

EXPERIMENT PRINCIPLES AND
METHODS OF GENETICS

遗传学 实验原理和方法

兰泽蘧 梁学礼 主编

四川 大 学 出 版 社

内 容 简 介

本书是四川大学生物系植物遗传研究室和美国堪萨斯州立大学农学系遗传研究室根据当前遗传学在新的实验技术上的发展,为了提高我国的遗传学教学水平合编而成。出版前曾作过试用教材在四川大学生物系多次讲授,并经过反复修改定稿。

本书共分四章,主要是:基础遗传学实验;细胞遗传学实验;体细胞遗传和组织培养实验;分子遗传学实验等。内容“求全、求新”,偏重于植物实验材料。每章结尾介绍了参考文献,供读者进一步查阅。

本书可供大专院校生物系(包括农、林、医、院校)师生作为教材或参考书,也可供从事遗传学研究的科研人员阅读参考。

遗传学实验原理和方法

蓝泽莲 梁学礼 主 编

责任编辑:马佑国

封面设计:冯先洁

四川大学出版社出版发行(成都四川大学内)

四川省新华书店经销 成都宏明印刷厂印刷

开本:787×1092毫米 1/32 印张:12.18 字数:2630千

1990年2月第一版 1990年2月第一次印刷

印数:0001—3000册

ISBN 7-5614-0270-8/Q·10 定价:2.40元

序 言

自从发现孟德尔遗传定律以来,经过了近百年的发展,遗传学已经成为一门复杂的科学。它是生物学的一个分枝,也是育种和医疗实践的基础。随着近代科学技术的发展,遗传学正朝着“新”、“尖”的实验技术发展。为了适应遗传学的发展,提高我国的遗传学教学水平,四川大学生物系植物遗传研究室和美国堪萨斯州立大学农学系植物遗传研究室决定共同编写《遗传学实验原理和方法》一书。

《遗传学实验原理和方法》共分四章。第一章属于基础遗传实验范畴;第二章讨论细胞遗传;第三章介绍体细胞遗传和组织培养;第四章涉及分子遗传实验。我们编写的原则是“求全、求新”。由于全,有选择实验的可能,教师才能根据学生的程度,实验室的设备和材料,选择比较适合实验进行教学。由于新,才能让学生了解和掌握遗传学发展的方向和新的实验技术。

《遗传学实验原理和方法》偏重于高等植物方面的试验。这一方面是由于我们的教育背景的关系,同时也因为国内已经有偏重于微生物和动物方面的实验教材的关系。

本书中方主编是四川大学生物系植物遗传研究室蓝泽莲副教授,美方主编是堪萨斯州立大学农学系植物遗传研究室

梁学礼教授。参加编写的还有罗鹏、周宏治、王智勤等同志。书中的一些插图由冯先洁同志绘制。

本书出版后，如有讹误之处，敬希读者不吝赐教，以便再版时修订，科学没有捷径，一分血汗，一分收获。科学的昌盛象征着国家的进步。愿我们从事遗传学工作的同事，实事求是，共同努力，发展我国的遗传科学。

编 者

1989年6月

目 录

第一章 基础遗传学实验	(1)
一、遗传学中概率规律的应用.....	(1)
二、分离和自由组合.....	(18)
三、基因互作.....	(30)
四、性连锁基因.....	(46)
五、复等位基因.....	(50)
六、自交不亲和基因.....	(53)
七、细胞质细胞器基因.....	(60)
八、基因多效性.....	(75)
九、卡方方法的应用.....	(77)
十、真核生物的基因连锁.....	(82)
十一、真核生物的染色体基因定位.....	(90)
十二、干扰和并发.....	(97)
十三、作图函数.....	(100)
十四、图距的结合.....	(105)
十五、人类染色体作图.....	(108)
十六、四分体分析.....	(115)
十七、果蝇遗传学.....	(136)
参考文献.....	(146)

第二章 细胞遗传学实验	(147)
一、花粉观察.....	(147)
二、植物细胞的有丝分裂.....	(152)
三、蚕豆和洋葱细胞的有丝分裂.....	(156)
四、核型分析.....	(159)
五、禾谷类作物染色体观察的根尖压片法.....	(165)
六、减数分裂.....	(169)
七、染色体结构变异.....	(184)
八、三体.....	(195)
九、单体.....	(200)
十、远缘杂交的细胞遗传学.....	(206)
十一、染色体显带.....	(210)
十二、扫描电镜的初步使用.....	(215)
参考文献.....	(215)

第三章 植物体细胞遗传学实验	(226)
一、无菌条件.....	(226)
二、培养基的营养成份.....	(230)
三、植物组织培养.....	(233)
四、体细胞胚胎发生.....	(255)
五、通过花药和小孢子培养产生单倍体 和多元单倍体.....	(263)
六、植物的细胞悬浮培养.....	(274)
七、原生质体的分离、纯化和培养.....	(280)

八、植物原生质体融合.....	(286)
九、人工种子(合成种子).....	(292)
十、运用细胞培养产生次级代谢产物.....	(300)
十一、胚胎挽救(embryo rescue).....	(302)
参考文献.....	(311)
第四章 分子遗传学实验	(318)
一、DNA是遗传物质.....	(318)
二、DNA变性图.....	(331)
三、限制酶.....	(336)
四、植物线粒体DNA.....	(347)
五、植物叶绿体基因组.....	(360)
参考文献.....	(367)
附录：一、植物人工有性杂交方法.....	(368)
二、小染色体植物的制片方法.....	(370)
附表1 累积正态频率分布.....	(372)
附表2 二项分布的99%置信区间 (百分率).....	(375)
附表3 $\sigma-1\mu$ 值的 $e^{-\mu}$ 值.....	(378)
附表4 卡方分布.....	(380)
附表5 根据乘积比值估计的重组分数 的变量.....	(381)

第一章 基础遗传学实验

一、遗传学中概率规律的应用

遗传学通常涉及结果不大肯定的实验。结果不肯定的原因很多，主要的原因有取样方法，样本大小和环境影响等。例如，观察到的表型比值可能和预期的比值不同，因为带有不同等位基因的配子和异性配子的结合是随机的。理论上，杂合圆粒植株（ Rr ）自交所得到的后代植株的基因型可能表现为 $1 RR : 2 Rr : 1 rr$ 的比值。甚至在样本很大时，完全的比值也难以存在。换言之，配子形成过程以及形成合子的那些配子的结合容易发生变化，而偏离预期的比值。

遗传学中通常要根据最可靠的结果来作决定。用于一个假定比值的F测验，t测验和卡方测验中的显著性水平，都是遗传学研究中应用概率原理的例证。作为数学科学一个分枝的概率，可以用来处理不确切的实验结果。

在统计上，概率可以定义为一个事件在许多试验中发生的次数。设A为与一个实验有关的事件， n_A 代表A在这个实验的 n 次独立重复中发生的次数，则事件A的概率 p ，如用 $p(A)$ 表示，将是：

$$p(A) = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n_A}{n}$$

这里介绍两个推理。

推理一：一个事件或一组事件发生的概率，其最大值为1，最小值为0。在多数情况下，概率是0和1之间的一个分数。

推理二：假如一个事件发生的概率为 p ，这个事件不发生的概率为 $1 - p$ 或 q ，则 $p + q = 1$ 。

(一) 概率规律

独立事件 假如在给定试验中，一个事件的发生不影响其它事件的发生，也不为其它事件的发生所影响，这种事件就是独立事件。

根据定义，如果 $p(A \cdot B) = p(A) \cdot p(B)$ ，则A和B两个事件是独立的。因此获得同时发生两个或多个独立事件的概率是获得每个事件单独发生的概率的乘积。这个规律又称为乘积定理。

试考虑一个有三对杂合基因(Gg , Pp , Tt)的二倍体植株，它的每个基因位于不同的染色体上。由于每对基因分离时它的每个等位基因的机率不受其它基因对的等位基因的影响，因此具有这些基因组合的配子的概率，是这些基因的个别概率的乘积。如果每个基因对的等位基因进入配子的机率均等，则它们的概率的计算如下。

配子产生

概率

GPT

$$\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$GPt \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$GpT \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$Gpt \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$gPT \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$gPt \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$gPT \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

$$gpt \quad \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

总和 1

同源多倍体的配子产生可以用同样的公式计算。例如，我们来考虑S座位的双显性杂合四倍体 $S_1S_2s_1s_2$ ，（S和s为等位基因；1，2，3，4为四倍体的四个同源染色体）。则这四个染色体的任何两个结合在一起的方式有6种：即 S_1S_2 、 S_1s_3 、 S_1s_4 、 S_2s_3 、 S_2s_4 、 s_3s_4 ，每种分别发生的概率为 $1/6$ 。 $1/6$ 的概率是怎样得来的呢？让我们简单介绍应用组合来分析配子形成过程中染色体分配（其结果是基因分配）的可能方式。对于四倍体 $S_1S_2s_3s_4$ 来说，它的配子

是二倍体。四倍体的配子具有任意两个染色体的可能方式是：

$$C_2^4 = \frac{4!}{2!(4-2)!} = \frac{4 \cdot 3 \cdot 2 \cdot 1}{2 \cdot 1(2 \cdot 1)} = 6$$

大体上，在n件事物中一次取得r件事物的可能方式是：

$C_r^n = \frac{n!}{r!(n-r)!}$ 。这里C表示组合中可能方式的数目。n!读作n阶乘积，等于n · (n-1)(n-2)……(n-n+1)。r!也是这样。这里要记住两点。

第一，如：n=0 则n!=1

第二，如：n为实数，则n°=1

同样，其它配子，S₁s₃，S₁s₄……s₃s₄都有1/6的概率。

实验： 令围棋的黑子表示杂合二倍体个体Aa的显性等位基因A，白子表示等位基因a。将数目相等的黑子和白子各100枚在袋中混合。每次在袋中随机取两枚，记载其颜色，并返回袋中。重复10次，20次，50次。比较其结果，并作出结论。

试验	结果
1	2 黑 一黑一白 二白
2	
⋮	
10	
总的比值	

1
2
⋮
20

总的比值

1
2
⋮
50

总的比值

实验： 围棋的黑子 和白子各100枚在袋中混合，令袋表示个体AAaa，黑子表示等位基因A，白子表示等位基因a。左手每次取两枚表示雌配子，记载其颜色，并返回袋中。再用右手取两枚表示雄配子。重复抽样10次，20次，50次。比较其结果，并作出结论。

试验	雌配子	雄配子	合子
1	AA Aa aa	AA Aa aa	A^4 A^3a A^2a^2 Aa^3 a^4
2			
⋮			
10			

观察数：

预期数： $1/6$ $4/6$ $1/6$ $1/6$ $4/6$ $1/6$ $1/36$ $8/36$ $18/36$ $8/36$ $1/36$

1
2
⋮
20

观察数：

预期数： $1/6$ $4/6$ $1/6$ $1/6$ $4/6$ $1/6$ $1/36$ $8/36$ $18/36$ $8/36$ $1/36$

1
2
⋮
50

观察数：

预期数： $1/6$ $4/6$ $1/6$ $1/6$ $4/6$ $1/6$ $1/36$ $8/36$ $18/36$ $8/36$ $1/36$

实验： 用下列试验材料可以在花粉中直接测定花粉粒的分离。

玉米： 玉米的花粉有蜡质的和非蜡质的。具 wx 基因的花粉用碘溶液染色时呈红色，而具常态等位基因 Wx 的呈兰色。在散粉期收集花粉，把花粉放在载玻片上，用1%碘溶液染色。计算染成红色和染成兰色的花粉数目。问红色：兰色花粉的比值是否为1：1？

水稻： 水稻胚乳的淀粉质对蜡质呈显性。将纯合的淀粉胚乳植株和纯合的蜡质胚乳植株杂交，并将 F_1 培育成熟。在开花期，从 F_1 植株收集花粉，用稀碘溶液染色。在载玻片上计数染成红色和染成兰色的花粉粒数。问红色：兰色花粉粒的比值是否为1：1？

高粱： 高粱花粉也具有淀粉和蜡质的特征。蜡质基因

杂合的高粱植株会产生一半染成红色的蜡质花粉和一半染成兰色的淀粉质花粉（图 1—1）。计数一个杂合植株的红色和兰色花粉粒，并和预期的 1 : 1 比值比较。

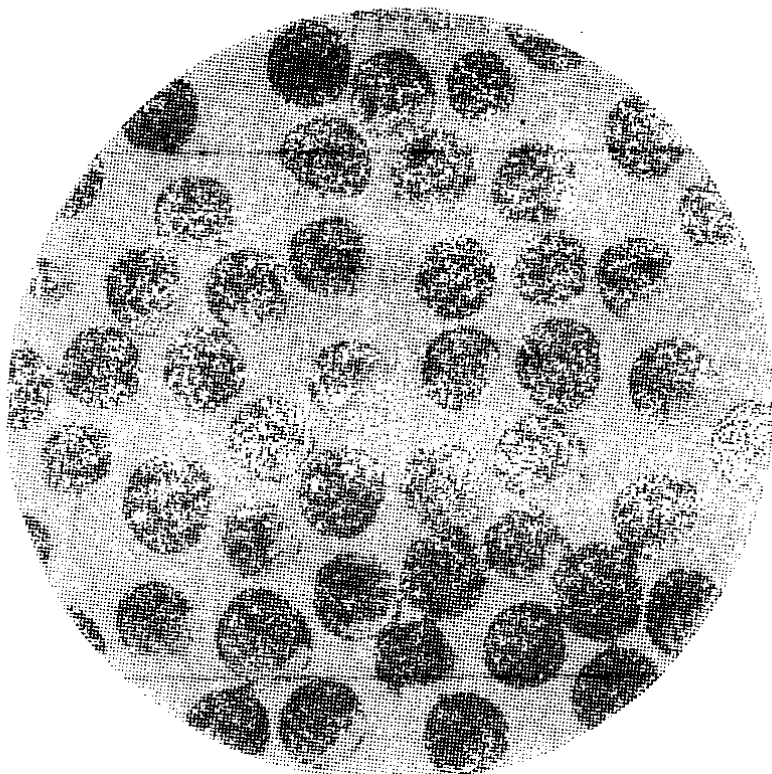


图1.1 当蜡质基因杂合的高粱花粉用碘染色时，一半染成兰色（深色），一半染成红色。

互斥事件：在给定试验中一个事件的发生排除另一事件的发生，则它们是互斥的。求得几个互斥事件的概率是求得单个事件的概率之和。这个规律又称为总和定理。例如，双杂合豌豆植株 $GgPp$ 产生的配子只能具有下列四种基因组合的一种，即 GP 、 Gp 、 gP 、 gp 。从 $GgPp$ 植株获得 GP 或 gp 配子的概率是多少？由于它们是互斥事件，因此它们的概率是单个事件概率的总和（ $1/4 + 1/4 = 1/2$ ）。基于相同理由，从 $GgPpTt$ 植株获得 GPT 或 gpt 的概率是 $1/8 + 1/8 = 1/4$ 。

实验： 令红弹子表示R座位的等位基因R，白弹子表示等位基因 r。令兰弹子表示等位基因T，黄弹子表示等位基因 t。将数目相等的上述四种弹子在袋中混合。每次取出两个弹子，记载其结果。把弹子返回袋中，反复取出。

试验	结果			
	RT	Rt	rT	rt
1				
2				
⋮				
40				

根据实验结果，RT和rt同时发生的频率 是多少？RT、Rt，rT，rt 同时发生的频率是多少？由于RT、Rt、rT、rt 是互斥事件，试从试验结果作出结论。

实验： 将具黄种子、圆种皮、高茎（GGWWDD）的纯合植株和具绿种子，皱种皮、矮茎（ggwwdd）的纯合植株杂交，再将F₁（GgWwDd）和三隐性植株（ggwwdd）回交。按照以下特征记载回交后代。

植株特征	植株数目	频率
------	------	----

黄、圆、高
黄、圆、矮
黄、皱、高
黄、皱、矮
绿、圆、高
绿、圆、矮
绿、皱、高
绿、皱、矮

获得“黄、圆、高”植株或“绿、皱、矮”植株的频率是多少？“黄、皱、高”或“绿、圆、高”植株的频率是多少？由于它们是互斥事件，获得两个事件同时发生的频率大约是1/4。样本越大，比值和预期的频率1/4越接近。

（二）二项式群体与二项式分布

二项式群体是具有两面性特征的群体。水稻植株具紫色或绿色柱头；大豆植株对叶锈有抗性或易感；竹子有繁茂或衰败。二项式群体中的每次观察都表现两个相对性状中的一个。

对于二项式群体可以得到下列二项式分布：假定事件A发生的概率为p，A不发生的概率为q（ $p = 1 - q$ 或 $q = 1 - p$ ），样本大小为n。则样本中事件A出现0、1、2、…n次的频率为二项展开式： $(p + q)^n = p^n + np^{n-1}q$

$$\begin{aligned}
& + \frac{n(n-1)}{2!} p^{n-2} q^2 + \frac{n(n-1)(n-2)}{3!} p^{n-3} q^3 + \dots \\
& + q^n \text{ 或 } (p+q)^n = p^n + \frac{n!}{1!(n-1)!} p^{n-1} q + \\
& \frac{n!}{2!(n-2)!} p^{n-2} q^2 + \frac{n!}{3!(n-3)!} p^{n-3} q^3 + \dots + \\
& \frac{n!}{r!(n-r)!} p^{n-r} q^r + \dots + q^n
\end{aligned}$$

例如：当杂合无芒大豆植株（Aa）和有芒植株（aa）杂交时，预期后代群体具有一半有芒（aa）和一半无芒（Aa）植株。假如从群体中随机选择4个植株，并假定无芒植株的

概率 $p = \frac{1}{2}$ ，有芒植株的概率 $q = \frac{1}{2}$ ，则二项式分布

为：

$$(p+q)^4 = p^4 + 4p^3q + 6p^2q^2 + 4pq^3 + q^4$$

$$\text{或 } \left(\frac{1}{2} + \frac{1}{2}\right)^4 = \left(\frac{1}{2}\right)^4 + 4\left(\frac{1}{2}\right)^3 \cdot \frac{1}{2} +$$

$$6\left(\frac{1}{2}\right)^2 \cdot \left(\frac{1}{2}\right)^2 + 4\left(\frac{1}{2}\right) \cdot \left(\frac{1}{2}\right)^3 + \left(\frac{1}{2}\right)^4 \text{ 在这}$$

里， $p^4 = \frac{1}{16}$ = 样本为4时样本中4个植株都无芒的概率。

$$4p^3q = \frac{4}{16} = \text{样本为4时样本中三个植株无芒一个植}$$