

\* 获第二届部级优秀教材二等奖

全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定

# 遗传学实验

● 农学类专业用

● 季道藩 主编

中国农业出版社

全国高等农业院校教材

# 遗传学实验

季道藩 主编

农学类专业用

中国农业出版社

全国高等农业院校教材

## 遗传学实验

季道藩 主编

---

责任编辑 徐建华

出版 中国农业出版社  
(北京市朝阳区农展馆北路2号)

发行 新华书店北京发行所

印刷 北京市密云县印刷厂

\* \* \*

开本 787mm×1092mm16开本

印张 5.75 字数 117千字

版、印次 1992年5月第1版

1999年5月北京第7次印刷

印数 22 901~26 900册 定价 7.00元

---

书号 ISBN 7-109-02288-9/Q·113

ISBN 7-109-02288-9



9 787109 022881 >

主 编 季道藩 (浙江农业大学)  
编 者 许复华 (浙江农业大学)  
      俞志华 (浙江农业大学)  
      郑泗军 (浙江农业大学)  
      王志宁 (浙江农业大学)  
      洪彩霞 (浙江农业大学)  
主 审 潘家驹 (南京农业大学)  
审稿者 周毓珍 (南京农业大学)  
      王顺华 (南京农业大学)

## 前 言

遗传学实验是遗传学教学中的重要环节。它的作用在于验证遗传学基础理论、练习遗传学试验技术和分析遗传学试验结果，从而加深理解和掌握遗传学的内容。因此，遗传学教学必须相应地开设一些遗传学实验。本实验教材是在总结多年来开设遗传学实验教学的基础上，广泛吸取兄弟院校遗传学实验的宝贵经验，并参阅有关文献资料，进一步整理编写而成的。

本实验教材包括 22 个实验，其内容安排主要以全国高等农业院校教材《遗传学》的章节为依据，并适当编写了一些有关细胞遗传学、微生物遗传学和分子遗传学方面的实验。为了使同学了解遗传学实验室的操作要求和必要的守则，首先编写了实验室工作规程一章，以期认真做好实验前后的各项工作。同时，为了便于实验材料、药品和仪器用具的准备，另在最后列出 5 个附录，以供参阅应用。由于遗传学教学时数的限制和各院校教学条件的不同，对于本教材所列实验内容，一般只需开设其中一些基础实验，对于一些难度较大、需时较长的实验，可根据具体情况集中时间开设遗传学大实验，或进行示范实验。

本实验教材在编写过程中，先后承吉林农业大学、内蒙古农牧学院、北京农业大学、河南农业大学、华中农业大学、南京农业大学、江苏农学院、四川农业大学、湖南农学院、华南农业大学等兄弟院校遗传育种教研组提供他们编印的《遗传学实验》资料，对于编写助益良多，谨此致谢。实验教材初稿完成后，曾请南京农业大学作物遗传育种教研组潘家驹等审阅，提出许多宝贵意见，亦在此谨致谢意。

参加本实验教材的编写者有俞志华、郑泗军、王志宁、洪彩霞。最后由季道藩、许复华对全稿作了整理和修改。但由于我们业务水平所限，在实验教材编写中一定还存在不少缺点或错误，请各院校在采用过程中提出意见和批评，以便改正和修订。

编 者

1990 年 11 月

# 目 录

## 前言

实验室工作规程 .....	1
实验一 有丝分裂 .....	3
实验二 减数分裂 .....	8
实验三 永久片的制作 .....	10
实验四 一对性状的遗传分析 .....	12
实验五 两对性状的遗传分析 .....	15
实验六 基因的连锁交换和基因定位 .....	17
实验七 果蝇的性状观察和杂交试验 .....	20
实验八 果蝇的伴性遗传 .....	24
实验九 果蝇的连锁交换和基因定位 .....	26
实验十 果蝇唾腺染色体的观察 .....	28
实验十一 数量性状的遗传分析 .....	30
实验十二 染色体结构的变异 .....	35
实验十三 染色体数目的变异 .....	36
实验十四 植物多倍体的诱发和鉴定 .....	38
实验十五 细胞核内脱氧核糖核酸的定性鉴定 .....	41
实验十六 粗糙链孢霉子囊孢子的分离和交换 .....	42
实验十七 大肠杆菌营养缺陷型的诱导与鉴定 .....	46
实验十八 细菌的转导 .....	50
实验十九 高等植物核 DNA 的提取和纯化 .....	54
实验二十 植物染色体组型分析 .....	56
实验二十一 植物染色体显带技术和带型分析 .....	60
实验二十二 显微摄影技术 .....	63
附录 I 遗传学常用实验材料的准备和保存 .....	68
附录 II 实验室一般溶液的配制 .....	73
附录 III $\chi^2$ 值表 .....	79
附录 IV 实验室所需药品 .....	80
附录 V 实验室所需仪器和用具 .....	84
主要参考文献 .....	86

## 实验室工作规程

遗传学实验是遗传学教学过程中的重要环节之一。为使实验的正常进行和获得正确的结果，避免在实验中发生差错和意外事故，实验者必须严格遵守实验室规则，认真做好实验前后和实验过程中的各项工作。

### 一、基本规则

1. 实验前必须预习实验指导书，明确本次实验的目的、原理、内容和方法。实验时必须保持安静，按实验指导书和指导教师的规定进行操作，并把实验中出现的情况和最后结果详细记录，进行资料整理分析，得出结论，按实验作业要求写出实验报告。

2. 实验室、工作台、各种仪器、用具、玻璃器皿必须保持清洁整齐；各种化学药品、试剂等必须贴上名称标签，分门别类，放置一定位置，便于取用。

3. 正确使用显微镜及各种仪器，切勿使染料或试剂沾污镜头、镜台及所用仪器，如有沾污须随时用擦镜纸擦干净。注意不要把酸、碱等试剂洒落在工作台上，以防腐蚀。

4. 遵守化学实验的操作要求，当酸类药品稀释时，只能徐徐将酸加入水中，绝不可将水加入酸中，以免容器炸裂。使用腐蚀性和有毒药品时，谨防溅入眼、鼻和触及皮肤。

5. 取用液体药品时，所用各类量具必须分开，不可混用，用后必须马上冲洗干净。称量固体药品时，先在称盘上铺垫清洁蜡光纸或白纸，调试平衡后再称。要注意保护秤具，勿受药品的腐蚀和防止药品相混。

6. 用过的酸类、碱类、染料和固体废物等应倒入废液缸内，不可直接倒入水槽中。废酒精、二甲苯等应分别倒入指定的玻璃瓶中，以便回收再用。

7. 实验完毕须做好清洁整理工作，所用的仪器、物品应放还原处。在实验过程中如有损坏或丢失仪器用具，应填写报损单，按情况予以登记或赔偿处理。

8. 全班实验结束后，值日生应对实验室全面清理打扫。离开实验室前须切断仪器电源，关紧水龙头和门窗。

### 二、显微镜的清洁和保养

显微镜是遗传学实验中的重要工具，属于精密的光学仪器，使用时必须注意防尘、防高温、防湿、防药品侵蚀。在清洁与保养方面要做到以下几点：

1. 提取镜箱时，必须右手提镜箱，左手托箱底，镜箱门朝着胸前一面。取显微镜时必须右手紧握镜臂，左手托镜底，防止显微镜滑落损坏。

2. 显微镜取出后, 先用软毛刷、纱布拂擦镜身的灰尘污物, 各处缝隙及镜头上的灰尘、纤维等用洗耳球吹去, 然后用擦镜纸拭擦物镜和目镜。擦时只能顺着同一个方向多次拭擦, 不能旋转擦, 最后用细白丝绸把镜头再擦一次。

3. 镜检时, 物镜只能由低倍到高倍, 在高倍镜下只能用细调螺旋调焦, 细心操作, 以防压碎玻片、损坏镜头。

4. 如果发现镜头被药物或脏物污染, 应立即用擦镜纸蘸少许二甲苯(以刚湿润纸为度)擦掉脏物或药物, 并随时用擦镜纸擦干。

5. 使用完毕后进行清洁工作。转动物镜不要对着聚光镜, 并降至最低点, 放回镜箱, 锁上后放还原处。

6. 镜箱内的干燥剂须定期更换。

7. 显微镜必须与化学药物分开放置, 严禁混藏。

### 三、玻璃器皿的清洁

实验室使用的玻璃器皿清洁与否直接影响实验结果, 往往由于玻璃器皿不清洁而会造成较大的实验误差, 甚至实验失败。因此实验前必须对玻璃器皿彻底清洗。

#### (一) 初用玻璃器皿的清洗

1. 一般新购置的玻璃器皿表面常附着游离的碱性物质, 可先用肥皂水(或去污粉)洗刷, 再用清水冲洗干净, 然后浸泡在1—2%盐酸中过夜(不少于4h), 再用清水冲洗, 最后用蒸馏水冲洗2—3次, 在100—130°C烘箱内烘干备用。

2. 新的载玻片和盖玻片可在2%的盐酸酒精(100ml95%酒精+2ml盐酸)中浸泡数小时, 再用流水冲净后, 浸入装有95%酒精的玻璃容器中并加盖, 以备随时取用。

#### (二) 使用过的玻璃器皿的清洗

1. 一般使用过的试管、烧杯、三角瓶等, 先用清水洗刷至无污物, 再选用大小合适的毛刷沾取去污粉(掺入洗衣粉)或浸入肥皂水内, 将器皿内外细心刷洗。然后用清水冲洗干净, 再用蒸馏水冲洗2—3次, 烘干或倒置在清洁处, 干后备用。凡洗净的玻璃器皿, 不应在器壁上带有水珠, 否则应按上述方法重新洗涤。若发现内壁有难以去掉的污迹, 应分别试用各种洗涤液(见附录II)予以清除, 再重新用清水、蒸馏水冲洗干净。

2. 对于移液管、滴定管、量筒、量器等, 使用后应立即浸泡于凉水中, 避免残留的溶液干涸, 难以清洗。工作完毕后用流水冲洗, 除去附着的试剂、蛋白质等物质, 晾干后浸泡在铬酸洗液中4—6h或过夜, 再用清水充分冲洗, 最后用蒸馏水冲洗2—4次, 风干后备用。

3. 陈旧或用过的永久制片的玻片, 可先在肥皂水中煮沸5—10min, 或将玻片微热后浸入二甲苯中脱胶, 洗去残留的树胶和浆糊, 并用清水冲洗干净。然后放置在洗液中浸30min, 再次用清水冲洗, 洗去余留的洗液, 最后用蒸馏水洗净后放置在95%酒精中浸几分钟, 即可取出擦干备用。



#### 四、玻璃器皿的干燥和灭菌

遗传学实验中以微生物为供试材料时,一切实验使用的玻璃器皿必须干燥和高温灭菌,防止其它杂菌污染。

(一) 干燥 干燥方法有自然晾干和烘干两种,自然晾干时间长,但器皿上无水渍。烘干是将器皿及其他用具,置于60—80°C的烘箱中干燥,其缺点是器皿上可能留有水渍,因此,要求干燥前尽可能将器皿上的水分甩干。

(二) 灭菌 由于高温能使微生物蛋白质凝固,因此利用高温可达到灭菌目的。高温灭菌的方法有:

1. 干热灭菌法 通常将烘箱内温度保持160°C 2h,即可利用热空气杀死所有微生物及芽孢。在干热灭菌过程中要注意:

(1) 烘箱内切忌放入易燃挥发物品,玻璃器皿、金属用具也不能装得太满,棉塞等物不要接触烘箱壁,避免烘箱升温后发生燃烧事故。

(2) 当烘箱温度上升至100°C后,千万不能打开烘箱玻璃门,以免新鲜空气进入引起燃烧,以及由于剧烈的冷热变化使玻璃器皿爆裂。

2. 湿热高压灭菌法 此法由于高压高温结合,加上蒸汽传热均匀,因此灭菌时间短,效果好。常用各种规格的高压蒸汽消毒器(也称高压灭菌锅)进行灭菌。对于瓶装溶液及培养基的灭菌,当蒸汽压力达到15—20lb/in<sup>2</sup>、温度达121—125°C时,保持20—40min,即可得到满意的效果。在操作过程中要注意:

(1) 消毒器内水量要适当,太少会烧干而造成事故,太多又会导致消毒物品水湿。

(2) 灭菌开始时打开放气阀,加热后,使热蒸汽将消毒器内的冷空气排出,然后再关上放气阀继续加热。否则,灭菌效果不好。

(3) 灭菌加热时要注意压力变化,如压力指针超过红色警戒线时,安全阀仍未放气,则可能是安全阀失灵,应立即停止加热,以防爆炸。

(4) 溶液或培养基灭菌结束后,不能立即放气,以免器皿炸裂或溶液溢出,需待其自然冷却,压力降至零位,然后才可打开放气阀,揭开盖子。

## 实验一 有丝分裂

### I. 醋酸洋红染色法

#### 一、实验目的

学习醋酸洋红染色法的操作方法,观察植物根尖细胞有丝分裂各个时期染色体的变化

和特征。

## 二、实验原理

有丝分裂是生物体细胞增殖的主要方式。在有丝分裂过程中，细胞核内染色体能准确地复制，并能有规律地、均匀地分配到两个子细胞中去，使子细胞遗传组成与母细胞完全一样，从而可以推断生物性状的遗传与染色体的准确复制和均等分配有关，支配生物性状的遗传物质主要存在于细胞核内的染色体上。

细胞有丝分裂是一个连续过程，可分为前期、中期、后期和末期。有丝分裂在整个细胞周期中约占 10% 的时间，而其余大部分时间是处于细胞连续两次分裂之间的间期。有丝分裂各时期染色体变化的特征简述如下：

**前期：**核内染色质逐渐浓缩为细长而卷曲的染色体，每一染色体含有两个染色单体，它们具有一个共同的着丝点；核仁和核膜逐渐模糊不明显。

**中期：**核仁和核膜逐渐消失，各染色体排列在赤道板上，从两极出现纺锤丝，分别与各染色体的着丝点相连，形成纺锤体。在中期染色体呈分散状态，便于鉴别染色体的形态和数目。

**后期：**各染色体着丝点分裂为二，其每条染色单体也相应地分开，并各自随着纺锤丝的收缩而移向两极，每组有一组染色体，其数目和原来的染色体数目相同。

**末期：**分开在两极的染色体各自组成新的细胞核，在细胞质中央赤道板处形成新的细胞壁，使细胞分裂为二，形成二个子细胞。这时细胞进入分裂间期。

**间期：**细胞分裂末期到下一次细胞分裂前期之间的一段时期。在光学显微镜下，看不到染色体，只看到均匀一致的细胞核及其中许多的染色质。实质上间期的核是处于高度活跃的生理生化的代谢阶段，为细胞继续分裂准备条件。

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。由于根尖取材容易，操作和鉴定方便，故一般采用根尖作为观察有丝分裂的材料。

## 三、实验材料

洋葱 (*Allium cepa*,  $2n=16$ ) 的鳞茎。

蚕豆 (*Vicia faba*,  $2n=12$ ) 的种子。

## 四、实验用具药品

(一) **仪器用具** 显微镜、酒精灯、培养皿、载玻片、盖玻片、镊子、刀片、解剖针、木夹、吸水纸、滤纸、标签、铅笔。

(二) **药品试剂** 无水酒精、95%酒精、80%酒精、70%酒精、1N 盐酸、1%醋酸洋红、卡诺氏 (Carnoy's) 固定液 (1 份冰醋酸 + 3 份无水酒精)、铁矾 (硫酸亚铁)、秋水仙碱、对二氯苯、 $\alpha$ -溴萘、8-羟基喹啉。

**1%醋酸洋红染色液：**将100ml 45%醋酸加热煮沸后，移去火苗，徐徐加入1—2g洋红，待全部溶解后再煮沸1—2min，冷却后加入2%的铁矾水溶液5—10滴，或在煮沸醋酸洋红染色液中悬置数枚锈铁钉（防止溶液溢出），以增强染色性能。配制的染色液过滤后贮存于棕色试剂瓶中备用。

各种酒精浓度和不同当量浓度的酸碱溶液配制方法见附录II。

**0.01%—0.1%秋水仙碱溶液：**先以少量95%酒精将1g秋水仙碱溶解，再加蒸馏水至100ml配成1%的母液，贮存于棕色瓶中，置冰箱内保存。需要时则可量取一定量的母液，按比例稀释即可。

**对二氯苯饱和水溶液：**取10g对二氯苯加蒸馏水100ml。

**0.002M的8-羟基喹啉水溶液：**用分析天平称0.2901g 8-羟基喹啉用蒸馏水定溶于1000ml容量瓶中，在60°C下溶解后备用。

## 五、实验步骤

### （一）取材

1. **洋葱根尖** 将通过休眠期的洋葱鳞茎搁置在盛满清水的烧杯上，在室温下（25°C左右）发根，待根长约2cm时，于上午10时左右剪取。

2. **蚕豆根尖** 先将种子浸泡一天，待吸水膨胀后移到铺有几层湿吸水纸的培养皿内，上面盖两层湿纱布并加水少许，置18—20°C黑暗下40—50h。待根长至1—2cm时，于上午10时左右剪取。

**（二）预处理** 为了获得中期分裂相比较多的细胞，使染色体缩短、分散，便于压片观察，对剪下的根尖可采用下列任一方法进行预处理。

1. **冷冻处理** 将根尖放入盛有蒸馏水的指形管中，置于冰水共存的冰瓶中，然后把冰瓶放到0—3°C的冰箱内处理24h。染色体数较多的实验材料可适当延长时间，但需注意勿使材料结冰。

2. **药剂处理** 预处理常用的药剂及其处理时间为：

(1) 0.01—0.2%秋水仙碱水溶液处理2—4h。

(2) 对二氯苯饱和水溶液处理3—4h。

(3) 100ml对二氯苯饱和水溶液加1—2滴 $\alpha$ -溴萘处理3—4h。

(4) 0.002M 8-羟基喹啉处理3—4h。

用以上各种药剂处理时，应注意温度不能过高，以10—15°C为宜。

**（三）固定** 经过预处理的材料冲洗干净后，用卡诺氏固定液固定24h，经固定的材料若不立即使用，可置于95%酒精和80%酒精中各半小时，再换到70%酒精中，置于4°C下保存。如保存时间太长，需要重新固定后再用。

**（四）解离** 固定的材料换入蒸馏水中洗净，然后放入1N盐酸溶液中，在60°C下解离6—20min，以便胞间层的果胶类物质解体，使细胞易于分散，便于压片。材料经解离后，

用蒸馏水洗涤数次，将材料中的酸洗净，以便染色。

(五) 染色 用吸水纸将洗净的材料吸干，放入盛有1%醋酸洋红染液的指形管中染色2—4h。若只作临时镜检观察，可直接将材料置于载玻片上，滴上1滴1%醋酸洋红染色后压片。

(六) 制片 将盛有数条根尖和染色液的指形管用木夹夹住，在酒精灯上加热煮沸3—5次，使根尖软化着色。加热时要注意不断摇动试管，以防煮沸的染色液冲出试管。然后把处理过的根尖倒入表面皿中，取根尖，置于载玻片上，切取根尖分生组织约1.5mm，加1滴醋酸洋红，盖上盖玻片，包被吸水纸吸干多余染色液，用手指轻压，再用铅笔的橡皮头垂直轻敲，敲时不要移动盖玻片。

(七) 镜检 先用低倍镜寻找有分裂相的细胞，随机统计100个细胞，确定处于不同分裂时期的细胞百分率，然后用高倍镜仔细观察各时期染色体的行为和特征。

## 六、实验作业

1. 制作细胞有丝分裂各时期图象清晰的片子1—2张。
2. 对所观察到的细胞有丝分裂各时期分裂相进行绘图，并简要说明染色体的行为特征。

## II. 酶液解离染色法

### 一、实验目的

学习酶液解离植物细胞的操作方法，观察植物根尖细胞有丝分裂中期染色体的形态和数目。

### 二、实验原理

为了使细胞分裂过程中各时期的染色体比较分散，便于在显微镜下观察染色体的形态特征和数目，所以采用纤维素酶和果胶酶的混合液解离。

### 三、实验材料

玉米 (*Zea mays*,  $2n=20$ ) 的种子。

大麦 (*Hordeum vulgare*,  $2n=14$ ) 的种子。

### 四、实验用具药品

(一) 仪器用具 显微镜、恒温箱、分析天平、水浴锅、培养箱、载玻片、盖玻片、标签、吸水纸。

(二) 药品试剂 碱性品红、冰醋酸、苯酚、福尔马林、山梨醇、纤维素酶、果胶酶。

0.1M 醋酸钠、0.002M 的 8-羟基喹啉、0.1N 盐酸、95%酒精、80%酒精、70%酒精、改良苯酚品红染色液。

0.1M 醋酸钠缓冲溶液 (pH4.5): 称取 2.95g 醋酸钠和 3.8ml 冰醋酸, 用蒸馏水定容至 1000ml。

酶液: 称 2g 纤维素酶和 0.5g 果胶酶溶于 100ml 0.1M 醋酸钠溶液中 (pH4.5), 配成 2% 纤维素酶和 0.5% 果胶酶的混合液。

改良苯酚品红染色液:

A 液: 称 3g 碱性品红, 溶于 100ml 70% 酒精中 (此液可长期保存)。

B 液: 量 10ml A 液, 加入 90ml 5% 苯酚水溶液中 (此液限 2 周内使用)。

量 45ml B 液, 加入 6ml 冰醋酸和 6ml 37% 福尔马林, 即制成苯酚品红染色液。

量 10ml 苯酚品红染色液, 加入 90ml 45% 醋酸和 1g 山梨醇, 即制成改良苯酚品红染色液 (山梨醇稍多, 会出现结晶, 影响制片效果)。

## 五、实验步骤

(一) 取材 取供试玉米、大麦等种子浸种 2 天后, 置 25°C 温箱中发芽。待根长 1cm 左右时剪下根尖。

(二) 预处理 将根尖浸入 0.002M 8-羟基喹啉溶液中, 处理 1—4h, 水洗并经固定液固定后, 保存于 70% 酒精中备用。

(三) 酶处理 用 0.1M 醋酸缓冲液洗根尖 2 次, 转入 2% 纤维素酶液中, 置于 25°C 温箱中处理 1—2h, 使根尖软化。

(四) 酸处理 再经 0.1M 醋酸缓冲液洗 2 次, 在 60°C 水浴锅中, 以 0.1N 盐酸水解 2min, 然后用 45% 醋酸清洗。

(五) 染色 取小段根尖放在洁净的载玻片上, 滴数滴苯酚染色液, 盖上盖玻片, 用吸水纸吸干多余染色液, 并以铅笔的橡皮头轻轻敲打, 使细胞分散。

(六) 镜检 观察玉米、大麦根尖细胞的染色体形态特征和数目。

## 六、实验作业

1. 制作细胞有丝分裂各时期图象清晰的片子 1—2 张。

2. 对所观察到的细胞有丝分裂过程中各时期的图象进行绘图, 并简要说明染色体的行为特征。

## 实验二 减数分裂

### 一、实验目的

学习花粉母细胞涂抹制片技术，观察植物减数分裂各个时期染色体的变化特征。

### 二、实验原理

减数分裂是生物在性母细胞成熟时配子形成过程中发生的一种特殊的有丝分裂。它包括连续两次的细胞分裂阶段：第一次分裂为染色体数目的减数分裂，第二次分裂为染色体数目的等数分裂。两次分裂可根据染色体变化特点各分为前期、中期、后期和末期，由于第一次分裂的前期较长，染色体变化比较复杂，故其前期又可分为五个时期。在减数分裂的整个过程中，同源染色体之间发生联会、交换和分离，非同源染色体之间进行自由组合。最终分裂为染色体数目减半的四个子细胞，从而发育为雌性或雄性配子 ( $n$ )。雌雄配子通过受精又结合成为合子，发育为新的个体，这样又恢复了原有的染色体数目 ( $2n$ )。由于不同雌雄配子染色体的重新组合，产生了大量的遗传变异，有利于生物的适应和进化。

生物的性母细胞成熟时，减数分裂各时期染色体变化的特征简述如下：

第一次分裂：

前期 I：可分为以下五个时期：

细线期：核内染色体呈细长线状，互相缠绕，难以辨别成双的染色体。

偶线期：同源染色体相互纵向靠拢配对，称为联会。这样联会的一对同源染色体，称为二价体。偶线期所表现的这一特征时间很短，一般较难观察到。

粗线期：配对后的染色体逐渐缩短变粗，含有两条姐妹染色单体，这样一个二价体中就包含了四条染色单体，故又称为四合体。在此期间各同源染色体的非姐妹染色单体间可能发生片段交换。

双线期：各对同源染色体开始分开，由于在粗线期非姐妹染色单体之间发生了交换，因而同源染色体在一定区段间出现交叉结。此期可清楚地观察到交叉现象。

终变期：染色体更为浓缩粗短，交叉结向二价体的两端移动，核仁和核膜开始消失，此时各二价体分散在核内，适于计数染色体的数目。

中期 I：核仁和核膜消失，所有二价体排列在赤道板两侧，细胞质里出现纺锤体，每个二价体的两条染色体的着丝点分别趋向纺锤体的两极，此时最适于计数染色体的数目和观察各染色体的形态特征。

后期 I：二价体中的一对同源染色体开始分开，在纺锤体的作用下分别向两极移动，完成染色体数目的减半过程。此期，同源染色体的两个成员必然分离，非同源染色体间的各个成员以同等机会随机结合，分别移向两极。注意此时染色体的着丝点尚未分裂，每条

染色体含有两条染色单体。

末期 I：染色体移到二极，松开变细，核仁和核膜重新出现，形成两个子核。细胞质分裂，在赤道板处形成细胞板，成为二分体。

第二次分裂：

前期 II：染色体又开始明显缩短，而其包含的两条染色单体分得很开，只是着丝点仍然没有分裂。

中期 II：染色体整齐地排列在分裂细胞的赤道板上，出现纺锤丝。

后期 II：染色体的着丝点分裂为二，两条姐妹染色单体在纺锤丝的牵引下分别移向两极。

末期 II：染色体分到两极后，又重新出现核仁和核膜，同时细胞质分隔为二，从而使一个母细胞分裂成为四个子细胞，称为四分体或四分孢子。每个子细胞内只含有原来母细胞的半数的染色体 ( $n$ )。

减数分裂中染色体的行为变化与生物的遗传变异密切相关。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。高等植物的性母细胞 ( $2n$ ) 在形成雌雄配子 ( $n$ ) 过程中必须通过减数分裂。由于植物花药取材容易，操作和鉴定比较方便，故一般都取用花粉母细胞作为制片材料，在光学显微镜下观察其减数分裂过程中染色体的行为变化。

### 三、实验材料

玉米 (*Zea mays*,  $2n = 20$ ) 的雄穗；

普通小麦 (*Triticum aestivum*,  $2n = 42$ ) 的幼穗；

蚕豆 (*Vicia faba*,  $2n = 12$ ) 花蕾；

大葱 (*Allium fistulosum*,  $2n = 16$ ) 花序。

### 四、实验用具药品

(一) 仪器用具 显微镜、酒精灯、培养皿、载玻片、盖玻片、镊子、刀片、木夹、吸水纸、标签纸、火柴。

(二) 药品试剂 丙酸—水合氯醛—铁矾—苏木精染色液、卡诺氏固定液、95% 酒精、80% 酒精、70% 酒精。

丙酸—水合氯醛—铁矾—苏木精染色液的配制：

A 液：称 2g 苏木精溶于 100ml 50% 丙酸中。

B 液：称 0.5—1g 铁矾溶于 100ml 50% 丙酸中。

将 A 液和 B 液按 1:1 比例混合，每 5ml 混合液中加 2g 水合氯醛，存放一天后使用。

## 五、实验步骤

### (一) 取材

1. 玉米雄穗 玉米雄穗的取材时间和方法见附录 I。将采集的雄穗浸入卡诺氏固定液中固定 12—24h 后, 用 95% 酒精清洗净醋酸气味后, 保存于 70% 酒精中备用。

2. 小麦幼穗 在小麦抽穗前 10—15 天, 当旗叶与下一叶片的叶枕相距 1—4cm、幼穗长约 4cm 时, 各不同部位小穗第 1—2 朵小花的花药表现为黄绿色时, 一般正是处于减数分裂时期。采集的小穗按上述玉米雄穗的固定方法进行固定处理。

3. 蚕豆花蕾 在早春 (3—4 月) 蚕豆现蕾后, 于上午 8—10 时, 摘取长约 1mm 左右的花蕾, 固定、保存。

4. 大葱花序 待 3、4 月份, 大葱花序长到枣一样大时, 颜色呈绿色 (转黄时已晚), 采摘花序固定, 制片时, 取 1 个小花, 挑出花药, 用醋酸洋红染色法压片观察。

(二) 制片 取 1 枚花药放在洁净的载玻片上, 用清洁刀片压在花药上向一端抹去, 涂成薄层, 然后滴 1 滴苏木精染色液。也可在花药上滴上染色液, 然后用镊子把花药镊碎, 去掉肉眼见得到的残渣, 数分钟后盖上盖玻片, 包被吸水纸, 用大拇指匀力压片, 或用铅笔的橡皮头垂直轻敲。为了加深染色, 可把载玻片平放在酒精灯火焰上来回摆动几次, 使之略作加热。

(三) 镜检 先在低倍镜下寻找花粉母细胞, 一般花粉母细胞较大、圆形或扁圆形, 细胞核大、着色较浅。而一些形状较小, 整齐一致着色较深的细胞是药壁体细胞, 一些形状处于中间略呈扇形的细胞是从四分体脱开后的小孢子或幼小花粉粒。如形状较大, 内部较透明并具有明显外壳的细胞则是成熟的花粉粒。观察到有一定分裂相的花粉母细胞后, 用高倍镜观察减数分裂各时期染色体的行为和特征。

## 六、实验作业

1. 制作减数分裂前期 I 图象清晰的片子 2—3 张。
2. 对所观察到的减数分裂各时期的图象进行绘图, 并简要描述染色体的行为和特征。

## 实验三 永久片的制作

### 一、实验目的

学习将根尖细胞压片及花粉母细胞涂片的临时片改为永久片的制作方法。

### 二、实验原理

用植物根尖细胞压片或花粉母细胞涂抹制成的片子, 如材料染色清晰、物象符合要求



的，一般可用石蜡、甘油胶冻或指甲油将盖玻片的四周封固制成临时片，储于冰箱中，保存观察一周左右。但时间过长、物象收缩、颜色变深，将难以观察鉴别。因此，对一些需要长期保存的片子，必须改制为永久片，以便进一步观察和研究。

永久片的制作程序包括脱去临时片的盖玻片、材料脱水、透明和封片。其中材料脱水干净和透明良好是制好永久片的关键。为此，需选用适当的脱水剂和透明剂。目前较理想的脱水剂是正丁醇和叔丁醇，它们都能与最常用的脱水剂乙醇混合使用，并具有良好的透明效果，且能与封藏剂树胶混合，有利于封片，材料也不会发生收缩和硬化等问题。

### 三、实验材料

经镜检物象清晰符合要求的洋葱（或蚕豆等）根尖有丝分裂、玉米（或小麦等）花粉母细胞减数分裂的临时片。

### 四、实验用具药品

(一) 仪器用具 显微镜、冰箱、培养皿（直径 12cm）、刀片、解剖针、鸭嘴镊子、玻璃棒、纱布、毛笔、吸水纸、标签。

(二) 药品试剂 正丁醇、叔丁醇、95%酒精、冰醋酸、二甲苯、中性树胶。

### 五、实验步骤

#### (一) 一般永久片制作方法

1. 脱盖玻片 用刀片把临时片上盖玻片周围的石蜡刮净，用毛笔刷掉石蜡屑后，再蘸二甲苯少许擦去残留的石蜡，或用 45%醋酸除去水溶的封藏剂。如刚制作的临时片，最好过几小时后再进行脱片。

把临时片翻转，盖玻片朝下，放入盛有脱盖玻片液（1份 45%醋酸 + 1份 95%酒精）的培养皿（编号①）中，将载玻片的一端搁在短粗玻璃棒上，呈倾斜状，让盖玻片自然滑落。盖玻片脱落后 2—3min，分别取出盖玻片和载玻片，用吸水纸将玻片上的溶液吸干，注意不要触动载玻片上的材料。

2. 脱水、透明 取三只培养皿，分别编号②、③、④，在其中各放一根短粗玻璃棒，顺序加入下列脱水剂。

② 2份 95%酒精 + 1份正丁醇；

③ 1份 95%酒精 + 2份正丁醇；

④正丁醇。

操作时，用鸭嘴镊子把①号培养皿中已脱落的盖玻片和载玻片从脱盖玻片液中取出，稍干后迅速放入②号培养皿中，依次脱水、透明，最后放入④号培养皿中，在各编号培养皿中分别浸泡 5min左右。