

野生大豆(*G. Soja*)、半野生大豆(*G. Gracilis*) 和栽培大豆(*G. max*)的核型分析*

徐香玲 李集临

(哈尔滨师范大学)

张绍杰

(哈尔滨兽医研究所)

摘 要

本文应用数量统计的方法,分析野生大豆 16 份,半野生大豆 5 份和栽培大豆 2 份的核型。结果表明,野生大豆、半野生大豆和栽培大豆染色体数目为 $2n=40$,核型为 $2n=24m+14sm+2st(SAT)$ 。虽然三者的核型相似,但单倍染色体组¹⁶长是有差别的,经 X^2 测定表明,这种差异是由于种间差异引起。因此,大豆核型的研究,对探讨大豆的进化具有重要意义。

在野生大豆中观察到一具有四随体类型,从进化观点看,具四随体类型较具二随体类型物种原始,同时为确定大豆是二倍体还是多倍体植物、提供有价值的材料。

野生大豆、半野生大豆和栽培大豆的 Giemsa—C 带分析表明,三种大豆的带型极其相似,基本带型为:第一组 12 条染色体有一条着丝点带;第二组 12 条染色体有一条中间带;第三组 12 条染色体有一条端带;第四组 4 条染色体有二条带。

关键词 大豆;核型;Giemsa—C 带

* 本文于 1990 年 3 月 24 日收到

This paper was received on March 24, 1990.

前 言

Fukuda^[7]曾对野生大豆和栽培大豆的细胞遗传学进行研究。Nirad^[9]通过诱导得到四倍体大豆。郑惠玉和陈瑞阳^[3,4]对中国野生大豆根尖染色体进行分析确定核型为 $2nr = 32n + 6sm + 2st$,并在二倍体野生大豆中发现一具四随体的类型。

Ahmad^[5]用数量统计的方法、分析栽培大豆(*G. max*)的核型为 $2n = 24m + 14sm + 2st$,用这种方法可辨认9条染色体。分析野生大豆(*G. Soja*)的核型为 $2n = 24m + 14sm + 2st$ ^[6]。Ladizisky^[8]做了大豆染色体的 Giemsa-c 带分析,发现大豆的染色体 C 带有四种类型,从而使大豆核型研究更深入一步。本文对东北三省部分野生大豆、半野生大豆和栽培大豆用 Giemsa-c 带与统计方法,进行了核型分析,并比较三者的相互关系,为大豆的染色体操作和探讨大豆的进化提供理论基础。

一、分析与方法

供核型分析的材料 23 份(见表 1)。根尖细胞观察,用卡诺固定液固定,苏木精染色,按常规法制片。染色体臂比按 Lexan^[10]标准分类,核型按 Ahmad^[5,6]方法分析,即每一品系选择六个中期困相,每条染色体的长度为纵坐标,染色体臂比为横坐标,做散点图。在图上接近的二点为同源染色体。

染色体长度进行标准化按 Patau^[11]公式计算

$$X'_{ij} = X_{ij} \frac{\sum X_i / 6}{X_i}$$

X_{ij} 为观察细胞中染色体未标准化长度。

X'_{ij} 为观察细胞中染色体标准化长度。

X_i 为观察细胞中单倍染色体总长度。

i 为 1-----6 j 为 1-----20

大豆的 Giemsa-c 带染色体方法按朱凤镏^[1]的 BSG 法,C 带分析采用李美孝^[2]带型标准。其中的着丝点带、着丝点及附近带用 C 表示,中间带为分在染色体臂上用 I 表示,末端带为位于染色体两臂末端用 T 表示,核仁缢痕带为位于核仁缢痕区用 N 表示,随体带即随体显带用 S 表示。

表 1 供核型分析的大豆类型
Table 1 Types of soybean for karyotype analysis

| 类 型 Type | 品 系 号 No. of lines | 来 源 Origination | 性 状 | |
|---------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
| | | | 种 皮 色 Seed colour | 花 色 Flower colour |
| 野生大豆 (<i>G. soja</i>) | 01-532 | 黑龙江 | 黑 | 紫 |
| | 01-282 | " | " | " |
| | 01-298 | " | " | " |
| | ZY-0393 | " | " | " |
| | ZY-0638 | " | " | " |
| | 辽 618 | 锦县 | 双色(黑黄) | " |
| | 辽 754 | 本溪县 | " | " |
| | 辽 741 | 桓仁县 | " | " |
| | 辽 433 | 彰武县 | " | 白 |
| | 辽 13 | 开源县 | " | 紫 |
| | 辽 143 | " | 黑 | " |
| | 辽 49 | " | " | " |
| | N ₁₀ P ₁₅ | 山东省 | " | " |
| | 吉 575 | 吉林省 | " | " |
| 辽 757 | 本溪县 | 双色 | " | |
| 辽 135 | 开源县 | " | " | |
| 半野生大豆 (<i>G. gracilis</i>) | 龙 79-1803 | 黑龙江 | 褐 | 紫 |
| | 龙 79-4204 | " | " | " |
| | 辽 1004 | 盖县 | 黄 | " |
| | 辽 159 | 开源县 | " | " |
| | N 2783 | 江苏省 | 黑 | " |
| 栽培大豆 (<i>G. max</i>) | 黑农 26 号 | 黑龙江 | 黄 | 白 |
| | 黑龙江青豆 | 黑龙江 | 绿 | 紫 |

二、结果与分析

1. 野生大豆、半野大豆和栽培大豆的核型

野生大豆辽 49 的核型,染色体数目为 $2n=40$ 同源染色体配对,从图 1 中可以看出有 20 对同源染色体,每细胞染色体长度和臂比构成该细胞的核型,从中进行染色体分类,用 X²测定六个细胞同源性(表 2)。

表 2 在不同单倍体进行染色体分类测定六个细胞的同源性

Table 2 Contingency table to test the homogeneity of six cells in chromosomes among different haploid complements

| 染色体长度 μ 分类(X) Length (X) classes | 臂比分类(Y) Arm ratio(Y) classes | 核型分析细胞染色体数 No. of chromosomes in plate | | | | | | 纵向相加 Row totals |
|--|------------------------------------|---|----|----|----|----|----|--------------------|
| | | a | b | c | d | e | f | |
| $X < 2.8$ | $Y < 1.7$ | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 | 2 | 11 |
| $X < 2.8$ | $1.7 \leq Y$ | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 5 |
| $2.8 \leq X < 3.7$ | $Y < 1.7$ | 6 | 7 | 5 | 7 | 5 | 6 | 36 |
| $2.8 \leq X < 3.7$ | $1.7 \leq Y$ | 6 | 5 | 4 | 1 | 5 | 5 | 26 |
| $3.7 \leq X$ | $Y < 1.7$ | 3 | 4 | 5 | 3 | 4 | 4 | 23 |
| $3.7 \leq X$ | $1.7 \leq Y$ | 2 | 4 | 4 | 5 | 2 | 2 | 19 |
| 纵向相加 Column totals | | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 120 |

a, b, c, d, e, f 为观察的六个细胞

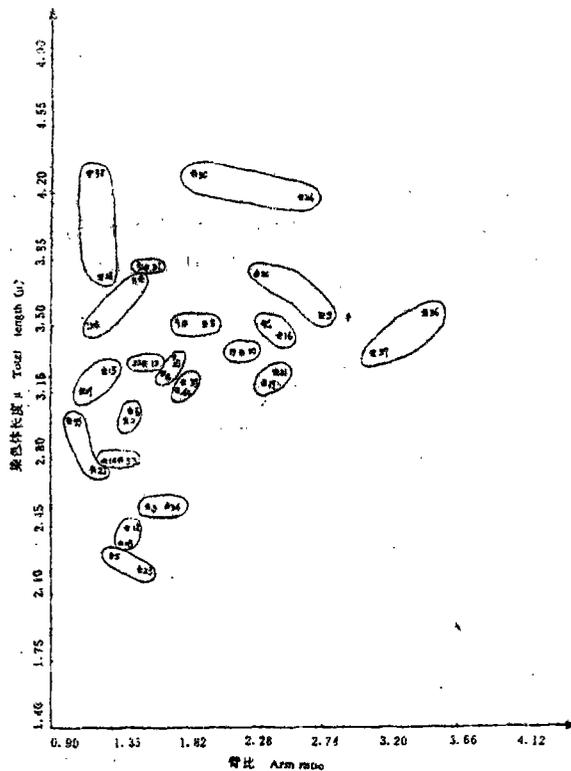


图 1 野生大豆辽 49 散点图

Fig. 1 Scatter diagram of Liao 49 (*G. soja*)

For $X: X^2(10) = 7.542 P_{0.01} = 23.21 > 7.542 P_{0.05} = 18.31 > 7.542$ 差异不显著。

For $X: X^2(5) = 1.827 P_{0.05} = 11.07 > 1.827$ 差异不显著。

通过 X^2 测定,表明这6个细胞差异不显著,是同源的可用于核型分析。

染色体的辨认:观察的6个细胞间染色体总长度差别很小,为每一组成的染色体提供普遍的形态比较基础,按 Patau 公式对6个细胞120个染色体的长度进行标准化。以染色体总长度和臂比做结合散点图(图1),图中表示有些同源染色体的点群是散布的,野生大豆辽49仅有9个集中点群比较清楚可辨认,这9条染色体根据长度和臂比的平均数,标

表3 野生大豆辽49中9个可辨认染色体总长占整个单倍体总长百分比

Table 3 Proportion of the complement total length occupied by the nine identified chromosome in Liao 49 (*G. soja*)

| 细胞 Cell | 整个单倍体染色体总长度 Haploid total length | 9个辨认染色体总长度 Total length of the identified 9 chromosomes | 9个染色体总长度占整个单倍体总长度的百分比(%) Proportion of the haploid total length occupied by the 9 chromosomes % | 平均% Mean % |
|------------|-------------------------------------|--|--|---------------|
| a | 66.22 | 31.34 | 48.8 | 49 |
| b | 60.34 | 31.28 | 51.8 | |
| c | 65.47 | 32.02 | 48.9 | |
| d | 62.59 | 30.21 | 48.3 | |
| e | 63.43 | 31.45 | 49.5 | |
| f | 59.22 | 28.21 | 47.5 | |

表4 野生大豆辽49可辨认的9条染色体的臂比和长度的平均数及变异系数

Table 4 Mean lengths and mean arm ratio of identified chromosomes of Liao 49 (*G. soja*).

| 染色体类型 Chromosome classes | 染色体长度(X) Length | | 染色体臂比(Y) Arm ratio(y) | |
|-----------------------------|--------------------|---|--------------------------|---|
| | $\bar{X} \pm SE$ | 样品资料的变异系数% Coefficient of variation of the data sample % | $\bar{X} \pm SE$ | 样品资料的变异系数% Coefficient of variation of the data sample % |
| m ₁ | 4.35 ± 0.09 | 4.1 | 1.19 ± 0.059 | 12.02 |
| m ₂ | 3.82 ± 0.05 | 3.8 | 1.53 ± 0.099 | 13.80 |
| sm ₁ | 4.32 ± 0.08 | 4.7 | 2.15 ± 0.14 | 16.01 |
| sm ₂ | 3.61 ± 0.075 | 5.1 | 2.75 ± 0.072 | 6.38 |
| sm ₃ | 3.47 ± 0.047 | 3.3 | 2.31 ± 0.014 | 6.80 |
| sm ₄ | 2.89 ± 0.047 | 3.4 | 1.71 ± 0.091 | 13.14 |
| sm ₅ | 3.04 ± 0.11 | 9.0 | 1.95 ± 0.096 | 12.04 |
| sm ₆ | 3.21 ± 0.10 | 8.4 | 2.65 ± 0.082 | 7.60 |
| sc | 3.63 ± 0.15 | 9.8 | 3.46 ± 0.10 | 7.18 |

准误差、变异系数、估算出占整个染色体总长度49%(表3、4)。在这9条染色体中,有2

条具中部着丝点,6条具近中部着丝点,1条具近端部着丝点和随体。

不可辨认的染色体分类和定位:

对未辨认的染色体、按非标准化的长度和臂比分类,长度分类间隔为 0.3μ ,臂比按 Levan 分类的标准 $Y < 1.7$ 为中部着丝点, $1.7 < Y < 3.0$ 为亚中部着丝点、 $Y > 3.0$ 为亚端部着丝点,做散点图,划 0.3μ 水平间隔和垂直标准线,对未辨认的染色体进行分类和定位(图2、表5)。最后确定野生大豆辽49的标准核型是24条具中部着丝点,14条具亚中部着丝点和2条具端部着丝点并具随体的染色体组成。 $2n = 40 = 24m + 14sm + 2st$ (表6)

表5 野生大豆辽49核型对不能辨认的染色体分类和定位

Table 5 The allocation of unidentified chromosomes in Liao 49(*G. soja*) K karyotype to different morphological categories

| 染色体长分类(X) Length classes | 染色体臂比(Y)分类 Arm ratio(Y) classes | 6个单倍体中 染色体总数 Total No. of chromosomes in six haploid sets | 每个单倍体中 染色体总数 Mean No. of chromo- somes per haploid set | 不可辨认染色体数 Proposed No. of unidenetified chromosomes | 染色体编号 Assinged chromosome number |
|-----------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|
| $4 \leq X$ | $Y < 1.7$ | 13 | 2.17 | | 1 |
| $4 \leq X$ | $1.7 \leq Y < 3.0$ | 10 | 1.67 | | 2 |
| $4 \leq X$ | $3.0 \leq Y$ | 1 | 0.17 | | |
| $3.7 \leq X < 4.0$ | $Y < 1.7$ | 10 | 1.62 | | 3 |
| $3.7 \leq X < 4.0$ | $1.7 \leq Y < 3.0$ | 7 | 1.17 | | |
| $3.7 \leq X < 4.0$ | $3.0 \leq Y$ | 2 | 0.33 | | |
| $3.4 \leq X < 3.7$ | $Y < 1.7$ | 12 | 2.00 | 2 | 4,5 |
| $3.4 \leq X < 3.7$ | $1.7 \leq Y < 3.0$ | 8 | 1.3 | | 6,7 |
| $3.4 \leq X < 3.7$ | $3.0 \leq Y$ | 5 | 0.83 | | 8 |
| $3.1 \leq X < 3.4$ | $Y < 1.7$ | 9 | 1.50 | 3 | 9,10,11 |
| $3.1 \leq X < 3.4$ | $1.7 \leq Y < 3.0$ | 12 | 2.00 | 1 | 12,13 |
| $3.1 \leq X < 3.4$ | $3.0 \leq Y$ | | | | |
| $2.8 \leq X < 3.1$ | $Y < 1.7$ | 5 | 0.83 | 3 | 14,15,16 |
| $2.8 \leq X < 3.1$ | $1.7 \leq Y < 3.0$ | 6 | 1.00 | | 17,18 |
| $2.8 \leq X < 3.1$ | $3.0 \leq Y$ | | | | |
| $X < 2.8$ | $Y < 1.7$ | 12 | 2.00 | 2 | 19,20 |
| $X < 2.8$ | $1.7 \leq Y < 3.0$ | 8 | 1.33 | | |
| $X < 2.8$ | $3.0 \leq Y$ | | | | |
| 纵向相加 Column totals | | 120 | 20 | 11 | |

用相同方法分析半野生大豆和栽培大豆的核型,半野生大豆辽159可辨认6条染色体,标准核型为 $2n = 40 = 24m + 14sm + 2st$ 。栽培大豆黑龙江青豆可辨认出8条染色体,标准核型为 $2n = 40 = 24m + 14sm + 2st$ (图版1、2)。

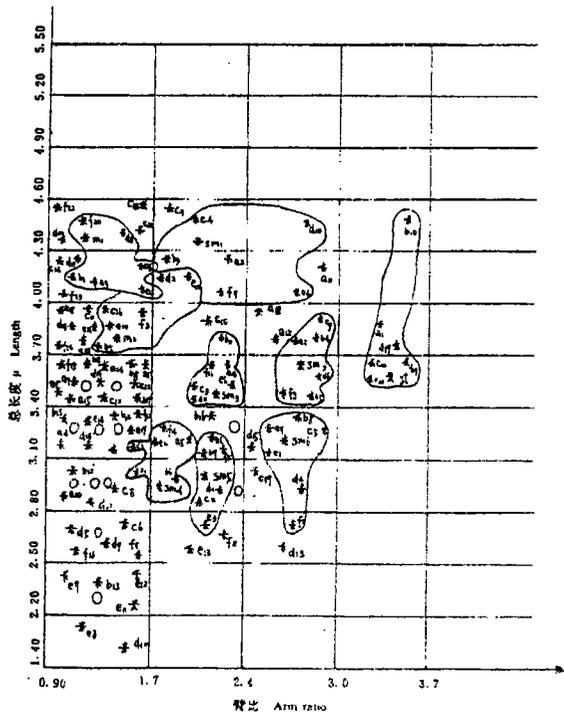


图 2 野生大豆辽 49 坐标中染色体定位图

Fig. 2 Location of Liao 49 (*G. soja*) chromosomes

表 6 野生大豆辽 49 标准核型形态特征

Table 6 Morphological features of the proposed standard karyotype in Liao 49 (*G. soja*)

| 染色体序号 Chromosomes No. | 可辨认染色体名称 Name of identified chromosome | 染色体长度(μ) Total length (X) | 染色体臂比(Y) Arm ratio (Y) | 染色体类型 Chromosome type |
|--------------------------|---|------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 1 | m ₁ | 4.35 | 1.19 | m |
| 2 | sm | 4.32 | 2.15 | sm |
| 3 | m ₂ | 3.82 | | m |
| 4 | | 3.4 ≤ X < 3.7 | Y < 1.7 | m |
| 5 | | " | " | " |
| 6* | st | 3.63 | 3.46 | st |
| 7 | sm ₁ | 3.61 | 2.75 | sm |
| 8 | sm ₃ | 3.47 | 2.31 | sm |
| 9 | | 3.1 ≤ X < 3.4 | Y < 3.1 | m |

(续表 6)

| | | | | |
|----------------------------------|-----------------|---|--------------------|----|
| 10 | | " | " | m |
| 11 | | " | " | m |
| 12 | | " | $1.7 \leq X < 3.0$ | sm |
| 13 | sm ₆ | 3.21 | 2.65 | sm |
| 14 | sm ₅ | 3.04 | 1.95 | sm |
| 15 | | 2.89 | 1.71 | sm |
| 16 | | $2.8 \leq X < 3.1$ | $Y < 1.7$ | m |
| 17 | | " | " | " |
| 18 | | " | " | " |
| 19 | | $X < 2.8$ | $Y < 1.7$ | m |
| 20 | | " | " | " |
| * 随体染色体 Satellited chromosome | | 核型公式: $2n = 24m + 14sm + 2st$ karyotype: $2n = 24m + 14sm + 2st$ | | |

2. 野生大豆(辽 49), 半野生大豆(辽 159), 栽培大豆(黑龙江青豆)的核型比较

核型分析结果表明三者的核型极为相似, 为一变异连续体, 在染色体的总长度上存在差异, 野生大豆(*G. soja*) $62.87 \pm 1.13 >$ 半野生大豆(*G. gracilis*) $53.62 \pm 0.47 >$ 栽培大豆(*G. max*) 50.61 ± 0.97 (表 7)。

表 7 野生大豆、半野生大豆和栽培大豆核型比较

Table 7 Karyotype comparison among *G. soja* sime—wild and cultivated soybean

| 染色体总长度 种 | 类型 1 | 类型 2 | 类型 3 | 类型 4 | 类型 5 | 类型 6 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Type 1 | Type 2 | Type 3 | Type 4 | Type 5 | Type 6 |
| 野生大豆 | 66.22 | 60.34 | 65.47 | 62.59 | 63.43 | 59.22 |
| 半野生大豆 | 53.99 | 52.10 | 54.23 | 53.44 | 53.20 | 52.96 |
| 栽培大豆 | 52.57 | 46.81 | 50.21 | 49.38 | 53.42 | 51.28 |

表 8 大豆不同单倍染色体组长度比较方差分析

Table 8 Haploid total length of chromosome comparewith diffierence species in soybean

| 变异原因 Origin of variation | 自由度 N | 均方 Mean souare | 平方和 Souare | F | F _{0.05} | F _{0.01} |
|-----------------------------|----------|-------------------|---------------|----------|-------------------|-------------------|
| 种间 | 2 | 244.83 | 489.65 | 61.51 ** | 4.46 | 8.65 |
| 重复间 | 5 | 8.25 | 41.27 | 2.07 | 3.69 | 6.63 |
| 机误 | 8 | 3.98 | 31.85 | | | |
| 总和 | 15 | | | | | |

F ** 表示差异极显著。

对三种大豆的染色体长度进行 X^2 测定,表明三者之间的差异是显著的(表 8、9)。

表 9 大豆不同种单倍体染色体组总长度平均比较分析

Table 9 Mean of haploid total length of chromosome compare with difference species in soybean

| 种 | 平均数 Number of mean | $\bar{X}_i-50.61$ | $\bar{X}_i-53.62$ |
|-------|-----------------------|-------------------|-------------------|
| 野生大豆 | 62.87 | 12.26** | 9.25** |
| 半野生大豆 | 53.62 | 3.01 | |
| 栽培大豆 | 50.61 | | |

在 q 检验中差异亦极显著。

3. 大豆染色体 Giemsa-c 带分析

通过对野生大豆,半野生大豆和栽培大豆的 C 带分析,表明三种大豆的 C 带带型相似,带型可分为四组,第一组 12 条染色体具着丝点带,第二组 12 条染色体有一条中间带,第三组 12 条染色体有一端带,第四组 4 条染色体有二条带(图版 3)。说明野生大豆和栽培大豆的 Giemsa-c 带型相似,亲缘关系相近。

三、讨 论

1. 本文采用数量统计方法分析大豆的核型,使染色体小,数目多的大豆核型分析深入一步。这种方法也同样适合于染色体小、数量多的其他植物种。应用这种方法依靠染色体间形态上差别程度来辨认个别染色体,并对其他不能辨认的染色体进行分类。

2. 用数量统计方法进行大豆核型分析,看到三种大豆有很近的亲缘关系,核型都是 $2n=24m+14sm+2st$ 。但三者的单倍染色体组总长度有差别,这种差别是由于种间差异造成的。核型分析表明野生大豆通过走向培育和驯化成为栽培大豆。

3. 在黑龙江野生大豆中,观察到一个具有四个随体的种,支持了野生大豆是栽培大豆的祖先这一学说。因四随体比二随体更原始。四随体野生大豆的发现,也为确定大豆是二倍体种还是多倍体种提供了有价值的资料。

4. 对野生大豆和栽培大豆进行 Giemsa-c 带分析。二者 C 带带型很相似,均有四种带型,并可根据带型将染色体分四组。c 带分析表明,野生大豆与栽培大豆的亲缘关系是相近的。

C 带分析中观察到在同样条件下野生大豆要求 $Ba(OH)_2$ 处理时间最长,半野生大豆次之,栽培大豆最短。说明野生大豆 DNA 含量 > 半野生大豆含量 > 栽培大豆含量,为大豆进化提供依据。

参 考 文 献

- [1] 朱凤绥,1985,植物染色体分带技术汇编
- [2] 李樊学,1985,武汉植物研究 3(4):239-247
- [3] 陈瑞阳,1983,吉林农业科学 4,34-37,297-302

- [4] 郑惠玉,1984,大豆科学 3(1):81
- [5] Ahmad . Q. N 1983 A quantitative method of karyotypic analysis applied to the soybean *Glycine max.* Cytologia 48: 879—892
- [6] Ahmad Q N 1984 The karyotype of *Glycine soja* and its relationship to that of the soybean *Glycine max.* Cytologia 49: 645—658
- [7] Fukuda Y 1933 Cytogenetical studies on the wild and cultivated manchurian soybean. Jpn J Bot 6,489—506
- [8] Ladizinsky 1979 Giemsa staining of soybean chromosome J Hered 70,415—416
- [9] Nirad SEN 1960 Tetraploid soybean Euphatica 9,317—322
- [10] Levan A. K. redga et. al. 1964 Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52,197—200
- [11] Fauru. K. 1965 Identification of chromosome in Human chromosome methodology J. J Yonis. Academic. Press New York London pp 155—186

KARYOTYPE ANALYSIS OF WILD (*G. soja*) SEME--WILD
(*G. gracilis*) AND CULTIVATED (*G. max*) SOYBEANS

Xu Xiangling Li Jilin

(Harbin Normal University)

Zhang Shaojie

(Harbin Veterinary Institute)

Abstract

A quantitative method of karyotype analysis was applied to 16 lines wild, 5 lines seme—wild and 2 lines cultivated soybean. The results showed that chromosomes number of wild, seme—wild and cultivated soybean are all forty. Karyotype is $2n=24m+14sm+2st$. The karyotype is similar and haploid total length differs among the three species. The test of X^2 showed that difference is due to the variant of the species. Therefore, the study of karyotype of soybean is important for evolution study of soybean.

Types of four satellite chromosomes were observed in wild soybean. For evolution type with four satellites were primitive in comparison with type having two satellites, and this will provide an important material to study whether soybean is diploid or polyploid plant. Wild, seme—wild and cultivated soybeans were analysed by Giemsa C—banding technique, and the result showed that their bands similar. The bands type, first group is centromeric bands of 12 chromosomes. The second is intercalary bands of 12 chromosomes. The third is 12 chromosomes with telomere bands. The fourth is two bands of four chromosomes.

Key words Soybean; Karyotype; Giemsa C—band