

# 蚕豆根尖细胞化学 Feulgen 反应

刘沛雨 2100012289 信息科学技术学院

**摘要：**本次实验以蚕豆根尖作为实验对象，通过 Feulgen 反应对蚕豆根尖细胞的 DNA 进行染色，探究蚕豆根尖不同生长区域内 DNA 的分布与密度。分别对蚕豆根尖的分生区与伸长区进行染色和观察，实验结果表明两个区域在染色强度上存在显著差异。进一步通过对这些区域细胞的分裂活动指数进行统计，以及对细胞面积的测量和比较，近似计算得出了这两个区域内单位面积 DNA 含量的具体值。数据分析显示，分生区内的 DNA 密度显著高于伸长区，从而解释了分生区与伸长区在染色表现上不同的原因，以及根尖生长过程中细胞分裂与 DNA 含量变化的内在联系。

**关键词：**蚕豆根尖；Feulgen 反应；分生区；伸长区；DNA 含量；细胞分裂指数

## 1 引言

Feulgen 反应是一种特异性细胞化学染色技术，主要用于检测细胞内的 DNA。该反应由 Feulgen 等人在 1924 年首次提出。

Feulgen 反应的关键在于使用 HCl 水解 DNA，将其中的嘌呤和嘧啶部分去除，从而暴露出 DNA 骨架上的醛基。接着，利用 Schiff 试剂与暴露出的醛基反应，使 DNA 呈现出紫红色。

本次实验设计了两组子实验：1) 在 Feulgen 反应中 HCl 处理换为 H<sub>2</sub>O 以及在 HCl 处理前使用 5%三氯乙酸（TCA，会破坏 DNA 结构）处理蚕豆根尖。2) 通过计数分生区间期细胞和分裂期细胞的数目，计算得到蚕豆根尖分生区细胞的分裂指数。

同时，通过计算分生区和伸长区细胞的面积，可以计算出单位面积下两个区域 DNA 的相对含量与密度，进而推测分生区染色较深的原因。

## 2 实验材料与方法

### 2.1 实验材料

蚕豆根尖，水，70%乙醇，1N HCl，Schiff 试剂，偏重亚硫酸钠，5% 三氯乙酸（TCA）。

### 2.2 实验步骤

实验开始前助教已将蚕豆根尖固定好并浸泡在 70%乙醇中。实验开始时将蚕豆根尖（共 6 根）在 H<sub>2</sub>O 中浸洗 3 min，之后将根尖 2 个一组分为三组：实验组（EXP），H<sub>2</sub>O 对照组，TCA 对照组。实

验组放入 1N HCl 中，60℃水浴 8 min；H<sub>2</sub>O 对照组放入 H<sub>2</sub>O 中 60℃水浴 8 min；TCA 对照组放入 5%三氯乙酸（TCA）中 90℃水浴 15 min 后，再放入 1N HCl 中 60℃水浴 8 min。在此过程中准备 Schiff 试剂和漂洗用的偏重亚硫酸钠溶液。待水浴完成后，将三组蚕豆根尖分别放入 3 个装有 Schiff 试剂的 EP 管避光反应 20 min，每 5 min 观察一次染色情况，染色完成后分别将各组根尖放入偏重亚硫酸钠与盐酸的混合溶液中漂洗 3 次，每次 3 min。

最后制片观察。在实验组根尖分生区（尖端）和伸长区（后端）各取约 1mm 组织放在滴有水的载玻片上，盖上盖玻片，用镊子柄轻轻敲打盖玻片至细胞分散为云雾状。对 H<sub>2</sub>O 组和 TCA 组取根尖分生区组织，进行同样的压片操作。压片完成后将样品置于显微镜下观察，用与显微镜连接的平板测量细胞大小。注意在不观察样品时，要保持样品湿润。

### 3 实验结果

#### 3.1 Feulgen 反应结果

实验组（EXP）、H<sub>2</sub>O 组和 TCA 组根尖染色结果见图 1：实验组根尖整体染色较深，分生区被染为深紫色，伸长区被染为浅紫色；H<sub>2</sub>O 组根尖整体几乎无色，部分区域显出极浅的紫色；TCA 组根尖分生

区被染为淡紫色，其余区域无色。结果整体与预期相符，TCA 组根尖分生区被染为浅紫色的现象需要进一步讨论。

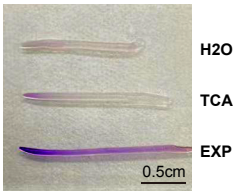


图 1 Feulgen 染色后的根尖对比

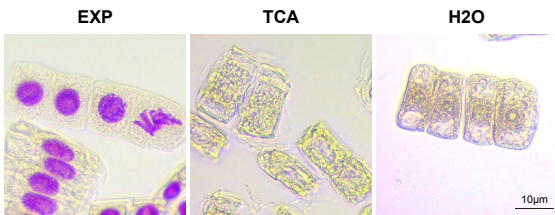


图 2 实验组和对照组根尖分生区细胞

三组根尖的分生区组织压片后在显微镜下的观察结果见图 2：实验组中可以明显观察到细胞核被染为紫色，而 TCA 组和 H<sub>2</sub>O 组细胞中未观察到紫色。结果与预期相符。

#### 3.2 实验组根尖分生区细胞与伸长区细胞的染色情况

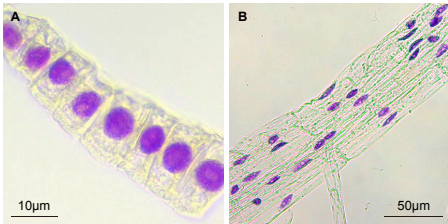


图 3 实验组根尖分生区和伸长区细胞  
A：分生区细胞；B：伸长区细胞

实验组根尖分生区与伸长区的染色情况如图 3 所示：镜下分生区细胞大致呈正

方形，被染为深紫色的细胞核区域在细胞总面积中占比较大；伸长区细胞大致呈长方形，被染为深紫色的细胞核区域在细胞总面积中占比较小。据此现象，可以推断根尖分生区与伸长区染色的差异源自细胞中DNA密度的差异（具体统计与计算见讨论部分）。

3.3 实验组根尖分生区细胞的细胞周期

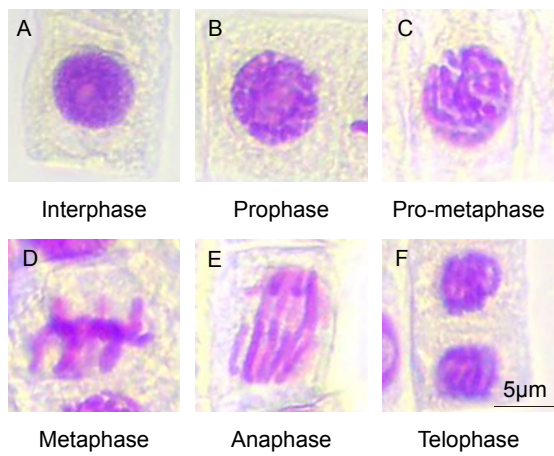


图 4 实验组根尖分生区细胞的细胞周期

在实验组根尖分生区细胞中可观察到大量处于分裂期的细胞，处于各阶段的细胞如图 4 所示。间期细胞细胞核中可见染色较浅的圆形区域，应为核仁结构。分裂期可见核膜解体，染色质凝集形成染色体，染色体排布在赤道板上，以及染色体分离并最终形成两个新的子细胞等现象。

4 讨论

4.1 根尖染色不均原因探究

根据前文分析，我们可以通过分别估算根尖分生区和伸长区细胞的平均DNA密度来解释根尖染色不均的现象。

首先估算分生区和伸长区的细胞在显微镜下的平均面积（表 1）。通过计算发现，伸长区的平均细胞大小远大于分生区的平均细胞大小，前者约为后者的 8 - 9 倍。

	分生区			伸长区		
	长	宽	面积	长	宽	面积
	/µm	/µm	/µm <sup>2</sup>	/µm	/µm	/µm <sup>2</sup>
1	23.1	18.9	436.6	129.9	22.9	2974.7
2	23.4	17.2	402.5	125.9	29.6	3726.6
3	33.1	22.4	741.4	145.3	31.9	4635.7
4	22.4	15.8	353.9	111.1	36.3	4032.9
5	28.7	20.2	579.7	179.5	28.7	5151.7
6	24.2	13.3	321.9	138.0	23.2	3201.6
7	18.5	15.5	286.8	154.6	29.1	4498.9
8	27.5	13.3	365.8	120.6	20.3	2448.2
9	26.6	18.6	494.8	129.1	31.0	4002.1
10	22.0	16.8	396.6	95.9	39.4	3778.5
平均值			438.0			3845.1

表 1 实验组根尖分生区与伸长区细胞的大小

之后统计分别统计分生区与伸长区处于分裂间期和分裂期的细胞数量，计算两区域的有丝分裂指数（处于有丝分裂中期的细胞在所有细胞中的百分比），进而根据已有数据计算得出DNA密度，如表2所示（用作统计的图像见附件）。不难发现

分生区细胞的 DNA 密度远高于伸长区的 DNA 密度，二者相差约一个数量级。

	分生区	伸长区
统计的细胞数	271	222
分裂期细胞数	65	0
有丝分裂指数	1.10%	0.00%
平均细胞大小	438.0 $\mu\text{m}^2$	3845.1 $\mu\text{m}^2$
DNA 密度	0.00231 $\mu\text{m}^{-2}$	0.00026 $\mu\text{m}^{-2}$

表 2 实验组分生区和伸长区的 DNA 密度

4.2 TCA 组根尖分生区细胞的状态

图 1 中 TCA 组根尖被染为浅紫色，并且观察到有部分细胞出现不同程度的破损。以上现象可能是由于 TCA 处理不彻底，细胞内残留的 DNA 被染为紫色，同时由于根尖分生区细胞密度较大，导致根尖分生区显现出浅紫色；部分细胞出现破损可能是由于 HCl 处理时间稍长并且压片时用力过猛。

4.3 有丝分裂指数与 DNA 密度测定的可能误差来源

4.3.1 图像比例关系

实验过程中用 iPad 拍摄的图像无法正常显示图片的比例尺，本次实验图像中所有比例尺均通过图像的像素大小换算得到，可能存在一定程度上的误差，从经验上判断换算得到的长度略大于实际长度。

4.3.2 细胞大小测量

同一区域内细胞大小差异较大并且细胞边界不清晰，可能导致漏算错算的情况。应尽量增大数据规模，通过测量尽可能多的细胞来减小误差。

4.3.3 DNA 密度的计算

实验观察到的根尖分生区处于分裂期的细胞数较少，原因是存在一些难以判断是处于间期还是有丝分裂前期的细胞，在此全部算作间期细胞，因此可能导致分生区 DNA 密度偏低。本实验中用单位面积 DNA 含量的多少来表示 DNA 密度，应当用单位体积 DNA 含量更为准确。

5 总结

本次实验通过 Feulgen 反应探索了蚕豆根尖不同生长区域内 DNA 的分布和密度。通过对分生区与伸长区进行染色观察和 DNA 含量的统计分析，实验结果揭示了两个区域在染色强度和 DNA 密度上的显著差异。分生区的 DNA 密度明显高于伸长区，这是 Feulgen 反应只将根尖分生区染出深紫色的直接原因。此外，通过对细胞分裂指数的计算，以及对细胞面积的测量和比较，本实验不仅验证了 Feulgen 反应在细胞化学染色中的应用价值，也为分析植物生长动态提供了重要的细胞学依据。