

通过匍匐茎尖检查马铃薯染色体的方法

李先平, 隋启君, 赵志坚

(云南省农科院生物技术研究所, 云南 昆明 650223)

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 06-356-02

马铃薯属多倍体作物, 染色体基数 $n=12$ 。在自然条件下, $2n=24, 36, 48, 60, 72$ 等不同倍性的马铃薯种均有存在。在马铃薯种间杂交育种中, 不同倍性的马铃薯种间进行杂交, 产生的杂交后代染色体数不尽相同, 这就有必要对这些材料进行倍性鉴定。

鉴定马铃薯倍性最可靠的方法是通过根尖压片技术直接对染色体数进行检测。我们在对马铃薯种间杂交材料进行倍性鉴定过程中, 田间取材时发现马铃薯的根系发展较快, 已经深入土壤, 并且根尖部分细小纤弱, 容易折断, 很难取到适合的根尖作为检测材料。因此我们转而取马铃薯的匍匐茎尖作为供试材料进行染色体的倍性检测, 并得到理想的结果。

1 取 材

要获得高频率的分裂相, 取材最为关键。选取匍匐茎尖的最佳时期应是在匍匐茎伸长生长的旺盛期, 这时匍匐茎尖分生能力强, 可获得较多的分裂相; 而当匍匐茎停止伸长生长, 顶端开始膨大时, 匍匐茎尖的分裂减弱甚至停止, 这时很难获得好的分裂相, 加之由于淀粉粒的积累, 在镜检时淀粉粒的存在亦会影响视野的观察。

不同的马铃薯材料匍匐茎的发生时间不一样, 一般在苗期匍匐茎即开始生长, 因此取材时间应是马铃薯出苗之后, 最好是在匍匐茎发生初期, 这样

既能获得好的分裂相, 又能减轻对马铃薯根系的破坏程度, 尽可能的不影响植株的生长发育。

2 预处理

植物材料的染色体压片观察, 首先要对材料进行预处理。目的是使染色体收缩变短, 易于观察, 同时也可以阻止纺锤体的形成, 获得较多的中期分裂相。

用于植物材料预处理的药品很多, 如 $0.05\% \sim 0.2\%$ 的秋水仙素 (Colchicine) 水溶液、 $0.002 \sim 0.004 \text{ M}$ 的 8-羟基喹啉 (8-Hydroxyquinoline)、 α -溴萘 (Bromonaphthalene) 等。本实验使用的预处理液为饱和的对二氯苯 (P-Dichlorobenzene) 水溶液, 在室温条件下处理 $3 \sim 5 \text{ h}$ 能得到较好的处理效果。

3 材料的固定和保存

固定的目的是利用化学药物把细胞迅速杀死, 使蛋白质变性和沉淀, 并尽量保持细胞各种结构的原有状态。此外, 生活的细胞经过固定之后, 有利于后续的解离和染色等各项操作的进行。

将预处理后的匍匐茎尖用水冲洗 $3 \sim 5$ 次后, 用卡诺 (Carnoy) 固定液 (乙醇: 冰乙酸 = $3:1$) 固定 4 h 以上, 如不需要立即制片, 可将固定好的材料转入 70% 的乙醇中, 在 4°C 的条件下可保存数月。经长期保存的材料在观察前进必用固定液重新处理一次, 时间以 4 h 以上为适。

4 材料的解离

解离的目的是除去细胞之间的果胶层, 并使细胞壁软化, 以便于压片观察。将固定好的马铃薯匍

收稿日期: 2002-05-10

作者简介: 李先平 (1973-), 男, 助研, 云南省生物技术研究所马铃薯研究中心, 从事马铃薯遗传育种工作, 侧重于马铃薯

中国知网 <https://www.cnki.net> 的资源创新和生物技术育种研究。

试管薯大田生产微型薯效果好

冯五平，张淑青，康银清，郭彦军，王玉肖

(石家庄燕赵种业有限公司，河北 石家庄 050021)

中图分类号：S532

文献标识码：A

文章编号：1001-0092 (2002) 06-357-02

1 前 言

石家庄燕赵种业有限公司生物技术开发中心，

收稿日期：2002-07-10

作者简介：冯五平（1957—），男，高级农艺师，石家庄燕赵种业有限公司总经理，从事马铃薯种薯产业化研究和种业开发工作。

2000 年开展了马铃薯脱毒快繁及试管薯工厂化生产工作，并于 2001 年 3 月成功的生产出试管薯 15 万粒。为了加快试管薯的成果转化，缩短脱毒马铃薯的良繁中间环节，降低微型薯的生产成本，改变目前种薯生产单位使用试管苗温网室扦插生产微型薯成本较高的一些缺点，我公司大胆尝试，于 2001~2002 年利用试管薯催芽后，直接播种于土壤

匍茎尖在 1N 盐酸，60℃条件下恒温处理 5~10 min，然后用水冲洗 3~5 次，将洗净盐酸后的材料置于 45%的冰乙酸水溶液中即可染色压片。

5 染色镜检

用于植物材料染色体观察的染色液很多，本实验采用卡宝品红染液进行染色，效果很好，其配制方法如下：

- 1) 原液 A：称取 3 g 碱性品红 (Basic fuchsin) 溶于 100 ml 70%乙醇中 (可永久保存)；
- 2) 原液 B：取 10 ml 原液 A 加入 90 ml 5%的苯酚水溶液，在 37℃条件下温育 2~4 h (该溶液不稳定，应在 2 周内使用)；
- 3) 原液 C：取 55 ml 原液 B 加入 6 ml 冰乙酸和 6 ml 甲醛，充分混匀；
- 4) 卡宝品红染液：取 10~20 ml 原液 C 加入约 80 ml 45%的冰乙酸和 1 g 山梨醇 (可永久保存)。

染色方法是：将解离并洗净的马铃薯匍茎尖置于洁净的载玻片上，自茎尖处切下约 1 mm，滴上约 1/3 滴卡宝品红染液，盖上盖玻片，并用左手食指按住盖片左下角防止盖片滑动，用镊子头部垂直轻击盖片，使茎尖材料分散；然后用滤纸盖住盖片，用拇指垂直施加压力，使细胞内的染色体尽量在同一平面上，以便于染色体数目的统计。经染液

处理后染色体很快即能着色，可以进行镜检和显微摄影 (见图 1)。

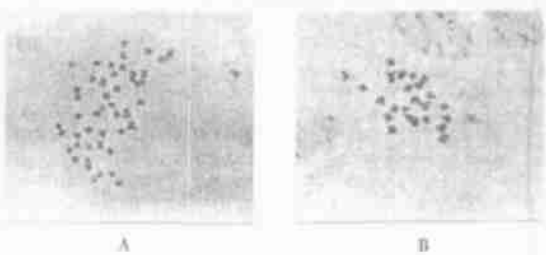


图 1 马铃薯染色体倍性观察 (放大倍数 3000×)

A：四倍体马铃薯染色体 B：二倍体马铃薯染色体

马铃薯匍茎尖的染色观察与根尖的镜检方法一样，关键是获得较好的中期分裂相，因此取材和预处理尤为重要。通过实验摸索，取材以刚由地下茎基部长出，处于伸长生长阶段的匍茎尖为佳。染色体的预处理，用对二氯苯饱和水溶液处理 3~5 h 时可获得较好的处理效果，预处理时间太短不能使染色体充分收缩，过长则没有必要。

样品的着色深浅与材料的解离时间和染液的配制有关，材料的解离时间需由操作者在实践中把握，大体上以 5~10 min 为宜；刚配制的卡宝品红染液可能着色较浅，加入少量原液 C 可获得较好的染色效果。