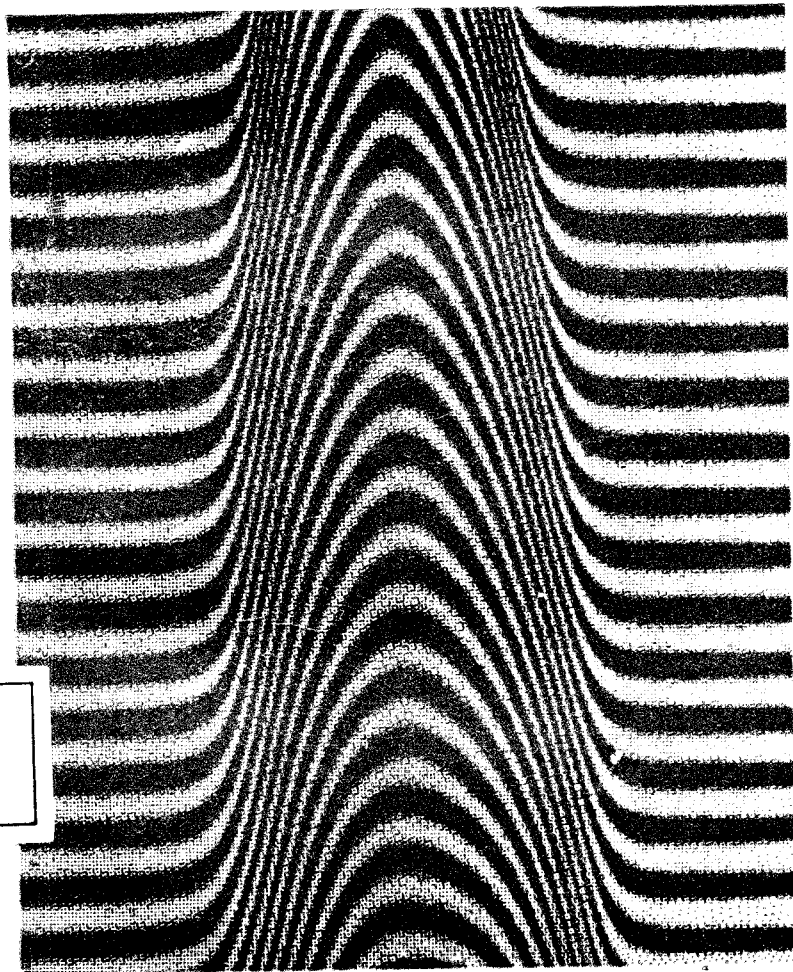


遗传学实验



3

山东科学技术出版社

遗传学实验

傅焕延 王彦亭 王洪刚 编
于元杰 姜丽军

*

山东科学技术出版社出版（济南市南郊宾馆西路中段）
山东省新华书店发行 山东新华印刷厂临沂厂印刷

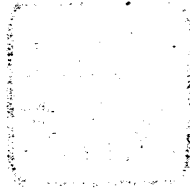
*

787×1092毫米32开本 5.375印张 112千字

1987年3月第1版 1987年3月第1次印刷
印数：1—11900

ISBN 7—5331—0064—6
S·8

书号 16195·171 定价 1.05元



前 言

本《遗传学实验》试用教材，可供高等农林院校农学、园艺、林学、植保、种子等有关专业本科和专科大学生遗传学实验课用；也可供有关专业的研究生及从事遗传育种的广大科研工作者参考；对中等农林专科学校、师范专科学校的有关专业也有一定参考价值。

本实验教材包括二十八个实验，其中主要是普通遗传学的实验内容。同时为了反映遗传学有关分支学科的发展，适应不同水平的需要，我们还编写了部分与细胞遗传学、微生物遗传学、分子遗传学、遗传工程等有关的基本实验技术。考虑到各院校的仪器设备、实验室等客观条件的差异，所编的实验有大有小，有单一的和综合的，有基本的实验技术和难度较大的实验技术；要求的仪器设备有较精密的，也有一般的。各校在应用本实验教材时，可根据不同专业的需要，不同的水平和条件，而选做不同的实验或进行示范实验。

本教材是在总结我校遗传学实验课教学实践经验的基础上，吸取兄弟院校的许多经验编写而成。我校遗传学教研室的其他同志，曾对遗传学实验提出了宝贵的建议，对此表示感谢。

由于时间仓促和我们经验不足，理论水平有限，某些实

验的安排、设计和编写可能有不妥、甚至错误之处，敬请读者加以批评指正。

编者

1986年10月于泰安，山东农业大学

目 录

实验一	普通光学显微镜的使用·····	(1)
实验二	植物花粉母细胞减数分裂的染色体观察··	(9)
实验三	植物花粉母细胞减数分裂制片技术·····	(12)
实验四	植物根尖压片技术·····	(17)
实验五	基因的独立分配和基因互作·····	(22)
实验六	果蝇的形态鉴别和饲养管理·····	(31)
实验七	果蝇的伴性遗传分析·····	(38)
实验八	基因的连锁交换与基因定位·····	(42)
实验九	果蝇唾腺染色体的观察·····	(46)
实验十	红色面包霉的分离和交换·····	(50)
实验十一	杂种优势的计算·····	(54)
实验十二	遗传力的估算·····	(57)
实验十三	植物染色体组型分析·····	(63)
实验十四	植物染色体显带及带型分析·····	(68)
实验十五	染色体倒位和易位的镜检与供检材料的 保存·····	(73)
实验十六	植物多倍体的诱发和鉴定·····	(76)
实验十七	辐射对植物染色体的诱变作用·····	(81)
实验十八	细胞核内DNA的鉴定·····	(82)
实验十九	大肠杆菌的转化·····	(85)
实验二十	细菌的转导·····	(90)

实验二十一	紫外线的诱导作用和 Lac ⁻ 突变株 的筛选·····	(94)
实验二十二	植物DNA的提取与纯化·····	(100)
实验二十三	植物叶绿体DNA的提取·····	(103)
实验二十四	DNA的分子杂交技术·····	(107)
实验二十五	作物雄性不育的观察·····	(110)
实验二十六	植物同工酶酶谱分析·····	(114)
实验二十七	花药培养·····	(120)
实验二十八	原生质体培养和细胞杂交·····	(128)
附 录	·····	(134)
一、	实验室一般药液的配制·····	(134)
二、	一般细胞学压片药液的配制·····	(134)
三、	染色体组型分析与带型分析药液的配制·····	(138)
四、	培养基的配制·····	(140)
五、	DNA的提取及分子杂交的试剂配制·····	(146)
六、	常用洗印、放大照片药液的配制·····	(149)
七、	液浸标本的制作·····	(150)
八、	玉米实验材料的制备与保存·····	(153)
九、	植物染色体数及植物细胞生活周期·····	(155)
十、	不同偏差/标准差的机率表·····	(159)
十一、	χ^2 值表·····	(161)
十二、	实验室工作规程·····	(162)
参 考 文 献	·····	(165)

实验一 普通光学显微镜的使用

一、实验目的：

熟悉普通光学显微镜的主要结构，了解其基本原理，掌握使用普通光学显微镜的方法。

二、实验用品：

普通光学显微镜，目镜测微尺，镜台测微尺，细胞分裂的玻片标本，擦镜纸。

三、普通光学显微镜的主要结构：

光学显微镜是进行遗传学研究的重要工具。在遗传学试验和研究中常用的普通光学显微镜根据镜台类型不同，主要分为两种。

一种是单目直筒镜台式（图1）。这种显微

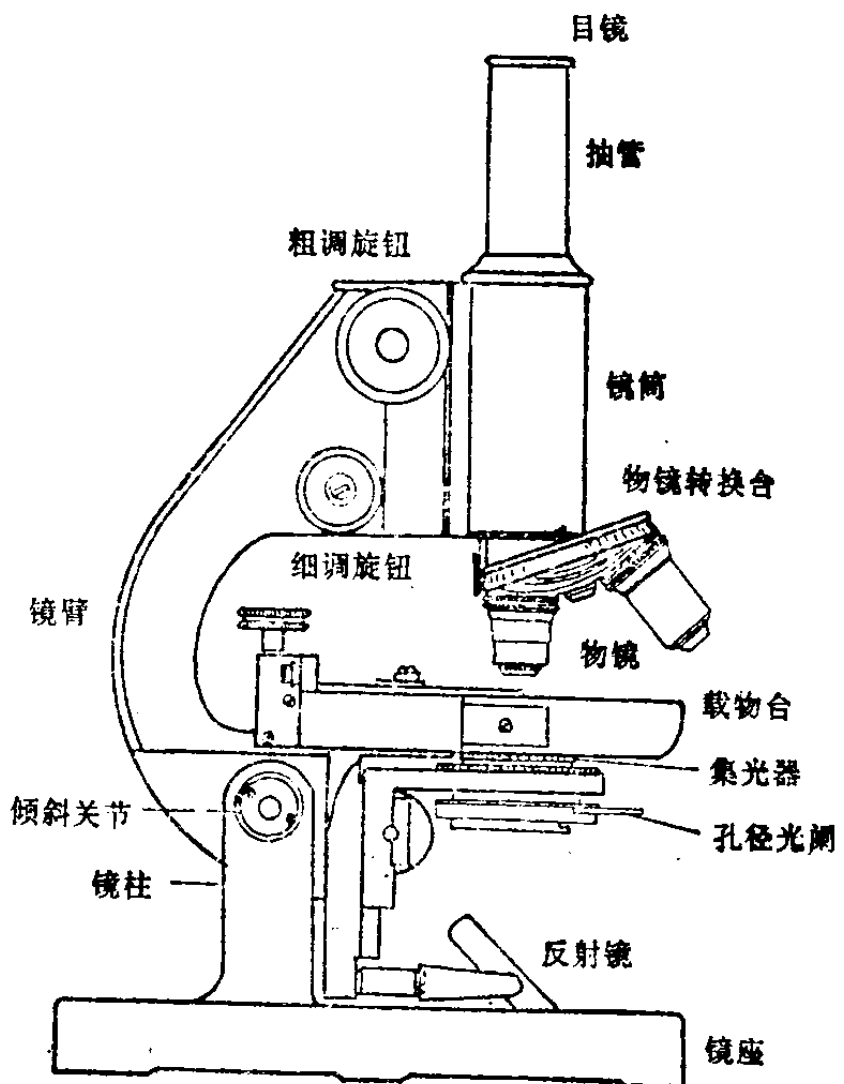


图1 单目直筒镜台式显微镜

镜的镜筒是直的，但在观察时，可以借助于镜座附近的倾斜关节使镜筒倾斜。但是当镜筒倾斜时，载物台也随之倾斜，对观察液滴标本或流体物质很不方便。另外，由于它通过移动镜筒聚焦，因此镜筒上不适合安装照相、投影等附件。

另一种是双目斜筒镜台式（图2）。目前，用于较高级的研究大都采用斜筒镜台。这种显微镜的光源安装在镜座内，镜筒向观察者倾斜 30° 或 45° ，而载物台呈水平位置，并可通过移动载物台聚焦，因此镜筒是完全固定的，可以在镜筒上安装照相和投影等附件。

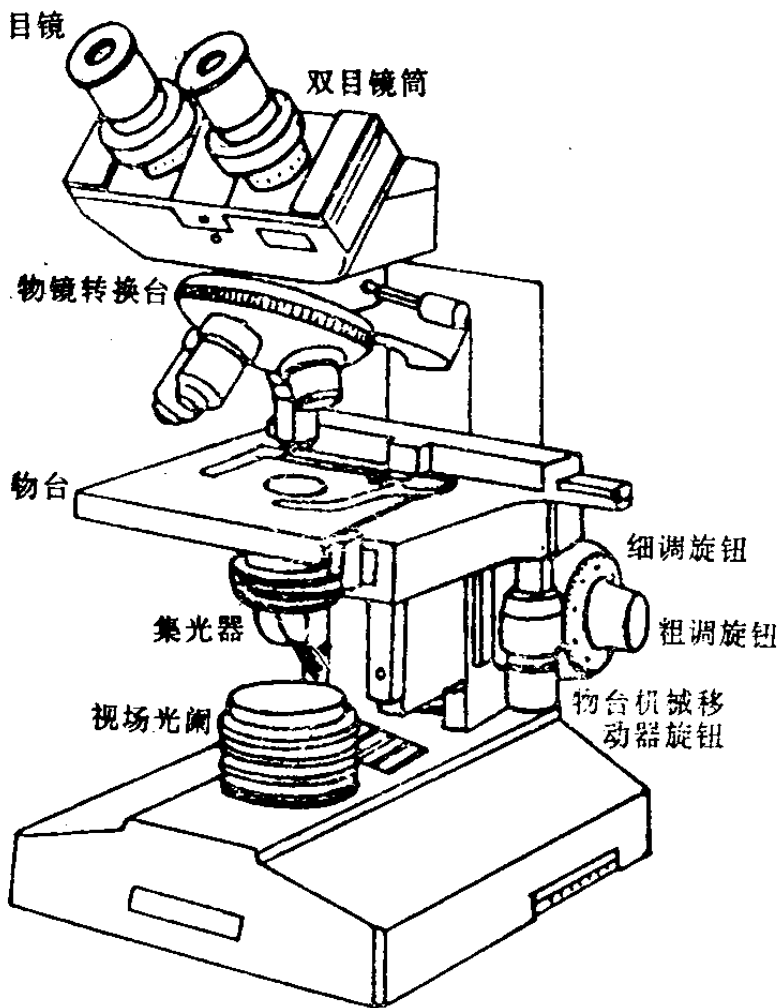


图2 双目斜筒镜台式显微镜

不论是单目直筒镜台式还是双目斜筒镜台式显微镜，其基本结构大致相同，都是由机械系统和光学系统两大部分组成。光学系统是显微镜的“心脏”，但要使光学系统充分发挥作用，还必须有机械系统的协调配合。

1. 机械系统：主要用于光学系统的支承和运动。它包括

镜座、镜筒、镜柱、镜臂、倾斜关节、调节器、物镜转换器、载物台等。

(1) 调节器：调节器（包括粗调和细调）装在镜臂的上端或下端，能使镜筒或载物台升降。通过调节标本和物镜之间的距离而聚焦，使标本处于最清晰的位置。

(2) 物镜转换器：它是安装并更换物镜的装置，普通光学显微镜的物镜转换器，一般是装有三个物镜的三孔式，也有四孔、五孔或六孔式。

(3) 载物台：它是放置观察标本的台面，方形或圆形。在载物台上有的装有标本移动器，将标本固定后可横向和纵向移动；有的移动器上有刻度，可以确定标本的位置。

2. 光学系统：主要包括物镜、目镜和照明装置。

(1) 物镜：是显微镜中最重要的光学部件，安装在镜筒下端。一般由几片透镜组合而成，有的多至10~12片。物镜上端的透镜叫后透镜，下端的叫前透镜。前透镜愈小，放大率愈高。在显微镜中，物镜最接近被检物，它的作用是将标本作第一次放大，形成标本的中间象。因此，它是决定显微镜的光学质量、分辨力和放大倍数的关键性部件。

(2) 目镜：目镜是由两片或两组透镜组成。分别装在金属目镜管的上部和下部。上面的称前透镜（或接目透镜），下面的称场透镜。在上下透镜之间有一个决定最终视场大小的环状光阑，它正处于中间象的平面上。场透镜对目镜的放大不起重要作用，它主要将视野边缘部分的光线向中央集中，使得不能到达眼睛的斜射光参与象的形成，并能增加象的亮度。

目镜是仅次于物镜的光学部件，它的主要作用不是观察

实物,而是将物镜形成的中间像进一步放大,使之便于观察,但它并不能提高显微镜的分辨力。

(3) 照明装置: 包括反射镜、聚光器、光源等, 是显微镜中除了物镜和目镜之外的另一个光学系统。它对于成像质量和分辨力的高低有着密切关系。

①反射镜: 是显微镜上最普通的取光设备, 是一种一面平、一面凹的双面反射镜。镜体可以翻转调整位置, 使光线射向聚光镜。利用外来光源的显微镜必设反射镜。在有聚光镜时, 低倍和高倍物镜都使用平面镜(光量不足时可以使用凹面)。没有聚光镜的显微镜, 低倍用平面, 高倍用凹面。

②聚光器: 也称集光器, 是由平、凸透镜或数块透镜和孔径光阑组成。它可以适当改变从光源射来的光线性质, 把光线聚集到标本之上作照明用, 使得被照明的物体接近于自发光物体的情形, 有利于提高分辨力。简单的显微镜没有聚光器, 用反射镜的凹面代替。

③光源: 显微镜所用的光源有自然光源和人工光源。自然光源是利用日光的散光; 人工光源需要装灯, 并分外光源和内光源两种。外光源的灯以放在距反射镜250mm处为宜, 其高度、方向、倾斜度应可以调整。光束经反射镜或再经聚光器射入物镜。内光源是将灯安装在镜座内, 光束直接向上射入聚光器。

四、普通光学显微镜的成象原理:

由上可知, 显微镜的物镜和目镜是决定显微镜光学质量和光学性能的重要因素, 它们都是由数片透镜粘合而成的。实际上分别相当于一块透镜。显微镜就是利用透镜的放大原理把微小物体放大。可见透镜是显微镜中最重要的光学部

件。

1.什么是透镜：折射面是两个球面，或者一个球面、一个平面的透明体叫透镜。一般由光学玻璃制成，在特殊需要时，也可以用晶体磨成。除简单的放大镜是一个凸透镜外，较复杂的放大系统都是由若干个透镜组合而成。显微镜的放大系统由两组透镜组成，一组是物镜，一组是目镜。

2.显微镜的成象原理：对于一个由物镜和目镜组成的显微镜来说，象的形成遵从以下原则：当物体在透镜的两倍焦距以内、焦点以外时，在透镜的另一侧的两倍焦距以外生成放大的倒立实象；当物体在透镜的焦点以内、光心以外时，在透镜的同一侧形成放大的倒立虚象。由于在显微镜的设计时，总是让标本的位置处于物镜的两倍焦距以内、焦点以外的地方，因此在物镜上方的两倍焦距以外生成放大的倒立的实象。这个第一次象（即中间象）的位置又被安排在目镜下方的焦点之间，它相当于一个物体，在目镜同侧生成放大的倒立虚象，可以通过目镜用眼睛观察到。所以最后通过目镜看到的物体是放大的倒立虚象。

五、显微镜的使用：

1.观察前操作：在观察标本前需先对显微镜进行预备操作，主要是对照明系统进行调节。首先将低倍物镜移入光路，开大聚光器上的光阑，不带光源的显微镜可以通过调节反射镜和聚光器进行对光，自带光源的显微镜，打开光源后，通过调节聚光器对光。

2.观察标本的顺序：对光后，将观察的标本固定在载物台上，并使低倍物镜对准标本。然后利用调节器的粗调，调节物镜和标本之间的距离，当看到物象后，再利用细调，调

到物象清晰为止。观察时应先用低倍物镜，而不宜用中倍或高倍物镜。这是因为低倍物镜工作距离标本较远，视场大，有利于观察被检物体的全貌。如果一开始就用高倍镜，不但视野窄，景深也小，只能看到标本的极小一部分，并且高倍镜视场暗，不容易调距和寻找很小的被检物。

用低倍镜观察了标本的概貌以后，需要对标本的某一部分进行细致深入地观察时，可将要研究的部位移到视野中心，然后换用高倍物镜。

3. 高倍物镜的转换：在低倍镜将要详细观察的部位移到视场中心以后，按顺时针方向将高倍物镜转入光路，此时可听到“咔”的响声，表明高倍物镜已入定位。一旦转换高倍物镜后，切不可再动粗调，只用细调就可使物像清晰。因为高倍物镜工作距离短，动用粗调容易压碎标本，甚至损坏镜头。在换用高倍物镜后，应注意重调聚光器的高低和光阑开孔的大小。

4. 油镜的使用：在观察时，如需要对标本某部位进行更深入的研究，而必须使用油镜时，首先应按照由低倍到高倍的顺序，观察清楚并将观察部位移到视场中心，然后再换用油镜。换用油镜时，在油镜不到定位时，应先在盖玻片上滴一滴香柏油，再使油镜进入定位与油接触。为了稳妥，可先升高镜筒或降低镜台再转换油镜，然后在盖片上滴油，从侧面看看，用粗调使油镜头缓缓接近盖片到接触油滴为止。再从目镜观察，通过细调到物象清晰。在滴油时应尽量避免形成气泡，如有气泡应将其排除。当油镜使用完毕，应立即用擦镜纸将油镜和玻片上的油擦去，然后用擦镜纸蘸少许二甲苯擦拭，且不可用二甲苯太多。

5.测微尺的使用：在研究中如欲测量显微镜下的物体大小，需借助于测微尺。常用的测微尺有目镜测微尺和镜台测微尺，二者必须配合使用。

目镜测微尺，是放在目镜内的一种标尺，它是带有刻度的一块圆形玻璃。刻度全长为5mm，分成50格或100格。也有的全长为1cm，分为100格。由于显微镜放大倍数不同，目镜测微尺所代表的实际长度也不同。因此，在使用前必须用镜台测微尺进行校正。

镜台测微尺，是一种带有刻度的载玻片，刻度全长1mm，分为100格，每小格长度为0.01mm。使用时，先将目镜测微尺装入目镜内，（有刻度的一面向下），再将镜台测微尺放在载物台上，使刻度位于视场中心。观察显微镜，通过旋转目镜和调节器，使目镜测微尺和镜台测微尺的刻度清晰地处于同一平面，并使二刻度尺平行。移动镜台测微尺使二者的刻度尺重合，并从视野的中心找出刻度尺上完全重合的两条刻度线。（重合刻度线之间的距离越长越准确）。计数二者在两重合线之间的格数，按下式计算目镜测微尺每一小格的实际长度（低倍和高倍物镜应分别校正）。

目镜测微尺每格长度（ μm ）

$$= \frac{\text{重合线内的镜台测微尺格数} \times 10}{\text{对应的目镜测微尺格数}}$$

例如，在两种测微尺上两重合刻度线之间，镜台测微尺是6格，目镜测微尺是15格，那末：

$$\text{目镜测微尺每格代表的实际长度} = \frac{6 \times 10}{15} = 4 (\mu\text{m})$$

在校正出目镜测微尺中每格的实际长度以后，即移去镜

台测微尺，换上要测的标本，在同样放大倍数下测出被测物体对应于目镜测微尺的格数，就可以标出被测物体的实际长度。

六、注意事项：

1.搬动显微镜时，应一手握镜臂，一手托镜座，切不可单拿镜筒或其它部位。要轻拿轻放，放下时不能使镜座全面同时与桌子接触，应先稳定放好镜座的一端，再慢慢放下其余部分，更不可使其强烈震动。放置显微镜的位置不能靠近桌边。

2.观察时，应按照从低倍到高倍的顺序进行，旋转调节器必须轻而缓，否则不容易看到要观察的图像。

3.如发现图像不清晰，可能是由于目镜、物镜或盖玻片上有污迹，应用擦镜纸擦拭清洁视野的部位。也可能是由于调节器的螺旋已到达行程终点而空转，此时应倒转，重新调节。

4.观察者的视力不同，观察效率也不一样，可以通过细调作适当调节。使用单筒显微镜观察时，双眼都应张开，以减轻眼的疲劳。一般是左眼看镜，右眼看着桌子上的绘图纸进行描绘。不描绘时可用两只眼轮换观察。

5.当显微镜用完后，应使各部件恢复原位。将物镜离开光路，下降聚光器，镜筒或载物台降到最低位置，然后将显微镜放在干燥、阴凉、无腐蚀性物质的地方存放。

七、实验方法与步骤：

1.操作单目直筒镜台式和双目斜筒镜台式显微镜，应熟悉其基本结构。

2.按照显微镜的使用程序，观察细胞分裂标本，熟练掌

握显微镜的使用方法。

3.练习目镜测微尺和镜台测微尺的使用方法。

八、实验作业:

1.绘出自己在显微镜下所观察到的细胞分裂图象。

2.用测微尺测定玻片标本中分裂细胞的直径,重复10次,取其平均值。

实验二 植物花粉母细胞减数分裂的 染色体观察

一、实验目的:

观察并熟悉性母细胞在减数分裂过程中的细胞学特征,重点了解染色体在这一过程中所表现的特殊变化,为研究遗传学基本规律奠定细胞学基础。

二、实验原理:

减数分裂是性母细胞在形成性细胞时进行的一种特殊的细胞分裂方式。它包括减数第一分裂和减数第二分裂两个连续变化的阶段。每个阶段根据细胞和染色体的变化特点分为前期、中期、后期和末期四个时期。由于减数第一分裂的前期较长,染色体变化也比较复杂,所以又将第一前期分为细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变(浓缩)期。在减数分裂的整个过程中,同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,使最终产生的四个子细胞内染色体数目只有母细胞的一半。既然染色体是遗传物质的载体,因此染色体在减数分裂中的行为对遗传物质的分配和重组产生了重大影响。对于性母细

胞和染色体的变化特点，可以通过对供试材料进行一定的制片染色处理，在光学显微镜下进行观察。

三、实验材料：

玉米、小麦、蚕豆等花粉母细胞减数分裂的永久制片和照片。

四、实验用品：

显微镜、擦镜纸。

五、实验方法与步骤：

利用玉米、小麦和蚕豆等花粉母细胞的减数分裂永久制片，参考减数分裂各期的照片，在显微镜下进行系统地观察，掌握各期的特点。现将减数分裂各期的主要特点简述如下：

1. 第一前期：

(1) 细线期：细胞核内出现细而长的染色体，交织成一团线状物，首尾不分，无法计数。核仁和核膜清晰可见。

(2) 偶线期：每对同源染色体顺着它们的纵长，按相同部位，紧紧地靠在一起，称为同源染色体的“联会”或“配对”。联会在一起的一对同源染色体称为“二价体”。由于此时每条染色体已经复制，因此每个二价体都包含四条染色单体。每条染色体的两条染色单体受同一着丝粒约束，它们互称姊妹染色单体。每一个二价体不同成员的染色单体互称非姊妹染色单体。由于这一时期很短，染色体又很细长，一般难以同细线期区别，并且同源染色体联会的行为在光学显微镜下看不到。这一时期核仁和核膜仍清晰可见。

(3) 粗线期：染色体因进一步螺旋化而呈粗线状。染

染色体的个体性逐渐明显。非姊妹染色单体之间的“交换”就发生在此期，但“交换”的行为不能直接在显微镜下观察到。核仁和核膜在这一时期仍然可见。

(4) 双线期：染色体进一步缩短变粗，每个二价体的一对同源染色体相互排斥，并开始彼此分开。但由于非姊妹染色单体的交换，每个二价体出现了数目不定的交叉结使二价体仍能维持而不完全分开。核仁和核膜仍然可见。

(5) 终变期：染色体高度浓缩，交叉结端化，每个二价体只在末端相连，核仁和核膜仍然可见。此时所有二价体分散在整个核内，可以进行染色体计数，某生物有多少对染色体此时就有多少个二价体。

2. 第一中期：核仁和核膜的消失，标志着前期的结束，中期的开始。此时，所有二价体排列在纺锤体的赤道面上。每个二价体两条染色体的着丝点分别趋向纺锤体的不同极。如果从纺锤体的一极向赤道面观察，仍可计数染色体。由于一对同源染色体两个成员的着丝点朝向细胞的哪一极完全是随机的，因此在不同性母细胞中，此期染色体的排列具有多种可能性。

3. 第一后期：每个二价体的两条染色体都以着丝点为先导，由纺锤丝牵引分别向细胞的两极移动。结果细胞的每一极只分到了一对同源染色体中的一条，从而使每一极分到的染色体数只有原来的一半。此时分到每一极的每条染色体的两条姊妹染色单体仍然由共同的着丝点连在一起。

4. 第一末期：染色体到达细胞两极后，细胞的每一极又重新形成核膜和核仁，随之胞质分裂（有的植物此时胞质不分裂），形成两个子细胞，称为“二分子”。