

激光对细胞染色体作用的初步研究

生物学系植生遗传学教研室*

激光对生物体遗传效应的研究尚处于探索阶段。应用激光处理能引起一些动物培养细胞或某些植物细胞及其细胞器、染色体等的变化。我们在获得激光育种的一些初步结果,并对其遗传效应进行初步分析后,为了进一步了解激光诱变的机理及探讨激光育种的应用前景,初步研究了激光对细胞及染色体作用的某些规律。

一、材料与方 法

选取Alliumfistulosum Linn 头状花序小花的花药为材料,采用半数花药技术原则相同的方法,对激光作用于减数分裂各期细胞进行了观察。用二氧化碳激光器照射,波长为 10.6μ ,光斑半径0.5至1mm,辐照功率密度15瓦/cm²,处理时间1-4秒,照射后的材料经一段时间培养后,分别用3:1的95%酒精:冰醋酸固定。经95%酒精洗涤2-3次后,再保存在75%酒精中,以醋酸洋红或乳酸-丙酸-地衣红染色后制成临时片子。对处理的各期细胞进行了计算并用显微摄影拍摄了染色体的畸变现象。

二、实验结果

1、激光辐射花药减数分裂各期细胞能引起的各种畸变现象
在减数分裂I前期,可观察到大量细胞内染色体在不同程度上发生胶连现象,原

* 本研究承物理系激光组同志共同协作完成,广东省农作物杂优利用协作组在我校工作的二位同志也参加了部份实验工作。

来在核内比较均匀分散的染色体,其结构不同程度地消失(图1),有的甚至形成由染色体团聚而成的圆核,完全看不到染色体的丝状结构(图2),还有的细胞,在细胞质中有染色体团块(图3),有的细胞可观察到核内形成透明的空泡化小区现象等。

在减数分裂I中期,也可观察到染色体不同程度地发生胶连,有轻度的,也有胶连成两个或多个大小不等的团块(图4,5),有的细胞内染色体胶连在一起,组成一个或若干个染色体环(图6),有的形成落后染色体(图7)。

在减数分裂I的后期,可观察到染色体单桥、双桥、多桥和落后染色体(图8、9、10)等。在减数分裂I的末期,可看到染色体单桥、多桥(图11),有的桥刚断开不久(图12),有的由落后染色体形成的一个或数个小核(图13、14、15)。在二分子期尚可见到小核的存在(图22)和核不均等分裂(图23)。

在减数分裂II的中期、后期、末期亦观察到如上述类似的畸变类型,象染色体断片,落后染色体(图16、17、18、19),染色体桥(图17、19、24、25),大小染色体团块(图20)和核不均等分裂(图21)等。在四分子期可看到由于不正常分裂而形成的三分子现象(图26)和染色体胶连,四分孢子变形(图27、28)和多分孢子等。由于不正常减数分裂的结果,在单核花粉期可看到染色体胶连,核出现空泡透明区及花粉变形等(图29)。

为了解染色体畸变类型的分布情况,对畸变类型进行了统计(表一)。由表一可见主要类型为染色体胶连,占染色体畸变总数92.21%,其后分别为染色体桥(3.14%)、落后染色体(2.07%)和不均等分裂(1.438%)等。虽然在对照材料中,也发现一些自然突变的细胞,但与实验组合有显著差异,如在中期,后期、末期的细胞中,对照组畸变细胞数为1.56%,实验组为46.98%。

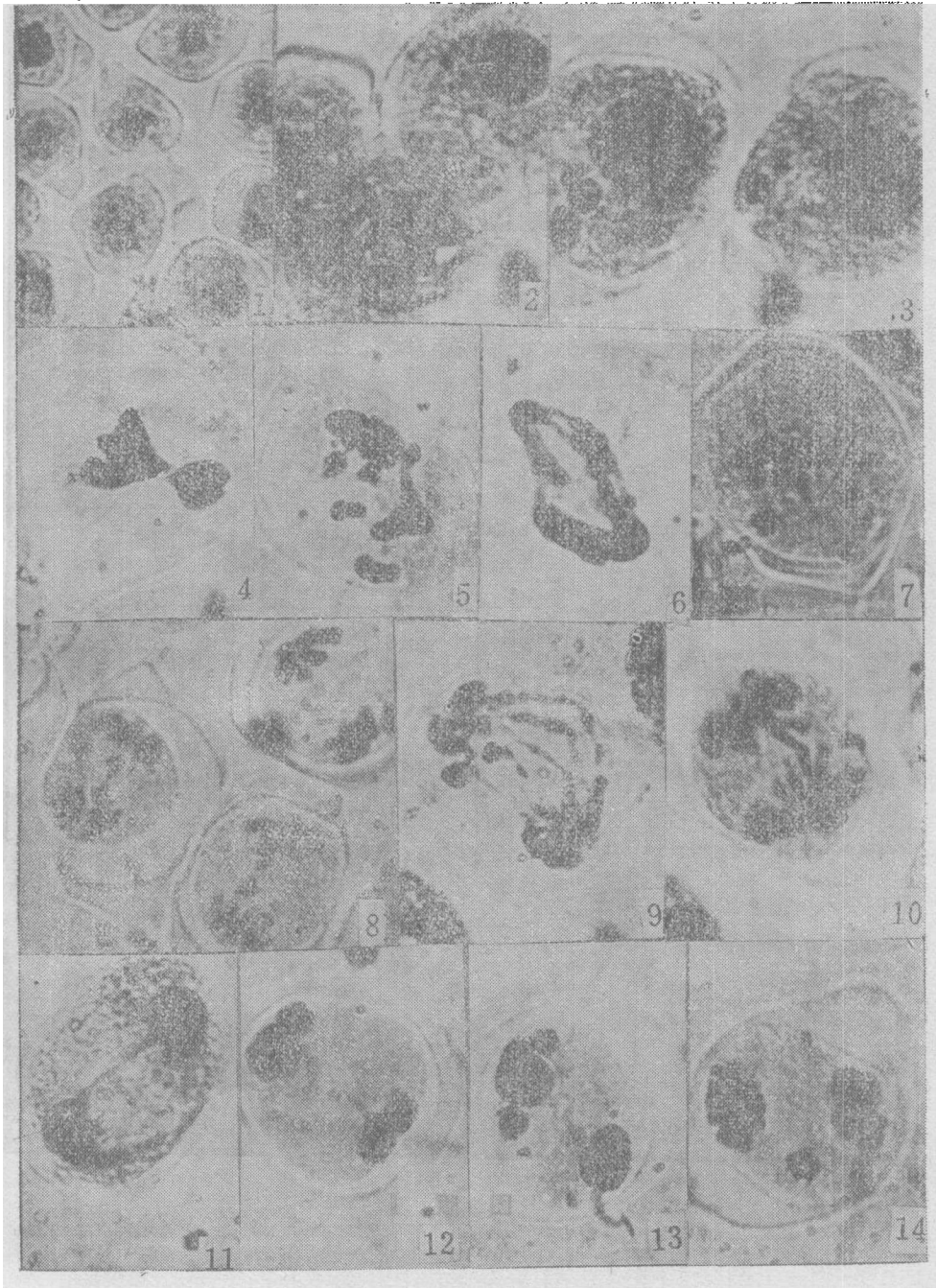
2. 对细胞分裂的抑制作用

处于减数分裂I前期的细胞,经1-4秒处理后,大部分细胞分裂受到严重抑制,有的在辐射后24-72小时,仍停留在原来的分裂阶段,而不能进入以后的分裂各期,如52号小花,花药内的细胞在花束期照射2秒后经29小时,随机统计了496个细胞,均停留在细胞原来阶段,又如26号、31号、33号小花,照射时为细线期,照射3-4秒后经30小时培养,细胞全部停留在原有分裂阶段。在其他时期如减数分裂I、II的中期、后期、末期、四分子期和单核花粉期进行照射后,均可看到相同的抑制分裂的现象。在这些停滞的细胞中,可看到染色体较严重的胶连或如上述的各种损伤作用。在另一些处理的小花中,部分细胞能继续分裂,在其内未发现染色体的严重畸变,如39号小花,在花束期和细线期处理,时间为3秒,处理后经20小时固定材料。随机统计了2073个细胞,其中1679个细胞因为染色体胶连而停留在原阶段,394个细胞进入减数分裂I的中期、后期,在这里可看出激光对每一个细胞的效应是有差异的。

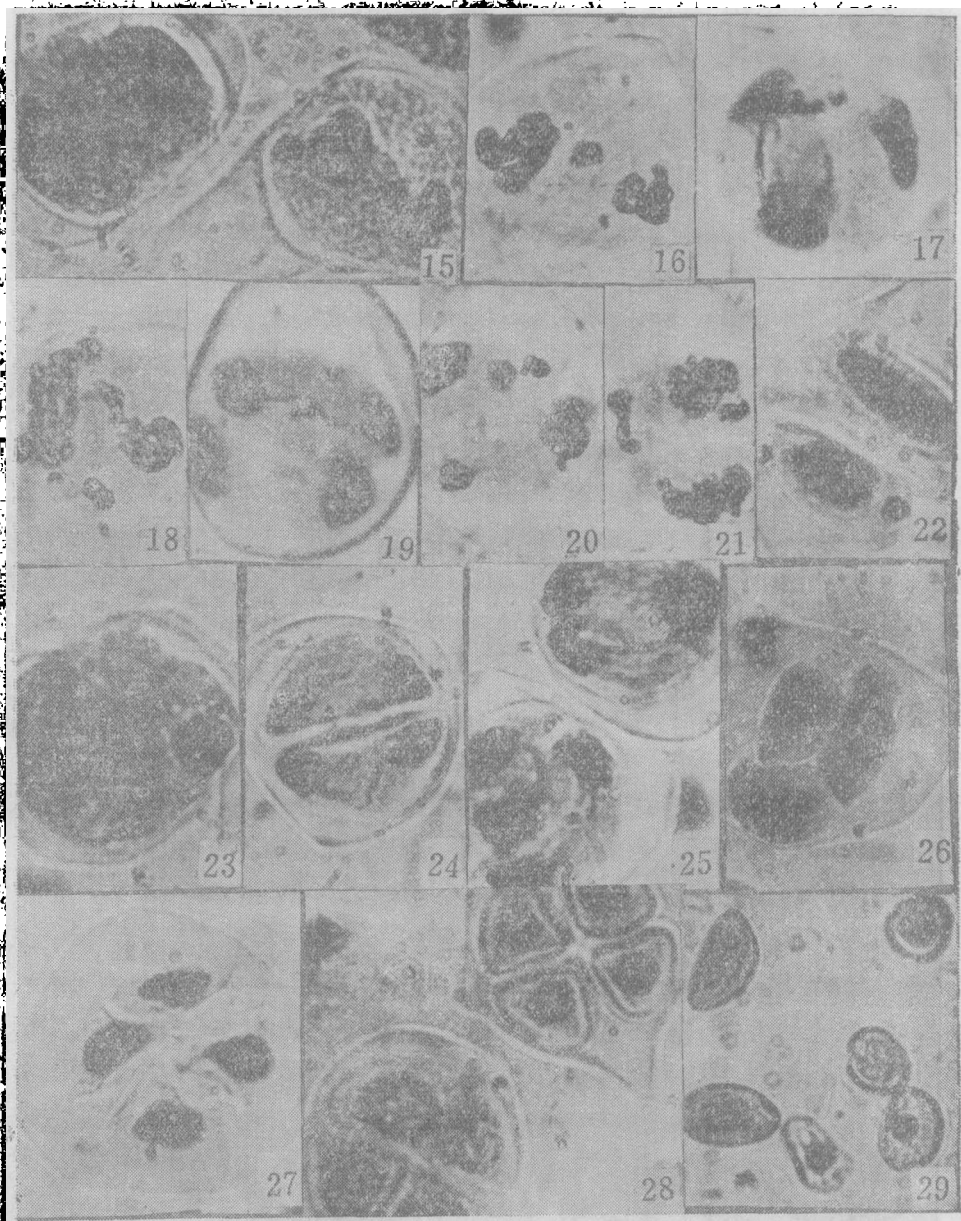
表一、CO₂激光诱发花药减数分裂各期细胞染色体畸变情况

组别	剂 量 (秒)	现 察 时 期 减数分裂第I次、后期、末期、中期	现 察 细 胞 总 数	畸 变 细 胞		畸 变		染 色 体 畸 变 类 型 及 其 百 分 比											
				总 数	%	总 数	%	数	%	数	%	数	%	数	%	数	%	数	%
试 验	1-4	四 分 子 期	3914	1821	46.98	1876	47.93	1730	92.21	59	3.14	39	2.07	6	0.31	5	0.26	37	1.44
对 照	○	单 核 花 粉	4843	76	1.56	87	1.80	42	48.28	○	○	43	49.3	2	2.29	○	○	○	○
试 验	1-4	单 核 花 粉	6362	4197	65.68	4197	65.68	4197	100	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
对 照	○	单 核 花 粉	4407	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
试 验	2,4	单 核 花 粉	2746	177	6.44	177	6.44	177	100	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
对 照	○	单 核 花 粉	4659	89	1.91	89	1.91	89	100	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

* 经事先检查，多数细胞在处理时是处在四分子期。
** 经事先检查多数细胞在处理时是处在单核花粉期。



图版 I



I 插图

激光对细胞染色体作用的初步研究

图版 I 说明

1. 前期 I 染色体不同程度胶连。×450
2. 前期 I 右上角细胞染色体胶连成团, 左下角二个细胞为正常粗线期。×1000
3. 前期 I 在细胞质中二个染色体团块。×1000
4. 中期 I 染色体胶连成两团。×1000
5. 中期 I 染色体胶连成大小几个团块。×1000
6. 中期 I 染色体胶连成一个环。×1000
7. 中期 I 两个落后染色体。×1000
8. 后期 I 三个细胞染色体桥。×1000
9. 后期 I 一个细胞内有三条染色体桥, 并示二个小团块。×1000
10. 后期 I 一个落后染色体。×1000
11. 末期 I 染色体单桥。×1000
12. 末期 I 染色体桥刚断开。×1000
13. 二分子期 三个小核。×1000
14. 末期 I 落后染色体形成的一个小核。×1000

图版 II 说明

15. 末期 I 左边细胞分裂正常, 右边细胞染色体胶连成大小不等三团块。×1000
16. 中期 II 中部落后染色体团块。×1000
17. 后期 II 染色体分成三团, 并示两条染色体断桥。×1000
18. 中期 II 两团落后染色体。×1000
19. 末期 I 一条染色体桥和一个染色体断片。×1000
20. 二分子期 染色体胶连成大小团块。×1000
21. 二分子期 染色体分成大小三团。×1000
22. 二分子期 核外小核。×1000
23. 二分子期 染色体分成大小两团。×1000
24. 末期 I 二个子细胞的染色体桥。×1000
25. 末期 I 右边细胞染色体分成三团, 有几条染色体桥。左边细胞有一条染色体桥。×1000
26. 三分子。
27. 四分子期 染色体团聚, 子细胞形态皱缩。×1000
28. 四分子期 左边为正常四分子, 核具一定结构。右边为异常四分子, 染色体团聚。×1000
29. 单核花粉期 左边三个较大的为正常花粉, 右边四个为异常花粉, 二个变形, 二个染色体团聚。×1000

三、討 論

关于激光对染色体作用的研究, Roumbs, Chamberlain et al(1963) 首先观察到用红宝石激光照射培养细胞, 发现有少量的具双着丝点及染色体桥的畸变, 以后 Bern et al(1969)观察到染色体变形, 在微束光斑点形成染色体透明区等变化。

我们为了明瞭激光对育种遗传效应的机理, 较系统地观察了CO₂激光对染色体的作用。本实验主要内容是研究了激光诱发染色体发生畸变的各种类型。从结果中可以认为, 激光确能引起染色体产生明显的畸变。过去在x光、r射线等作用下所产生的各种畸变类型如染色体桥、落后染色体, 不均等分裂、微核、多分孢子以及多种类型花粉的出现等, 几乎都可在CO₂激光照射后出现, 而且其诱变率较高, 胶连现象特别明显。因此可以确信: 激光对染色体是具有诱变作用的。由于染色体是遗传因子的主要载体, 染色体的变异往往是生物体遗传性改变的内在的原因, 由此看来, CO₂激光作为育种上一种新的诱变因素是有根据的。至于CO₂激光对细胞诱变的机理, 则可能是多方面的, 尚需进一步探讨。

激光照射能抑制细胞的分裂已为 Broum and Einkle (1967), Wolff et. al (1967)所报导, 本实验结果亦证明这一效应的存在, 但激光的抑制效应在不同细胞是不尽相同的。不同分裂期的细胞, 处理效果也不同。即使是同一分裂期的细胞, 照射后, 亦存在一定差异, 有些完全停止分裂, 有些能继续分裂, 这种效应不同的内在机理还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 《突变育种手册》, 科学出版社(1972年)
- [2] 激光对水稻诱变试验简报, 中山大学生物系植生遗传学教研室, 中山大学学报(自然科学版2期74—77页)(1974年)
- [3] 激光照射和其它理化处理诱变水稻试验的进展情况简报, 中山大学生物系植生遗传学教研室, 中山大学学报(自然科学版3期114—116页)(1974年)
- [4] Bloom, W., Zirkle, R. E., and Uretz, R. B., 1955. Irradiation of Parts of Individual Cells. II. Effects of Chromosomal and Extrachromosomal Irradiation on Chromosome Movements, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 59:503.
- [5] Brown, D. Q and Zirkle, R. E., 1967, Action Spectra for Mitotic Spindle Destruction and Anaphase Delay Following Irradiation of the Cytoplasm with an Ultraviolet Microbeam, *Photochem. Photobiol.* 6:817.

-
- (6) Induced Mutations in Plant. 1969. IAEA.
- (7) Rounds, D. E., Chamberlain, E. C., and Okigaki, T., 1965. Laser Radiation of Tissue Cultures. Ann. N. Y. Acad. Sci. 122:713.
- (8) Woff, E. G., Fives, D. M., and Klein, R. M., 1967, Interference by near Ultraviolet and Green Light with Mitosis in the Onion Tip Meristem, Bull. Torrey Bot. Club. 94:411.
- (9) Saks, N. M; 1971. Applications in Medicine and Biology. vol. 1.