

番红固绿染色简化法

-----仅限观察植物苗期主根部导管

1 目的要求:

由于专业的番红固绿需要使用超薄切片机,其功能繁琐,并十分耗时,其主要包括染色,包埋,切片,脱蜡,复染等多个步骤,这里不再赘述。若没有切片机,我们往往要四处奔走求人并支付高昂的费用。经本人亲自实验和总结,采用传统常规染色法,在不使用切片机和钞票的条件下,整理如下流程。若只作为一般实验的验证,样品的容量不大并不需要长期保存的情况下,不需要超薄切片机,只需使用双层刮胡刀片,显微镜可以观察 1 毫米左右的切片。直径最好大于 1mm,肉眼可分辨,一般只用于观察主根。为切片方便,可稍微将根晾干,再进行横切或纵切。

根据对刊用插图(照片)总的要求得出,文稿插图(含照片)的应用以少而精为原则。凡是能用文字说明的,应尽量不用插图,能用线条图表示的,就不用照片图;能用单色图表示的,就不用彩色图。即使是线条图也尽量避免搞成大幅的插页图,以便于编排和印刷。插图的线条必须准确,主次分明,清晰可辨,便于读者理解文字的内容。若切片够均匀,线条够清晰,也可作为论文插图。

2 实验步骤:

2.1 实验准备:

2.2 材料: 目的植物新鲜根部,刮胡刀刀片两片,越锋利越好,但注意安全。常规染色用品。

2.3 试剂: 无水酒精, 95%酒精, 蒸馏水, 预先备制的苯胺番红试剂和苯胺固绿试剂(最好放置一段时间,可提前一月配置,效果更好,但不必要), 二甲苯和 50%体积无水乙醇和 50%体积二甲苯混合液。

3 实验步骤:

3.1 切片:

按照前文介绍方法切片,若视力好,手法稳,可用单个刀片细细切下,要求,横切厚度在 1mm 左右,并呈透明圆形,确保中心完好。

3.2 染色:

- 1) 滴 1-2 滴无水酒精;
- 2) 吸去无水酒精用 95%酒精冲洗,使其平铺于玻片,酒精分散均匀;
- 3) 第 1 滴蒸馏水与材料上,是材料包裹于水滴中;
- 4) 滴 1-2 滴苯胺番红试剂,染色 1-3min;
- 5) 使用 95%酒精冲去浮色并脱水,处理至透明状态,韧皮部分由于富集细胞壁,颜色可以偏红,其余部分为粉色透明状;
- 6) 少量(一小滴)苯胺固绿复染,并迅速吸去,并滴入无水酒精,操作在 2s 内完成;
- 7) 继续用无水乙醇洗脱至半透明状,以为无集中色斑为佳;
- 8) 各 50%体积的无水酒精和二甲苯混合物, 1-2 滴;
- 9) 滴 1-2 滴二甲苯透明;
- 10) 擦去材料以外药剂,使玻片清洁,可不使用盖玻片,一定不能使材料上的二甲苯干掉;
- 11) 镜检。

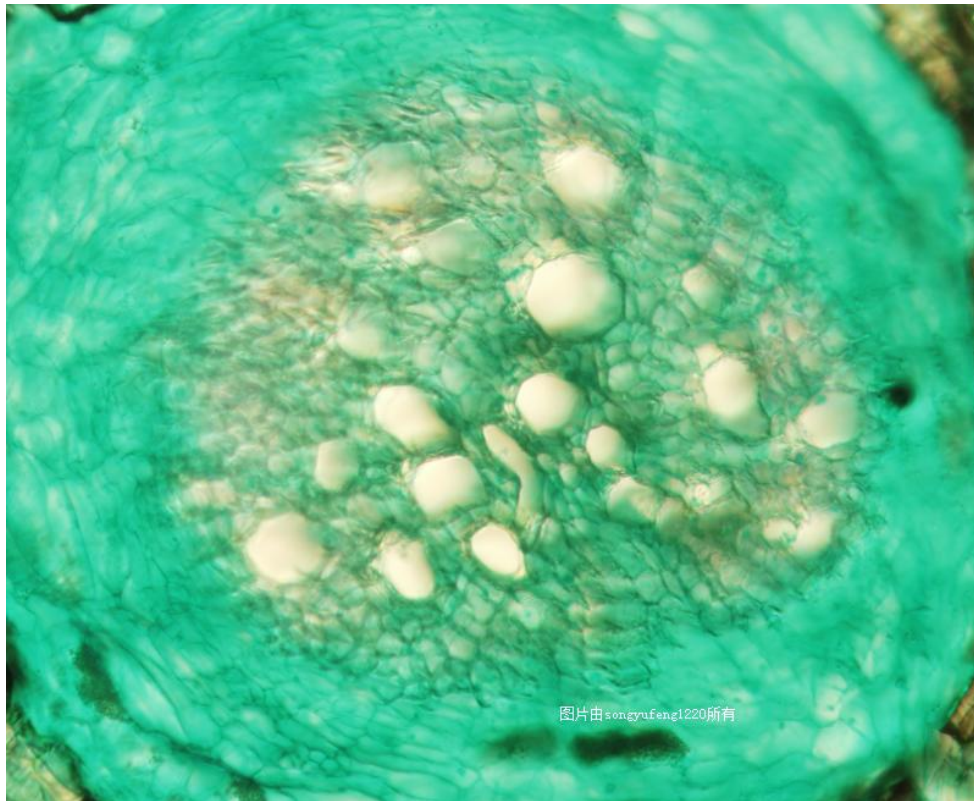


图 使用该方法观察到的切片

4 实验注意事项:

- 1 刀片尽量锋利，并对齐垂直切下。切勿将刀片捏握过紧，使其缝隙过小。
- 2 番红试剂染色时间可适当延长，固绿试剂的染色时间 1-2s 就将其吸走，迅速滴入无水乙醇。
- 3 洗脱浮色时将切片中心洗至透明，确保中心部分无染料剩余。影响观察。
- 4 镜检前，只吸干切片以外残留的二甲苯，保留材料上的药剂，由于二甲苯的挥发性，在镜灯长时间照射，容易蒸干，影响色泽和透明效果，需及时观察记录