

四棱豆的核型和 G-带带型研究

余朝文

宋运淳 刘立华

(怀化师范高等专科学校生物系 湖南怀化 418008) (武汉大学生命科学院 武汉 430072)

提 要 用改良 ASG 法在四棱豆 *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC 有丝分裂中期,染色体全长显示了密切邻近的多重 G-带带纹,并进行了核型和 G-带带型分析。核型公式为 $2n=18=4m+14sm(2SAT)$,核型类型为 2 B。G-带带型分析表明,同源染色体的带纹数目、分布位置、染色深浅基本一致,可以较准确地进行配对;非同源染色体的带型有明显差异,可以准确区分。讨论了改良 ASG 法在核型分析和 G-显带中的应用,以及 G-带的多态性问题。

关键词 四棱豆, 染色体, 核型, G-带

四棱豆 *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC 是食用豆类作物之一,又名翼豆,为蝶形花亚科四棱豆属的多年生草本植物。其种子、块根、嫩荚、花、茎、叶均可食用,种子中蛋白质和脂肪含量不论是数量还是质量均可与大豆媲美^[1],微量元素和必需氨基酸的含量比大豆还丰富^[2],具有重要的开发利用价值。因此,近年来对四棱豆的基础和应用研究日益受到重视。四棱豆的核型研究已有个别的报道^[3],但是它的染色体带型分析,据我们所知,仍旧是空白的。G-显带是细胞遗传学研究中应用价值最高的显带方式。植物染色体 G-带在我国已经获得了较好的发展,已在 20 多种植物上显示了 G-带^[4],所采用的方法多种多样^[4]。我们用效果稳定、显带质量高的 G-显带的改良 ASG 法,在四棱豆有丝分裂中期染色体上首次显示出了清晰的 G-带,并进行了带型分析;观察到用 ASG G-显带方法加长染色时间,可以得到随体和着丝粒的分辨力更高的核型;因而我们还用这一方法做了四棱豆核型的研究,以获得更为精确可靠的核型资料。

1 材料与方法

供试材料四棱豆由湖南怀化师范高等专科学校生物系陈东明老师提供。制片和 G-显带程序按宋运淳等^[5]的改良 ASG 法稍加修改。

种子置 25℃ 发芽,待主根长至 2.0~3.0 cm 时,去掉分生区,诱发侧根生长。切取侧根根尖,用 0.075 mol/L KCl 低渗 30 min,甲醇:冰醋酸(3:1)固定 2~3 h。水洗 30 min,

收稿日:1996-08-27,修回日:1997-08-04。第一作者:男,33岁,副教授,现从事遗传学教学和研究,研究方向为植物细胞遗传学。

用 2%纤维素酶和 2%果胶酶(1 : 1)混合酶液酶解 2.5~3.0 h,用重蒸水后低渗 30 min,再转入固定液,置于冰箱(约 4 C)过夜。火焰干燥法制片。新鲜制片置于 60 C 的 2XSSC 中处理 1 h,随即用 pH6.8、40 : 1 的 Giemsa 染液染色 35 min。核型分析是将制片直接用 pH6.8、40 : 1 的 Giemsa 染液染色 1 h。镜检照相。

核型分析按李懋学等^[6]的标准进行。

2 结果与分析

2.1 间期核特征

制片无论是否经 2XSSC 处理,Giemsa 染色后,四棱豆每个间期核都具有许多染色很深、形状不规则,扩散分布于整个核的染色中心(图版 I:A)。采用盐酸解离材料,压片法制片,改良苯酚品红染色,也观察到同样的结果。按田中隆庄的分类^[7],四棱豆的间期核属于复杂染色中心型。

2.2 核型

四棱豆的染色体数目为 $2n=18$ 。染色体参数列于表 1 中。染色体形态、核型见图版 I:C,D。模式图见图 1。

由表 1 看出,四棱豆的核型公式为 $2n=18=4m+14sm(2SAT)$ 。其中第 6、8 对染色体为中部着丝粒染色体,其余 7 对为近中部着丝粒染色体。第 7 对染色体具有随体,其次缢痕位于染色体的亚中部,与着丝粒相距很近,其间为一小片段相隔,次缢痕至端粒的臂很长(图版 I:B,C)。这与百合、蒜等植物相似,具有“小体-连接丝-大随体”结构^[7]。染色体相对长度变异范围是 14.80%~7.39%。染色体绝对长度变化范围是 5.33~2.52 μm 。因材料未经预处理,因此这是四棱豆中期染色体的实际长度。最长和最短染色体的比值为 2.00,臂比大于 2 : 1 的染色体占 0.22,因此其核型类型是 2 B 型。

2.3 G-带带型

图版 I:B 是四棱豆根尖细胞 G-显带有丝分裂中期相。可以看出,每条染色体的长臂、短臂和随体染色体的随体都显示了多重的密切邻近 G-带带纹。带纹有粗有细,染色有深有浅,分布有疏有密。各染色体的长臂、短臂近着丝粒处均有深染的粗带;端粒处则多数具深带,少数具浅带。图版 I:E 是根据 G-带带型和染色体形态特征排列的中期染色体 G-显带核型,其模式图见图 1,带纹数目分布见表 2。可以看出,同源染色体的带型(即带纹数目、大小和分布)基本一致,可以准确配对;而非同源染色体的带型却明显不同。例如,第 1 对和第 2 对染色体、第 4 对和第 5 对染色体彼此间相对长度接近,但带纹数目有差异,前两者的差异在长臂,后两者的差异在短臂。此外它们彼此间带纹的大小和分布也各不相同。又如,第 3 对染色体短臂的相对长度较第 5 对的长,但它只有 2 条带纹,后者却有 3 条带纹。可见,根据非同源染色体 G-带带型的不同,可将它们准确区分。

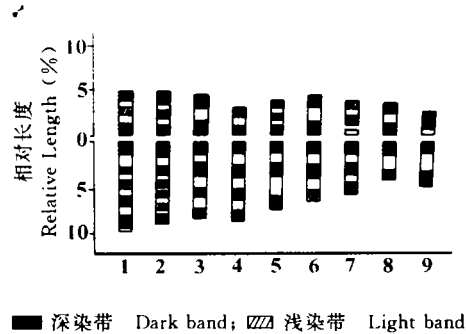


图 1 四棱豆 G-显带核型模式图
Fig.1 Idiogram of G banded karyotypes in *P. tetragonolobus*

表 1 四棱豆染色体相对长度、臂比和类型
Table 1 The relative length, arm ratio and type
of chromosomes in *P. tetragonolobus*

编号 No.	相对长度(%) Relative length	臂比 Arm ratio L/S	类型 Type
	L+S=T		
1	9.98+4.82=14.80	2.07	sm
2	9.19+4.88=14.07	1.88	sm
3	8.43+4.55=12.98	1.85	sm
4	8.55+3.16=11.71	2.71	sm
5	7.48+3.89=11.37	1.92	sm
6	6.59+4.37=10.96	1.51	m
7	5.85+3.11=8.96	1.88	sm*
8	4.23+3.52=7.75	1.20	m
9	4.79+2.60=7.39	1.84	sm

* 随体染色体,随体长度计在染色体长度内。
* Sat-chromosome, the length of satellite is included in the chromosome.

表 2 四棱豆单倍染色体组 G-带带纹数目分布
Table 2 Distribution of numbers of G-bands
of haploid chromosome set in *P. tetragonolobus*

染色体编号 No. of chromosome	带纹数目 Band number		合计 Total
	S*	L*	
1	3	5	8
2	3	6	9
3	2	4	6
4	2	4	6
5	3	3	6
6	2	3	5
7	2**	3	5
8	2	2	4
9	1	2	3
总计 Grand total	20	32	52

* S 代表短臂, L 代表长臂。 ** 是随体上的带数。
* The short and long arms of each chromosome were designated S and L.
** It was the band number in satellite.

3 讨论

用我们的方法获得的核型分析结果与已报道的用常规方法获得的核型分析资料^[3]有所不同。我们的结果表明,四棱豆第 6、8 对染色体为中部着丝粒染色体,第 7 对染色体具有随体,而且是“小体—连接丝—大随体”结构。而以前的报道认为^[3],四棱豆第 5、7、8 对染色体为中部着丝粒染色体,没有随体。造成差异的主要原因是,在我们的方法中用纤维素酶和果胶酶处理,促进了初级与次级缢痕区的分化染色。因为已经证明纤维素酶和果胶酶中都混杂有 DNase 和蛋白酶^[8]。此外,过去的研究对材料进行了较长时间的预处理,致使中期染色体过度凝缩,次缢痕及着丝粒难以分辨,因此臂比不能准确测定,随体也无法分辨。我们认为,对于小染色体植物,不进行预处理或仅进行短时间预处理,有利于染色体形态的保持和中期染色体绝对长度的测量,使核型分析更加准确。不经预处理的材料通过前低渗和后低渗处理,染色体很分散,形态也好。因此用于 G-显带的改良 ASG 法制片程序,也是一种很有效的核型分析制片程序。

G-带带型表现有多态性,在已用 ASG 法研究的杉木^[9]、玉米^[10]、水稻^[11]、大麦^[12]、高粱^[13]等植物中都观察到品种间 G-带数目的差异;在玉米^[10]和高粱^[13]中,两个自交系的 F₁ 杂种中还存在同源染色体两成员间 G-带数目的差异。供试材料四棱豆同源染色体间的 G-带数目完全一致,我们认为这从 G-带带型上反映了四棱豆由于长期自花授粉而形成了遗传上纯度相对较高的特点。不同的自花授粉的栽培大麦、栽培水稻在 G-带带型上都具有这样的特点。四棱豆品种间 G-带是否存在多态,还有待用更多的品种进一步研究。

G-显带的改良 ASG 法已成功地应用于裸子植物^[9]和被子植物的禾本科^[5,8,10~13]、十字花科^[14]植物。我们用这一方法又成功地在豆科植物四棱豆有丝分裂染色体上显示了清晰的 G-带,这是豆科植物的首例报道。可见改良 ASG 法也是适于豆科植物 G-显带的一种有效方法,将成为豆科植物细胞遗传学研究的重要工具。

参 考 文 献

- 1 傅翠真,王佩芝. 四棱豆的营养价值及利用前景. 作物杂志, 1994(5): 37~38
- 2 邹国林,陈东明. 四棱豆与大豆营养成分分析. 中国油料, 1989(2): 66~67
- 3 利容千. 中国蔬菜植物核型研究. 武汉: 武汉大学出版社, 1989. 89~90
- 4 张宝红,丰山荣. 植物染色体 G-带的研究进展. 植物学通报, 1993, 10(1): 27~31
- 5 宋运淳,刘立华,谭晓岚. 玉米染色体 G-带的 ASG 法显带研究. 遗传学报, 1987, 14(6): 424~427
- 6 李懋学,陈瑞阳. 关于植物染色体核型分析的标准化问题. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297~302
- 7 李懋学,张敦方. 植物染色体研究技术. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1991
- 8 Song Y C, Liu L H, Ding Y *et al.* Comparisons of G-banding patterns in six species of Poaceae. *Hereditas*, 1994, 121: 31~38
- 9 李占林,宋运淳,刘立德. 杉木染色体 G-带研究. 林业科学, 1990, 26(5): 452~455
- 10 宋运淳,刘立华. 玉米染色体 G-带带型研究. 遗传学报, 1990, 17(4): 282~288
- 11 姚青,宋运淳,刘立华. 水稻染色体 G-带的研究. 遗传学报, 1990, 17(4): 301~307
- 12 丁毅,宋运淳. 大麦 G-显带核型研究. 植物学报, 1989, 31(9): 684~688
- 13 贺昌锐,宋运淳,刘立华. 高粱三系及其杂交 F₁ G-显带核型的比较研究. 遗传学报, 1995, 22(5): 400~405
- 14 曹家树,曹寿椿,宋运淳. 芸苔类蔬菜($n=10$)染色体 G-显带研究. 园艺学报, 1994, 21(3): 257~263

STUDIES ON KARYOTYPE AND G-BANDING PATTERNS IN *PSOPHOCARPUS* *TETRAGONOLOBUS* (L.) DC

She Chaowen

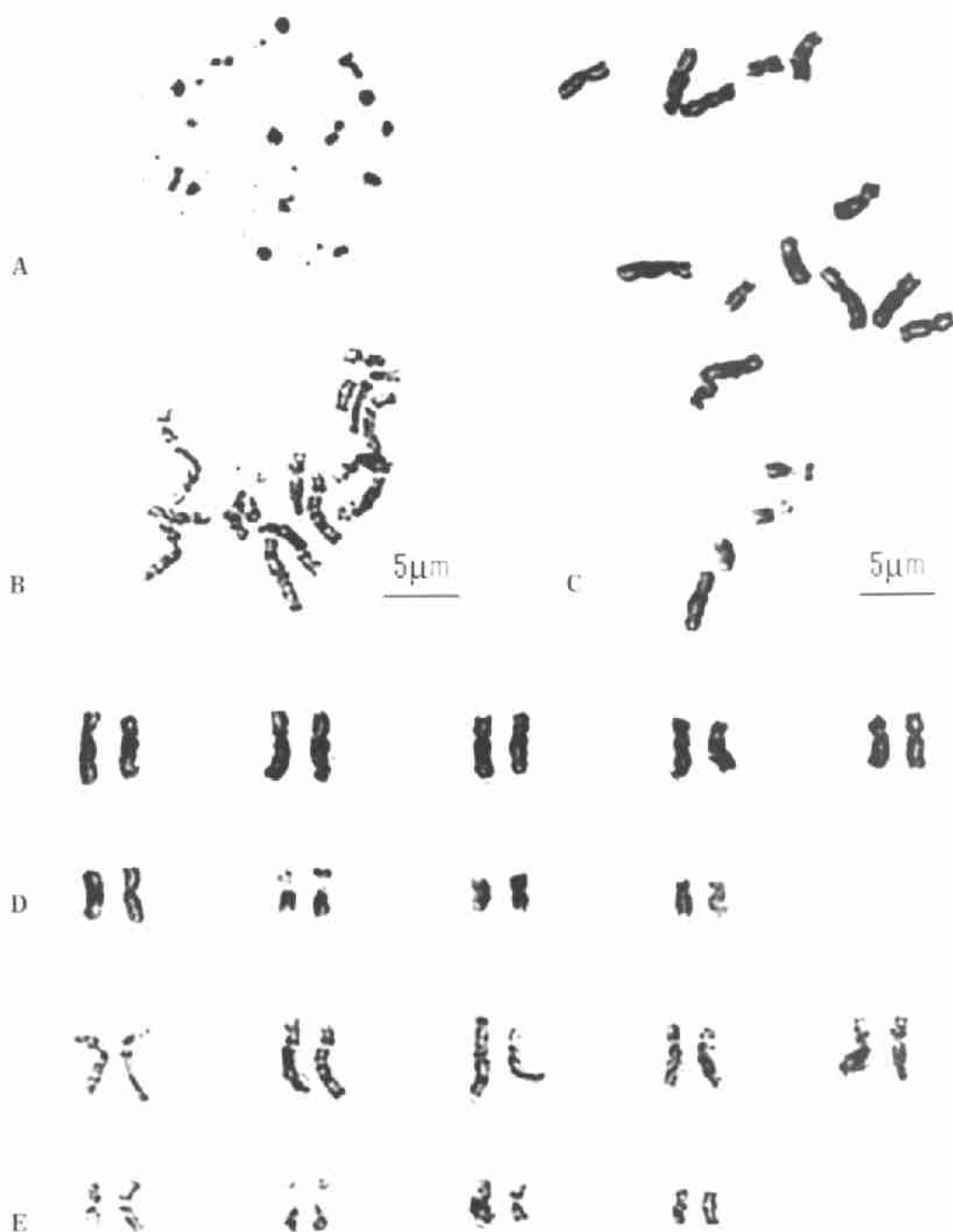
Song Yunchun Liu Lihua

(Huaihua Teachers' College
Huaihua, Hunan 418008)

(College of Life Science, Wuhan University
Wuhan 430072)

Abstract Clear G-bands which were closely adjacent, multiple and distributed along the chromosomes were showed in the mitotic metaphase chromosomes of *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC by the advanced ASG method. The karyotype and G-banding patterns were analysed. Its karyotype formula is $2n = 18 = 4m + 14sm(2SAT)$, and karyotype asymmetry belongs to 2 B type. The number, position of distribution, staining degree of G-bands between homologous chromosomes are basically identical; but nonhomologous chromosomes are distinct in G-band patterns. So chromosome pairing for karyotype analysis could be carried out more accurately and nonhomologous chromosomes could be distinguished easily. The application of the advanced ASG method in karyotype analysis and G-banding and the polymorphisms of G-band patterns are discussed.

Key words *Psophocarpus tetragonolobus*, Chromosome, Karyotype, G-band



A. 间期核；B. G-显带有丝分裂中期染色体；C. 有丝分裂中期染色体；D. 染色体核型；E. G-显带中期核型

A. Interphase; B. G-banded mitotic metaphase chromosomes; C. Mitotic metaphase chromosomes; D. Karyotype; E. G-banded metaphase karyotype