

松香草体细胞染色体银染色研究

熊治廷

(中国科学院武汉植物研究所, 武汉)

摘要 松香草(*Silphium perfoliatum*, $2n=14$)全部染色体着丝点和第5及第7对染色体短臂端部显示稳定的Ag-带。第1, 2和6对染色体长臂居间区各有一居间带呈不稳定银染正反应。推测第5和第7对染色体为NOR染色体, NOR分别位于两对染色体短臂末端。

自从染色体银染技术建立以来^[2], 已被广泛用作检测高等真核生物染色体核仁组成区(NOR)的一种有效方法。然而, 一系列报道表明, 无论动植物材料, 银染后染色体并非仅限于NOR被区分染色(或浸渗), 其他部位如着丝点、居间区及端粒区视不同材料和不同处理程序而异, 也可以发生银染正反应。最近, 李懋学^[1]对此项技术的原理与应用做了全面综述。本文报道松香草根尖细胞染色体银染结果, 确定NOR的染色体位置, 供进一步理论研究和松香草遗传育种参考。

材料与方 法

取当年收获松香草(*Silphium perfoliatum*)种子, 自来水浸泡3小时, 25℃温度下萌发。待初生根长至约1 cm时, 切取根尖浸于饱和对二氯苯水溶液预处理2—3小时(约25℃)。水洗2—3次后处理如下: 卡诺固定液30分钟→蒸馏水15分钟→1.5%(W/V)纤维素酶与果胶酶混合液60分钟(约25℃)→水洗15分钟→卡诺固定液5分钟→45%醋酸5—15分钟→45%醋酸压片→50%酒精脱片→95%酒精5分钟→无水酒精5分钟→卡诺固定液5分钟→火焰干燥, 室温贮存。

取一清洁载片, 其上铺以单层擦镜纸, 滴2—3滴75%AgNO₃(W/V)水溶液, 取片龄一周以内的制片盖于擦镜纸上。置于铺有湿滤纸的培养皿内(保持湿度), 57℃温箱内温育20小时以上。镜检合适制片用蒸馏水彻底冲洗, 空气干燥48小时以上, 二甲苯透明2—4小时, 中性树胶封片, 镜检, 照相。

结果与讨论

染色体按其绝对长度依序编号(图1, A, 图2)。常规染色未见次缢痕。

银染后, 大部分制片染色体能显Ag-带。接位置可分为着丝点带、端带和居间带(图1, A, 右; C, D及图2)。带的形状通常呈两圆点状, 也有呈横纹状的。全部染色体可见着丝点带。只有第5和第7两对染色体短臂端部具有端带, 一般情况下其大小与着丝点带的相当, 固定性也相同, 但有时其银染反应明显比着丝点带强烈(图1, D)。居间带位于第1、第2和第6对染色体长臂, 其大小与着丝点带无明显差别。但居间带一个显著特点是

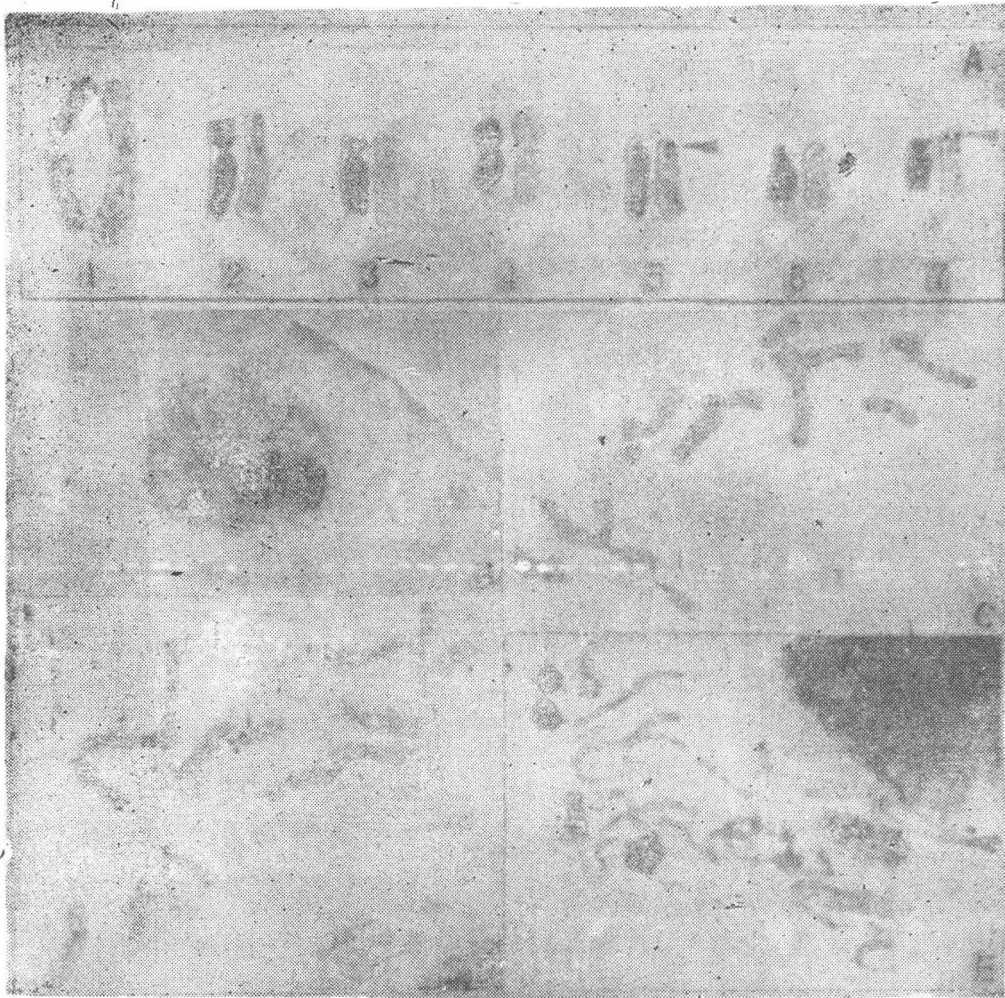


图1 A: 松香草核型(左)和Ag带(右), 箭头示核仁组成区(NOR);
 B: 间期核, 示4个核仁($\times 1800$);
 C和D: 中期染色体Ag带, 箭头示居间带($\times 1500$, $\times 2600$);
 E: 前期分裂相, 示4个核仁分别与4条染色体端部连接($\times 1700$)。

不稳定, 同一分裂相中一条同源染色体可显居间带, 另一条则可能不出现其对应带。此外, 前期染色体有时亦可见着丝点带, 但很不稳定, 更多的情形是未见银染反应。

间期核经银染后可见1—4个核仁(图1, B示4个核仁)。在分裂前期, 核仁明显与绝对长度较短的染色体连接着(图1, E), 通常位于染色体空间取向的一极。由于松香草染色体组不具次缢痕, 可以根据间期核最高核仁数推测核仁组成区数目, 而且NOR应当出现银染正反应。因此, 我们推断第5和第7对染色体为核仁组织者染色体, 4个NOR分别位于它们的短臂末端。Giemsa C带处理证实这两对染色体短臂末端亦为C带, 因此表明松香草染色体具端部NOR, 不存在次缢痕。

关于着丝点带和居间带显带的细胞化学机制, 目前是一个悬而未决的问题。有不少研究者提出过种种解释^[1], 但没有一种解释得到了普遍承认。不过, 许多研究银染色机理的

实验结果大都认为 NOR 的银染物质为酸性蛋白^[3]。事实上, 这种酸性蛋白很可能包括一大类在分子量、等电点及表面抗原等均不相同的蛋白分子。因此有理由推测 NOR 与着丝点居间区的银染反应化学基础是有可能不相同的。例如, 有人曾将与 NOR 连接的异染色质命名为N-异染色质以区分其与着丝点异染色质的差异^[4]。

正如李懋学所评论的, 银染是继荧光和 Giemsa 显带后最重要的染色体研究技术¹, 本文结果表明, 就同时显示 NOR 和着丝点及居间区带而言, 银染色法是比较 Giemsa C 带法更有效的方法, 值得在植物染色体显带研究中推广。

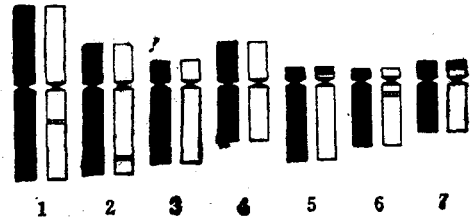


图2 松香草核型(左)和Ag-带(右)模式图。■示可变带。

主要参考文献

- [1] 李懋学, 1989: 植物染色体的银染技术、原理及应用。武汉植物学研究, 7: 87—96。
- [2] Goodpasture, C. and Bloom, S.E., 1975: Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. Chromosoma 53: 37—50.
- [3] Hubbell, H.R., 1985: Silver staining as an indicator of active ribosomal genes. Stain Tech. 60: 285—294.
- [4] Rufas, J.S., Gosalvez, J., Lopez-Fernandez, C., Cardoso, H., 1983: Complete dependence between Ag-NOR and C-positive heterochromatin revealed by simultaneous Ag-NOR C-banding method. Cell Biol. Int. Rep. 7: 275—281.

SILVER STAINING OF SOMATIC CHROMOSOMES OF SILPHIUM PERFOLIATUM

Xiong Zhiting

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract. All centromeres and the short arm ends of the 5th and the 7th pair of chromosomes in root-tip cells of *Silphium perfoliatum* showed stable Ag-bands when staining with 75% AgNO₃, whereas intercalary Ag-bands on the long arms of the 1st, 2nd and 6th chromosomes were unstable. There were maximally 4 nucleoli in interphase nucleus. It is inferred that the 5th and 7th chromosomes are NOR-chromosomes, NORS are located at the ends of the four chromosomes.