

国家级实验示范中心配套教材

普通生物学实验

General
Biology
ExperimentS

陈炳华 主编



科学出版社

国家级实验示范中心配套教材

普通生物学实验

陈炳华 主 编

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书是在多年教学实践的基础上编写而成,包括基本实验技术及原理、基础性实验、综合性实验和附录4个部分,其中基础性实验20个,综合性实验8个。具体内容涵盖显微镜操作及制片技术、动植物解剖和组织学、细胞学基础实验技术、动植物标本的采集和制作、生理生化和分子生物学基本实验技术、生态学基础等方面。内容新颖,涉及面广。

本书可作为高等院校生物技术、生物工程等专业本科生的教材,也可供相关专业的教师和学生参考。

图书在版编目(CIP)数据

普通生物学实验 / 陈炳华主编. —北京: 科学出版社, 2012.7

国家级实验示范中心配套教材

ISBN 978-7-03-034631-5

I. ①普… II. ①陈… III. ①普通生物学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q01-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第117593号

责任编辑: 陈 露 封 婷 景艳霞 / 责任校对: 宣 慧

责任印制: 刘 学 / 封面设计: 殷 靓

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年7月第 一 版 开本: B5 (720 × 1000)

2012年7月第一次印刷 印张: 10 1/4

字数: 188 000

定价: 24.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《普通生物学实验》编辑委员会

主 编 陈炳华

副主编 李守淳

编 委 (按姓氏笔画排序)

王 伟 龙婉婉 李守淳 张怀宇

张艳杰 陈炳华 林 琼 林雄平

高媛媛 曹玲珍 蔡建秀

前 言

《普通生物学实验》课程与《陈阅增普通生物学》（第3版）课程同时进行，希望通过实验，学生的操作能力得到增强，对生物基本结构的整体了解有所加深，更重要的是为学习生命科学中其他相关课程，如细胞生物学、遗传学、生物化学、分子生物学等做好基础准备，提高学生的学习兴趣。因此，本书以普通生物学实验中的基本操作、基本技能和理论为基础，以培养学生的创新意识和实践能力为目标，精选、重组验证性实验，增设综合性实验，总体安排上突出动植物的基础性实验，并适当与后续课程的实验内容相对错开，避免重复。总之，我们拟建立一个既与理论课有一定互补性，又具有相对独立性的实验体系，力求在培养学生动手能力的同时，也培养学生的独立思考和综合分析能力。

本书分为4个部分。第1部分是基本实验技术及原理；第2部分是基础性实验；第3部分是综合性实验；第4部分是附录。其中每个实验都有相关的实验原理介绍，并强调实验材料易得、方法易行、实验结果明显。实验后有作业及思考题，旨在启发学生思维，开阔思路。

本书可作为生物工程、生物技术专业的基础实验教材。编者力求使之具备实用性、可操作性，以满足普通生物学实验的教学需要。但是，由于水平有限，不足和不当之处，恳请各位同仁和学生批评指正。

编 者

2012年3月

目 录

前言

第 1 部分 基本实验技术及原理

第一章 显微镜的构造和使用方法	1
第二章 生物组织制片技术	7
第三章 实验报告的撰写	13

第 2 部分 基础性实验

实验 1 细胞(含血细胞)显微结构的观察	15
实验 2 生物组织的基本类型及其特点观察	20
实验 3 细胞质运动及组织渗透势的测定(质壁分离法)	28
实验 4 花色素的提取及纸上色谱分离	30
实验 5 蒽酮法测定植物组织中可溶性糖的含量	33
实验 6 蒜根尖有丝分裂染色体标本制备及观察	35
实验 7 果蝇唾腺染色体标本的制备与观察	38
实验 8 人类体细胞染色体标本制备与核型分析	41
实验 9 草履虫的形态结构与活动	44
实验 10 水螅的观察和螯虾的解剖观察	47
实验 11 鱼类的外形观察和内部解剖	53
实验 12 牛蛙的解剖观察	59
实验 13 脊髓反射和反射弧的分析	67
实验 14 人体动脉血压的测定	70
实验 15 ABO 血型的鉴定	73
实验 16 昆虫展翅标本和叶脉标本的制作	75
实验 17 被子植物的花解剖观察	80
实验 18 校园及其周边地区植物和鸟类多样性的调查	86
实验 19 植物基因组 DNA 和质粒 DNA 的提取及其电泳检测	91
实验 20 基因的 PCR 扩增	97

第 3 部分 综合性实验

实验 21 水体浮游生物的调查及其与水质的关系	100
-------------------------------	-----

实验 22	草履虫的培养和在有限环境中的种群增长	105
实验 23	光照、温度对种子萌发的影响	108
实验 24	实验室环境和人体表面微生物的检查	110
实验 25	生境与植物叶片形态结构、气孔分布的关系	114
实验 26	植物总黄酮的提取分离及其含量测定	117
实验 27	植物群落的特征调查及分析	122
实验 28	生物微核对环境污染的指示	125
参考文献		128

第 4 部分 附 录

附录一	南方常见栽培的校园种子植物名录	130
附录二	校园及周边区域常见的鸟类名录	136
附录三	生物绘图	139
附录四	生物实验材料的采集、培养和保存方法	142
附录五	生物标本的制作	149

第 1 部分 基本实验技术及原理

第一章 显微镜的构造和使用方法

一、显微镜的构造与使用

显微镜是观察研究细胞结构、组织特征和器官结构的重要工具。显微镜的种类很多,可分为光学显微镜和电子显微镜两大类。以可见光作为光源的光学显微镜又可分为单式与复式两大类。单式显微镜结构简单,常用的如扩大镜,由一个透镜组成,放大倍数在 10 倍以下。构造较复杂的单式显微镜为解剖显微镜,也称为实体显微镜,是由几个透镜组成的,其放大倍数在 200 倍以下。单式显微镜放大的物像是和实物方向一致的虚像。

复式显微镜的结构复杂,至少由两组以上的透镜组成,放大倍数较高,是最常用的显微镜。其有效放大倍数可达 1250 倍,最高分辨率为 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 。复式显微镜的种类虽然很多,结构繁简不同,但都包括光学系统和机械装置两大部分(图 0-1)。

1. 机械装置

机械装置包括以下几个部分。

(1) 镜座。显微镜的底座,用来支持整个镜体,使显微镜放置稳固。含内光源的显微镜,其电源变压器、调压器和光源均安装在镜座内。

(2) 镜臂。固定镜筒的结构,又是取放显微镜时手握的部位。镜臂有固定式和活动式两种。

(3) 载物台。方形或圆形,为载放标本的平台,中央有通光孔,以通过照明光线,照亮标本。载物台一般装有标本移动器,将标本固定后,能前、后、左、右移动,便于观察。移动器上有标尺,根据上面的刻度,可确定标本的位置或便于找到更换后的视野,还可用于测量标本的大小。

(4) 镜筒。为显微镜上部圆形中空的长筒,标准长度一般为 160 mm,与水平呈 $35^{\circ}\sim 45^{\circ}$ 倾斜,上接插入目镜,下端连接物镜转换器。双筒中的一个或两个目镜接口处有屈光度调节装置(视度圈),用于两眼视力不同时调节。

(5) 物镜转换器。接于镜筒下端的圆盘,可自由转动。盘上有 4 或 5 个螺旋

圆孔，为安装物镜的部位。当旋转转换器时，物镜即可固定在使用的位置上，保证物镜与目镜的光线合轴。

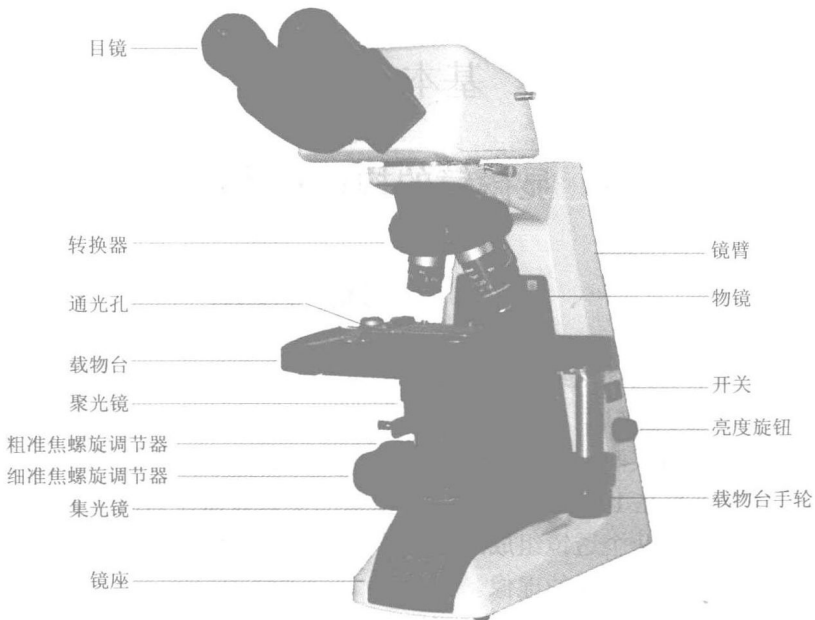


图 0-1 显微镜的构造

(6) 调焦装置。调焦装置是调节物镜和标本间距离的装置，有粗准焦螺旋调节器(简称为粗调)和细准焦螺旋调节器(简称为细调)之分，利用它们可使镜筒或载物台上下移动，以得到清晰的图像。较好的显微镜粗调和细调是共轴式的，在细调节器外侧还有刻度，用于测量被检物体的厚度。一般粗调节器是一对较大的旋钮，其旋转一周镜筒向上或向下移动约 2 mm；细调节旋钮是一对较小的旋钮，其旋转一周时镜筒可向上或向下移动约 0.1 mm。左手或右手均可独立转动此旋钮。

(7) 聚光器调节旋钮。在镜臂的一侧，旋转它，可使聚光器上下移动，以改变光线的入射角度，调节光的强度。

2. 光学系统

由成像系统和照明系统组成。成像系统包括物镜和目镜，照明系统包括聚光器(也称为聚光镜)。反光镜(利用自然光照明的显微镜配有)，在内光源的显微镜中装有光源和集光镜。

(1) 物镜。物镜是显微镜最重要的光学部件，也是决定显微镜质量和分辨能力的关键部件，安装于镜筒下端的物镜转换器上。短的是低倍物镜，长的是高倍物镜。物镜外壳上刻有几种重要的光学技术参数。

放大倍率，如 4×、10×、40×、100×等。放大倍率为 100 的是油镜，使用时物

镜与盖玻片之间要加以香柏油(或甘油、液状石蜡)作为介质。数值孔径(NA), 是物镜性能高低的重要标志, 与分辨率呈正相关。干燥系物镜的 NA 值小于 1; 油浸系物镜的 NA 值大于 1。此外标记数 160, 是指标准镜筒的长度; 标记数 0.17, 是指该物镜要求盖玻片的标准厚度(mm), 若大于或小于这个厚度, 会带来覆盖差。

每个物镜由透镜组合而成, 最前面的透镜称为前透镜, 最后面的透镜称为后透镜, 物镜前透镜与被检物体之间的距离为工作距离, 每种物镜的工作距离不同(表 0-1)。当用某一倍率的物镜观察图像清晰后, 再转换另一倍率的物镜时, 其成像应基本清晰, 即齐焦; 且像的中心偏离应在一定允许的范围内, 即合轴。齐焦性能的优劣和合轴程度的高低是显微镜质量的一个重要标志。

表 0-1 常用显微镜的放大倍数、数值孔径和工作距离

物镜放大倍数	数值孔径(NA)	工作距离/mm
0×	0.25	7.63
40×	0.65	0.53
100×	1.25	0.198

(2) 目镜。装于镜筒上端, 由两块透镜组成, 放大倍率为 10×、16×等。目镜内常装有一段头发, 在视场中则为一黑线, 称为指针(一段 5 mm 左右的头发, 用镊子夹住, 一端沾上少许树胶, 装入目镜制成), 可用以指示所要观察物体的部位。

物体最后被放大的倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积, 如目镜是 10×, 物镜是 40×, 则物体最后放大的倍数是 $10 \times 40 = 400$ 。

(3) 聚光器。装于载物台下方的升降架上, 由一组凸透镜组成。聚光器的作用是汇聚光线照明标本。聚光器的下面装有一光圈, 并有一控制光圈开闭的手柄。由于光圈开闭的方式很像眼睛的虹彩, 故有的书上称其为彩虹光圈, 此光圈也称为孔径光圈或孔径光阑。聚光器可以上下调节, 用高倍镜时, 视野范围小, 则需上升聚光器; 用低倍镜时, 视野范围大, 可下降聚光器。

(4) 反光镜。利用自然光照明的显微镜都装有反光镜。反光镜的镜架允许反光镜在任意方向旋转, 因此可以在不移动显微镜的情况下将反光镜对准从前、左、右任意角度射来的光线。反光镜常有两个面, 一个是平面镜, 一个是凸面镜, 安装在弧弓上, 可自由翻转, 以使光线射向聚光器。光线强时用平面镜, 光线微弱时用凹面镜。

(5) 内光源照明系统。较高档的显微镜及研究用显微镜都使用内光源照明。在镜座下装有变压器、灯泡, 通过变压器将市电转变为低电压, 并且通过调节灯泡的工作电压改变照明的亮度。灯泡发出的光线通过一定的光路, 透过一个可以汇集光线的凸透镜——集光镜后, 射向聚光器。

二、显微镜的成像原理

显微镜的物镜和目镜各由若干透镜组成，但可以看成一个凸透镜。根据凸透镜成像原理，光线自聚光器向上透过实验标本(标本应是透明的)进入物镜，然后在目镜的焦点平面(光阑部位)形成一个经第一次放大的倒置实像。此像经过目镜的进一步放大到达眼球视网膜。这样，我们最后看到的物像，是经两次放大的、方向相反的倒置的虚像。自眼球到放大虚像间的距离称为明视距离，其长度为250 mm，这是明视野普通光学显微镜中物像的最适距离。

显微镜的性能由以下几个参数表示：

(1) 放大倍数。物体任意两点之间的距离在成像后相应地被放大的倍率。由于显微镜的物镜放大的物像再次被目镜放大，因此显微镜的放大倍数是目镜的放大倍数与物镜的放大倍数的乘积。

(2) 分辨率。显微镜分辨被检物体细微结构的能力，即分辨物体两点之间的最短距离的本领。分辨率取决于镜头的数值孔径、照明光的波长和光线通过介质的折光率。数值孔径大者分辨率高。

三、光学显微镜的使用步骤和方法

1. 显微镜的基本使用方法

(1) 取镜与放置。取镜时右手握住镜臂，左手平托镜座，保持镜体直立，禁止单手提镜。小心轻放在桌上，一般放在座位左侧，距桌边 5~10cm 为好，以便于观察和绘图记录及防止掉落。

(2) 对光。用内光源显微镜时，因有镜内光源，只需接通电源，打开开关，即可通过调节灯泡亮度调节光的强度。若用自然光源显微镜时，则利用反光镜采外光源。一般用由窗口进入室内的散射光或用日光灯作光源。对光时，先把低倍镜转到正对通光孔的位置，然后从目镜向下看，同时，转动反光镜，使光线反射入视野，然后利用聚光器调节光的强度，使视野中的光线既均匀、明亮又不刺眼。

(3) 放置标本。把玻片标本放在载物台上，用移动尺夹好，将玻片中有标本的地方移到通光孔的中央，先用低倍镜观察。因为低倍镜视野大，易于发现和确定观察目标。找到观察的目标后，若需要再放大，换用高倍镜观察。

(4) 调整焦点。眼睛不要看目镜，要从侧面注视低倍镜与标本。慢慢转动粗调旋钮，使物镜与玻片标本接近。待目测低倍物镜与标本盖玻片之间的距离比低倍物镜的工作距离(7.63 mm)小一些时，即可注视目镜，并向相反的方向调节粗调旋钮，使物镜与标本的距离增大，慢慢会看到视野中物像的出现。如果一次调节

没看到物像，应重复操作，直到看到物像。注意这一操作如果违章有可能会损坏仪器或标本。

(5) 使用低倍镜观察。根据标本材料的厚薄、颜色等移动玻片，将所要观察的最理想的部分移到视野中央进行观察。用微调旋钮调清楚物像，直到物像最清晰为止。

(6) 使用高倍镜观察。在观察较小的物体或细微结构时可使用高倍镜。首先，将要进一步观察的目标移到视野正中央，然后转动物镜转换器将高倍镜换入，略微调节微调使物像清晰即可。若物镜转换时压到玻片，应先将镜筒提起一些，再重新将高倍镜头换入，然后从侧面注视，将物镜慢慢降下，直到镜头几乎与玻片接触为止，然后一边通过目镜观察，一边转动粗调旋钮，使镜筒慢慢上升，拉大物镜与标本之间的距离，直到看见物像，然后用微调调节至物像清晰。不可反向操作！使用高倍镜前一定要先用低倍镜进行观察，不可直接用高倍镜。

(7) 使用油镜观察。在观察线粒体、细菌等细小的结构时需要使用 100 倍的物镜。100 倍的物镜需要在油的介质中工作，故称为油镜或油浸物镜。油镜需要物镜与标本之间充上一种折光率与玻璃一样高的介质，通常使用香柏油，才能使物像清晰。使用时，按先低倍镜，后高倍镜，再用油镜的顺序。用油镜前要将观察对象移到视野的中央，移开高倍物镜，将香柏油滴在标本的盖玻片上，直接换入油镜，使镜头浸在油中。转动微调旋钮，调整焦点，使物像清晰。观察后，用“显微镜的保养”中介绍的方法及时去除镜头上的香柏油。一定要及时清除油镜上的油，否则，会严重影响镜头的寿命。

(8) 使用后的整理。显微镜用后，应先转动物镜转换器，使物镜头不与通光孔相对，呈“八”字形位置，再下降至最低，降下聚光器，再取下玻片标本，关闭光源。

2. 测微尺及其使用

测微尺是测量细胞和细胞器的大小时需要使用的附件，它包括目镜测微尺和镜台测微尺，使用时须两者互相配合。

(1) 镜台测微尺。镜台测微尺是一特殊的载玻片，中央有标尺，长 1 mm，分为 100 小格，每小格等于 10 μm 。

(2) 目镜测微尺。是一圆形的玻璃片，装在目镜中使用。其上刻有刻度，常分为 5 大格，每大格分 10 小格，在显微镜中所表示的长度随显微镜放大倍数不同而不同。因此需要用镜台测微尺确定目镜测微尺每格的实际长度。

一般情况下，当目镜为 10 $\times$ 时，若物镜为 4 $\times$ ，目镜测微尺每小格的长度为 24 μm ；若物镜为 10 $\times$ ，目镜测微尺每小格的长度为 10 μm ；若物镜为 40 $\times$ ，目镜测微尺每小格的长度为 2.5 μm ；若物镜为 100 $\times$ ，目镜测微尺每小格的长度为 1 μm 。

(3) 测定方法。是将目镜测微尺放入目镜中，镜台测微尺置于载物台上，使

镜台测微尺的刻度区域位于视野中央。调焦后在视场中可同时看清两个台尺的刻度。先找到两者刻度完全重叠的 0 或 10、20 的点，再向右找出两尺刻度再次重叠的点，记下两尺重叠的格数(图 0-2)。例如，目镜测微尺的第 5 小格与镜台测微尺上的第 8 小格重叠，就可得出目镜测微尺上 5 小格 $=8 \times 10 = 80 \mu\text{m}$ ；而目镜测微尺的每小格则为 $80/5 = 16 \mu\text{m}$ 。若改变倍率应重新再测。当目镜测微尺的每小格的长度标定好后，即可移去镜台测微尺，装上要观察的显微制片，测出所要观察部位所占的小格数，再乘以每小格所代表的长度，即可求出所要观察部位的实际大小。

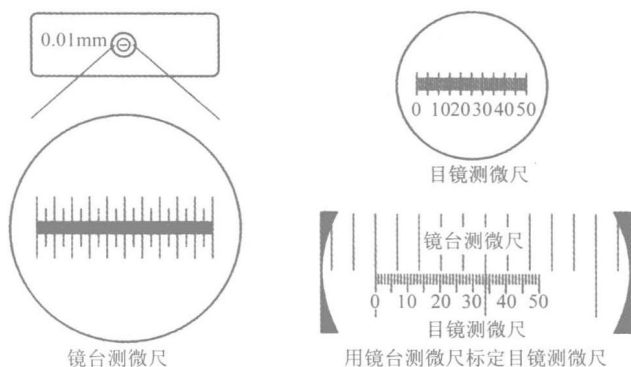


图 0-2 测微尺的标定(汪小凡和杨继, 2006[d1])

四、显微镜的保养

(1) 拿取显微镜时应一手握牢镜臂，一手托住镜座，务必使之平稳。切忌一手掂着镜臂拿取显微镜。

(2) 转换物镜时，要用手捏住物镜转换器转换，切忌用手直接拨转物镜，以免破坏物镜与目镜的光线合轴。

(3) 观察临时装片时，一定要加盖玻片并且要擦干盖玻片以外和载玻片下面的水。

(4) 显微镜的各部件应保持清洁。机械部分可用软布擦净；物镜、目镜、聚光器和反光镜等光学部分只能用专用的擦镜纸擦拭，而不能用布或其他纸擦拭，以免产生划痕。

(5) 若发现粗准焦螺旋旋钮太松或太紧时，用手握紧一只旋钮，转动另一旋钮调节，可使调焦机构松紧适宜。

(6) 收显微镜时应降下镜筒，将显微镜擦净后再放回镜箱中，放回原处。

(7) 显微镜应放置在阴凉、干燥、无灰尘和无酸碱蒸气的地方。

第二章 生物组织制片技术

随着显微镜出现和技术的发展，显微镜已成为人们认识生物体结构的重要工具，组织制片技术是随着生命科学的发展而不断进步的。利用组织切片染色的方法所制出的标本显示了各种组织细胞的不同结构和形态，它们之间的相互连接及它们之中的某些化学成分的种类和含量的变化，为细胞生物学的研究提供了最直观的依据。因此组织制片是研究生物学的一个最基本和最重要的手段。现简要介绍在普通生物学实验中最常用的几种制片技术。

一、临时装片法

临时装片法是用新鲜的少量的生物材料(如单个细胞、薄的表皮或切成的薄片等)，放在载玻片上的水滴中，再盖上盖玻片做成玻片标本的方法。这种方法制成的标本，可以保持材料的生活状态和天然的色彩，一般多作为临时观察使用或用某些化学试剂作组织化学反应。也可以根据需要选择适宜的染料染色，制成永久性玻片标本。该法也适用于原生动物、水螅、涡虫、绦虫节片、昆虫和昆虫外部器官以及多细胞动物早期胚胎等的标本制作。制作方法如下：

(1) 擦净载玻片和盖玻片，即将浸洗过的玻片用纱布擦干。

擦载玻片时，用左手的拇指和食指夹住载玻片的边缘，右手将纱布包住载玻片的上下两面，反复轻轻地擦拭。载玻片擦好后应注意切勿再触摸上、下表面，以免沾上指纹和油污。

擦盖玻片时，应十分小心。应先把纱布铺在右手掌上，用左手拇指和食指夹住盖玻片的边缘，将其放在纱布上，然后用右手拇指和食指从上下两面隔着纱布轻轻夹住盖片，注意使用力量要均匀，慢慢地轻擦，这样才不至于把盖片擦碎。

(2) 用玻璃滴管吸水，滴一滴在载玻片的中央。用滴管或毛笔挑选小而薄的材料，放置于载玻片上的水滴中。

(3) 加盖玻片。一手持镊子，轻轻夹住盖玻片，使盖玻片边缘与材料左边水滴的边缘接触，然后慢慢向下落，放平盖玻片。这样可使盖玻片下的空气逐渐被水挤掉，以免产生气泡。如果盖玻片下的水分过多，则材料和盖玻片容易浮动，影响观察，可用吸水纸条从盖玻片的侧面吸去一部分。如果水未充满盖玻片时，容易产生气泡，可从盖玻片的一侧再滴入一滴清水，将气泡驱走，即可进行观察，具体见图 0-3。

(4) 如果这种临时装片尚需保存一段时间,则可用 10%~30%的甘油水溶液代替清水封片。并将用甘油封好的装片平放于大培养皿中(培养皿底部先垫湿滤纸)保存。这样,一方面可以防尘,另一方面亦可防止水分蒸发。封片以后,当其中的水分丢失一部分后,可在盖玻片的一侧,用滴管补加 20%或 30%的甘油溶液,如此反复进行,使材料完全浸于甘油中。这种临时装片可以维持 30 d 以上,做示范教学或科研分析用均可。

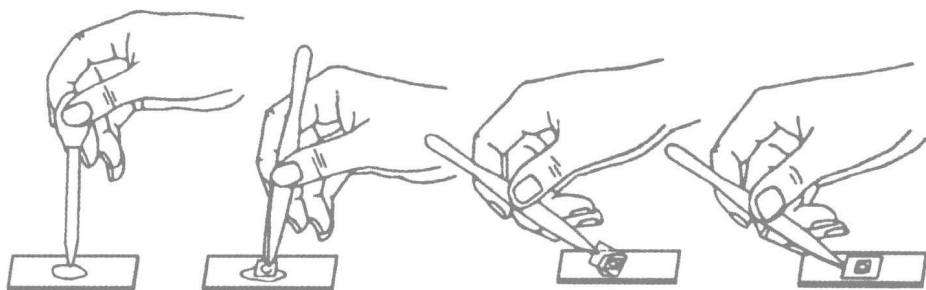


图 0-3 临时装片方法(汪小凡和杨继, 2006)

二、徒手切片法

徒手切片法在植物组织观察中常用到,是指手持刀片(剃刀或双面保险刀片)把植物新鲜或预先固定好的材料切成薄片,所作的切片通常不经染色或经简单染色后,制成临时的水装片用于观察,亦可以通过脱水与染色制成永久制片。徒手切片的优点是简单方便、制片迅速,不需要复杂的设备,不经过化学药物的处理,基本上保留了植物活体的状态。缺点是不易切薄和切全,薄片厚薄不均,而且不能做成连续的切片。

1. 材料的选择

一般应选取发育正常、有代表性、软硬适度和便于手指夹持的材料。软而薄的材料(如叶片),可用硬泡沫塑料(包装用的聚苯乙烯)或马铃薯块茎等夹住材料再一起进行切片。有些叶片亦可卷成筒状再切。

欲切材料,应将材料先截成适当的块段,切片断面的面积一般以 $3\sim 5\text{ mm}^2$ 为宜,材料的长度为 $2\sim 3\text{ cm}$,便于手持并进行切片。

2. 徒手切片的方法和步骤

(1) 切片前,在小培养皿中盛以清水,准备好毛笔、滴管和刀片等用具和欲切的材料。

(2) 切片时用左手的三个指头拿住材料，并使其稍突出于手指之上，以免刀口损伤手指。右手持剃刀或双面刀片，平放在左手的食指之上，刀口向内，且与材料断面平行，然后以均匀的动作，自左前方向右后方滑行切片(图 0-4)，注意要用整个手臂向后拉(手腕不必用力)。切片时动作要敏捷，材料要一次切下(注意整个切片过程中应用清水湿润材料和刀面，使之湿润，否则材料容易破损)，如此连续动作，切下许多薄片后，就用湿毛笔将这些薄片轻轻移入已盛水的培养皿中备用。

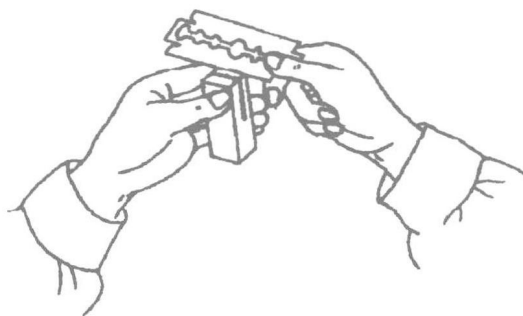


图 0-4 徒手切片方法(汪小凡和杨继，2006)

(3) 用毛笔挑选最薄而且透明的切片，取出放在载玻片上，制成临时装片观察。

(4) 简单染色：根据需求和观察目的的不同，可选择使用以下几种染色剂进行染色。

1) 0.1%番红水液。用于细胞核和木质化、栓质化的细胞壁的染色，以区分细胞的核与质，木质部(主要是导管)与韧皮部。

2) 钉红(1:10 000)水溶液。用于细胞间的胞间层的染色，显示厚角组织的特点。

3) 0.25%硫堇水溶液。用于细胞核和核仁的染色，区分含木质素和纤维素的细胞壁，但要用微碱性自来水或 1% NaHCO_3 水溶液封片，可使徒手切片的各种植物组织产生从粉红至蓝紫色的多色反应，有利于观察和镜检。

三、组织离析法

离析法的原理是用一些化学药品配成离析液，使细胞的胞间层溶解，因而细胞彼此分离，获得分散的、单个的完整细胞，以便观察不同组织的细胞形态和特征。

离析液的种类很多,最常用的有铬酸-硝酸离析液,它是以 10%的铬酸液和 10%的硝酸液等量混合而成。适用于木质化的组织,如导管、管胞、纤维、石细胞等,亦可用于草质的根、茎等成熟器官的解离,如瓜茎。具体步骤如下所述。

(1) 将植物材料先切成小块或小条(火柴棍粗细、长约 1 cm),放入平底管或小玻璃瓶中,加入上述离析液,离析液的用量为材料的 5~10 倍,盖紧瓶塞,置于室温的条件下进行反应;若为草质根、茎的小段,3~4 h 或更长的时间,即可解离成功;若为木质的老根、枝条、木材和果壳等,则需置于 40℃左右的恒温箱中,经过 1~2 d 之久,才能解离成功。具体的浸渍时间,常因材料本身的质地、材料块的大小、环境的温度条件不同而有很大的差异。如果 2 d 以后,组织仍未分离,可更换新的离析液继续浸解,直至材料浸解适度为止。

(2) 检查材料是否离析:可用滴管等工具取出少许材料,放在载玻片上的水滴中,加盖玻片,用滴管的橡皮头轻轻敲压。若材料分离,表明浸渍时间已够;如果浸渍时间不够,仍然可以延长解离时间。有时亦可用玻璃棒在平底管壁内挤压材料,如果解离适度,可以感觉到材料已酥软。

(3) 洗酸保存:倾去离析液,用清水浸洗已离析好的材料。将平底管静置,待材料下沉后,再弃去上清液,如此反复多次,直至没有任何黄色为止。如果有手摇离心机,可将材料转入离心管,用离心机缓慢离心洗酸,倾去上清液,再加清水洗酸,如此反复数次,可比自然静置迅速。最后再转移到体积分数为 70%的乙醇液中保存备用。

当需要时,可取出少量材料,按临时装片法制成玻片标本,进行观察与研究。

四、压 片 法

压片法是将植物的幼嫩器官如根尖、茎尖和幼叶等压碎在载玻片上的一种非切片制片法。这种方法比较简便,经染色后可作临时的观察标本,也可以经过脱水、透明等步骤制成永久的玻片标本。近年来在观察植物细胞的有丝分裂、植物细胞遗传学等方面的研究中应用极为普遍,特别是在染色体数目的检查方面,此法尤为重要。

压片法的基本步骤是:①取材;②前处理;③水解离析;④固定;⑤染色;⑥压挤制片。因实验时间限制,可将③、④两步合并,⑤、⑥合并,并免去前处理(暂不要求做染色体计数)。以下为最简单的方法制作植物根尖细胞有丝分裂的压片,可取洋葱和大蒜的鳞茎为实验材料。

1. 幼根的培养

将洋葱鳞茎置于广口瓶上,或将 3~5 个蒜瓣用竹签穿好,架在烧杯口上,杯中盛满清水,使洋葱头和蒜瓣的下部浸入水中,置温暖处,并注意每天换水,过