

鉴定染色体的新型染色剂与 复合染色制片新技术

杨佩茹* 王瑞环 张君明 张淑娥

(河北省农林科学院蔬菜研究所, 石家庄 050051)

摘 要

选用黄瓜、茄子、莴苣、白菜、洋葱、萝卜6种蔬菜作物, 以其幼叶为材料, 采用新型染色剂PIHCH(丙酸-铁-苏木精-水合三氯乙醛), 经单染或PIHCH和PICCH(丙酸-铁-洋红-水合三氯乙醛)复合染色制片, 可清晰地观察到用一般染色剂很难着色的蔬菜作物叶片染色体。研究结果表明, 这种新型染色剂和复合染色方法可以广泛应用于细胞学研究。

关键词 染色剂 蔬菜幼叶 染色体 复合染色

植物染色体的染色技术是植物染色体工程、单倍体育种、多倍体育种、组织培养以及细胞融合等现代科学研究中经常应用的基本技术之一。目前观察和鉴定蔬菜作物染色体, 一般用醋酸苏木精、醋酸洋红等染色剂, 采用单染、重染或单染结合媒染的方法。实验中发现, 用一般染色剂和染色方法, 使一些染色较难的作物如黄瓜、茄子等叶片染色体着色均不理想, 甚至出现使细胞质、细胞核不分的情况, 给染色体数目和形态等方面的鉴定带来极大困难。怀特克等(1947)指出: “葫芦科多数种的染色体不论是用现代的醋酸洋红还是醋酸地衣等染色都不易成功, 即使用孚尔根染色也未能得到好的反应”。基于以上问题, 我们从1984年起, 以黄瓜、茄子等6种蔬菜作物的幼叶为材料, 选用邹道谦教授等在PICCH染色剂的基础上创造的PIHCH新染色剂进行单染, 或用PIHCH和PICCH复合染色试验, 结果清晰地观察到6种作物的染色体。

材料和方法

一、供试材料

选用黄瓜、茄子、莴苣、白菜、洋葱、萝卜6种蔬菜作物顶端附近较小的幼叶。

1990—09—15收稿。 *执笔人。

本试验承蒙河北农业大学邹道谦教授指导, 谨表谢意。

二、试验方法

1. 预处理 将6种蔬菜作物的幼叶取下,分别放入对二氯苯饱和水溶液中,在室温(20~25℃)下进行预处理(预处理时间见表)。

2. 固定 叶片经预处理后,用流水冲洗干净,立即放入卡诺氏Ⅱ的改良式固定液[95%酒精-氯仿-丙酸含铁饱和液(6:3:1)]中。固定时间均为24小时。

3. 解离 上述材料固定后,用95%、80%、70%不同浓度的酒精依次冲洗干净。如材料较多不能立刻观察,暂放入70%酒精内保存。将进行观察的材料在58~60℃恒温箱中用1N HCl解离。解离后的材料用清水彻底清洗干净后再染色。

4. 染色与制片 取6种蔬菜作物幼叶基部几小块,分别置于不同载玻片上,用另一载玻片涂抹,使之成为均匀的薄层,分别滴一滴醋酸洋红、醋酸苏木精、PICCH、PIHCH染色剂进行单染及PIHCH和PICCH不同混合比例的染色剂进行复合染色,在显微镜下观察不同染色剂及不同染色方法对6种蔬菜作物染色体的染色效果。

试验结果

不同染色剂及不同染色方法对6种蔬菜作物幼叶染色体的染色效果比较:

1. 醋酸洋红和醋酸苏木精:两种染色剂对6种蔬菜叶片染色体染色后,观察效果均不好,有的甚至观察不到染色体。

2. PICCH:染色后,染色体在蓝色滤光片下均呈墨玉蓝色,但染色体和细胞质的颜色反差小,而且染色时间较长(见表)。

表 6种蔬菜叶片染色体观察结果

项 目	黄 瓜	茄 子	莴 苣	白 菜	萝 卜	洋 葱
二氯苯预处理时间(分)	13:00—15:00	12:00—14:30	9:00—11:30	12:00—14:15	12:00—15:00	7:30—11:30
HCl水解时间(分)	13	15	9	10	5	5
PICCH单染时间(分)	30	15	15	25	25	10
PIHCH 和PICCH 时间(分)	20	10	8	15	15	15
复合染色 比例	1:6	1:5	1:1	1:5	1:5	2:1
镜检观察染色体数 2n	14	24	18	20	18	16

3. PIHCH:洋葱:茄子、萝卜叶片染色体染色后,呈紫蓝色,染色体的颜色和细胞质颜色反差大,效果很好。但黄瓜、白菜、莴苣叶片染色体的颜色和细胞质颜色反差小。

4. PIHCH和PICCH复合染色效果:二者按一定比例混合进行复合染色,对6种蔬菜作物叶片染色体染色效果均表现最好,得到清晰的叶片染色体图象(见图);对6种蔬菜叶片染色体着色力很强,对细胞质着色力弱,故使染色体和细胞质颜色反差大,而且比PICCH单染时间缩短(见表)。用PIHCH和PICCH对不同蔬菜作物进行复合染色时,两者比例根据作物不同而异(见表)。6种蔬菜作物幼叶染色体复合染色效果表现出这样一种

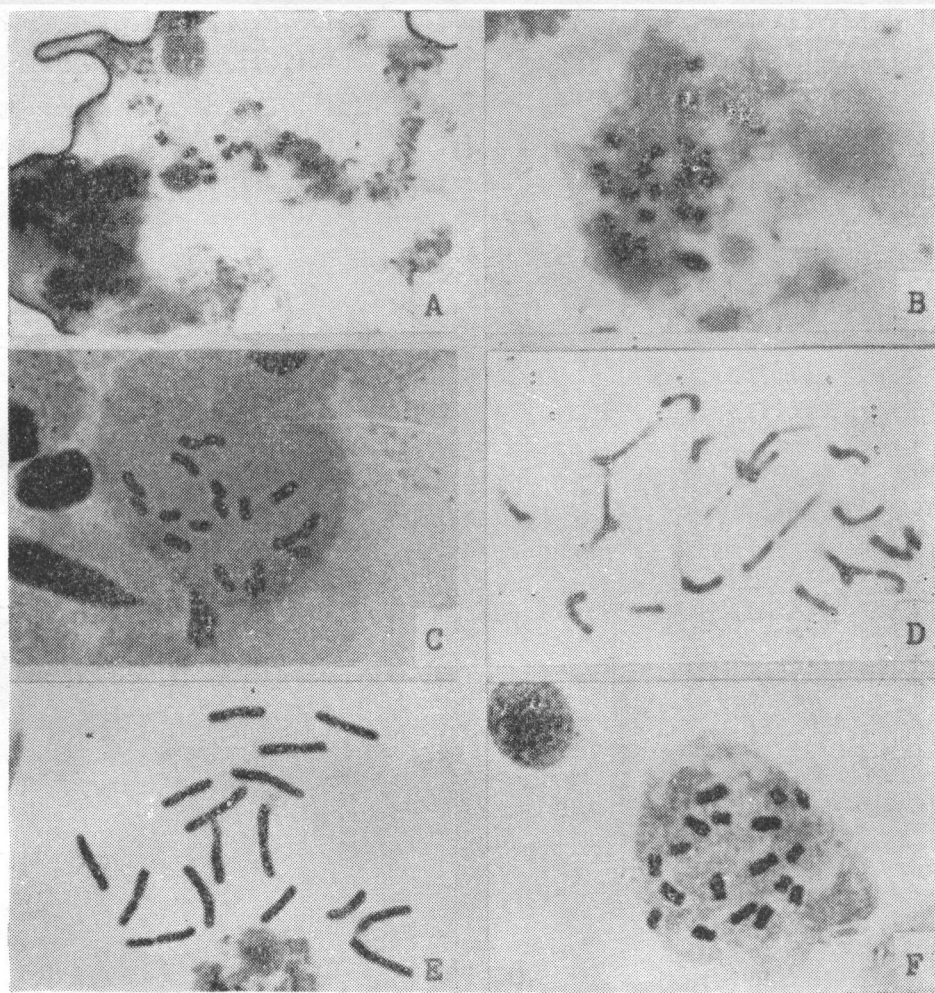


图 6种蔬菜作物幼叶染色体染色效果

- | | |
|---------------------|--------------------|
| A 黄瓜 $2n=14$ 640x; | B 茄子 $2n=24$ 7680x |
| C 莴苣 $2n=18$ 640x; | D 白菜 $2n=20$ 5120x |
| E 洋葱 $2n=16$ 7680x; | F 萝卜 $2n=18$ 640x |

趋势: 染色体小时, PICCH染色液的比例应大些, 而PIHCH染色液的比例则应小些, 这样染色效果较好。因此在使用时, 可根据不同作物配制不同比例的染色液。

结 论

PIHCH和PICCH复合染色法, 为解决观察染色体着色难的问题提供了一种新途径。该方法对一般的蔬菜作物染色体染色效果也很好, 可以作为一种新的染色方法应用于染色体的研究。

PIHCH是继PICCH染色剂之后, 新研制出的一种染色剂, 它是用苏木精、丙酸、氢氧化铁、水合三氯乙醛四种药品配制而成的。它和一般的丙酸苏木精染色液不同, 不分甲乙两

液。一般的丙酸苏木精染色液，是先配制成甲乙两液，因甲乙两液易发生沉淀反应，污染染色体，所以在使用前才将甲乙两液混合，之后进行染色。而PIHCH是一种性质稳定的染色液，保存一年以上不变质，使用方便，不仅对一般植物染色体染色效果好，对某些染色很难的植物染色体着色效果也十分理想，甚至对人染色体的染色也收到了良好效果，是一种值得推广的新型染色剂，它可以作为一种主要的染色剂广泛应用于染色体的研究上。

参 考 文 献

- [1] 河北农业大学园艺系选种教研组：在观察蔬菜作物染色体上丙酸—铁—洋红—水合三氯乙醛（PICCH）染色新技术，《遗传学报》，4（1）1977：82—83
- [2] 袁淑安：蚕豆叶片染色体制片，《遗传》，4（1）1982：11—12
- [3] James, R. Meyer: Colchicine—feulgen leaf smears, Stain Techno'ogy, 1943 (18) :53—16

A New Technology of Compound Stain Squash and a New Stain for Identification of Chromosomes

Yang Peiru Wang Ruihuan Zhang Junming Zhang Shu'e

(Vegetable Research Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry
Sciences, Shijiazhuang)

Abstract

They young leaves of cucumber, eggplant, lettuce, Chinese cabbage, Chinese radish and onion are made into squashes and then stained with a new single stain PIHCH (propionic-iron-haematoxylin-chloral hydrate) and a compound stain of PIHCH and PICCH (propionic-iron-camine-chloral hydrate). The chromosomes which are hardly stained with common stains can be clearly observed under the microscopes. Therefore the single stain PIHCH and the compound stain of PIHCH and PICCH can be widely applied in cytology study.

Key words: Stain PICCH; Young leaves of vegetable; Chromosomes; Compound staining