

ДЕЙСТВИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА И ФИКСАТОРА КЛАРКА НА МОРФОЛОГИЮ КЛЕТОК ВОЛОСКОВ ТЫЧИНОЧНЫХ НИТЕЙ ТРАДЕСКАНЦИИ (МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ)

© 2019 г. А. Ю. Буданцев*

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, 142290 Россия

*E-mail: budantsev@mail.ru

Поступила в редакцию 26.02.2019 г.

После доработки 21.03.2019 г.

Принята к публикации 22.03.2019 г.

Апикальные клетки волосков тычиночных нитей традесканции (КВТН) практически не изменяют своей формы при фиксации в формалине (сжатие клеток происходит в одинаковой степени в продольном и поперечном направлении). Срединные и базальные клетки приобретают более укороченную форму, так как наибольшее сжатие происходит вдоль продольной оси клеток. Сжатие клеток приводит к уменьшению их объема и площади поверхности. Формалин вызывает в клетках плазмолиз, наиболее сильно выраженный в базальных клетках, меньше в срединных и апикальных клетках. Усиление вариабельности морфометрических параметров КВТН после фиксации, по сравнению с контрольными клетками, по-видимому, связано с разной степенью деформации отдельных клеток в формалине. После фиксации в формалине клетки обесцвечиваются, хорошо сохраняются клеточная стенка и ядра с четко обозначенными хроматиновыми структурами. В цитоплазме отмечается появление мелких ячеистых структур. После фиксатора Кларка наблюдается сжатие цитоплазмы и ядер, клеточная стенка теряет свою упругость, местами она образует складки, клетки теряют свою нативную форму, волоски сильно искривлены. Наиболее сильные изменения отмечены в группе апикальных клеток. Таким образом, фиксатор Кларка, при выбранных условиях фиксации, приводит к резким нарушениям формы КВТН, что не позволяет провести их морфометрический анализ.

Ключевые слова: клетки тычиночных нитей, традесканция, химическая фиксация, формальдегид, фиксатор Кларка, морфологические артефакты, морфометрический анализ

DOI: 10.1134/S0041377119060026

Хорошо известно, что формальдегид и его смеси с другими соединениями являются наиболее часто используемыми химическими фиксаторами при изготовлении постоянных препаратов для микроскопического анализа клеток и тканей животных и растений. Также известно, что формальдегид вызывает сшивание белковых молекул, образуя между ними метиленовые мостики. Однако показано, что формалинсодержащие фиксаторы приводят к изменению и разрушению молекулярной структуры белков и нуклеопротеидов (Dapson, 1993; Srinivasan et al., 2002; Ваганова, 2015 и др.).

Относительно нарушения морфологической структуры клеток и тканей, фиксированных в формалине, имеется неоднозначное мнение, но в большинстве случаев отмечается сжатие ткани (Baker, 1958; O'Brien, McCully, 1981; Барыкина и др., 2004; Kiernan, 2008 и др.).

Фиксатор Кларка — известный спиртсодержащий фиксатор, быстро проникает в ткань и вызывает ее значительное сжатие (Baker, 1958; Berlin, Miksche, 1976).

В данной работе приведены результаты морфологического и морфометрического анализа геометрии клеток волосков тычиночных нитей традесканции (КВТН) после фиксации в забуференном растворе формальдегида и морфологического анализа действия фиксатора Кларка на КВТН.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проведены на КВТН, выделенных из *Tradescantia pallida*, выращенной в обычном цветочном грунте в условиях естественного освещения (июнь 2018 г.). Были изучены волоски из полностью раскрытых цветков (489 клеток). Волоски, вместе с небольшим кусочком тычиночной нити, помещали в забуференный раствор формалина (фосфатный буфер, pH ≈ 7.0) (Sigma, США) или в фиксатор Кларка — смесь 100%-ного этанола с ледяной уксусной кислотой (в соотношении 3 : 1, v : v, формула Фармера, (Berlin, Miksche, 1976)). Для удаления воздуха из препаратов КВТН в начале фиксации в формалине проводили вакуумную инфльтрацию клеток (давление над фиксатором около 300 мм рт. ст.) в течение