

腊叶标本中微小种子 SEM 样品制备

胡晓颖, 马其侠, 王瑞江*, 徐信兰

(中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650)

摘要: 腊叶标本中微小种子表面的污染物会影响对其表面特征的观察。经低浓度洗洁精(0.001%)浸泡→超声波振动(33 kHz, 50W)→系列酒精浓度清洗处理后, 在 SEM 下, 处理后的种子表面比处理前更加清晰。此方法操作简便、效果明显, 并且安全和无污染。

关键词: 腊叶标本; 微小种子; SEM; 样品制备

中图分类号: Q94.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395 (2004) 06-0562-03

SEM Sample Preparation for Small Seeds from Herbarium Specimens

HU Xiao-ying, MA Qi-xia, WANG Rui-jiang*, XU Xin-lan

(South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: Seed surface is unclearly observed of contaminated small seeds collected from herbarium specimens. After being soaked in low concentration of commercial detergent (0.001%), shaken in the ultrasonic wave bath (33 kHz, 50W), and rinsed in series content of ethanol with weak shaking in ultrasonic wave bath, the treated seed surface becomes more clear than untreated ones under SEM. This method is easy to operate and obviously effective.

Key words: Herbarium specimen; Small seed; SEM; Sample preparation

目前, 扫描电子显微镜(SEM)技术已广泛应用于植物的比较形态学研究。植物种子的结构特征在植物分类和系统演化研究中具有重要的意义^[1]。许多植物学家常常采集腊叶标本上的种子进行 SEM 观察, 但是由于保存条件所限, 腊叶标本上的种子, 尤其是那些散落在果实外的微小种子表面往往被菌丝或其它杂质所覆盖, 这严重影响了对种子表面结构的观察。为了能除去这些杂质, 同时又不影响种子表面结构, 我们经过多次比较试验, 筛选出了一种好的处理方法, 在此做一介绍。

1 材料和方法

种子来源 选用螺序草属 *Spiradictis* Blume (Rubiaceae) 3 种植物的种子, 均采自中国科学院

华南植物研究所标本馆(IBSC)腊叶标本(表 1)。

种子处理和观察 取 3-4 粒种子放入离心管中, 加入 0.001% 商品洗洁精溶液, 浸泡 10-12 h, 然后用水浴超声波清洗器在 33 kHz (50W) 强档振荡 1-3 h (视种子大小及种皮硬度而定), 再用 70%、80%、95% 乙醇逐级替换(每级 2 次), 每次换液后用水浴超声波弱档振荡 2 min, 最后用 100% 乙醇弱档清洗 5 min。种子取出后放到滤纸上自然风干, 然后将种子粘在贴有双面胶带的样品台上, 用 JFC-1100 离子溅射镀金膜 10 nm, 利用 JSM-T300 扫描电子显微镜进行观察并拍照。以未经处理的种子作对照。

2 结果

用此方法处理的螺序草属 3 种植物种子, 表面

收稿日期: 2004-04-05 接受日期: 2004-05-28

基金项目: 中国科学院分类区系特别支持费(2000)资助

* 通讯作者 Corresponding author

表1 螺序草属3种植物材料

Table 1 Selected three species of *Spiradiclis* for seed preparation

物种 Species	采集地点 Locality	凭证标本 Voucher	采集时间 Collection date
两广螺序草 <i>S. fusca</i>	广西桂林 Guilin, Guangxi	邓志农 13436	1948.3.29
罗氏螺序草 <i>S. loana</i>	广西弄岗自然保护区 Nonggang Nature Reserve, Guangxi	王瑞江 390	2000.8.15
海南螺序草 <i>S. hainanensis</i>	海南崖县四封山 Mt. Sifengshan, Yaxian, Hainan	黄志 34588	1933.10.13

清洁,种皮结构清晰(图版 I: 1, 2, 3)。两广螺序草(*S. fusca*)种皮表面为穴状纹饰,表面细胞轮廓清晰,而且平周壁内部具少量较小乳突(图版 I: 4),罗氏螺序草(*S. loana*)种皮表面细胞轮廓较清晰,平周壁内部乳突比两广螺序草的大(图版 I: 5);海南螺序草(*S. hainanensis*)细胞轮廓不太明显,平周壁下陷成穴状,在穴边缘具较大疣突(图版 I: 6)。

未用此方法处理的螺序草属3种植物种子,表面杂质较多(图版 I: 7, 8, 9)。两广螺序草种皮表面上有少量菌丝分布,影响观察表面纹饰(图版 I: 10);罗氏螺序草种皮表面上的杂质将种皮表面纹饰全部覆盖无法观察(图版 I: 11);海南螺序草种皮表面上菌丝杂质较多,影响种子微形态观察(图版 I: 12)。

3 讨论

在腊叶标本中,体积较大的种子受到杂质污染后较易于清理,清理后可以直接在 SEM 下进行观察,但是对体积微小的种子来说,目前尚未见有报道说明如何清理其表面杂质以便于 SEM 观察。螺序草属种子微小,种皮膜质^[2,3],由于标本馆保存条件有限,标本受杂质污染较重,种子表面常被杂质

覆盖,影响对种子表面的观察。用常规弱酸弱碱液进行清洗也难以清除种子表面杂质。反复实验表明低浓度商品洗洁精可以很好地去除种子表面的杂质,这可能是洗洁精中含有表面活性剂,可引起种皮表面杂质的水解,但洗洁精浓度不应过高,否则会在一定程度上破坏种皮表面结构。用系列乙醇溶液可以清洗残留在种皮上的洗洁精,避免影响种子表面结构的清晰度。进行水浴超声波振荡时的关键是掌握好时间,时间过久则会造成种子表面结构破坏,过短又不能有效去除杂质,具体情况视种子大小及表皮硬度而定。总体而言,此方法具有操作简单、效果明显、化学试剂用量少以及安全无污染等优点,可为需要做类似实验的植物学工作者提供参考。

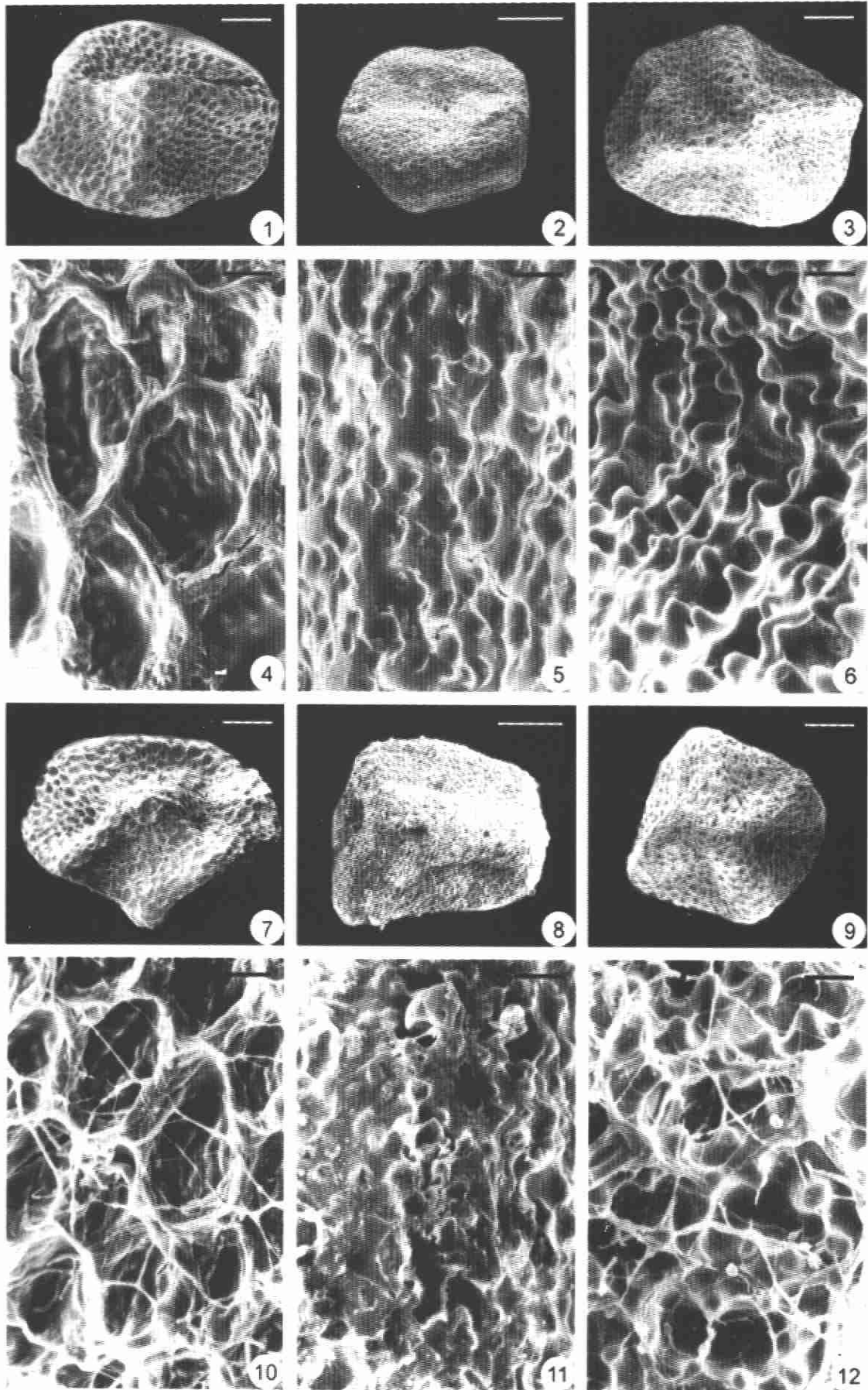
参考文献

- [1] Werker E. Seed Anatomy [M]. Berlin: Stuttgart Bomtraeger, 1997. 1-65.
- [2] Lo H S (罗献瑞). *Spiradiclis* Bl. [A]. In: Lo H S (罗献瑞). Flora Reipublicae Popularis Sinicae Vol. 71(1) [M]. Beijing: Science Press, 1999. 89-104. (in Chinese)
- [3] How F C (侯宽昭). A Dictionary of the Families and Genera of Chinese Seed Plants [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1982. 461. (in Chinese)

图版说明

图版 I Plate I

1-6. 处理过的种子整体和局部放大照片; 7-12. 未经处理的对照照片。Surfaces of entire (1, 2 and 3) and magnification part (4, 5 and 6) of treated seed. Surfaces of entire (7, 8 and 9) and magnification part (10, 11 and 12) of untreated seeds. 1, 4, 7, 10. 两广螺序草 *S. fusca*; 2, 5, 8, 11. 罗氏螺序草 *S. loana*; 3, 6, 9, 12. 海南螺序草 *S. hainanensis*; Figs. 1, 2, 3, 7, 8, 9. Bar=100 μ m; Figs. 4, 5, 6, 10, 11, 12. Bar=10 μ m.



胡晓颖等:图版 I

HU Xiao-ying et al.: Plate I