

科研报告

栽培大豆与野生大豆染色体 超微结构的比较研究^{*}

弭忠祥

陆 印

(东北农业大学生命中心)

(白城师范专科学校生物系)

王春海

王太平

(黑龙江省农业厅)

(安达县农业中心)

摘要 本文在光镜观察的基础上,利用电镜对大豆染色体超显微结构进行了观察,并与野生大豆进行比较,结果表明,栽培大豆具随体的染色体数目在观察 210 个根尖生长点细胞中有 80% 以上带有 1~2 个随体染色体,而野生大豆大多有 4 个具随体的染色体。电镜下染色体的轴结构,是由许多细丝构成的网络状结构。对其根尖生长点超薄切片的观察,进一步发现在细胞分裂的不同周期中染色体集缩程度存在着差异,可见到诸如 100~150nm、300nm、400~500nm 等不同的纤维结构等级,显示出染色体高度螺旋形成染色体的过程中,存在有不只是的一个的中间结构等级。

关键词 大豆染色体 超显微结构 随体

中图分类号 S565.1

由于大豆染色体的数量多,体积小,难于分散等特点,受光镜分辨率的限制,人们对于它的精细结构不够了解。关于栽培大豆随体染色体的数量,不同的观察,结果是不一致的。Palmer 等^[1]在大豆根尖细胞曾观察到 2 个或 4 个随体染色体, Ladizinsky^[2] Giemsa 染色方法,在体细胞中观察到 1 个随体染色体,对于野生大豆,郑惠玉、陈瑞阳^[3]认为有 4 条带有随体的染色体,其中两个位于较长的染色体上,另两个位于一对较短的染色体上。

近年来随着电镜技术的发展,在染色体研究中的应用,对其超微结构已有了较多的认识,以往光镜下观察到的染色体轴结构,在电镜下已不是简单的“轴”的形式,而是呈现出纤维网络状结构,由颗粒和纤维相互交织而成。几十年来人们在染色体结构方面做了大量的研究工作,积累了丰富的资料。目前有关 DNA 和组蛋白的相互关系及其在形成染色体初级结构中的作用已了解得较为清楚,但就染色质形成染色体的中间结构,30nm 染色质纤维如何形成染色体的高级结构还存在着一些分歧^[4]。

本文以栽培大豆和野生大豆为材料,利用电镜对其根端分生组织染色体的超微结构进行了观察,结果如下:

^{*} 收稿日期 1998-10-19
黑龙江省自然科学基金项目。

1 材料与方 法

1.1 大豆染色体细胞悬液的制备

大豆种子萌发培养,待根尖长至 0.5~ 1.0cm 长时,切取根尖生长点,用 $0.002\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 羟基喹啉配制的 0.05% 秋水仙素处理 6~ 8 小时,利用低渗酶解去壁方法制备染色体细胞悬液,去污剂微铺展技术转换电镜铜网样品。首先将染色体细胞悬液滴加在预先覆有 Folcon 膜的玻璃载片上,滴加 0.3% 的去污剂经 AgNO_3 染色,于光镜检查出分散好的染色体,并做好标记,然后将 Folcon 膜漂剥于水面上,按放铜网捞取。等干燥后在 JEM-1200EX 型透射电镜下观察。

1.2 大豆染色体的超薄切片

取其根尖生长点,立即投入到 2.5% 戊二醛溶液 ($0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液配制, pH6.8) 中固定 6~ 8 小时, PBS 冲洗后,用 2% 锇酸溶液固定 2 小时,双蒸馏水冲洗。丙酮梯度脱水, Epon812 环氧树脂包埋。超薄切片经铀、铅双重染色后在透射电镜下观察。

1.3 染色体轴结构样品的制备

取其根端分生组织进行常规染色体制片,而后分别用 DNA 酶, RNA 酶和 $2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 处理制片,硝酸银染色,在光镜下观察到的染色体银染轴结构原位转移到电镜铜网样品,在透射电镜下观察其精细结构。

2 结果与讨论

2.1 栽培大豆与野生大豆染色体随体的数目

利用酶解去壁低渗铺展法,制备大豆根尖染色体, AgNO_3 染色在光镜观察的基础上,转换成电镜铜网样品。栽培大豆在观察 210 个细胞中有 80% 以上带有 1~ 2 个随体染色体,而野生大豆大多有 4 个具随体的染色体,其中两个随体位于一对较长的染色体上,另两个位于一对较短的染色体上,重复观察表明出现四个随体的频率较高。这一结果与郑惠玉、陈瑞阳^[3]对吉林省野生大豆观察的结果相符。Ladizinsky^[2]在栽培大豆细胞核中看到一对染色体带随体,但 Hadley 等^[2]人报道没有带随体的染色体,Palmer^[1]观察到 2 个或 4 个带随体染色体。我们认为栽培大豆随体染色体的数量,不同的观察,结果是不一致的,本文观察的结果表明体细胞中至少有一对是带随体的染色体。

2.2 解集缩染色体的超微结构

染色体在细胞分裂过程中不断地进行着集缩与解集缩,尤其是在有丝分裂末期,染色体必须经过解集缩形成染色质,而正是在此过程中,染色体通过解集缩暴露出了其固有的一些低级结构,这些固有的结构对于认识染色体的构建具有极其重要的作用。大豆染色体在末期解集缩,不同区域的染色体解集缩程度不同,表现在有的近乎全解体,已难以辨别出染色体的形态,有的仍以一定的集缩状态存在,这些集缩态的染色体的直径约 1.0~ 1.5 μm ,已解集缩的染色体可见到 500nm、300nm、100~ 150nm 不等的染色质纤维。表明 500nm 左右的纤维螺旋而成染色体,而 500nm 左右的纤维是由 200~ 300nm 的纤维螺旋而成,100~ 150nm 的纤维螺旋成 200~ 300nm 的纤维。因此我们认为 30nm 染色质纤维与中期染色体之间存在着中间结构等级,这种中间结构等级不只一个,而是多个,是经过几个等级的集缩逐步形成中期染色体的。

2.3 大豆染色体轴的超微结构

自染色体骨架模型提出以来,有关骨架存在的真实性及其组成和形态特征等已积累了越来越多的证据^[5]。目前关于骨架形态学特征的证据主要来自于两方面的研究工作,一方面是将

分离的、去除蛋白质的染色体制成铺展样本,在透射电镜下观察残余的非组蛋白所构成的骨架结构,另一方面是对常规制备的染色体进行硝酸银染色,在光镜下观察染色体的银染轴结构。后一部分工作的优越性在于它能在原位观察完整染色体的轴结构,但它只能在光镜下进行研究,受光镜分辨率的限制,人们难以更进一步地认识轴的精细结构。我们将光镜下观察到的染色体银染轴结构原位转移到铜网上,利用电镜观察其精细结构。结果显示:在光镜下观察到的轴状结构已不明显,它事实上是由颗粒和纤维相互交织而成的网络结构。姐妹染色体骨架之间除了在着丝粒区域彼此相连外,在其余部位也通过很多染色深浅不一的颗粒和纤维物质将二者紧紧维系在一起;姐妹染色单体骨架向外也伸展出许多颗粒和纤维状物质,因此,整个染色体骨架形态为一种致密的纤维网络结构

参 考 文 献

- 1 Palmer, R. G., A root tip squash technique for soybean Chromosomes, *Crop Science*, 1973, 13 389~ 391
- 2 Ladizinsky, G., Newell, C. A., Hymowitz, T. Giemsa Staining of Soybean Chromosome, *J. Hered.* 1979, 70 415 ~ 416
- 3 郑惠玉, 陈瑞阳. 带有四个随体的二倍体野生大豆. *大豆科学*, 1984, 3(1): 81~ 82
- 4 郝水. *细胞生物学进展*. 北京: 高等教育出版社, 1989, 112~ 126
- 5 郝水. 关于染色体骨架的研究. *科学通报*, 1989, 23 1761~ 1765
- 6 Hadley, H. H. 1973, *Soybeans: Improvement, Production, and Uses No. 16*, American Society of Agronomy, Inc., Publisher Madison, Wisconsin, USA 1973 108~ 112

Studies on Ultrastructure of Chromosomes in Cultivated and Wild Soybeans

Mi Zhongxiang

(Northeast Agricultural University)

Lu Yin

(Biology Department of Normal School in Baicheng)

Abstract About 1~2 SAT-Chromosomes were observed in *Glycine max* and 4 in wild soybean. Chromosomal skeleton was displayed as fibriform network under TEM. As the decondensation process was not completely synchronous in different regions of different chromosomes, different degrees of fibre structure of 100~150nm, 300nm and 400~500nm could be observed under TEM. From these results it could be indicated that the higher degree of fibre were progressively coiled with the lower structure.

Key words Chromosomes of soybean, Ultrastructure, Electron microscope