

# 球茎草芦染色体核型分析的技术探讨

王 凯

红河州农业学校畜牧兽医系, 云南蒙自 661199

**摘要** 为研究球茎草芦染色体核型分析的目标材料及处理方法, 取球茎草芦不同生长时期的花序、茎尖和植株幼嫩的根尖进行一定的处理, 并在显微镜下观察。结果显示: 取球茎草芦 2~4 cm 长的花序, 用对二氯苯饱和水溶液预处理 3~4 h, 在卡诺氏固定液中固定 10 h, 再在 1 mol/L 盐酸中解离 10 min 左右, 所观察到的染色体像最佳。说明用中等长度的花序作为核型分析的目标材料比较合适。

**关键词** 球茎草芦; 核型分析; 染色体; 目标材料; 处理方法

球茎草芦, 又名水生藨草, 是藨草属的多年生高大禾本科牧草。须根虽较少, 但入土较深; 茎基部膨大, 略呈球形, 浅红色; 节上有芽, 并向四周扩展, 形成稠密的草丛。球茎草芦原产于南欧、地中海的温带地区, 中国从澳大利亚引进, 在广西、四川、江苏、湖南、甘肃、云南等地试种, 长势良好。球茎草芦喜凉爽而湿润的气候, 生长期长, 为长寿多年生牧草, 据澳大利亚记载, 能生长 30~40 a 不衰。球茎草芦适应性强, 能耐渍水, 耐旱性也很好(能耐较长时期的夏季干旱, 可以在降雨量 400~600 mm 的地区生长), 对土壤要求不严格(以肥沃的黏壤土生长最好)。球茎草芦叶量丰富, 草质较好, 用于饲喂牛、羊等家畜适口性良好。球茎草芦耐重牧; 也可青刈或调制干草, 留茬高度以 15 cm 为宜, 刈割期以抽穗前最佳。该草含有少量二甲基色胺植物碱, 易引起羊中毒; 植物碱以早秋和初冬的再生草含量较高, 在饲草中补充钴元素可以减轻其对家畜的危害。鉴于球茎草芦是一种适应性很强的优良刈牧兼用型禾本科牧草, 有巨大的开发利用价值, 本试验对球茎草芦染色体核型分析作了研究与探讨, 力求找到最佳的材料与处理方法, 以便更有效地进行核型分析和带型分析, 为今后开展杂交育种及植物分类提供细胞学方面的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 取材

球茎草芦采于云南农业大学草业科学实习基地。由于球茎草芦种子小(千粒重 1.0~1.4 g)且结实率很低, 用种子进行核型分析较为困难。为此, 本试验取球茎草芦不同生长时期的花序、茎尖和植株幼嫩的根尖进行研究。

### 1.2 预处理

为改变细胞质的粘度, 破坏和抑制纺锤体的形成, 使染色体缩短和易于分散, 需进行一定的预处理。预处理的方法视不同材料而异, 常用的方法有低温处理和药剂处理 2 种。

1) 低温处理。将材料放于蒸馏水中, 置 0~4 °C 冰箱内处理 24 h, 染色体数目较多的材料可适当延长处理时间。

2) 药剂处理。用二氯苯饱和水溶液处理 3~4 h 或用 100 mL 对二氯苯饱和水溶液加 1~2 滴  $\alpha$ -溴萘处理 3~4 h, 应注意温度不能过高, 以 10~15 °C 为宜。

### 1.3 固定

经预处理的材料用新配制的卡诺氏固定液固定 0.5~24.0 h, 然后换入 70% 的酒精中, 置冰箱内,

备用。分别对经预处理的材料进行 24.0、20.0、15.0、10.0、5.0 和 0.5 h 的固定。

### 1.4 解离

经固定的材料用蒸馏水冲洗后,加入 1 mol/L 盐酸,在 60 °C 恒温水浴锅中解离 6~20 min,以便胞间层的果胶类物质解体,使细胞易于分散,便于压片。分别对已固定的材料进行 6、10、15 和 20 min 的解离。

### 1.5 染色与压片

用改良苯酚品红染色液染色片刻后压片,可在酒精灯上略加热后再垂直轻敲,以利于材料分散。为避免气泡的形成,尽量不要让染色液扩散就进行压片。用改良苯酚品红染色液染色后,染色体呈紫红色,而染色质不染色。

### 1.6 镜检与摄影

经镜检,对染色体处于同一平面、分散均匀、数目完整且随体和着丝点处不断裂的细胞进行显微摄影。

球茎草芦染色体核型分析的关键是制出满足一定条件(染色体处于同一平面、分散均匀、数目完整且随体和着丝点处不断裂)的片子,而摄影、制永久片和对照染色体照片的测量分析属常规方法,因此,本试验主要研究所取材料与处理方法对成功制片的影响。

## 2 结果与分析

取球茎草芦不同生长时期的花序、茎尖和植株幼嫩的根尖进行反复尝试性的各种处理,结果显示:比较成熟的花序在显微镜下主要能观察到大量完整呈球形或已破损的花粉粒结构;比较幼嫩的花序在显微镜下主要能观察到一些不太明显的细胞结构;不同生长时期的茎尖在显微镜下主要能观察到典型的细胞结构,但多为成熟细胞;植株幼嫩的根尖的观察结果也不太理想;而中等长度(2~4 cm)的花序在显微镜下能观察到一些花粉和细胞结构,其中有些细胞结构的染色体清晰可见。因此,根据观察结果,初步舍去植株幼嫩的根尖、茎尖,选取 2~4 cm (上部到下部长度)的中等花序继续进行各种不同的处理,主要观察结果见表 1、表 2、表 3、表 4、表 5 和表 6。

表 1 固定 24 h 的观察结果

预处理	固定时间/h	解离时间/min	镜检结果
对二氯苯饱和水溶液与 α-溴萘(3~4 h)	24	6	花粉
		10	花粉
		15	花粉、细胞结构
		20	花粉
对二氯苯饱和水溶液(3~4 h)	24	6	无明显现象
		10	花粉、细胞结构
		15	花粉
		20	花粉
低温处理(24 h)	24	6	花粉、细胞结构
		10	花粉、细胞结构
		15	无明显现象
		20	花粉

表 2 固定 20 h 的观察结果

预处理	固定时间/h	解离时间/min	镜检结果
对二氯苯饱和水溶液与 α-溴萘(3~4 h)	20	6	花粉
		10	花粉
		15	花粉
		20	花粉
对二氯苯饱和水溶液(3~4 h)	20	6	无明显现象
		10	花粉
		15	花粉
		20	花粉
低温处理(24 h)	20	6	花粉、细胞结构
		10	花粉、细胞结构
		15	无明显现象
		20	花粉

表 3 固定 15 h 的观察结果

预处理	固定时间/h	解离时间/min	镜检结果
对二氯苯饱和水溶液与 α-溴萘(3~4 h)	15	6	花粉
		10	花粉、细胞结构
		15	花粉
		20	花粉
对二氯苯饱和水溶液(3~4 h)	15	6	细胞结构
		10	花粉、细胞结构
		15	花粉、细胞结构
		20	花粉
低温处理(24 h)	15	6	花粉、细胞结构
		10	细胞结构
		15	花粉
		20	无明显现象

表 4 固定 10 h 的观察结果

预处理	固定时间/h	解离时间/min	镜检结果
对二氯苯饱和水溶液与 α-溴萘(3~4 h)	10	6	花粉
		10	细胞结构
		15	花粉、细胞结构
		20	花粉
对二氯苯饱和水溶液(3~4 h)	10	6	花粉、细胞结构
		10	花粉、细胞结构、清晰的染色体群
		15	细胞结构
		20	花粉、细胞结构
低温处理(24 h)	10	6	花粉
		10	花粉、细胞结构
		15	花粉、细胞结构
		20	细胞结构

表 5 固定 5 h 的观察结果

预处理	固定时间/h	解离时间/min	镜检结果
对二氯苯饱和水溶液与 α-溴萘(3~4 h)	5	6	花粉、细胞结构
		10	细胞结构
		15	花粉、细胞结构
		20	花粉
对二氯苯饱和水溶液(3~4 h)	5	6	无明显现象
		10	花粉、细胞结构
		15	花粉
		20	花粉
低温处理(24 h)	5	6	花粉、细胞结构
		10	花粉、细胞结构
		15	无明显现象
		20	花粉

表 6 固定 0.5 h 的观察结果

预处理	固定时间/h	解离时间/min	镜检结果
对二氯苯饱和水溶液与 α-溴萘(3~4 h)	0.5	6	花粉
		10	花粉、细胞结构
		15	无明显现象
		20	无明显现象
对二氯苯饱和水溶液(3~4 h)	0.5	6	花粉、细胞结构
		10	花粉
		15	花粉
		20	花粉、细胞结构
低温处理(24 h)	0.5	6	细胞结构
		10	花粉
		15	细胞结构
		20	无明显现象

由表 1~6 可知,固定 24.0、20.0、15.0、5.0、0.5 h 的观察结果都不太理想;用对二氯苯饱和水溶液预处理 3.0~4.0 h,在卡诺氏固定液中固定 10.0 h,再在 1 mol/L 盐酸中解离 10.0 min 左右,所观察到的染色体像最佳(此时所取材料为 2.5 cm 左右的花序,即下部的小穗中基部位置的籽粒)。

### 3 讨论

通过对球茎草芦不同部位的研究发现,中等长度的花序作为核型分析的目标材料比较合适,因为用该发育期材料进行核型分析,在显微镜下可获得良好的观察结果。对目标材料进行各种处理的研究发现,处理方法对材料的观察效果影响不是特别显著(如低温预处理禾本科植物种子发芽的根尖效果较好)。因此,在对不同植物进行核型分析时,应根据实际情况,选择合适的材料,进行恰当的处理,才能达到预期效果。

### 参 考 文 献

[1] 孙彦,周禾,史德宽. 新麦草有丝分离及核型分析[J]. 草地学报,2000,8(3):193-197.

[2] 陈默君,贾慎修. 中国饲用植物[M]. 北京:中国农业出版社,2002:249-250.

[3] 李懋学,陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究,1985,3(4):297-302.

[4] 季道藩. 遗传学实验[M]. 北京:中国农业出版社,1999:3-8,56-60.

[5] 段晓刚,卜秀玲. 大赖草 Giemsa-C 带染色体组型分析[J]. 草业学报,1993,2(2):56-59.

[6] 张新全,杜逸,郑德成,等. 湖南稷子和长叶雀稗染色体核型分析[J]. 四川草原,1996(2):16-18,44.

[7] 何凤发,田丰炉. 乔麦染色体组型分析[J]. 西南农业大学学报,1992,14(6):522-524.

[8] 杨青川,耿华珠. 紫花苜蓿染色体组型分析[J]. 四川草原,1992(2):60-61.

(责任编辑:刘娟)