

激光对细胞染色体作用的初步研究

中山大学生物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

选取葱的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10.6微米,光斑半径0.5至1毫米,辐照功率密度15瓦/厘米²,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)。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

* 本研究承物理系激光组同志协作完成,广东省农作物杂交利用协作组在我校工作的二位同志也参加了部分实验工作。

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(新)	观察时期	观察细胞总数	畸变细胞		畸变		染色体胶连		染色体桥		落后染色体		染色体环		核外染色 体、小核		不均等分裂, 多分子等	
				总数	%	总数	%	数	%	数	%	数	%	数	%	数	%	数	%
试验	1~4	减数分裂 第I次、 第II次	3914	1821	46.98	1876	47.93	1730	92.21	59	3.14	89	2.07	6	0.31	5	0.26	37	1.44
对照	○	的 中期、末 后期、末 期	4343	76	1.56	87	1.80	42	48.28	○	○	43	49.3	2	2.29	○	○	○	○
试验	1~4	*四 分 子 期	6362	4197	65.68	4197	65.68	4197	100	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
对照	○		4407	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
试验	2,4	**单 核 花 粉	2746	177	6.44	177	6.44	177	100	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
对照	○		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。

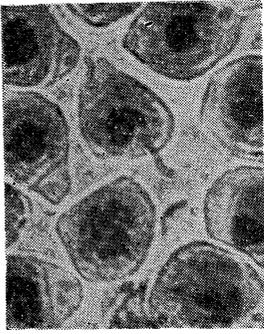


图 1



图 2

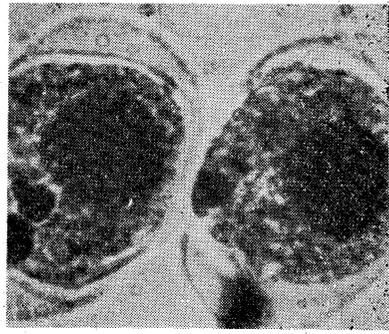


图 3



图 4



图 5



图 6

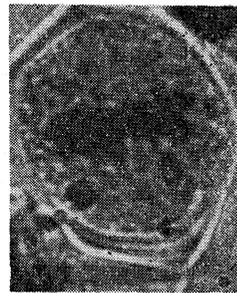


图 7

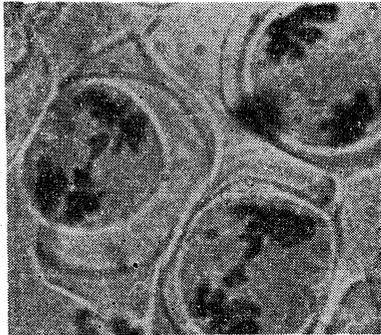


图 8



图 9



图 10

图 片 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, 在细胞质中的二个染色体团块(1000×); 4—前期 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, 三个细胞的染色体桥(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×)



图 11



图 12

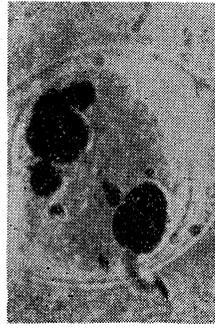


图 13

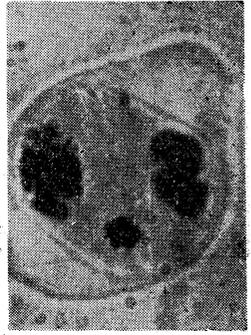


图 14

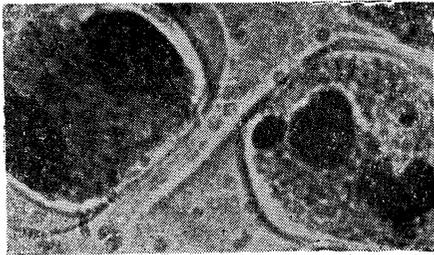


图 15



图 16

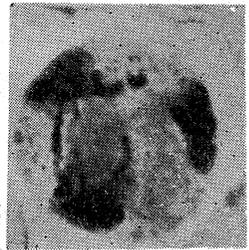


图 17



图 18



图 19

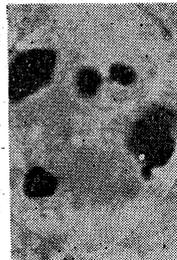


图 20



图 21



图 22

图片说明

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×); 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 II, 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×);



图 23



图 24

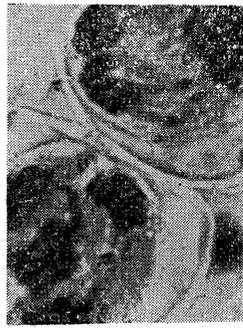


图 25



图 26



图 27



图 28

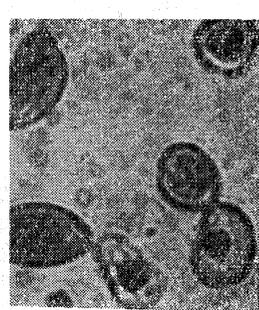


图 29

23—二分子期,染色体分成大小二团(1000×); 24—末期 II,二个子细胞的染色体桥(1000×); 25—末期 II,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,核具有一定结构; 29—单核花粉期,左边二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×)

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, 分孢子变形(图 27、28) 和多孢子等。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 90.21%, 其下分别为染色体桥(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五秒后经 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。

三、讨 论

我们为了明了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能引起染色体产生明显的畸变。过去在α光、γ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原因,由此看来,激光作为育种上一种新的诱变因素是有根据的。CO₂激光对细胞的诱变机理可能是多方面的,尚需进一步探讨。

* *

(上接第19页)

干涉测量方法所能达到的精度应当是很高的,事实上,由于设计条件或被测光学元件内部质量不均匀甚至残有某种球面度的影响,亦会导致干涉条纹弯曲,因而直接影响仪器的测量精度。

平行度测量

对于零件直径<95毫米,厚度<140毫米的情况,仪器给出的平行度测量精度≤1"。一个两端厚度分别为 h_1 和 h_2 ,长度为 d 的被测零件,如果在其上能看到 m 个干涉条纹,按照光程关系可有:

$$h_2 - h_1 = \frac{m\lambda}{2n}$$

式中 n 为零件折射率, $\lambda=6328$ 埃。

另外,可用下式表述两个不平行平面间的微小角度:

$$\theta = \frac{h_2 - h_1}{d}$$

由此导出测小角的关系,并注意到把式中的弧度换算成角秒,即为:

$$\theta'' = \frac{m\lambda}{2nd} \cdot \rho''$$

式中 $\rho''=206265''$ 。

* *

(上接第40页)

这受到了石英管壁极限功率负载的限制。尤其是灯在聚光腔内工作时,管壁的极限负载大为降低。根据经验,在腔体内自然冷却条件下,要获得较长的工作寿命,其管壁的平均功率负载得低于3~5瓦/(厘米)²。对于水冷重复率脉冲氙灯,管壁平均功率负载可达100~300瓦/(厘米)²。工作寿命要达百万次以上,一般运用在150瓦/(厘米)²以下。由于目前使用的条件相差很大,冷却情况也很不一样,主要还得在实践中确定。