

### ДЕФОРМАЦИЯ ТКАНЕЙ В ХОДЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССИНГА. III. ДЕЙСТВИЕ ХРОМСОДЕРЖАЩИХ ФИКСАТОРОВ НА АПИКАЛЬНУЮ ЧАСТЬ КОРНЕЙ ЛУКА

© А. Ю. Буданцев,<sup>1</sup> А. Ю. Демьянов

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, 142290;

<sup>1</sup>электронный адрес: budantsev@mail.ru

Продольное сжатие апикальной части корня *Allium cepa* сильно проявляется при фиксации в смеси этанола и формалина (около 24 %). В хромсодержащих фиксаторах (Навашина, Рего и Чиаччио) и в фиксаторе ФАА (смесь формалина, этанола и уксусной кислоты) наблюдается тенденция к сжатию, но разница между контрольными и экспериментальными образцами корней недостоверна. Объемной деформации в «зоне растяжения» и «зоне чехлика и меристемы» не наблюдается при использовании хромсодержащих фиксаторов. В спиртсодержащих фиксаторах объемное сжатие сильнее выражено в «зоне чехлика и меристемы» (30—57 %) по сравнению с «зоной растяжения» (25—40 %). Продольное и объемное сжатие наблюдается обычно в первые минуты фиксации, а затем незначительно изменяется в течение 24 ч. В работе приведены количественные значения деформации апикальной части корней лука в изученных фиксаторах. Спектральный анализ показал изменение состава хромсодержащих фиксаторов после их приготовления вследствие окислительно-восстановительных реакций между реагентами, входящими в их состав.

Ключевые слова: химическая фиксация, апикальная часть корня, деформации при фиксации, фиксаторы Навашина, Рего, Чиаччио, ФАА и спирт-формалиновый, спектры поглощения хромсодержащих фиксаторов.

Группа хромсодержащих фиксаторов была в основном разработана в середине XIX и в первой половине прошлого столетия (Baker, 1958). В состав этих фиксаторов входят хромовая кислота или бихроматы (Cr(VI)) в смеси с другими фиксирующими реагентами — осмиевой кислотой, формальдегидом, уксусной кислотой и другими соединениями. Считается, что хромсодержащие фиксаторы хорошо сохраняют морфологию клеток и поэтому широко используются в цитологических и эмбриологических исследованиях животных (Ромейс, 1954; Baker, 1958; Лилли, 1969; Саркисов, Перова, 1996, и др.) и растений (Левицкий, 1931, 1976; Навашин, Герасимова-Навашина, 1958; Berlyn, Mikshe, 1976; O'Brien, McCully, 1981; Барыкина, и др., 2004, и др.). В 30-х годах прошлого века был проведен комплекс работ по изучению фиксирующих свойств хроматов и бихроматов (Cr(VI)), но предложенные рецепты фиксаторов практически не нашли широкого употребления (Zirkle, 1928, 1929).

В состав многих хромсодержащих фиксаторов включаются формальдегид и уксусная кислота. В таких сложных фиксаторах происходят окислительно-восстановительные реакции, сопровождающиеся восстановлением Cr(VI) до Cr(III), окислением формальдегида до муравьиной кислоты и образования ацетата Cr(III). Однако кинетика этих процессов практически не изучена, а в руководствах по гистологической микротехнике дается только общее указание о необходимости использования хромсодержащих фиксаторов сразу после приготовления (Барыкина и др., 2004).

Еще меньше информации о деформации тканей в хромсодержащих фиксаторах. Имеются указания об уплотнении тканей, изменении объема ткани печени и других тканей и медленном проникновении хроматов в ткань (Baker, 1958).

В настоящей работе приведены результаты анализа деформации апикальной части корешков лука *Allium cepa* при фиксации в хромсодержащих фиксаторах — Навашина, Рего (Regaut) и Чиаччио (Ciaccio) и двух спиртсодержащих фиксаторах — ФАА (смесь формалина, спирта и уксусной кислоты) и спирт-формалиновом.

#### Материал и методика

В экспериментах использовали апикальные части корешков лука *Allium cepa* (сорт Штутгартер Ризен). Изучали продольную и объемную деформацию апикальной части корней лука при действии хромсодержащих фиксаторов: Навашина (хромовая кислота (1 %), формалин (16 %) и ледяная уксусная кислота в объемном соотношении 10 : 4 : 1), Рего (двуххромовокислый калий (3 %) и формалин (40 %) в объемном соотношении 80 : 20) и Чиаччио (двуххромовокислый калий (5 %), формалин (16 %) и ледяная уксусная кислота в объемном соотношении 80 : 20 : 5). Для сравнения изучали действие двух спиртсодержащих фиксаторов: ФАА (40 %-ный формалин, 70 %-ный этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в соотношении 100 : 7 : 7) и спирт-формалиновый фикса-

тор (96%-ный этиловый спирт и 40%-ный формалин в соотношении 94 : 6) (Барыкина и др., 2004). Для приготовления фиксаторов использовали реактивы фирмы Sigma.

Анализ цифровых изображений и статистический анализ результатов проводили при помощи программ AnalySis 5.0 (Olympus Soft Image System), 3d Studio Max v.5 (Autodesk) и Statistica 6.0 (StatSoft Inc.USA).

Детали метода подготовки корней лука и методы анализа деформации описаны в предыдущей работе (Буданцев, Демьянов, 2017а).

Спектральный анализ динамики изменения диссоциатов хромовой кислоты и бихромата калия в составе хромосодержащих фиксаторов проводили на спектрофотометре Спекорд UV-Vis (Цейсс, Германия). Использовали кюветы с длиной оптического пути 0.5 см. При измерении спектров поглощения исходные растворы фиксаторов разводили бидистиллированной водой в следующих соотношениях: фиксатор Навашина — 1 : 100, фиксатор Рего — 1 : 200 и фиксатор Чиаччио — 1 : 300.

## Результаты

Деформации апексов корней лука при фиксации в хром- и спиртсодержащих фиксаторах. Экспериментальные результаты измерения деформации апикальной части корней лука при действии трех хромосодержащих и двух спиртсодержащих фиксато-

ров приведены в табл. 1. Объемное сжатие измеряли раздельно для «зоны чехлика и меристемы» (длина 1 мм от кончика корня) и для «зоны растяжения» (длина 1 мм выше «зоны чехлика и меристемы»).

При фиксации в хромосодержащих фиксаторах Навашина и Чиаччио и в фиксаторе ФАА не отмечено продольного сжатия апексов корней лука. Абсолютные значения изменения длины апексов корней при фиксации показывают, что разница между контрольными образцами и образцами после действия фиксаторов не достигает уровня достоверности ( $P < 0.05$ ). В фиксаторе Рего наблюдалось продольное сжатие на 15—18 %, более сильное сжатие отмечено при фиксации в смеси спирт—формалин (23—25 %). В обоих случаях продольная деформация начиналась с первых минут фиксации.

Объемную деформацию апексов корней не наблюдали при фиксации во всех трех хромосодержащих фиксаторах, но в разной степени отмечали в спиртсодержащих фиксаторах. Наиболее сильно объемная деформация отмечена в «зоне чехлика и меристемы» (30—50 %) по сравнению с «зоной растяжения» (25—40 %).

Параллельно с изменением объемов моделей апексов корней изменялась площадь поверхности образцов корней в «зоне растяжения» и в «зоне чехлика и меристемы»: площадь не изменялась при действии хромосодержащих фиксаторов и изменялась в спиртсодержащих фиксаторах от 10 до 27 % в «зоне растяжения» и в диапазоне 18—47 % в «зоне чехлика и меристемы» (табл. 2).

Таблица 1

Продольная и объемная деформация апикальной части корней лука при действии фиксаторов

Время фиксации	Фиксатор Навашина	Фиксатор Рего	Фиксатор Чиаччио	Фиксатор ФАА	Фиксатор спирт + формальдегид
Продольная деформация (длина апексов, мм) и коэффициент ОПС					
<b>0 (Контроль)</b>	<b>3.15 ± 0.06 (10)</b>	<b>3.10 ± 0.04 (10)</b>	<b>2.59 ± 0.08 (9)</b>	<b>2.75 ± 0.09 (10)</b>	<b>2.67 ± 0.09 (10)</b>
10 мин	2.96 ± 0.07 (10)	2.64 ± 0.05 (9+) -0.148 <sup>a</sup>	2.46 ± 0.07 (10)	2.67 ± 0.09 (10)	2.05 ± 0.02 (10+) -0.232
3 ч	2.92 ± 0.05 (10+) -0.073	2.58 ± 0.05 (10+) -0.168	2.44 ± 0.07 (10)	2.67 ± 0.09 (10)	2.01 ± 0.03 (10+) -0.247
6 ч	2.96 ± 0.07 (10)	2.55 ± 0.05 (10+) -0.177	2.44 ± 0.07 (10)	2.65 ± 0.09 (10)	2.05 ± 0.02 (9+) -0.232
10 ч	2.95 ± 0.07 (10)	2.57 ± 0.05 (10+) -0.171	2.44 ± 0.07 (10)	2.53 ± 0.07 (10)	2.03 ± 0.03 (10+) -0.240
24 ч	2.99 ± 0.07 (10)	2.53 ± 0.04 (10+) -0.184	2.50 ± 0.06 (10)	2.69 ± 0.09 (10)	2.03 ± 0.02 (10+) -0.240
Объем «зоны растяжения» апексов (мм <sup>3</sup> ) и коэффициент ООС					
<b>0 (Контроль)</b>	<b>0.40 ± 0.03 (10)</b>	<b>0.37 ± 0.02 (10)</b>	<b>0.33 ± 0.01 (9)</b>	<b>0.33 ± 0.01 (10)</b>	<b>0.31 ± 0.02 (10)</b>
10 мин	0.34 ± 0.03 (10)	0.32 ± 0.01 (10+) -0.135 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.01 (10)	0.20 ± 0.01 (10+) -0.394	0.20 ± 0.01 (10+) -0.355
3 ч	0.40 ± 0.02 (10)	0.41 ± 0.02 (10)	0.31 ± 0.02 (10)	0.20 ± 0.01 (10+) -0.394	0.22 ± 0.01 (10+) -0.290
6 ч	0.36 ± 0.02 (10)	0.38 ± 0.01 (10)	0.32 ± 0.02 (10)	0.22 ± 0.02 (10+) -0.333	0.25 ± 0.02 (9)
10 ч	0.37 ± 0.02 (10)	0.33 ± 0.02 (10)	0.29 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.01 (10+) -0.424	0.23 ± 0.02 (10+) -0.258
24 ч	0.39 ± 0.02 (10)	0.32 ± 0.01 (10)	0.34 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.01 (10+) -0.424	0.21 ± 0.01 (10+) -0.322

Таблица 1 (продолжение)

Время фиксации	Фиксатор Навашина	Фиксатор Рего	Фиксатор Чиаччио	Фиксатор ФАА	Фиксатор спирт + формальдегид
Объем «зоны чехлика и меристемы» апексов (мм <sup>3</sup> ) и коэффициент ООС					
<b>0 (Контроль)</b>	<b>0.22 ± 0.01 (10)</b>	<b>0.22 ± 0.01 (10)</b>	<b>0.20 ± 0.01 (9)</b>	<b>0.19 ± 0.004 (10)</b>	<b>0.19 ± 0.01 (10)</b>
10 мин	0.18 ± 0.01 (10+) -0.182 <sup>б</sup>	0.21 ± 0.004 (10)	0.16 ± 0.01 (10+) -0.20	0.08 ± 0.005 (10+) -0.579	0.11 ± 0.007 (10+) -0.421
3 ч	0.19 ± 0.02 (10)	0.26 ± 0.01 (10+) 0.182	0.18 ± 0.01 (10)	0.10 ± 0.006 (10+) -0.474	0.13 ± 0.004 (10+) -0.316
6 ч	0.19 ± 0.01 (10)	0.26 ± 0.01 (10+) 0.182	0.18 ± 0.01 (10)	0.12 ± 0.006 (10+) -0.368	0.13 ± 0.005 (9+) -0.316
10 ч	0.20 ± 0.01 (10)	0.22 ± 0.01 (10)	0.17 ± 0.01 (10+)	0.10 ± 0.007 (10+) -0.474	0.13 ± 0.007 (10+) -0.316
24 ч	0.21 ± 0.01 (10)	0.21 ± 0.01 (10)	0.20 ± 0.01 (10)	0.09 ± 0.007 (10+) -0.526	0.12 ± 0.007 (10+) -0.368

Примечание. Здесь и в табл. 2: контроль — первая минута после выделения апексов (вода) до погружения в фиксатор; приведены средние значения и их ошибки; в скобках указано число измерений, а знаком «+» (если есть) — достоверность различия с контролем при  $P < 0.05$ . <sup>а</sup> Коэффициент относительного продольного сжатия (ОПС); <sup>б</sup> коэффициент относительного объемного сжатия (ООС).

Таблица 2

## Площади поверхности апексов корней лука при действии фиксаторов

Время фиксации	Фиксатор Навашина	Фиксатор Рего	Фиксатор Чиаччио	Фиксатор ФАА	Фиксатор спирт + формальдегид
Площадь поверхности «зоны растяжения», мм <sup>2</sup>					
<b>0 (Контроль)</b>	<b>3.06 ± 0.13 (10)</b>	<b>2.91 ± 0.09 (10)</b>	<b>2.72 ± 0.08 (9)</b>	<b>2.76 ± 0.06 (10)</b>	<b>2.61 ± 0.14 (10)</b>
10 мин	2.80 ± 0.15 (10)	2.59 ± 0.07 (10+) -11.0 % <sup>а</sup>	2.61 ± 0.06 (10)	2.03 ± 0.08 (10+) -26.5 %	2.06 ± 0.10 (10+) -21.1 %
3 ч	2.99 ± 0.11 (10)	3.04 ± 0.11 (10)	2.62 ± 0.10 (10)	2.02 ± 0.09 (10+) -26.8 %	2.11 ± 0.07 (10+) -19.2 %
6 ч	2.95 ± 0.10 (10)	2.99 ± 0.07 (10)	2.71 ± 0.09 (10)	2.22 ± 0.11 (10+) -19.6 %	2.31 ± 0.12 (9+) -11.5 %
10 ч	2.95 ± 0.11 (10)	2.75 ± 0.14 (10)	2.59 ± 0.11 (10)	1.97 ± 0.09 (10+) -28.7 %	2.17 ± 0.09 (10+) -16.9 %
24 ч	3.08 ± 0.10 (10)	2.71 ± 0.06 (10)	2.79 ± 0.08 (10)	2.01 ± 0.07 (10+) -27.2 %	2.14 ± 0.10 (10+) -18.0 %
Площадь поверхности «зоны чехлика и меристемы», мм <sup>2</sup>					
<b>0 (Контроль)</b>	<b>2.04 ± 0.06 (10)</b>	<b>2.03 ± 0.08 (10)</b>	<b>1.90 ± 0.06 (9)</b>	<b>1.89 ± 0.03 (10)</b>	<b>1.86 ± 0.08 (10)</b>
10 мин	1.84 ± 0.06 (10)	1.92 ± 0.04 (10+) -15.4 %	1.68 ± 0.04 (10+) -11.6 %	1.17 ± 0.04 (10+) -38.1 %	1.35 ± 0.05 (10+) -27.4 %
3 ч	1.97 ± 0.08 (10)	2.27 ± 0.07 (10+) 8.6 %	1.82 ± 0.06 (10)	1.36 ± 0.13 (10+) -28.1 %	1.47 ± 0.03 (10+) -21.0 %
6 ч	1.90 ± 0.05 (10)	2.28 ± 0.06 (10)	1.83 ± 0.06 (10)	1.39 ± 0.05 (10+) -26.5 %	1.49 ± 0.04 (9+) -19.9 %
10 ч	1.95 ± 0.07 (10)	2.05 ± 0.06 (10)	1.71 ± 0.04 (10+) -11.0 %	1.31 ± 0.05 (10+) -30.7 %	1.51 ± 0.05 (10+) -18.8 %
24 ч	2.01 ± 0.05 (10)	1.99 ± 0.04 (10)	1.97 ± 0.08 (10)	1.28 ± 0.04 (10+) -32.3 %	1.41 ± 0.05 (10+) -24.2 %

<sup>а</sup> Изменения площади поверхности относительно контроля, %.

Спектральный анализ хромсодержащих фиксаторов. В спектрах поглощения хромовой кислоты и хроматов имеются три максимума поглощения — 2 в ультрафиолетовой области (258 и 350 нм) и 1 минорный максимум в видимой области (436 нм) (Буданцев, 2015; Буданцев, Медведев, 2015). Результаты измерения динамики изменения оптической плотности максимумов растворов фиксаторов показали, что наиболее нестабильным является фиксатор Навашина, фиксатор Чиаччио более устойчив, а фиксатор Рего практически не изменяется в течение 24 ч после приготовления (табл. 3).

### Обсуждение

Известно, что хромовая кислота и ее соли (Cr(VI)) являются сильными окислителями. Добавление к ним формальдегида, сильного восстановителя, запускает окислительно-восстановительную реакцию, в результате которой Cr(VI) восстанавливается до Cr(III), а формальдегид окисляется до муравьиной кислоты. Присутствие в фиксаторах Навашина и Чиаччио уксусной кислоты приводит дополнительно к образованию ацетата хрома (Cr(III)).

Проведенный нами ранее спектральный анализ кинетики окислительно-восстановительной реакции в фиксаторе Навашина позволил сделать вывод о том, что «...фиксатор Навашина представляет неустойчивую в химическом отношении смесь, и фиксация происходит в нестационарном растворе переменного состава, включающего: хромовую кислоту, формальдегид, уксусную кислоту, муравьиную кислоту и ацетат хрома (III).» (Буданцев, 2015; Буданцев, Медведев, 2015).

Двуххромовокислый калий, входящий в состав фиксаторов Чиаччио и Рего, является менее сильным окислителем по сравнению с хромовой кислотой. Анализ изменения спектров поглощения фиксаторов Чиаччио и Рего показал, что состав этих фиксаторов более стабилен во времени по сравнению с фиксатором Навашина (табл. 3).

Представляет интерес наблюдение, показавшее что продольная деформация практически отсутствует в фиксаторах Навашина и Чиаччио, которые неустойчивы в растворе. Но в фиксаторе Рего, состав которого не изменяется в течение 24 ч, наблюдается продольное сжатие на 14—18 % от исходного состояния. Объемная деформация в «зоне растяжения» и в «зоне чехлика и меристемы» практически отсутствует в случае фиксации во всех трех хромсодержащих фиксаторах. Однозначного объяснения деформации в фиксаторе Рего нет. Единственное различие в составе фиксаторов заключается в том, что в фиксаторе Рего отсутствует уксусная кислота. Однако описано разрушительное влияние солей Cr(III) на цитоплазму клеток и внутриклеточные структуры (Kierpan, 1985). Хорошо известно, что катионы хрома (VI и III) образуют координационные связи с карбоксильными группами белков, что может иметь значение для стабилизации белков и быть причиной разного уровня сжатия в хромсодержащих фиксаторах.

Другая особенность хромсодержащих фиксаторов — медленное проникновение хроматов и хромовой кислоты (Cr(VI)) в ткань по сравнению с формалином и уксусной кислотой (Baker, 1958; Dempster, 1960). Данные о скоростях проникновения солей хрома (III) и влиянии про-

Таблица 3

### Оптическая плотность хромсодержащих фиксаторов в разное время после их приготовления

Фиксатор и время после приготовления, ч	Максимумы поглощения, нм		
	258	350	436
Фиксатор Навашина:			
0 (контроль)	0.74	0.53	0.08
3	0.40	0.26	0.07
6	0.30	0.24	0.07
24	0.20	0.08	0.02
Фиксатор Чиаччио:			
0 (контроль)	0.88	0.64	0.11
3	0.82	0.59	0.08
6	0.82	0.59	0.08
24	0.74	0.51	0.07
Фиксатор Рего:			
0 (контроль)	1.15	0.70	0.10
3	1.14	0.68	0.10
6	1.14	0.68	0.10
24	1.12	0.67	0.10

Примечание. Контроль — первая минута после приготовления фиксатора. Даны значения оптической плотности для кюветы с длиной оптического пути 0.5 см при разведении фиксаторов, указанных в разделе «Материал и методика».

дуктов окисления формальдегида на структуру клеток отсутствуют.

В спиртсодержащих фиксаторах продольное сжатие сильно выражено в смеси спирта и формалина и практически отсутствует в фиксаторе ФАА. Однако объемное сжатие наблюдается при фиксации в обоих фиксаторах и более сильно выражено в «зоне чехлика и меристемы» по сравнению с «зоной растяжения». В спиртсодержащих фиксаторах Кларка и Карнуа, изученных в предыдущей работе (Буданцев, Демьянов, 2017б), наблюдалось сжатие так же, как в фиксаторе спирт—формалин. Считается, что спирт вызывает сжатие ткани, а уксусная кислота — набухание. Однако полученные нами данные показали, что во всех спиртсодержащих фиксаторах, содержащих дополнительно только уксусную кислоту или в дополнение хлороформ и формальдегид, происходит продольное и объемное сжатие апексов корней (исключение — отсутствие продольного сжатия в ФАА).

Параллельно объемному сжатию апексов корней в хромсодержащих и спиртсодержащих фиксаторах изменяется площадь поверхности (табл. 2, а также см. результаты, описанные в предыдущей работе (Буданцев, Демьянов, 2017б)).

Механизм фиксации в сложных хромсодержащих фиксаторах, в которых происходит окислительно-восстановительные реакции с первых минут после их приготовления, требует исследования, так как иначе использование этих фиксаторов происходит «втемную» и результат фиксации непредсказуем.

Очевидно, что деформация апексов корней при химической фиксации в «зоне чехлика и меристемы» и в «зоне растяжения» связана с особенностями морфологической

организации этих зон первичного корня лука. «Зона растяжения» состоит из клеток в начальной стадии опробковения и развитой системой специальных слоев клеток перицикла и эпидермиса по сравнению с менее плотной упаковкой клеток в области чехлика и меристемы. К сожалению, отсутствуют экспериментальные данные о вязкости и упругих свойствах тканей, включая значения модулей упругости в этих зонах апикальной части корней. Изучение этих свойств может иметь значение не только для понимания деформаций при химической фиксации, но и для изучения биомеханики роста корней и изучения роли механических сил в механизмах регуляции дифференцировки клеток в апикальной части корней.

### Список литературы

- Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятков А. Г., Джалилова Х. Х., Ильина Г. М., Чубатова Н. В. 2004. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: МГУ. 311 с. (Barykina R. P., Veselova T. D., Devyatov A. G., Djalilova Kh. Kh., Ilyina G. M., Chubatova N. V. 2004. Handbook for botanical microtechnic. Moscow: Moscow Univ. Publ. 311 p.)
- Буданцев А. Ю. 2015. Гистологический процессинг. М.: Наука. 132 с. (Budantsev A. Yu. 2015. Histological processing. Moscow: Nauka. 132 p.)
- Буданцев А. Ю., Демьянов А. Ю. 2017a. Деформация тканей в ходе гистологического процессинга. I. Методы морфометрической оценки деформаций. Цитология. 59 (5) : 362—368 (Budantsev A. Yu., Demyanov A. Yu. 2017a. Deformations during histological tissue processing. I. Methods for morphometric analysis of deformations. Tsitologiya (Russian). 59 (5) : 362—368.)
- Буданцев А. Ю., Демьянов А. Ю. 2017b. Деформация тканей в ходе гистологического процессинга. II. Действие формальдегида и спиртосодержащих фиксаторов на апикальную часть корней лука. Цитология. 59 (6) : 447—454. (Budantsev A. Yu., Demyanov A. Yu. 2017b. Deformations during histological tissue processing. II. Effects of formaldehyde and alcohol-containing fixatives on root apex of *Allium*. Tsitologiya (Russian). 59 (6) : 447—454.)
- Буданцев А. Ю., Медведев Б. И. 2015. Спектральный анализ фиксатора Навашина. Современные проблемы науки и образования. 5. 8 стр. (www.science-education.ru/128-22419) (Budantsev A. Yu., Medvedev B. I. 2015. The spectral study of Navashin fixative. Modern problems of science and education. (www.science-education.ru/128-22419.)
- Левитский Г. А. 1931. Опыт цитологического анализа фиксационного действия хром-ацетат-формола. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. 27 (1) : 3—8. (Levitsky G. A. 1931. Cytological analysis of chrom-acetate-formol fixative. Bull. Appl. Botany, Genetic and Selection. 27 (1) : 3—8.)
- Левитский Г. А. 1976. Сравнительное исследование хондриосом в живых и фиксированных клетках растений. В кн.: Левитский Г. А. Цитология растений. Избр. тр. М.: Наука. 216—234. (Levitsky G. A. 1976. Comparative study of chondriosomes in native and fixative plant cells. In: Levitsky G. A. Plant Cytology. Moscow: Nauka. 216—234.)
- Лилли Р. 1969. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир. 845 с. (Lillie R. D. 1965. Histopathologic technic and practical histochemistry. 3th ed. New York; London: McGraw-Hill Book Publ. 845 p.)
- Навашин С. Г., Герасимова-Навашина Е. И. 1958. Об изучении клеточных процессов на фиксированном материале. Бот. журн. 43 (2) : 167—177. (Navashin S. G., Gerasimova-Navashina E. I. 1958. Studing of cell processes on the fixative tissues. Bot. J. (Russian). 43 (2) : 167—177.)
- Ромейс Б. 1954. Микроскопическая техника. М.: Изд-во иностран. лит-ры. 718 с. (Romeis B. 1954. Mikroskopicheskaja Tekhnika. Moscow: Izd. Inostr. Lit. 718 p.)
- Baker J. 1958. Principles of biological microtechnique. A study of fixation and dyeing. London: Methuen and Co Ltd; New York: John Wiley and Sons Inc. 357 p.
- Berlyn G. P., Micksche J. P. 1976. Botanical microtechnique and histochemistry. Ames, Iowa: State Univ. Press. 321 p.
- Dempster W. T. 1960. Rates of penetration of fixing fluids. Amer. J. Anat. 107 : 59—72.
- Kiernan J. A. 1985. The action of chromium (III) in fixation of animal tissues. Histochem. J. 17 : 113—146.
- O'Brien T. P., McCully M. E. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. Melburn, Australia: Termarcarphi Pty. Ltd. 390 p.
- Zirkle C. 1928. The effect of hydrogen ion concentration upon the fixation image of various salts of chromium. Protoplasma. 4 : 201—227.
- Zirkle C. 1929. Fixation images with chromates and acetates. Protoplasma. 5 : 511—534.

Поступила 3 V 2017

### DEFORMATIONS OF TISSUES AT HISTOLOGICAL PROCESSING. III. EFFECTS OF CHROMIUM-CONTAINING FIXATIVES ON ROOT APEX OF *ALLIUM*

A. Yu. Budantsev,<sup>1</sup> A. Yu. Demyanov

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Puschino, 142290;

<sup>1</sup> e-mail: budantsev@mail.ru

Longitudinal deformation (shrinkage) apical zone of the root *Allium cepa* pronounced during fixation in formalin mixture + alcohol (about 24 %). The chromium fixatives: Navashin, Regaut and Ciaccio and in fixatives: FAA (formalin + ethyl alcohol + acetic acid) and ethyl alcohol + formalin there are a tendency to shrinkage, but the difference between control and experimental samples of roots is not reliable. The volumetric deformation to the «stretching zone» and the «zone of the cap root and meristem» is not observed when using chromium-containing fixatives. In the alcohol-containing fixatives, volumetric compression is more pronounced in the «zone of the cap root and meristem» (30—57 %) compared to with the «stretching zone» (25—40 %). The longitudinal and volume deformations observed usually during the first minutes of fixation and then varies slightly for 24 h. The quantitative data of these deformations are presented. Spectral analysis showed changes in the composition of chromium fixatives retainers after preparation due to redox reactions between reagents, included in their composition.

Key words: chemical fixation, the deformation apical part of the root during fixing, fixatives Navashin, Regaut, Ciaccio, FAA and the alcohol-formalin, the absorption spectra of chromium fixatives.