

# 酒精-盐酸-醋酸洋红在植物染色体 制片中的运用

刘健全

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

## THE APPLICATION OF ALCOHOLIC HYDROCHLORIC ACID CARMINE STAIN TO THE PLANT CHROMOSOMES SQUASH PREPARATIONS

Liu Jian-quan

(Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

关于植物染色体的研究方法及其技术, 已有许多论述(朱微等, 1982; 李懋学等, 1991)。这里介绍经我们改进后的酒精-盐酸-醋酸洋红(Snow, 1963)染色体制片方法, 它在克服取材和处理一些难以着色的植物染色体方面, 较常规方法具更大的优越性。该方法简单易学, 所需原料和条件均较少, 一般实验室都能满足。

### (一) 试剂的配制

1、4g 洋红加入 15 ml 蒸馏水中, 搅拌均匀, 再加入 1 ml 的盐酸。将混合液在微火上煮 10 分钟。

2、冷却, 加入 95 ml 85% 的乙醇溶液, 混合后过滤。

3、滤液用氨水调整 pH 值, pH 值在 2.2~ 2.7 之间。

### (二) 制片程序

1、材料固定。取材的范围包括根尖、幼叶、幼芽、茎尖、幼嫩的子房和花药。花药不经任何前处理。用作有丝分裂中期染色体核型研究的材料, 需经常规预处理。处理子房的时间比根尖的时间要长 1-2 小时, 或者秋水仙素和八羟基喹啉溶液比处理根尖的浓度提高 1 倍, 处理时间不变。预处理后的材料用卡诺固定液固定 24 小时以上。

2、洗涤。用 70% 乙醇洗涤材料 2~ 3 次, 每次 1 小时以上。

3、染色。从 70% 乙醇中取出材料, 用滤纸快速吸干材料表面的乙醇, 放入染液中, 染液一般为材料的 2~ 3 倍。染色时间依材料而定。花药的染色时间为 12~ 24 小时; 其他材料如子房、幼叶为 2~ 6 天。如需缩短染色时间可放入 60℃ 的温箱中。我们试验的龙胆科材料由于不易

着色,需 60 染色 2~ 4 天,而虎耳草属则只需常温染色 3 天。

4、染后洗涤。染好的材料从表面观察应为紫红色。将染料倒回原瓶中,可多次利用。再次用 70% 乙醇洗涤 2~ 3 次,每次 10 分钟。材料保存于 70% 的乙醇中。

5、软化和分色。用 45% 醋酸在 60 下软化 10~ 30 分钟,软化时间也需依材料而定。软化后的材料用新配制的 45% 醋酸在酒精灯上分色 5-10 秒钟。

6、压片。取出软化和分色好的材料放于载玻片上,滴加一小滴 45% 醋酸,常规压片,镜检。

7、永久制片。冰冻揭片。气干或在温箱中低温烘干。用中性树胶封片。

### (三) 应用

如果和改良苯酚品红比较,该方法程序稍微繁琐。经研究比较后,我们认为,如果种子萌发和取根尖较为容易,染色不困难,最好还是采用改良苯酚品红。酒精-盐酸-醋酸洋红在下列植物种类中可能较其它常规染色方法更有优势:

1、高山植物中有些种类采集根尖困难(如青藏高原广泛分布的垫状植物、冰缘植物、龙胆科植物、虎耳草科植物),而这些植物和种子在成熟时大雪降临,气候寒冷,并且高山植物种子普遍存在休眠,即使采到种子,其萌发也有一定的困难。

2、对于一些乔木、灌木植物,种子和野外取根均有一定的难度。

上述两类植物的染色体观察一般采用花、幼茎做实验材料。使用去壁低渗法程序复杂,且费时较长,用改良苯酚品红又不易获得较好的分裂相。而用酒精-盐酸-醋酸洋红染色可克服上述缺点。

3、用其它染色方法不易着色的植物,如:龙胆科喉毛花属,用改良苯酚品红以及背景不清晰,而采用酒精-盐酸-醋酸洋红染色,无论是醋酸洋红染色,着色均较浅,小孢子

图 1 示酒精-盐酸-醋酸洋红染色的植物染色体

1. 长梗喉毛花花粉母细胞减数分裂中期,  $n=8$ , 花药, 不经任何前处理; 2. 喉毛花有丝分裂中期,  $2n=18$ , 幼嫩子房, 秋水仙素前处理; 3. 丽江喉毛花有丝分裂中期,  $2n=18$ , 幼嫩子房, 对氯二苯前处理; 4. 岷江龙胆有丝分裂中期,  $2n=24$ , 根尖, 秋水仙素前处理

子母细胞减数分裂, 还是有丝分裂中期均获得了染色较清晰的分裂相(图 1: 1、2、3)。

### (四) 几点经验

1、材料固定后,一定要用 70% 乙醇洗尽固定液。我们通常是将材料洗 2~ 3 次之后,放在 70% 乙醇保存,染色之前再洗一次。

2、染色液的 pH 值在各类植物染色中十分重要。龙胆科植物的染色液最适 pH 值为 2.3~ 2.5, 而虎耳草属则为 2.2~ 2.4。因此,在染色之前,需要对所研究类群摸索和选择最适宜的 pH 值染色液。

(下转 62 页)

## 参 考 文 献

- 刘捷平, 1991, 植物形态解剖学, 北京师范学院出版社, 350
- 李后强, 程光铖, 1990, 分形与分维——探索复杂性的新方法, 四川教育出版社, 成都
- 张颖清, 1982, 生物结构的三定律, 内蒙古人民出版社, 呼和浩特
- 常 杰等, 1995, 植物形态的分形特征及模拟, 杭州大学出版社, 杭州
- 董连科, 1991, 分形理论及其应用, 辽宁科技出版社, 沈阳
- Jean, R. V. (王本楠等译), 1990, 植物生长模式与形态的数理研究方法, 学术书刊出版社, 北京
- Bansley, M. F. , 1989, Fractals Everywhere. Academic Press Inc. , New York
- Bittner, H. R. , 1991, Modelling of fractal vessel systems, In Fractals in the Fundamental and Applied Sciences, (H. -O. Peitgen, J. M. Henriques and L. F. Penedo eds ), Elsevier Science Publishers
- Hutchinson, J. E. , 1981, *Indiana Univ. Math. J.* , **30**: 713~ 747
- Lindenmayer, A. , 1968, *Journal of Theoretical Biology* , **18**: 280~ 315
- Lindenmayer, A. and Jørgensen, H. 1992, Grammars of development: Discrete state models for growth, differentiation and gene expression in modular organisms. In Rozenberg, G. and Salomaa, A. (2nds ), Lindenmayer systems. Impacts on theoretical computer science, computer graphics, and developmental biology, 3-21. Springer-Verlag
- Mandelbrot, B. B. , 1982, The fractal geometry of nature. W. H. Freeman, San Francisco
- Nishida, T. , 1980, KOL-systems simulating almost but not exactly the same development—the case of Japanese cypress. *Memoirs Fac. Sci., Kyoto University, Ser. Biol.* , **8**: 97~ 122
- Prusinkiewicz, P. and J. Hanan, 1989, Lindenmayer system, fractals, and plants. Springer-Verlag, New York
- Smith, H. F. , 1991, A Garden of Fractals, In Fractals in the Fundamental and Applied Sciences (H. -O. Peitgen, J. M. Henriques and L. F. Penedo eds )

(上接 64 页)

3. 进行有丝分裂中期核型分析取材时, 幼叶、茎尖、花药壁、子房均可, 但子房最佳。

## 参 考 文 献

- 朱 徵等, 1982, 植物染色体技术, 科学出版社, 北京
- 李懋学等, 1991, 植物染色体研究技术, 东北林业大学出版社, 哈尔滨
- Snow, R. , 1963, *Stain Techn.* , **38**: 9-13