

淡水涡虫染色体的制备方法*

李光鹏

(黑龙江省科学院自然资源研究所, 哈尔滨 150040)

摘要 本试验证明, 采用空气干燥法和压片法, 利用淡水涡虫的再生组织制备染色体是可行的, 能够得到较好的效果。

隶属涡虫纲三肠目的淡水涡虫是一类中等大小、营自由生活的扁形动物, 一直受到科研和教学上的重视。涡虫染色体的研究也已受到动物学家的注意。我们利用我国广泛分布的东亚三角头涡虫 (*Dugesia japonica*) 作为实验材料, 探讨了涡虫染色体的制备方法。

(一) 空气干燥法

1. 涡虫的采集和培养 于冷涌泉溪流的石头下, 可找到淡水涡虫。先将采集瓶灌满溪水, 再把溪水中的石块迅速拿出水面, 用毛笔轻轻地将涡虫刷入瓶内。带回实验室, 放在搪瓷盘中, 用放置几日后去氯的自来水培养。每周喂以新鲜的动物肝或水蚯蚓一次, 喂后及时换水。选取健康涡虫, 停止饲喂, 饥饿一周, 以备切割。

2. 涡虫切割和再生组织的培养 将涡虫均等切成 2—4 段(图 1, B); 对有性个体, 则在口

和生殖孔二者中间处横切为两段(图 1, A), 以得到生殖细胞染色体。切得的涡虫片段在去氯自来水中培养 ($14 \pm 4^\circ\text{C}$)。

3. 秋水仙素处理 培养 2—4 天后, 切面处均长出再生组织, 将再生组织部分切下(图 1, C、D), 置入 10^{-5}mol/L 秋水仙素处理液中处理 2—3 小时 ($16 \pm 2^\circ\text{C}$)。

4. 低渗处理 经秋水仙素处理的再生组织, 用 0.1% 的 KCl 低渗液处理 1—1.5 小时 ($16 \pm 2^\circ\text{C}$)。

5. 固定和制成细胞悬浮液 将 1—2 小块再生组织移到载物片上, 滴上几滴固定液 I (冰醋酸:乙醇:蒸馏水 = 3:3:4), 几秒钟后, 去掉多余的固定液, 再加上 1—2 滴新的固定液 I, 然

* 本文承蒙刘德增先生审阅, 谨致谢意。

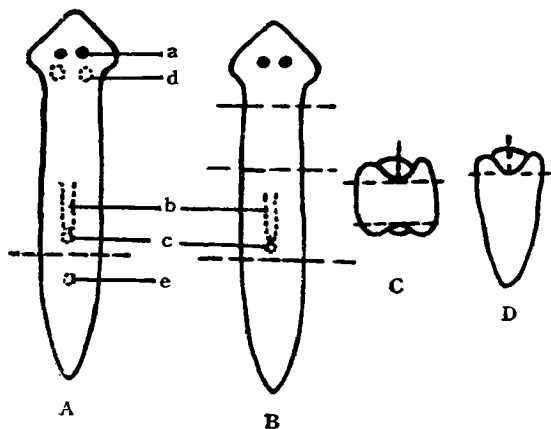


图1 涡虫切割和再生组织切割方式

A, 有性个体 B, 无性个体 C、D, 切割再生组织。a, 眼 b, 咽 c, 口 d, 卵巢 e, 生殖孔 ---- 切割线

后用针将组织块快速分开,使细胞分离。

6. 固定分离细胞 在分离细胞上加固定液 II (冰醋酸:乙醇:=1:1)。15 秒后。吸去多余的固定液,放置约 1 分钟,使其半干。再加固定液 III (冰醋酸),几秒钟后,去掉多余的固定液,室温干燥。

7. 染色 干燥24小时后,用 4% 的 Giemsa 染液染色 10—15 分钟。用水冲掉多余的染液,

室温干燥。

8. 封片 干燥后的标本用中性树胶封片。

(二) 压片法

1. 采集和培养同前。

2. 将再生组织切成小于 1mm^3 的小块。

3. 秋水仙素处理同前。

4. 组织在 0.1% KCl 低渗液中处理 30 分钟 ($16 \pm 2^\circ\text{C}$)。

5. 将组织块移到载物片上,用 1% 的醋酸地衣红染色 10—30 分钟。

6. 将盖玻片置入组织块上,用力尽量压碎组织。

7. 用指甲油或中性树胶封片。

上述两种方法均能得到较好的效果。

实验中所用的固定液应现配现用。秋水仙素、KCl 低渗液的处理时间及温度对制片质量也有影响。不同种的淡水涡虫所用处理温度和时间也有所不同。一般地,多眼涡虫和细形涡虫的适宜处理温度为 $12-13^\circ\text{C}$,三角头涡虫为 $16 \pm 2^\circ\text{C}$,这与其在自然界的栖息环境有关。