# 蜘蛛血细胞染色体制片技术探讨

王　智[①]　颜亨梅[②]

(① 湖南常德师范学院生物学系　常德　415000；② 湖南师范大学生命科学学院　长沙　410081)

**摘要**：首次介绍了通过血液培养制作蜘蛛染色体装片的技术以及应注意的一些问题。

**关键词**：蜘蛛；染色体；血细胞培养

**中图分类号**：Q2-33　**文献标识码**：A　**文章编号**：0250-3263(2001)03-45-02

# Technique of Chromosome on Spider Blood Cell

WANG Zhi[①]　YAN Heng-Mei[②]

(① *Department of Biology, Hunan Changde Normal College　Changde*　415000;

② *College of Life Science, Hunan Normal University　Changsha*　410081, *China*)

**Abstract**: The present paper deals with technique of spiders chromosome by culture blood cell for the first time in China, and some questions noticed.

**Key words**: Spider; Chromosome; Culture blood cell

蜘蛛属于节肢动物门、蛛形纲、蜘蛛目，种类繁多，仅次于昆虫纲，在农林害虫的生物防治中起着非常重要的作用，并且蛛丝蛋白和蛛毒蛋白有着广泛的应用前景，国内外对其研究异常活跃。对蜘蛛的染色体进行研究，为其形态分类学提供细胞遗传学方面的证据，有利于避免在形态分类中出现同物异名、异物同名现象，有利于鉴定在垂直遗传和协同进化中所形成的疑难种、近似种，同时也将对蜘蛛的群体遗传学和系统演化的研究以及蜘蛛广泛适应性的研究产生重要影响。国内外对蜘蛛染色体研究多采用以精巢[1~3]和胚胎细胞[4~7]为材料，前者因雄性蜘蛛难以采到，有一定的局限性，后者仅适用于高等蜘蛛，对原始的地穴蜘蛛，如虎纹捕鸟蛛、七纺器蛛等，因不易找到卵囊，故难以用此法进行研究；也有报道从蜘蛛纺器注入秋水仙碱，取其血液作材料[8,9]。但由于蜘蛛血液细胞数量少，用此法难以收集较多的细胞，并得到足够的细胞分裂相，故不便于进行统计分析，并且此法只适用于体型较大的蜘蛛，但像皿蛛科这些微小的蜘蛛就难以用此法进行研究。作者通过实践，摸索了一套较理想的制片技术，并用此技术对虎纹捕鸟蛛等蜘蛛染色体数进行了研究，此法国内尚未见报道，现将方法介绍如下。

## 1　材料与方法

**1.1　材料**　野外采集蜘蛛，带回实验室饲养备用。

**1.2　药品及其配制**　血液培养基配制法：80% 1640 液，15%～20%灭菌小牛血清，4%～7%植物血球凝集素(PHA)，各 200 U 双抗(青霉素、链霉素)，比例按 79:15:15:1 混合，用 $G_6$ 型玻璃除菌器过滤除菌。

卡诺式固定液用无水甲醇与冰醋酸在每次使用前按 3:1 新鲜配制；低渗液为 0.0603% KCl

* 国家自然科学基金资助项目(No:39570119)；

第一作者介绍　王智，31 岁，男，讲师，硕士；研究方向：蜘蛛学及经济动物学；

收稿日期：1999-07-12，修回日期：2000-12-15

溶液(用蒸馏水配制);1.5 μg/ml 的秋水仙碱(用0.687%的 NaCl 溶液配制);20% Giemasa 染液(用 pH 7.8 的磷酸缓冲液配制)。

**1.3 实验过程** 首先用75%酒精对蜘蛛体表进行消毒处理,然后将蜘蛛的步足从基部切断,用已灭菌的注射器取其血液,在无菌操作台上,将血淋巴注入血液培养基中,在25℃恒温培养箱中培养48 h,然后加入0.1 ml 的1.5 μg/ml 的秋水仙碱,继续培养8 h。完毕,用吸管冲散成均匀细胞悬液,装入离心管,1 500 r/min 离心5 min,除去上清液,加入5 ml 低渗液,用吸管冲散成均匀悬液,室温下低渗20~25 min。以1 500 r/min 离心5 min,去上清液,加固定液1~2 ml,用吸管冲散成均匀悬液,固定10 min,再以相同转速离心5 min,弃去上清液后加入5 ml 固定液,并用吸管吸打成均匀悬液,固定10 min。以1 500 r/min 离心5 min,去上清液,加入少量固定液,用吸管冲散成均匀悬液,取预冷载玻片,在其上滴1~2滴/片,放在75~80℃烤箱中烘烤2~3 h。取出,待冷却至室温,用20% Giemasa 染色20 min 后,用去离子水冲去浮液,镜检。

## 2 结果与讨论

采用上述方法制成的虎纹捕鸟蛛(2n = 36)的染色体标本中,染色体形态清晰、舒展,个体性明显、分散好、背景杂质少,效果较好。与其它染色体标本制备方法相比,有着显著优点:即能够收集较多的细胞,制备的标本分裂指数较高,可获得良好的细胞分裂相,尤其是能够适用于包括原始蜘蛛、微小蜘蛛等在内的所有蜘蛛染色体研究。

秋水仙碱浓度及其所加量要适中,秋水仙碱浓度过低,难以获得较多的中期分裂相;秋水仙碱浓度过高,会引起染色体收缩,作者曾用过2 μg/ml 和1 μg/ml 的秋水仙碱,但从制片效果看,仍以1.5 μg/ml 的浓度为宜。

低渗液处理是使细胞膨胀、染色体分散,减少或避免染色体在细胞内的重叠现象,便于观察计数。低渗液除用 KCl 外,还可用蒸馏水,但后者细胞膨胀程度差,染色体重叠现象严重,经 KCl 处理后的细胞较易破裂,但易导致染色体缺失,因此低渗液的浓度不能太高,并且低渗时间也应注意适当控制,不宜过长。

制片用火焰干燥法,其温度难以掌握,往往由于温度过高引起染色体收缩,本法是将滴片后的玻片放在75~80℃的烤箱中烘烤,这样制作的染色体效果良好。

本文采用的取血方法,一方面,在数量上可以收集足够的血淋巴供血培之用,并能在同一个体上做多次重复;另一方面,不会致命地伤害蜘蛛,受伤的蜘蛛养殖一段时间又会长出新的附肢,并可节省经费,尤其像虎纹捕鸟蛛这种珍贵的蜘蛛。

## 参 考 文 献

[1] 王虹.机敏漏斗蛛染色体初步研究.蛛形学报,1992,1(1):42~43.

[2] Datta, S. N., K. Chtterejee. Chromosome number and sex-determining system in fifity-two species of spiders from North-East India. *Chr. Inf. Ser.*, 1983(35):6~8.

[3] Tsurusaki, N. Y. Thara, A. Tatsumi. Chromosomes of the Funnel-web spider *Agelena limbata*. *Acta Arachnol.*, 1993, **42**(1):43~46.

[4] 王佑举,宋大祥,王秀珍等.4种蜘蛛染色体研究初报.蛛形学报,1993,**2**(2):110~113.

[5] 王秀珍,王佑举,杨震玲等.迷宫漏斗蛛 *Agelena labyrinthica* 的染色体.蛛形学报,1996,**5**(2):137~140.

[6] 杨震玲,王秀珍,王佑举等.星豹蛛染色体组型分析.蛛形学报,1996,**5**(2):145~148.

[7] Matsumoto, S. An observation of somatic chromosomes from spider embryo-cells. *Acta Arachnol.*, 1977, **27**:167~172.

[8] 张永倩.蜘蛛染色体的常规制片技术.动物学杂志,1990,**6**:30~31.

[9] 朱传柄.白额巨蟹蛛染色体的初步观察.激光生物学报,1995,**5**(3):20~23.