

海南隔距兰属植物 6 个种的核型分析

冷青云^{1,2}, 莫饶^{1*}, 罗远华¹, 黄明忠¹, 邓小果¹, 王家保³

(1. 海南大学农学院, 海南儋州 571737; 2. 北京林业大学林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京 100083;
3. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南海口 571101)

摘要: 采用压片法对海南产隔距兰属植物 6 个种, 即: 大序隔距兰 *Cleisostoma paniculatum* (ker-Gawl.) Garay、短序隔距兰 *C. striatum* (Rehb. f.) Garay、短茎隔距兰 *C. parishii* (Hook. f.) Garay、金塔隔距兰 *C. filiforme* (Lindl.) Garay、尖喙隔距兰 *C. rostratum* (Lodd.) Seidenf.、红花隔距兰 *C. williamsonii* (Rehb. f.) Garay 的染色体数目和核型进行了研究。结果如下: 大序隔距兰 $2n = 2x = 38 = 36m + 2sm$; 短序隔距兰 $2n = 2x = 38 = 2M + 36m$; 短茎隔距兰 $2n = 2x = 38 = 2M + 34m + 2sm$; 金塔隔距兰 $2n = 2x = 38 = 38m$; 尖喙隔距兰 $2n = 2x = 38 = 36m + 2sm$; 红花隔距兰 $2n = 2x = 38 = 34m + 4sm(2SAT)$ 。主要由正中部着丝点区染色体组成。除尖喙隔距兰核型分类为 1A 型外, 其他的都为 1B 型。

关键词: 隔距兰属; 染色体数目; 核型

中图分类号: Q943

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2009)02-0121-06

A Karyological Study of Six Species of *Cleisostoma* from Hainan

LENG Qing-Yun^{1,2}, MO Rao^{1*}, LUO Yuan-Hua¹, HUANG Ming-Zhong¹,
DENG Xiao-Guo¹, WANG Jia-Bao³

(1. Agronomy college, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China; 2. Key Laboratory for Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
3. Institute of Tropical Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: The chromosome number and karyotype of six species in *Cleisostoma* from Hainan were studied by applying root tip squash method. The results showed that the *Cleisostoma paniculatum* (ker-Gawl.) Garay $2n = 2x = 38 = 36m + 2sm$, *C. striatum* (Rehb. f.) Garay $2n = 2x = 38 = 2M + 36m$, *C. parishii* (Hook. f.) Garay $2n = 2x = 38 = 2M + 34m + 2sm$, *C. filiforme* (Lindl.) Garay $2n = 2x = 38 = 38m$, *C. rostratum* (Lodd.) Seidenf $2n = 2x = 38 = 36m + 2sm$ and *C. williamsonii* (Rehb. f.) Garay $2n = 2x = 38 = 34m + 4sm(2SAT)$. Its karyotype mainly consists of metacentric chromosomes. All of the karyotypes belong to 1B type except the *C. rostratum* (Lodd.) Seidenf is 1A.

Key words: *Cleisostoma*; Chromosome; Karyotype

兰科(Orchidaceae)是种子植物中的大科,为多年生附生、地生或腐生草本植物,约有 1000 属,近 20000 种,人工杂交种更达 40000 种以上,在全球广为分布与种植,我国有 173 属 1200 种^[1]。兰科植物资源中有许多具有较高的观赏价值,如兰属(*Cymbidium*)、石斛属(*Dendrobium*)、蝴蝶兰属(*Palaenopsis*)等种类。他们大多数具有香味、花姿优美、花色鲜艳、花型奇特、花期持久等特点,深受大家的欢迎,是每年年宵花卉市场唱主角的产品。此外,还有一些具有药用价值的种类,如天麻(*Gastrodia elata*)、

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)等。

隔距兰属(*Cleisostoma*)植物为附生兰,茎直立或悬垂;叶扁平或圆柱状;总状花序或圆锥花序通常具较多的小花;唇瓣 3 裂,有距;距通常具纵隔膜,分距为两室,罕有隔膜退化为狭脊的,在距的后壁上具 1 枚大的胼胝体,它有时与唇瓣基部的突起连接,完全封闭距的入口;蕊柱粗短,基部较宽,呈金字塔状,具明显的蕊柱足或无足;花粉块 2,具不等的裂隙,有蕊喙柄及粘盘。中国产 17 种和 1 变种^[2],海南产 9 种以上^[3]。目前对隔距兰属植物的研究很少,而专

收稿日期: 2008-04-16, 修回日期: 2008-06-24。

基金项目: 国家科技基础条件平台项目(2005DKA21000-5-63)。

作者简介: 冷青云(1985-),男,硕士研究生,研究方向为林木遗传育种。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: xiaotaomo@tom.com)。

门对隔距兰属植物特别是对其进行染色体数目鉴定和核型分析的文章鲜有报道。我们对6种隔距兰属植物进行了核型分析,研究该属6个物种细胞核内染色体的数目及染色体的形态特征,如染色体的相对长度、着丝点的位置、臂比和随体有无等,为研究该属植物的遗传变异、系统演化、种间亲缘关系、地区区域分布和进化提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的6种隔距兰属(*Cleisostoma*)植物均为野生种,采自海南并引种栽培于海南大学(儋州校区)农学院实习基地。凭证标本藏于海南大学(儋州校区)农学院实习基地野生兰花圃。材料名称、采集地及凭证标本见表1。

表1 实验材料来源
Table 1 The origin of the material

物种 Species	采集地 Locality	凭证标本 Voucher
大序隔距兰 <i>Cleisostoma paniculatum</i> (Ker-Gawl.) Garay	海南儋州 Danzhou, Hainan	莫饶(R. Mo) DX 06-09(海南儋州)
短序隔距兰 <i>C. striatum</i> (Rchb. f.) Garay	海南儋州 Danzhou, Hainan	黄明忠(M. Z. Huang) DX 07-06(海南儋州)
短茎隔距兰 <i>C. parishii</i> (Hook. f.) Garay	海南五指山 Wuzhishan, Hainan	曾燕君(Y. J. Zeng) DJ 07-08(海南儋州)
金塔隔距兰 <i>C. filiforme</i> (Lindl.) Garay	海南东方 Dongfang, Hainan	彭彬(B. Peng) JT 06-10(海南儋州)
尖喙隔距兰 <i>C. rostratum</i> (Lodd.) Seidenf	海南白沙 Baisha, Hainan	彭彬(B. Peng) JH 06-09(海南儋州)
红花隔距兰 <i>C. williamsonii</i> (Rchb. f.) Garay	海南东方 Dongfang, Hainan	彭彬(B. Peng) HH 06-10(海南儋州)

1.2 染色体制片

取成熟植株新长出的根尖,冲洗干净后,用饱和的对二氯苯溶液于4℃冰箱中预处理2~3 h,然后用卡诺氏液(95%乙醇:冰乙酸=3:1)于4℃冰箱中固定4~20 h,1 mol/L盐酸于60℃解离7~8 min,改良的石炭酸品红染色压片。镜检并统计染色体数目。然后选取染色体形态好又分散的细胞拍照作核型分析。

1.3 核型分析方法

取5~10个植株的新生根尖进行核型分析。染色体数目的确定和核型分析参照李懋学等^[4]关于植物核型分析标准化建议,统计45个以上细胞,其中85%以上细胞具有恒定一致的染色体数作为该种的染色体数目。每个种取5个细胞的核型平均值。核型不对称系数按 Arano^[5]的方法,比值越大

越不对称。核型分类参照 Stebbins^[6]的方法划分。

2 结果与分析

2.1 大序隔距兰

体细胞染色体数目 $2n = 38$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 36m + 2sm$ (M 为正中部着丝点染色体,m 为正中部着丝点区染色体,sm 为近中部着丝点区染色体,下同)。在本试验中未观察到随体染色体。染色体相对长度范围为7.59~3.41,最长染色体与最短染色体的比值为2.26,核不对称系数为55.96,核型属1B型。

2.2 短序隔距兰

体细胞染色体数目 $2n = 38$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 2M + 36m$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体。染色体相对长度范围为7.17~3.16,最长染色体与最短染色体的比值为2.27,核不对称系数为54.75,核型属1B型。

2.3 短茎隔距兰

体细胞染色体数目 $2n = 38$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 2M + 34m + 2sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体。染色体相对长度范围为7.46~3.62,最长染色体与最短染色体的比值为2.06,核不对称系数为54.75,核型属1B型。

2.4 金塔隔距兰

体细胞染色体数目 $2n = 38$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 38m$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体。染色体相对长度范围为6.98~3.39,最长染色体与最短染色体的比值为2.06,核不对称系数为55.05,核型属1B型。

2.5 尖喙隔距兰

体细胞染色体数目 $2n = 38$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 36m + 2sm$ 。在本试验条件下未观察到随体染色体。染色体相对长度范围为7.15~3.80,最长染色体与最短染色体的比值为1.88,核不对称系数为56.16,核型属1A型。

2.6 红花隔距兰

体细胞染色体数目 $2n = 38$,为二倍体。核型公式为 $2n = 2x = 38 = 34m + 4sm(2SAT)$ 。在本试验条件下观察到第9号染色体的短臂上有随体染色体,染色体相对长度范围为7.34~3.30,最长染色体与最短染色体的比值为2.20,核不对称系数为58.06,核型属1B型。

6种隔距兰属植物核型参数见表2,其染色体核型见图1:A~F,核型模式图见图2:1~6。

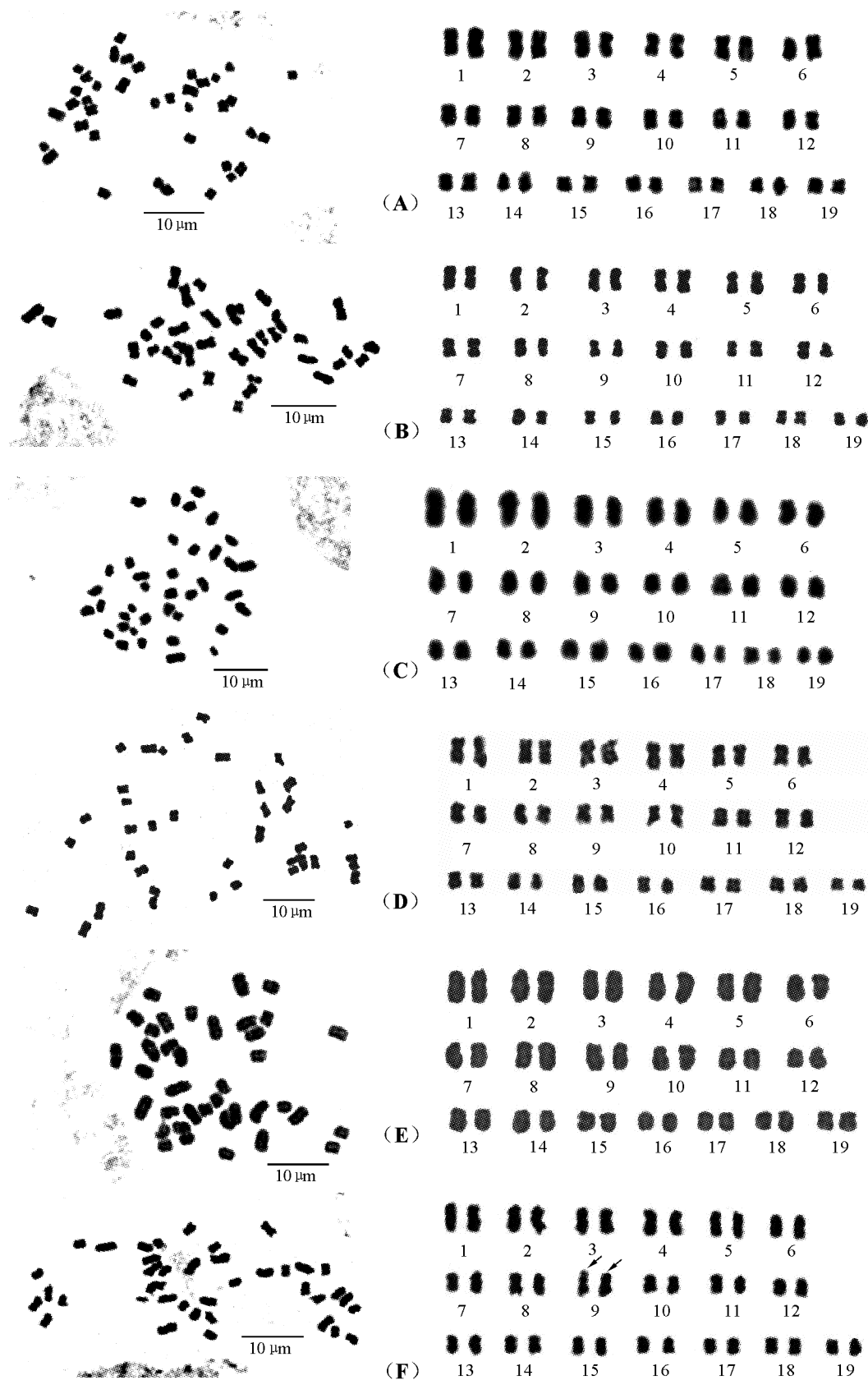
表2 6种隔距兰属植物的核型参数
Table 2 Karyotype parameter of 6 species in *Cleisostoma*

染色体 编号 No.	大序隔距兰 <i>C. paniculatum</i>			短序隔距兰 <i>C. striatum</i>			短茎隔距兰 <i>C. parishii</i>		
	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type
	长臂 + 短臂 = 总长 L + S = T			长臂 + 短臂 = 总长 L + S = T			长臂 + 短臂 = 总长 L + S = T		
1	4.18 + 3.41 = 7.59	1.23	m	3.92 + 3.25 = 7.17	1.20	m	4.15 + 3.33 = 7.48	1.25	m
2	3.99 + 3.33 = 7.32	1.20	m	4.15 + 2.91 = 7.06	1.43	m	3.86 + 3.47 = 7.33	1.11	m
3	4.06 + 3.07 = 7.13	1.32	m	3.49 + 3.37 = 6.86	1.03	m	3.52 + 3.38 = 6.90	1.04	m
4	3.22 + 2.99 = 6.21	1.08	m	3.45 + 3.22 = 6.67	1.07	m	4.15 + 2.36 = 6.51	1.76	sm
5	3.14 + 3.07 = 6.21	1.02	m	3.68 + 2.87 = 6.55	1.28	m	3.71 + 2.32 = 6.03	1.60	m
6	3.60 + 2.38 = 5.98	1.51	m	3.10 + 3.10 = 6.20	1.00	M	3.14 + 2.85 = 5.99	1.10	m
7	3.22 + 2.57 = 5.79	1.25	m	3.14 + 2.64 = 5.78	1.19	m	3.38 + 2.36 = 5.74	1.43	m
8	3.49 + 1.99 = 5.48	1.75	sm	2.91 + 2.83 = 5.74	1.03	m	3.47 + 2.13 = 5.60	1.64	m
9	2.91 + 2.38 = 5.29	1.22	m	3.06 + 2.14 = 5.20	1.44	m	3.09 + 1.93 = 5.02	1.60	m
10	2.84 + 2.11 = 4.95	1.35	m	3.06 + 2.06 = 5.12	1.49	m	2.70 + 2.27 = 4.97	1.19	m
11	2.68 + 2.15 = 4.83	1.25	m	2.37 + 2.28 = 4.65	1.03	m	2.70 + 2.07 = 4.77	1.30	m
12	2.57 + 2.22 = 4.79	1.16	m	2.48 + 2.06 = 4.54	1.21	m	2.56 + 2.12 = 4.68	1.20	m
13	2.53 + 2.07 = 4.60	1.22	m	2.52 + 1.86 = 4.38	1.35	m	2.60 + 1.93 = 4.53	1.35	m
14	2.61 + 1.80 = 4.41	1.45	m	2.48 + 1.90 = 4.38	1.31	m	2.36 + 2.17 = 4.53	1.09	m
15	2.45 + 1.61 = 4.06	1.52	m	2.29 + 1.90 = 4.19	1.20	m	2.32 + 2.02 = 4.34	1.14	m
16	2.45 + 1.61 = 4.06	1.52	m	2.25 + 1.82 = 4.07	1.23	m	2.12 + 2.13 = 4.25	1.00	M
17	2.11 + 1.88 + 3.99	1.12	m	2.09 + 1.79 = 3.88	1.17	m	2.12 + 1.84 = 3.96	1.16	m
18	2.03 + 1.88 = 3.91	1.08	m	2.21 + 1.59 = 3.80	1.39	m	1.98 + 1.78 = 3.76	1.11	m
19	1.88 + 1.53 = 3.41	1.23	m	2.09 + 1.67 = 3.76	1.26	m	2.08 + 1.54 = 3.62	1.34	m

染色体 编号 No.	金塔隔距兰 <i>C. filiforme</i>			尖喙隔距兰 <i>C. rostratum</i>			红花隔距兰 <i>C. williamsonii</i>		
	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type
	长臂 + 短臂 = 总长 L + S = T			长臂 + 短臂 = 总长 L + S = T			长臂 + 短臂 = 总长 L + S = T		
1	3.86 + 3.12 = 6.98	1.24	m	3.94 + 3.21 = 7.15	1.23	m	4.18 + 3.16 = 7.34	1.32	m
2	4.14 + 2.84 = 6.98	1.45	m	4.04 + 2.81 = 6.85	1.44	m	3.99 + 2.88 = 6.87	1.39	m
3	3.93 + 2.98 = 6.92	1.32	m	3.55 + 3.16 = 6.71	1.13	m	4.09 + 2.46 = 6.55	1.66	m
4	3.59 + 3.19 = 6.78	1.13	m	3.50 + 3.01 = 6.51	1.16	m	3.48 + 2.79 = 6.27	1.25	m
5	3.12 + 2.78 = 5.90	1.12	m	3.65 + 2.51 = 6.16	1.45	m	3.44 + 2.83 = 6.27	1.21	m
6	3.25 + 2.65 = 5.90	1.23	m	3.21 + 2.56 = 5.77	1.25	m	3.16 + 2.79 = 5.95	1.13	m
7	3.25 + 2.44 = 5.69	1.33	m	3.21 + 2.36 = 5.57	1.35	m	3.16 + 2.69 = 5.85	1.17	m
8	2.71 + 2.58 = 5.29	1.05	m	2.91 + 2.61 = 5.52	1.11	m	3.58 + 1.85 = 5.43	1.93	m
9	3.12 + 2.10 = 5.22	1.48	m	3.45 + 2.02 = 5.47	1.71	sm	2.97 + 2.46 = 5.43	1.21	sm
10	2.78 + 2.37 = 5.15	1.17	m	3.21 + 2.16 = 5.37	1.48	m	3.16 + 1.86 = 5.02	1.70	m
11	2.85 + 2.30 = 5.15	1.24	m	2.56 + 2.17 = 4.73	1.18	m	2.60 + 2.37 = 4.97	1.10	m
12	2.64 + 2.17 = 4.81	1.22	m	2.51 + 2.13 = 4.64	1.19	m	2.79 + 1.85 = 4.64	1.50	m
13	2.51 + 2.10 = 4.61	1.19	m	2.62 + 1.97 = 4.59	1.33	m	2.69 + 1.91 = 4.60	1.41	m
14	2.44 + 1.97 = 4.41	1.24	m	2.66 + 1.78 = 4.44	1.50	m	2.65 + 1.81 = 4.46	1.46	m
15	2.37 + 1.97 = 4.34	1.21	m	2.42 + 1.92 = 4.34	1.26	m	2.42 + 1.91 = 4.32	1.27	m
16	2.17 + 2.03 = 4.20	1.07	m	2.42 + 1.72 = 4.14	1.40	m	2.60 + 1.67 = 4.27	1.56	m
17	2.17 + 2.03 = 4.20	1.07	m	2.22 + 1.92 = 4.14	1.15	m	2.55 + 1.68 = 4.23	1.53	m
18	2.10 + 1.97 = 4.07	1.07	m	2.12 + 1.97 = 4.09	1.08	m	2.42 + 1.81 = 4.23	1.33	m
19	2.03 + 1.36 = 3.39	1.50	m	1.97 + 1.83 = 3.80	1.08	m	2.14 + 1.16 = 3.30	1.84	sm

注: 随体长度未计算在内。

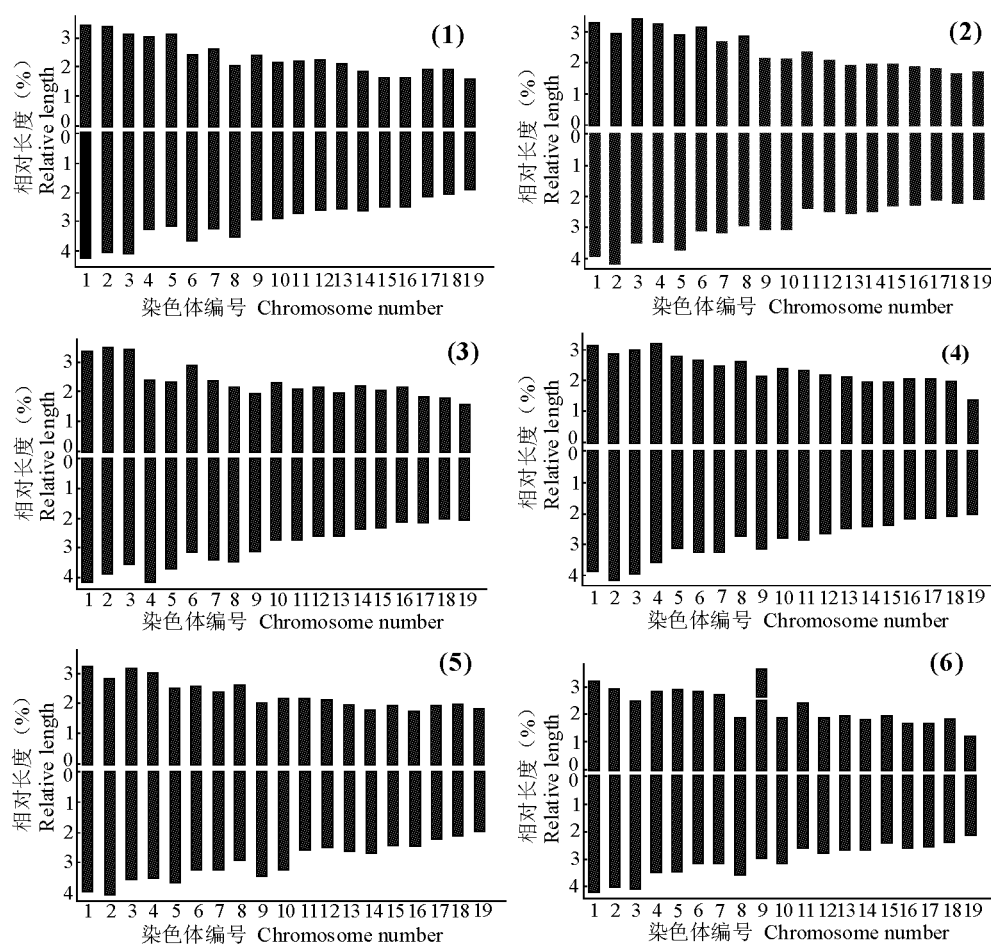
Note: The length of satellites is not included in the chromosome length.



A. *C. paniculatum*; B. *C. striatum*; C. *C. parishii*; D. *C. filiforme*; E. *C. rostratum*; F. *C. williamsonii*

图 1 海南隔距兰属植物 6 个种的核型(箭头示随体染色体)

Fig. 1 Karyotype of six species in *Cleisostoma* from Hainan(The arrow shows has the satellite chromosome)



1. *C. paniculatum*; 2. *C. striatum*; 3. *C. parishii*; 4. *C. filiforme*; 5. *C. rostratum*; 6. *C. williamsonii*

图2 海南隔距兰属植物6个种的核型模式图

Fig. 2 Karyotype mode of six species in *Cleisostoma* from Hainan

3 结论与讨论

研究了隔距兰属6种隔距兰的核型,其染色体数目都为 $2n=38$,主要由正中部着丝点区染色体组成。除尖喙隔距兰核型分类为1A型外,其他的都为1B型。核型上是比较对称的。在本研究所报道的隔距兰属植物6个种中除大序隔距兰已有研究外^[7],其他5种都为首次报道。在前人的记载中大序隔距兰的染色体数目 $2n=38$,核型分类为2B。在染色体数目上本研究与前人的研究一致,而核型分类上还是有很大的不同(我们的为1B型)。兰科植物在核型上报道的比较多的一些兰属(*Cymbidium*)植物和兜兰属(*Paphiopedilum*)植物,其他兰科植物的核型报道比较少。李玉阁等^[8-10]报道了17种和一变种国产兰属植物的染色体和核型,其中除了兔耳兰(*C. lancifolium*)染色体是 $2n=38$ 外,其他的都是 $2n=40$ 。杨志娟等^[11]报道了21种兜兰属植

物的核型。这些已报道的兰科植物核型分类都是比较对称的2A、2B类型。

隔距兰属在分类学上属于兰科兰亚科万代兰族指甲兰亚族^[12]。兰科植物是形态较特化、进化程度较高的植物,这在隔距兰属植物中表现得也比较明显:6种隔距兰叶的形态上,金塔隔距兰、红花隔距兰是细圆柱形,其他4种为扁平狭披针形到带状。花器特征上更是特化,花两侧对称,唇瓣特化,结构复杂,基部有距,距后壁上具1枚大的胼胝体。雄蕊数目减少,花柱合生成蕊柱;子房下位等一系列特征。然而在核型上则处于较对称的原始类型。以上的研究成果似乎与植物分类和进化学家 Stebbins^[6]的观点相矛盾,即:高等植物核型进化的基本趋势是由对称向不对称方向发展,系统演化上处于比较古老或原始的植物,往往具有较对称的核型,而不对称的核型则通常出现在较进化或特化的植物中。但仅依靠已研究的少数几个属的核型来判定兰科植物与

这一观点不符也不准确,因此,准确讨论兰科植物的进化方式,还需要对更多的其他属植物进行核型和多领域的研究。

参考文献:

- [1] 陈心启,吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京:中国林业出版社, 1998: 72.
- [2] 陈心启. 中国植物志:第 19 卷[M]. 北京:科学出版社,1999: 311.
- [3] Yu W G(余文刚),Jing Z Q(金志强),Luo Y B(罗毅波). Analysis of floristic composition and characteristics of wild orchids in Hainan Island[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*(热带作物学报),2007,28(2): 108 - 114.
- [4] Li M X(李懋学),Che R Y(陈瑞阳). A suggestion on standardization of karyotype analysis in plant[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究),1985,3(4): 297 - 302.
- [5] Arano H. Cytological studies in subfamily Cardioideae (Compositae) of Japan IX[J]. *Bot Mag*,1963,76: 32.
- [6] Stebbins G L. Chromosome Evolution in Higher Plants[M]. London:Edward Aronld,1971: 88.
- [7] 陈瑞阳,等. 中国主要经济植物基因组染色体图谱(Ⅲ)[M]. 北京:科学出版社,2003: 562.
- [8] Li Y G(李玉阁),Guo W H(郭卫红),Wu B J(吴伯骥). A karyological study of six chinese species of *Cymbidium*[J]. *Acta Botanica Yunnanica*(云南植物研究),2003,25(1): 83 - 89.
- [9] Li Y G(李玉阁),Guo W H(郭卫红),Wu B J(吴伯骥). A karyological study of seven species and one variety of *Cymbidium* from China[J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*(植物分类学报), 2002,40(5): 406 - 413.
- [10] Li Y G(李玉阁),Guo W H(郭卫红),Wu B J(吴伯骥). Studies on karyotypes of four species of *Cymbidium* in China[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报),2002,22(6): 1438 - 1444.
- [11] 杨志娟. 兜兰属(*Paphiopedilum*)植物细胞学及其亲缘关系的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2006. 6
- [12] 陈心启. 中国植物志:第 17 卷[M]. 北京:科学出版社,1999: 6 - 8.