

小麦腹沟区树脂厚切片

制备技术及结构变化

THICK SECTIONING TECHNIQUE OF THE ABDOMINAL GROOVE
OF WHEAT SEEDS WITH RESIN AND STUDIES ON ITS
HISTOLOGICAL STRUCTURE

姚雅琴

甄霖

杨淑性

(中心实验室)

(农学系)

(基础课部)

Yao Yaqin

Zhen Lin

Yang Shuxing

(Centralab) (Department of Agronomy) (Department of Basic Course)

关键词: 小麦籽粒; 切片技术; 甲苯胺蓝○**Key words:** wheat seeds; sectioning technique; toluidine blue ○

树脂厚切片的制备, 与电镜切片的制备, 除切片厚度上有差异外其他都相同。树脂厚切片的厚度介于石蜡切片与超薄切片之间, 与石蜡切片相比较, 不仅切片较薄而且组织结构清晰, 能减少人为假象, 效果较好, 因此, 近年来, 越来越多地用于光学显微镜的研究。但迄今为止, 用于植物种子的研究报道甚少。Fussell等(1980)将此法用于谷子籽粒的研究^[1], Cochrane 1983年用于小麦和大麦籽粒的研究^[2], 国内虽也曾见到过单张照片, 但对其具体制作过程均无详细报道。本文将树脂厚切片技术, 用于不同饱满度小麦籽粒腹沟区结构差异的分析研究, 对该种切片技术的染色作用, 作了详细的讨论。

1 材料与方法

选用种子饱满度有稳定差异的7个品种: 小偃六号、渭麦四号、7859-18、67'1)-2-2-3、6917-0-0-5、71(12)-3-14、69(2)。开花后每6d取一次样, 直到成熟。剥出中部小穗基部籽粒腹沟区。用4%戊二醛在4℃下固定10h后, 用0.1M磷酸缓冲液(PBS)漂洗3次, 1%锇酸在室温下后固定4h, PBS漂洗, 丙酮系列脱水、渗透, Epon环氧树脂包埋, 聚合45℃一天, 60℃2天。使用LKBV型超薄切片机切片, 切片厚度2~3μ。1%甲苯胺蓝○(用1%硼酸水溶液配制, pH7), 或FeCl₃10%水溶液染色, Olympus-BHS PM-10AD显微镜照相。

本文于1988年12月12日收到。

2 结果与分析

由于甲苯胺蓝O(toluidine blue O)是一种碱性异染色染料,对植物不同组织产生多种颜色,这种异染色性还可由溶液pH的改变而改变。两年试验结果一致表明:用1%甲苯胺蓝O染液,对小麦籽粒腹沟区组织切片染色,可使细胞壁呈蓝色,细胞质呈紫色,细胞核呈紫红色,糖元呈红色,木质素呈绿色(图版1, 3, 7),淀粉粒不着色(图版6)。在制作过程中,发现甲苯胺蓝的着色对温度和时间十分敏感,一般在60℃的加热板上约经1min,在切片上的染液边缘开始出现干圈。一旦出现干圈后,应立即停止加热,并迅速用蒸馏水冲洗干净。否则,会使切片的整个组织结构成分都呈蓝色,层次模糊。

用 FeCl_3 10%水溶液染色的结果,与Fussell (1980) [2]的结果不符。Fussell报道,用 FeCl_3 染液对树脂厚切片染色,可使丹宁和酚类物质着色。而本试验结果表明(与Fussell前处理相同,都用1%钼酸后固定):用 FeCl_3 染液对树脂厚切片染色,不论温度与时间怎样变化,染色作用都不明显。染色后的切片与染色前切片差别不大(图版4, 5)。我们认为,用钼酸后固定的树脂厚切片中,使脂类、丹宁和酚类物质呈显棕褐色的原因,是由钼酸的作用而不是 FeCl_3 作用的结果。

2.1 维管束组织

从整个实验观察来看,韧皮部细胞一直保持着活力。灌浆6 d,细胞壁薄呈浅蓝色,核大呈紫红色,细胞质较多呈淡紫色;从灌浆12 d开始到35 d,细胞壁稍有加厚,呈蓝和绿混合色,细胞核一直保持完整;成熟期,细胞挤压变形。木质部细胞灌浆6 d,细胞壁较薄呈淡蓝色,内容物稀少;从12 d以后,细胞壁逐渐木质化呈绿色,内容物消失;30 d细胞壁颜色开始变黑。成熟期挤压变形(图2)。以上变化,饱满与不饱满品种(系)间没有多大差异,说明维管束组织对籽粒饱满度影响不大。

2.2 有色细胞层

灌浆6 d,有色细胞层细胞均表现为:细胞近似等径,排列密集、小型,薄壁呈蓝色,核大呈红色,细胞质丰满呈紫色(图版3);从12 d开始,细胞壁加厚呈绿色,细胞内产生一种在钼酸染色后呈显棕色的物质。据组织化学鉴定(Fussell 1980, Cochrane 1983)认为,这些物质的主要成分是多酚类及其衍生物丹宁等。三个饱满品种(小偃六号、渭麦四号、7859-18),产生少量的这类物质,附着于细胞壁周围(图版8)。4个饱满度差的品种(69(2)、69(1)-2-2-9、6917-0-0-5、71(12)-3-14)产生大量的此类物质。开始呈许多小颗粒状存在于细胞中;灌浆18 d以后,逐渐聚集成团以至充满整个细胞,细胞核消失(图版7)。4个饱满度差的品种(系)间本身也有差异,饱满度越差,此类物质沉积越多。

2.3 珠心突起

珠心突起细胞与维管束组织细胞一样,饱满与不饱满品种之间差异不大,但同一品种不同灌浆时期却有变化。灌浆6 d,细胞形状小,排列紧密,薄壁呈蓝色,核大呈紫红色,细胞质丰满呈紫色,液泡多;灌浆12 d以后到成熟前,外围细胞逐渐变大,小型薄壁细胞略增大,细胞壁加厚,细胞核小呈淡紫色,细胞质稀少,成熟时,细胞挤压变形呈

深蓝紫色(图版2)。

3 结 论

3.1 树脂厚切片克服了石蜡切片坚硬标本变得脆硬、易碎,导致切削失败以及微小样品难于切片的困难。是一种制作简单,效果良好的切片方法。

3.2 利用甲苯胺蓝O与不同组织作用,呈现出不同颜色反应这一特点,代替了切片的二重染色法或三重染色法,节约药品,节省时间,染色效果又好,说明利用甲苯胺蓝O染色法,研究小麦籽粒腹沟区不同发育期各组分的变化,是一种简便而实用的方法。

3.3 从甲苯胺蓝O对小麦腹沟区有色细胞的反应,证明有色细胞中酚类、丹宁等物质的积累是影响籽粒皱缩的主要因素之一。

参 考 文 献

- 1 Fussel L K, Dwart D M. *J Exp Bot* 1980; 31: 645—654.
- 2 Cochrane M P. *J Plant Physiol* 1983, 10: 473—491.
- 3 芮菊等.组织切片技术.人民教育出版社,1982
- 4 华南农业大学植物显微镜技术课组编印.植物显微镜技术,1987
- 5 孙敬三,钱迎倩.植物细胞学研究方法,1987

图 版 说 明

VB.维管束; P.有色细胞层; NP.珠心突起; A.糊粉层; W.细胞壁; N.细胞核; S.淀粉粒; PT.酚类和丹宁物质

1. 67(1)-2-2-3,灌浆24d腹沟区结构(100X 甲苯胺蓝O染色); 2. 6917-0-0-5,成熟期腹沟区结构(100X 甲苯胺蓝O染色); 3. 67(1)-2-2-3,灌浆6d腹沟区结构(100X 甲苯胺蓝O染色); 4. 67(1)-2-2-3,灌浆24d腹沟区结构(100X 未染色); 5. 67(1)-2-2-3,灌浆24d有色细胞区结构(100X FeCl_3 染色); 6. 小偃六号,成熟淀粉粒结构(200X 甲苯胺蓝O染色); 7. 小偃六号,灌浆24d腹沟区结构(100X 甲苯胺蓝O染色); 8. 小偃六号.灌浆30d有色细胞区结构(1000X 甲苯胺蓝染色); 9. 6917-0-0-5,灌浆30d有色细胞区结构(1000X 甲苯胺蓝O染色)。

