



普通高等教育“十二五”规划教材
能力培养型生物学基础课系列实验教材

遗传学实验教程

(第三版)

GENETICS
EXPERIMENT

郭善利 刘林德 主编



科学出版社

能力培养型生物学基础课系列实验教材
山东省高等学校优秀教材

遗传学实验教程

(第三版)

郭善利 刘林德 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书分为基础性实验、综合性实验和研究性实验三部分。第一部分基础性实验,共4章,16个实验;第二部分综合性实验,共11个实验;第三部分研究性实验,共7个实验。本教程附录中列有实验室一般溶液的配制、组织和细胞培养常用的培养基、常用染色液的配制、实验常用数据等,为基层工作的同志提供了必需的参考资料。

本书可供高等院校生物科学专业及农、林、医药院校等相关专业师生使用,也可供中学生物学教师作教学参考书。

图书在版编目(CIP)数据

遗传学实验教程/郭善利,刘林德主编. —3版.

—北京:科学出版社,2015.4

能力培养型生物学基础课系列实验教材 山东省高等学校优秀教材

ISBN 978-7-03-044082-2

I. ①遗… II. ①郭… ②刘… 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(2015)第 075235 号

责任编辑:陈 露 高璐佳

责任印制:谭宏宇 / 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

南京展望文化发展有限公司排版

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

*

2004年8月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2015年4月第 三 版 印张:9 1/4

2015年4月第十三次印刷 字数:211 100

定价:29.00 元

能力培养型生物学基础课系列实验教材

第三版编委会

主任委员：安利国

副主任委员：郭善利 徐来祥 孙虎山 黄 勇

委 员：(按姓氏笔画排序)

王洪凯 朱道玉 刘林德 刘顺湖

刘淑娟 安利国 孙虎山 李师鹏

李荣贵 林光哲 姚志刚 徐来祥

郭善利 黄 勇 曹 慧 焦德杰

《遗传学实验教程》第三版编写人员

主 编：郭善利 刘林德

副主编：周国利 赵建萍 邱奉同 姚志刚

编 者：(按姓氏笔画排序)

冯 磊 任少亭 刘 文 刘 梅

刘林德 李金莲 邱奉同 张爱民

邵 群 周国利 赵吉强 赵建萍

姜倩倩 姚志刚 贺继临 秦 桢

高秀清 郭善利

第三版前言

遗传学是生命科学相关专业的专业必修课,是一门既传统经典又发展非常迅速的实验学科。遗传学实验对培养学生分析问题、解决问题的能力,提高其创新意识、创新能力、协作精神和综合科研素养具有重要的意义。

《遗传学实验教程》配合高等院校遗传学实验教学大纲、高校骨干学科实验中心和高校实验教学示范中心的建设,作为能力培养型生物学基础课系列实验教材的重要组成部分于2004年出版发行第一版、2010年修订发行第二版。多年来,本书被国内几十所高等院校使用,得到了使用单位广大师生的一致好评,2008年获得山东省高校优秀教材二等奖。在使用本书的同时,高校师生也提出了许多宝贵的修改意见和建议。

由于遗传学和相关学科的迅猛发展,为更好地适应创新型人才培养的需要和高校师生的迫切要求,本教程编写人员在保持前两版教程基本结构和保留调整部分基础性实验的基础上,对教程实验内容重新进行了删减、修改和更新。第一部分基础性实验,调整为4章,16个实验;第二部分综合性实验,调整为11个实验;第三部分研究性实验,调整为7个实验。部分实验项目仍然列出了多种材料和方法及备选方案,供不同学校的教师选择。附录中实验室一般溶液的配制、组织和细胞培养常用的培养基、常用染色液的配制和实验常用数据和实验报告范文仍然保留,提供给基层工作的人员参考。

第三版教程编写过程中,得到了山东省大多数高校同行专家的支持,参与面更广,同时扩充引用了国内外众多作者的文献资料(统一附在教程后面),在此向各位原作者和编者深表感谢!

由于本教程编者水平有限,实验设计及编写内容中的不妥之处仍在所难免,敬请读者批评指正。

编 者

2015年2月

目 录

第三版前言

第一部分 基础性实验

第一章 经典遗传学	(2)
实验 1 细胞分裂及染色体行为的观察	(2)
实验 2 果蝇的观察及单因子杂交	(8)
实验 3 果蝇的伴性遗传	(13)
实验 4 果蝇的两对因子的自由组合	(16)
实验 5 三点测验的基因定位方法	(17)
第二章 细胞遗传学	(21)
实验 6 果蝇唾腺染色体标本的制备与观察	(21)
实验 7 (人类与两栖类)外周血淋巴细胞的培养和染色体标本制作	(23)
实验 8 染色体组型分析	(27)
实验 9 植物组织的培养	(30)
实验 10 诱变物质的微核检测	(38)
第三章 微生物遗传学	(42)
实验 11 粗糙链孢霉顺序四分体分析	(42)
实验 12 啤酒酵母菌诱变与营养缺陷型菌株筛选	(49)
实验 13 大肠杆菌(<i>E. coli</i>)的杂交	(53)
实验 14 细菌的局限性转导	(55)
第四章 数量和群体遗传学	(59)
实验 15 人类 ABO 血型的群体遗传学分析	(59)
实验 16 人类对苯硫脲尝味能力的遗传分析	(61)



第二部分 综合性实验

实验 17	植物有性杂交技术	(65)
实验 18	大肠杆菌基因的功能等位性测验——互补测验	(71)
实验 19	植物单倍体和多倍体的诱发	(74)
实验 20	小鼠骨髓细胞染色体显带技术与姐妹染色单体色差法	(78)
实验 21	植物原生质体的分离与纯化	(81)
实验 22	大肠杆菌(<i>E. coli</i>)的转化	(82)
	<i>E. coli</i> 的转化实验	(85)
实验 23	果蝇某数量性状对于选择的反应	(87)
实验 24	果蝇小翅与残翅性状的遗传及基因相互作用分析	(92)
实验 25	质粒 DNA 的提取与琼脂糖凝胶电泳	(93)
实验 26	DNA 的 Southern 印迹杂交	(96)
实验 27	植物细胞总 DNA 和 RNA 的提取与纯化	(100)

第三部分 研究性实验

实验 28	果蝇伴性遗传与非伴性遗传的比较	(106)
实验 29	利用果蝇检测生活中的有毒有害物质或环境污染物	(107)
实验 30	染色质的分离及组成成分分析	(108)
实验 31	增强型绿色荧光蛋白(EGFP)基因在定点突变、亚克隆和表达检测 方面的研究与应用	(113)
实验 32	RNA 干扰实验及其遗传分析	(116)
实验 33	白眼小翅黑檀体果蝇的选育	(119)
实验 34	人类小卫星 DNA 的遗传多态性分析	(120)
参考文献		(124)
附录		(125)
附录 1	实验室一般溶液的配制	(125)
附录 2	组织和细胞培养常用的培养基	(127)
附录 3	常用染色液的配制	(130)
附录 4	实验常用数据	(131)
附录 5	实验报告范文	(137)

第一部分

基础性实验

第一章 经典遗传学

实验 1 细胞分裂及染色体行为的观察

1-1 植物细胞有丝分裂及染色体行为的观察

【实验目的】

1. 观察植物细胞有丝分裂过程及各时期染色体的特征。
2. 学习并掌握植物染色体玻片标本的制作方法。

【实验原理】

细胞分裂是细胞繁殖的唯一途径,一般分为直接分裂和间接分裂。直接分裂也就是无丝分裂,细胞核直接地一分为二。间接分裂又可分为有丝分裂(图1-1)及减数分

裂两种。

对有些染色体数目很多的植物材料,采用压片法制备标本很难获得分散而平整的染色体图像。20 世纪 50 年代后,在哺乳类动物细胞染色体研究中建立的一套完整的低渗法及空气干燥技术,使人类和哺乳类动物染色体的研究得到飞速发展。直到 70 年代植物原生质体技术发展完善以后, Mouras 等于 1978 年应用酶解和低渗处理对有丝分裂染色体标本制备方法提出了新的改进。自此,经过国内外学者的不断探索,建立了去壁低渗火焰干燥技术进行植物染色体标本的制备。此法主要由前处理、酶解去壁、低渗、固定后涂片或制备成细胞悬液滴片、火焰干燥、染色等步骤组成。实验证明,这一技术可以显著提高染色体的分散程度和平整性,现在已广泛应用于植物染色体显带、姐妹染色单体交换等研究中,大大促进了植物细胞遗传学研究的发展。

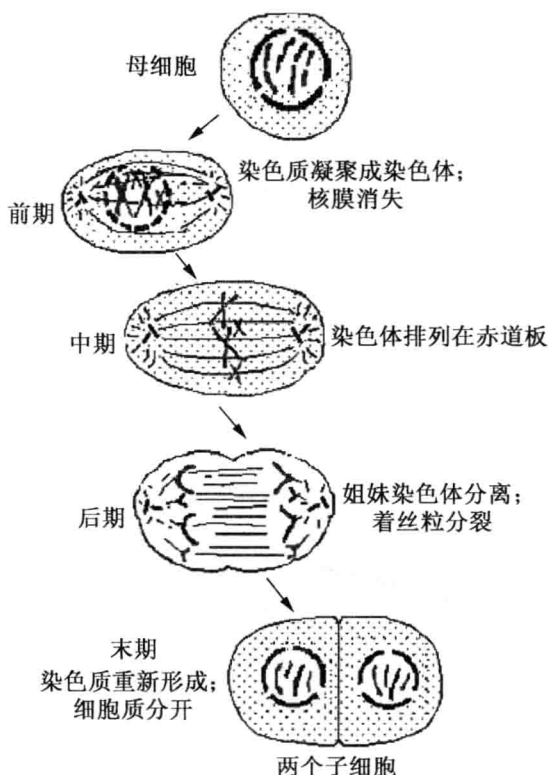


图 1-1 有丝分裂示意图

(修改自 <http://www.accessexcellence.org/AB/GG/mitosis2.html>)

植物体生长旺盛的分生组织(如根



尖、茎尖、幼叶等)都在进行着有丝分裂。经过取材、固定、解离、染色和压片等处理过程,将细胞分散在装片中,在显微镜下就可看到大量处于有丝分裂各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。为了获得更多的中期染色体装片,可以采用药物处理或冰冻处理的方法,阻止纺锤体的形成,使细胞分裂停止在中期。同时,通过处理可使染色体缩短变粗,易于分散,便于进行观察研究。另外,通过对组织细胞进行酸性水解或酶处理,可以分解细胞之间的果胶层并使细胞壁软化,细胞容易彼此散开,有利于染色和压片。

【材料与用品】

1. 材料

洋葱(*Allium cepa*)、大蒜(*Allium sativum*)的鳞茎,玉米(*Zea mays*)、黑麦(*Secale cereale*)、小麦(*Triticum aestivum*)、蚕豆(*Vicia faba*)的种子等。本实验以大蒜为实验材料。

2. 用具及药品

(1) 用具:显微镜、恒温培养箱、电冰箱、水浴锅、分析天平、1/100 电子天平、电热套或电炉、温度计、剪刀、镊子、刀片、解剖针、载玻片、盖玻片、滤纸、擦镜纸、量筒、量杯、漏斗、玻棒、培养皿、三角瓶、烧杯、试剂瓶、滴瓶、指管、酒精灯、火柴、切片盒、标签、铅笔、胶水、纱布等。

(2) 药品:蒸馏水、无水乙醇、95%乙醇、二甲苯、冰醋酸、乙酸钠、苯酚、甲醛、碱性品红、山梨醇、秋水仙素或对二氯苯或 0.002 mol/L 的 8-羟基喹啉、中性树胶(或油派胶)、卡诺固定液、1 mol/L 盐酸、45%乙酸、1%龙胆紫、4%铁矾水溶液、2%醋酸洋红染色液或改良苯酚品红染色液、2.5%纤维素酶和 2.5%果胶酶的等量混合液。

【实验步骤】

1. 材料准备与取材

可直接从田间挖取刚长出的幼嫩根尖,也可以在室内培养根尖。本实验用大蒜根尖作材料,取材方便,而且能够获得较多的根尖,可供多人使用。

首先将大蒜瓣扒去皮,然后用细铁丝串起放在盛清水的培养皿内,使根部与清水接触,在 20~25℃光照条件下培养 2~3 d。待根尖长到 1~2 cm 时,选择健壮根尖,自尖端约 1 cm 处剪下准备预处理用。剪取根尖的时间以上午 10 时左右为好。

2. 预处理

为了阻止纺锤体的活动以获得较多的中期分裂相,同时使染色体相对缩短,便于染色体分散和计数,可对根尖进行预处理。如果只是为了观察有丝分裂各个时期的染色体动态变化而不进行染色体计数,可以不进行预处理。预处理的方法有药物处理和冰冻处理两种。

(1) 药物处理:将材料放在培养皿中,加 0.05%~0.2%秋水仙素水溶液室温下处理 2~4 h。也可用对二氯苯饱和水溶液或 0.002 mol/L 的 8-羟基喹啉水溶液室温下处理 3~4 h。这些药物都能使染色体缩短,对染色体有破坏作用。使用时应注意处理的时间,小麦、黑麦、大麦、洋葱和大蒜等处理 2~4 h 为宜,棉花和水稻等处理 2 h 左右为宜。处理时间长短与温度也有很大的关系。

(2) 冰冻处理:将根尖浸泡在蒸馏水中,置于 1~4℃冰箱内或盛有冰块的保温瓶中



冰冻 24 h。这种方法对染色体无破坏作用,染色体缩短均匀,效果良好,简便易行,各种作物都适用,但常用于处理禾本科植物材料。

3. 固定或前低渗

将经过预处理和未经预处理的材料(用于和经预处理的根尖进行对比)用蒸馏水冲洗 2 次,然后转移到卡诺固定液(3 份无水乙醇、1 份冰醋酸,现用现配)中,室温下固定 3~24 h。或者将根尖放入 0.075 mol/L KCl 溶液中低渗处理 20 min,然后再用蒸馏水冲洗 2 或 3 次。

注意,如果固定后的材料不立即使用,可放在 70%乙醇中,置冰箱或阴暗处保存。用时再用固定液重新固定一下(30 min~3 h)效果会较好。

4. 解离

常用的解离方法有以下 3 种。

1) 将根尖用蒸馏水冲洗 2 次,放入已经在 60℃水浴锅中预热的 1 mol/L 盐酸中,在 60℃恒温条件下处理 5~10 min,当根尖的伸长区变透明而分生区呈米黄或乳白色时即可取出。

2) 将根尖放入 2.5%纤维素酶和 2.5%果胶酶的等量混合液中(pH 5.0~5.5),室温下处理 3 h 左右。

3) 将根尖放入 95%乙醇和浓盐酸(1:1)混合液中处理 2~10 min,或将根尖放入 5 mol/L 盐酸中处理 5~10 min。

5. 染色与压片

将解离好的材料用蒸馏水冲洗以后,转入 45%乙酸中软化 10 min 左右。取 1 或 2 根软化好的根尖放在载玻片上,用刀片切去伸长区,只留下 1~2 mm 的分生区(也就是生长点)。滴 1 滴龙胆紫染色液染色 3~5 min,也可用改良苯酚品红染色液染色 10~15 min,或用醋酸洋红染色液染色 30 min 左右。

染色完毕加上盖玻片,在酒精灯火焰上过 3 或 4 次,以手背试之,感觉微烫为宜(如果室内气温较高或认为染色较好,也可不用酒精灯烤片)。在盖玻片上覆以吸水纸,用左手拇指压住盖玻片的一角,用右手拿铅笔垂直敲盖玻片几下,用力要均匀,尽量多敲几下,把材料震散。继续用左手拇指压住盖玻片一角,用右手拇指用力下压盖玻片,在保证两玻片不错动的前提下,将材料压成薄薄一层,即可放在显微镜下观察。

6. 镜检

压好的片子先在低倍镜下镜检,找到分裂细胞后,再转换成高倍镜观察染色体的动态变化。注意比较经过预处理和未经预处理的材料的不同之处。如果染色体分散良好,图像清晰,就可以脱水封片,制成永久片。

7. 永久制片

将玻片标本用干冰或制冷器冷冻数分钟,也可放在冰箱中冷冻几小时,取出后用薄刀片掀开,将附着材料的载玻片或盖玻片置于 37℃恒温箱中烘干,然后在二甲苯中透明 15 min 左右,中性树胶封片,干燥后即可长久保存。

【实验报告】

1. 绘出在显微镜下观察到的有丝分裂各时期的图像并注明时期。
2. 经过预处理和未经预处理的片子有何不同?为什么?

3. 制作两张优良的有丝分裂玻片标本,并说明优良有丝分裂玻片标本应该符合哪些标准。
4. 为了便于观察有丝分裂的过程及其中染色体的动态变化,最好应该选择什么样的材料?为什么?
5. 预处理、固定、解离、染色、烤片、压片的作用分别是什么?它们各自对时间有什么要求?

(郭善利 周国利)

1-2 减数分裂及染色体行为的观察

【实验目的】

1. 了解高等动植物配子形成过程中减数分裂的细胞学特征,重点掌握染色体在其中的动态变化过程,为研究遗传学的基本规律奠定细胞学基础。
2. 学习用植物花药和动物精巢制备减数分裂玻片标本的方法。

【实验原理】

减数分裂是在配子形成过程中发生的一种特殊的细胞分裂形式。其特点是:细胞连续进行两次分裂,而染色体只在减数分裂第一次分裂前复制一次,形成的性细胞只含有体细胞染色体数的一半。在减数分裂的前期Ⅰ,初级性母细胞中的同源染色体配对、联会并进行染色体片段的交换。中期Ⅰ时,同源染色体成对排列在赤道板两侧。后期Ⅰ时,同源染色体由纺锤丝分别拉向两极,而每条染色体的两条子染色体仍由着丝粒连接在一起,结果形成了染色体数目减半的次级性母细胞。次级性母细胞接着进行减数分裂的第二次分裂。在中期Ⅱ时,染色体的着丝粒分开,每个染色单体所形成的子染色体分别分配到子细胞中,结果形成单倍数的性细胞(图1-2和图1-3)。总之,在减数分裂的整个过程中,同

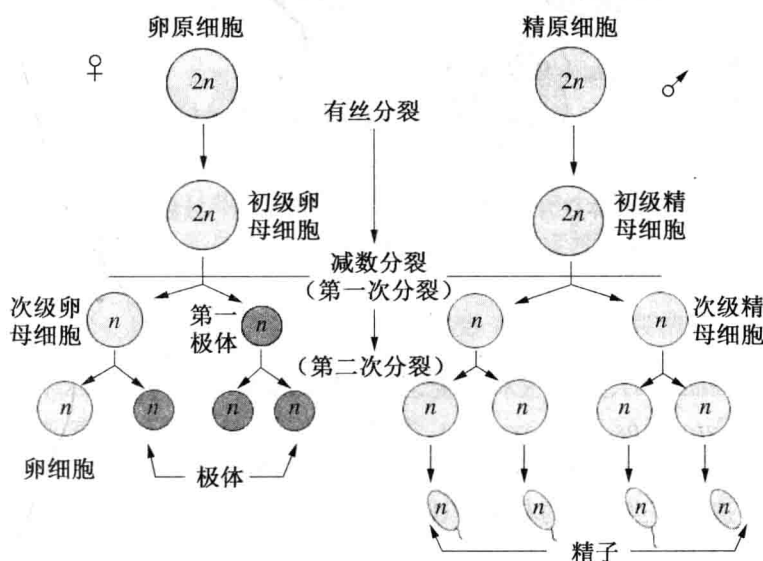


图1-2 减数分裂的细胞行为示意图

(修改自 <http://www.accessexcellence.org/AB/GG/mitosis2.html>)



源染色体之间要发生联会、交换、分离,非同源染色体之间要发生自由组合。通过染色体的规律性变化,使最终产生的4个子细胞内染色体数目只有母细胞的一半。

高等植物花粉形成过程中,花药内的某些细胞分化成小孢子母细胞,小孢子母细胞经过减数分裂形成4个单倍的小孢子(单核花粉)。在适当的时机采集植物的花蕾(花序),进行固定、染色、压片,可以在显微镜下观察到小孢子母细胞减数分裂的过程和染色体的动态变化。

性成熟的动物精巢中,不断地进行着减数分裂。将动物精巢固定、染色、压片后,在显微镜下可以看到各个时期的分裂相。注意有丝分裂与减数分裂染色体行为的不同(图1-4)。

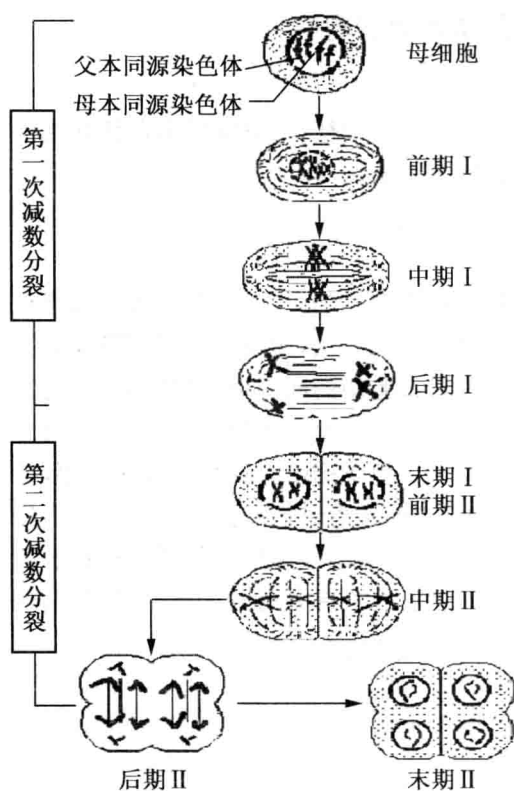


图1-3 减数分裂的染色体行为示意图

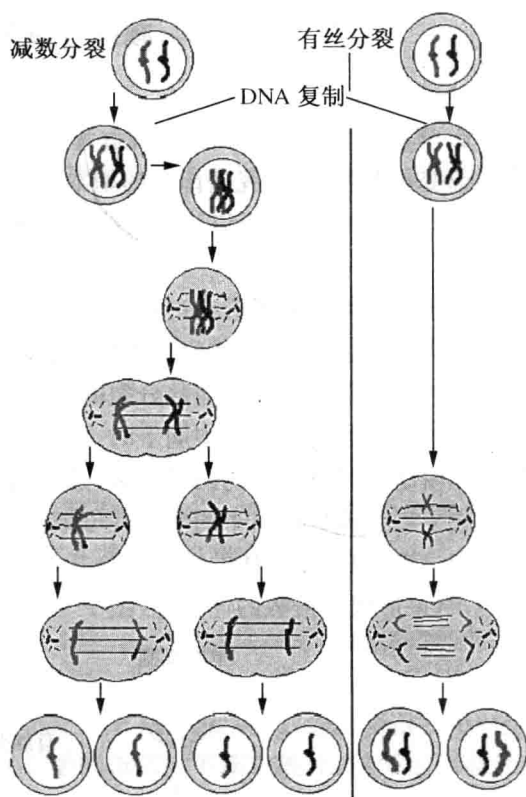


图1-4 减数分裂与有丝分裂的比较

(修改自 <http://www.accessexcellence.org/AB/GG/mitosis2.html>)

【材料与用品】

1. 材料

葱(*Allium fistulosum*)、蚕豆、玉米、小麦、水稻(*Oryza sativa*)、陆地棉(*Gossypium hirsutum*)、短角斑腿蝗(*Catantops brachycerus*)、稻蝗(*Oxya chinensis*)、东亚飞蝗(*Locusta migratoria manilensis*)等。本实验以葱花药和蝗虫精巢为实验材料。

(1) 植物: 选取适当大小的花蕾是观察花粉母细胞减数分裂的关键步骤。不同植物的取材时期有所不同。

1) 葱 春季花序嫩绿饱满、总苞光滑时可以取材固定。

2) 蚕豆 从现蕾开始,可选取1~2 mm大小的花蕾或一小段花序进行固定。



3) 玉米 在抽雄前 2 周左右(大喇叭口期),用手指从喇叭口处向下挤捏叶鞘,触到有松软感处,即雄花序的所在部位。在该处用刀片纵向划一切口,用镊子取出花序分枝。此时雄花序先端小穗颖长 4 mm 左右,花药长 2~3 mm,每一分枝中上部小穗发育最早。

4) 小麦 在旗叶挑出后,旗叶与下一叶片的叶耳距为 2~3 cm 时取材较好。但不同品种间稍有差异。

5) 水稻 以旗叶叶耳低于下一叶叶耳 5~6 cm 开始减数分裂,两叶叶耳重叠(间距为 0)时为减数分裂盛期。早稻、晚稻减数分裂开始的时间稍有差异,一般颖花长度为 3 mm 时开始,4 mm 时为盛期,6 mm 时减数分裂则已终止。

6) 棉花 棉花现蕾后即进入减数分裂时期。由于其花序分节着生,因此常按花蕾的长度取材。如陆地棉,一般在三角苞长到 1 cm 左右花萼与花瓣等长,整个花蕾长 3~5 mm 时取材较好。

(2) 蝗虫的采集:夏末秋初野外捕捉蝗虫(短角斑腿蝗、稻蝗、东亚飞蝗、土蝗或负蝗)雄性成体。直接用卡诺固定液固定 3~24 h,换入 70%乙醇中保存。

2. 用具及药品

镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、大培养皿、立式染缸、酒精灯、量筒、吸水纸和显微镜等。卡诺固定液、醋酸洋红(或改良苯酚品红)染色液、无水乙醇、冰醋酸、甘油、松香、中性树胶或油派胶(euparal)、石蜡、45%乙酸等。

【实验步骤】

1. 葱花药涂片观察

(1) 取材和固定:将花序总苞剥去,用卡诺固定液固定,固定 3 h 后换入 70%乙醇中。如果要保存较长时间,可放在 70%乙醇与甘油的等量(体积比)溶液中保存。

(2) 染色与涂片:取花序用蒸馏水冲洗后,取上、中、下部各 2 个花蕾放在载玻片上,用解剖针剥出每个花蕾的 2 或 3 个花药集中在一起,加 1 滴染色液在花药上,用解剖针反复挤压花药,使花粉母细胞进入染色液中,用镊子去净药壁残渣,再加 1 滴染色液染色 10 min 左右。较大的花药可以先用刀片切碎,然后挤压出花粉母细胞。

(3) 压片及镜检:加上盖玻片,上面附吸水纸,用拇指适当、均匀地加压,将周围的染色液吸干(展片)。先在低倍镜下寻找分裂相,然后换高倍镜仔细观察。

2. 蝗虫精巢的观察

(1) 取精巢:用镊子夹住雄虫尾部向外拉,找到一团由小管栉比排列构成的黄色组织块,这就是蝗虫的精巢。如果是新鲜材料,要放入卡诺固定液中固定 2 h 左右,之后再放入 70%乙醇中保存。

(2) 染色和压片:剔除精巢上的其他组织,用镊子夹取一小段精管放到载玻片上,加适量染色液,染色 15 min 以上。在酒精灯火焰上过 2 或 3 次,加盖玻片,覆以吸水纸压片。

(3) 镜检:显微镜下可观察到减数分裂各时期的分裂相及精子的形成过程。

染色良好、分裂相较多的片子也可制作成永久标本。皿内置一短玻棒,倒入约 2/3 的固定液。将选好的片子翻过来(有材料的面向下),一端搭在玻棒上,在固定液中浸泡。待盖玻片自然脱落后,与载玻片一起轻轻移入 95%乙醇 $\xrightarrow{1\text{ min}}$ 无水乙醇 $\xrightarrow{1\text{ min}}$ 加 euparal 1 滴,封片,贴上标签。



【实验报告】

1. 根据自己的观察,绘出下列各期的图像,并简述粗线期、终变期、中期 I、后期 I、中期 II、后期 II 的特点。
2. 显微镜下区分花粉母细胞和药壁细胞,说明其特点。
3. 观察蝗虫精母细胞的减数分裂和精子的形成过程。
4. 要得到很好的实验结果,取材时应该注意什么?
5. 结合观察减数分裂过程中染色体形态结构的变化,简述减数分裂过程中有哪些重要的遗传学事件发生。
6. 比较动植物减数分裂的差异。

(郭善利 周国利)

实验 2 果蝇的观察及单因子杂交

【实验目的】

1. 了解果蝇生活史各个阶段的形态特征,掌握果蝇雌、雄成虫和几种常见突变性状的主要区别方法。
2. 学习实验果蝇的饲养管理、实验操作、培养基的配制等方法。
3. 掌握果蝇单因子的杂交方法和杂交结果的统计处理方法,理解分离定律的原理。

【实验原理】

黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)为双翅目昆虫,具完全变态。用作实验材料的优点是:①容易饲养,生活周期短(20℃左右,约 15 d 一代);②繁殖能力较强,每只受精的雌虫可产卵 400~600 粒,因此在短时间内可获得较大的子代群体,有利于遗传学分析;③突变类型多,研究较清楚的突变已达 400 多个,且多数是形态特征的变异,便于观察;④唾腺染色体较大。因此,果蝇在遗传学研究中得到广泛应用,积累了许多典型材料。

按照 Mendel 第一定律,即分离定律,基因是一个独立的单位。基因完整地在一代传递到下一代,由该基因的显隐性决定其在下一代的性状表现。一对杂合状态的等位基因(如 A/a)保持相对的独立性,在减数分裂形成配子时,等位基因(A/a)随同源染色体的分

离而分配到不同的配子中去。理论上配子的分离比是 1:1,即产生带 A 和 a 基因的配子数相等,因此,等位基因杂合体的自交后代表现为基因型分离比 $AA:Aa:aa$ 是 1:2:1,如果显性完全,其表型分离比为 3:1,这就是分离定律的基本内容。通过果蝇一对因子的杂交实验,即得以验证它(图 2-1)。

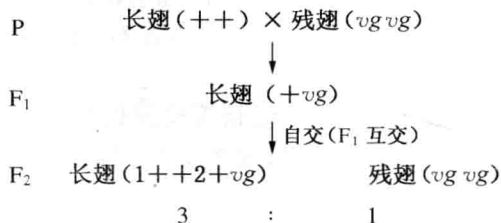


图 2-1 果蝇单因子杂交图

【材料与用品】

1. 材料

饲养的野生型和几种常见突变型果蝇。单因子杂交实验可选用黑腹果蝇的长翅(野

生型)纯合体、残翅(突变型)纯合体作为实验材料。

2. 用具及药品

(1) 用具: 双筒解剖镜、显微镜、放大镜、小镊子、麻醉瓶、培养瓶、白瓷板(或玻璃板)、毛笔、棉塞、软木塞或橡胶塞、恒温培养箱(最好是生化培养箱)、小滴瓶、载玻片、盖玻片、吸水纸、纱布等。

(2) 药品: 琼脂、蔗糖(或白砂糖)、乙醇、氯仿(或乙醚)、丙酸(或苯甲酸)、玉米粉、酵母粉(或鲜酵母)。

【实验步骤】

1. 果蝇的观察

(1) 生活史 果蝇生活史(图 2-2)包括受精卵、幼虫、蛹、成虫 4 个发育阶段。果蝇生活周期的长短与培养温度直接相关, 30℃ 以上引起果蝇不育和死亡, 低温则使其生活周期延长, 如 10℃ 左右时, 生活周期长达约 57 d。果蝇生长的最适温度为 20~25℃。20℃ 左右时, 整个生活周期约需 15 d。各发育阶段所需时间如下:

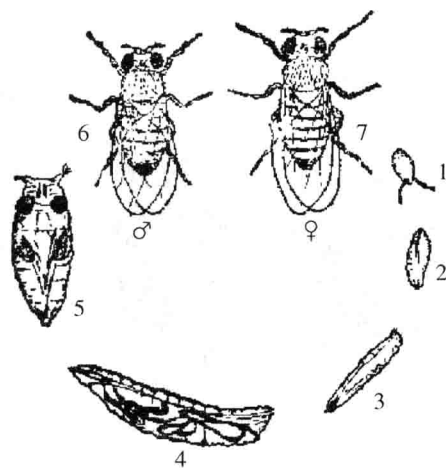
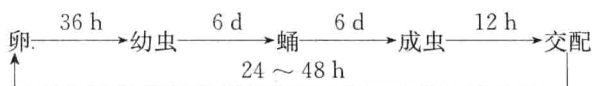


图 2-2 果蝇的生活史

(引自邱奉同和刘林德, 1992)



用放大镜从培养瓶外观察果蝇生活史的 4 个时期, 并掌握各阶段的特点及在果蝇杂交实验时应注意的问题。

1) 卵 羽化后的雌蝇一般在 12 h 后交配。果蝇杂交时必须用处女蝇, 因此选择处女蝇的时间是在羽化后 12 h 以内(为保证实验准确可靠, 选择处女蝇时, 以选择羽化后 8 h 以内的雌蝇为好)。雌蝇交配后 48 h 开始产卵, 卵的长度约为 0.5 mm, 为椭圆形, 腹面稍扁平, 在背面的前端有一对触丝。

2) 幼虫 幼虫从卵中孵化出来后即一龄幼虫, 一龄幼虫经两次蜕皮成为三龄幼虫。一龄幼虫很小, 在培养基中不易被看见。三龄幼虫较大, 常爬在培养基表面或培养瓶壁上。三龄幼虫体内前端有一对半透明的唾腺, 就是做唾腺染色体的实验材料。三龄幼虫的活动力强而贪食, 在爬过的培养基上留下一道沟, 若整个培养基被幼虫钻出多而深的沟, 表明幼虫生长良好。

3) 蛹 幼虫生活 6~7 d 后即化蛹, 化蛹一般在瓶壁上, 呈梭形, 起初颜色淡黄, 以后逐渐硬化且变为深褐色, 深褐色的蛹则即将羽化。

4) 成虫 刚羽化出来的果蝇, 虫体较长, 翅未完全展开, 体表白嫩; 以后会逐步几丁质化, 颜色逐步变深。

(2) 麻醉果蝇

1) 制备麻醉瓶 用干净培养瓶或与培养瓶口径相同的玻璃瓶并配备相应的软木塞或橡胶塞, 在软木塞的下面钉一铁钉, 在铁钉上缠一小团棉花。或可在软木塞上打



一小孔,塞上一张折叠的吸水纸。或可在橡胶塞上划一切口,夹住一张折叠的吸水纸。

2) 引出果蝇 将有果蝇的培养瓶用手轻拍,使果蝇振落瓶底,迅速拔去棉塞,将麻醉瓶与培养瓶的两口相对,培养瓶在下、麻醉瓶在上并朝向灯光处,双手遮住培养瓶,利用果蝇的趋光性和向上性,将果蝇引入麻醉瓶。

3) 麻醉 在麻醉瓶瓶塞的棉球或吸水纸上滴加 1~2 滴乙醚或氯仿,迅速塞入麻醉瓶口,0.5~1 min 大部分果蝇即被麻醉落入瓶底,摇动麻醉瓶,全部果蝇振落瓶底,之后立即将果蝇倒在白瓷板或玻璃板上,用毛笔小心拨动观察。如果用于杂交,翅膀外展的果蝇不能使用。

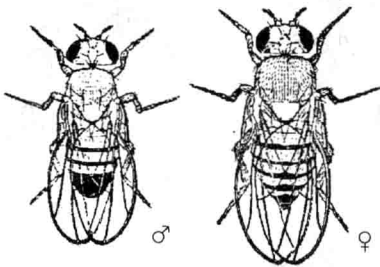


图 2-3 雌、雄果蝇背面观
(引自梁彦生等,1989)

(3) 辨认果蝇成虫雌雄个体: 正确而迅速地辨认果蝇性别,是果蝇杂交中选择处女蝇的关键。较老化的雌雄成蝇区别很明显,可以用放大镜、解剖镜或肉眼直接观察。刚刚羽化出来的果蝇不易区别,可在体视显微镜下观察区分。雌雄成蝇的鉴别特征见图 2-3~图 2-5 和表 2-1。

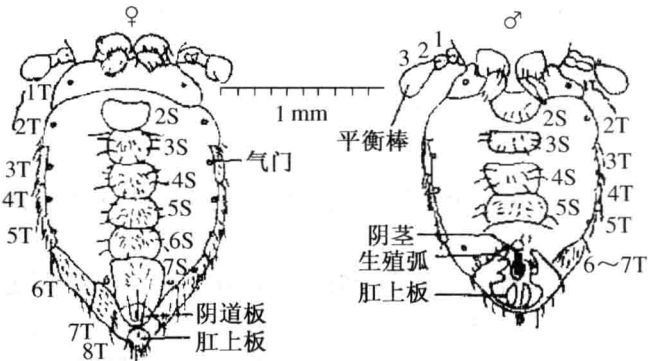


图 2-4 雌、雄果蝇腹部腹面观
(引自梁彦生等,1989)
1T~8T. 腹部背面环纹 2S~7S. 腹部腹板

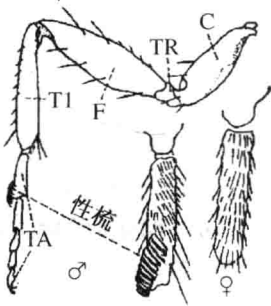


图 2-5 雄果蝇右前足上的性梳
(引自梁彦生等,1989)
C. 基节 TR. 转节 F. 腿节
T1 胫节 TA. 跗节

表 2-1 果蝇成虫、雌雄特征比较表

	雌 果 蝇	雄 果 蝇
体 型	大	小
	末端尖	末端钝
腹 部	背面: 环纹 5 节, 无黑斑	背面: 环纹 7 节, 延续到末端呈黑斑
	腹面: 腹片 7 节	腹面: 腹片 5 节
第一对足	跗节基部无性梳	跗节基部有黑色鬃毛状性梳

(4) 果蝇常见突变类型的观察: 野生型果蝇为灰体、长翅、红眼、直刚毛, 常见的突变性状见表 2-2。