

鹅观草 (*Roegneria kamoji*) 的染色体 C带分析*

Analysis on Chromosome C-banding of *Roegneria kamoji*

杨瑞武 周永红** 郑有良**

Yang Ruiwu Zhou Yonghong Zheng Youliang

(四川农业大学基础部 四川雅安 625014)

(Department of Basic Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan, 625014, China)

摘要 利用改良的 Giemsa C带技术, 分析鹅观草 (*Roegneria kamoji*) 的染色体 C带带型。结果鹅观草根尖细胞染色体数目为 42, 其染色体的相对长度为 2.99% ~ 6.89%, 臂比 1.00~ 1.67, Giemsa C带核型是: $2n=6x=42=40m+2M$ 。不同染色体之间的 C带带型在带的数量、大小、强弱及位置等方面存在明显差异。认为 C带可作为鹅观草染色体的细胞学标记。

关键词 鹅观草 染色体 Giemsa C带 细胞学

中图法分类号 Q943

Abstract The Giemsa C-banding analysis of *Roegneria kamoji* is carried out by using an improved C-banding procedure. The karyotype formula is $2n=6x=42=40m+2M$. The relative length of chromosome is 2.99% to 6.89%, the arm ratio is 1.00 to 1.67. The C-banding patterns in number, size, dyeability and distribution among chromosomes are distinctively different. The C-banding pattern is regarded as a cytological marker of all chromosomes of *R. kamoji*.

Key words *Roegneria kamoji*, chromosome, Giemsa C-banding, cytology

鹅观草属 (*Roegneria* C. Koch) 是小麦族 (Triticeae Dumortier) 中植物种类最多的一个多年生大属。现知全世界约 130 余种, 主要分布于北半球的温寒地带^[1]。我国约 70 余种, 主要分布西北、西南和华北地区^[2-4]。该属植物的许多物种是具有较高经济价值的多年生优质牧草, 更重要的是, 该属植物丰富的遗传多样性为现在和将来的麦类作物育种提供了可以开

发利用的巨大基因库。

自 Giemsa C带技术应用于植物染色体研究以来, 该技术已广泛运用于物种染色体的核型分析^[5]、染色体的识别^[6]、物种的进化^[5]和外源染色体的检测^[7]等方面。

鹅观草 (*R. kamoji* Ohwi)^{***} 是小麦族鹅观草属的一种六倍体多年生禾草 ($2n=6x=42$), 广泛分布于中国、日本和朝鲜, 具有 StStHHYY 染色体组^[12]。鹅观草对潮湿气候具有很强的适应性, 对麦类植物赤霉病具有极高的抗性, 对麦类作物抗赤霉病育种具有重要的应用价值^[9]。本文分析鹅观草的 Giemsa C带, 旨在为麦类作物抗赤霉病育种中检测该植物的染色体积累 C带方面的细胞学资料。

1 材料与方法

1.1 材料

鹅观草 (编号为 88-89-288, 染色体组为 StStHHYY) 来源于浙江, 种植保存于四川农业大学小麦研究所多年生材料种质圃。

1.2 Giemsa C带方法

Giemsa C带采用任正隆等 (1995) 的方法^[13] (稍

2002-01-10 收稿, 2002-03-12 修回。

* 本研究得到四川省教育厅、科技厅科研项目资助。

** 四川农业大学小麦研究所 四川都江堰 611830 (Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan, Sichuan 611830, China)

*** 卢宝荣等 (1990)^[8] 建议将鹅观草 (*Roegneria kamoji* Ohwi) 处理为 *R. tsukushiensis* (Honda) B. R. Lu, Yen et J. L. Yang 的一个变种, 即 *R. tsukushiensis* (Honda) B. R. Lu, Yen et J. L. Yang var. *transiens* (Hack.) B. R. Lu, Yen et J. L. Yang。中国禾草学家耿以礼先生 (1963)^[2] 认为 *R. kamoji* Ohwi 与 *R. tsukushiensis* (Honda) B. R. Lu, Yen et J. L. Yang 具有明显的差异, *R. kamoji* Ohwi 应自成为一个独立种。郭本兆 (1987)^[3] 在《中国植物志》中仍沿用 *R. kamoji* Ohwi。蒋继明等 (1990)^[9]、周永红等 (1999a, 1999b)^[10, 11] 也仍沿用 *R. kamoji* Ohwi。本文仍习惯用 *Roegneria kamoji* Ohwi 作为鹅观草的学名。

有改动)。其基本过程如下:

1.2.1 材料制备: 种子在恒温 (22~ 24℃) 下发芽, 待根长至 1~ 1.5 cm 时, 取旺盛生长的幼根根尖用冰水混合物处理 24 h, 卡诺氏固定液 I (冰醋酸:酒精 = 3:1) 固定过夜, 在 4℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 制片: 固定后的根尖用 0.2 mol/L HCl 在室温 (22~ 24℃) 下解离 1~ 1.5 h, 再浸泡于 45% HAc 溶液中 20~ 30 min 根尖置于载玻片上, 切去根冠, 挤出分生组织, 在 45% HAc 中压片, 液氮揭片。自然干燥后, 用无水乙醇处理 1 h, 放入干燥器中保存 1~ 2 d

1.2.3 分带: 干燥后的制片在 60℃ 下经 0.2 mol/L HCl 处理 3 min, 在室温 20~ 23℃ 下用 Sigma 公司生产的 Ba(OH) 饱和溶液处理 7 min, 再用 2× SSC 溶液处理 15 min 后, 换入新鲜的 2× SSC 溶液, 放入水浴锅中, 加温至 52℃, 温育 1.5 h 用过滤后的 3% Giemsa 溶液 (溶于 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液) 染色至合适为止

1.3 带型分析

选取染色体带型好且较分散的细胞在 Olympus BH2 显微摄影相机上照相。在放大的相片上, 结合显微镜直接观察结果, 分析各染色体的 C 带带型特征。根据 5 个细胞中染色体带的情况, 绘制出带型图。

染色体的鉴别与排列参照 Morris & Gill (1987) 的标准^[14]进行。染色体相对长度和臂比的计算以及染色体类型的划分均参照李懋学等 (1991) 的方法和标准^[15]进行。

2 观察结果

2.1 鹅观草的 Giemsa C 带核型

鹅观草根尖细胞染色体数目为 42 其染色体的相对长度和臂比值列于表中。从表可见, 鹅观草染色体的相对长度为 2.99% ~ 6.89%, 臂比 1.00~ 1.67, 21 对染色体中, 除 2Y 染色体为正中部着丝粒染色体之外, 其余 20 对染色体均属于中部着丝粒染色体。核型公式为: $2n = 6x = 42 = 40m + 2M$

2.2 鹅观草的 Giemsa C 带带型分析

根尖细胞有丝分裂中期染色体的 Giemsa C 带核型见图 1 每条染色体可显示出 1~ 7 条带。染色体 1 St 除着丝粒带外, 长、短臂各有 3 条带, 所有带都较强。两臂均有末端带, 短臂还有中间带和近着丝粒带各 1 条; 长臂还有 1 条中间带。染色体 2 St 带型分布较对称, 两臂都具有近端带、中间带、近着丝粒带各 1 条, 近端带都是弱带, 长臂的中间带也是弱带, 其余为强带, 两臂的近着丝粒带与着丝粒带十分靠近, 好似形

成 1 条十分宽大的中部带。染色体 3 St 两臂均有强的末端带; 长臂还有 1 条较弱的近端带。染色体 4 St 短臂除弱的末端带外, 还有 1 条强大的近着丝粒带; 长臂仅有强的末端带。染色体 5 St 短臂的中间带相对十分宽大, 几乎占据了整个短臂; 着丝粒带与长臂的近着丝粒带靠得很近; 长臂还有 1 条较弱的近端带。染色体 6 St 短臂具有 1 条强的中间带; 着丝粒带相对较弱; 长

Table 1 Arm ratio and type of chromosomes of *R. kamoji*

染色体 Chromosomes	相对长度 Relative length (%)	臂比 Arm ratio (L/S)	类型 Type
1St	3.69- 3.20= 6.89	1.15	m
2St	3.62- 2.51= 6.13	1.44	m
3St	2.92- 2.02= 4.94	1.45	m
4St	2.51+ 2.23= 4.74	1.12	m
5St	2.44- 1.81= 4.25	1.35	m
6St	1.95- 1.39= 3.34	1.40	m
7St	2.37- 1.60= 3.97	1.48	m
1H	3.90- 2.78= 6.68	1.40	m
2H	3.34- 2.37= 5.71	1.41	m
3H	3.48- 2.09= 5.57	1.67	m
4H	3.34- 2.09= 5.43	1.60	m
5H	2.99- 2.23= 5.22	1.34	m
6H	3.06- 1.95= 5.01	1.57	m
7H	1.67- 1.60= 3.27	1.04	m
1Y	2.78- 1.60= 4.38	1.33	m
2Y	2.64- 2.64= 5.28	1.00	M
3Y	2.78- 1.88= 4.66	1.48	m
4Y	2.51+ 1.95= 4.46	1.29	m
5Y	1.67- 1.39= 3.06	1.20	m
6Y	2.16- 1.39= 3.55	1.55	m
7Y	1.74+ 1.25= 2.99	1.39	m

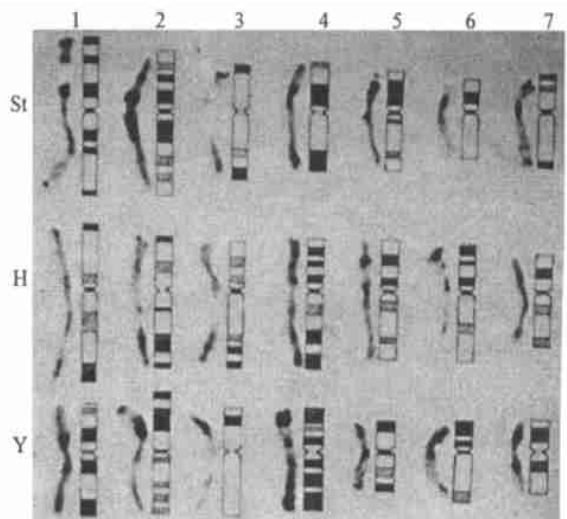


图 1 鹅观草的染色体 Giemsa C 带核型

Fig. 1 Giemsa C-banding karyotype of *R. kamoji*

臂上无带。染色体 7St 两臂均有较强的末端带,短臂还有 1 条弱的近端带;着丝粒带十分明显。染色体 1H 长、短臂均有较强的末端带,短臂还有 1 条弱的近着丝粒带;长臂还有 1 条弱的中间带;着丝粒带相对也较弱。染色体 2H 除两臂的较强末端带外,短臂还有 1 条弱的中间带;长臂还有 1 条较强而细小的中间带和 1 条强大的近端带。染色体 3H 短臂上具有 1 条弱的中间带和 1 条弱的近着丝粒带;着丝粒带着色较浅;长臂上具有 1 弱 1 强的近端带和强的末端带。染色体 4H 短臂上具有近端带、中间带和近着丝粒带各 1 条,1 条都是强带;着丝粒带相对较弱;长臂的中间带 弱 强,末端带为强带。染色体 5H 两臂上的带呈对称分布。短臂上的近端带和近着丝粒带为强带;而长臂上的近着丝粒带和近端带为弱带,短臂的近着丝粒带与着丝粒带呈“愈合”现象。染色体 6H 短臂上具有明显的末端带,紧接其后的是 1 条较细小的近端带,近着丝粒带也与着丝粒带“愈合”在一起而不易分开;长臂上仅有 1 条弱的中间带。染色体 7H 短臂具有 1 条稍强的中间带;着丝粒带明显;长臂上具有 1 条较弱的近着丝粒带和弱的末端带。染色体 1Y: 短臂的近端带较模糊,而近着丝粒带着色很深,并与着丝粒带“愈合”;长臂的近着丝粒带和末端带都是强带。染色体 2Y: 短臂具有强的末端带和 1 条强大的中间带;着丝粒带明显;长臂上具有近着丝粒带 1 条,近端带 2 条和末端带 1 条,它们均是弱带。染色体 3Y: 仅短臂上具有 1 条强的近端带。染色体 4Y: 两臂的末端带都十分强大,两臂的近着丝粒带和长臂的中间带也着色很深,而短臂的中间带则又弱又细小。染色体 5Y: 两臂均有强的末端带;着丝粒带也为明显的强带;长臂上还有 1 条弱的中间带。染色体 6Y: 短臂的末端带强大而长臂的末端带弱小,短臂还有 1 条强的近着丝粒带,着丝粒带也为强带。染色体 7Y: 两臂均有 1 条较强的中间带。

3 讨论

Morris and Gill^[14] (1987) 以 *Pseudoroegneria spicata* (St)、*Critesion bogdanii* (H)、*C. californicum* (H)、*E. trachycaulus* (StH) 和 *R. ciliaris* (StY) 为材料,首先建立了 St H Y 染色体组的 C 带带型。本实验中,鹅观草的 St H 和 Y 染色体组的 C 带带型与 *E. trachycaulus* (StH) 和 *R. ciliaris* (StY) 的相应染色体组具有一定的相似性,但也表现出明显的 C 带带型差异。St 染色体组中,鹅观草的 3St 染色体两臂均有强的末端带,且长臂还有 1 条较弱的近端带,而 *E. trachycaulus* 的 3St 染色体仅具短臂末端带。H 染

色体组中,鹅观草的 3H 染色体比 *E. trachycaulus* 的 3H 染色体具有较丰富的 C 带,而鹅观草的 7H 染色体则不如 *E. trachycaulus* 的 7H 染色体的 C 带带纹多。Y 染色体组中,*R. ciliaris* 的 Y 染色体均具有着丝粒带,而鹅观草的 3Y 4Y 7Y 染色体不具有明显的着丝粒带。造成这种差异的主要原因是由于所用实验材料的来源不同, Morris and Gill 所用的材料来自北美和欧洲,而本实验的鹅观草来源于中国浙江。Dewey (1982)^[16] 阐明了北美 *Elymus* (广义的 *Elymus* 包括 *Roegneria*) 的 St 染色体组来源于北美的 *Pseudoroegneria* 的二倍体物种, H 来源于 *Hordeum* 的二倍体种。至于亚洲 *Roegneria* 的 Y 染色体组一直未知其供体种, Dewey 认为该物种若存在,那一定在东亚或喜马拉雅区域,也可能已经绝灭。Lu et al. (1990)^[17] 也认为亚洲物种的起源与北美物种的起源可能有差异。此外, C 带分带技术的不一致也可能是造成这种差异的一个原因。

Giemsa C 带技术在植物中的应用,不仅增加了一种新型的染色体形态标记,而且因为其 C 带带纹在植物中特别丰富,不同物种的染色体甚至同一染色体组中的不同染色体及其臂上都存在 C 带的带纹差异,为准确地识别单一染色体提供了技术条件^[5,7]。采用任正隆等 (1995) 改良的 Giemsa C 带方法,对鹅观草进行 C 带观察,结果表明,鹅观草的不同染色体之间的 C 带带型具有明显的差异。其差异表现在 C 带的数量、位置、强弱和大小等方面。通过染色体的 C 带特征,结合核型分析,完全能够对鹅观草每一染色体进行准确的鉴定,从而可以为利用该物种进行麦类作物抗赤霉病育种的遗传或杂交中,追踪某一特定染色体的去向提供识别依据,也可以为检测麦类作物远缘杂种中的这些外源染色体提供证据。

参考文献

- 1 Baum B R, Yen C, Yang J L. *Roegneria*: its generic limits and justification for its recognition. *Can J Bot*, 1991, 69: 282 ~ 294.
- 2 耿以礼,陈守良. 国产鹅观草属 (*Roegneria* C. Koch) 之订正. *南京大学学报(生物学)*, 1963, 1: 1-92.
- 3 郭本兆. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1987.
- 4 蔡联炳. 中国鹅观草属的分类研究. *植物分类学报*, 1997, 35(2): 148-177.
- 5 Gill B S, Kimber G. Giemsa C-banding and the evolution of wheat. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1974, 71: 4086-4090.
- 6 Endo T R, Gill B S. The heterochromatin distribution and genome evolution in diploid species of *Elymus* and *Agropyron*. *Can J Genet Cytol*, 1984, 26: 669-678.

- 7 Cai X W, Liu D J. Identification of a 1B/1R wheat-rye chromosome translocation. *Theor Appl Genet*, 1989, 77: 81~83.
- 8 卢宝荣, 颜 济, 杨俊良. 分布于日本和中国的鹅观草及其杂种的形态学和细胞学研究. *云南植物研究*, 1990, 13(3): 237~246.
- 9 蒋继明, 刘大钧. 鹅观草与大麦属间杂种的形态和细胞遗传学研究. *遗传学报*, 1990, 17(5): 373~376.
- 10 周永红, 伍碧华, 傅体华等. 鹅观草和簇毛麦属间杂种的形态学和细胞遗传学研究. *植物分类学报*, 1999, 37(2): 125~130.
- 11 周永红, 杨俊良, 颜 济等. 用 RAPD 分子标记探讨鹅观草属的种间关系. *植物学报*, 1999, 41(10): 1076~1081.
- 12 卢宝荣, 颜 济, 杨俊良. 鹅观草属三个种的染色体组分析与同工酶分析. *云南植物研究*, 1988, 10(3): 261~270.
- 13 任正隆, 张怀琼. 一个改良的染色体 C 带技术. *四川农业大学学报*, 1995, 13(1): 1~5.
- 14 Morris K L D, Gill B S. Genomic affinities of individual chromosomes based on C- and N-banding analyses of tetraploid *Elymus* species and their diploid progenitor species. *Genome*, 1987, 29: 247~252.
- 15 李懋学等. 植物染色体及染色体技术. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1991.
- 16 Dewey D R. Genomic and phylogenetic relationships among North American perennial Triticeae. In: Estes J R, Tyrl R J, Brunken J N. *Grasses and Grasslands Systematics and Ecology*. Norman: University of Oklahoma Press, 1982.
- 17 Lu B R, Bothmer R von. Genome constitution of *Elymus parviglumis* and *E. pseudonutans* (Triticeae Poaceae). *Hereditas*, 1990, 113: 109~119.

(责任编辑: 邓大玉)

克隆兔在广西大学动物繁殖研究所诞生

2002年5月13日上午,一只胚胎细胞克隆仔兔顺利在广西大学动物繁殖研究所降生。这是由广西大学动物繁殖研究所石德顺博士领导的科研小组完成的。该小组于2001年5月开始“克隆兔课题”的研究。他们先从一只兔子身上获得早期胚胎,注入已去除细胞核的成熟卵母细胞中,融合形成重组胚。重组胚在体外培养后,于4月9日被移入一只雌性兔子的输卵管内,经过34天的正常孕期后,克隆兔顺利降生。这只胚胎细胞克隆兔出生时,体重为82g,2天后体重增至125g。

据了解,我国在上世纪90年代初就相继掌握了羊、牛、兔等动物的胚胎细胞克隆技术,目前正致力于提高这项技术的效率,为难度更大的体细胞克隆技术奠定基础,迄今为止我国还没有体细胞克隆兔子诞生。而我国的第一例体细胞克隆牛已于今年初诞生。与羊、牛等动物不同,兔子卵母细胞的透明带韧性强,在克隆过程中,想用吸针穿破它,吸取、去除细胞核十分不易。而如果细胞核去除不净,克隆就会失败。科研人员在实验中采用了先进的细胞纺锤体观察技术,大大提高了去除细胞核的效率,保证了克隆胚胎的质量,获得了成功。

据介绍,克隆兔技术的应用,有助于人类从事科学研究活动。兔子比老鼠更接近灵长类动物,与人类的生理更加接近,是一种理想的试验动物,而克隆兔由于遗传性完全相同,因个体变异所引起的试验误差可以降低为零。

此外,利用克隆技术对兔子进行基因改造,让基因相同的克隆兔患上人类难于攻克疾病,再从兔子身上找出病因及治疗方法,将有助于人类的医学研究。

来源:新华网 广西频道和南国早报