

# 利用小麦茎尖分生组织进行染色体制片的探讨

李小军, 胡铁柱, 李 淦, 董 娜, 冯素伟, 姜小玲, 茹振钢\*

(河南科技学院, 河南 新乡 453003)

**摘要:** 以不同倍性染色体小麦种质为材料, 探讨通过生长点分生组织进行染色体制片, 获得理想染色体图形的方法。结果表明, 自然条件下, 上午 9:00—10:00, 切取幼苗基部分蘖节约 2 cm, 剥离茎外部组织, 立即放入有冰水混合物的试管中, 试管在 0~1℃ 冰水中处理 24~30 h, 之后将茎尖组织转入装有卡诺氏固定液(95%酒精:冰醋酸=3:1)的试管, 固定 3 d 后转入 70%酒精中。与根尖制片相比较, 取上述预处理后的茎尖分生组织进行染色体制片, 能获得分散良好、形态特征清晰的染色体图像, 但总体来看, 根尖制片获得更为清晰染色体背景的几率更高。茎尖制片可以作为常规根尖染色体制片方法的有益补充。

**关键词:** 小麦; 茎尖; 根尖; 染色体制片

**中图分类号:** S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)09-0018-03

## A Method to Observe Chromosomes with Wheat Stem Tip Meristem

LI Xiao-jun, HU Tie-zhu, LI Gan, DONG Na, FENG Su-wei,  
JIANG Xiao-ling, RU Zhen-gang\*

(Henan Institute of Sciences and Technology, Xinxiang 453003, China)

**Abstract:** The observation of chromosomes in plant cells is a foundation to study cytology. This study explored the method to get a clear image of chromosomes using stem tip meristems of different wheat germplasms with various chromosomal ploidy. The stem tip meristems about 2 cm long at the seedling stage were pretreated in ice water mixture at 9:00—10:00 for 24—30 h at 0—1℃, and then they were switched into ethanol-acetic acid fixative (3 : 1) for three days. Finally, the materials were conserved in 70% ethanol. In this method to prepare samples, chromosomes with good dispersion and clear morphological characters could be observed. However, the success rate to obtain clear chromosome images was generally lower, compared with chromosome preparation method using root tip tissues. Therefore, the chromosome preparation method with stem tips could a useful complement to the method with root tips.

**Key words:** Wheat; Stem tip; Root tip; Chromosomal preparation

植物细胞染色体观察是分析染色体遗传行为及细胞变异等遗传学现象的基础。以往作为简便的染色体制片技术, 利用根尖压片是常用的方法。但对于一些多年生草本、木本或长期无性繁殖的植物, 及人工合成种的不稳定群体、远缘杂交后代的分离群体, 在根尖取材分析困难的情况下, 利用植株分蘖的

茎尖及其他分生组织进行染色体制片非常必要。

朱至清等<sup>[1]</sup>以大麦与普通小麦杂种一代的幼穗为材料, 得到了可以不断分化小植株的愈伤组织, 进一步采用试管苗的茎尖进行染色体制片对再生植株的染色体进行观察, 发现部分植株的体细胞发生染色体缺失、混倍体和染色体断裂现象。杨晓伶等<sup>[2]</sup>

收稿日期: 2011-04-13

基金项目: 河南省重大科技专项(081100110503)

作者简介: 李小军(1977-), 男, 陕西西安人, 讲师, 博士, 主要从事细胞遗传学研究。E-mail: lxj227@yahoo.com.cn

\* 通讯作者: 茹振钢(1958-), 男, 河南沁阳人, 教授, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: rzgh58@sohu.com

对柑橘的体细胞染色体和花粉母细胞染色体制片方法进行的研究,开发了利用幼叶进行体细胞染色体制片技术。齐秀玲等<sup>[3]</sup>比较了利用草莓根尖、茎尖和嫩叶等不同部位进行取材的染色体数目观察,发现取材部位以根尖效果最好。唐历波等<sup>[4]</sup>应用改良去壁低渗法对白木香茎尖的染色体标本制备进行了探讨,比较了不同预处理方法及预处理时间对制片效果的影响,并首次确定了白木香的染色体数目为16条。然而,关于小麦这方面的报道较少。鉴此,本研究以不同倍性染色体小麦种质为材料,旨在探讨通过生长点分生组织进行染色体制片,获得理想的染色体图形的方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

普通小麦品种百农矮抗58和周麦18( $2n=6x=42$ )、黑麦( $2n=2x=14$ )及八倍体小偃麦远中3号( $2n=8x=56$ ),均由河南科技学院小麦育种中心保存。

### 1.2 试验方法

1.2.1 茎尖分生组织的细胞学观察 所有材料均于2009年10月初播种于河南科技学院试验田,当生长至3~4个分蘖时,于上午9:00—10:00剪取幼苗基部分蘖节约2cm,迅速剥离茎外部组织,将含有幼苗生长点的小段组织进行以下2种不同预处理:(1)立即置于装有卡诺氏固定液(95%酒精:冰醋酸=3:1)的试管中,固定3d,4℃冰箱中存放,之后转入70%酒精中保存;(2)立即放入冰水混合物试管中,冷处理24~30h,再置于卡诺氏固定液(95%乙醇:冰醋酸=3:1)的试管中,固定3d,4℃冰箱中存放,之后转入70%酒精中保存。

1.2.2 根尖的细胞学观察 根尖的取样参考Wu等<sup>[5]</sup>的方法。

1.2.3 茎尖与根尖的染色体制备 将含有幼苗生长点的小段植物组织从酒精中取出,剥出茎尖置于

载玻片上,切取一薄片分生组织,滴少量45%的醋酸,盖上玻片,盖玻片的一侧垫一薄刀片,用镊子的基部将材料充分压碎,轻敲,使其分散均匀。之后抽去刀片,将载玻片置酒精灯上烘烤至微热,在载玻片上加吸水纸,用大拇指压片即可。将处理后的根尖切去根冠后采用上述相同的压片方法。最后用OLYMPUS相差显微镜镜检、拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 取材时间及不同预处理方法对染色体观察效果的影响

先以普通小麦品种百农矮抗58为材料,对不同的预处理方法进行了比较,结果发现,采用茎尖分生组织进行染色体制片时,在9:00—10:00取样,获得的制片分裂相相对较多,效果较好,成功率高。所以,一般采用的方法是第1天中午给待取样的材料浇水后,第2天早上取材。试验中也发现,取样时外界温度不能过低,否则由于植物生长接近于停滞,分裂细胞明显减少,制片成功率低。

茎尖组织取材后,采用2种不同的预处理方法对小麦品种百农矮抗58进行染色体制片发现,先经过冰水混合物预处理的染色体收缩相对较好,染色体较短,更利于计数。同时也发现,适当延长冰水处理时间,有利于使染色体形态进一步缩短。

### 2.2 根尖与茎尖制片效果比较

利用根尖制片法对普通小麦品种百农矮抗58进行染色体制片,显微镜观察发现,制片效果较好,染色体分裂相多、形态特征清晰,该品种的染色体数目为42条(图1-1)。经过反复试验表明,与根尖染色体制片效果比较,利用茎尖进行制片也能得到图像清晰、分散良好的染色体标本,可用于下一步的研究分析(图1-2)。但总体来看,根尖制片获得更为清晰染色体背景的几率更高。这可能与茎尖分生组织受到的不同非分生细胞或贮藏物或分泌物的干扰较大有关。

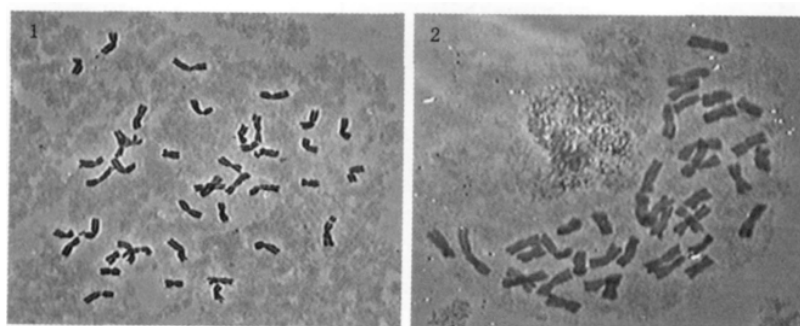
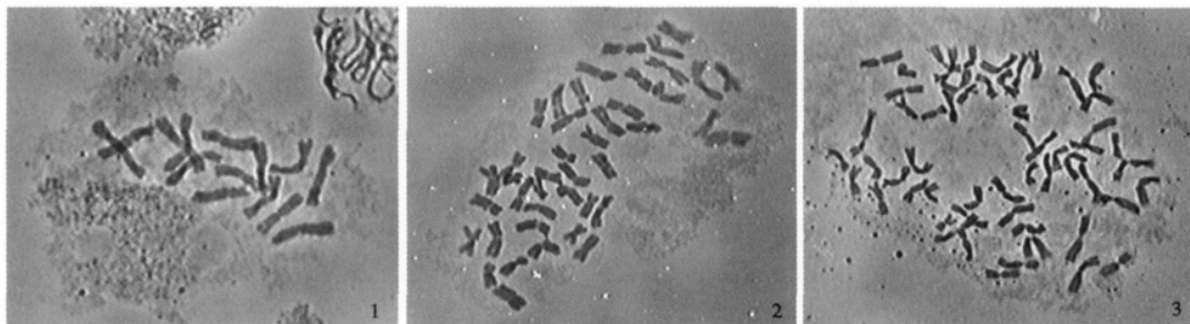


图1 小麦品种百农矮抗58( $2n=6x=42$ )利用根尖(1)和茎尖(2)的染色体制片效果

### 2.3 利用茎尖制片对不同倍性材料的细胞学观察

利用茎尖为材料进行染色体制片,进一步对普通小麦品种周麦 18( $2n=6x=42$ )、黑麦( $2n=2x=14$ )及八倍体小偃麦远中 3 号( $2n=8x=56$ )进行了

细胞学观察(图 2),结果发现,这些品种在同一张制片上均可以获得清晰、染色体形态完整均一、分散良好的染色体图像。表明利用茎尖为材料进行染色体制片也是一种开展细胞学研究的有效方法。



1. 黑麦( $2n=2x=14$ ); 2. 周麦 18( $2n=6x=42$ ); 3. 远中 3 号( $2n=8x=56$ )

图 2 不同倍性小麦品种利用茎尖分生组织制片的染色体数目

### 3 讨论

高等植物有丝分裂主要发生在根尖、茎尖生长点及幼叶等器官的分生组织,这些分生组织均可以用作制片材料。但在具体实践中,常因取材不当而导致失败。由于种子萌发后的幼嫩根尖细胞生长旺盛,分生组织活跃,制片干扰因素少,所以,以往的相关研究都是利用根尖为主要材料进行染色体制片,例如小麦<sup>[5]</sup>和玉米<sup>[6]</sup>。但与传统的根尖材料相比,利用茎尖生长点及幼叶等分生组织进行染色体制片,具有取材方便、来源充足等优点,这方面前人已做了大量研究,并相继取得成功,例如大麦<sup>[1]</sup>、柑橘<sup>[2]</sup>、草莓<sup>[3]</sup>、白木香<sup>[4]</sup>和杜仲<sup>[7]</sup>。同样,本研究参考小麦根尖的预处理过程,利用小麦茎尖生长点进行染色体制片,对不同倍性小麦种质的染色体组成进行了观察,均可得到伸展、分散良好、清晰可靠的染色体图像。所以,该方法可以作为常规根尖染色体制片方法的有益补充。

杨晓伶等<sup>[2]</sup>利用幼叶制片对柑橘的体细胞染色体观察发现,选用伸展到 3~5 mm 长的幼叶制片效果最好,认为此时为细胞分裂的旺盛期,如果叶片过大则因处于分裂期的细胞减少而影响制片效果。齐秀玲等<sup>[3]</sup>研究发现,草莓根长 1.5~2.5 cm 时,细胞分裂指数最高,取材最适宜。本研究利用小麦茎尖分生组织制片同样发现,9:00—10:00 取材制片成

功率相对较高,这可能是由于上午植物生长较快、细胞分裂旺盛的缘故。当然,本研究仅选用大田生长环境条件下,具有 3~4 个分蘖的植株幼苗进行了制片观察,而对于小麦其他发育时期取材对制片效果的影响有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 朱至清,孙敬三,王玉秀,等. 大麦和普通小麦杂种再生植株的形态和染色体变化[J]. 遗传学报,1985,12(6): 430-433.
- [2] 杨晓伶,程舟. 柑橘类植物染色体制片新技术[J]. 同济大学学报:自然科学版,2005,33(2):242-244.
- [3] 齐秀玲,郭二辉,王会民. 不同制片方法对草莓染色体观察效果的影响[J]. 山西果树,2007(5):12-15.
- [4] 唐历波,陈平,张鉴诚,等. 白木香染色体制片方法的研究[J]. 海南大学学报:自然科学版,2009,27(2):144-146.
- [5] Wu J, Yang X, Wang H, et al. The introgression of chromosome 6P specifying for increased numbers of orets and kernels from *Agropyron cristatum* into wheat[J]. Theor Appl Genet,2006,114:13-20.
- [6] Lamb J C, Meyer J M, Corcoran B, et al. Distinct chromosomal distributions of highly repetitive sequences in maize[J]. Chromosome Research,2007,15:33-49.
- [7] 张海凤,郭宝林,张成合,等. 杜仲四倍体的诱导与鉴定[J]. 园艺学报,2008,35(7):1047-1052.