

辐射诱变的染色体改组类型的鉴别 及其在选育种实践中的应用

生物系 李宝健

在毛主席无产阶级革命科研路线的指引下，我国群众性辐射育种工作已开展起来。伟大领袖毛主席指出：“我们必须打破常规，尽量采用先进技术，在一个不太长的历史时期内，把我国建设成为一个社会主义的现代化强国”。辐射育种是近二十年来随着原子能工业和辐射遗传学研究的发展而逐渐形成的一种育种方法，这种方法是常规育种方法以外的重要育种辅助手段之一。它虽然历史很短，但却已在动、植物和微生物品种改良方面显示出巨大的威力。目前，在开展群众性辐射育种工作的同时，应注意总结经验和从事较系统的理论研究，以便更好地掌握理化诱变因素的应用技术而不断地扩大诱变的效果（特别是控制正突变的诱变率），适当地发挥诱变育种手段在整个综合选育过程中的作用，提高筛选突变体工作的效率以及确定诱变后代筛选群体大小的适合度等等，促使诱变育种工作进一步发展。本文主要就辐射育种过程中关于染色体改组（或染色体畸变）的鉴定和应用，分三个问题综述如下。

一、射线对染色体的作用

染色体是寓于活细胞核中的、在有丝分裂和减数分裂细胞的中期能在显微镜下清晰可见的染色很深的小体。不同的生物种类，其染色体的形态、结构与数目都有其特点，这种特点总的以染色体型来表示。染色体型在生物体世代相传中，虽然不断地发生着不同程度的变异，但却能相对稳定地保持下来，并且具有同化环境中的某些因素而复制自身的能力。由于很早就证明了染色体是活细胞中多数遗传因子（或基因）的集合体，基因按线状方式有条不紊地排列于染色体上，因此，染色体在遗传上的主要作用便引起了重视。人们应用包括各种精密光学电子仪器及高分辨的分析手段（如电子显微镜、X光衍射、显微分光光度计以及复杂的遗传分析方法等）对染色体进行了多方面细致的研究，这些研究证明了大多数生物体活细胞的染色体主要是由DNA（去氧核糖核酸）分子所组成，还有部分的碱性蛋白及残

余蛋白。这一重要的发现，特别是在 Watson 和 Crick 的关于 DNA 分子双螺旋结构理论的推动下，揭开了分子遗传学飞跃发展的序幕，成为目前自然科学理论研究中的重大课题之一。当然，在我们研究染色体学说的最新成果时，必需看到，染色体的遗传作用并不是孤立地进行的，而是与它所在的细胞核、细胞质以及细胞存在的环境条件有极为密切的、复杂的关系。对染色体及其所具有的以自己为样版的复制能力，不能从神秘主义角度去理解，而只能看成是客观存在的一种物质的运动形式。

射线(β —、 γ —、X 光、中子、激光以及紫外线等)之所以能够引起遗传的变异——突变的发生，主要原因是这些因子能够引起染色体的改变(当然还有次要的方面是诱发细胞质基因的改变)。无数的实验证明：电离辐射能通过直接作用或同时通过复杂的间接作用途径，引起生活细胞发生多方面的新陈代谢的改变，而其中染色体是最敏感的成分之一。射线对染色体的作用按其影响范围的水平和大小可分为点突变和染色体畸变两大类。前者是射线通过引起联结嘌呤与嘧啶(如 A—T, C—G 等)的氢键的断裂或在一个键上相邻的胸腺嘧啶碱基之间形成键构成 T—T 二聚物，或引起核酸分子线间之交联，甚至分子内的易位、缺失、倒位等从而改变了 DNA 分子的结构而致使发生遗传的变异。这是基于分子水平上的改组而实现的突变。这种基因突变又称点突变，必须应用系谱分析及分子生物学的分析方法才能发现及加以确定。而染色体畸变则是在细胞显微结构的水平上发生的一种较前者为大的改变，可借助显微镜及辅以遗传分析的方法追踪、发现，鉴定和研究其变化的规律。

射线引起染色体显微水平的改变又可分为三大类：生理影响、数目的变化和结构的改变。生理影响包括：染色体粘着(中期)，染色线团聚现象(间期)，延迟分裂以及我们在早期工作中所观察到的有丝分裂被无丝分裂所代替，减数分裂被连续二次的无丝分裂取代，和可能在 DNA 合成期以前射线处理破坏了 DNA 分子的复制的正常历程等。数目的变化包括形成单倍体、单体生物($2n-1$)、三体生物($2n+1$)和缺对染色体型($2n-1_{II}$)等都较为常见。染色体结构的改组则包括：染色体的易位、倒位、缺失、重复，它们均起源于染色体的断裂。对染色体结构改组的鉴定较为复杂和困难，以下将重点地加以详述。

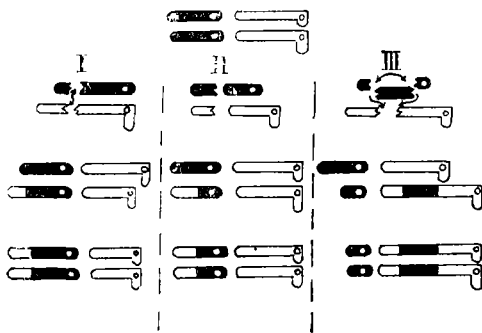
必须指出，在对染色体畸变的规律开展研究以前，对于正常染色体的结构及功能必须要有一个正确的基本的认识，如染色体的种类以及着丝点、端粒、随体、染色线的结构及其细胞生理的意义和特性以及细胞周相的变动规律等。

二、射线诱变染色体结构改组的若干问题

根据射线诱变处理时染色体的不同状态，可将较常见的染色体结构的改组分为三个基本类型，即：染色体改组(在细胞周相间期的 G_1 期处理)，染色单体改组

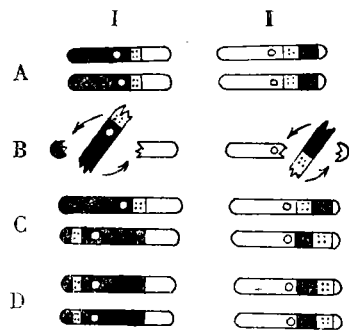
(在S期及以后的G₂期及M期的前、中期处理),多线染色体改组(特殊情况的改组)。由于染色线的数目多少,随不同物种而异,所以,近来以细胞周相S期作为分界线,在此以前,染色体的结构可视为单一的,在这以后,完成了DNA分子及染色体的复制,染色体由二个染色单体组成,其结构是双重性质。Sax指出,射线可作用于一个细胞、一个染色体或一条染色单体。以射线处理后材料固定的时期来看,在30°C的条件下,鸭跖草的小孢子于照射后12—26小时固定可观察到染色单体的变化,如31小时后固定则几全为染色体的变化。处理后固定的时间、条件,处理时细胞所处的阶段和状况以及处理剂量大小的不同,均能诱致观察到发生不同的畸变率及畸变类型,这些都是开展辐射细胞遗传研究所必须密切注意的。

染色体结构的改组主要可分四种情况:易位、倒位、缺失、重复。易位指的是一个核内的二条染色体同时发生断裂,断裂的染色体再以新的方式重新联结起来。易位有单易位和相互易位,单易位仅实现一次交换而且染色体上的一部分(一个断片)丢失;而相互易位时染色体物质并不丢失(图一)。倒位是在一条染色体上的二处同时断裂,断裂片段倒转180°然后再重组而形成(图二)。缺失,是指染色体上失去了包括一个或几个基因的节段(图三)。重复能在二倍体状态内使基因的数目增加,可通过染色体断裂随后出现一个节段的转位等方式形成(图四)。



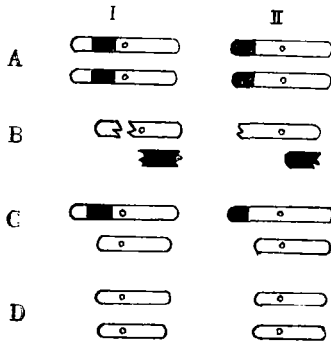
图一 易位的形成

I 为单易位; II、III 为相互易位的两种情况,前者有一小段染色体丢失,后两者染色体物质并不丢失。



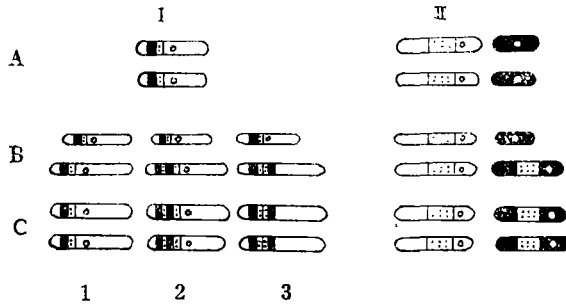
图二 倒位的形成

I 为臂间倒位,着丝点位于倒位节段; II 为臂内倒位,着丝点不包含于倒位的节段之中。



图三 缺失的形成

I 为中间部位缺失；II 为末端缺失。



图四 重复的形成

I-1、I-2为同源染色体之间转移造成的顺向重复；I-3为同源染色体之间转移造成的逆向重复；II为非同源染色体间转移造成的重复。

诱变后染色体的变化一般在细胞分裂的中后期或末期才能观察到。图五、图六所展示的显微镜照相及模式图表示了主要的染色体结构重排类型在细胞分裂的中期及后期的表现。现对染色体改组、染色单体改组及多线染色体改组分别加以说明。

1. 染色体改组有以下三类：(甲)染色体的断裂(图五—2, 图六—1)。染色体末端不足, 在中期形成二个断片(不带着丝点)和一个带着丝点的有缺失的染色体。(乙)染色体的双重断裂。分为：臂内双重断裂亚类(图五—3, 图六—2), 即同一染色体的同一臂上同时发生二个断裂, 在中期具带有短臂的染色体和无着丝点圈。另一亚类为臂间双重断裂(图五—4, 图六—3), 即同一染色体上不同的臂间同时发生了两次断裂, 在中期后期形成带着丝点的染色体圈及无着丝点断片。(丙)两个染色体间的易位, 有：不均称易位(图五—5, 图六—4)指包括着丝点片的易位, 在中期形成带两着丝点的染色体和无着丝点断片, 在后期形成染色体桥与断片。(以上的结构改组均可导致缺失的效果)。均称性易位(图五—6, 图六—5)不包括着丝点片段的易位, 可观察到长短改变的染色体, 这时在一个染色体可发生了缺失, 而在另一染色体可能发生了重复, 如均称性易位片段相等或无特殊标记, 则在有丝分裂时难于加以区分。另外如发生染色体的倒位, 则在有丝分裂时很难加以发现。应该指出染色体的改组往往可影响二个细胞同时发生改变, 而染色单体改组可改变一个子细胞。

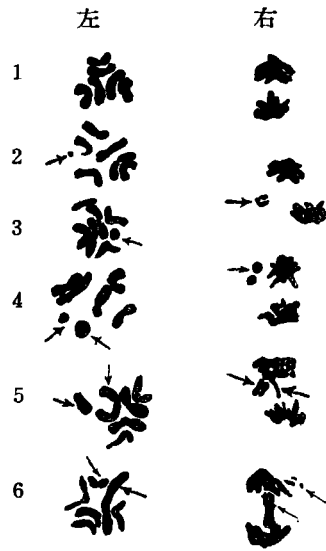


图 五

染色体结构变化(紫鸭跖草小孢子)

左, 中期; 右, 后期。

从上到下: 1. 正常, 2. 断片,

3. 无着丝点圈, 4. 着丝点圈和断片,

5. 双着丝点和断片, 6. 对称互换。

染色体改组				染色单体改组			
类型	间期	中期	后期	类型	前期	中期	后期
1 染色体断裂				6 染色单体断裂			
2 在一个染色体的两个断片				7 两个染色单体断裂			
3 在一个染色体的两个断片				8 两个染色单体断裂			
4 非姐妹交换				9 非姐妹交换			
5 姐妹交换				10 姐妹交换			

图六 染色体及染色单体的改组

2.染色单体的改组主要可分为以下几类：（甲）染色单体断裂（图六一6）。在中期可形成一个带着丝点的缺失染色体与一个断片。（乙）等点染色单体断裂（图六一7）。这时一个染色体的二个染色单体同时在相等的位点上发生断裂，断裂端再分别连接，在后期形成了染色体桥与断片各一条，但这仅仅是断裂端重组的一种情况，即当在染色单体之间发生了非均称性的易位，结果在中期形成带双着丝点的V形断片和无着丝点断片，在后期这种非均称性易位引起形成染色体桥和无着丝断片。其他的由等点染色单体断裂后的重组方式表示于图七。重组的第二种情况（图七一1），其中的染色单体不从新联合起来，结果有二个带有短臂的染色单体和二个断片。重组的第三种情况（图七一2），断裂的其中的一个染色单体从新连接起来，结果形成一正常染色体，一个带有短臂的染色单体和断片。第四种情况（图七一3），形成二个具自由端的带着丝点的短臂的染色单体和一个染色体断片。第五种情况（图七一4），带着丝点的染色单体在自由端联结起来，因而在后期形成一个染色体桥与二个染色体断片。第五种情况（图七一5）是带着丝点的染色单体自由端与不带着丝点断片均联结起来，因而在后期形成染色体桥与单一结构的

断裂		间期	前期	中期	后期
染色体					
染色单体					
均称染色单体断裂	1				
	2				
	3				
	4				
	5				

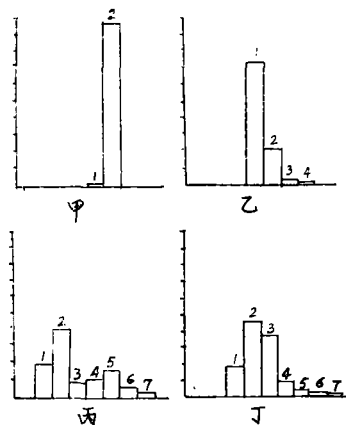
图七 形成染色体及染色单体断裂

断片。以上是对等点染色单体断裂后结构改组的五种可能的实际情况的较详尽的分析，从此可看出，每种突变类型实际上往往都可分为几个亚类，则实际情况往往是很复杂的。（丙）染色单体的二个断裂（图六一—8）。同一染色体的不同臂间各发生一次的断裂。在中、后期可观察到染色体环、断片。（丁）染色单体间的易位：可分为不对称易位（包括着丝点的节段的易位如图六一—9）。在中期可观察到复杂的类似四价体结构，在后期可以形成染色体桥与断片，另外，染色单体对称性易位也可偶而观察到（图六一—10）。

3.多线染色体的改组。在特殊的情况下，如 Darlington 将 трилктстник 在冷冻条件下处理，引起胚乳细胞核中形成多线的染色体，将这种材料处理可观察到多数染色体桥的形成等。

以上分析的仅仅是染色体改组的基本类型的情况，如以这基本情况为依据，便可科学地对所有复杂的实际情况作具体的分析。在辐照时，细胞处于不同的阶段，不同的照射剂量，不同的内在生理条件和外界环境条件以及对受照射后细胞以不同的时间进行固定等，均会引起不同的染色体的畸变类型与发生不同大小的畸变率。因此在开展辐射细胞遗传的研究时必需充分注意并尽量地保持上述所有条件的一致性。例如在间期、前期或前中期细胞阶段进行辐射处理，则可在当次有丝分裂的中、后期观察到其结构重组变化的动态情况，而且只有在这一次的分裂时进行观察才容易获得较为确切可靠的结果。但如果对照射中期、后期和末期的细胞畸变情况

- 甲. 照射后 10 小时。（1）正常二分体；
（2）以染色体粘着为主的各种类型不正常的二分体。
- 乙. 照射后 24 小时。（1）形成染色体桥；
（2）核质聚成一团的；（3）形成染色体断片的；（4）正常二分体的。
- 丙. 照射后 48 小时。（1）大小不均等的二分体；（2）形成三个大小不等的核质团的；（3）形成四个大小不等的核质团的；（4）形成五个核质团的；
（5）不均等的四分体；（6）核质凝成一团块的；（7）正常二分体。
- 丁. 照射后 130 小时。（1）停留于中期的；（2）带有染色体断片的四分体；
（3）带有染色体断片的二分体；（4）正常的四分体；（5）正常的二分体；
（6）形成染色体桥的；（7）核质凝成一团块的。

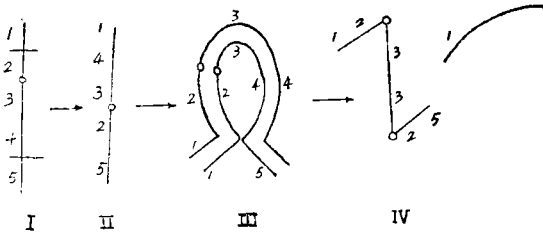


图八 减数分裂 I 中期受射线影响后细胞的变化情况。

作研究，就需要在第二次分裂的中、后期进行，如即时研究则仅可观察到染色体的凝聚现象以及非真实性的染色体桥的图象，但却无产生染色体结构上真正的变化。

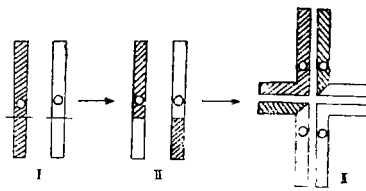
以同一剂量的射线对发芽种子中正处于分裂过程的细胞进行处理，其所能引起的染色体结构改变的程度，远远超过用种子处理的。我们的试验也证明：处于减数分裂的细胞辐射敏感性大大超过有丝分裂的细胞，而处于减数分裂的Ⅰ次分裂中期的细胞，又较处于其他阶段的细胞对射线更为敏感，即此时能产生最高的畸变率和较多的畸变类型（图八）。有些染色体结构的改组，如倒置的发生，在有丝分裂时不易观察到，而且对细胞影响不大。但这种倒置却可在进行减数分裂的花粉母细胞中形成Ω字形的杂合联系，从而形成染色体桥与断片（图九），因而有可能导致细胞的不同程度的损伤或死亡。有的染色体改组，如相等的均称性易位，当在有丝分裂时不易观察到，但在减数分裂联合时可形成井字形异常联系，从而可明显地表现出这种易位的发生（图十）。其他的细胞内在因素如：细胞的生理情况，所处代谢阶段和胞内含自由基的多少，染色体的内部结构和螺旋化程度，染色体与其断裂端的接近距离等，也均可对细胞及其辐射的敏感性程度以及断裂后染色体的恢复能力的大小发生影响，照射当时及照射后细胞所处的环境条件中的各种因素（温度、湿度、空气中氧氮含量比例），其他多种理化诱变剂的综合处理或多种化学防护剂的作用（例如半胱氨酸、MEA、AET等），均能在不同程度上提高或降低射线所引起的染色体重组的频度和改组的深刻化程度。

关于引起染色体改组的细胞水平的原因，Swanson提出“潜在断裂的学说”认为可分三个阶段进行：第一阶段是放射源的能量通过直接和间接的过程转移到染色体上，从而引起染色体的断裂；第二阶段是断裂的染色体再联接的修复过程；第



图九 染色体倒置图。

I和II，有丝分裂。I. 染色体上两个断裂。II. 形成倒置，于减数I中期形成。III. 染色体联合和杂十字。IV. 于减数I后期形成桥与无着丝点断片。



图十 染色体均称性互换

I与II，有丝分裂。III. 减数分裂。I. 在两个染色体上的断裂。II. 染色体断片的均称性交换。III. 在减数分裂联合时形成十字状染色体。

三阶段是重组后染色体的巩固阶段。在实践上我们仅仅可能观察计算染色体改组和断片的数目,但对初次断裂后已修复了的却无法看到,因此第一阶段的染色体断裂过程实际上是可逆的,而上述所列举的内、外界因素对这个可逆过程可发生影响,第二阶段是不可逆的,因为这时完成了染色体的改组。第三阶段的变化结果却可以是多种多样的,染色体较大的改组可致使其中 DNA 分子排列上的较大的改变,从而引起 mRNA 合成过程反常,及后由于酶的改变,细胞的新陈代谢便失去了平衡,严重时甚至导致细胞的死亡。有些染色体的结构变异,如:无着丝点断片及无着丝点染色体圈等,可因失去动力中心而在后代细胞中以微核等形式被消除掉,但如细胞忍受了变异的考验而能继续生活下去,这种变异(如缺失等)便能随着细胞繁殖而代代相传下去,所以不少关于辐射的遗传效应的研究有可能将遗传系谱与细胞遗传学分析结合起来而获得理论上较为满意的答案。

最后应该指出:所有以上的染色体重组的发生过程的机理都可追溯到与分子水平的变化有关。例如染色体之所以能为射线击断,那是由于射线能作用于 DNA 分子上引起其断裂,而修复过程也与分子有关。如最近证实由紫外光引起的 DNA 分子的断裂,可由于在细胞内存在着光激活酶的作用(这种酶在 320—450 \AA 波长光波下便可激活),而使单链点断裂修复,更复杂的断裂也可通过多种酶的作用而得到修复,以上的过程并可在短期内完成,这恐怕就是断裂染色体修复的内在原因。

三、染色体改组在辐射遗传与诱变育种工作中的应用和意义

将诱变处理后代遗传系谱分析与染色体改组的细胞遗传学分析结合起来进行研究,使一些试验结果得到完满的解释,例如 Muller 首次确切地证明了辐射诱变的遗传学效应的所谓 CLB 试验,正是应用了这样的方法和工作原则,从而大大推动了辐射遗传学与育种学工作的发展。

研究染色体改组的情况是一种重要的辅助手段,可帮助我们较准确地、较快地鉴定一种新的诱变因子的诱变效应,或者是确定一种已应用过的诱变剂对于一种新的实验材料的遗传学的作用,如:目前关于激光遗传效应的探讨就是一个新的例子。当我们研究在电离辐射影响下染色体结构改变的规律时,便可以帮助我们去发现这些诱变因子对生活细胞作用过程的实质,而研究通过控制内、外因子从而达到增加有益突变或减少不利突变的规律,就可使我们能更好地掌握诱变育种这一重要的手段,培育更多的优良品种。

在常规育种的过程中(如水稻杂交育种),往往杂交后要经过五代或六代才能获得初步结果。这一方面是由于分离规律的作用,要使杂种后代分离稳定需有一定的代数;另外一个重要的原因是只有经过一定的代数后,杂交亲本的遗传性发生重组的过程才能实现,这时的新品种在一定程度上就有可能综合了二个亲本的优点

并克服两个亲本的缺点。但对杂种后代进行适当剂量的辐射诱变,则往往能使良好的重组形成过程有更多的机率。所以杂交方法与诱变方法相结合好处是很明显的。另外,根据相同的道理,通过辐射诱变也有可能在一定程度上达到稳定第一代杂种优势的效果。

利用射线诱发染色体的改组,还有可能将一个所希望的性状,如抗病性,妥善地从野生型中转移到栽培类型上来,但这种转移需要回避野生型不良因子的移位同时发生。本来异源多倍体中的不同染色体间既不能配对,也不能重组,但通过射线的作用却可实现这种基因的转移。如 Sears 成功地从山羊草(*Aegilops umbellulata*)转移了一个抗枯叶锈病的基因到普通小麦上。

射线诱变还有可能通过使染色体重组从而实现克服旧连锁、建立新连锁,如日本有人用射线照射家蚕,使其第 10 对染色体上的卵色基因 +^b 断裂并易位到性染色体上,使凡是雌性的卵带有色泽,这样便能根据这一标志实现早期剔除雌蚕,提高吐丝能力强的雄蚕的比率,从而达到增产的目的。

另外,利用诱发足够的染色体结构的分化还有可能克服多倍体由于形成多价体而导致的孕性下降现象,促使多价体结构上的二倍化以及利用射线诱发单倍体及非整倍体等。

毛主席指出:“**我们看事情必须要看它的实质,而把它的现象只看作入门的向导,一进了门就要抓住它的实质,这才是可靠的科学的分析方法。**”现在,在群众性的辐射育种研究工作中观察到在诱变的生物体后代中丰富多采的变异类型,上述的由各种放射源诱发产生的在细胞水平上所发生的各种复杂变化,可在一定程度上部分地反映生物体表面变异的内在原因和规律,今后必须进一步弄清这些内在原因和规律。

所有以上不完全的资料还说明了利用辐射诱发染色体改组在辐射遗传理论研究与辐射育种实际应用的意义及作用,我们应根据具体情况有计划地开展这方面的研究,以便更好地配合群众性辐射育种工作的开展。

参 考 文 献

- (1) D.E.李著, 1962, 辐射对活细胞的作用, 科学出版社。
- (2) 李宝健, 1962, 电离辐射对洋葱(*Allium Cepa*)减数分裂各期细胞影响的敏感性的初步研究, 遗传学集刊第1集第49—56页。
- (3) 电离辐射与植物育种, 1963, 科学出版社。
- (4) 伊利沃特 F. C., 1964, 植物育种和细胞遗传学, 科学出版社。
- (5) 空变育种手册, 1972, 科学出版社。
- (6) 李宝健, 1972, 微生物诱变育种的基本原理与方法, 微生物资料汇编第六集151—164页, 科学出版社。
- (7) Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм, 1958, Из-во киосманной л.
- (8) Ионизирующие излучения и наследственность (Итоги науки биол науки в), 1960, Из-во АН СССР.
- (9) Н.Л. Делоне, 1960, Перестройки хромосом, Вызванные ионизирующими излучениями, из книги «Ионизирующие излучения и наследственность»
- (10) Н.П. Дубинин, 1960, Механизм действия ионизирующих излучений на наследственность, Из книги «Ионизирующие излучения и наследственность»。
- (11) Sears, E.R. 1956, The Transfer of Leaf Rust Resistance form *Aegilops umbellulata* to Wheat Brookhaven Symp. Biol. Genet. in Plant Breeding. 9-p. p1—22.
- (12) Woff S. 1963, Radiation—induced Chromosome Aberrations, Columbia University Press.
- (13) Mutation breeding for disease resistance, 1971, Inter Atomic Energy Agency, Vienna.