

蜉蝣目昆虫染色体制备方法探讨*

孙红英 张锡然 苏翠荣 谢小燕 王进 高峰

(南京师范大学生物系 南京 210097)

摘要 本文对蜉蝣目昆虫染色体制备方法进行了探讨。以蜉蝣稚虫为材料,经秋水仙素水溶液体外培养,采用显微操作技术,结合空气干燥法,可以获得形态良好、分散适中、着色清晰的生殖细胞染色体,为蜉蝣目昆虫细胞遗传学研究提供了一种简便有效的方法。

关键词 蜉蝣目染色体 制备方法

蜉蝣是一类原始而古老的昆虫。其稚虫生活在水域,是鱼类的饵料。同时也是底栖水生昆虫的重要组成部分,在水质监测和环境评价中具有一定意义^[1]。

近年来,昆虫细胞遗传学的研究,特别是与蜉蝣目相近的另一类古老水生昆虫,蜻蜓目昆虫的细胞遗传学研究发展较快,已深入到种群研究水平^[2,3]。但是,有关蜉蝣目昆虫细胞遗传学研究仍不多见。国外仅对少数种类进行过染色体分析^[4,5],国内至今未见有报道。这与蜉蝣个体比较小,染色体制备困难有一定关系。作者于1995年4月至1996年6月对蜉蝣目昆虫染色体制备方法进行了探讨,针对其体形较小,实验材料量少的特点,采用显微操作技术,对空气干燥进行了改进,获得了良好的结果。现将我们的研究方法和结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

采集蜉蝣稚虫作材料,放入静水容器中饲养,用充氧器充氧。

1.2 方法

1.2.1 预处理和取材 将实验用稚虫置于0.025%秋水仙素水溶液中,室温下预处理时间分别为12小时、18小时和24小时,分成3组实验。取上述稚虫置于实体显微镜下,依据复眼与尾铗特征判断性别。通常,雄虫复眼较大、两眼紧靠,腹部后方常有一对短的尾铗,易

与雌虫区别。取材时,将稚虫腹面朝上,去除头部,用解剖针按住胸部末端,另取一针压住腹部后段,顺势向后轻拉,可见肠管及其两侧生殖腺被一同拉出,再用解剖针将生殖腺分离。

1.2.2 显微操作方法 将生殖腺移至滴有低渗溶液的载玻片上,置于显微镜下。用解剖针将组织块尽量分散,并用毛细吸管轻轻吹打,使之成细胞悬液。低渗处理分成6组实验,低渗溶液使用0.4% KCl溶液和蒸馏水两种溶液,处理时间分别为30分钟、40分钟和50分钟。操作时,及时补充低渗溶液,以免材料干燥。然后,再用毛细吸管将上述细胞移入新鲜配制的甲醇、冰醋酸(3:1)固定液,分别固定处理30分钟和60分钟,每隔10分钟更换1次固定液。

1.2.3 空气干燥法制片 取预先制冷的洁净载玻片,用毛细吸管吸取细胞悬液滴片,将玻片迅速在酒精火焰上过几下,倾斜置于避尘处晾干保存。染色,用稀释10倍的Giemsa(pH6.6~6.8)扣染30~40分钟,蒸馏水冲去多余染液,空气干燥。

2 结果

将上述制得的标本置于显微镜下观察。从细胞分散度、染色体分散度、染色体形态等方面进行比较,结果确定。用秋水仙素水溶液

* 学校青年科学基金资助 A21071;

第一作者简介:孙红英,女,33岁,讲师,硕士;

收稿日期:1996-12-18,修回日期:1997-02-28

(0.025%)预处理 18 小时,采用显微操作技术,经蒸馏水低渗 40 分钟,甲醇、冰醋酸(3:1)固定液固定 60 分钟,获得的生殖细胞染色体形态清晰,分散良好(见图 1)。其中,染色体染成紫红色,胞浆不着色。



图 1 蜉蝣减数分裂中期 I 染色体
($\times 1000$)

3 讨论

蜉蝣目昆虫染色体制备,已有的方法多采用乳酸-醋酸地衣红压片法^[5]。随着染色体技术的发展,空气干燥法制片已成为多数动物染色体制备的常规方法。但是,对体型较小的昆虫,由于取材和制备技术的限制,这一方法仍未得到很好地推广。本文应用显微操作技术,对空气干燥法进行了改进,使之适用于小形蜉蝣目昆虫染色体制备,获得了良好的结果。

使用秋水仙素水溶液对材料进行预处理,与单纯的水培养相比较,可以获得较多的中期分裂相。但是,秋水仙素使用量过大或处理时间过长,会引起染色体过分收缩,难以显示正常的染色体形态和精细结构。蜉蝣稚虫在 0.025% 秋水仙素水溶液中预处理 18 小时,效果较佳。

低渗处理除了有胀大细胞的作用之外,还能够破坏染色体之间的某种联系,促使染色体分散。低渗过度,会引起细胞破裂、染色体丢失,或者造成染色体边缘模糊发毛;而低渗不足,染色体可能分散不良,造成彼此重叠,无法分辨。如将蜉蝣生殖细胞用蒸馏水低渗处理 40 分钟,效果较好。

用甲醇和冰醋酸(3:1)固定,不仅能抽走染色体上的大量蛋白质,特别是组蛋白,而且能清除细胞悬液中的碎片和蛋白质,使制片背景清洁。蜉蝣生殖细胞固定处理 60 分钟,采用移细胞法更换固定液,使固定液保持新鲜,可以获得良好的效果。

近年来,生殖细胞染色体的研究日益受到重视。一方面,根据染色体的某些变化可以分析环境因子对生殖细胞的影响。同时,还能进行一系列细胞遗传学方面的研究,为系统分类研究提供依据。蜉蝣生殖细胞染色体制备方法的改进,无疑为这一领域的研究提供了有效的手段。

参 考 文 献

- 1 尤大寿,归 鸿. 中国经济昆虫志(第四十八册)蜉蝣目. 北京:科学出版社,1991.
- 2 Agopian, S. S., L. M. Mola. Intra and interspecific karyotype variability in five species of Libellulidae (Anisoptera: Odonata). *Caryologia*, 1988, 41(1):69~78.
- 3 Zhu H. Q., J. I. Wu. Notes on the male germ cell karyotypes of some Odonata from the Shanxi province, China. *Notul. Odonatol.*, 1986, 2(7):118~120.
- 4 Katayama, H. The sex chromosomes of a mayfly, *Ameletus Costalis* Mats. (Ephemera). *Jap. J. Genet.*, 1939, 15(3): 139~144.
- 5 Kiauta, O., A. W. M. Mol. Behaviour of the spermatocyte chromosomes of the mayfly; *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761)s.l. (Ephemeroptera: Baetidae), with a note on the cytology of the order. *Genen Phaenen*, 1977, 19(2/3):31~39.