

用子房整体透明法和微分干涉差显微镜 研究水稻的胚胎发育

赵世绪 杜中 凌祖铭

(北京农业大学生物学院, 北京 100094)

The Use of a Whole Clearing Technique and Differential Interference Contrast Microscope for Study on Embryology of Rice

Zhao Shixu Du Zhong Ling Zuming

(Biology College of Beijing Agricultural University, Beijing 100094)

水稻的胚囊处于胚珠组织的包围之中, 外面还有子房壁, 以往观察子房都是用切片的方法。切片制作的过程相当繁杂, 并且需要掌握熟练的染色技术。根据连续切片来建立立体概念也需要经验。为了寻找观察胚囊结构的简便方法, 人们曾提出过胚珠水解压片法、整体解剖法、酶分离法等, 但也需要精细的手工操作, 并且不能保证每个子房或胚珠都可获得其中的胚囊。整体透明是个比较好的方法, Herr⁽²⁾ 采用胚珠整体透明法在相差和干涉显微镜下观察一些植物的大孢子母细胞、大孢子和早期的胚囊; Young⁽⁴⁾ 用此法鉴定 *buffelgrass* 的无融合生殖过程; Stelly⁽³⁾ 和杨弘远⁽¹⁾ 用整体透明法结合用 Mayer's hemalum 或 Ehrlich's hematoxylin 染色法在普通显微镜下观察了烟草的胚珠和水稻子房中的胚囊结构。但是, 他们所采用的染色方法中, 染色时间因材料大小而异, 比较难掌握, 并且因子房的其它部分也着色, 因此, 胚囊中结构图象不够清晰。

我们将水稻子房脱水后用水杨酸甲酯透明, 直接在微分干涉差显微镜下观察水稻胚胎发育过程, 从所得结果来看, 此方法比较简便, 是可以推广应用的。

去雄授粉 10 小时左右的子房, 正开花和开花后 1—5 天的粳稻 461 品系子房用 95% 乙醇和醋酸(3:1)固定 24 小时后, 换入 70% 乙醇保存。材料(子房)用 95% 乙醇脱水 10 分钟, 再用 100% 乙醇脱水 3 次, 每次 10 分钟, 最后一次过夜。换水杨酸甲酯和 100% 乙醇混合液(1:1)透明 1 小时以上, 再用水杨酸甲酯透明 3 次, 每次 1 小时以上, 最后一次放置 24 小时以上。将子房放在凹玻片上, 浸泡在水杨酸甲酯中在 Olympus 微分干涉差显微镜下观察。

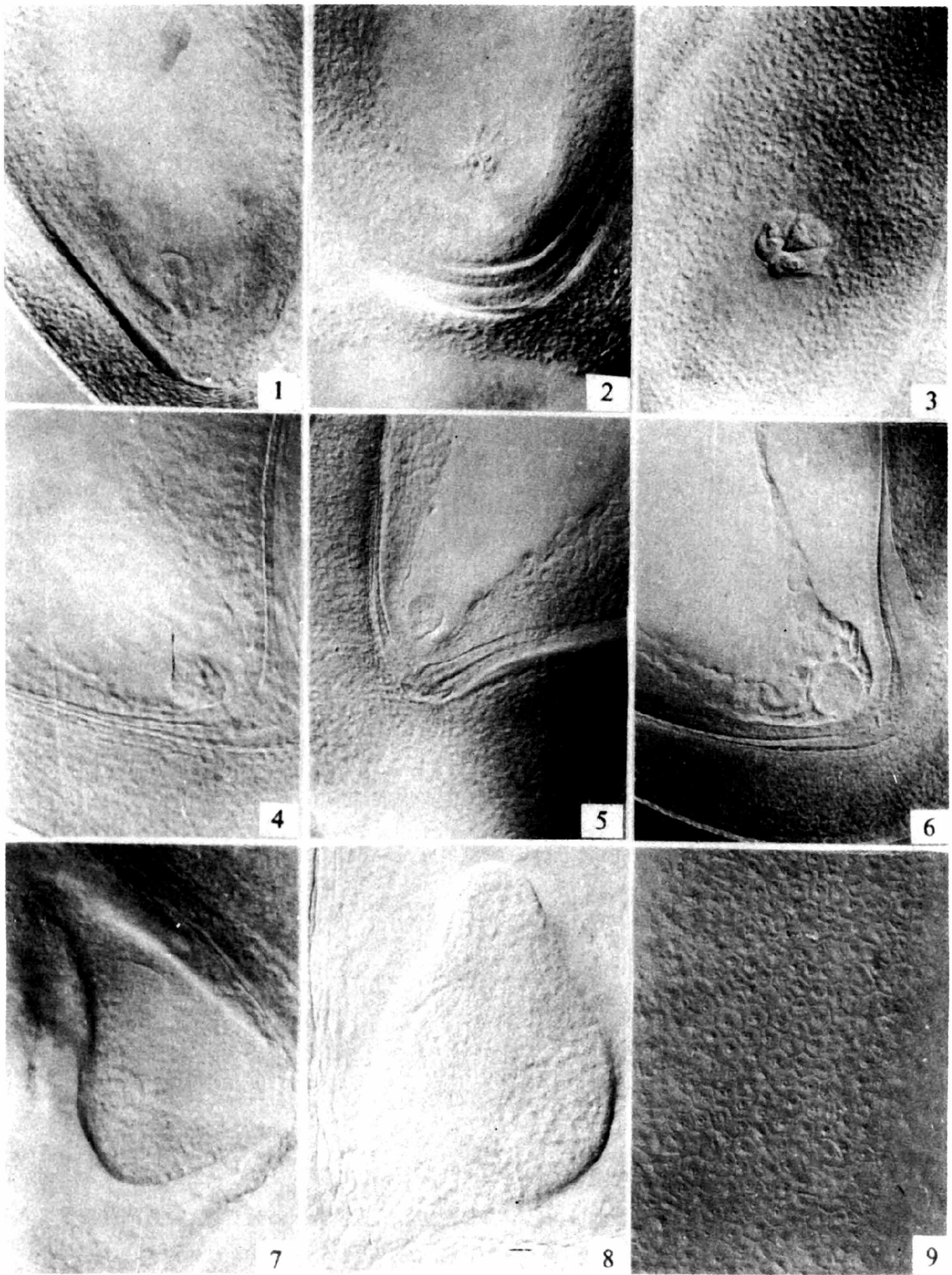
微分干涉差显微镜要求焦距很细微, 因所观察的子房是整体的、立体的, 卵细胞与助细胞、极核与反足细胞若不在一个平面上, 则一般较少看到, 但调焦后可分别看到。虽然在此显微镜下看到的物体景象可能不如切片染色后反差那样清晰, 但是立体感和真实感强。图版 I 显示水稻胚囊结构及胚胎发育不同时期的景象。

我们体会到, 此法在研究水稻胚胎发育及鉴定无融合生殖的发生过程方面甚为方便。

参 考 文 献

- [1] 杨弘远: 1986. 植物学报, 28(6): 575-581.
- [2] Herr, J. M. et al.: 1982. *Stain Technol.*, 57: 161-169.
- [3] Stelly, D. M. et al.: 1984. *Stain Technol.*, 59: 155-161.
- [4] Young, B. A.: 1970. *Can. J. Bot.*, 57: 1668-1672.

本文于 1992 年 6 月 12 日收到。



所有照片均为珠孔端朝下, 合点端朝上排列. 水稻子房整体透明

1. 正开花的子房, 示卵细胞与助细胞. $\times 50$; 2. 示极核. $\times 50$; 3. 示反足细胞. $\times 50$; 4. 授粉后 10 小时子房, 示合子及胚乳游离核. $\times 50$; 5. 开花后一天的子房, 示幼胚. $\times 50$; 6. 开花后 2—3 天的子房, 示幼胚及其周围的胚乳细胞. $\times 50$; 7. 开花后 4 天的子房, 示幼胚. $\times 50$; 8. 开花后 5 天的子房, 示开始分化的胚. $\times 50$; 9. 开花后 5 天的子房, 示胚乳细胞. $\times 50$.