



研究简报

多甲藻属扫描电镜样品制备方法的比较研究

袁秀平 魏印心

(中国科学院水生生物研究所, 武汉, 430072)

COMPARATIVE STUDIES ON PREPARATION OF *GENUS PERIDINIUM* SAMPLES FOR SCANNING ELECTRON MICROSCOPE

Yuan Xiuping and Wei Yinxi

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词 多甲藻属, 方法, 扫描电镜

Key words *Peridinium* genus, Method, Scanning Electron Microscope (SEM)

用扫描电镜(SEM)观察藻类细胞的表面形态特征,是研究藻类的系统分类、形态和生态学的重要手段之一。不同藻类门和在同一门中不同的目、科中的藻类种类,其扫描电镜样品的制备方法有所不同。我国用扫描电镜对硅藻类和鼓藻类的分类研究进行过少量报道,而对淡水甲藻类还尚未有过报道。在国外用扫描电镜观察海水甲藻的研究报道很多^[1-3],但对淡水甲藻的研究报道较少,并对其样品制备方法的叙述一般较简略。作者在进行多甲藻属(*Peridinium*)的分类区系研究过程中,用扫描电镜对分布在不同地区的种类进行观察,本文以微小多甲藻(*Peridinium pusillum* (Fen.) Lemm.)和中国新记录种坎宁顿多甲藻[(*Peridinium cunningtonii* (Lemm.) Lemm.)]为例介绍几种制备方法并对在电镜中的图像效果进行了比较。

1 材料和方法

微小多甲藻由中国科学院水生生物研究所藻类研究室藻类培养与保存库提供,坎宁顿多甲藻于1994年7月30日用浮游生物采集网(网孔为10 μ m)在湖南永顺县猛洞河(标本号为NH94001)采得。

1.1 标本用两种方法固定:第一种方法用鲁哥氏碘液和4%福尔马林混合固定,第二种方法用2.5%戊二醛、1%锇酸双固定。用蒸馏水和磷酸缓冲液分别冲洗固定标本去除固定剂。用毛细管分离多甲藻再用蒸馏水清洗1—2次去除杂质。

1.2 将以上两种方法固定的标本,再各分成二部分,一部分置于表面涂有一层0.3%Formvar薄膜的玻片、铜片或孔径为0.45 μ m的微孔滤膜上,另一部分置于用HITACHI HUS-5GB真空镀膜仪喷碳(碳的厚度约5 μ m)并再涂一薄层0.3% Formvor的玻片、铜片或孔径为0.45 μ m的微孔滤膜上,分别用25%、50%、70%、90%、100%(二次)酒精系列脱水,每级5—10min,脱水过程中多甲藻细胞不能暴露于空气中。

1.3 将以上几部分多甲藻细胞再分成二组, 一组不进行临界点干燥, 另一组用 100% 丙酮置换 1—2 次后, 用 HITACHI HCP-2 型临界点干燥仪进行临界点干燥, 然后这二组多甲藻细胞用 EIKO IB-5 型离子溅射仪镀金、钨 (厚度约 25—29 μ m), 用 AMRAY-1830 型扫描电镜观察, 加速电压为 20KV。

2 结果和讨论

2.1 多甲藻用鲁哥氏液和 4% 福尔马林固定剂固定的效果和用戊二醛、锇酸进行固定的效果相似, 锇酸是极毒药品又比较昂贵, 作者采用前二种固定剂价格便宜, 可节省经费。

2.2 比较多甲藻细胞放在未经喷碳的玻片、铜片或微孔滤膜的一组 and 经过喷碳的玻片、铜片或微孔滤膜上的一组在扫描电镜下观察的图像, 发现以喷了碳的玻片、铜片或微孔滤膜上的一组图像较好, 喷碳的黑色背景增加了图像的反差, 使多甲藻细胞与背景的界线更加清楚, 立体感增强。

2.3 多甲藻细胞经过 CO₂ 临界点干燥的一组和不经过临界点干燥的一组, 其扫描电镜下观察的图像效果相似, 因此可省去临界点干燥这一步骤。

2.4 由于多甲藻的细胞壁主要是由纤维素组成, 不同于硅藻类和具硅质磷片的金藻类可将样品直接放在空气中干燥, 而必须经过一系列脱水过程, 而且每级脱水换溶液时藻类细胞不能暴露于空气中, 否则将会使细胞收缩变形。

本研究结果表明, 微小多甲藻和坎宁顿多甲藻细胞用鲁哥氏液和 4% 福尔马林固定均匀置于喷了碳然后涂有一薄层 Formvar 的玻片、铜片或微孔滤膜上, 经过一系列逐级酒精脱水过程, 然后镀金、钨这一制备方法较好 (图版 I: 1, 3)。

参 考 文 献

- [1] Berdach, J.T., 1977. In situ preservation of the transverse flagellum of *Peridinium cinctum* (Dinophyceae) for scanning electron microscopy. *J. Phycol.* 13:243—251.
- [2] Huber-Pestalozzi, G., 1950. Das phytoplankton des süsswassers. Teil 3, Cryptophyceae, Chloromonaden. Peridineen. In Binnengewasser (A. Thienemann, Ed.). E. Schweizerbart'sche, Stuttgart 322pp.
- [3] Pichett-Heaps, J.D. 1980. Preparation of algae for scanning electron microscopy in Elisabeth, G. Edit. Handbook of Phycological Methods, developmental and cytological methos, Cambridge University press. pp. 367—376.