

关于植物核型分析的标准化问题

李懋学

陈瑞阳

(北京大学生物系)

(南开大学生物系)

关键词: 核型分析; 核型模式图; 核型公式; C-带带型; 标准化

近年, 我国的植物染色体研究工作, 进展较快, 并取得了显著的成绩。但在研究工作中仍存在一个迫切需要解决的问题, 即核型分析的标准化问题。由于国际上尚无植物核型分析的共同标准, 因此, 有关染色体的统计、测量、命名、图表格式等等, 各人所采用的方法和标准也不尽相同。这种状况, 对核型资料的比较分析以及对研究结果的评价, 都带来不便。有鉴于此, 1984年8月在辽宁兴城召开的第一届全国植物染色体学术讨论会上, 李懋学和陈瑞阳联名作了“关于植物核型分析的标准化问题”的报告, 经过与会代表的充分讨论, 现根据大多数代表的意见, 修改整理如下。需要说明的是, 这是大家约定的标准, 并非具约束力的法规, 仅供国内有关工作者参考。

一、核型分析

(一) 染色体数目

一般以体细胞染色体数目为准。减数分裂细胞, 由于价体分析难以保证准确, 所以, 除苔藓和蕨类等因材料所限而用减数分裂细胞计数染色体外, 其他则一般只宜作为辅助计数材料。统计的细胞数目应在30个以上。其中85%以上的细胞具恒定一致的染色体数, 即可认为是该植物的染色体数目。如果观察材料系混倍体, 则应如实记录其染色体数的变异范围和各类细胞的数量或百分比。

(二) 染色体形态

作为核型分析的染色体, 一般以体细胞分裂中期的染色体作为基本形态。此外, 如果减数分裂粗线期的染色体分散良好, 着丝点清晰者, 也可用作核型分析。

1. 染色体长度

(1) 绝对长度(或实际长度): 均以微米表示。一般宜在放大的照片或图象上进行测量, 然后按下式换算:

$$\frac{\text{放大的染色体长度(毫米)}}{\text{放大倍数}} \times 1000$$

绝对长度值只在某些情况下有相对的比较价值,在许多情况下,它不是一个可靠的比较数值。由于预处理条件和染色体缩短的程度不同,所以,即使同一种植物,不同作者所测得的绝对长度值,也往往有明显差异,这是无法避免的。但是,相对长度值则是稳定的可比较的数值。在近年国内外多数核型研究的文献中,往往只用相对长度值,这种简化是可取的。

(2) 相对长度:均以百分比表示。计算相对长度值的方法,在过去的文献中也有多种公式,现以Levan(1964)的公式为准。即:

$$\frac{\text{染色体长度}}{\text{染色体组总长度}} \times 100$$

(3) 染色体长度比:这是指核型中最长染色体与最短染色体的比值。即:

$$\frac{\text{最长染色体长度}}{\text{最短染色体长度}}$$

在Stebbins(1971)的核型分类系统中,它是衡量核型对称或不对称的两个主要指标之一。

2. 臂比:其计算公式如下:

$$\frac{\text{长臂}}{\text{短臂}}$$

3. 着丝点位置:以上述臂比值确定。参照Levan等人(1964)的命名,经过讨论,略加改动,即均取用小数点后两位数值,以便严格区分,如下所示:

臂比值	着丝点位置	简写
1.00	正中着丝点(median point)	M
1.01—1.70	中部着丝点区(median region)	m
1.71—3.00	近中部着丝点区(submedian region)	sm
3.01—7.00	近端着丝点区(subterminal region)	st
7.01以上	端着丝点区(terminal region)	t
∞	端着丝点(terminal point)	T

此命名规则的特点是将染色体的一半长度分为两点四区,这四区是等分的。Levan等在分析了其他各种关于着丝点的命名法之后指出,这种命名法是比较合理的。现已为全世界广泛采用。此外,为了便于阅读文献时参考,下面把其他常用的着丝点命名法,如着丝点指数和长短臂差值与Levan等的命名规则对照列于表中(见299页)。

4. 臂指数或称 N.F. 值(number fundamental):即把具中部和近中部着丝点的“V”形染色体计算为两个臂;而把具近端和端着丝点的“J”或“I”形染色体计算为一个臂。以此来统计核型中的总臂数。

最后,关于模式核型应分析的细胞数目,从考虑实际的需要和工作量情况出发,经过讨论,一致同意以5个以上的细胞为准。这里要强调的是,核型分析的准确性,不仅要求分析一定数量的细胞,更要求有高质量的染色体图象,这是保证核型分析准确的基础。

着丝点位置	臂比值(r)	差 值 (d)	着丝点指数(i)
M	1.00	0.0	50.0
m	1.05	0.5	47.5
	1.22	1.0	45.0
	1.35	1.5	42.5
	1.50	2.0	40.0
	1.67	2.5	37.5
sm	1.86	3.0	35.0
	2.08	3.5	32.5
	2.33	4.0	30.0
	2.64	4.5	27.5
	3.00	5.0	25.0
st	3.44	5.5	22.5
	4.00	6.0	20.0
	4.71	6.5	17.5
	5.67	7.0	15.0
	7.00	7.5	12.5
t	9.00	8.0	10.0
	12.33	8.5	7.5
	19.00	9.0	5.0
T	∞	9.5	2.5
		10.0	0.0

注: 臂比 = $\frac{\text{长臂}}{\text{短臂}} (r = \frac{1}{s})$; 差值 = 长臂 - 短臂 ($d = 1 - s$, 染色体全长为10)

着丝点指数 = $\frac{\text{短臂}}{\text{染色体全长}} \times 100 (i = \frac{100s}{c})$ 。三者可按以下公式换算:

$$d = \frac{10(r-1)}{r+1}, \quad r = \frac{10+d}{10-d}, \quad i = \frac{100}{r+1} = 5(10-d).$$

(三) 核型的表述格式

1. 表格: 核型分析中各项测定的平均数值, 应列表报道, 列表内容要力求简明和实用, 其格式和项目如下:

××× 染色体相对长度、臂比和类型

序 号	相对长度(%)	臂 比	类 型
	(长臂+短臂=全长)	(长/短)	

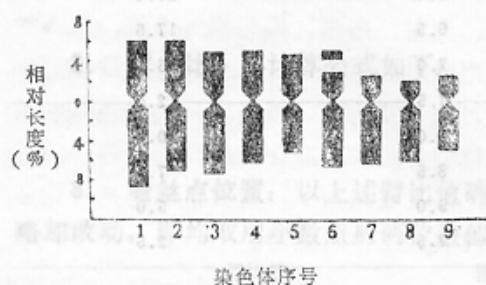
表中的染色体序号一律用阿拉伯字母, 相对长度和臂比值均取小数点后两位数。

染色体绝对长度值的变异范围、染色体长度比、核型类别(见下文)等, 在表下单独说明。

随体的长度是否计算,不作统一规定,不过都应在表下加以文字注明。具随体(或次缢痕)的染色体,在表中应以星号“*”标记。

2. 染色体序号:一律按染色体全长顺序编号。如两对染色体长度完全相等,则按短臂长度顺序排列,长者在短者排后。性染色体和B染色体一律排在最后。如为二倍核型(bimodal karyotype),如中国水仙、芦荟等植物,则长染色体群按 $L_{1,2} \dots$ 顺序排列,短染色体群按 $S_{1,2} \dots$ 顺序排列。对于象普通小麦等异源多倍体植物,其系统发生的亲本来源已清楚,则应根据其亲本的染色体组分别排列,如普通小麦即按A、B、D三组分别编号排列,而不是全部21对染色体统一顺序排列。如果核型中有差异明显而恒定的杂合染色体对时,则应分别测量每一成员的长度值和臂比值,分别列于表中,编号可任选其中一成员为准,并附加说明。

3. 模式照片:一般每种材料应附一张有代表性的中期染色体的完整照片。并标出一个以微米为长度单位的标尺,便于目测染色体大小。尽量少用放大倍数。



4. 核型图:将与模式照片同一细胞的染色体剪下,参照染色体长度和臂比值,进行同源染色体“配对”,然后按表格中的染色体序号顺序排列,此即为该细胞的核型图(karyogram)。

5. 核型模式图(idiogram):以表中所列各染色体的相对长度平均值绘制。构图有各种形式,现推荐一种较好的形式,如左图。

6. 核型公式:即综合核型分析的结果,将核型的主要特征以公式表示。它简明扼要,便于记忆和进行比较。例如:

芍药(*Paeonia lactiflora*): $2n = 2x = 10 = 6m + 2sm + 2st(SAT)$ 。

7. 核型分类:Stebbins(1971)参照生物界现有的核型资料,根据核型中染色体的长度比和臂比两项主要特征,用以区分核型的对称和不对称程度,并将其分为12种类型,如下表。

最长/最短	臂比大于 2:1 的染色体的百分比			
	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

该分类法在分析和讨论核型进化的一个方面,是有参考价值的,可作为核型表述的一项内容。

(四) 关于具小染色体的植物核型分析

所谓小染色体,是指其长度在2微米以下而又不易分辨着丝点的染色体。植物界中

具此类染色体的种类居多,有的整个属或甚至整个科均此。以往,这类植物所提供的唯一细胞学信息就是染色体数目。为了扩大核型研究的范围,对这类植物提供比单一的数目更多一些有用的核型信息,初步拟定从以下几个方面进行核型的分析和比较。

1. 染色体数目。
2. 具随体染色体的数目(如可见的话)。
3. 每对染色体的相对长度值。
4. 染色体长度比。
5. 如含有大小差别明显的染色体,可分大、小群分别统计其数量和长度,以及各自所占染色体组全长的百分比。

二、带型

植物染色体分带(chromosome banding)可分为两大类,即荧光分带和 Giemsa 分带。前者已很少应用,主要为后者。两种分带所显示的带纹也是基本上相同的。在 Giemsa 分带中,无论是用BSG法、HSG法、胰酶法……等,所显带纹均为结构异染色质(constitutive heterochromatin)统称为C一带。

1. C一带的类型:植物染色体的C一带,主要有以下5种类型。
 - (1). 着丝点带(centromeric band),即着丝点及其附近的带纹。
 - (2). 中间带(intercalary band),即分布在染色体两臂上的带纹。
 - (3). 末端带(telomere band),即位于染色体两臂末端的带纹。
 - (4). 核仁缢痕带(nucleolar constriction band),即位于核仁缢痕区(次缢痕区)的带纹。
 - (5). 随体带(satellite band),即随体显带。
2. 分带标准照片:一般应附一张染色体显带清晰而完整的标准照片。
3. 带型图:与核型图要求相同。
4. 带型模式图:即在核型模式图上标示带纹,一般以横的实线标示带纹的位置和大小,用虚线标示多态带或不稳定的带纹。模式图一般以标准照片所显带纹标示,不要求一定数量的细胞统计。在同一个个体的不同细胞间的带纹差异,可作为不稳定带处理;个体间或居群间的带纹差异,可作为多态带处理。如果有杂合带存在,则应把杂合的同源染色体的带纹同时绘出。
5. 描述:除非模式图不能完全表示而需文字描述加以说明者外,一般应避免逐对染色体的繁琐描述,因为它会使读者感到重复和得不到要领。最好进行必要的综合性描述,例如:在整个细胞中,各类带纹的数量;带型的主要特点或变异;每一染色体带纹总长度和它占整个染色体总长度的百分比;所有染色体带纹总长度占所存染色体总长度的百分比等。即既有带纹的数目和分布,又有异染色质(带纹)的定量分析,前者便于区分种间带型的差异,后者则便于探讨或阐明异染色质含量的多少与物种的进化关系。
6. 带型公式:以一定的符号表示带纹的类型和分布,则可将带型以简明的公式表示。上述5种类型的带纹,均分别以其英文大写字母表示,即C、I、T、N、S。

为表示中间带和末端带在染色体上的分布可用“+”表示,如果带只分布在短臂上,则在字母的右上角划“+”号(I+T+);如带只分布在长臂上,则在字母的右下角划“+”号(I+T+)II,不标明“+”号,表明长短臂上都有带。

同类染色体数目,以符号前的数字表示,不显带的染色体以数字表示。例如黑麦的C-带带型公式,可以写成:

$$2n = 14 = 2CT + 4CI + T + 6CI_+T + 2CI_+TN$$

三、凭证标本

除一般栽培植物外,其他植物则无论是只报道染色体数目,还是进行核型或分带研究,均需有凭证标本,并注明学名、采集地、采集者、标本鉴定人、凭证标本号和标本存放地点等。

最后,需要加以说明的是此次会议所讨论和约定的上述标准,是与当前国际上大多数作者所采用的标准是基本上一致的。但是,由于国际上尚无一个共同的标准,所以,以往和今后国外的有关文献,都有或可能有与本标准不一致之处,对此,我们应取分析的灵活态度,如与本标准基本相符,为便于与原作者的研究进行比较,可按原作者的格式。如差异较大而又不合理者则摒弃而采用本标准。如为首次报道则希望用本标准。那种过分强调应与前人工作保持标准一致而不问其是否合理的态度,是不可取的。因为照此处理,统一标准便无法推行,各行其是的混乱局面将延续下去。事实上,核型研究的历史也表明,随着科学的发展,核型的概念、内容、计算的要求和着丝点命名等等,也都曾有变动,使之更合理和更具科学性。我们也是本着这种精神商定本标准的,但是,不足或不妥当之处在所难免,希望全国从事植物染色体研究的工作者,通过自己的实践提出宝贵的意见。

A SUGGESTION ON THE STANDARDIZATION OF KARYOTYPE ANALYSIS IN PLANTS

Li Maoxue

Chen Ruiyang

(Department of Biology,
Beijing University)

(Department of Biology,
Nankai University)

Abstract

An analysis was proposed by the authors on the First China Symposium of Plant Chromosomes in 1984. The suggestion deals with karyotype analysis, expression of karyotype, karyotype formula, idiogram as well as description of C-banding pattern via symbols and formula. After being discussed and revised, it was accepted by a great majority of participants.

Key words: Karyotype analysis; Idiogram; Karyotype formula; C-banding pattern; Standardization