植物染色体组型和带型分析

一、实验目的

观察分析植物细胞有丝分裂中期染色体的长短、臂比和随体等形态特征，学习染色体组型分析的方法。了解和掌握不同物种染色体组型和带型分析的方法和技术，进一步鉴别染色体结构和染色体组。要求至少利用一种方法制备出一个物种的合格的染色体标本，进行组型分析或进行不同的带型，如 G-带、C-带等分析。练习显微摄影的操作过程，拍摄和印放显微照片。

二、实验条件

本实验在遗传学实验室完成。遗传学实验室提供：

1、实验仪器及用具

显微镜（附摄影装置），冰箱，恒温水浴锅，电子天平，容量瓶，试剂瓶烧杯，染色缸，载玻片，盖玻片，剪刀，镊子，玻璃板，滤纸，标签，铅笔

2、药品和试剂

冰醋酸，无水酒精，甲醇，盐酸，柠檬酸钠，氢氧化钡，氯化钠，磷酸二氢钠，磷酸二氢钾，磷酸氢二钠，甘油，Giemsa 粉剂，果胶酶，纤维素酶

试剂 1：Giemsa 液：0.5 克 Giemsa，33ml 甘油，33ml 甲醇，用少量甘油将 Giemsa 粉末研磨至无颗粒，剩余甘油分次洗涤至棕色瓶内，置 56℃恒温 2h，加入甲醇，过滤后保存于棕色瓶中。

试剂 2 ：5％氢氧化钡：5g$Ba(OH)_2$ 加入 100ml 沸蒸馏水中溶解后过滤，冷却至 18－28℃。

试剂 3：2×SSC 溶液：0.3M 氯化钠+0.3M 柠檬酸钠。

试剂 4：1M NaH_2PO_4 溶液。

试剂 5：1％纤维素酶和果胶酶混合液。

试剂 6：1/15 磷酸二氢钾和 1/15 磷酸氢二钠缓冲液。

实验室为半开放，学生可以在实验室开放时间做实验。需要购买实验材料时，经指导老师批准，确定数量和价格范围后可以购买，实报实销。

三、实验要求

1. 实验前，学生应查阅参考文献，理解本实验的目的要求，制定出本实验的设计方案，经指导老师可行性分析后，再修改、确定实验方案；

2. 将所有实验用具和试剂准备好之后才能开始实验，操作要严格规范。

3. 根据实验结果写出实验报告，并分析、讨论，得出结论。

4. 完成一种植物根尖制片和保存细胞图象。

5. 对染色体图片进行核型分析：列出测量结果、排列好核型图、绘模式图、写出核型公式。

四、实验说明

对植物有丝分裂中期染色体进行酶解，酸、碱、盐等处理，再经染色后，染色体可清楚地显示出很多条深浅、宽窄不同的染色带。各染色体上染色带的数目、部位、宽窄、深浅、相对稳定，为鉴别染色体的形态提供依据，也为细胞遗传学和染色体工程提供新的研究手段。

植物染色体显带技术包括荧光分带和 Giemsa（吉姆萨）分带两大类。在植物染色体显带上最常用的是 Giemsa 分带技术，其中 C 带和 N 带较为常用。C 带的形成认为是高度重复序列的 DNA（异染色质）经酸碱变性和复性处理后，易于复性，而低重复序列和单一序列 DNA（常染色质）不复性，经 Giemsa 染色后呈现深浅不同的染色反应。这种差异反映染色体结构的差异。

该综合实验的特点：在实验教师的管理下，学生从种子发芽开始（实验材料可以由教师准备，学生也可自带植物种子），进行根尖预处理、固定、染色体压片操作、永久片的制作、显微摄影以及染色体的鉴定和核型多态性观察，整个实验准备和操作过程均有学生独立完成。在实验过程中，启发学生创造性地改进实验方法或技术。通过这一系统的综合实验，使学生增强独立操作的能力，掌握有关实验技能，培养创新精神和独立实验工作能力。

本实验是一个带有障碍性的实验，种子萌发时的水分、温度控制不好，预处理不充分，解离时没有严格按要求做，压片技术不过关等等，都会直接或间接地导致实验失败。学生可以在实验中充分发挥自己的主观能动性，对各步骤可以提出不同的处理方法，有利于培养其独立思考和勇于创新的能力。

五、注意事项

1. 种子萌发时的水分、温度控制

2. 预处理和解离的时间

3. 压片时尽量不要移动。