

朱冬发 编著

# 遗传与育种学

## 实验指导

Yichuan yu Yuzhongxue  
Shiyan Zhidao



科学出版社

# 遗传与育种学实验指导

朱冬发 编著

科学出版社

北 京

## 内 容 简 介

根据遗传与育种学实验教学的要求,兼顾学科发展趋势,本书选编了27个实验,内容涉及经典遗传、细胞遗传、微生物遗传、数量遗传和分子遗传等。附录包括玻璃器皿洗涤、灭菌、同工酶谱染色、显微镜使用及显微摄影术等,为师生提供必需的参考资料。全书既有验证性实验,也有设计性实验和综合性实验,使学生能够从不同层次、水平掌握遗传与育种学研究的方法和手段,培养学生的动手操作能力和分析、解决实际问题的能力。

本书可供高等院校生物科学和水产科学相关专业师生使用,也可作为中学生物学教师等相关人员的参考用书。

### 图书在版编目(CIP)数据

遗传与育种学实验指导 / 朱冬发编著. —北京:  
科学出版社, 2011. 9

ISBN 978 - 7 - 03 - 032148 - 0

I. ①遗… II. ①朱… III. ①实验遗传学②遗传育种  
—实验 IV. ①Q3 - 3②S33 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 170405 号

责任编辑: 陈 露 朱 灵 / 责任校对: 刘珊珊  
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

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2011年9月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2011年9月第一次印刷 印张: 7 1/4

印数: 1—2 500 字数: 134 000

定价: 17.00 元

# 前 言

本实验指导是针对高等院校生物学科和水产学科相关专业的本科生而编写的。遗传与育种学实验是配合遗传与育种学理论教学而设置的一门独立的专业基础课程,是水产养殖学实验体系中重要的、必不可少的组成部分。该课程旨在通过实验课的教学,使学生加深对遗传与育种学基本概念和理论的理解,激发学生探索遗传学规律和掌握育种学方法的兴趣,培养学生观察遗传和变异现象、分析和解决遗传与育种学相关实际问题的能力,锻炼学生创新思维能力和动手操作能力。

总结多年遗传与育种学实验教学实践,参考近 20 年来国内外多个版本的相关实验教材和多篇科研、教研论文,根据遗传与育种学实验教学的要求,兼顾学科发展趋势和国内水产院系的实验教学条件,本实验指导选择编写了减数分裂、果蝇杂交、染色体标本制备、多倍体诱导、有性杂交、细菌局限性转导、DNA 提取和 PCR 扩增、同工酶 PAGE 分析和 ABO 血型群体遗传学分析等 27 个实验。这些实验项目涵盖了经典遗传、细胞遗传、微生物遗传、数量遗传和分子遗传等方面的内容,既有遗传学基本规律的验证性实验,也有锻炼学生遗传分析能力的设计性实验和综合性实验,使学生能够从不同层次、水平掌握遗传与育种学研究的方法和手段。

鉴于实验课时、实验教学条件和实验材料的不同,各水产院系可以根据实际情况酌情选择。本实验指导附录中列有的玻璃器皿洗涤、灭菌、同工酶谱染色方法、显微镜使用及显微摄影术等,为保证实验教学环节的顺利进行提供了必要的参考资料。本实验指导中每个实验结构的设计统一、新颖,要求学生课前务必预习实验原理和主要内容,实验中认真操作、细致观察、翔实记录、独立思考,课后提交规范的实验报告并通过文献调研独立解答思考题。

由于时间仓促和编者经验、水平有限,本实验指导难免有不妥和不足之处,期望广大读者给予批评、指正。

朱冬发

2011 年 6 月

# 目 录

## 前言

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 一、遗传与育种学实验课的要求 .....             | 1  |
| 二、遗传与育种学实验报告的写作要求 .....          | 2  |
| 实验一 有丝分裂 .....                   | 3  |
| 实验二 减数分裂 .....                   | 7  |
| 实验三 果蝇的麻醉、主要性状观察和雌雄的鉴别 .....     | 13 |
| 实验四 果蝇的培养 .....                  | 17 |
| 实验五 果蝇单因子杂交实验 .....              | 20 |
| 实验六 果蝇的两对因子的自由组合 .....           | 23 |
| 实验七 果蝇的伴性遗传 .....                | 26 |
| 实验八 果蝇的三点测验——基因的连锁交换规律 .....     | 30 |
| 实验九 果蝇唾腺染色体的制作与观察 .....          | 33 |
| 实验十 动物骨髓细胞染色体标本的制备与观察 .....      | 36 |
| 实验十一 染色体核型分析 .....               | 39 |
| 实验十二 植物多倍体的诱导和鉴定 .....           | 42 |
| 实验十三 甲壳动物四倍体的人工诱导 .....          | 45 |
| 实验十四 姐妹染色单体差别染色的方法 .....         | 47 |
| 实验十五 人类 X 染色质的观察 .....           | 50 |
| 实验十六 植物有性杂交 .....                | 52 |
| 实验十七 粗糙链孢霉的分离和交换 .....           | 55 |
| 实验十八 大肠杆菌杂交实验 .....              | 58 |
| 实验十九 细菌局限性转导 .....               | 62 |
| 实验二十 质粒 DNA 的提取及纯化 .....         | 66 |
| 实验二十一 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA .....        | 69 |
| 实验二十二 重组质粒的构建、转化和筛选 .....        | 71 |
| 实验二十三 动物细胞 DNA 的提取和 PCR 扩增 ..... | 76 |
| 实验二十四 动物单个基因组织表达分析 .....         | 80 |

|                                         |     |
|-----------------------------------------|-----|
| 实验二十五 鱼类同工酶 PAGE 分析 .....               | 83  |
| 实验二十六 人类 ABO 血型的群体遗传学分析 .....           | 87  |
| 实验二十七 人体皮纹的遗传分析 .....                   | 89  |
| 附录 I 玻璃器皿的洗涤 .....                      | 96  |
| 附录 II 灭菌 .....                          | 97  |
| 附录 III 不同的 $\chi^2$ 值及自由度的 $P$ 值表 ..... | 98  |
| 附录 IV 几种同工酶谱的染色方法 .....                 | 99  |
| 附录 V 显微镜的结构、使用及显微摄影术 .....              | 102 |
| 主要参考文献 .....                            | 107 |

## 一、遗传与育种学实验课的要求

1. 实验前须认真预习实验内容及有关的理论课讲授内容,画出实验步骤流程图,标示出重点和难点。

2. 提前 5 分钟进入实验室,携带必需的实验用具和文具。不早退,不无故缺课,有病或有事须请假。

3. 自觉遵守课堂纪律,不大声喧哗和随意走动,保持实验室安静、整洁。

4. 按照实验教师的讲解规范地进行实验操作,做到既能独立操作又能与同组同学团结协作,尤其是有些实验项目需连续数日才能完成。

5. 实验现象和实验结果要仔细观察、翔实记录,遇到疑难问题能主动请教,按时完成和提交实验报告。

6. 爱护仪器和设备,如有损坏或缺失,及时向实验教师报告并说明原因,使用贵重仪器和设备,要在教师指导下操作并做好使用记录。

7. 节约药品和材料,做到按需、按量取用。用过的废物、废液和材料应倒入指定的盛留器中。

8. 公用试剂和实验用具用后要及时放回原处,以免影响其他同学使用。

9. 严格遵守学校和学院制定的实验室安全规章,加强自我保护。遇到异常情况及时报告并听从实验教师的安排、处置。

10. 实验完毕后应将台面整理干净,仪器归位,用过的器皿洗净后放回原处。值日生还要做好实验室的清洁卫生工作。

## 二、遗传与育种学实验报告的写作要求

### 1. 实验报告的写作原则

(1) 完整性原则：实验报告一般应包括实验题目、实验目的、实验原理、材料与方法、实验结果、讨论和结论等部分。

(2) 客观公正性原则：认真仔细地观察实验现象，客观翔实地记录实验结果，有根有据地展开分析讨论，诚实公正地报告实验结论。

(3) 正确性原则：实验报告中的原理、方法、结果和结论部分必须正确无误，他人按照给定的条件重复实验应该能观察到同样的实验现象并得出一致的实验结果和结论。

(4) 可读性原则：实验报告的表达方式必须正确、规范，做到语句通顺、简洁扼要。

### 2. 实验报告的写作格式(采用学院统一印制的实验报告纸)

(1) 实验题目：置顶、居中。

(2) 实验目的：力求简明扼要。

(3) 实验原理：主要包括该实验项目所涉及的基本概念和基本理论。

(4) 材料与方法：力求准确、简要，便于他人重复使用。

(5) 实验结果：这是实验报告的主体内容之一。务必做到现象描述客观翔实；图表制作真实规范；统计分析科学准确。

图的位置一般偏左，右侧作引线及注字。各部分结构的深浅、明暗用疏密不同但大小均匀的黑点表示；注字引线应水平伸出，不能交叉；图序和图题应写在图下面。

(6) 讨论：应以实验结果为基础，有根有据、有的放矢地展开分析、讨论，包括影响实验结果的因素、实验结果与理论预测结果的异同、实验操作注意事项、成功的体会和失败的原因等内容。

(7) 结论：应简洁、中肯。

(8) 其他：有些实验报告可能还需要附上实验的原始数据、原始电泳图谱或显微照片、参考文献等。

# 实验一 有丝分裂

## 【实验目的】

1. 掌握植物根尖压片方法。
2. 了解植物细胞有丝分裂各个时期的形态特征及染色体行为。

## 【实验原理】

有丝分裂是生物个体生长和细胞分化的基础。在有丝分裂过程中,每次核分裂前必须进行一次染色体的复制。在分裂时,每条染色体分裂为两条子染色体,平均分配给两个子细胞。所以,有丝分裂是等分式分裂,使子细胞与母细胞在遗传组成的数量与质量上完全一致,保证了性状发育和遗传的稳定性。有丝分裂时,染色体呈现连续、动态的变化,一般分为间期、前期、中期、后期和末期 5 个时期(图 1-1)。

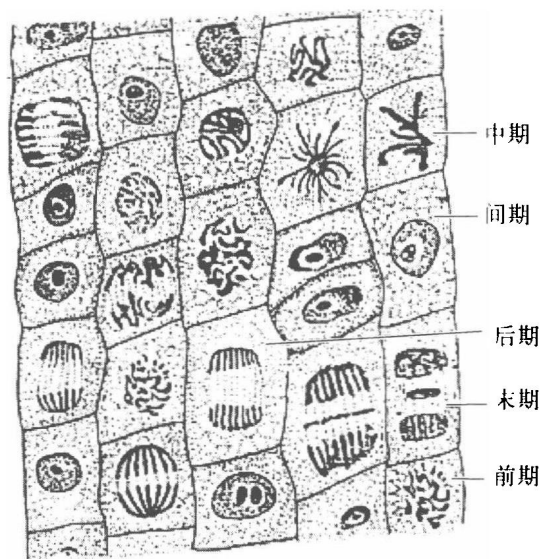


图 1-1 洋葱根尖细胞(示有丝分裂各期)

高等植物有丝分裂主要发生在根尖、茎生长点及幼叶等部位的分生组织。其中根尖取材容易,操作和鉴定方便。最常用的有丝分裂制片方法是压片法,即将经过处理的动植物材料放在载玻片和盖玻片之间,施加一定的压力使材料分散开来的一种方法。通过对根尖进行秋水仙素溶液预处理、固定、解离、染色和压片,可在显微镜下观察到大量处于有丝分裂各个时期的细胞和染色体。有丝分裂中期的染

色体具有典型的形态特征,并易于计数。

秋水仙素(colchicine)是一种生物碱,分子式为  $C_{22}H_{25}NO_6 + 3/2 H_2O$ 。因最初是由百合科植物秋水仙(*Colchium autumnale*)中提炼出来的而得名。秋水仙素呈黄色针状结晶,熔点为  $157^{\circ}\text{C}$ ,易溶于水、乙醇和氯仿,味苦,有毒。适当浓度的秋水仙素处理能抑制有丝分裂,破坏纺锤体,使染色体停滞在分裂中期,便于进行染色体的分析研究。卡诺氏液固定能防止细胞自溶、腐败、收缩(或膨胀),尽量保持生活时的形态结构;能使细胞中蛋白质、脂肪、糖和酶等成分转变为不溶物质;能使组织内各种物质成分产生不同的折光率,便于观察;能使不同组织成分对染料有不同的亲和力,便于染色。通过对植物组织进行酸处理,可除去细胞间的果胶层,并使细胞软化,便于细胞分开,有利于压片和染色。

## 【实验材料、仪器和试剂】

### 1. 实验材料

洋葱( $2n=16$ )根尖或蚕豆( $2n=12$ )根尖。

(1) 洋葱根尖的培养:剪去洋葱老根,放在盛有水的广口瓶上,使水浸到鳞茎下部,在黑暗条件下培养( $25^{\circ}\text{C}$ ),1~2 d 后有许多新根长出,待新根长到 1~2 cm 时,于上午 11~12 点间切下 1 cm 根尖迅速投入固定液中固定。

(2) 蚕豆根尖培养:将干的蚕豆在水中浸泡一昼夜,使蚕豆充分吸水,种皮膨胀,然后将种子整齐地埋在 3~4 cm 厚的石英砂(或其他砂子)里,上覆盖薄薄一层石英砂,淋上少量水。2~3 d 后,待蚕豆根长 2~3 cm 时固定。用这种方法发的蚕豆根具有白、直、尖的特点,分裂相十分多。

### 2. 仪器设备

显微镜、镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、吸水纸、培养皿、酒精灯、纱布、铁笔、火柴。

### 3. 试剂

(1) 0.5~1.0 mg/ml 秋水仙素:秋水仙碱 0.05~0.10 g,蒸馏水 100 ml,配制时可用少许 95%乙醇助溶。待完全溶解后将棕色瓶再用黑纸包起来,在  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱中避光保存备用。

(2) 醋酸酒精固定液:醋酸酒精固定液也称卡诺氏液(Carnoy),是常用的植物材料的固定液。以冰醋酸:无水酒精=1:3 的比例混合即成。须现配现用。

(3) 各种浓度的酒精:一般用 95%浓度的酒精稀释配制各种浓度的酒精。稀释配制方法是先将 95%浓度的酒精倒入量筒,其量和将要稀释配制的酒精的百分比相等,然后将蒸馏水加到 95 ml,就得到所要配制的浓度的酒精。

(4) 1 mol/L HCl:取浓盐酸(36%~38%)82.15 ml 加蒸馏水到 1 000 ml,摇匀。

(5) 醋酸洋红染液: 45%醋酸 100 ml 加热煮沸, 移去火苗, 加入 1 g 洋红粉末。轻微搅动, 防止溅沸, 再煮 1~2 min 即可, 这时可悬入一枚生锈的小铁钉于染液中, 过 1 min 取出, 使染色液中略具铁质, 或加入氢氧化铁的 50% 的醋酸饱和液 1~2 滴(不能多加, 以免产生沉淀), 静置 2 h 后过滤于一棕色试剂瓶中, 贮存备用。

## 【实验方法和步骤】

### 1. 预处理

将剪取的根尖浸入 0.5~1.0 mg/ml 秋水仙素溶液中室温处理 2~4 h。这对抑制纺锤体活动效果明显, 易获得较多的中期分裂相。而且能使染色体收缩较直, 有利于染色体的观察。

### 2. 固定

将根尖放入卡诺固定液中固定 3~24 h(固定液用量应为材料体积的 15 倍以上), 随后依次投入 90%、80% 酒精中各 30 min, 最后投入 70% 酒精待用。或再换入一次 70% 酒精, 在冰箱中较长时间保存备用。经过较长时间保存的材料, 在实验前可以用固定液再处理一次。

固定时间最好在分裂高峰, 一般认为植物根的有丝分裂是有高峰的, 如洋葱一般在中午 12 时左右, 禾谷类植物上午 10~11 时许, 蚕豆在下午 4~5 时, 晚上 11~12 时两次高峰, 但也有观点认为没有固定的高峰。

### 3. 解离

取已固定过的材料放入 1 mol/L HCl 解离液中, 置于 60℃ 水浴锅中解离到根尖透明为止(6~15 min)。或在浓盐酸: 酒精 = 1: 1 的解离液中解离 3~10 min。不同材料所需的解离时间不同。酸解是本实验成败的一个关键。

### 4. 水洗

将解离后的材料转入装有蒸馏水或清水的烧杯内, 换水洗 3~5 次, 或流水冲洗 10 min, 将盐酸洗净, 以利于染色。

### 5. 染色及压片

取一干净的载玻片, 用刀片截取根尖生长点部分(乳白色部分)置于载玻片上, 加 1~2 滴醋酸洋红染液, 用解剖针或镊子轻轻捣碎组织, 然后盖上盖玻片, 左手食指按住盖玻片一角, 防止盖玻片滑动, 右手用解剖针以尖端垂直轻击盖玻片下的材料, 使材料分散。敲时先在酒精灯上轻微加热(以使材料软化和增强染色效果), 以后边敲边在酒精灯上微微加热(切勿使染液沸腾), 以促进材料着色和分散。敲至材料均匀地分布在载玻片上为止。然后将载玻片翻过来, 使盖玻片朝下, 放到铺在水平桌面的一张吸水纸上, 用大拇指对准盖片部位垂直用力一压, 这时切勿使盖玻片移动, 从而使染色体压散, 并处于同一平面。若盖玻片下有气泡, 可在盖玻片边缘加一点染液。

## 6. 观察

选取细胞分散的视野,观察有丝分裂的各个时期。

(1) 间期(interphase): 细胞核着色均匀,看不到染色体。间期染色体伸长成细丝状结构,不容易被染色,所以只能看到分散的,呈网状的染色质,核膜、核仁都存在。间期又可分为  $G_1$  期(gap1)、S 期(synthesis)和  $G_2$  期(gap2)。 $G_1$  期是从上次细胞分裂结束到下次染色体复制开始的这段时间,主要进行细胞生长和制造一些细胞功能物质。高度分化的成熟细胞,如脑细胞,在此期处于停滞状态,一般不再进行分裂,特称  $G_0$  期(gap0)。S 期细胞进行 DNA 复制。 $G_2$  期是从染色体 DNA 复制结束到细胞开始进行分裂的这段时间。因此,间期是细胞为分裂进行物质和能量的准备时期,表面上看细胞处于静止状态,实际上细胞核内部正在进行复杂的过程,如 DNA 合成、染色体复制等。

(2) 前期(prophase): 染色丝经螺旋化逐渐缩短而加粗,逐渐可以看到清晰的染色体。由于经过了染色体复制,此时每条染色体有一个着丝粒和纵向并列的两条染色单体,但在显微镜下还看不到染色体单体,前期将要结束时,染色体缩短几乎到达极点,与此同时,核仁、核膜逐渐消失。

(3) 中期(metaphase): 核仁和核膜的解体是进入中期的标志。中期的染色体浓缩得很短,形态特征典型,这时染色体开始向赤道面移动,最后排列在赤道面上,并出现纺锤丝,纺锤丝连接着染色体的着丝点。中期是进行染色体分析的最佳时期。

(4) 后期(anaphase): 每一染色体的着丝粒一分为二,着丝粒分开后纵列的染色单体也跟着分开,并在纺锤丝的作用下有序地向两极移动,这样就完成了每一条染色体有规则的分裂。此期,在细胞的两极各有一组染色体,每组和原来细胞的染色体数一样。

(5) 末期(telophase): 两组子染色体到达两极后,染色体的螺旋结构逐渐消失,最后重新形成核膜,出现核仁。

植物细胞中,在原来赤道板的位置上出现一个细胞板,经过胞质分裂(cytokinesis)把细胞分为两个子细胞。动物细胞的胞质分裂则依赖于收缩环在赤道板区域不断收缩缢裂,最后形成两个子细胞。在胞质分裂中,细胞质中的细胞器也被分到两个子细胞中。

通过以上几个步骤,细胞完成了一次有丝分裂过程,但有丝分裂是一个连续的过程,人为地把它分为前、中、后、末期,只是为了便于研究。

## 【思考题】

1. 绘制你所看到的图像并说明分别是有丝分裂的哪一时期。
2. 试分析哪些步骤有利于染色体的分散。

## 实验二 减数分裂

### 【实验目的】

1. 了解动物的生殖细胞形成过程中的减数分裂,观察并熟悉各个时期的特征及染色体行为。
2. 掌握减数分裂制片方法和技术。

### 【实验原理】

减数分裂是有性生殖的生物在形成配子过程中发生的一种特殊方式的细胞分裂。有两个重要特点:①连续进行两次核分裂,染色体只复制一次,结果形成的四个子细胞染色体的数目比母细胞的染色体数目减少一半,故称减数分裂。②第一次分裂的前期较长,包括细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期五个时期。前期 I 变化复杂,包括同源染色体的配对联会、交换与分离等。减数分裂和受精过程交替进行,使不同生物类型的染色体数目和遗传性状有规律地保持相对稳定。同源染色体的配对、交换、分离和非同源染色体的自由组合,是遗传学分离、自由组合及连锁交换规律的细胞学基础,提供了亲本产生配子的多样性,导致了生物变异,为有性杂交育种提供了基础。因此,我们可以通过对减数分裂过程中染色体的动态变化的观察加深对减数分裂过程的认识,并且为杂交的细胞学分析、物种间亲缘关系的鉴定等提供可靠的依据。

减数分裂各时期的主要特征如下(以雄性蝗虫为例)。

#### 1. 第一次减数分裂

##### (1) 前期 I

① 细线期(leptotene): 染色质浓缩、凝集呈细长的染色丝,相互缠绕成团,首尾难分,核仁明显。此时,染色体已在 S 期复制,每一染色体已有两个染色单体,但此期尚看不出是成双的。

② 偶线期(zygotene): 与细线期无多大变化,各对同源染色体开始配对(联会, synapsis),称二价体。结果细胞中的染色体由  $2n$  条单价体变成了  $n$  条二价体。尽管此时染色体比细线期清楚,但染色体仍细长,所以并不能辨清染色体数目(图 2-1)。

③ 粗线期(pachytene): 又称重组期。同源染色体配对完毕,配对的染色体进一步缩短加粗。每个二价体有两个着丝粒。由于每个染色体早已复制为二,二价体实际上是由四个染色单体所组成。在此期,同源染色体的非姐妹染色单体之间可以发生局部交叉和交换,从而导致基因之间的交换与重组。此时已经能够辨别

染色体的头尾,因而可以进行染色体计数(图 2-2)。

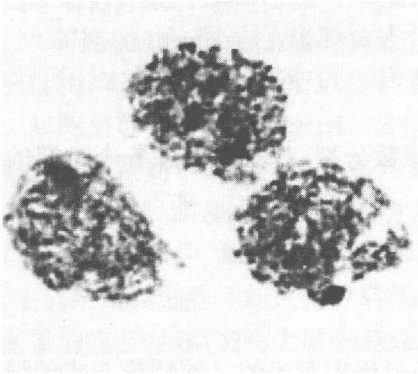


图 2-1 偶线期

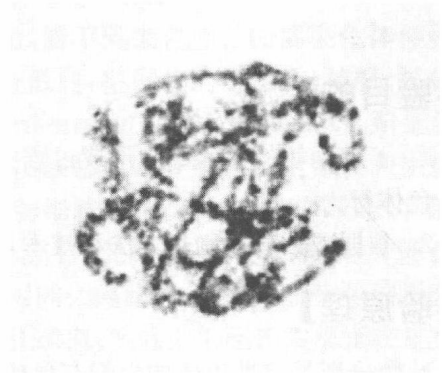


图 2-2 粗线期

④ 双线期(diplotene): 染色体再进一步缩短变粗,螺旋化程度加深。同源染色体开始因相互排斥而分开,但由于同源染色体之间的交换尚未完成,因而在不同的二价体上,在不同的部位,不同程度出现交叉现象,使二价体成为“X”、“V”、“8”、“0”等不同形状(图 2-3)。

⑤ 终变期(diakinesis): 又称再凝集期。双线期到终变期的过渡表现为染色体的继续缩短和交叉端移,交叉数目减少。典型的终变期,染色体达到高度的浓缩和螺旋化,同源染色体仍有交叉联系着。核仁、核膜最终消失(图 2-4)。此时的染色体计数最为方便、准确。

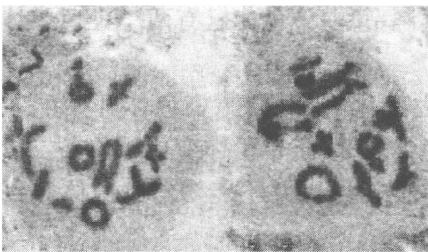


图 2-3 双线期

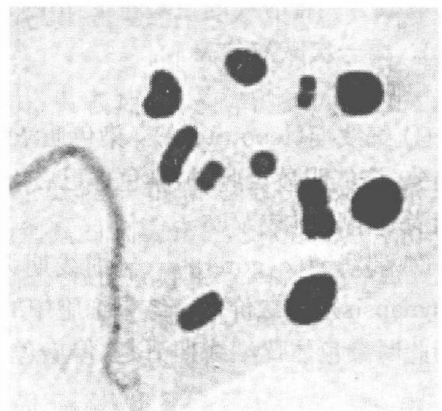


图 2-4 终变期

(2) 中期 I: 各个二价体排列在赤道板上,纺锤体形成,纺锤丝把着丝点拉向双极,两个同源染色体上的着丝点逐渐远离,二价体开始分离,仍有交叉联系着,不

过交叉数已大为减少,一般都移向端部(图 2-5)。如果制备的细胞是从极面压成的标本,则可以看到同源染色体排列成环形。

(3) 后期 I: 双价体中的两条同源染色体分开,在纺锤丝的牵引作用下分别向两极移动,因着丝粒的位置不同,后期染色体会呈现各种不同的形状。此时每个染色体的着丝粒尚没分裂,每个染色体都仍带有两条染色单体。每一极得到每对同源染色体中的一个,实现了染色体数目的减半(图 2-6)。因此第一次减数分裂是真正的减数分裂。

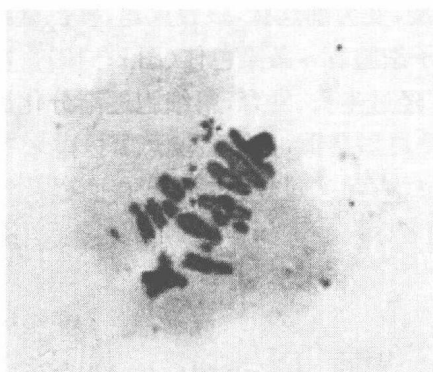


图 2-5 中期 I

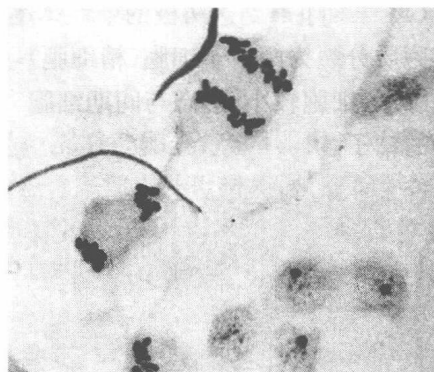


图 2-6 后期 I

(4) 末期 I: 移向两极的染色体解螺旋,又呈细丝状,核膜重建,核仁形成。经过胞质分裂,成为两个较小的子细胞(次级精母细胞)(图 2-7)。

在蚕豆等双子叶植物中,细胞质并不分裂,两个新的细胞核仍然停留在共同的细胞质中,而单子叶植物胞质分裂形成两个子细胞。

(5) 间期: 在第二次减数分裂开始以前,两个子细胞进入间期。但大多数动物细胞分裂不经过间期,直接进入第二次减数分裂的晚前期。

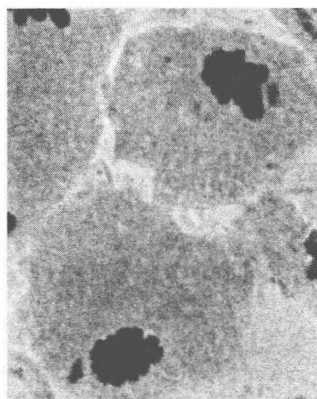
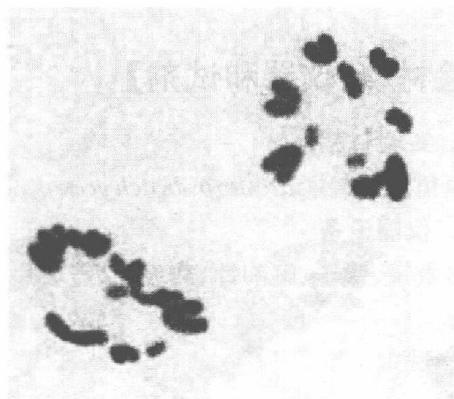


图 2-7 末期 I



2-8 中期 II

## 2. 第二次减数分裂

(1) 前期Ⅱ：染色体缩短变粗，和有丝分裂前期一样，每一染色体具有两条染色单体，所不同的是只有  $n$  条染色体。前期快结束时，核仁、核膜消失。

(2) 中期Ⅱ：染色体具有两个染色单体，缩短，排列在各个细胞的赤道板上(图 2-8)。

(3) 后期Ⅱ：每个染色体的着丝粒纵裂，姐妹染色单体开始分离移向两极，每极含  $n$  条染色体(图 2-9)。

(4) 末期Ⅱ：到达两极的染色体逐渐解旋，变为细丝状，核膜重建，核仁重新形成。胞质分裂为两个子细胞(精细胞)，每个子细胞有  $n$  条染色体(图 2-10)。精细胞呈圆形，细胞较小，形态与间期细胞类似。经过生长、发育，精细胞逐渐分化形成梭形的精子。

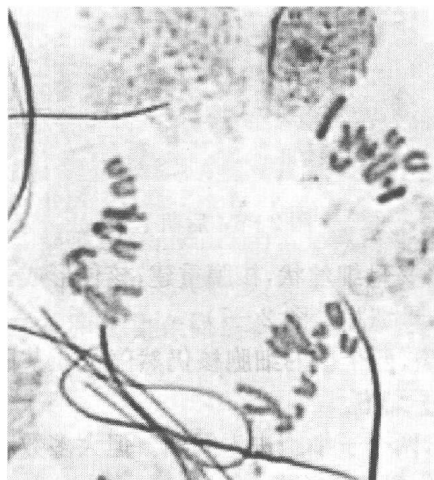


图 2-9 后期Ⅱ

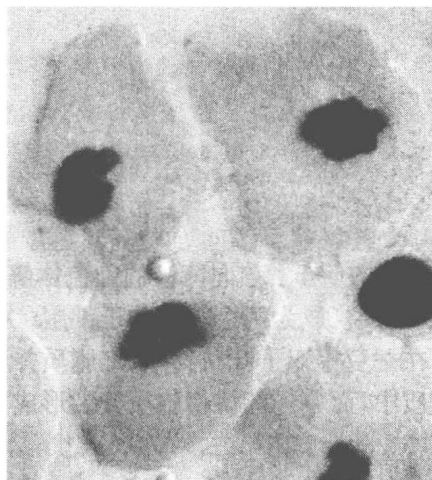


图 2-10 末期Ⅱ

## 【实验材料、仪器和试剂】

### 1. 实验材料

短角斑腿蝗(*Catantops brachycerus*, ♀,  $2n = 24$ ; ♂,  $2n = 23$ )精巢。

### 2. 仪器设备

显微镜、镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、吸水纸、培养皿、染色板、酒精灯、火柴、铁笔等。

### 3. 试剂

(1) 卡诺固定液：无水乙醇(或甲醇)3份，冰醋酸1份，二者混合。或无水乙醇6份，二氯甲烷3份，冰醋酸1份，三者混合。

(2) 各种浓度的酒精：一般用 95% 的酒精稀释配制各种浓度的酒精。稀释配制方法是先将 95% 的酒精倒入量筒，其量和将要稀释配制的酒精的百分比相等，然后将蒸馏水加到 95 ml，就得到所要配制的浓度的酒精。

(3) 醋酸洋红染液：45% 醋酸 100 ml 加热煮沸，移去火苗，加入 1 g 洋红粉末。轻微搅动，防止溅沸，再煮 1~2 min 即可，这时可悬入一枚生锈的小铁钉于染液中，过 1 min 取出，使染色液中略具铁质，或加入氢氧化铁的 50% 的醋酸饱和液 1~2 滴（不能多加，以免产生沉淀），静置 2 h 后过滤于一棕色试剂瓶中，贮存备用。

## 【实验方法和步骤】

### 1. 固定

采集短角斑腿蝗雄虫（雌性蝗虫身体的尾部有产卵器，产卵器由 3 对瓣组成，因此从腹面看尾部外形是分叉的；而雄性的蝗虫尾部有外生殖板，从腹面看尾部外形是不分叉的一个尖状的板）。用镊子夹住雄虫尾部向外拉，可见一团黄色精巢，由许多丝状精细管桠排列而成。解剖镜下剔除其他粘连组分，将精巢放到卡诺固定液中固定 1.5~3 h，换入到 70% 酒精溶液中。

### 2. 染色

将醋酸洋红滴在染色板内，取固定好的 2~3 根精巢小管在醋酸洋红中染色 20 min 以上。

### 3. 制片

用解剖针从精巢上挑取几条精细管放在载片中央，加少许染液。指压法压片，并可用铁笔在盖片上轻轻敲击十几下，可边敲边在酒精灯上烘一下，每次烘要很快在火焰上掠过，烘的次数要看染色体颜色而定，染色以染色体色深而细胞质较浅为宜。

### 4. 镜检观察（图 2-11）

