

磷钨酸在黄瓜根尖细胞核仁超微结构研究中的应用

周世恭

(中国科学院植物研究所)

核仁中丝状成分的数量和分布状态在不同的植物组织细胞中和不同的生理状态下有所不同^[1,4]。因此,准确地识别和量度核仁中丝状成分的多少及分布状态对于研究不同植物组织细胞核仁及其生理活性有着重要的意义。但是,近几年所采用的标准的戊二醛-钨酸双固定方法在我们用于黄瓜根尖细胞的制片中,核仁显得染色较深,丝状成分比较细,致使核仁中丝状成分和粒状成分之间的差别显得不够清楚,造成观察和量度的某些困难。为此,我们采用了仅用戊二醛固定,脱水时磷钨酸染色的方法制片,与标准的戊二醛-钨酸双固定方法进行比较观察,显示出某些优越性,对我们的研究取得了令人满意的效果。

材料和方法

选取饱满的黄瓜种子津研2号,经表面消毒浸泡后放于25℃左右的暗箱中萌发36小时,选萌发一致者于石英砂中培养8—10天,幼苗经无离子水冲洗3—4次(约2小时)。移栽于培养罐中进行液体培养,培养液按Hoagland的配方^[2]对照含有0.5 ppm的硼,处理者无硼。

移植后5天分别取加硼和缺硼根尖固定于用0.1 M磷酸缓冲液配制的3%的戊二醛溶液中2—4小时,pH 7.2,取出用同一缓冲液洗3—4次(约2小时)。然后分成两组,一组直接进行脱水,另一组进入2%钨酸-磷酸缓冲液中2—4小时,然后按常规手续进行脱水。前一组脱水到100%时入1%磷钨酸-酒精中过夜,再按一般手续渗透、包埋、切片。仅用戊二醛固定者切片不再染色,戊二醛-钨酸固定者用铀、铅双重染色,H-300电子显微镜观察、照相。

观察结果

观察部位是黄瓜根尖分生组织的细胞核。

比较了核仁的三种结构,即核仁的丝状结构,颗粒状结构及核仁液泡。

用戊二醛-钨酸固定的加硼核仁显示出染色深、浅的不同面,那些染色最深的丝状结构即为核仁丝状成分,染色较浅的颗粒状部分即为粒状成分,而染色最浅的部分即为丝状中心或核仁液泡。由于染色粒子的密度大而显得整个核仁的总貌染色比较深,致使丝状、粒状成分之间的区分并不十分明显,如果不仔细观察是很容易忽略的,但是,丝状中心和核仁液泡却是十分明显的(图1)。

而在同样类型的用磷钨酸染色的核仁中我们可以清楚地看到丝状成分比较粗,染色深。而粒状成分的粒子显得比较粗大,但数量较少,显得背景染色比较浅,因而衬托出丝状成分更加明显可见,似乎为两股“绳子”,扭曲缠绕在核仁中。由于“绳子”扭曲并不紧,所以在切片面上显示出链环状,在每个链环的中间部位上显示出染色较浅的粒子区即为丝状中心或核仁液泡(图2)。

用戊二醛-钨酸固定的加硼环形核仁,像一个空心球,切面观时呈环形,其周围为皮层部分,染色较深,含有丝状成分和粒状成分,但二者之区分并不十分清楚,大小不等的丝状中心和核仁液泡都是明显可见的;中央部位则为单一的染色较浅的大液泡,其中含有染色较浅的粒子成分(图3)。

而用磷钨酸染色的同类型的核仁中则可看到与图3一样的结构,不仅明显地显出皮层和中央两部分,而且可以清楚地分辨出皮层部分里所含的丝状成分与图2中的有些相似,两股“绳子”交互缠绕排列。与戊二醛-钨酸固定者相比,粒子显得疏而粗(图4)。

用戊二醛—锇酸固定的缺硼核仁中可看到丝状成分似乎隐约可显,但难以与粒状成分相区分,整个核仁呈紧密结构,染色粒子小而密度大,核仁组织中心伸向外边,萎缩呈半圆形(图5)。而用磷钨酸染色的同类型的核仁中,尽管丝状成分的两股“绳子”扭得比较紧,似乎收缩、变粗,而且集中在核仁的中间位置上,与粒状成分有明显的区分,与戊二醛—锇酸固定者相比,粒子显得疏而粗(图版图6)。

讨 论

用电子显微镜探索核仁的细微结构随着标本制备技术的改进而进展,用醛类固定,证明核仁中染色质的结构是分散的,用单一的锇酸固定以来也没有提供令人满意的效果,近年来采用戊二醛—锇酸的结合使用得到了比较好的效果^[3]。因此,直到现在仍被作为一种常规的标准方法来用。用此法固定的图像中所显示出的核仁丝状成分细而长,粒子小而密,表明用它固定后所丢失的物质少,对于保存核酸、蛋白物质的范围可能比较宽广,因此,更能够反应生物标本的真实情况,无疑对于研究植物细胞核、核仁的细微结构和核物质的变化是非常有益的。但是,对于我们实验中用于研究黄瓜根尖细胞核仁中丝状成分时显然不够理想,因为用此法固定的材料中,核仁染色较深,丝状

成分和粒状成分细而致密,它们之间的界限很难区分,致使丝状成分的显现不够明显、突出,造成了观察和量度方面的某些困难,我们采用的仅用戊二醛固定,脱水时用磷钨酸染色的方法,使核仁中丝状成分显得粗而染色深,粒状成分的粒子显得大而少,因此,背景显得染色浅。显然,用这种方法的结果可能是由于固定不够而丢失的物质比较多或者保存核酸、蛋白物质的范围比较狭窄,也可能是脱水时某些固未固定之物质进一步凝聚所造成。我们正是利用这一点使丝状成分在比较浅的背景下更加突出地显示其面貌,从而更加有利于实验中的观察和量度。

参 考 文 献

- [1] Hoagland, D. R. and D. L. Arno. 1938. The water-culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exp. Sta. Circ. 347: 39.
- [2] Jafontaine, J. G. 1968. Structural components of the nucleus in mitotic plant cells. In "the nucleus" (A. J. Dalton and F. Haugenau, eds). pp 151—169. Academic Press, New York.
- [3] Marinozzi, V. 1963. *J. Roy. Microscop. Soc.* (3). 81: 141—154.
- [4] Sun, C. N., 1966. *Exp. Cell Res.* 25: 213—215.

介绍一种新的植物染色体染色的方法*

涂 传 馨

(武汉大学 生物系)

在植物细胞遗传学研究中,体细胞染色体的鉴别,主要是以其全长、臂长、着丝点位置和特殊的结构如随体等为依据的,近年来用有荧光性的喹吖啶(quinacrine-fluorescent)或 Giemsa 染色的分带技术进行研究,可以在很多植物中鉴别单个的染色体,但遗憾的是,荧光性喹吖啶或 Giemsa 分带程序比起常规的

Feulgen 或醋酸地衣红(aceto-orcein)、醋酸洋红(aceto-carmin)等染色方法来要费时并且困难得多。作者在植物染色体的分带的研究过程中,为了寻找一种简易的染色方法,采用了多种染色剂染色并进行了比较,其中采用了改良

* 本文承李晓迎同志协助摄影,特此致谢。