

植物多倍体诱导与鉴定

一、实验目的

- 通过各组选择材料并进行多倍体诱导与鉴定的设计，训练团队合作意识、提高查阅文献和综合运用所学知识与技术撰写试验设计的能力；
- 了解人工诱导多倍体的原理；
- 初步掌握诱发植物多倍体的一般方法及细胞学鉴定。

二、实验原理

各种生物染色体的数目、形态和结构都是恒定的。细胞内含有3套及3套以上染色体数目的生物称为多倍体；

多倍体**诱导**方法：物理方法：温度剧变、机械损伤、各种射线处理等。

化学方法：各种植物碱、麻醉剂、植物生长激素等

物理方法：温度剧变、机械损伤、各种射线；

化学方法：植物碱、麻醉剂、植物生长激素；

使用最广泛、效果最好：秋水仙素。

二、实验原理

秋水仙素：

- 秋水仙素是百合科植物秋水仙的根、种子等器官中提炼出的一种植物碱；
- 具麻醉作用，性极毒，易溶于酒精、氯仿、甲醛和冷水中，不易溶解于乙醚、苯中；
- 在细胞分裂时抑制纺锤体的形成，姐妹染色单体分裂为二，不能拉向两极，不能形成2个子核；
- 抑制细胞板的形成，染色体加倍的细胞继续分裂，就形成多倍性的组织。

二、实验原理

秋水仙素：

常用的有效浓度为0.01–1.0% ；

木本植物采用的浓度相对较高，可达1.5% ；

草本或幼嫩材料等适用的浓度则较低，一般不超过0.5% 。

处理方法：水溶液浸渍、涂抹或点滴植物的分生组织。

二、实验原理

多倍体**鉴定**方法：

二倍体材料经处理后，一些加倍成为多倍体，一些未能加倍依然为二倍体，还有一些为混倍体。

间接鉴定：观察气孔的大小和花粉粒的体积等（形态学鉴定）。

直接鉴定：检查花粉母细胞或根尖细胞内的染色体数目（细胞学鉴定）。

三、实验材料、仪器用具、试剂

- 实验材料：玉米、蚕豆、豌豆、大葱、大蒜、洋葱
- 仪器：生化培养箱、恒温水浴锅、显微镜、电脑、烤片机
- 用具：培养皿，镊子，刀片，解剖针，载玻片，盖玻片，滤纸，滴瓶，指管，试管夹（架），洗瓶，铅笔、橡皮等；
- 试剂：1mol/L HCl，1%醋酸洋红，蒸馏水，1%秋水仙碱母液等。

四、实验步骤

- 实验设计：选择实验材料并进行多倍体诱导与鉴定的设计；
- 材料培养、多倍体诱导：

根据实验设计，待根尖长至2-3cm，在不同秋水仙素浓度下，进行多倍体诱导，并设置清水培养为对照，诱导24-48h；

四、实验步骤

- 多倍体鉴定：

（注：若自己的材料诱导失败，则选用其他组多余的材料进行鉴定）

形态学鉴定：

（1）根尖膨大对比：

观察不同浓度下，根尖的形态，多倍体的根尖较二倍体根尖膨大的对比，拍照记录：

四、实验步骤

- 多倍体鉴定：

（注：若自己的材料诱导失败，则选用其他组多余的材料进行鉴定）

形态学鉴定：

（2）统计不同浓度下根尖膨大率：

$$\text{根尖膨大率} = \frac{\text{膨大根尖数}}{\text{诱导总根尖数}} \times 100\%$$

四、实验步骤

- 多倍体鉴定：

（注：若自己的材料诱导失败，则选用其他组多余的材料进行鉴定）

细胞学鉴定：

（1）根尖分生组织细胞大小对比：

观察不同浓度下，根尖分生组织细胞大小并对比，拍照记录；

四、实验步骤

- 多倍体鉴定：

（注：若自己的材料诱导失败，则选用其他组多余的材料进行鉴定）

细胞学鉴定：

（2）不同浓度下细胞染色体数目对比：

切下根尖→解离8分钟→将HCl洗净→十字压片→醋酸洋红染色3-5分钟→盖片观察。（每个浓度的根尖分别取下放入不同的试管中）

五、作业

1. 每组完成实验设计，并进行材料培养及多倍体诱导；
2. 根据材料实际情况进行多倍体的鉴定；
3. 比较不同浓度下根尖膨大情况，拍照及计算膨大率；
4. 比较不同浓度下根尖分生组织细胞大小、染色体数目多少，拍照或画图并标注浓度、细胞分裂时期；

五、作业

5 .总结并分析多倍体诱导与鉴定实验设计、结果。

- (1) 实验设计是否合理；
- (2) 材料培养、诱导情况；
- (3) 鉴定时操作是否存在问题；
- (4) 不同秋水仙素浓度处理下，各个分裂期染色体数目的变化情况；
- (5) 诱导效果总结（哪个浓度更合适等）；