

串叶松香草 Giemsa C 带 和染色中心研究

熊治廷 陈心启

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学
开放研究实验室, 北京 100093)

袁 萍

(中国科学院武汉植物研究所,
武汉 430074)

提 要 以Giemsa C带技术处理串叶松香草根尖细胞染色体($2n=14$), 全部着丝点及第5和第7对染色体短臂端部显稳定的C带, 第6对染色体长臂有两条明显的居间带, 其他居间带小而不稳定(重复率不高)。间期细胞核染色体呈Rable构型, 其着丝点一极最多出现20个染色中心。统计分析表明, 靠近着丝点的短臂端带区和居间带区异染色质有易与着丝点区异染色质融合的倾向。分裂中期Giemsa C带数目与间期染色中心数目存在数量对应关系。

关键词 串叶松香草; Giemsa C带; 染色中心

异染色质存在于绝大多数真核生物染色体, 经Giemsa C带技术处理后, 在有丝分裂期和间期分别表现为C带和染色中心。C带与染色中心的这种对应关系为染色质在细胞核中的有序空间构型理论提供了一项有力的检测手段^[1]。Tanaka等依染色中心对间期核类型做过系统的研究^[2]。但是, 关于C带数目与染色中心数目之间的定量关系尚未见详细的专门报道。本文报道串叶松香草Giemsa C带显带结果, 并从统计学角度讨论C带与染色中心的定量关系。

1 材料与方法

1.1 材料

当年收获的串叶松香草(*Silphium perfoliatum*)种子经自来水浸泡后置于培养箱内萌发, 取初生根尖进行细胞学制片。

1.2 细胞学制片及Giemsa C带处理

按常规压片法制片。初生根长至1厘米左右时, 切取0.5厘米长的根尖, 以饱和对二氯苯水溶液预处理2—3小时。水洗后以卡诺液(3:1)固定18小时左右, 换入70%酒精置于冰箱内(约6℃)保存备用。制片时取保存根尖, 先后在50%酒精和蒸馏水中各停留3—5分钟。以0.2mol HCl水解15分钟左右, 继之以45%醋酸软化40—90分钟。45%醋酸压片, 50%酒精脱片。弃去载片, 盖片继之以95%和100%酒精脱水各30分钟左右。制片置于干燥器内气干3天以上。

取上述细胞学制片在50℃温度下以0.2mol HCl处理4—5分钟, 水洗30分钟后以

8% Ba(OH)₂ (50℃) 处理35分钟, 水洗约30分钟。2SSC复性处理3小时(60℃)。水洗后以1/25 Giemsa (1/15 mol Sorenson磷酸缓冲液稀释, pH6.8) 染色2—3小时。短暂水洗后空气干燥48小时以上。二甲苯透明2小时, 中性树脂封片, 镜检, 照相。

2 结果与讨论

2.1 Giemsa C带带型

染色体编号同文献[3]和[4]。Giemsa C带模式图示于图1。

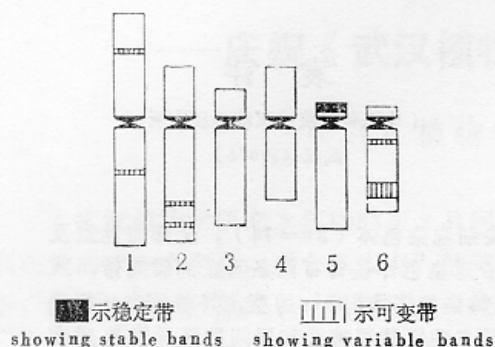


图1 串叶松香草染色体Giemsa C带模式图
Fig.1 Schematic representation of Giemsa C bands of haploid chromosome set of *Silphium perfoliatum*

C带命名规则如下: 带名前部数字为C带所在染色体的编号; 中部字母为染色体区域(c—着丝点区;p—短臂区;q—长臂区); 后部数字为C带编号, 顺序从着丝点到端粒方向按自然数递增, 若同一臂上只有一条带, 则该带名后部编号可省略。据此, 图1中的15条带可命名如下:

着丝点带: xc (x=1, 2, ..., 7);

端带: 5p, 7p;

居间带: 1q, 1p, 2q1, 2q2, 6q1, 6q2。

每一带名可有一对同源C带。

由图版I可见, 每条染色体都出现着丝点带, 一个分裂相总共有14条着丝点C带。

不同染色体着丝点带外形大致相似, 横纹状或圆点状, 深染。着丝点带很稳定, 在显带处理适当的分裂相中, 通常都能显示14条着丝点带。端带5p和7p的外形同着丝点带, 一般亦很稳定, 在一个分裂相中, 共有4条端带。居间带可分为三类。第一类居间带出现频率较高, 但带纹较小, 在显带处理较强的分裂相中, 明显小于着丝点带和端带, 这类居间带只有6q1; 第二类居间带带纹很大, 外形同着丝点带和端带, 有时甚至较之更大, 但出现频率不高, 这类居间带只有6q2; 第三类居间带带纹很小, 而且出现频率很低, 包括1q, 1p, 2q1, 2q2。在15条带中, 从带型大小和出现频率高低来说, 只有7条着丝点带, 2条端带和2条居间带(6q1和6q2)较为重要, 在一个分裂相中形成11对(22条)同源带。

有趣的是, 本文的C带带谱与同种染色体经银染色后所显示的带谱有高度对应关系。经银染后^[4], 亦出现着丝点带, 5p和7p端带以及1q, 2q2和6q1居间带。张自立等^[5]在硬粒小麦、黑麦和大麦染色体上也观察到类似的现象。其细胞化学反应机理有待于深入研究。

2.2 间期核染色中心数目变化特征

染色体在细胞周期中保持着Rable构型(见图版I)。根据C带—染色中心对应关系, 串叶松香草间期核着丝点一极的最高染色中心数目应当等于20; 对应于14条着丝点带, 4条端带及2条出现频率很高的居间带6q1。6q2出现在第6对染色体远着丝点端, 在间期核中应出现在与着丝点极相对的另一极(比较图版I: E中的两个箭头所指)。但是, 有的在间期细胞核的极面观或近极面观仍可见到22个染色中心(图版I: G)。

由于染色中心融合或不稳定,理论上着丝点极的染色中心数目常会少于20个。如果数目减少是随机的,其数目减少的分布可用泊松分布描述;若非随机,则可以通过 χ^2 检验实际观测值与理论预期值之间的差异显著性程度予以确定。

设任一给定间期核中染色中心减少的数目为一随机变量, n 个这类间期核的染色中心减少数目的概率分布符合泊松随机分布(其密度函数可以在概率统计书中查到)。本实验共观测了812个(来自8个根尖制片)能将6q2准确区分开的间期核染色中心数目,其数目分布与按泊松分布计算的理论随机分布同示于图2。经 χ^2 检验证明,观测值与理论值之间差异高度显著($\alpha=0.001$),即染色中心实际观测数目的减少不是随机的。根据图2,染色中心数目减少的观测值众数为6,平均数为7.5,即在所考虑的情形中(最多20个染色中心),具有14($=20-6$)个染色中心的间期核出现频率最高,平均染色中心数为12.5($=20-7.5$)个。

根据图2,在所考虑的情形中,间期染色中心众数为14,恰好等于中期染色体着丝点C带数目。既然染色中心数目减少不是随机的,这两个数目相等也可能不是巧合。5p、7p和6q1由于与其各自染色体着丝点距离很近,易于与着丝点C带区异染色质融合而形成14个染色中心。因此,染色中心众数实际上反映着丝点C带数目。5p、7p及6q1 C带异染色质的这种可能因空间位置关系而产生的与着丝点异染色质易融合性,即是图2中观测值与理论预期值差异显著的原因。另外,染色中心分布的这种数字特征意味着,同源染色体着丝点异染色质之间的融合倾向并不大于非同源染色体之间的融合倾向。如果我们假定异染色质融合频率与参加融合的异染色质组分之间的空间距离有关,那么上述结果表明,在间期核中,非同源染色体之间的空间距离并不大于同源染色体之间的距离。这一点在有丝分裂中期染色体的二维空间分布上已得到证实^[8]。

串叶松香草染色体组有4条NOR染色体,NOR位于第5和第7对染色体短臂端部^[4],本文的5p和7p C带区实际上是与NOR关联的异染色质区。染色中心平均数小于众数,可以从5p和7p之间因间期核仁融合导致其非随机性融合得到解释。银染研究表明,串叶松香草间期核出现1至4个核仁^[4]。因此,从理论上说,其染色中心平均数应介于11(4条端带因核仁融合形成一个染色中心,同时4条相关染色体的着丝点异染色质也融合入该染色中心)和14之间(不发生核仁融合),本文的统计观测结果为12.5,与理论

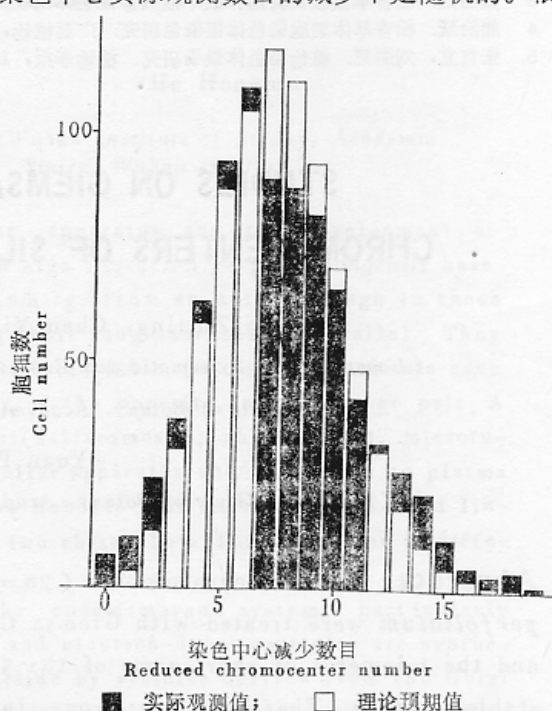


图2 串叶松香草间期核染色中心数目减少的频数分布

Fig.2 Observed (■) and expected (□) distributions of reduced chromocenter numbers in interphase nuclei of *S. perfoliatum*

上推断的结果很相符。

综上所述,我们可以得出结论,串叶松香草有丝分裂中期染色体 Giemsa C 带数目与间期染色中心数目之间存在着一致的定量对应关系。

主要参考文献

- 1 熊治廷. 真核生物体细胞染色体的空间排列. 武汉植物学研究, 1989, 7(2): 189—200
- 2 Tanaka R. The karyotype theory and wide crossing as an example in Orchidaceae. In: Plant Chromosome Research(ed. Hong Deyuan). Nishiki Hiroshima Japan, 1987
- 3 熊治廷. 松香草核型及有丝分裂中期同源染色体随机排列. 遗传, 1989, 11(4): 5—8
- 4 熊治廷. 松香草体细胞染色体银染色研究. 广西植物, 1990, 10(3): 211—213
- 5 张自立, 刘丽慧. 植物染色体银染研究. 植物学报, 1989, 31(8): 647—649

STUDIES ON GIEMSA C-BANDS AND CHROMOCENTERS OF *SILPHIUM PERFOLIATUM*

Xiong Zhiting, Chen Xinqi (Chen Singchi)

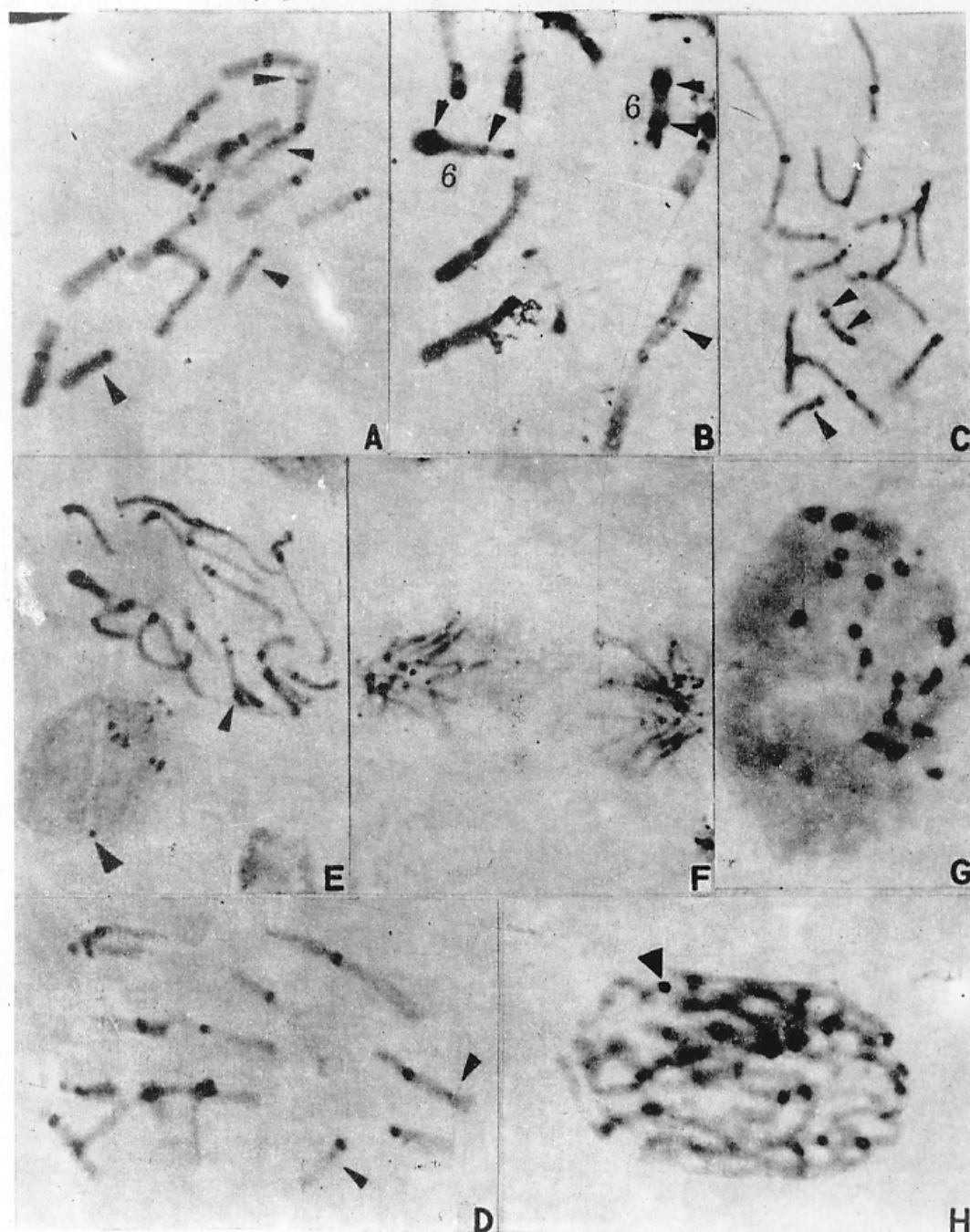
(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, and Herbarium,
Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing 100093)

Yuan Ping

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica, Wuhan 430074)

Abstract Somatic chromosomes ($2n=14$) of root-tip cells of *Silphium perfoliatum* were treated with Giemsa C-banding procedure. All centromeres and the telomeres of short arms of the 5th and the 7th chromosomes have stable C-bands. There are two strong intercalary C-bands on the long arms of the 6th chromosomes, and other intercalary bands are weak and very unstable. A chromosome complement in interphase nuclei arranges in a well-known Rable configuration. On the polar where centromeres assemble in interphase nuclei have 20 chromocenters maximally. Statistical analysis reveals, by counting chromocenter number, that the heterochromatin fusion in interphase is non-random. The heterochromatin at the short arm telomeres of the 5th and the 7th chromosomes as well as one of the two intercalary bands on the long arm of the 6th chromosomes which are all located near the centromeres, have a tendency to fuse with the centromere heterochromatin. The maximal number of chromocenters on the centromere-assembled polar of an interphase nucleus is equal to the number of C-bands of a metaphase chromosome complement.

Key words *Silphium perfoliatum*; Giemsa C-band; Chromocenter



A, B, C 和 D. 中期染色体 C 带, 箭头示居间带。A. ($\times 1450$) 1q, 1p, 2q2, 6q1; B. ($\times 1830$, 部分细胞) 1q, 6q1, 6q2; C. ($\times 1500$) 6q1, 6q2; D. ($\times 1740$) 2q1, 6q1; E. ($\times 1170$) 早中期染色体和间期核, 箭头示 6q2; F. ($\times 1030$) 有丝分裂后期; G. ($\times 2310$) 间期核, 示 22 个染色中心; H. ($\times 1500$) 有丝分裂前期, 箭头示 6q2

A, B, C and D. C-bands of metaphase chromosomes, arrows showing intercalary bands. A. ($\times 1450$) 1q, 1p, 2q2, 6q1; B. ($\times 1830$, a partial cell) 1q, 6q1, 6q2; C. ($\times 1500$) 6q1, 6q2; D. ($\times 1740$) 2q1, 6q1; E. ($\times 1170$) early metaphase chromosomes and an interphase nucleus, arrows showing 6q2; F. ($\times 1030$) mitosis anaphase; G. ($\times 2310$) an interphase nucleus, showing 22 chromocenters; H. ($\times 1500$) mitosis prephase chromosomes, arrow showing 6q2