



## 植物细胞分裂和染色体形态

李正理

(北京大学生物学系)

植物染色体形态大致关系到三个方面：细胞遗传学、细胞分类学和染色体各种鉴定。历来染色体的研究多结合遗传性状的传递和变异，例如染色体结构的变化（缺失、重复、倒位和易位）与数目的变化往往就反映出不同的遗传性。另一方面，应用染色体变化，探讨植物的演化与分类，也已是染色体形态的研究的一个重要部分，但是这一领域在我国，目前尚处于空白状态。至于染色体的鉴定应用在组织培养和细胞生理的研究，则也有它的显著作用。

植物细胞学自上一世纪前中期提出“细胞学说”（1838, 1839）以来，很多工作者从不同的角度来阐述细胞的组成和生长，并逐渐区分出细胞生理和细胞形态。但是到了近年又认识到很多细胞形态的问题，需要有生理生化的深入研究，而细胞生理生化的工作，则又赖于细胞形态的基础，二者又渐趋向结合在一起。

就以细胞的有丝分裂为例，过去一直强调分裂的时期，并将之分为前期、中期、后期和末期，而对分裂和下一分裂之间的所谓分裂间期，并不重视，还错误地称为静止期。及到五、六十年代以后，才逐渐明了细胞的分裂正是在这分裂间期所决定的。所以现在将分裂间期特称为代谢期，这也更能说明DNA活动的情况。平常物理处理或化学诱导等最敏感的，也是在此时期，而不是已在分裂的时候。目前已充分肯定，细胞分裂的关键主要是DNA的生理生化变化，而不是后来已在形态上表现出来的一些现象。

这里将根据近年在染色体形态方面的一些进展，略谈一点肤浅的认识。

### 一、 发展历史

最早看到染色体这种结构的是德国植物胚胎学家 Hofmeister，他于1848年报道在紫露草 (*Tradescantia*) 的小孢子母细胞分裂过程中看到有凝聚和分散的小圆滴状结构，但那时不称为染色体。及到1884年，时隔三十多年以后，才由 Waldeyer 将这种结构称之为染色体 (Chromosome)。自后在动物和植物的细胞分裂中，都观察到这样的结构。

及到 Wilson 的《细胞的发育和遗传》第二版刊行（1900），他总结了以前有关细胞形态的大量资料，并对染色体形态和结构作了全面的描述，奠定了现代染色体形态学的基础。例如当时他根据着丝点的位置，将染色体分成各种类型，以及提出中央着丝点，端着丝点等等名词，一直沿用到现在。

后来在二十年代，一直到三十年代，很多植物细胞工作者从事各种植物体细胞和生殖细胞染色体数目的观察。这一阶段基本上将所有的经济植物（例如小麦、玉米、洋葱等等）的染色体数目都搞清楚，还结合了一些地理分布的研究。到了四十年代，染色体计数和植物染色体数目变化（倍性关系）的研究，达到了高潮。1945年 Darlington 和 Janaki Ammal 将这些大量资料总结在《栽培植物染色体集》。此书罗列了已查清的各种植物的染色体基数和二倍体数，以及地理分布等。

从多年工作的资料积累中发现，植物的各科、属、种，或甚至于变种之间的染色体数目，可有一定关系，并且这些数目还和地理分

布, 生长环境及其他因素而发生变化, 特别是植物染色体的数目与植物的演化与分类更有密切的关系。这就逐渐形成了植物分类学中比较活跃的一个分支——细胞分类学。1955年Darlington和Wylie重新修订了上述一书, 改书名为《有花植物染色体集》, 并加进了1945—1955年间的一些资料。同时, 细胞分类学的研究到这时已是相当发达, 有的已转向植物类群的DNA分析和进行种间杂交等工作。这一时期, 美国的很多植物学方面杂志, 发表了大量的资料。其他国家, 如日、英、法、德等国家的研究工作也不少, 但在我国, 这方面的研究工作还只在有些单位零星开始, 至今也很少这方面的报道。1950年德国Tischler也以德文出版了一本《植物染色体集》, 内容与Darlington们的二书大致相似。

除了上述三本染色体集可以查阅各种有花植物的染色体数目以外, 后来尚有苏联Federov (1969) 的《有花植物染色体数目集》和荷兰Moor和Cave(1974)的《植物染色体索引》。七十年代以来《Taxon》分类学杂志上, 专辟一栏, 由Löve和Löve主持, 登载世界各地陆续报道来的各种植物的染色体数目。

不过, 目前国内一般能看到的是Darlington和Wylie(1955)这一书。这本书也比较全面地搜集了有关植物各科、属、种(及变种)的染色体基数( $X$ ), 体细胞二倍体数( $2n$ ), 经济利用价值和地理分布等等资料。特别值得提出的, 书中所列举的植物染色体数目后面, 都有相应的原始文献, 可以用作进一步深入研究的参考。

虽然目前对于许多经济植物的染色体数目, 基本上都已有所报导。但是就现在所知, 世界上的有花植物种类繁多, 据估计有25万到35万(各家意见尚不一致)。从有花植物染色体集上所记载的大约也只不过现存有花植物的百分之十几。并且很多计数只是根据几株, 或甚至于一株植物上所采取的标本。这样, 不仅就现存的有花植物的染色体数目的了解差距还

很大, 而且一种植物的染色体数目究竟有否变异? 有多大程度的变异? 除了少数几种植物之外, 也还都不清楚。尤其在我国的, 如果结合我国比较丰富多样的一些植物, 进行这方面的工作, 当是很有广阔的前景。

## 二、有丝分裂

高等植物有丝分裂和减数分裂时, 染色体都可表现出各种形态结构的变化。减数分裂在有花植物中, 只是生殖阶段的大、小孢子母细胞产生大、小孢子时发生的一种分裂。这种分裂在植物的整个生活史, 出现的时间虽然很短, 但是这在细胞遗传的研究和作物良种的培育中, 都有非常重要的意义。

植物体的细胞分裂主要的是有丝分裂, 很多植物还可以通过这种分裂, 繁殖后代(无性繁殖), 而且近年由于体细胞培养, 原生质体的融合等手段, 不仅增加了繁殖, 还由此可以改变了遗传性状。至于植物细胞的代谢、分化等方面的研究, 也多考虑到有丝分裂。

植物体的成长, 主要由顶端分生组织细胞的不断分裂和分化, 然后形成各种组织和器官。细胞的有丝分裂过程, 不论在植物体内或人工离体培养下, 基本上是一样的。

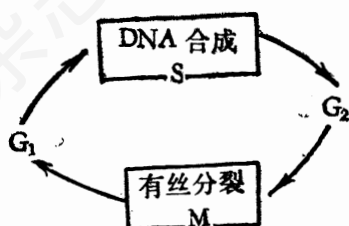
平常植物体的细胞大致可以分成二类: 一类细胞可以不断地保持分裂的能力, 就是平常所说的胚性细胞, 或叫分生组织细胞。另一类细胞则多少已经分化了, 表现出很少或没有什么代谢活动。细胞分裂一般只在前一类的细胞中发生。不过, 后一类的有些薄壁细胞, 在某种特别条件下, 也可能重新发生分裂。最明显的例子, 就是某些薄壁组织细胞(例如烟草茎的髓细胞), 在人工培养下, 又能解除分化(反分化), 重新进行有丝分裂。

前面已谈到, 对于细胞的生活周期(或叫繁殖周期, 或生活史), 过去十分强调细胞的分裂, 后来才发现这整个周期中, 最重要的倒是在不分裂的阶段(代谢期)。这时染色体本身的活动非常活跃, 只是在光学显微镜下无法

看到罢了。其中包含了整个细胞代谢的控制和为下一阶段染色体分裂的DNA复制。

在这细胞生活周期中，大致可以分成二个阶段：生长阶段和分裂阶段。这生长阶段就是以往说的分裂间期（代谢期）。这一阶段所占的时间远比分裂阶段要长。各种生物的细胞生活周期的长短，差异很大，同时还受代谢活动的影响，这种差异主要也就在生长阶段的长短。这一时期最明显的特征为下一次有丝分裂以前的DNA合成，所以又称为合成阶段。

一般将生物的细胞生活周期全过程划分为四个时期： $G_1$ 、S、 $G_2$ 和M，并可简单的图解如下。



由上可以看到，过去所说的分裂间期，是包括了 $G_1$ 、S和 $G_2$ 的合成阶段。目前已认识到，要控制细胞的各种遗传性状，关键是在细胞分裂前的这几个时期。到了细胞分裂时，已是细胞生活周期的后期，影响就比较少了。当然，在分裂时还可利用种种手段，改变染色体的结构，而且也能抑制分裂时纺锤体的正常形成，诱导出多倍体等等。

植物染色体的变异，主要受 $G_1$ 和 $G_2$ 二个时期所控制。这些控制决定了细胞能否从 $G_1$ 进行到S，或 $G_2$ 到M。例如长期低剂量的电离辐射损害，或其他的抑制作用，基本上是干扰了 $G_1$ 和 $G_2$ 时期的活动。

关于高等植物的细胞生活周期的长短，各种植物很不一样，而且很受外界环境因素（特别是温度）的影响。还有，即使同一材料，各人观察的结果也相当不一致。例如蚕豆的根尖分生组织细胞的一个生活周期，有的认为30小时，有的24小时，有的17小时，而最短的则认为只要8小时。这种差异可能是由于试验时的温

度不同所致。有人应用饲入氘化胸苷（ $^3H$ -thymidine）示踪的方法，从大豆根尖的分生组织细胞中计算出一个细胞生活周期约需18.5小时，其中 $G_1$ ，4小时；S，9小时； $G_2$ ，3.5小时；至于有丝分裂（M）的全过程为2小时。一般认为分生组织细胞的生活周期约需17—32小时，其中有丝分裂（M）约为1.5—4小时。

有丝分裂（M）中的四个时期：前期、中期、后期和末期的长短，观察结果也有分歧。有的认为末期最长，前期次之，中期又次之，后期最短，但也有的认为前期最长，中期最短。从压片检查染色体，一般可看到中期和后期的图象是比较少。

### 三、染色体形态和组型分析

#### 1. 染色体形态

染色体组成的基本单位在分裂间期是一系列超微细丝。一旦细胞开始分裂，这种染色体缩短，并在螺旋时增大了体积。到了有丝分裂中期，染色体就可以在相差显微镜下看到，或者经过固定以后，可用品红，或洋红，或地衣红等染色，在普通光学显微镜下观察。

染色体由二条染色单体结合形成，有一共同的着丝点。着丝点上连接着纺锤丝。有的动物（如果蝇）和植物（如菜豆）的某些细胞的染色体可以由好多条染色单体组成，特称为多线染色体。

通常每个染色体具有一个着丝点（主缢痕）。着丝点是大多数染色体上最明显的结构，而且在某一染色体上的位置是恒定的，但是各染色体之间是不一样的。这样，为描述每一组染色体提供了很有价值的标记。

由着丝点将染色体分成两个部分，特称为臂。这两部分有长有短，长的一段称为长臂，短的称为短臂。如果着丝点恰好位在中央，则两臂相等，称为等臂。

平常鉴别染色体，除了染色体的长度以外，主要根据着丝点的位置。如前所说的，

Wilson 早在本世纪初, 就按照着丝点的位置不同, 将染色体分成各种类型: 具中间着丝点染色体, 具近中间着丝点染色体, 具近端着丝点染色体, 和具末端着丝点染色体。最后一种染色体, 由于着丝点在末端上, 所以染色体只有一个臂。

有的染色体上, 除了着丝点以外, 在一臂的一端尚有一种缢痕, 称为副缢痕, 并将末端分出一小段或一小粒, 特称为随体。次缢痕多与核仁连接在一起, 所以又叫做“核仁组成中心”。

一组染色体中, 具有随体的染色体不多。一般只有1—2个。每一种植物, 具有随体的染色体数目虽然比较恒定, 但是平常根据随体鉴定染色体时, 要注意副缢痕在有丝分裂中常有变化。在早中期时, 随体可由细长的“随体柄”连到染色体臂上。这种连接在压片时很容易断裂, 因而失去随体。到了中期时, 特别经过预处理的, 随体柄可以变得很短, 这样就很难看出有没有随体。

染色体主要由DNA分子组成, 带有基本的遗传性。至于DNA和核蛋白如何组成一个完整的染色体, 现在还不清楚。通过电子显微镜下的观察和组织分析, 从形态上看, 目前有二种理论: 多线理论和单线理论。

多线理论认为染色体是由许多相同的线束(或叫纤丝)组成。线束的直径约为3—50毫微米( $\mu\text{m}$ ), 通常为10毫微米( $\mu\text{m}$ )左右。不过这种线束的直径可由于外界条件的不同而发生变化。

另外一种理论, 单线理论, 认为染色体中的二个染色单体, 每一个只含有一条非常折叠和卷曲的染色质纤丝。这种纤丝有的认为是由二套DNA分子组成, 有的认为就是一条双螺旋的DNA分子。目前多倾向于单线理论。但究竟是否如此, 尚有待于更深入的研究。

至于各种有花植物的染色体在中期时的大小, 差异可以很大。例如单子叶植物中的迥龄草(*Trillium*), 染色体很大, 长可达30微米。

其他如紫露草、百合、黑麦、洋葱等等, 都有较大的染色体。双子叶植物中也有较大的, 例如芍药、鬼臼等。小的染色体长度可以不到1微米, 例如景天科的景天, 莎草科的油莎豆, 染色体都很小。一般染色体的长度, 大约在5—8微米之间。

有花植物的各种植物的染色体长度、大小, 没有一定的规律。各科各属之间, 有的有一定系统关系, 有的尚未了解。大致说来, 裸子植物中的染色体长度比较均匀, 大小比较一致, 而单子叶植物, 有的植物具有大的染色体, 有的较小, 变异较大。双子叶植物中, 大多数植物的染色体形状较小。

不同科、属的植物, 由于染色体大小差异较大, 所以即使染色体数目相同, 染色体的数量可以相差很大。例如紫露草和蚕豆的体细胞的染色体数目同为 $2n=12$ , 但是紫露草的核物质为1180立方微米, 而蚕豆的只有510立方微米。

植物染色体的形态, 一般比较恒定, 是受遗传因子的控制。但是在植株生长过程中也可受很多因素的影响而发生变化, 制片观察时, 需要考虑到这些变异。其中较显著的有: (1) 植株中染色体大小可随着植株的生长发育的阶段而不同。平常生长旺盛的, 细胞分裂速度快, 形状可能较小。(2) 植株各部分细胞中的染色体大小也并不一致。根尖细胞中期时的染色体, 要比茎端同时期的染色体较细较长。

某一植物细胞中所有的染色体的大小和形状大致相近的(仍有差别), 称为等形染色体, 例如紫露草的染色体。如果细胞中所有染色体显然可以分成大小二类, 或者可按大小次序, 从大(有的很大)到小(有的很小)排列成一定的系列的, 则称为不等形染色体, 例如丝兰, 龙舌兰, 芦荟等。这种差异已成为植物分类学上一种非常重要的鉴别特征。

## 2、染色体组型分析

各种植物都具有一定的染色体组型(Karyotype), 而且有一定亲缘关系的属、种之

间,也常可表现出它们在染色体形态上的相似性。因此植物染色体组型分析已成为研究植物的演化和分类的一种重要手段。

每一细胞中的染色体可以由一组或几组染色体组成。一组的染色体数目可有2—13个,或者更多。这样的一组染色体数目,称为基数,以 $X$ 表示。

植物的生殖细胞(卵和精子)中,各有一组染色体,卵受精后,二组同样的染色体结合。所以通常植物体细胞中的染色体即由二组同样的染色体组成,称为二倍体,例如大麦的体细胞,具有二组同样的染色体,每组有7个, $2n(2x) = 14$ 。平常也可有单倍的或多倍的植物。尤其是一些栽培植物,往往有四组染色体组成,这种称为四倍体,例如烟草、马铃薯都是四倍体, $2n(4x) = 48$ 。

通常用 $n$ 表示染色体的倍性。不过,农业上将栽培的多倍体作物都看作二倍体,例如四倍体棉花[ $2n(4x) = 52$ ],六倍体普通小麦[ $2n(6x) = 42$ ]都当作二倍体。因此在花药培养上,将它们减半数目的染色体的小孢子,培养成的植株,就叫做单倍体植株。这样,为了不至于和一般习惯用法混淆,现在常常将多倍体作物给以二种标记,例如陆地棉为 $2n(4x) = 52$ ,硬粒小麦为 $2n(4x) = 28$ ,普通小麦为 $2n(6x) = 42$ ,燕麦为 $2n(6x) = 42$ ,马铃薯为 $2n(4x) = 48$ 等等。

染色体组型分析的范围,各人理解也不很一致,有的将植物染色体的组数(倍数)变化也包括在内。而现在则多着重在基数( $x$ )染色体的分析。例如黑麦的基数染色体有7个( $2n = 14$ ),即将此7个染色体进行种内(变种)或种、属间比较分析。染色体组型分析常用二项标准:染色体相对长度和着丝点位置。

染色体相对长度: 一组中的几个染色体长度常不一样。过去观察这种差别,就利用(根尖或茎端)有丝分裂中期的染色体,不经过预处理,在光学显微镜的油镜下,用测微尺直接度量,或用照相放大以后,剪下各个染色

体轮廓,比较各个染色体的长度。这样所得数值为绝对长度。

近年则多主张以一组中的各染色体的相对长度作比较。因为即使同一植物的染色体,从前期到中期,缩短的程度前后可能不完全一致,就是早中期与中期染色体的长度变化也有不同。而且为了更好地使染色体缩短,散开,易于观察,目前都用冷冻或各种化学试剂进行各种预处理(前处理)。这样,早已不是染色体原来真正的长度。不过,这是假定各染色体都起同样的缩短变化。事实是否果真如此,也有提出怀疑的意见。这种预处理要严格掌握,不能使之缩短过度,否则误差可能更大。

着丝点位置: 每组中的染色体,可按照着丝点的不同位置以图表示,这种称为染色体组型图(见图1)。

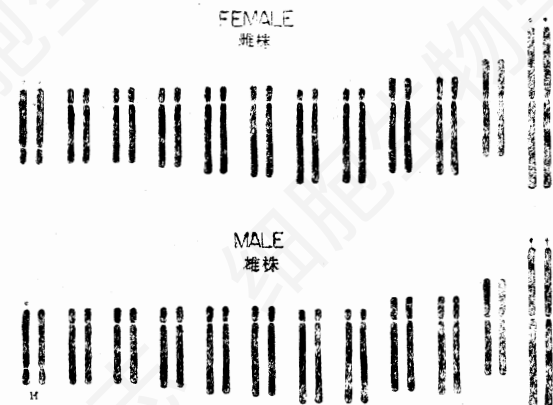


图 银杏的雌株和雄株的染色体组型

银杏是一种雌雄异株植物,雌株和雄株的染色体数目都是 $2n = 24$ ( $n = 12$ )。其中都有一对较大的和较小的具近中间着丝点染色体(见上图),其余10对都为具近端着丝点染色体。雌株中有一对染色体具有随体,而雄株则只有一个染色体具有随体。

近年对着丝点的命名,已比较趋于一致,在作染色体组型分析时,大都采用Levan等(1964)的分类命名方法。这些命名法基本上还是按照1928年Wilson的命名法(见前),将着丝点的位置,根据臂比( $r$ )来表示。

如以  $C$  表示染色体的全长;  $l$ , 为长臂;  $s$ , 为短臂。长臂和短臂的臂比为  $r$ ; 长臂和短臂的差分为  $d$ , 则可得下面一些简单的公式表示:

$$r = \frac{l}{s} \quad d = l - s$$

两臂之间的比例还可用“着丝点指数”(  $i$  ) 表示:

$$i = \frac{100s}{C}$$

他们根据臂比 ( $r$ ) 的数值, 将染色体的着丝点位置划分出两点和四区: 中间点 ( $M$ ),  $r$  值 (臂比) 为 1.0; 中间区域 ( $m$ ), 1.0—1.7; 近中区域 ( $sm$ ), 1.7—3.0; 近端区域 ( $st$ ), 3.0—7.0; 末端区域 ( $t$ ), 7.0— $\infty$ ; 和末端点 ( $T$ ),  $r$  值为  $\infty$ 。

作染色体组型分析时, 除了上述的鉴定特

征以外, 尚需观察染色体是否具有随体和副缢痕 (如存在) 的位置。

染色体组型分析, 多用体细胞有丝分裂中后期的染色体。这可用根尖压片进行观察, 也可用茎端 (实际为叶原基或幼叶) 的分裂细胞, 这在树木的细胞分类学中应用较广。另外也可利用小孢子分裂成二核时的染色体图象, 由于这时染色体数目只有体细胞中的一半, 更便于观察。还有裸子植物可利用其胚乳 (雌配子体) 的单倍染色体。至如被子植物的幼胚和胚乳 (三倍体) 等, 近年也已常用作分析。当然, 如玉米还可利用减数分裂粗线期的染色体进行分析, 并可作基因定位等等。

上面只简单的谈了一些染色体形态的组型分析, 有关染色体形态的还有倍性分析, 以及其他各种变化, 例如性染色体, B-染色体等等, 拟待以后介绍。

## 活试管—应用蛙卵活细胞系统研究基因表达

陆荣华 徐永华

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

当人们提到实验胚胎学时, 总是要联系到两种有贡献的生物材料: 蛙卵和海胆卵。尤其是前者, 对发育生物学的基本问题如极性、梯度、场区、诱导、再生、分化以及核质关系等研究作出了贡献。对这些问题的研究, 蛙卵系统有其独特的优点, 这是众所周知的。

当今, 生物大分子功能的研究是分子生物学的一个重要课题。但是, 研究生物大分子的功能及其在细胞内的行为, 仅藉无细胞系统是不能完全解决的, 这就需要有一个理想的活细胞系统。在温育培养的条件下, 生物大分子能进入活细胞, 但进入量少并且易于分解。如用显微注射的方法将纯化的生物大分子注入一个活细胞内, 则是探求生物大分子生物学功能及其

在细胞内行为的一个理想途径。

Gurdon 等 (1971) <sup>[1]</sup> 首先应用爪蟾 (*Xenopus*) 卵子和卵母细胞作为活细胞系统研究信息核酸的转译。爪蟾卵体积大, 适于显微注射及定量导入所要研究的物质, 发育的卵更适宜作特殊问题的研究, 它们的发育潜力使得注入的分子能分布于不同类型的特殊细胞中。而且, 对导入的物质无种属局限。蛙卵系统的独特优点被人们充分地利用。近几年来, 通过显微注射将生物大分子 DNA、mRNA 以及蛋白质导入蛙卵内, 观察到 DNA 的复制和转录, mRNA 的转译以及蛋白质 (如组蛋白) 在活细

本文承陈瑞铭教授热情指导和帮助, 谨致感谢。