hook. f. & Thoms.)

四川红原、康定、石渠居群的染色体数目均为  $2n = 32$  (图 1: D ~ F), 为四倍体。该数目在花葶驴蹄草中为首次报道。

红原居群的染色体在大小上逐渐过渡, 大小变化范围为 1.96 ~ 5.11  $\mu\text{m}$ 。32 条染色体以 4 条假设为同源的染色体为一组, 大致可以排列为 8 组, 其中除第 8 组外, 其他组的两对染色体具有异形性(图 3: A)。核型公式为  $2n = 13m + 17sm + 2t$ 。

康定居群的染色体在大小上也逐渐过渡, 大小

变化范围为 1.66 ~ 4.08  $\mu\text{m}$ 。32 条染色体以 4 条假设为同源的染色体为一组, 大致可以排列为 8 组, 其中第 3、5、6、8 组的两对染色体具有异形性(图 3: B)。核型公式为  $2n = 20m + 8sm + 4t$ 。

石渠居群的染色体在大小上也逐渐过渡, 大小变化范围为 1.61 ~ 4.85  $\mu\text{m}$ 。32 条染色体以 4 条假设为同源的染色体为一组, 大致可以排列为 8 组, 其中第 2、4、5、6、7、8 组的染色体具有异形性(图 3: C)。核型公式为  $2n = 19m + 11sm + 2t$ 。

西藏林芝居群的染色体数目为  $2n = 64$  (图

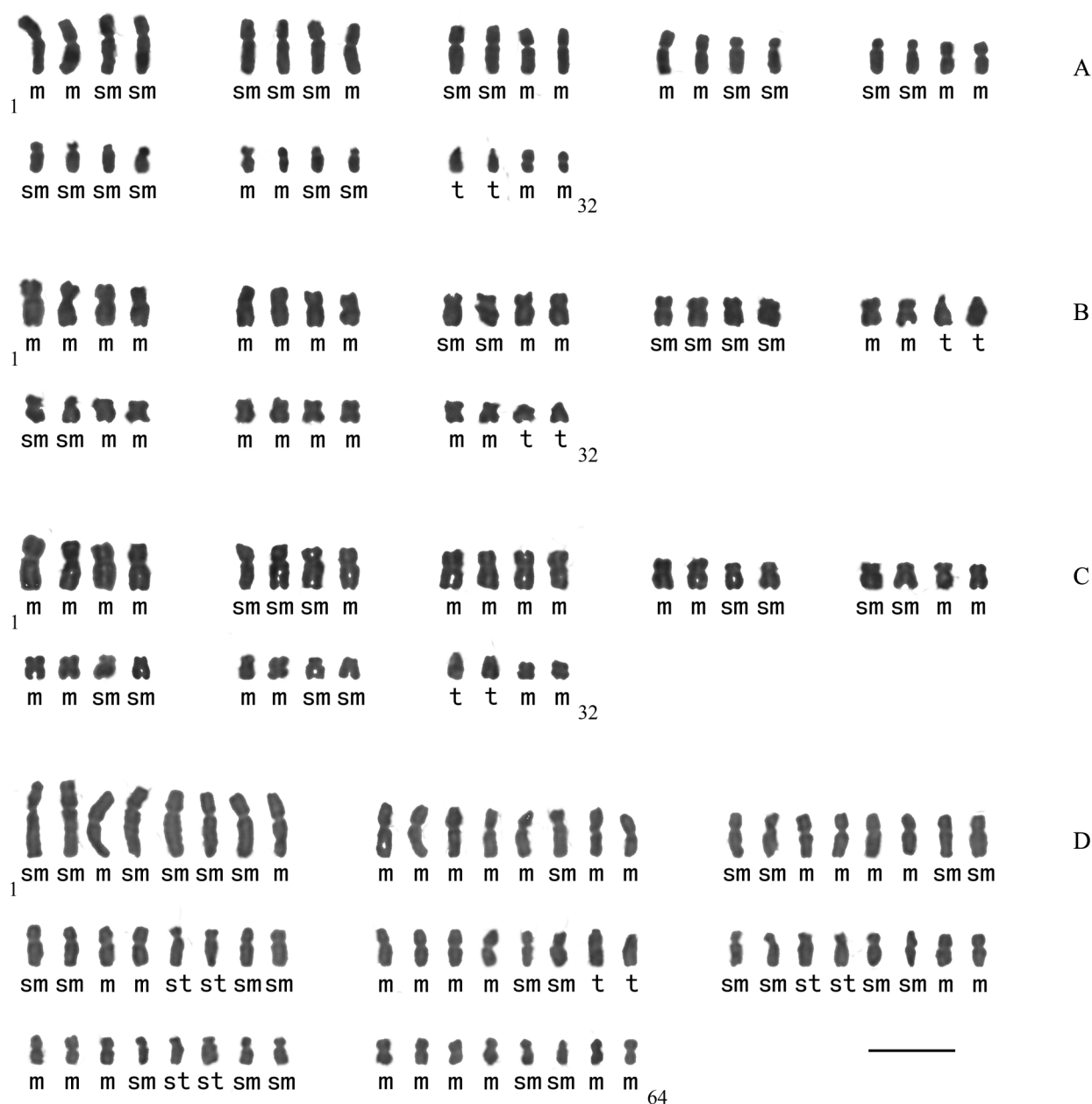


图3 花葶驴蹄草的核型。A. 红原居群,  $2n=32$ ; B. 康定居群,  $2n=32$ ; C. 石渠居群,  $2n=32$ ; D. 林芝居群,  $2n=64$ 。标尺为8  $\mu\text{m}$ 。

Fig. 3 Karyotypes in *Caltha scaposa*. A. Hongyuan population,  $2n=32$ ; B. Kangding population,  $2n=32$ ; C. Serxu population,  $2n=32$ ; D. Nyingchi population,  $2n=64$ . Scale bar = 8  $\mu\text{m}$ .

1: G), 为八倍体。染色体大小变化范围为 1.95 ~ 6.98  $\mu\text{m}$ 。结合染色体大小和形态, 该居群 64 条染色体以 8 条假设同源的染色体为一组, 大致可以排列为 8 组(图 3: D)。各组染色体在大小上逐渐过渡, 同一组内的染色体在形态上多少具有异形性。核型公式为  $2n=30m+26sm+6st+2t$ 。

云南德钦居群的染色体数目为  $2n=64$  (图 1: H), 为八倍体。Yuan 和 Yang<sup>[5]</sup>报道同地居群的染色体数目也为  $2n=64$ , 并可能有两个 B 染色体。

我们没有观察到 B 染色体。由于我们没有得到本居群理想的染色体制片, 所以没有进行核型分析。

从上面的结果可以看出, 花葶驴蹄草在我国至少具有两种染色体倍性, 即四倍体和八倍体。除本文观察的四川的 3 个居群均为四倍体外, 青海称多县的居群也为四倍体(袁琼, 个人通讯)。图 5 显示了这两种细胞型的分布。从图中可以看出, 四倍体居群大致位于花葶驴蹄草分布区的东北部, 在纬度上偏北, 而八倍体居群大致位于西南部, 在纬度上



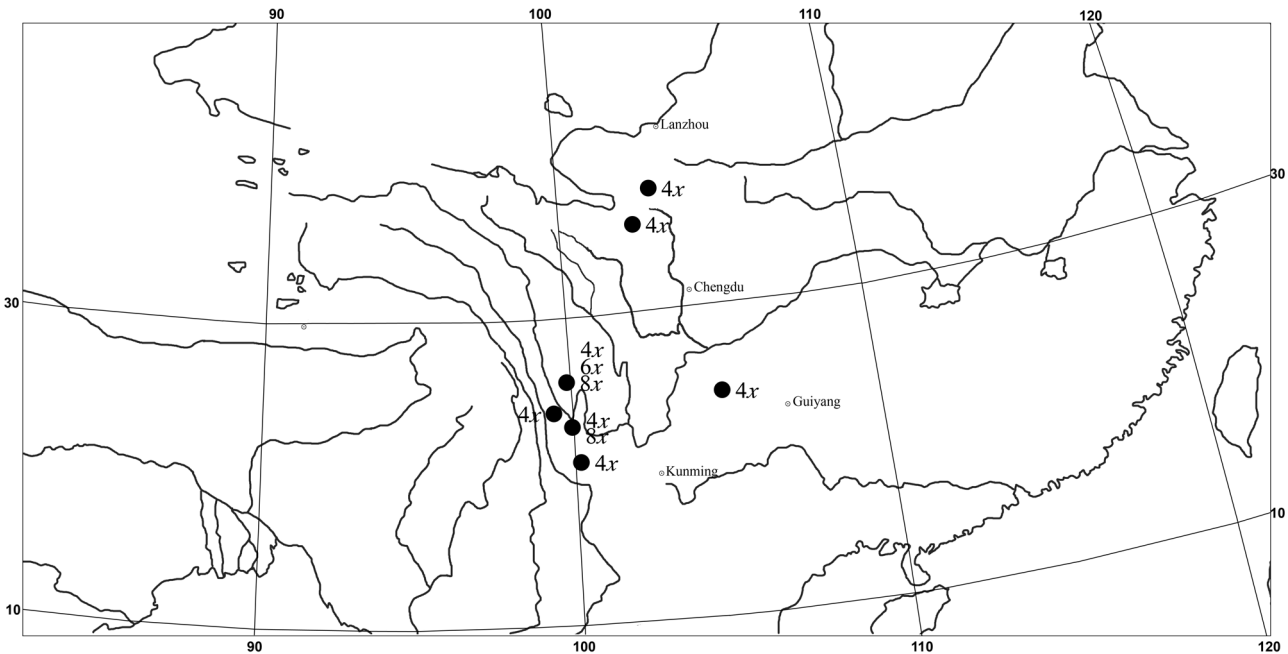


图4 驴蹄草现有染色体资料所揭示的该种在中国的倍性分布图

Fig. 4 Ploidy distribution in China of *Caltha palustris* as revealed on the basis of currently available chromosomal data

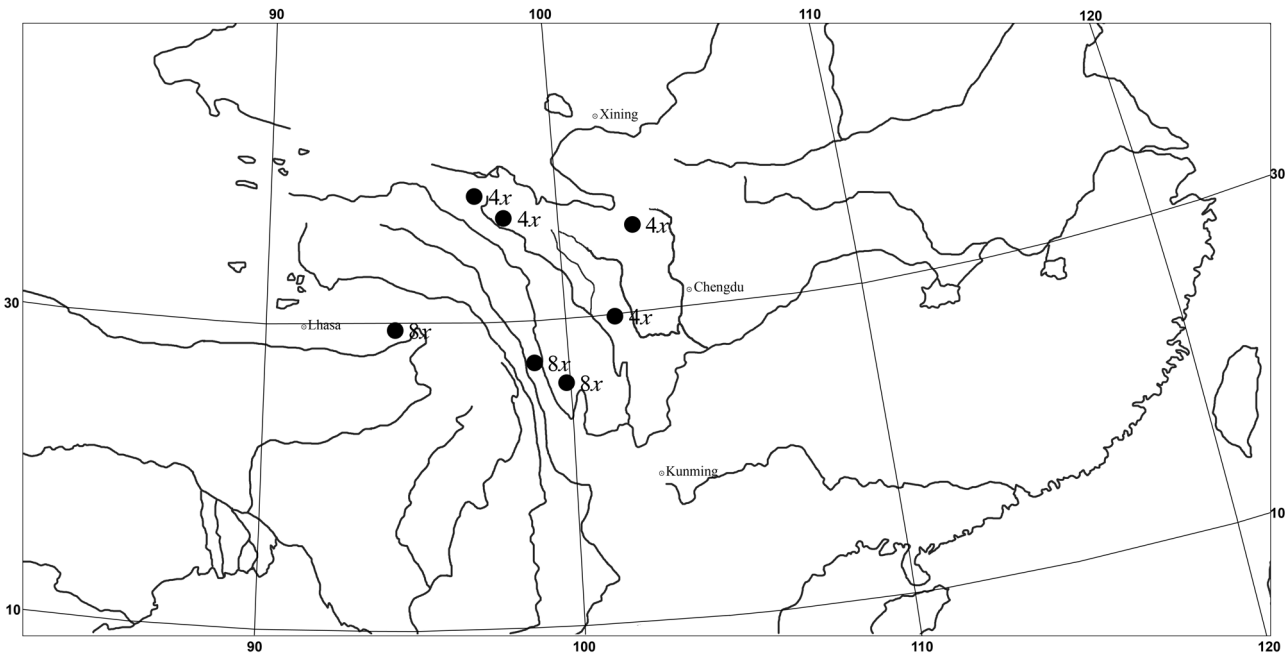


图5 花葶驴蹄草现有染色体资料所揭示的该种在中国的倍性分布图

Fig. 5 Ploidy distribution in China of *Caltha scaposa* as revealed on the basis of currently available chromosomal data

偏于西南。花葶驴蹄草更详细的细胞地理式样有待研究更多的居群才能揭示。

在染色体形态上,与驴蹄草的情况相似,花葶驴蹄草不同居群的明显特点也是同源染色体的识别和配对通常相当困难;同一倍性的不同居群在核

型组成上多少具有差异,即不同居群通常具有不同的核型。

在植物外部形态上,与其近缘种驴蹄草的情况不同,花葶驴蹄草的种内变异似乎不大,尚未见其种下有进一步的划分,但如上所述,其染色体数目

和染色体形态也具有较大的变异。

我们在前面已经指出,在驴蹄草属中,驴蹄草与花葶驴蹄草是两个最为近缘的种。从本文的结果来看,两者在染色体性状上的最明显区别是它们的染色体在大小上有差别:虽然染色体的绝对大小由于受实验条件的影响而很难完全精确测定,但比较上面给出的两个种一些不同居群染色体的大小变化范围,可以看出花葶驴蹄草各居群的染色体比驴蹄草各居群的染色体普遍要小。这说明驴蹄草与花葶驴蹄草在染色体性状特别是染色体大小上已发生明显分化。驴蹄草在北温带地区极为广布,叶基生并茎生,花序通常有3~5朵或更多的花,而花葶驴蹄草是中国-喜马拉雅地区的特有种,叶通常全部基生,花通常单生茎端。我们推测花葶驴蹄草的染色体变小可能属于一个相对进化的性状,该种无论在外部形态还是染色体性状上都显得较驴蹄草进化。

### 3 结论

驴蹄草在我国至少存在3种不同倍性的细胞型,即四倍体( $2n = 32$ )、六倍体( $2n = 48$ )和八倍体( $2n = 64$ ),其中以四倍体细胞型分布最广和最常见。花葶驴蹄草在我国存在两种细胞型,即四倍体( $2n = 32$ )和八倍体( $2n = 64$ ),而且两种细胞型似具有相对独立的分布区。

在染色体形态上,无论是驴蹄草还是花葶驴蹄草,其不同居群的明显特点是由于同源染色体之间

通常具有明显的异形性,所以同源染色体的识别和配对通常相当困难;同一倍性的不同居群在核型组成上有时差异很大,即不同居群通常具有不同的核型。

驴蹄草和花葶驴蹄草这两个近缘种在染色体性状上有明显分化。后者的染色体比前者小。

**致谢** 中国科学院华南植物园孔航辉博士和袁琼博士以及中山大学生命科学学院刘莹博士帮助野外采集。

### 参考文献

- [1] Smit P G. A revision of *Caltha* (Ranunculaceae) [J]. Blumea, 1973, 21(1): 119–150.
- [2] Tamura M. Ranunculaceae-Systematic Part [M]// Hiepko P. Die Natürlichen Pflanzenfamilien, Band 17a IV. Berlin: Duncker & Humblot, 1995: 223–519.
- [3] Wang W T. *Caltha* L. [M]// Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 27. Beijing: Science Press, 1979: 60–67.  
王文采. 驴蹄草属 [M]// 中国植物志 第27卷. 北京: 科学出版社, 1979: 60–67.
- [4] Langlet O F I. Beiträge zur Zytologie der Ranunculazeen [J]. Svensk Bot Tidskr, 1927, 21(1): 1–17.
- [5] Yuan Q, Yang Q E. Tribal relationships of *Beesia*, *Eranthis* and seven other genera of Ranunculaceae: evidence from cytological characters [J]. Bot J Linn Soc, 2006, 150(3): 267–289.
- [6] Schuettpelz E, Hoot S B. Phylogeny and biogeography of *Caltha* (Ranunculaceae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences [J]. Amer J Bot, 2004, 91(2): 247–253.
- [7] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201–220.