

草莓根尖染色体观察技术简介

李富恒, 韩雪梅

利用花药培养方法培育草莓新品种是一种利用生物技术育种的新方法。经过几年研究,已筛选出适宜草莓花药培养的培养基并摸索出一整套提高花药苗诱导率和成活率的方法。从理论上讲,利用花药培养出的单倍体植株经秋水仙素加倍后成为双倍体植株,经过田间试验筛选出综合性状优良的,就可成为一个新的品种。但由于通过花药培养诱导出的再生植株,可能是由花粉发育而来的单倍体植株,也可能是由药壁或药隔诱导出的双倍体植株,且由于草莓是同源多倍体($2n=8x=5b$),在花药培养过程中由于激素等化学物质的作用,染色体常发生畸变,染色体数目会出现多种复杂情况,因此对花药培养再生植株进行染色体观察很有必要。

下面介绍一下草莓根尖染色体制片的操作步骤和在实践中作者的一些体会。

1 草莓根尖染色体制片的操作步骤

1.1 取材 根尖的取材最为方便,分生组织区又易于识别和截取,最适于进行染色体观察。最好在雨后第2天取材,也可以头天浇水第2天取材,以上午9时前后取材为宜,此时分裂相较多,也有利于下步工作的进行。

1.2 清洗 用自来水把试材冲洗干净,剪下2cm备用。

场也没有完全打开,这在一定程度上制约了沙棘油的市场开发。总结开发利用的教训,今后我们要在增加资源的基础上,以科技为依托、以市场为导向,以开发利用为突破口,加大开发力度,努力提高产品质量,积极开拓国内外市场,做到资源建设和经济收入双增长。

4 强化市场开发,多方协作,大力发展沙棘产业

无论在国内市场还是国际市场,沙棘产业都可以说是一个“朝阳产业”,市场经济条件下,科学研究要针对市场,如何将科研成果转化成生产力,沙棘的经济效益和社会效益充分发挥出来,必须在系列产品开发方面加大力度,走科研、生产、销售一条龙的道路。

我们可以借鉴其它果业开发成功模式,科研单位出技术成果,农民出土地,企业凭资金和设备,进行最佳组合,通过政府部门的宏观调控和市场经济牵动,充分发挥科技优势、企业优势和土地优势,加大产品的开发力度,增加产品的科技含量,使沙棘真正形成一个特色产业。

(1. 黑龙江省农科院情报所 150086; 2. 黑龙江省农业厅多种经营处; 3. 齐齐哈尔市园艺所 161005)

1.3 预处理 预处理的作用有2点 ①阻止纺锤体形成,但并不妨碍分裂前期的正常进行,使细胞分裂被终止于中期阶段,可以获得较多的中期分裂相。②可导致染色体收缩,使染色体变短,利于在显微镜下观察。其方法是把洗净的根尖放在滤纸上吸去多余的水分后,放入0.001M的KCl溶液中浸泡20min,再放入加 α -溴萘的对二氯苯饱和水溶液中处理2~3h。

1.4 固定 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,便于解离和染色。其方法是使用卡诺液固定2h以上。卡诺液的配方为1份冰醋酸与3份纯酒精混合而成。

1.5 解离 解离是用酸解法除去细胞之间的果胶层并使细胞壁软化,以利于压片。其方法是在恒温水浴中用1NHCl溶液处理10min,温度要求为 $60^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

1.6 染色 用苏木精作染料使染色体着色。苏木精本身与细胞的亲和力很差,不能直接染色,必须依靠媒染剂的作用才能对细胞染色,故染色液分为媒染剂和染色剂两种,分别配制,单独使用。媒染剂:称4g铁矾(硫酸铁铵)结晶,溶于100ml蒸馏水中。染色剂:称0.5~1g苏木精结晶,先溶于少量95%乙醇中,待完全溶解后,再放入100ml蒸馏水,用纱布扎好瓶口,1个月后使用。方法:解离后的根尖在媒染剂中媒染1h($30\sim 40^{\circ}\text{C}$)。取出洗净后放入苏木精染色剂中染色4h以上。

1.7 分色和软化 经铁矾-苏木精染色后的材料,除染色体能染上极深的颜色外,细胞壁和细胞质也都不同程度地着色,因此需经45%醋酸进行分色和软化后,方可压片。其方法为在45%醋酸溶液中浸泡几小时。

1.8 压片 切取根尖1~1.5mm加一滴45%醋酸于载玻片上,盖上盖玻片,用铅笔一端敲击盖玻片,使材料分散均匀。

1.9 镜检 先用低倍镜观察,发现好的分裂相后再转到油镜下仔细观察计数,如需要时可用显微摄影拍片保存。

2 经验与体会

2.1 在田间取材受到土壤气候等条件的限制,有时难以取得满意的试材。如果把要观察的草莓在室内进行水培,则取材方便容易,工作得以连续进行。

2.2 用一种药剂处理根尖后转入下一步前一般都要进行水洗,换水洗比流水洗效果要好,能尽快洗去残留在组织中的残液。而且换水洗与流水洗相比也不容易使根尖丢失。

2.3 大多数药剂可重复使用,但铁矾媒染剂加热后易变质,不能重复使用,要换新液。

2.4 用45%醋酸进行分色软化时,换几次液比一次性处理效果要好。

(中科院黑龙江农业现代化所, 哈尔滨 150040)