Vol. 27 No. 2

动物科学

DOI 10.3969/J. ISSN. 1672-6693.2010.02.006

东亚飞蝗染色体的减数分裂观察

陶红梅,蔡志华,何正波,曹 锴,吴学芳 (重庆师范大学生命科学学院,重庆400047)

摘要:考查分析了东亚飞蝗精巢细胞减数分裂各主要时期的特征及分裂高峰期,为昆虫染色体结构、功能及进化研究提供标本材料,为蝗虫染色体的后续研究奠定了基础,也为生物遗传实验教学提供一种简单易行的方法。本实验采用每只活体注射0.04%秋水仙素0.1 mL、细胞悬液滴片的方法,对东亚飞蝗的精巢细胞进行染色体制片。实验观察到东亚飞蝗精巢细胞减数分裂 I、II 各主要时相的鲜明特征,双线期同源染色体的四分体结构明显,浓缩期染色体形状多种 8 月中旬是制作东亚飞蝗减数分裂标本的最佳时期。

关键词:东亚飞蝗 染色体:减数分裂

中图分类号 :Q253

文献标识码:A

文章编号:1672-6693(2010)02-0020-03

东亚飞蝗 Locusta migratoria manilensis(Meyen),属于直翅目 Orthoptera ,蝗总科 Acridoidea ,斑翅蝗科 Oedipodidae ,飞蝗属 Locusta Linnaeus ,是一种洲际性农业重大害虫 $^{[1]}$ 。东亚飞蝗染色体数目较少(雄性 2n=23 ,XO ,雌性 2n=24 ,XX) ,且染色体较大 ,易于观察。因此 ,常利用雄性蝗虫的精巢压片法制作减数分裂时相观察的标本 $^{[24]}$ 。蝗虫属于变温动物 ,常常有其适宜的生长繁殖温度 ,其繁殖时期往往受季节、温度、湿度的影响 $^{[5]}$,要获取较多的减数分裂各时期的观察时相和干净清晰的标本就较为困难。本文采用东亚飞蝗精巢细胞悬液滴片法 ,清晰地观察了精巢染色体减数分裂的过程 ,获得干净清晰的减数分裂各时期较多细胞的标本 ,并对标本的制作进行初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

东亚飞蝗由重庆师范大学重庆市高校动物生物 学重点实验室提供。

1.2 方法

按照朱蔚云^[6]等的方法改进 取性成熟期的雄性 蝗虫 ,每只活体注射 0.04% 秋水仙素 0.1 mL $4\sim6$ h 后解剖 取出精巢放入 37 $^{\circ}$ 预温的0.037 5 mol/L的 KCl 溶液中低渗 30 min ,转至甲醇: 冰乙酸 = 3:1 的固定液中固定 $8\sim12$ h ,待精巢发白后 ,用解剖针挑

破精小管,使细胞溢出,转至离心管用新鲜固定液固定30 min,1000 r/min,离心10 min,弃上清,重复固定3次,滴片,空气干燥。在相差显微镜下观察,选取分裂相良好的制片用1:10 Giemsa 染液(pH 6.8)染色,晾干。Nikon显微镜下观察,拍照。

2 结果与分析

2.1 减数分裂 I

前期 I 细线期(图 1A):第一次分裂开始,染色 质浓缩为几条细而长的细线。每一染色体已经复制为 2 个单体,但在显微镜下还看不出染色体的双重性。偶线期(图 1B):又称配对期,细胞内的同源染色体两两侧面紧密相进行配对,这一现象称作联会。由于配对的一对同源染色体中有 4 条染色单体,和四分体。粗线期(图 1C):同源染色体配对完毕,这种配对的染色体叫双价体,每个双价体含有 4 个染色单体,但仅有两个着丝粒。染色体继续凝缩变短变粗。双线期(图 1D,箭头示交叉):配对的同源染色体开始分离。由于同源染色单体间发生过交换,而出现同源染色单体间的交叉现象。染色体螺旋化程度加深。浓缩期(图 1E):又叫终变期,交叉向染色体端部移动,交叉数减少,使染色体形成各种不同的形状,如" V"、" 8"、" X"、" O"、" +"等。

^{*} 收稿日期 2009-03-05 修回日期 2009-06-25 资助项目 国家自然科学基金(No. 30700435)

中期 I(81F) 各个双价体排列在赤道上,纺锤体形成,两个同源染色体上的着丝粒逐渐远离。双价体开始分离。染色体数仍为 2n,但每一染色体含有2 个染色单体。

后期 I(81G) 两条同源染色体分开,分别向两极移动。每一染色体有一着丝粒,带着两个染色单体。每一极得到n条染色体。染色体数已经减半。

末期 I 染色体解凝缩 ,又呈丝状 ,核膜形成 ,胞质分裂 ,成为二个子细胞。

间期(图1H)在第二次分裂开始以前 2 个子细胞进入间期。但有的动物不经过末期和间期 ,直接进入第二次减数分裂的晚前期。

2.2 减数分裂 Ⅱ

中期 II(81I) 染色体排列在赤道面上,每个染色体含一个着丝粒,两条染色单体。两条姊妹染色单体开始分离。此时细胞的染色体数为n,每一染色体有两条染色单体。

后期 II(图 $1J \sim K$) 两条姊妹染色单体分离 移向两极 ,每极含 n 条染色体。

末期II(图 1L)染色体逐渐解凝缩,变为细丝状,核膜重建 核仁重新形成。胞质分裂,各成为两个子细胞,减数分裂结束。因为细胞经过两次分裂,而染色体只经过一次复制,所以一个细胞经减数分裂形成4个子细胞,每个子细胞中只有,2个染色体。

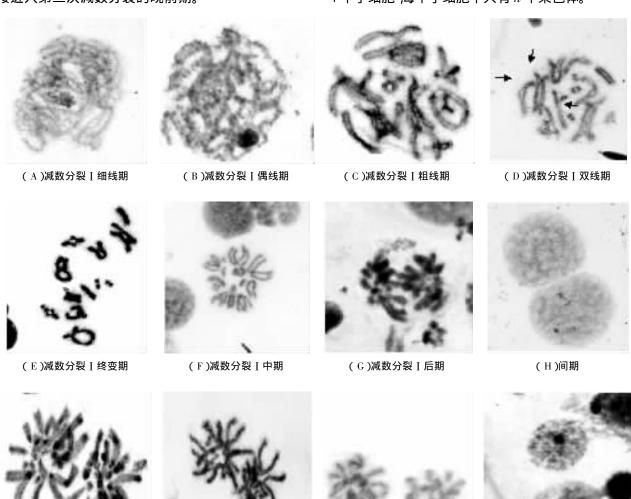


Fig. 1 Process of chromosome meiosis of L. Migratoria Manilensis

图 1 东亚飞蝗染色体减数分裂过程

(K)减数分裂Ⅱ后期

3 讨论

(Ⅰ)减数分裂Ⅱ中期

东亚飞蝗染色体数目较少 ,染色体较大 ,易于观

(Ⅰ)减数分裂Ⅱ后期

察。为了能制出清晰度高,分裂相多的片子,掌握取材的时间十分重要,过早精巢尚未发育成熟,过晚则分裂相少,脂肪多影响观察。Browder 认为^[7]在某些

(L)减数分裂 II 末期

化学因素刺激下,可以促进减数分裂过程的完成。 谷晓明^[8]认为选用虫龄较小个体精巢,处于有丝分裂的精原细胞较多。龚玉新^[2]则认为每年的5~ 8月为捕捉蝗虫的最佳时间。本文经过多次实验, 得出8月中旬为捕捉最佳时间。这与陈娟^[3]认为在 8月15至8月20日之间为最佳的结果一致。因此, 本文认为东亚飞蝗繁殖旺盛时期是制作减数分裂标 本的最佳时期。

通常观察蝗虫减数分裂过程采用常规压片法^[24]脂肪剔除不干净,制片杂质较多。本实验采用活体注射秋水仙素(Colchicine,COL)細胞悬液滴片法,空气干燥,观察了精巢染色体的减数分裂过程。该法有利于染色体的分散,获得的制片干净、图像清晰,是研究蝗虫染色体的好方法,为蝗虫的后续研究奠定基础;同时为生物学本科遗传学教学实验提供一种简便有效的实验方法,也可作为中学生物的教学参考。

参考文献:

- [1]李春选,马恩波.飞蝗研究进展[J]. 昆虫知识,2003,40 (1)24-29.
- [2] 龚玉新 吴丹丹. 蝗虫的减数分裂观察 J]. 生物学通报, 2008 A(43) 56-58.
- [3] 陈娟. 蝗虫精巢减数分裂的制片与观察 J]. 中国科技信息 2006 23:182-183.
- [4]徐连城 杨保谦. 蝗虫精母细胞染色体制片法[J]. 实验技术与方法 ,1986 £(2) 8.
- [5]朱恩林. 中国东亚飞蝗发生与治理 M]. 北京:中国农业出版社,1999.
- [6]朱蔚云 梁敏仪. 蝗虫减数分裂的实验[J]. 生物学杂志, 2003, 20(2), 50-52.
- [7] Browder L W , Erickson C A , Jeffery W R. Developmental Biology M]. 3rd ed. Philadelphia : Saunders College Publishing , 1999 54-124.
- [8] 谷晓明,姚世鸿. 日本黄脊蝗的核型和 C 一带带型[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版),1995,13(4):10-14.

Animal Sciences

Observation of Chromosome Meiosis of Locusta Migratoria Manilensis

TAO Hong-mei , CAI Zhi-hua , HE Zheng-bo , CAO Kai , WU Xue-fang (College of Life Science , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China)

Abstract: Experimental observation of the meiotic process is one of the main contents in the teaching of genetics. To study the structure, function and evolution of insect chromosome, and to get more clean division phase samples, the division peak time and character of spermary cell meiosis phases of *Locusta migratoria manilensis* are analyzed. In this paper spermary cell chromosome specimen of *L. migratoria manilensis* is prepared by injecting colchicine (0.04%, 0.1 mL each)into living locust, and made the spermary to cell suspension, then dripped the suspension on slide, observed the meiotic process of chromosome clear by. The experiment indicates that it was an effective way of chromosome dispersion. In order to obtain more divided, clean and clear sample, the distinct character of spermary chromosome in different division phase is observed, the best time to make spermary chromosome samples of *L. migratoria manilensi* is the middle of August. It has laid a foundation to further study of grasshopper chromosome. At the same time, it offers a simple and easy experimental method for the genetics experiment teaching, and a teaching reference for school biology.

Key words: Locusta migratoria manilensis; chromosome; meiosis

(责任编辑 欧红叶)