

水松的细胞学研究

李林初

(复旦大学生物系)

摘要 本文报道了水松的核型公式 $K(2n)=22=22m$, 为“1A”类型。染色体相对长度组成为 $2n=22=2L+4M_2+16M_1$ 。8号染色体具长着丝点区域, 这是核型的一个特征。与近缘的国产种柳杉和水杉相比较, 三者由原始到进化的顺序可能为(柳杉、水松)、水杉, 水松与柳杉最接近, 水杉和水松较近缘。本文还计算了水松的染色体体积。

关键词 水松; 核型; 染色体体积

水松 (*Glyptostrobus pensilis*) 为杉科 (Taxodiaceae) 水松属的单型种, 国家二级重点保护植物, 特产我国广东、广西、福建等地^[4]。水松的染色体资料已见一些报道^[3, 5]。笔者以种子根尖为材料进行了水松的细胞学研究, 并与水杉 (*Metasequoia glyptostroboides*) 和柳杉 (*Cryptomeria fortunei*) 作了比较, 初步探讨了它们的进化顺序, 旨为研究杉科的系统演化提供必要的资料。

凭证标本存复旦大学生物系植物标本室。

材料和方法

水松种子经60℃温水浸泡后25℃培养, 待长出1—2厘米长胚根时用0.002M 8-羟基喹啉液预处理6—8小时, 经卡诺氏液固定3—24小时后用1N盐酸60℃解离5分钟, 用改良的石碳酸品红液染色, 压片, 选取优良制片冰冻揭盖, 中性树胶封固。取染色体分散良好、着丝点清晰的图象显微摄影, 在放大照片上剪下染色体, 经精密测量后取平均值制表1, 同源染色体配对后依序组成图1, 核型模式图见图2。

染色体的相对长度系数按郭幸荣等^[10]的方法, 即I.R.L.=染色体长度/全组染色体平均长度, $I.R.L. < 0.76$ 为短染色体(S); $0.76 \leq I.R.L. \leq 1.00$ 为中短染色体(M1); $1.01 \leq I.R.L. \leq 1.25$ 为中长染色体(M2); $I.R.L. \geq 1.26$ 为长染色体(L)。

染色体体积按De-Vescovi^[7]的方法, 即假设染色体为圆柱体, 染色体的宽度为圆柱的直径, 染色体体积计算公式为: $\pi \times (\frac{1}{2} \text{宽度})^2 \times \text{总长}$ 。设随体为圆球体, 球体积计算公式为: $\frac{4}{3}\pi \times (\frac{1}{2} \text{宽度})^3$ 。以3个细胞计算, 取平均值。

染色体核型类型按Stebbins^[15, 16]的方法, “1A”最对称, “4C”最不对称。

观察结果

1. 染色体核型

从水松的大量制片中观察了50个细胞进行染色体计数, 确定 $2n=22$,

承中国科学院华南植物研究所卫兆芬、邓盈丰同志提供水松种子, 我系傅文瑜同志协助显微摄影和印、放照片, 特此致谢。

与前人^[3、6]的研究相同。未发现非整倍性变异和多倍现象，也未见B染色体。根据5个染色体分散良好的中期分裂相进行核型分析，按Levan等^[11]的分类标准，确定水松的染色体核型公式为 $K(2n)=22=22m$ 。

由表1、图1和图2可见，水松具11对中部着丝点染色体，它们的绝对长度变异范围为6.83—10.26微米，按郭幸荣等^[10]使用的染色体相对长度系数I.R.L.值可将它们分成3组，第一组（1号染色体）为长染色体（L），第二组（2—3号）为中长染色体（M₂），第三组（4—11号）为中短染色体（M₁），因此水松的染色体相对长度组成为 $2n=22=2L+4M_2+16M_1$ 。染色体相对长度变异范围为7.74—11.62，差值为3.88。全组染色体总长度为88.29微米，最长染色体与最短染色体之比为1.50，染色体臂比变异幅为1.07—1.64，没有臂比大于2的染色体。8号染色体具长着丝点区域（long kinetochore region）。

表1 水松的染色体长度、臂比和类型

编 号	实 际 长 度 (微米)			相 对 长 度 (%)	相 对 长 度 系 数 (I.R.L.)	臂 比	类 型
	全 长	短 臂	长 臂				
1	10.26	4.48	5.38	11.62	1.28(L)	1.19	m
2	9.50	4.47	5.03	10.76	1.18(M ₂)	1.13	m
3	9.13	4.42	4.71	10.34	1.14(M ₂)	1.07	m
4	8.00	3.40	4.70	9.06	1.00(M ₁)	1.35	m
5	7.76	3.60	4.16	8.79	0.97(M ₁)	1.16	m
6	7.64	3.38	4.26	8.65	0.95(M ₁)	1.26	m
7	7.48	3.41	4.07	8.47	0.93(M ₁)	1.19	m
8	7.29	2.76	4.53	8.26	0.91(M ₁)	1.64	m
9	7.25	3.47	3.78	8.21	0.90(M ₁)	1.09	m
10	7.15	3.30	3.85	8.10	0.89(M ₁)	1.17	m
11	6.83	2.85	3.98	7.74	0.85(M ₁)	1.40	m

染色体组总长度为88.39微米

2. 染色体体积 笔者以3个水松细胞分裂图象显微测量染色体的长度和宽度，并在放大的照片上核对，按染色体体积公式计算后取平均值，列入表2。

表2 水松的染色体体积 单位：微米³

染色体编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
体 积	24.30	21.18	20.02	19.76	19.34	18.86	17.80	16.70	15.76	15.18	13.62

总体积：202.52微米³

讨 论

1. 由表1和图1、图2可见，水松核型全由具中部着丝点的染色体组成，而且它们的长度甚为接近，Stebbins^[14]称之为“对称核型”。他又^[15、16]又根据不对称性把核型分成12个等级。水松没有臂比大于2的染色体，最长与最短染色体之比（1.50）也小于2，为“1A”

核型，这是最整齐和对称的类型，表明水松在进化上处于相当原始的地位。按 Arano^[6] 的核型不对称系数长(臂总长 / 全组染色体总长)，水松的 $A_s \cdot K\% = 54.76$ ，显示较高的对称性。

8号染色体具 Schlarbaum 等^[13]称作的长着丝点区域，这种具长着丝点区域的染色体实即 Toda^[17]的具“小体-连接丝-大随体”(Kopfchen-Connecting fiber-Large satellite)结构的随体染色体，他把原来的短臂认作大随体，他的小体则相当于真正的短臂，在图 1 的 8 号染色体上隐约可见。肖德兴等^[8]在水松中也观察到 1 对具长着丝点区域的染色体，与笔者的 8 号染色体相当，但他们为 I 号 (9 号)，这可能与各自长度测量上的差异有关。这对染色体是水松核型的一个特征。具这种异常结构的染色体在其他杉科植物中多有存在，可能在一定程度上反映了杉科植物核型的特点。

本文对水松染色体的测量资料与肖德兴等的研究基本一致，但他们没有指明根据哪个染色体分类标准而得出水松有 3 对近中着丝点染色体 (sm) 的结论。如按目前国内广泛使用的 Levan 等的标准，这 3 对染色体还是具中部着丝点 (m)，与笔者的水松的核型公式为 $K(2n) = 22 = 22m$ 一致。

2. 根据笔者的研究，在国产杉科植物中，水松与柳杉 (*Cryptomeria fortunei*)^[2]、水杉 (*Metasequoia glyptostroboides*)^[11] 的核型最为接近，为便于比较，将三者的有关资料列入表 3。由表可见，三者的核型公式 (不包括随体) 完全相同，染色体相对长度组成也相近。由于臂比大于 2 的染色体比例都为 0 和最长与最短染色体的长度之比也相同或接近而同属 Stebbins 的“1A”核型，表明它们在进化上都处于相当原始的地位。水松和柳杉的染色体相对长度组成甚为相似而显得更为接近，前者仅在染色体相对长度差值和最长与最短染色体之比等性状上较后者稍不对称而似有略为进化的趋势。水杉的染色体相对长度组成中则除了有 1 对长染色体 (L) 和若干对中等染色体 (M_2 , M_1) 外，还有 1 对短染色体 (S)，它的最长与最短染色体的比值和染色体相对长度差值也均比几乎相等的水松和柳杉高得多而显得不对称。因此，根据 Stebbins^[14] 的理论，三者由原始到进化的顺序可能为 (柳杉、水松)、水杉，水松与柳杉最接近，水杉则与水松近缘。由于它们都隶属于单种属或少种属，因此这个进化水平的顺序也反映了属一级的演化趋势。从染色体资料来看，笔者支持郑万钧等^[4]认为水杉和水松近缘的意见。

3. 由表 2 和表 3 可见水松和水杉、柳杉的染色体体积与染色体组总长度间成正相关，但与它们的进化水平顺序之间似无规律可循。看来它们也如 Dhillon^[9]、Rees 和 Jones^[12] 分别报道的 DNA 含量与染色体组长度和染色体体积成正相关一样。因此笔者支持 Stebbins^[14] 认为高等生物中核内 DNA 含量变异与进化无关而只是一种适应特征的意见。目前在 DNA 含量与进化的关系上另有一种认为它们相关的意见，例 Dhir 等^[8] 报道松属 (*Pinus*) 中较进步的种类具更多的 DNA。

4. 由图 1 可见，水松染色体象水杉^[1]的一样出现凹缢和染色明暗相间的条纹，它们在判别同源染色体时具有相当的指示意义。肖德兴等在水松 J 号染色体的长臂上观察到的一个可能的次缢痕在笔者相应的 9 号染色体上也有清晰反映。水松、水杉的这种情况可能有些类似于早有报道的低温处理诱发染色体出现与异染色质有关的明暗条纹，即所谓分节、异染周期性区域 (allocyclic region) 或 H-segment 等现象，值得深入研究。

表3

水松、水杉和柳杉的核型比较

分类群	水松 (<i>Glyptostrobus pensilis</i>)	水杉 (<i>Metasequoia glyptostroboides</i>)	柳杉 (<i>Cryptomeria fortunei</i>)
①	$K(2n)=22=22m$	$K(2n)=22=2m(SAT)+20m$	$K(2n)=22=2m(SAT)+20m$
②	$2n=22=2L+4M_2+16M_1$	$2n=22=2L+10M_2+8M_1+2S$	$2n=22=2L+8M_2+12M_1$
③	3.88(7.74—11.62)	5.31(6.26—11.57)	3.74(7.73—11.47)
④	1.53	1.85	1.48
⑤	0	0	0
⑥	1A	1A	1A
⑦	88.29	123.09	139.13
⑧	202.52	263.66	335.86

①核型公式; ②染色体相对长度组成; ③染色体相对长度差值; ④最长染色体/最短染色体; ⑤臂比>2的染色体比例; ⑥核型类型; ⑦染色体组总长(微米); ⑧染色体体积(微米³)。

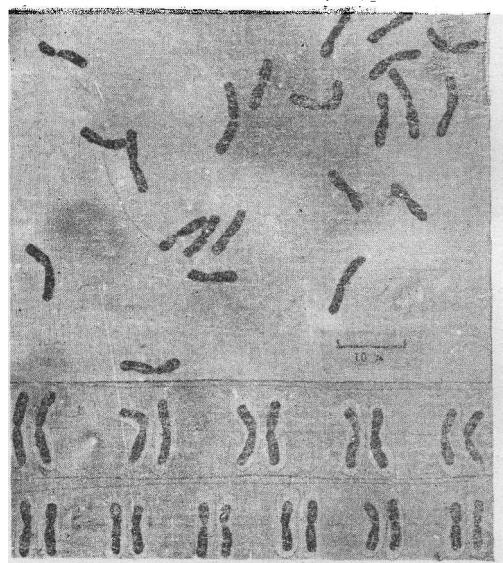


图1 水松染色体核型
($2n=22$)

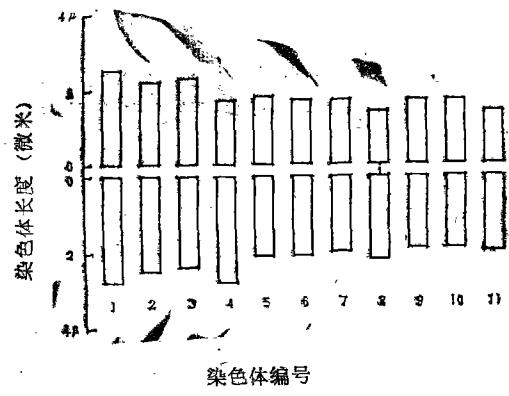


图2 水松核型模式图

参考文献

- [1] 李林初, 1986: 水杉的核型研究, 武汉植物学研究4(1): 1—5。
- [2] 李林初、徐炳声, 1984: 柳杉染色体核型的研究, 林业科学20(3): 323—326。
- [3] 肖德兴、董金生, 1983: 水松核型的初步研究, 江西农业大学学报(第3、4期): 87—90。
- [4] 郑万钧、傅立国, 1978: 中国植物志(第七卷), 科学出版社。
- [5] 日浩雅博·田中隆莊, 1979: 裸子植物の染色体, 遗伝33(6): 31—37。
- [6] Arano, H., 1963: Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan IX. The karyotype analysis and phylogenetic considerations on Pertya and Ainsliaea (2). Bot. Mag. Tokyo 76: 32—39.
- [7] De-Vescovi, M. A. and O. Sziklai, 1975: Comparative karyotype analysis of Douglas-Fir. Silvae Genet. 24(2—3): 68—73.

- (8) Dhir, N. K. and J. P. Miksche, 1974: Intraspecific variation of nuclear DNA content in *Pinus resinosa* Ait. Can. J. Genet. Cytol. 16: 77—83.
- (9) Dhillon, S. S., 1980: Nuclear volume, chromosome size and DNA content relationships in three species of *Pinus*. Cytologia 45: 555—560.
- (10) Kuo, S. R., Wang, T. T. and Huang, T. C., 1972: Karyotype analysis of some Formosan gymnosperms. Taiwania 17(1): 66—80.
- (11) Levan, A. et al., 1964: Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201—220.
- (12) Rees, H. and R. N. Jones, 1977: Chromosome Genetics. Edward Arnold. 88—96.
- (13) Schlarbaum, S. E. et T. Tsuchiya, 1981: Differential reactivity to staining in tree chromosomes. J. Heredity 72: 62—63.
- (14) Stebbins, G. L., 1957: Variation and Evolution in Plants. Columbia University Press. 442—475.
- (15) _____, 1958: Longevity, habitat, and release of genetic variability in the higher plants. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 23: 365—378.
- (16) _____, 1971: Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London. 85—104.
- (17) Toda, Y., 1980: On the karyotype of *Cryptomeria japonica* D. Don (V) *Cryptomeria japonica* D. Don in Kyushi (1). J. Jap. For. Soc. 62 (7): 264—269.

CYTOTOLOGICAL STUDY ON GLYPTOSTROBUS PENSLIS KOCHE (TAXODIACEAE)

Li Lin-chu

(Department of Biology, Futan University)

Abstract The present paper deals with the cytological study on *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch (Taxodiaceae), which is a timber tree endemic to China. The number of somatic chromosomes in seed's root-tip cell has been found to be $2n=22$, which all have metacentric centromeres. According to the terminology defined by Levan et al.^[11], the karyotype formula is $K(2n)=22=22m$, that belongs to "1A" of Stebbins' ^[15, 16] karyotypic symmetry and is generally regarded as a rather primitive one. In the light of the method of Kuo et al.^[10], the species' chromosome complement based on relative length is $2n=22=2L+4M_2+16M_1$. Among these chromosomes, the size of number 1 is large(L), 2—3 and 4—11 are medium large (M_2) and medium small (M_1) respectively. The measurements in microns of the chromosomes are given in Table 1. The photomicrograph of the chromosome complement and idiogram of the karyotype are given in Fig. 1 and Fig. 2. It is a character of the karyotype that there is a long kinetochore region on chromosome 8 (Fig. 1, 2). The volume of the somatic complement

is $202.52 \mu^3$ (Table 2).

Although *Metasequoia glyptostroboides*^[1] and *Cryptomeria fortunei*^[2] have the same of "1A" type of karyotypic symmetry as *G. pensilis*, the differences of their chromosome complements based on relative length, relative lengthes between the longest and the shortest chromosomes and the ratios of the longest chromosome to the shortest (Table 3) have shown that the karyotype of *M. glyptostroboides* is the most asymmetric one and it seems more advanced than that of the other two, that are much similar with each other. The present author suggests that the sequence of evolutionary level from primitive to progress would be (*C. fortunei*, *G. pensilis*), *M. glyptostroboides*.

Key Words *Glyptostrobus pensilis*; Karyotype; chromosome volume