

文章编号 :1003-8701(2013)02-0027-02

不同作物染色体 DAPI 荧光显带的研究

徐延浩,高伟,张文英*

(长江大学农学院长江中游湿地农业教育部工程研究中心,湖北荆州 434025)

摘要:对花生、大豆、玉米、芝麻和丝瓜有丝分裂中期染色体进行 DAPI 荧光显带并比较它们 DAPI 带纹模式的差异。研究发现,DAPI 染色能在花生、玉米染色体上显现清晰的带纹,可进行染色体识别;与花生和玉米相比,芝麻和丝瓜染色体上 DAPI 带纹反差较弱,能进行部分染色体识别;在大豆染色体上则没有观察到明显的带纹。这说明染色体 DAPI 荧光带纹模式存在明显的物种差异。

关键词:染色体;荧光显带;作物;DAPI

中图分类号:S501

文献标识码:A

Fluorescent Chromosome Banding with DAPI in Different Crops

XU Yan-hao, GAO Wei, ZHANG Wen-ying

(Engineering Research Center of Wetland Agriculture in the Middle Reaches of the Yangtze River, MOE, College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: The fluorescent chromosome banding of *Zea mays* L., *Glycine max* L., *Sesamum indicum* L., *Luffa cylindrical* Roem, and *Arachis hypogaea* L. were revealed by DAPI staining. The results showed that there were obvious fluorescent band patterns in maize and peanut, which could facilitate chromosomes recognition. The band patters in sesame and loofah were weaker compared to maize and peanut, which could facilitate some of the chromosomes recognition. There was no clear DAPI band observed in soybean chromosomes. These results showed that there were different DAPI chromosomes banding patterns in different species.

Keywords: Chromosome; Fluorescence banding; Crops; DAPI

染色体显带(chromosome banding)是指应用特殊的染料经过一定的处理程序使染色体在一定部位显现深浅不一带纹的细胞学技术。不同的染色体具有特定的带纹特征^[1]。染色体显带技术是识别染色体组中单条染色体的有效手段,也适用于基因组的组成和结构的研究。常用的染色体显带有 C 显带技术(着丝粒, Centromere)、Q 显带技术(喹吖因, Quinacrine)、G 显带技术(吉姆萨染料, Giemsa)和 R 显带技术(相反, Reverse)等^[1-2]。

除喹吖因用于荧光显带外,吖啶橙、Hoechst

33258、碘化丙啶和 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamino-2-phenylindole dihydrochloride, DAPI)等其他荧光染料也用于染色体荧光显带^[3-4]。Seijo 等^[5]利用 DAPI 对花生染色体进行荧光显带,发现 DAPI 能区分花生染色体组。余朝文等^[6]的研究也发现 DAPI 染色能在花生染色体上产生特异的带纹,有利于花生同源染色体的识别。在甘薯中也发现 DAPI 荧光显带有助于染色体识别^[7]。

DAPI 染色是否在大部分植物染色体上都能产生带纹用于染色体识别和配对还需要进一步的研究。本研究比较了 DAPI 染色在花生(*Arachis hypogaea* L.)、玉米(*Zea mays* L.)、大豆(*Glycine max* L.)、芝麻(*Sesamum indicum* L.)和丝瓜(*Luffa cylindrical* Roem)等 5 种植物的染色体上所显现的带纹的异同,为植物染色体 DAPI 荧光显带的应用提供更多的参考依据。

收稿日期 2012-10-16

基金项目 湖北省自然科学基金项目(2010CDB04403) 湖北省教育厅科学技术研究项目(Q20101320)

作者简介 徐延浩(1981-)男,讲师,博士,从事植物遗传学研究。

通讯作者 张文英 男 副教授,博士,

E-mail: wyzhang2006@gmail.com

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料为华玉 4 号 (*Zea mays* L. cv. Huayu No. 4)、中花 8 号(*Arachis hypogaea* L. cv. Zhonghua No. 8)、荆豆 1 号(*Glycine max* L. cv. Jingdou No. 1)、许昌白芝麻 (*Sesamum indicum* L. cv. Xuchangbai) 和常德肉丝瓜(*Luffa cylindrica* Roem cv. Changde), 种子购于市场。

1.2 方 法

1.2.1 染色体的制备

染色体制片按徐延浩等^[8]的方法。取生长旺盛的根尖,室温用饱和 α -溴萘水溶液处理 3h 后用新鲜卡诺固定液固定。用 2% 的纤维素酶和 2% 的果胶酶 28℃ 酶解,经水洗、后固定等步骤后,采用火焰干燥法制片,-20℃ 保存备用。

1.2.2 染色体 DAPI 染色及图像检测

染色体制片用 5 μ g/mL DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) 染色,加抗淬灭剂 Vectorshield(Vector Lab),用 Olympus BX60 显微镜观察荧光原位杂交信号,用 Photometrics SenSys CCD (charge coupled device)1400E 照相装置和 Metamorph 4.6.3(Universal Imaging Crop.)软件俘获图像,Photoshop CS4 软件进行图片处理。

2 结果与分析

2.1 花生染色体的 DAPI 荧光显带

DAPI 染色的花生染色体见图 1-1,通过软件反相处理的染色体见图 1-2。DAPI 染色后共有 15 对染色体显示了 DAPI 染色的带纹,其中,强染色的带纹有 10 对,不同染色体的带纹模式差异很大,部分强 DAPI 带纹位于着丝粒区域,也有少数 DAPI 带纹位于染色体端部区域(图 1-2)。对 DAPI 荧光染色的图片进行了反相处理,使得 DAPI 带纹的识别更加准确(图 1-2)。

2.2 玉米染色体的 DAPI 荧光显带

DAPI 染色的玉米染色体见图 1-3,反相处理的染色体见图 1-4。DAPI 染色后,玉米每对染色体都呈现出深浅不同、位置不一的 DAPI 带纹,其中强染色的 DAPI 带纹主要集中在染色体端部(图 1-4)。通过 DAPI 染色,可以比较准确地对玉米染色体进行识别和配对。

2.3 芝麻染色体的 DAPI 荧光显带

DAPI 染色的芝麻染色体见图 1-5,反相处理的染色体见图 1-6。芝麻有丝分裂中期染色体很

小,选取凝缩程度适当、分散良好的分裂相进行显带观察。DAPI 染色后,共有 3 对染色体显示了强 DAPI 带纹,其中两对强 DAPI 带纹位于染色体着丝粒区,一对强 DAPI 带纹位于染色体短臂中部(图 1-6)。

2.4 丝瓜染色体的 DAPI 荧光显带

DAPI 染色的丝瓜染色体见图 1-7,反相处理的染色体见图 1-8。丝瓜染色体 DAPI 染色的一个明显特征是有 2 对染色体基本被 DAPI 强带纹涂布了。在本研究中观察的 5 种植物中,仅在丝瓜中观察到了这种现象。其次,还观察 1 对 DAPI 强带纹 2 对 DAPI 弱带纹(图 1-8)。

2.5 大豆染色体的 DAPI 荧光显带

DAPI 染色的大豆染色体见图 1-9,反相处理的染色体见图 1-10。大豆和花生同属豆科植物,但他们的 DAPI 荧光显带模式差异很大。DAPI 染色后,仅观察到 2 对染色体有不明显的 DAPI 带纹,且都位于染色体端部,没有观察到位于着丝粒区的 DAPI 带纹(图 1-10)。由此可见,DAPI 荧光染色对大豆染色体的显带和识别帮助有限。

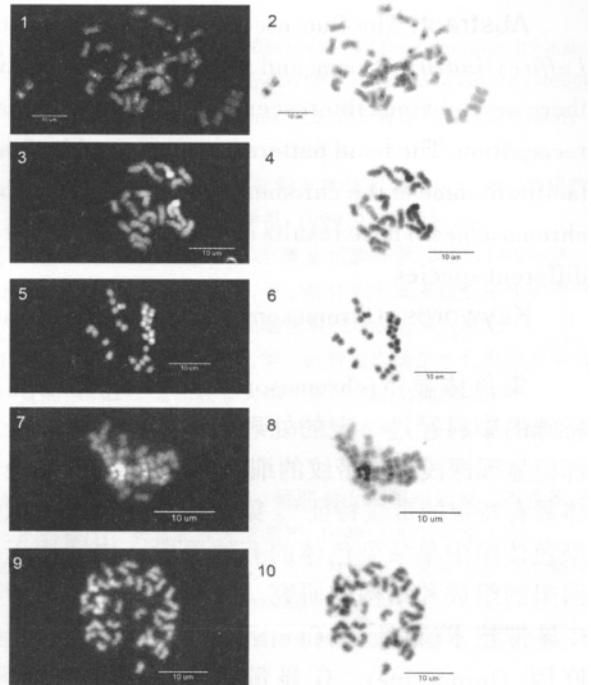


图 1 DAPI 染色的花生、玉米、芝麻、丝瓜和大豆有丝分裂中期染色体

注:1-1: DAPI 染色的花生中期染色体;1-2:花生染色体反相 DAPI 显带;1-3: DAPI 染色的玉米中期染色体;1-4:玉米染色体反相 DAPI 显带;1-5: DAPI 染色的芝麻中期染色体;1-6:芝麻染色体反相 DAPI 显带;1-7: DAPI 染色的丝瓜中期染色体;1-8:丝瓜反相染色体 DAPI 显带;1-9: DAPI 染色的大豆中期染色体;1-10:大豆染色体反相 DAPI 显带。标尺=10 μ m。(下转第 51 页)

- [7] 朴亨茂,赵粉善,赵基洪,等.对2个源自“水稻×菰”非规范远缘杂种的优良品系的分子分析[J].木本植物研究,2000,20(3):260-263.
- [8] 刘振兰,董玉柱,刘宝.菰物种专化DNA序列的克隆及其在检测菰DNA导入水稻中的应用[J].植物学报,2000,42(3):324-326.
- [9] 时羽.水稻转菰基因材料的培育、分子鉴定及mping转座子激活的研究[D].吉林农业大学,2008.
- [10] 初秀成,赵基洪,柴杨,等.水稻与异科植物月见草远缘杂交[J].农业生物技术学报,2008,16(2):320-325.
- [11] 祁栋灵,郭桂珍,李明哲,等.碱胁迫下梗稻幼苗前期耐碱性的数量性状基因座检测[J].作物学报,2009,35(2):301-308.
- [12] 林春晶,董英山,林秀峰,等.转抗稻瘟病基因水稻遗传和表达的初步研究[J].分子植物育种,2006,4(2):167-173.
- [13] 于彦春,张光恒,郭龙彪,等.CECROPINB与XA21基因共表达提高转基因水稻白叶枯病抗性[J].中国水稻科学,2006,20(1):105-108.
- [14] 刘雪辉.转RCH10和AGLU1基因水稻后代的分子细胞学检测及抗纹枯病的相关研究[D].吉林农业大学,2008.
- [15] 林秀峰,刘志铭,刘德璞,等.CryIA(a)-pta双价抗虫基因转

(上接第28页)

3 讨论

荧光显带广泛应用于染色体识别等领域^[4,9],以往的荧光显带(Q-带)都是用喹吖因作为荧光染料。虽然发现了很多染料都激发染色体发出荧光,但广泛使用的并不是很多^[2-3]。通过文献分析发现DAPI是一种比较有前途的染色体荧光显带染料^[10]。DAPI染料在花生染色体上显现出有识别价值的带纹^[5-6],说明DAPI有可能可以用于植物染色体的显带和识别。通过本研究发现DAPI染色能在花生、玉米染色体上显现明显而强烈的带纹,在芝麻和丝瓜中染色体的带纹反差较花生和玉米要弱,在大豆中则没有明显的带纹。这说明DAPI染色能否出现明显的带纹具有种属特异性。此外,比较本研究、余朝文^[6]和Sejio等^[5]的研究结果发现,染色体DAPI显带不受品种特异性的影响。由此可见,DAPI染色体荧光显带在种内比较稳定,具有较好的应用价值。

DAPI能优先于富含AT碱基的DNA序列结合,一般认为DAPI强染色的区域是异染色质区域^[10]。在本研究观察到丝瓜有1对染色体基本被DAPI带纹涂布,说明该染色体主要由重复序列构成。在葫芦科植物黄瓜中也发现过类似情况^[11],这说明葫芦科植物可能存在某些富含重复序列的染色体。但豆科不同植物染色体的DAPI带纹模式则差异很大。由此可见,广泛积累不同植物染色体DAPI显带结果,对于染色体DAPI荧光显带的使

- 化粳稻及二化螟抗性评估[J].分子植物育种,2006,4(3):345-350.
- [16] 王景余,金成海,方秀琴,等.抗除草剂基因基因枪法转化粳稻的研究[J].吉林农业科学,2005,30(2):3-6.
- [17] 张秀香.表达LTB-MOMP融合蛋白转基因水稻的建立及免疫试验[D].吉林大学,2005.
- [18] 管清杰.水稻抗坏血酸过氧化物酶(APXa)基因载体构建及遗传转化研究[D].延边大学,2004.
- [19] 杨柏明.短芒大麦钠质子逆向转运蛋白基因表达载体的构建及水稻遗传转化的初步研究[D].吉林大学,2005.
- [20] 申斯乐,王振伟,单晓辉,等.高压导致水稻变异品系发生DNA甲基化模式及基因组结构的改变[J].中国科学C辑,2005,35(6):490-496.
- [21] 范建成,刘宝,王信媛,等.蔡胁迫对水稻基因组DNA甲基化模式及水平的影响[J].环境科学,2010,31(3):793-800.
- [22] 赵增琳.稻瘟菌诱导性水稻单加氧酶基因克隆及其功能验证[D].吉林大学,2008.
- [23] 李世鹏.两个水稻I型金属硫蛋白基因启动子功能初步分析[D].吉林大学,2007.

用具有重要的指导作用。

参考文献:

- [1] 高猛,安玉麟,孙瑞芬.植物染色体分带及其荧光原位杂交技术研究进展[J].生物技术通报,2010(10):67-75.
- [2] 周雪雁,关伟军,马月辉,等.染色体显带技术及其在生物学研究中的意义[J].上海畜牧兽医通讯,2004(5):2-3.
- [3] 余朝文,宋运淳.植物荧光原位杂交技术的发展及其在植物基因组分析中的应用[J].武汉植物学研究,2006,24(4):365-376.
- [4] 杨晓伶,程舟.用荧光素显带技术识别柑橘杂种染色体的多样性[J].同济大学学报(自然科学版),2007,35(5):705-707.
- [5] Seijo J G, Lavia G I, Fernandez A, et al. Physical mapping of the 5S and 18S-25S rRNA genes by FISH as evidence that *Arachis duranensis* and *A. ipaensis* are the wild diploid progenitors of *A. hypogaea* (Leguminosae) [J]. American Journal of Botany, 2004, 91(9): 1294-1303.
- [6] 余朝文,张礼华,蒋向辉.花生的荧光显带和rDNA荧光原位杂交核型分析[J].作物学报,2012,38(4):754-759.
- [7] 安婷婷,汤佳立,孙健英,等.甘薯栽培种及其近缘野生种的DAPI核型及rDNA-FISH分析[J].西北植物学报,2012,32(4):682-687.
- [8] 徐延浩,杨飞,程有林,等.45S rDNA和5S rDNA在南瓜,丝瓜和冬瓜染色体上的比较定位[J].遗传,2007,29(5):614-620.
- [9] 赵丽娜,唐菲菲,刘良科.莜术CPD染色和45S rDNA荧光原位杂交核型分析[J].中国农学通报,2011,27(5):190-194.
- [10] Liu JY, She CW, Hu ZL, et al. A new chromosome fluorescence banding technique combining DAPI staining with image analysis in plants[J]. Chromosoma, 2004, 113(1): 16-21.
- [11] Koo D H, Hur Y, Jin D C, et al. Karyotype analysis of a Korean cucumber cultivar (*Cucumis sativus* L. cv. Winter Long) using C-banding and bicolor fluorescence in situ hybridization[J]. Molecules and Cells, 2002, 13(3): 413-418.