

孙文光, 孙航, 李志敏. 染色体数据的挖掘及其在植物多样性进化研究中的利用[J]. 植物科学学报, 2019, 37(2): 260~269

Sun WG, Sun H, Li ZM. Chromosome data mining and its application in plant diversity research[J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(2): 260~269

染色体数据的挖掘及其在植物多样性进化研究中的利用

孙文光^{1, 2}, 孙航^{2*}, 李志敏^{1*}

(1. 云南师范大学生命科学学院, 昆明 650500; 2. 中国科学院东亚生物多样性与生物地理学重点实验室, 昆明 650201)

摘要: 多倍化(或全基因组加倍)是植物物种形成的重要途径, 现存的被子植物可能都发生过一次甚至多次多倍化事件。多倍化传统的定义是染色体数目相对于祖先类群呈整倍性增加。其中最常用的研究方法是核型分析, 核型能够提供物种的基本细胞学参数, 包括染色体数目、倍性水平、核型不对称性、核型变异系数等。目前核型研究的趋势表现出从物种基本核型参数分析逐渐演化到多类群、多学科交叉融合的特点: 一方面植物核型分析从种群、物种、科属的类群到生命之树, 探讨染色体核型在各支系的进化特征、趋势以及驱动植物系统进化的细胞学机制; 另一方面探讨和分析区域或生态系统植物区系的染色体谱或倍性等细胞学特征, 可以探究区域地质环境变化或生态环境对染色体倍性等的影响, 或通过区域染色体谱的构建, 分析区域植物区系的形成和进化历史。因而, 植物核型研究为系统发育、分子系统进化、生命之树以及植物区系地理的起源和演化研究提供了新思路。越来越多的新方法、新手段在植物核型分析与多倍化研究中得到运用, 从而揭示了植物类群或植物区系的染色体进化以及细胞地理特征。今后植物细胞学研究趋势会向多学科交叉融合, 整合各研究领域证据, 从不同水平角度综合分析植物核型多样性形成的原因及意义, 从而更加全面地认识和理解植物物种多样化与物种形成原因。

关键词: 核型; 多倍化; 染色体; 进化; 植物多样性

中图分类号: Q941⁺.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2019)02-0260-10

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2019.20260

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Chromosome data mining and its application in plant diversity research

Sun Wen-Guang^{1, 2}, Sun Hang^{2*}, Li Zhi-Min^{1*}

(1. School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China; 2. Key Laboratory for Plant Diversity and Biogeography of East Asia, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: Polyploidy (or whole-genome doubling) is an important pathway for plant speciation, with existing angiosperms possibly occurring once or even multiple times. The traditional definition of polyploidization is that the number of chromosomes doubles relative to the ancestral group. The most commonly used research method for understanding polyploidy is karyotype analysis, which provides basic cytological parameters of the studied species, including chromosome number, ploidy level, karyotypic asymmetry, and karyotype coefficient of variation. At present, karyotype research has evolved from basic parameter analysis of species to multi-group/multi-disciplinary study, with an associated shift from lower taxonomic level (e.g., population, species, or family/genus) to higher taxonomic level research (e.g.,

收稿日期: 2018-11-24, 退修日期: 2019-02-21。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31670206); 中国科学院 A 类战略性先导科技专项(XDA 20050203)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31670206) and Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (XDA 20050203).

作者简介: 孙文光(1990-), 男, 博士研究生, 研究方向为植物染色体进化与细胞地理学(E-mail: sunwenguang@mail.kib.ac.cn)。

* 通讯作者(Authors for correspondence. E-mail: lizhimin_vip@163.com; sunhang@mail.kib.ac.cn)。

tree of life). In addition, the integration of phylogeny and karyotypes will provide insightful evidence on the potential evolutionary characteristics and tendencies of karyotypes, and the cytological mechanism driving the evolution of plant diversity at the phylogenetic scale. Furthermore, exploring cytological features of the chromosome atlas or polyploidy at the regional or floral scale will help elucidate the influence of geo-ecological environmental shifts on chromosome ploidy. Additionally, constructing a regional chromosome atlas will shed light on the formation and evolutionary history of flora. Plant karyotype research provides new ideas for study on the origin and evolution of systematics, molecular phylogeny, tree of life, and floristic geography. As new methods are used in plant karyotype analysis and polyploidy, results on the effects and mechanisms will reveal the chromosomal evolution and cellular geographic features of plant groups and flora. Future trends in plant cytology research will be multi-disciplinary and integrate evidence from various research fields and will clarify the causes and significance of plant karyotype diversity at different levels to more fully understand plant species diversity and speciation.

Key words: Karyotype; Polyploidy; Chromosome; Evolution; Plant diversity

世界上现存的植物超过 30 万种, 如此繁多的物种是如何形成的一直是进化生物学领域关注的重点。物种多样性形成的原因在不同角度有很多解释与模式, 究其本质原因就是物种形成。物种形成是通过各种机制导致新物种的产生, 这也是物种多样性产生的根本原因^[1]。因此研究物种形成是进化生物学领域最核心的问题。

目前大部分的物种形成的模式都可以用地理分布上的异域、邻域、同域, 以及通过多倍化发生的物种形成等机制进行解释, 其中通过多倍化事件发生的物种形成是目前已知的由单一遗传事件引起的快速物种形成模式, 研究多倍化在物种形成中的作用及机制显得极为重要。植物染色体数目加倍(多倍化)在物种进化和生态适应中的作用一直倍受关注, 多倍化是新物种形成的重要途径, 特别是在被子植物中最为普遍^[2-6]。通常认为大约超过 50% 的高等植物存在多倍化起源^[7], 现存被子植物中约 20% ~ 40% 是最近形成的多倍体^[2]。已经确定多倍体化在被子植物进化中频繁发生, 但依然不清楚多倍体化是否会促进植物多样化^[8, 9]。研究表明, 相对同类二倍体, 新形成的多倍体植物的多样化速率更低^[9]。现存很多二倍体植物都是古多倍体二倍体化的结果, 多倍体化和二倍体化可能是植物进化中 2 个交替的过程, 是促使新物种产生的动力^[10]。

陆地植物的染色体数目有着丰富的多样性, 被子植物中染色体最少的有 6 种, 其染色体数目都为

$2n = 4$, 分别是禾本科的 *Zingeria biebersteiniana* (Claus) P. A. Smirn^[11]、*Colpodium versicolor* (Steven) Schmalh^[12]、天门冬科虎眼万年青属的 *Ornithogalum tenuifolium* Delaroch^[13]、莎草科刺子莞属的 *Rhynchospora tenuis* Link^[14], 以及 2 种菊科植物 *Haplopappus gracilis* (Nutt.) Gray^[15] 和 *Brachyscome dichromosomatica* C. R. Carter^[16]; 而染色体数目最多的被子植物是景天科景天属的 *Sedum suaveolens* Kimnach, 其染色体数目 $2n > 640$ ^[17]。蕨类植物中的心叶瓶尔小草(*Ophioglossum reticulatum* L.) 体细胞染色体数目多达 1440 条^[18], 这也是目前已知染色体数目最多的真核生物。这种染色体数目巨大的两极分化可能是由 2 种主要机制在不同的方向上驱动, 即通过多倍化增加染色体数目(即全基因组加倍), 或者通过染色体结构变异导致的重排(即染色体融合或者断裂来增加或减少一条染色体, 因而形成不同的染色体基数)^[19]。染色体数目如此复杂, 其核型多样性及染色体数目变异一直备受植物进化生物学家的关注。中国科学家们利用基因编辑技术, 将含 16 条染色体的酵母剔除其端粒与中心粒, 并将染色体首尾相接拼成仅含 1 条或 2 条染色体的能够存活的酵母, 开辟了真核生物染色体结构与功能研究的新方向^[20, 21]。

本文综述了近年来植物多倍化有关的研究趋势, 以及如何更好地利用染色体数据来理解植物多样性形成的原因, 并对目前出现的新方法、新手段

在植物核型分析与多倍化研究中的运用进行展望。

1 多倍化的概念及发展

近一个世纪以来,随着研究方法的改进与发展,人们对植物核型分析中多倍化现象的认识不断深入,多倍体(Polyplody)的概念也在发生变化和延伸。Lutz^[22]于1907年首次发现多倍体, Winkler^[23]于1916年提出和定义了多倍化的概念, Darlington^[24]于1932年对多倍体的定义有了更详细的解释:细胞核中有一套基本的染色体组,称为单倍体(Monoploidy),其所含的染色体数目为染色体基数,用x表示;含有2套的称为二倍体(Diploidy),含有3套或3套以上染色体组称为多倍体,例如三倍体(Triploid)、四倍体(Tetraploid)等^[25]。通常传统的多倍体最广泛的定义为生物体细胞内含有相对于祖先染色体组数量上成倍增加的现象;多倍化在单倍体阶段为 $n = x$,二倍体阶段为 $2n = 2x$ ^[26]。多倍体可以分为同源多倍体(Autopolyploidy)和异源多倍体(Allopolyploidy)2种类型^[27]。同源多倍体通常被定义为其重复增加的染色体组来源与相同的物种,并且在基因组拷贝复制过程中有高度的同源

性;而异源多倍体包含有不同物种且同源性较弱的染色体组^[28]。如何区分多倍体隶属哪种类型是研究植物多倍化的关键课题之一,但是也往往存在一定的困难,需要借助更新的手段来实现。

随着测序技术的发展,特别是基因组学时代的到来,“全基因组复制”(Whole genome duplication, WGD)也逐渐被认为与多倍体含义相同,也是多倍化最直接的体现。多倍体在全基因组序列的复制或基因片段的多拷贝形式下发生,这样看来多倍体可以在没有染色体数目加倍的情况下发生,间接证明了植物体发生多倍化现象是非常普遍的^[29]。此外多倍化可能是在漫长的进化历程中不断发生的,并且通过二倍体化(Diploidization)导致染色体数目不变而基因组加倍的多倍化形式^[10, 30, 31],因此多倍体可能沿着从染色体加倍到不同程度的染色体或基因组重组的形式形成连续的进化,从而表现出多倍体在基因组内有多个基因拷贝而在染色体组水平上不一定呈现加倍的现象^[32]。本研究主要关注多倍体形成的模式,以常规定义中使用的物种染色体数目($2n$)为主要参考依据^[2, 33, 34]。多倍化形成的模式如图1所示。

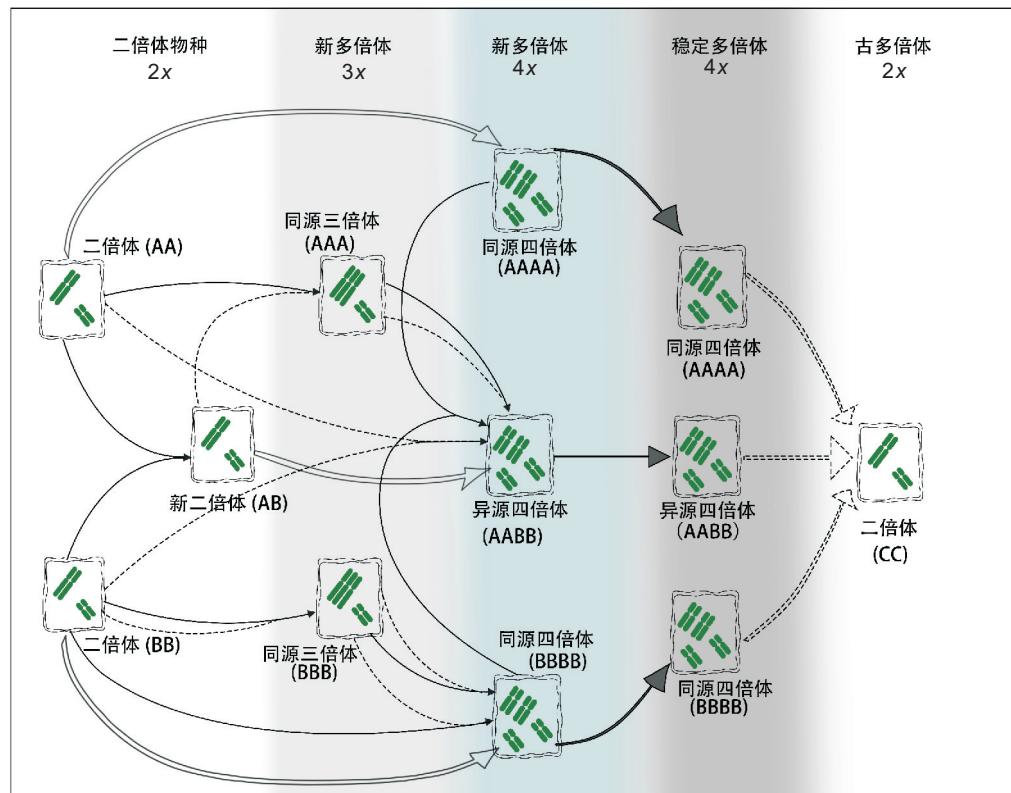


图1 植物多倍化物种形成及二倍体化模式图
Fig. 1 Plant polyploid formation pathways and diploidization

2 植物核型分析

植物细胞学包含丰富的研究领域和内容, 以研究植物细胞核内染色体形态与多样化为主要对象, 可以分为植物细胞遗传学、植物细胞分类学、植物细胞地理学等分支学科, 这些都是基于以物种染色体数目广泛变异为基础。染色体数目 (Chromosome numbers) 是核型分析中最常研究和记录的细胞学特征, 某种程度上是因为染色体数目相对容易观察, 而其他核型特征在实验过程中具有一定难度, 如染色体结构或组成更难以检测及量化。通常一个物种的染色体数目是比较保守的, 但是也有一些物种具有特殊的染色体数目, 丰富了人们对植物体内核型变异的认识。例如在同一植株体内不同部位(构件)有可能出现不同的染色体数目, 即所谓的混倍体 (Mixoploidy) 现象。植物核型分析中最主要的研究和比较的参数是物种的染色体数目、大小以及核型不对称性变化, 以及一些特殊的染色体的结构和位置, 例如随体、B 染色体的有无, 以及随体、着丝粒、次缢横的位置等。这些研究均以常规的集中在物种水平上的基本核型特征观察为研究内容。有丝分裂和减数分裂分别代表植物体细胞与生殖细胞的 2 种重要染色体核形态变化过程, 分别以体细胞(通常是根尖或芽尖分生区)和生殖细胞(通常为小孢子母细胞)为对象研究有丝分裂与减数分裂染色体核形态变化的规律。

通过核型分析, 我们可以知道物种的基本细胞学参数, 包括染色体数目 ($2n/n$)、倍性水平 (x)、核型不对称性 (KA)、核型变异系数 (CV) 等。每个物种都有一个特征性的染色体组, 即染色体组型 (也称为核型), 它代表“体细胞的染色体形态与该物种的基因携带的信息形成的对照”^[35]。即: 核型是核基因组结构和功能组织的最高水平。通过比较不同分类群的染色体, 可以了解核型进化的模式和机制及其对多样化和物种形成的意义。每个物种的核型代表了核基因组的结构与功能的直观体现, 植物通常由稳定的染色体数目和核型结构构成, 这样保证了染色体复制的高度保守性, 也能使遗传物质能完整地复制到子细胞中。但是核型也会发生改变, 例如通过染色体数目的变化(通常是减数分裂或有丝分裂时纺锤体功能失常)——整倍性改变或

非整倍性改变; 或者通过染色体结构变异(通常是交叉互换是发生错误导致)。这些变异对植物的进化有时是非常重要的, 不管是何种原因导致的物种染色体数目变异, 都有可能是物种形成产生的重要原因之一。

通过查询植物染色体数据库 IPCN (Index to plant chromosome number, <http://www.tropicos.org/Project/IPCN/>) 和染色体计数数据库 CCDB (The chromosome counts database, <http://ccdb.tau.ac.il>)^[36] 可以获取全球大部分植物物种的染色体报道记录。应注意的是, 需要对收集到的原始资料进行规范化的整理与综合, 特别是对物种名称的考证要规范化。整理名称包括原始文献发表时的原始名称 (Original name, Accepted name, Taxonomic status), 但是随着分类修订的不断完善与发展, 很多物种的学名经过了多次修订, 为了统一及规范化处理, 保留了原始文献的种名, 同时也利用 The plant list (<http://www.theplantlist.org/>) 和 Tropics (<http://www.tropicos.org/>) 等数据库核对物种是否合格发表, 是否存在异名和修订等给予标注^[37]; 目前已知的全球植物物种数目参考 Christenhusz 等^[38] 的结果, 国内维管束植物名称主要参考 *Flora of China*^[39], 苔藓植物名称参考 *Moss Flora of China*^[40]。笔者使用最近更新的全球植物物种染色体数目数据库整理分析后得出了现有高等植物数据统计结果(表 1)。

统计细胞学研究资料表明, 在高等植物中主要的 4 大类群植物都存在很多研究空白, 大约 14% 的被子植物染色体数目得以确定。国内的统计除裸子植物超过 60% 物种有染色体数据外其他类群均有很多物种没有得到充分研究。但不论是植物类群还是研究区域均不平衡, 体现在: 某些难以采集的类群处于零散报道甚至无染色体数据, 有些属下大部分物种染色体数目或核型特征都得到研究; 有些环境恶劣、交通困难的区域的研究更亟待加强。以国内生物多样性热点地区的横断山地区为例, 资料整理结果表明, 横断山区采集并报道记录染色体数据的植物仅有约 680 种^[41, 42]。植物染色体核型及其染色体数目有着非常保守的规律, 能够客观地反映物种的细胞核信息, 是物种分类的重要参考依据之一^[3]。以同科属或近缘物种的核型进行比较研究是植物细胞分类学研究的一个主要方面, 不同物

表1 高等植物(有胚植物)已有染色体数目数据统计
Table 1 Chromosome data of embryophytes (higher plants)

植物类群 Plant taxa	全球有染色体数据统计 Chromosomal data of global higher plants				中国有染色体数据统计 Chromosomal data of Chinese higher plants			
	科 Family	属 Genus	种 Species	已完成比例(%) Completed ratio	科 Family	属 Genus	种 Species	已完成比例(%) Completed ratio
被子植物 Angiosperms	363	5123	41180 (295 383)	13.94	268	3054	6977 (30 945)	22.55
裸子植物 Gymnosperms	12	76	518 (1079)	48.01	11	39	173 (274)	63.14
蕨类植物 Pteridophytes	46	328	2458 (11 850)	20.74	35	159	874 (2040)	42.84
苔藓类植物 Bryophytes	124	453	1674 (21 925)	7.64	78	517	764 (3073)	24.86

种的体细胞染色体数目可以作为判断不同物种的依据,通过比较核型特征能够追溯核型进化的规律和机制。以区域为研究范围是植物细胞地理学研究的主要目标,对物种展开染色体进化与细胞地理学分析是研究植物区系进化与适应的一个重要方面,也是认识植物区系性质、起源背景和进化机制的重要基础。植物的地理分布与多倍化的关系是区系起源与变迁的证据之一,通过比较区域不同类群间的物种倍性变化或染色体数目变化能为植物的起源提供佐证。

核型分析的另一个主要内容是倍性分析,多倍化是植物物种形成的一种重要途径,通过染色体数目加倍或全基因组层面的基因组加倍等多倍化事件的发生可能会导致植物表型特征、基因表达、生态适应等各方面的变化,而这些改变可能对植物适应生境与气候变化有着直接的联系,多倍体植物相对于其二倍体祖先具有更强的逆境胁迫抵御能力^[43, 44]。采用适当的研究手段是深入分析多倍化对物种辐射进化产生的影响做出评估的重要内容。典型的多倍体的频率基于染色体数目进行估计,Wood等^[45]2009年根据细胞学与系统发育框架的数据,估计约15%的被子植物和31%的蕨类植物在物种形成过程中伴随有多倍化的情况。多倍化物种形成及其比率值得进一步研究,特别是在广泛的类群开展核型实验的基础上进行研究。

3 存在的问题

核型研究结果对植物理解物种的界限具有重要的参考依据,但是目前很多新种或新分类群的研究

都没有重视细胞学数据,相对于形态识别特征,核型数据能够更客观地提供一些参考,建议未来新分类群(新种或归并等分类处理)需要有核型数据作为佐证之一。

植物多倍化的起源是长期关注的话题,但至今也没有很好的研究解释植物发生多倍化的机制,物种在进化过程中染色体重排可能是导致染色体数目和结构发生改变的重要机制,但是其对植物物种形成产生的作用及结果尚不清楚。

一些特殊的染色体,如B染色体(额外染色体)在植物演化的过程中一直得到保留,其作用机制尚不明确。其染色体结构和在有丝分裂与减数分裂中的特殊性值得深入研究。

植物中存在的雌雄异株现象可能与性染色体有直接关系,目前仅有少数物种能够鉴定出确切影响个体性别的性染色体或性别决定基因,植物的性别是多次起源与发生的结果,但如何鉴别不同类群中的植物性别决定机制及所起到的作用还需进一步研究,同时导致不同类群出现性别分化的生物学意义也值得广泛研究。

不同类群植物间核型的进化趋势也不相同,裸子植物的染色体数目与核型比较保守,而被子植物却似乎朝着相反的方向演化。被子植物核型变异非常多样化,但值得关注的是与开花植物对应的孢子植物中,如蕨类植物的染色体数目往往非常多,平均是种子植物的3倍以上。不同类群间的核型演化方向似乎也各不相同。

细胞学核型分析标准化自1985年李懋学和陈瑞阳^[46]提出之后,一直作为国内核型研究标准分

析的依据。但随着测量与统计分析方法的更新, 特别是不对称系数的运用, 以及近年来不断发现种间、种内的核型分化与物种系统地位关系不一致等问题, 因此简单根据核型不对称性原理, 即“物种越进化核型不对称性越强反之越原始越弱”^[2], 已经不能很好的匹配分子系统学的研究结果。在过去的一段时间中, 不断有新的核型不对称系数被提出和运用(表2), 但在实际使用过程中经常发生核型参数冗余、过度使用的现象, 导致无法得到准确的核型进化关系^[47]。经过全面的比较和分析, 在此建议统一测量和分析流程: 利用核型分析软件

KaryoType 2.0^[48]对已添加标尺的照片进行测量, 测量图片来自不同个体的中期染色体形态良好的6个以上细胞, 并对所有细胞测量结果进行综合配对得到能代表该种的普遍核型参数; 核型不对称性根据 Peruzzi 等^[49-50]和 Paszko^[51]提出的检测方法, 基于2种核型参数 M_{CA} (平均着丝粒不对称系数)和 CV_{CL} (染色体长度变异系数), 以及比较 CV_{CI} (染色体指数变异系数)和 THL(单倍体组的染色体总长)进行相关性分析。利用 R 软件包(<https://www.r-project.org/>)对这些参数进行皮尔森相关性检验(Pearson's correlation coefficient)^[52]。

表2 核型相关参数
Table 2 Summary of karyotype-related parameters

核型参数 Karyotype parameter	缩写 Abbreviation	公式 Karyotype formula	原始文献 Original reference
染色体基数	x		[46]
体细胞染色体数	2n		[46]
单倍体长度总和	THL		[46]
染色体长度	CL	L + S	[46]
臂比	r	L / S	[46]
着丝粒指数	CI	S / (L + S)	[46]
Levan 染色体分类系统		见表3	[53]
Stebbins 核型不对称系数分类	KA	见表4	[2]
染色体长度变异系数	CV _{CL}	(sCL / xCL) × 100 = A ₂ × 100	[51]
染色体指数变异系数	CV _{CI}	sCI / xCI × 100	[51]
核型不对称系数	AI	CV _{CL} × CV _{CI} / 100	[51]
平均着丝粒不对称系数	M _{CA}	Mean (L-S) / (L + S) × 100 = A × 100	[50]
Arano 核型不对称指数	AsK%	染色体组长臂和/全组染色体长度和 × 100	[54]
短臂总计数百分比	TF%	染色体组短臂和/全组染色体长度和 × 100	[55]
染色体内不对称系数	A ₁	1 - Mean S / L	[56]
染色体间不对称系数	A ₂	sCL / xCL	[56]
核型不对称程度	A	Mean (L - S) / (L + S)	[57]
核型对称指数	SyI	(Mean 短臂长 / Mean 长臂长) × 100	[58]

表3 Levan 等^[53]的染色体分类系统
Table 3 Chromosome classification system of Levan *et al.*^[53]

臂比 R Arm ratio	着丝粒位置 Location of centromere	缩写 Abbreviation
1.00	正中部着丝粒	M
1.01~1.70	中部着丝粒区	m
1.71~3.00	近中部着丝粒区	Sm
3.01~7.00	近端部着丝粒区	st
7.01~∞	端部着丝粒区	t

表4 Stebbins^[2]核型分类标准
Table 4 Karyotype asymmetry (KA) classification of Stebbins^[2]

臂比(最长/最短) Ratio (Largest/smallest)	臂比大于 2 : 1 的染色体百分比(%) Proportion of chromosomes with arm ratio > (2 : 1)			
	0.0	0.01~0.5	0.51~0.99	1.0
< 2 : 1	1A	2A	3A	4A
2 : 1 ~ 4 : 1	1B	2B	3B	4B
> 4 : 1	1C	2C	3C	4C

4 展望

4.1 新方法、新手段的运用

流式细胞术(Flow cytometry): 基因组大小是生物体非常重要的生物学基本特征之一, 利用流式细胞仪进行快速准确鉴定植物基因组大小的方法变得越来越成熟。该技术通过激光对细胞悬浮液中细胞或粒子进行荧光标记后进行检测, 能够定量分析颗粒的理化性质, 进而推断植物细胞核DNA含量(2C值)及物种倍性鉴定^[59]。此方法可以缩短很多常规压片法的实验周期, 但无法获得核型特征信息, 还需要结合压片结果进行准确的数目及倍性鉴定。根据流式细胞技术确定植物基因组大小的研究已经开展较多, 如目前已经构建出3个已知植物基因组大小的综合性数据库: 邱园构建的植物DNA的C值数据库—Plant C-values (<http://data.kew.org/cvalues>)^[60]; 植物DNA流式细胞术数据库—FLOWer (<https://botany.natur.cuni.cz/flower/index.php>)^[61]; 菊科基因组大小数据库—GSAD (http://www.etnobiocat/gsad_v2/)^[62]。

随着荧光原位杂交技术等细胞遗传学方法的发展, 利用荧光标记分析植物核型中各条非同源染色体提供了非常有效的手段, 尤其是近缘物种或基因组分化较小的物种可以通过荧光标记提供可靠的信息。例如荧光原位杂交(Fluorescence in situ hybridization, FISH)技术^[63]、基因组原位杂交(Genomic in situ hybridization, GISH)技术^[64]和荧光分带(Fluorochrome banding)技术^[65]可以使染色体呈现特定的杂交信号和带型, 为识别和分析染色体提供标记。这些技术的补充和发展为植物染色体核型进入到分子核型阶段, 为获得更精细的染色体结构和行为的信息提供证据, 在鉴定杂交物种形成等方面有着广阔的应用前景, 同时也能够特异性的识别染色体来源, 确定多倍体植物是同源多倍化或异源多倍化提供直接证据。

分子生物学的发展与运用深刻改变了植物科学的研究的方方面面, 在细胞学研究领域也不例外。随着物种系统发育框架的构建与完善, 越来越多的物种信息可以在生命之树上找到其演化的规律, 不同分支的物种可能拥有共同的染色体特征(加倍或非整倍性变化)。基于高支持率的系统发育框架可以

对物种的祖先染色体数目进行推演, 特别是对系统位置比较孤立的单种属或某些狭域分布、难以采集的物种。染色体数目进化模型“ChromEvol”^[66]的提出得到越来越多的运用, 例如 Rice 等^[67]基于全面的空间数据和系统发育分析提出全球多倍体频率分布的地图并用来推断数万种物种的多倍化。随着基因组测序的开展, 许多物种在基因组水平上的多次重复与加倍事件能够得到更准确的判断, 该技术也是未来分析物种多倍化的重要手段之一。例如 Qiao 等^[68]研究鉴定了141种植物基因组中不同类型重复基因, 并构建了植物重复基因数据库, 揭示了重复基因进化的普遍规律。重复基因主要有串联重复、逆转录转座和染色体重复3种模式^[69], 前2种即体现在基因加倍而染色体数目维持不变, 通过核型测定染色体大小或基因组大小的测定可以鉴定基因组加倍情况。染色体加倍后有可能出现染色体重排或丢失发生非整倍性变化, 可以通过流式细胞术测定基因组大小和核型分析相结合的方法鉴定。

4.2 数据库资料运用

目前, 许多研究机构都建立了染色体数据库, 国际上著名的植物染色体数据库有 IPCN (Index to plant chromosome number) 和 CCDB (Chromosome counts database) 等, 可以查询超过100 000种植物的染色体数目信息^[36]。一些专门的数据库, 如 B 染色体数据库(B-chrom: a database on B-chromosomes of plants, animals and fungi) 可以查询植物、动物、真菌的 B 染色体情况^[70]。毛茛科翠雀族染色体数目数据库 DCDB^[71], 区域性的染色体数目数据库等, 结合邱园植物基因组 C 值数据库可以查询大约 9500 种植物的基因组大小信息^[60]。植物DNA流式细胞术数据库(FLOWer)^[61], 菊科基因组大小数据库(GSAD)^[62]等。这些数据库信息对全面认识植物染色体数目与基因组的大小和进化都有重要意义。

染色体的数目、结构及变异对理解植物基因组结构、进化和功能具有重要的作用, 随着DNA测序技术和基因组学研究的发展, 现已证实大多数种子植物至少发生了一次多倍体化^[72]。植物在进化过程中通过基因自我复制, 丰富基因库的数量, 以抵御外界复杂多变的环境, 增加进化、变异的机会, 实现物种的分化和多样性^[1, 43, 44]。

解读多倍体植物的分布是理解物种进化与生态规律的基础, 随着植物染色体数据的整合及分子生物学的发展, 特别是进入下一代基因组学时代, 植物多倍化研究也有了长足的进展。很多基于DNA序列的研究, 如新分类群的发现、生命之树构建、生物地理研究、植物区系地理、谱系地理学等都有了分子生物学方面的证据^[73]。这些海量DNA序列数据也有助于从分子水平上理解植物多倍化进化及其对物种多样性产生的影响。此外, 还可以与一些传统的学科, 如经典分类学中的形态学证据、物种学名考证、物种分布区等来自多学科的研究成果进行综合分析。今后植物细胞学研究趋势会向多学科交叉、融合发展, 整合各研究领域证据, 从不同水平和角度综合分析植物核型多样性形成的原因及意义, 从而探究推动多倍体物种形成与分布的驱动因素。

致谢: 本研究得到中国科学院昆明植物研究所马祥光、罗冬、邓涛、陈家辉、牛洋等的帮助与建议, 以及云南师范大学张永洪、苏富明、胡伸萌、黄媛、孙文远、杨慧娴、王海霞、底远哲、饶培瑜、胡晶晶等的帮助, 在此表示感谢。

参考文献:

- [1] Rieseberg LH, Willis JH. Plant speciation [J]. *Science*, 2007, 317(5840): 910–914.
- [2] Stebbins GL. Chromosomal Evolution in Higher Plants [M]. New York: Addison Wesley, 1971.
- [3] 洪德元. 植物细胞分类学 [M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [4] Lewis WH. Polyploidy in Angiosperms: Dicotyledons [M]// Lewis WH, ed. Polyploidy. New York: Plenum Press, 1980.
- [5] Ramsey J, Schemske DW. Neopolyploidy in flowering plants [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, 2002, 33: 589–639.
- [6] Ehrendorfer F. Polyploidy and distribution [M]// Lewis WH, ed. Polyploidy. New York: Plenum Press, 1980.
- [7] Soltis DE, Soltis PS, Tate JA. Advances in the study of polyploidy since plant speciation [J]. *New Phytol*, 2004, 161(1): 173–191.
- [8] Arriago N, Barker MS. Rarely successful polyploids and their legacy in plant genomes [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15(2): 140–146.
- [9] Mayrose I, Zhan SH, Rothfels CJ, Magnuson-Ford K, Barker MS, et al. Recently formed polyploid plants diversify at lower rates [J]. *Science*, 2011, 333(6047): 1257–1257.
- [10] Wolfe KH. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization [J]. *Nature Rev Genet*, 2001, 2(5): 333–341.
- [11] Bennett MD, Smith JB, Seal AG. The karyotype of the grass *Zingeria biebersteiniana* ($2n = 4$) by light and electron microscopy [J]. *Can J Genet Cytol*, 1986, 28(4): 554–562.
- [12] Violetta K, Pistrick K, Gernand D, Meister A, Ghukasyan A, et al. Characterisation of the low-chromosome number grass *Calpodium versicolor* (Stev.) Schmalh. ($2n = 4$) by molecular cytogenetics [J]. *Caryologia*, 2005, 58(3): 241–245.
- [13] Stedje B. A new low chromosome number for *Ornithogalum tenuifolium* (Hyacinthaceae) [J]. *Plant Syst Evol*, 1988, 161(1–2): 65–69.
- [14] Vanzela AL, Guerra M, Luceno M. *Rhynchospora tenuis* Link (Cyperaceae): a species with the lowest number of holocentric chromosomes ($n = 2$) [J]. *Cytobios*, 1996, 88: 219–228.
- [15] Jackson R. Chromosomal evolution in *Haplopappus gracilis*: a centric transposition race [J]. *Evolution*, 1973, 27(2): 243–256.
- [16] Watanabe K, Short P, Kosuge K, Smith-White S. The cytology of *Brachyscome* Cass. Asteraceae: Astereae. II. Hybridisation between *B. goniocarpa* ($n = 4$) and *B. di-chromosomatica* ($n = 2$) [J]. *Aust J Bot*, 1991, 39(5): 475–485.
- [17] Uhl CH. Chromosomes of Mexican *Sedum* II. Section *Pachysedum* [J]. *Rhodora*, 1978, 80(824): 491–512.
- [18] Khandelwal S. Chromosome evolution in the genus *Ophioglossum* L. [J]. *Bot J Linn Soc*, 1990, 102(3): 205–217.
- [19] Lysák MA, Schubert I. Mechanisms of chromosome rearrangements [M]// Greilhuber J, Dolezel J, Wendel JF, eds. Plant Genome Diversity: Vol. 2. New York: Springer Wien Heidelberg, 2013.
- [20] Luo JC, Sun XJ, Cormack BP, Boeke JD. Karyotype engineering by chromosome fusion leads to reproductive isolation in yeast [J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 392–396.
- [21] Shao YY, Lu N, Wu ZF, Cai C, Wang SS, Zhang LL, Zhou F, Xiao SJ, Liu L, Zeng XF. Creating a functional single-chromosome yeast [J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 331.
- [22] Lutz AM. A preliminary note on the chromosomes of *Oenothera lamarckiana* and one of its mutants, *O. gigas* [J]. *Science*, 1907, 26(657): 151–152.
- [23] Winkler H. Ueber die experimentelle erzeugung von pflanzen mit abweichender chromosomenzahl [J]. *Zeitschrift für Botanik*, 1916, 8: 417–531.
- [24] Winge O. The chromosome: their numbers and general importance [J]. *Compt Rend Trav Lab Carlsberg*, 1917(13): 131.

- [25] Darlington CD. Recent Advances in Cytology [M]. Philadelphia: Blakiston's son and Co, 1937.
- [26] Grant V. Plant Speciation [M]. 2nd ed. New York: Columbia University Press, 1981.
- [27] Kihara H, Ono T. Chromosomenzahlen und systematische Gruppierung der Rumex-Arten [J]. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 1926, 4(3): 475–481.
- [28] Ramsey J, Schemske DW. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, 1998, 29(1): 467–501.
- [29] Soltis DE, Soltis PS, Rieseberg LH. Molecular data and the dynamic nature of polyploidy [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 1993, 12(3): 243–273.
- [30] Soltis DE, Visger CJ, Soltis PS. The polyploidy revolution then...and now: Stebbins revisited [J]. *Am J Bot*, 2014, 101(7): 1057–1078.
- [31] Tate JA, Soltis DE, Soltis PS. Polyploidy in plants [M]// Gregory TR, ed. The Evolution of the Genome. San Diego: Elsevier Science and Technology, Academic Press, 2005, 371–426.
- [32] Bennett MD, Leitch IJ. Plant genome size research: a field in focus [J]. *Ann Bot*, 2005, 95(1): 1–6.
- [33] Stebbins GL. Cytological characteristics associated with the different growth habits in the dicotyledons [J]. *Am J Bot*, 1938, 25(3): 189–198.
- [34] Stebbins GL. Variation and Evolution in Plants [M]. New York: Columbia University Press, 1950.
- [35] Lewitsky G. The karyotype in systematics (on the base of karyology of the subfamily Helleboraceae) [J]. *Trudy Prikl Bot*, 1931, 27: 187–240.
- [36] Rice A, Glick L, Abadi S, Einhorn M, Kopelman NM, et al. The chromosome counts database (CCDB) - a community resource of plant chromosome numbers [J]. *New Phytol*, 2015, 206(1): 19–26.
- [37] Brad B, Nicole H, Lu Z, Antonio RGJ, Dmitry M, et al. The taxonomic name resolution service: an online tool for automated standardization of plant names [J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14(1): 1–15.
- [38] Christenhusz MJ, Byng JW. The number of known plant species in the world and its annual increase [J]. *Phytotaxa*, 2016, 261(3): 201–217.
- [39] Wu ZY, Raven PH, Hong DY, et al. Flora of China: Vol. 1–24 [M]. Beijing: Science Press, 1994–2013.
- [40] Wu PC, Crosby MR, et al. Moss Flora of China: Vol. 1–2 [M]. Beijing: Science Press, 1999–2005.
- [41] Nie ZL, Wen J, Gu ZJ, Boufford DE, Sun H. Polyploidy in the flora of the Hengduan Mountains hotspot, southwestern China [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, 2005, 92(2): 275–306.
- [42] 王家坚, 彭智邦, 孙航, 聂泽龙, 孟盈. 青藏高原与横断山被子植物区系演化的细胞地理学特征 [J]. 生物多样性, 2017, 25(2): 218–225.
- [43] Wang JJ, Peng ZB, Sun H, Nie ZL, Meng Y. Cytogeographic patterns of angiosperms flora of the Qinghai-Tibet Plateau and Hengduan Mountains [J]. *Biodiversity Science*, 2017, 25(2): 218–225.
- [44] Adams KL, Wendel JF. Polyploidy and genome evolution in plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8(2): 135–141.
- [45] Parisod C, Holderegger R, Brochmann C. Evolutionary consequences of autoploidy [J]. *New Phytol*, 2010, 186(1): 5–17.
- [46] Wood TE, Takebayashi N, Barker MS, Mayrose I, Green-spoon PB, Rieseberg LH. The frequency of polyploid speciation in vascular plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(33): 13875–13879.
- [47] 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.
- [48] Li MX, Chen RY. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1985, 3(4): 297–302.
- [49] Astuti G, Roma-Marzio F, Peruzzi L. Traditional karyomorphological studies: can they still provide a solid basis in plant systematics? [J]. *Flora Mediterranea*, 2017, 27: 91–98.
- [50] Altinordu F, Peruzzi L, Yu Y, He XJ. A tool for the analysis of chromosomes: KaryoType [J]. *Taxon*, 2016, 65(3): 586–592.
- [51] Peruzzi L, Altinordu F. A proposal for a multivariate quantitative approach to infer karyological relationships among taxa [J]. *Comp Cytogenet*, 2014, 8(4): 337–349.
- [52] Peruzzi L, Eroğlu HE. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure? [J]. *Comp Cytogenet*, 2013, 7(1): 1.
- [53] Paszko B. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices [J]. *Plant Syst Evol*, 2006, 258(1–2): 39–48.
- [54] Peruzzi L, Leitch IJ, Caparelli KF. Chromosome diversity and evolution in Liliaceae [J]. *Ann Bot*, 2009, 103(3): 459–475.
- [55] Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201–220.
- [56] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan IX. [J]. *The Botanical Magazine*, 1963, 76: 32.
- [57] Huziwaru Y. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosomes of Aster [J]. *Am J Bot*, 1962, 49(2): 116–119.
- [58] Zarco CR. A new method for estimating karyotype asymmetry [J]. *Taxon*, 1986, 35(3): 526–530.

- [57] Watanabe K, Yahara T, Denda T, Kosuge K. Chromosomal evolution in the genus *Brachyscome* (Asteraceae, Astereae): statistical tests regarding correlation between changes in karyotype and habit using phylogenetic information[J]. *J Plant Res*, 1999, 112(2): 145–161.
- [58] Greilhuber J, Speta F. C-banded karyotypes in the *Scilla hohenackeri* group, *S. persica*, and *Puschkinia* (Liliaceae)[J]. *Plant Syst Evol*, 1976, 126(2): 149–188.
- [59] Dolezel J, Bartos J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size[J]. *Ann Bot*, 2005, 95(1): 99–110.
- [60] Garcia S, Leitch IJ, Anadon-Rosell A, Canela MÁ, Gálvez F. Plant DNA C-values database[DB/OL]. [2019-03-01]. <http://data.kew.org/cvalues/>.
- [61] Loureiro J, Suda J, Doležel J, Santos C. FLOWER: a plant DNA flow cytometry database[M]//Doležel J, Greilhuber J, Suda J, eds. *Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes*. Weinheim: Wiley-VCH, 2007.
- [62] Garnatje T, Canela MÁ, Garcia S, Hidalgo O, Pellicer J, et al. GSAD: a genome size in the Asteraceae database [J]. *Cytometry A*, 2011, 79(6): 401–404.
- [63] Langer PR, Waldrop AA, Ward DC. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78(11): 6633–6637.
- [64] Schwarzacher T, Leitch AR, Bennett MD, Heslop-Harrison JS. In situ localization of parental genomes in a wide hybrid[J]. *Ann Bot*, 1989, 64(3): 315–324.
- [65] Liu JY, She CW, Hu ZL, Xiong ZY, Liu LH, Song YC. A new chromosome fluorescence banding technique combining DAPI staining with image analysis in plants[J]. *Chromosoma*, 2004, 113(1): 16–21.
- [66] Glick L, Mayrose I. ChromEvol: assessing the pattern of chromosome number evolution and the inference of polyploidy along a phylogeny[J]. *Mol Biol Evol*, 2014, 31(7): 1914–1922.
- [67] Rice A, Šmarda P, Novosolov M, Drori M, Glick L, et al. The global biogeography of polyploid plants[J]. *Nat Ecol Evol*, 2019, 3(2): 265–273.
- [68] Qiao X, Li Q, Yin H, Qi K, Li L, et al. Gene duplication and evolution in recurring polyploidization-diploidization cycles in plants[J]. *Genome Biol*, 2019, 20(1): 38.
- [69] Zhang JZ. Evolution by gene duplication: an update[J]. *Trends Ecol Evol*, 2003, 18(6): 292–298.
- [70] D'Ambrosio U, Alonso-Lifante MP, Barros K, Kovařík A, Mas dXG, Garcia S. B-chrom: a database on B-chromosomes of plants, animals and fungi [J]. *New Phytol*, 2017, 216(3): 635–642.
- [71] Bosch M, Simon J, López-Pujol J, Blanché C. DCDB: an updated on-line database of chromosome numbers of tribe Delphinieae (Ranunculaceae) [J]. *Flora Mediterranea*, 2016, 26: 191–201.
- [72] Jiao YN, Wickett NJ, Ayyampalayam S, Chanderbali AS, Landherr L, et al. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms[J]. *Nature*, 2011, 473(7345): 97–100.
- [73] 孙航. 多学科融合、多尺度探索: 植物区系地理研究的新趋势[J]. 生物多样性, 2017, 25(2): 109–110.
- Sun H. Multi-disciplinary integration and multi-scale exploration: a new trend in the study of Floristic Geography[J]. *Biodiversity Science*, 2017, 25(2): 109–110.

(责任编辑: 周媛)