

国家级实验示范中心配套教材

遗传学实验

Genetics
ExperimentS

吴若菁 主编



科学出版社

国家级实验示范中心配套教材

遗传学实验

吴若菁 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书集基础性、综合性和研究性于一体,实验内容按照基础性实验→综合性实验→研究性实验,循序渐进,并从个体水平、细胞水平和群体水平分列出针对植物、动物和微生物及人类等不同材料开设的实验。全书共有28个实验,这些实验中有经典的遗传学实验,也有紧跟学科发展前沿的综合性实验,还有精心设计的研究性实验,以满足不同层次的教学和科研的需要。

本书适用于高等师范院校、农林院校和综合性大学本科生的遗传学实验教学,也可以作为相关专业研究人员和中学生物教师的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

遗传学实验 / 吴若菁主编. —北京: 科学出版社, 2012.7

国家级实验示范中心配套教材

ISBN 978-7-03-034632-2

I. ①遗… II. ①吴… III. ①遗传学—实验—高等学校—教材 IV. ①Q3-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第117592号

责任编辑: 陈 露 封 婷 刘 晶 / 责任校对: 张凤琴

责任印制: 刘 学 / 封面设计: 殷 靓

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年7月第 一 版 开本: B5 (720 × 1000)

2012年7月第一次印刷 印张: 10 3/4

字数: 200 000

定价: 25.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《遗传学实验》编辑委员会

主 编 吴若菁

副主编 罗向东

编 委 (按姓氏笔画排序)

卢 萍 许文亮 李坊贞

吴若菁 陈建华 罗向东

周志华 周逢芳 徐贤柱

前 言

遗传学是生命科学发展中的一门重要基础学科，发展非常迅速，是生命科学研究的前沿领域。遗传学实验是配合遗传学理论教学而设立的一门基础课程，对培养学生动手能力、分析解决问题的能力 and 研究探索问题的能力具有重要意义。

当前，中学生物学教学中遗传学的内容比例较大，大多数中学的实验仪器设备和经费只能开展细胞遗传学的实验，而且，随着中学教学改革的深入进行，研究性实验呈现增加趋势。师范院校培养的学生就业主要面向中学教学，为此，本书针对师范院校的特点，兼顾其他非师范专业的需要来编写，并结合中学教学改革需求，按照基础性实验→综合性实验→开放研究性实验，循序渐进，并从个体水平、细胞水平和群体水平分列出针对植物、动物和微生物及人类等不同材料开设的实验，以满足不同层次教学的需要。

本书编写人员如下，实验 1：周志华；实验 2：卢萍；实验 3：卢萍；实验 4（植物部分）：罗向东、徐贤柱、许文亮；实验 4（动物部分）：吴若菁、罗向东、徐贤柱；实验 5：罗向东、徐贤柱、许文亮；实验 6：陈建华；实验 7：卢萍，周逢芳；实验 8：周逢芳，卢萍；实验 9：陈建华；实验 10：陈建华；实验 11：吴若菁；实验 12.1.1：吴若菁；实验 12.1.2：罗向东、徐贤柱；实验 12.1.3：许文亮；实验 12.2：吴若菁；实验 12.3：吴若菁；实验 12.4：李坊贞；实验 12.5：李坊贞；实验 12.6：吴若菁；实验 12.7：陈建华；实验 12.8：罗向东；实验 12.9：卢萍；实验 13.1：吴若菁；实验 13.2：吴若菁；实验 14.1：周逢芳；实验 14.2：周逢芳；实验 14.3：周志华；实验 15：吴若菁；实验 16：陈建华；实验 17：许文亮；附录 1~3 由周志华提供；附录 4~6 由吴若菁提供；全稿由吴若菁负责统编。

由于时间仓促，以及我们经验和水平有限，书中可能存在一些不妥之处，真诚地希望使用本书的同行给予批评指正，以便我们进一步改进。

编 者

2012 年 2 月于福州

目 录

前言

第 1 部分 基础性实验

实验 1 果蝇的生活史及变异性状的观察	1
实验 2 分离规律的验证与观察	7
实验 3 自由组合定律的验证与观察	12
实验 4 细胞减数分裂的制片与观察	15
实验 5 细胞有丝分裂的制片与观察	24
实验 6 大肠杆菌的中断杂交	30
实验 7 耳垂的群体遗传分析	33
实验 8 眼睑性状的群体遗传分析	35
实验 9 ABO 血型的群体遗传分析	37
实验 10 苯硫脲尝味能力的群体遗传分析	39
实验 11 果蝇性状的群体遗传分析	41

第 2 部分 综合性实验

实验 12 染色体制片技术与结构观察	44
实验 13 生物染色体组型的分析	85
实验 14 生物杂交与遗传分析	99

第 3 部分 开放研究性实验

实验 15 遗传毒理学	108
实验 16 细菌的诱变与遗传分析实验	123
实验 17 转基因烟草	128
参考文献	139
附录	142
附录 1 实验室常用试剂的配制	142
附录 2 常用染色液的配制	144

附录 3	常用缓冲液的配制	147
附录 4	常见动植物染色体数目	152
附录 5	减数分裂不同时期与链孢霉不同类型图谱	158
附录 6	χ^2 检验表	163

第 1 部分 基础性实验

实验 1 果蝇的生活史及变异性状的观察

【实验目的】

1. 了解果蝇的生活史及在不同发育阶段的形态特征, 区别雌、雄果蝇, 观察突变型的不同性状特征。
2. 学会用肉眼区分雌、雄果蝇, 为果蝇的杂交实验做准备。
3. 掌握果蝇的饲养管理及实验方法和技术, 为果蝇的唾腺观察、果蝇的杂交实验等一系列实验做好准备。

【实验原理】

野生型果蝇是昆虫纲、双翅目、果蝇属的一种, 具完全变态。果蝇每 12 天左右可完成一个世代, 生活史较短, 生长迅速, 繁殖能力强, 每只受精的雌蝇可产卵 400~500 个。其作为实验材料具有许多的优点。

1. 果蝇的生活要求简单, 常温下就可生长繁殖, 饲养方便、成本低、易管理, 而且繁殖能力极强, 在短时间内即可以得到很多的子代, 可为遗传学的统计分析提供很好的材料。
2. 果蝇生命力极强, 耐受温度较高, 在 30℃ 的温度下也能够继续繁殖。
3. 果蝇染色体数目较少($2n=8$), 且唾腺染色体巨大, 为遗传学的研究和分析提供很好的实验材料。
4. 果蝇的不同形态突变类型多达 400 种以上, 且多数是形态变异, 因此在遗传学中被广泛应用。

【实验仪器和药品】

1. 培养

基材料白糖、红糖、麦麸、玉米粉、酵母、琼脂、香蕉等。

2. 仪器

解剖针、小镊子、乙醚瓶、乙醚管、毛笔、双目解剖镜、放大镜、棉花、双筒解剖镜、小纸盒。

3. 药品

丙酸、乙醚。

【实验材料】

野生型红眼、白眼、棒眼、黑檀体、黑身残翅、灰身残翅、焦刚毛、勺状翅、小翅、大果蝇等。

【实验方法与步骤】**1. 果蝇生活史的观察**

取一果蝇试管进行观察，可发现培养基中有许多幼虫，一般爬到管壁上肥硕的可判定为三龄幼虫，同时还可观察到壁上有许多颜色不一样的菱形的蛹，还有许多会飞的成虫。

果蝇为完全变态，果蝇的一生经历了卵、幼虫、蛹、成虫 4 个阶段，见图 1-1。各个阶段持续时间的长短随温度的高低而不同，在 20℃ 条件下从卵到幼虫约 8 天，蛹期为 6 天左右，整个生活史 15 天即完成。雌性成虫一般能生活 4 周，雄性成虫寿命较短。若在 25℃ 下，从卵到幼虫约 5 天，蛹期到成虫期 5 天，整个生活史约 10 天。雌蝇交配一次后将精子储存在体内的储精囊内就可以满足一生受精的需要，其后与之交配的雄果蝇的精子不能参与受精作用。雌蝇交配完毕会在两天之后将卵产在培养基上，在解剖镜下可以看到果蝇的卵大小为 2~5 μm ，颜色为乳白色，形状为长椭圆形。在它的顶端有一对触角，这对触角可以使它附着在培养基上而不至于陷入培养基里。

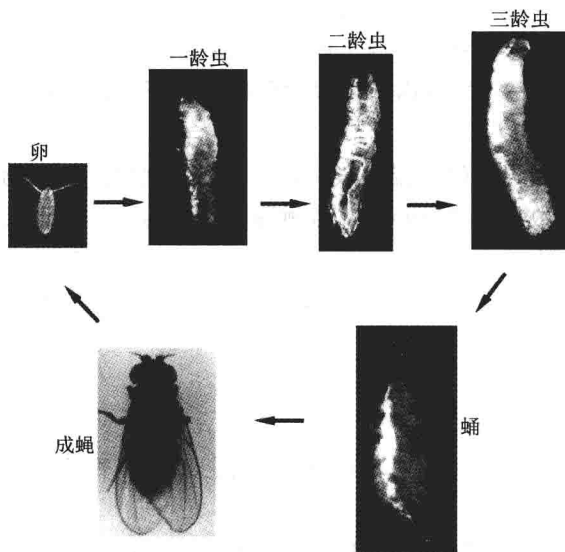


图 1-1 果蝇生活史

果蝇的卵孵化成一龄幼虫后需要 5~6 天，经过两次蜕变才能到三龄幼虫。这时幼虫的身体肥胖，长度可达 4~5mm，在解剖镜下可以清楚地观察到三龄幼虫的头部稍尖，并且为黑色，即幼虫的口器，其后有一对半透明的唾腺，唾腺后连接

一条消化道，而消化道的前上方为幼虫的神经节，身体后半部的上方有一对生殖器，此时可以通过观察其生殖器上有无黑色针头大的斑点来鉴别雌雄，雌性无斑点而雄性有斑点。三龄后的幼虫开始爬出培养基，附着在试管壁上不动，渐渐地变成米粒大的蛹，刚开始蛹的颜色为淡黄色，12~18h 后变为深褐色，这时蛹就要羽化为成虫了。刚羽化出的成虫个体较大，身体颜色较淡，还不能进行交配，大约 12h 后才有交配能力。成蝇雌雄的鉴别见表 1-1。

表 1-1 成蝇雌雄的鉴别

雌果蝇	雄果蝇
体型较大	体型较小
腹部椭圆形、末端稍尖	腹部末端钝圆
腹部背面外观有 5 条黑色条纹	腹部背面有 3 条黑色条纹，前两条细，后一条宽而延伸至腹面，呈一明显的黑斑
腹部腹面有 6 个腹片	腹部腹面有 4 个腹片
第一对足的跗节基部无黑色鬃毛状性梳	第一对足的跗节基部有黑色鬃毛状性梳
外生殖器的外观比较简单	外生殖器的外观较复杂，在解剖镜下观察刚羽化的幼蝇，可以见到明显的生殖弧、肛上板及阴茎等

2. 果蝇不同突变型的观察

(1) 麻醉：轻拍每一种品系的果蝇培养瓶，让果蝇振落在培养基上，如瓶塞上附着果蝇，则轻轻抖动塞子，让果蝇落在培养基上。拔去塞子迅速将果蝇培养瓶分别倒扣在不同的麻醉管中，轻拍试管壁，使果蝇落入麻醉管里。而后，迅速分开果蝇培养瓶和麻醉管，分别塞上瓶塞，再将麻醉管放入有乙醚的麻醉瓶中，待果蝇的翅膀展开和身体呈大于 45° 夹角时(此时果蝇基本已麻醉致死)，打开塞子将果蝇倒在有标号的纸盒里。

(2) 果蝇的观察：各取 1~2 只不同品系的果蝇，放在解剖镜下观察，在观察过程中为了避免损伤果蝇，最好不用镊子或手指夹，可用毛笔轻轻将果蝇的翅膀和脚舒展开，再观察雌、雄蝇的外部特征，见图 1-2 和图 1-3；不同突变类型的体型大小、体色、翅膀、腹色、腹片、腹部、性梳等形态特征，见图 1-4~图 1-11 和表 1-2。



图 1-2 红眼果蝇雌雄蝇背面

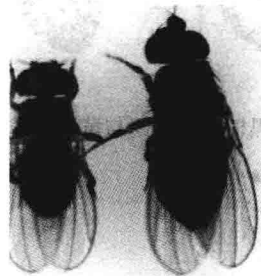


图 1-3 红眼果蝇雌雄蝇腹面

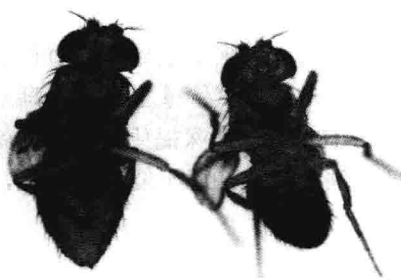


图 1-4 勺状翅雌雄果蝇腹面



图 1-5 雄果蝇性梳

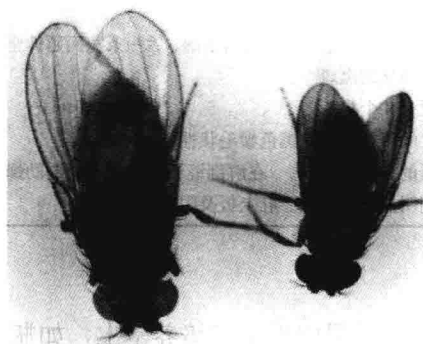


图 1-6 果蝇的长翅与短翅

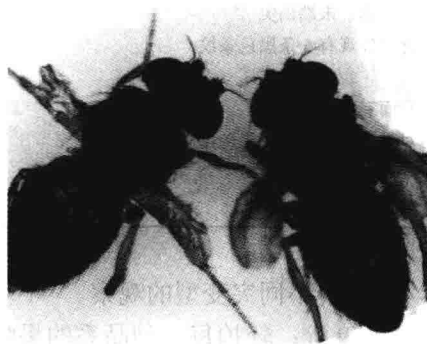


图 1-7 果蝇的残翅与勺状翅



图 1-8 黑檀体、残翅与黄体、残翅果蝇

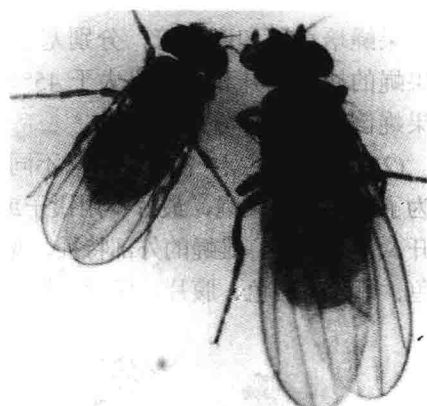


图 1-9 野生型果蝇与大果蝇



图 1-10 果蝇的直刚毛



图 1-11 果蝇的焦刚毛

表 1-2 野生型和几种不同突变性状的鉴别观察

类别	复眼	体色	翅形	刚毛	体型
野生型	红眼	灰黄	长翅	直、正常	正常
突变型	白眼、棒眼	黑檀	短翅、残翅、勺状翅	卷	大、小

【注意事项】

- 1. 因果蝇有向上性，麻醉前先轻拍试管将果蝇拍至试管底部。
- 2. 麻醉时应注意观察，若果蝇翅膀张开 45°以上则一般为死亡。

【实验报告与思考题】

- 1. 观察并画出雌、雄果蝇的外部形态特征和雄性第一对足的跗节基部黑色鬃毛状性梳。
- 2. 观察不同品系果蝇的外部形态特征，画出残翅、勺状翅、野生型翅形和不同刚毛、眼睛的特征。
- 3. 学会用肉眼区分雌、雄果蝇，为果蝇的杂交实验做准备。
- 4. 为何雌蝇交配一次后，就可以满足一生受精的需要？
- 5. 果蝇的一生要经历几个阶段？

附 果蝇培养基的配制

野生型果蝇在日常生活中随处可见，特别是在腐烂的水果上可以看到大量的果蝇。果蝇以果汁上的酵母菌为主要食物，根据果蝇的这一特性，可以利用一些发酵的食物作为果蝇的饲料，在实验室里培养果蝇。果蝇培养基配方见表 1-3。

表 1-3 果蝇培养基配方

培养基	水/ml	琼脂/g	白糖或红糖/g	玉米粉/g	麦麸/g	酵母/g	丙酸/ml
玉米粉培养基	860	10	55	65	—	12	8.5
麦麸、玉米粉培养基	860	10	50	15	50	10	7.5

玉米粉培养基的配制方法如下。

(1) 将琼脂条放在水中浸泡 2h 后放入水中加热至完全溶解。

(2) 将玉米粉和白糖用水调匀后倒入溶解的琼脂水中，煮沸 10min，注意要不停的搅拌，避免成团状。

(3) 停火后凉几分钟再加入丙酸。

(4) 当培养基凉至 60℃ 左右时加入酵母粉，注意酵母粉不能加太早，避免酵母菌失效。

麦麸、玉米粉培养基的配制方法和玉米粉培养基的配制方法基本相同，只是步骤(2)将麦麸、玉米粉和白糖用水调匀后倒入溶解的琼脂水中。

在上述的两种培养基中培养果蝇效果都不错，如果在春季用玉米粉培养基较好，但是在秋季麦麸、玉米粉培养基更适合果蝇的生长发育。

实验2 分离规律的验证与观察

实验2.1 植物部分

【实验目的】

通过植物的杂交实验，验证和理解孟德尔分离定律。

【实验原理】

一对等位基因在杂合状态下保持相对独立，形成配子时等位基因分离到不同配子中去，配子分离比为1:1，子二代基因型分离比为1:2:1；若显性完全，子二代表型分离比是3:1。

一对等位基因的分离可通过 F_1 花粉粒某些性状的分离而观察到，如水稻、玉米、高粱和谷子等禾谷类作物花粉粒的淀粉有糯性与非糯性之分。糯性含支链淀粉多，遇碘呈棕色；非糯性含直链淀粉多，遇碘呈蓝色。非糯性基因(Wx)对糯性基因(wx)为显性。 F_1 形成配子时，两种淀粉的花粉粒理论上数量相等。另外，玉米的黄粒对白粒为显性，非甜对甜为显性，都是由一对基因控制的性状。 F_1 自交果穗籽粒(F_2 种子)呈3:1分离， F_1 测交果穗籽粒呈1:1分离。

如果一对等位基因是不完全显性关系， F_1 表现为中间型， F_2 基因型和表型分离比均为1:2:1，如棉花叶形的遗传即如此。

【实验仪器和药品】

显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、吸水纸、1%碘-碘化钾液。

【实验材料】

以下实验材料可根据各实验室的具体情况加以选择。

- (1) 水稻(糯 $\times$ 非糯) F_1 的花粉粒及果穗(F_2 种子)。
- (2) 玉米(糯 $\times$ 非糯) F_1 的花粉粒及果穗。
- (3) 玉米(甜 $\times$ 非甜，白粒 $\times$ 黄粒) F_1 果穗。
- (4) 小麦(光颖 $\times$ 毛颖)，稻、麦(有芒 $\times$ 无芒)等的 F_2 植株。
- (5) 棉花(正常叶 $\times$ 鸡脚叶) F_2 植株。

玉米花粉粒取材时，需于前一天将雄花套袋处理，于次日上午在开花最盛时抖落花粉粒于袋中，藏于阴凉干燥处备用；或采集将开而尚未开花散粉的雄花序，置卡诺固定液固定后保存。

【实验方法与步骤】

1. 观察水稻或玉米 F_1 花粉粒

取(糯 $\times$ 非糯)的 F_1 花粉粒或1枚花药置载玻片上，压破花药使花粉散开，加1滴1%碘-碘化钾液染色，盖上盖玻片，显微镜下观察和记录各种颜色花粉

粒数量。

2. 观察水稻、玉米 F₂ 种子胚乳性质的分离

水稻非糯性种子胚乳透明而有光泽，糯性种子乳白色无光泽。观察胚乳透明度，辨别胚乳性质，难于区分的可折断胚乳，加 1 滴 1% 碘-碘化钾液检查，统计糯与非糯的籽粒数。

玉米胚乳中甜(*su*)与非甜(*Su*)、糯(*wx*)与非糯(*Wx*)、凹陷(*sh*)与饱满(*Sh*)、黄色(*Y*)与白色(*y*)，分别由一对基因控制，对每个杂交组合可统计 1~3 个 F₁ 自交穗(F₂ 种子)，对各类籽粒进行计数。

3. 调查田间小麦(光颖×毛颖)，稻、麦(有芒×无芒)F₂ 群体中光颖和毛颖、有芒和无芒的株数。

4. 观察棉花叶形分离。以正常叶和鸡脚叶杂交，F₁ 表现中间型，调查田间 F₂ 群体中的正常叶、中间型叶和鸡脚叶的株数。

【注意事项】

1. 解剖用具每次使用后应立即洗去黏附的花粉粒，以免混杂，干扰检查结果。
2. 调节显微镜时，不用强光和直射光，以便区别两种颜色的花粉粒。先用低倍镜观察，后在高倍镜下计数。
3. 畸形和发育不良的花粉粒均不加以计数。

【实验报告与思考题】

1. 将实验结果填入表 2-1，用卡方法检测实验结果，填写表 2-2。分别根据卡方值和自由度查表，得到频率，提出结论，完成实验报告。

表 2-1 玉米的一对相对性状的遗传

	F ₁ 花粉棕色	F ₁ 花粉蓝色	F ₂ 非甜	F ₂ 甜	F ₂ 非糯	F ₂ 糯	F ₂ 饱满	F ₂ 凹陷	F ₂ 黄色	F ₂ 白色
观测数(<i>O</i>)										
理论数(<i>E</i>)										
$d = O - E$										
$d^2 = (O - E)^2$										
d^2/E										

表 2-2 卡方测验表

	长翅	残翅
观测数(<i>O</i>)		
理论数(<i>E</i>)		
$O - E$		
$(O - E)^2/E$		

2. 进行一对基因杂交实验, 有时会出现 F_2 表型分离比不符合 3 : 1 的情况, 简述其原因。

实验 2.2 动物部分

【实验目的】

通过果蝇的杂交实验, 验证和理解孟德尔分离定律。

【实验原理】

一对等位基因长翅(+)和残翅(vg)在杂合状态下保持相对独立性, 子一代表型显性为长翅, 形成配子时, 等位基因+和 vg 按原样分离到不同配子中去, 配子分离比为 1 : 1, 子二代基因型分离比为 1 : 2 : 1; 显性完全时, 子二代表型分离比长翅 : 残翅为 3 : 1。

【实验仪器和药品】

培养瓶、麻醉瓶、毛笔、镊子、白瓷板(或塑料板)、海绵、解剖镜(或放大镜)、玉米粉、琼脂、蔗糖、酵母、丙酸、乙醚。

【实验材料】

长翅果蝇(图 2-1)品系(+ / +)与残翅果蝇(图 2-2)品系(vg / vg)。

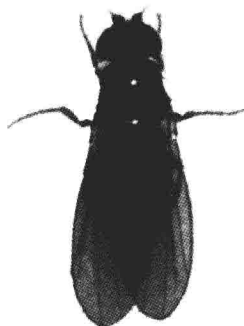


图 2-1 长翅果蝇

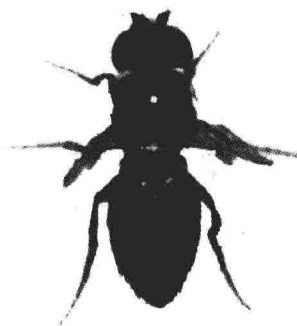


图 2-2 残翅果蝇

【实验方法与步骤】

1. 选择野生型和残翅果蝇为亲本, 做正交和反交组合。雌蝇选处女蝇 5~10 只。处女蝇在正式实验前 3 天左右收集, 数目可根据需要而定。

2. 将长翅果蝇和残翅果蝇杂交, 其中正交和反交各一瓶。正交: 长翅(♀) × 残翅(♂); 反交: 残翅(♀) × 长翅(♂)。除去已经羽化出来的成蝇, 将新羽化出来的处女蝇(长翅和残翅)倒入麻醉瓶中适度麻醉(注意: 果蝇翅膀外展 45°时死亡, 此时要注意麻醉剂乙醚的用量及麻醉时间, 不能让果蝇死亡), 按照正、反交组合,

7. 再过4~5天, F_2 和 F_1 成蝇出现。开始观察, 连续统计7~8天(100~200只)。统计过的果蝇转至死蝇瓶中。

杂交所用雌蝇必须是处女蝇。雌蝇羽化后一般在 12h 内不交配(8h 更可靠), 所以需将已羽化出的果蝇全部移出, 以后 12h 内孵化出的雌蝇均为处女蝇, 可分别收集, 做杂交亲本使用。

1. 将实验结果填入表 2-3 和表 2-4, 用卡方法检测实验结果, 填写表 2-5。分别根据卡方值和自由度查表, 得到频率, 提出结论, 完成实验报告。

统计日期	长翅♀×残翅♂		残翅♀×长翅♂	
	长翅数	残翅数	长翅数	残翅数
合 计				

统计日期	$F_1 \text{♀} \times F_1 \text{♂}$		$F_1 \text{♀} \times vg/vg$	
	长翅数	残翅数	长翅数	残翅数