

植物样品无膜载网应用探讨

陆东雯 钟毅敏 潘 浩

(实验中心电镜室)

摘要 无膜载网捞取切片具有不易产生皱折、减少污染环节、提高分辨率的优点。且可增加切片面积,扩大电镜观察分析的视野,为研究者提供更多的分析信息。

关键词 载网; 皱折; 污染

1 材料与方法

材料: 新鲜柑桔叶片、水稻叶片、茶叶叶片、香蕉叶片、蓝藻等组织。

方法: 常规双固定、系列乙醇脱水、渗透、Epon812 包埋; LKB 修块机修块、截面积大约 0.4 mm^2 , 然后在 LKBV 型切片机上用玻璃刀超薄切片; 用干净的、无支持膜的、目数为 400 目或 300 目的载网捞取切片; 经醋酸铀、柠檬酸铅双重染色后, 在 PHILIPS EM 400 高分辨率型透射电镜上、80kV 条件下观察。

2 结果分析

电镜观察结果如图版 1~8。

图版 1, 2 是柑桔叶片组织的有膜载网捞片。

图版 3, 4 是柑桔叶片组织的无膜载网捞片。

图版 5, 6, 7, 8 分别是水稻叶片、茶叶叶片、香蕉叶片、蓝藻等组织的无膜载网捞片。

从电镜观察的结果可看出, 植物样品超薄切片采用无膜载网捞片的方法有如下优点:

1. 由于没有支持膜, 从而减少了支持膜本身带来的假象 (如支持膜皱折被误为胞间连丝或支持膜气泡被误为组织液胞等), 提高了观察效果; 2. 由于载网无膜, 捞片时向上吸片的力较均匀, 使得附在载网上的切片平整, 减少了皱折 (见图版 1, 3 及图版 2 箭头所示的为折痕), 从而扩大了观察的视野; 3. 由于不用制膜, 不仅减少了工作量, 同时还减少了会发生污染的环节 (主要是制支持膜过程带来的污染), 提高了切片的清洁度。

3 讨论

由于植物样品中叶片组织的厚度比较薄, 如果切片不带环氧树脂 (包埋剂), 只切叶片组织, 那么采用无膜载网捞片, 则因片小载网网格大而捞不起片。所以对于这类组织样品的无膜载网捞片应注意: (1) 包埋块适当偏软, 以便切片稍带环氧树脂, 以利于采用无膜载网捞片技术; (2) 由于包埋块偏软, 且要获得较大的切片, 因此切速太快容易产生震纹, 太慢又可能造成切片不完整, 所以切片速度应以 $5 \sim 10 \text{ mm/s}$ 为最佳; (3) 适当选择厚一点

的切片, 这样一方面可提高图象的反差, 另一方面又可降低无厚膜载网切片被电子束击穿的几率。我们认为, 切片厚度以 $800\text{\AA}$ 左右 (即干涉颜色呈淡黄色至金黄色的切片) 为好。此外, 适当降低电子束强度也是防止无膜载网切片被击穿的有效方法之一。我们常采用第二聚光镜散焦, 即在聚焦及放大倍数转换等调节时, 尽可能保证光亮度不集中在一点, 而使亮度经常均匀地充满整个观察荧屏的办法或降低加速电压 (如选择 60kV) 的办法来实现。

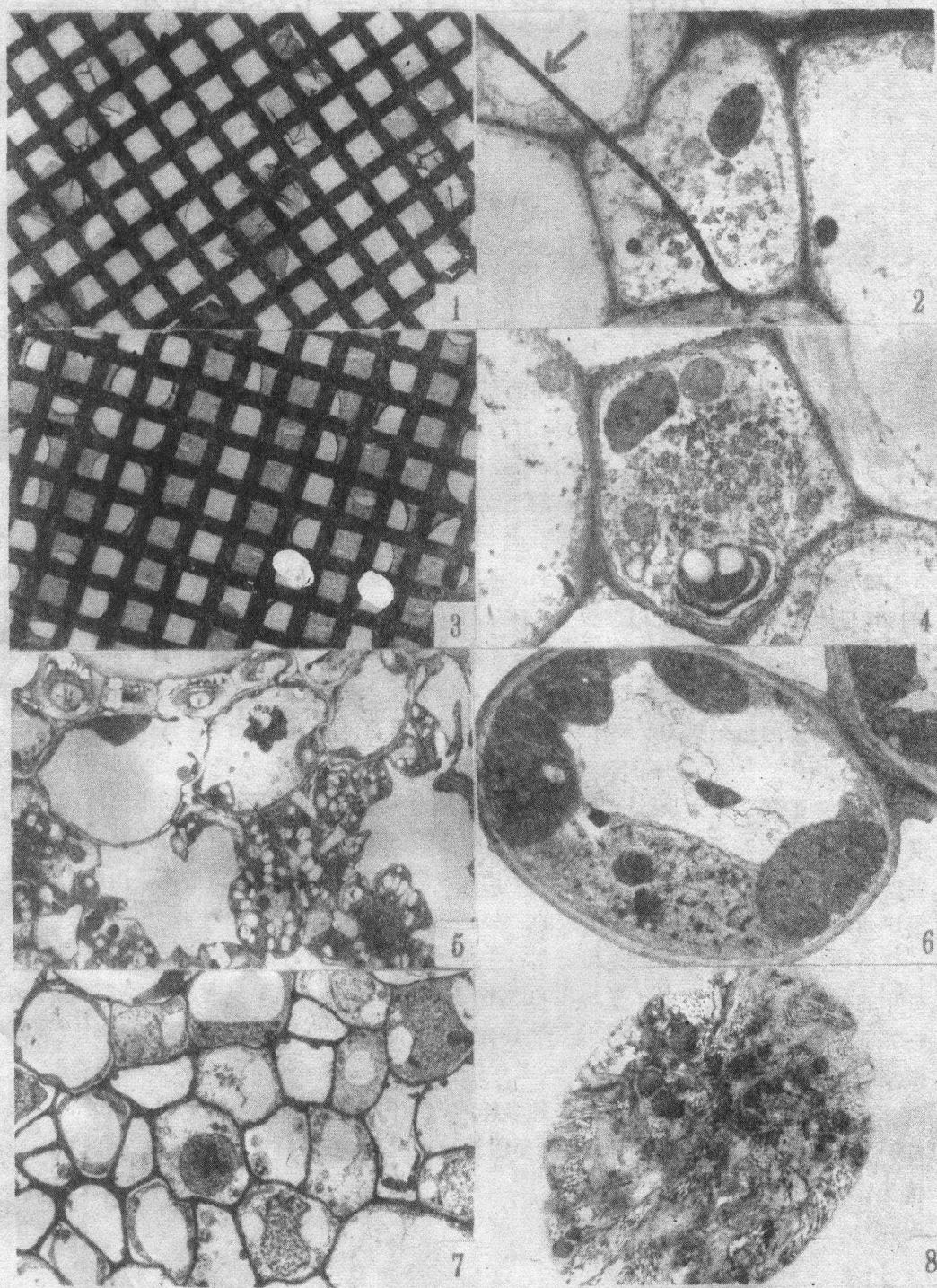
THE TECHNIQUE OF USING GRID WITHOUT SUPPORT FILM FOR SECTION COLLECTION OF PLANT SPECIMENS

Lu Dongwen Zhong Yimin Pan Hao

(Electron Microscope Laboratory)

Abstract The using grid without support film for section collection has the advantage of unfoldedness, decrease of the links in the pollution chain and increase of resolving power. Meanwhile, the larger section can enlarge the extent of the analysis by electron microscope and provide the research workers with more analytical information.

Key words Grid; Unfoldedness; Pollution



图版 1, 柑桔叶片组织的有膜载网捞片 $\times 50$; 2, 柑桔叶片组织的有膜载网捞片 $\times 8\ 350$; 3, 柑桔叶片组织的无膜载网捞片 $\times 50$; 4, 柑桔叶片组织的无膜载网捞片 $\times 8\ 350$; 5, 水稻叶片组织的无膜载网捞片 $1\ 800$; 6, 茶叶叶片组织的无膜载网捞片 $\times 390$; 7, 香蕉叶片组织的无膜载网捞片 $\times 3\ 000$; 8, 蓝藻组织的无膜载网捞片 $\times 8350$