

用水解压片法研究青海马先蒿 的原胚发育过程*

沈颂东 李 毅

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

张小红

(青海畜牧兽医学院基础部, 西宁 810003)

HYDROLYSIS SQUASH TECHNIQUE FOR PROEMBRYO DEVELOPMENT IN PEDICULARIS PRZEWALSKII

Shen Song-dong Li Yi

(Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001)

Zhang Xiao-hong

(Department of Basic Sciences, Qinghai Animal Husbandry and Veterinary College, Xining, Qinghai 810003)

植物胚胎学的资料被应用到比较和分析某种植物类群的胚胎学特性, 以阐明植物系统发育的关系, 对解决分类学上的一些问题是有一定作用的。而原胚的发育过程又是划分胚胎类型的标准。经典的植物胚胎学是用切片染色的方法对子房进行石蜡切片, 周期长, 花费多, 而且取材时期和切片角度均不易掌握。

水压片是植物细胞研究的常用技术(李乐工等, 1985; 杨弘远等, 1984; 周嫦, 1985; 周嫦等, 1982, 1984; 胡适宜, 1982; 胡适宜等, 1985; Bradley, 1948; Fates, 1960)。分离原胚进行胚胎学的工作未见报道。本文报道了利用水压片法对青海马先蒿的原胚发育过程进行的初步研究, 向同行们介绍一种简便易行而花费又少的植物胚胎早期发育的研究方法。

研究材料为青海马先蒿 (*Pedicularis przewalskii*), 1993 年自青海省兴海县鄂拉山海拔 4000 米的高寒草甸采来引种在海拔 2200 米的西北高原生物所院内。

1994 年 6 月, 选择未开放的幼花, 置卡诺固定液中固定 2 小时, 剥出子房置浓盐酸与无水乙醇等量混合液中, 常温下解离 5 分钟, 以苯酚品红染色液染色 2 小时, 在甘油中压片保存, 于普通光学显微镜下观察拍照。结果如下:

* * 中国科学院植物研究所陈祖镗研究员, 中国科学院西北高原生物研究所潘锦堂研究员阅读全文并提出了宝贵意见。卢学峰同志鉴定植物材料。特此一并致谢。

1. 青海马先蒿的合子第一次分裂为横向分裂, 形成一个大型的顶细胞和一个较小的基细胞, 出现二细胞原胚(图 1: 1)。基细胞膨大并液泡化, 形成之后就不再分裂, 不参与胚体的构成。顶细胞再进行一次横向分裂, 形成三细胞原胚(图 1: 2), 靠近基细胞的一个细胞为柄细胞, 柄细胞与基细胞一起共同构成胚柄。由这二次分裂可确定青海马先蒿胚胎发育类型是石竹型。

三细胞原胚顶端的一个细胞进行一次纵向分裂形成四细胞原胚; 再纵向分裂一次形成六细胞原胚(图 1: 3)。此后柄细胞横向分裂一次形成七细胞原胚(图 1: 4, 5), 此时的七个细胞顶部四个在一平面, 基部三个成一直线, 呈“T”字型排列。顶部的四个细胞横向分裂一次形成 11 个细胞的多细胞原胚(图 1: 6)。经过一系列发育过程, 最终形成成熟的胚。

2. 取材时, 青海马先蒿虽是花蕾期, 但已完成受精, 并已发育到二细胞原胚。其传粉的方式和受精过程均未见到, 有待今后对此作深入的研究。

3. 经典的植物胚胎学研究, 要完成其取材、脱水、透明、透蜡、包埋、切片、染色、封片全过程至少需一周以上的时间, 而且工作量大, 需要设备多, 药品用量大。而用水解压片法从取材到镜检结束可在一天内完成, 工作量小, 且简便易行。

4. 本文选用的卡诺固定液, 固定时间以 2 小时以内为宜。野外取材则要选用 FAA, 既可

固定又可保存, 非常方便。

5. 盐酸—乙醇解离液解离, 也可用酶液解离。3% 纤维素酶和 3% 果胶酶混合液解离 4~ 6 小时, 也可获得满意的效果。本文选用酸解是从方便和节约的角度考虑, 两者的差别并不很大。

6. 苯酚品红染色, 对不同植物均可着色, 细胞核经染色后呈紫红色, 可不用相差显微镜, 在普通光学显微镜下即可观察拍照, 在操作上更简便。

参 考 文 献

- 李乐工、胡适宜, 1985, 植物学报 27(6) 561~ 568 .
杨弘远、周嫦, 1984, 植物学报, 26(4) 355~ 358 .

(下转 55 页)

接种 25 天以后, 在外植体上先后分化出 2~ 4 个乳白色原球茎。在显微镜下, 可见表面为桑果形状的圆球突起, 原球茎顶端与基部的组织分化状况不同, 在圆球基部上可观察到分化出很多毛状细胞突起, 顶部组织分化为球状突起。在后期培养中, 基部毛状细胞分化为大量根毛, 顶部球状突起继续增殖分化成新的原球茎。该试验随生长素浓度增至 2.0 mg/L , 原球茎的诱导率下降至 0%。

原球茎的增殖: 把诱导出的原球茎切成几块移植于改良配方的诱导培养基中增殖培养 20 天后, 能分化出新的团块状丛生形原球茎。这种丛生形的原球茎可再分切, 如此不断增殖就形成一个无性繁殖系。实验中观察到 *MS* 培养基上培养的原球茎比在 *KC*、*VW* 培养基中的数量多, 原球茎的小圆球球体大, 适于进行工厂化生产。

植株的再生: 原球茎移入 *MS* 补加 $BA 1.0 \sim 1.5 \text{ mg/L} + NAA 0.5 \text{ mg/L}$ 或 $BA 1.0 \text{ mg/L} + Kt 0.25 \text{ mg/L} + NAA 0.5 \text{ mg/L}$ 培养基中经 20 天左右时间培养, 原球茎球体顶部突起变尖分化成小芽, 小芽继续培养 35 天后可分化成带根、茎、叶的小植株, 分化率达 100%。将这样的小植株切下移入盆栽, 一个月成活率可达 85%。我们在试验中还观察到培养基中的 *NAA* 含量亦与根的发生与芽的分化密切相关。原球茎在 $MS + BA 0.5 \text{ mg/L}$ (或 0.25 mg/L) + $NAA 1.0 \text{ mg/L}$ 或只添加 $NAA 0.2$ (或 0.8) mg/L 的培养基上均先分化出根毛, 继而部分分化出小芽, 但不能发生再分化。当继续提高培养基中 *NAA* 浓度至 $1.5 \sim 2.0 \text{ mg/L}$, 则不能发生再分化。

参 考 文 献

- 何政坤等, 1987, 林业试验研究报告(台湾), 2(2) 88~ 89 .
林仕容等, 1993, 福建中医药, 219(3) 23~ 24 .
林兰英等, 1990, 亚热带植物通讯, 22(2) 7~ 8

(上接 57 页)

- 周嫦, 1985, 植物学报, 27(3): 258 ~ 262.
周嫦, 杨弘远, 1982, 植物学报, 24(5): 403 ~ 407.
周嫦, 杨弘远, 1984, 实验生物学报, 17(2): 141 ~ 144.
胡适宜著, 1982, 被子植物胚胎学. 高等教育出版社, 北京.
胡适宜, 李乐工, 朱徽, 1985, 植物学报, 27(4): 337~ 344.
Bradley, M. V. , 1948, *S tain Technology*, 23: 29 ~ 40
Fabes, I , 1960, *A g roman y Journal*, 52: 300 ~ 301.