

高等院校精品课程实验教材

植物学

实验

◎ 主 编 姚发兴

Botany
Lab Manual



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

高等院校精品课程实验教材

植物学实验

主 编 姚发兴

华中科技大学出版社
中国·武汉

图书在版编目(CIP)数据

植物学实验/姚发兴 主编. —武汉: 华中科技大学出版社, 2011. 4
ISBN 978-7-5609-6918-3

I. 植… II. 姚… III. 植物学-实验-高等学校-教材 IV. Q94-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 016880 号

植物学实验

姚发兴 主编

责任编辑: 李 德

封面设计: 刘 卉

责任校对: 朱 霞

责任监印: 周治超

出版发行: 华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编: 430074 电话: (027)87557437

录 排: 武汉佳年华科技有限公司

印 刷: 华中科技大学印刷厂

开 本: 710mm×1000mm 1/16

印 张: 9.5

字 数: 197 千字

版 次: 2011 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

定 价: 15.80 元



华中出版

本书若有印装质量问题, 请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线: 400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

前 言

随着生命科学的发展,植物学作为主干基础课列入了高等院校生命科学各专业的教学计划中,并且单独作为一门课程开出。在传统学科学时普遍减少、实验课时压缩的背景下,为了提高实验教学质量,编写反映本学科特色,更具科学性、系统性、基础性和实用性的实验教材,是教师的一项艰巨而又紧迫的任务。根据教学大纲的要求和课程设置,同时根据本校实验教学条件、实验植物取材条件,在参阅相关文献、学习兄弟院校教学经验的基础上,我们编写了这本植物学实验教材。为避免重复,同时方便学生学习,本书主要选用了高等师范院校植物学教材上没有的一些插图。书中文字编写主要由姚发兴完成,陈国庆负责插图、文字校对和编排等工作。

教材建设是一项长期的工作,由于编者水平有限,书中错漏和编排不当之处在所难免,敬请有关专家、同行不吝赐教,提出宝贵意见,以便修订。

本书为生物科学专业植物学实验教材,亦可供其他相关专业学生参考。书中引用了其他作者的部分内容,在此致以诚挚的谢意。

编 者

2011年4月

目 录

绪论	(1)
一、实验课的教学目的与意义	(1)
二、实验程序和要求	(1)
三、实验规则和注意事项	(2)
第一部分 植物学实验基本技术	(3)
一、显微镜	(3)
二、临时装片法	(9)
三、徒手切片法	(9)
四、简单的显微化学测定	(10)
五、滑走切片法	(11)
六、组织离析法	(11)
七、压片法	(12)
八、涂布法	(13)
九、永久性玻片标本的制作	(14)
十、生物绘图的要求与方法	(15)
十一、实验材料的准备与保存	(16)
十二、浸制标本的制作	(16)
十三、种子植物标本的采集、制作和保存	(17)
十四、叶脉标本的制作	(20)
第二部分 植物形态解剖学实验	(21)
实验一 显微镜的构造和使用	(21)
实验二 植物细胞的结构与代谢产物	(22)
实验三 植物细胞的有丝分裂和分生组织	(26)
实验四 植物的成熟组织	(28)
实验五 根的形态与结构	(34)
实验六 茎的形态与结构	(39)
实验七 叶的结构	(45)
实验八 花的形态结构、花药和胚囊的发育	(49)
实验九 胚的发育、种子的形成和结构	(55)
实验十 果实的结构与类型	(59)
第三部分 植物系统分类学实验	(63)
实验十一 原核藻类(Prokaryotic Algae)	(63)
实验十二 真核藻类(Eukaryotic Algae)	(65)

实验十三	真菌门 (Eumycota)	(67)
实验十四	地衣门(Lichens)、苔藓植物门(Bryophyta)	(70)
实验十五	蕨类植物门(Pteridophyta)	(73)
实验十六	裸子植物门(Gymnospermae)	(76)
实验十七	被子植物门(Angiospermae) 双子叶植物纲(Dicotyledoneae) I 木兰亚纲(Magnoliidae)、金縷梅亚纲(Hamamelidae)	(78)
实验十八	被子植物门(Angiospermae) 双子叶植物纲(Dicotyledoneae) II 石竹亚纲(Caryophyllidae)、五桠果亚纲(Dilleniidae)	(80)
实验十九	被子植物门(Angiospermae) 双子叶植物纲(Dicotyledoneae) III 蔷薇亚纲(Rosidae)	(82)
实验二十	被子植物门(Angiospermae) 双子叶植物纲(Dicotyledoneae) IV 菊亚纲(Asteridae)	(87)
实验二十一	被子植物门(Angiospermae) 单子叶植物纲(Monocotyledoneae)	(89)
第四部分	野外实习	(93)
一、	孢子植物野外实习	(93)
二、	种子植物分类学野外实习	(113)
附录	常用实验药剂的配制方法	(139)
参考文献	(142)

绪 论

一、实验课的教学目的与意义

植物学实验,是生物科学专业本科生必修的一门专业基础实验课,一般在大学一年级开设。

在植物形态解剖学实验部分,学生应结合理论课程的学习,熟练掌握植物形态结构解剖的基础理论、基础知识以及研究植物的一些基本方法和基本技能,如植物制片、徒手切片、显微镜的使用、显微结构观察和记录、生物绘图等,并能综合运用这些基本知识、方法和技能,去研究植物各种器官的结构、器官之间的联系以及植物在个体发育过程中器官的形态建成过程。

植物系统分类学实验部分,对学生的要求体现在以下几个方面:理解和掌握植物界各大类群的主要特征,以及它们在植物界中的地位和演化规律;识别一些常见的、与人类生产生活密切相关的孢子植物,并了解其形态结构、生活习性、发育过程;掌握种子植物分类和系统演化方面的重点科、属、种的主要特征,熟悉植物检索表的使用和编制,识别校园植物,并掌握植物标本的采集和制作流程,以及鉴别标本的方法。此外,植物学野外实习也是生物科学专业教学计划中的一个重要组成部分,通过野外实习,不仅能巩固学生所学的理论知识,培养学生的实践能力,而且可以加深学生对生物多样性的感性认识,激发他们学习植物学的兴趣。

植物学实验课,是理论联系实际的桥梁,是培养学生创新精神和实践动手能力的重要窗口之一。通过实验课,将课程教学中讲授的理论应用到对实际材料的观察,加深他们对植物学理论知识的理解;通过实验课,培养学生独立思考能力和唯物辩证的思想方法,建立结构与功能相适应的观点、植物与环境相统一的观点、系统与演化的观点;通过实验课,增强学生的实验意识,激发科学兴趣和探索精神,培养学生严谨认真的科学态度和实事求是的工作作风。

二、实验程序和要求

(1) 预习。学生在课前应认真预习实验指导以及教材有关章节,必须对该次实验的目的要求、实验内容、基本原理和操作方法有一定的了解。

(2) 讲解。教师对该实验内容的安排及注意事项进行讲解,让学生有充分的时间按实验指导的要求进行独立操作与观察。

(3) 独立操作与观察。除个别实验分组进行外,一般由每个学生独立进行操作和观察。在实验中要按实验指导的要求认真操作,仔细观察,做好记录。

(4) 示教。每次实验都备有示教内容,其目的是帮助学生了解某些实验中的难点,增加在实验课有限时间内获得更多感性知识的机会。

(5) 作业。实验报告必须强调科学性,实事求是地记录、分析、总结。学生应认真阅读教师批改后的实验报告,不断提高实验质量。

(6) 小结。实验结束后,由师生共同小结本次实验的主要收获及今后应注意的问题。

三、实验规则和注意事项

(1) 携带实验工作服、课本、实验指导、解剖器材、实验报告纸及绘图文具等,于实验前 10 min 进入实验室。不准穿拖鞋、背心进实验室。

(2) 按编排的座号固定座位,不得随意交换座位。如无特殊情况,实验组别也不要变动。手机一律关机。

(3) 实验前要认真检查所用仪器和药品是否完好、齐备,如有缺损应及时向教师报告;实验中不得随意调换标本、仪器等。没有教师的允许,不得动用实验室其他非本次实验所用的仪器设备。

(4) 实验时要认真听取教师对该次实验所做的说明和提示,严格遵守实验要求,操作要规范。使用显微镜观察临时装片时,要特别小心,防止染料或试剂玷污镜头和载物台,不要用高级显微镜观察非永久装片。

(5) 实验过程中,观察、记载、绘图要详尽,准确,不得草率应付或抄袭他人。注重独立思考、举一反三,提高解决实际问题的能力。实验报告和作业必须按时完成和上交。

(6) 实验室内应保持安静,讨论实验方面的问题时,说话声音要小;在室内走动时脚步要轻;不准谈笑喧哗,严禁在实验室吃食和会客。

(7) 爱护实验室的仪器设备和标本,节约使用实验材料及其他实验消耗品。损坏物品时应立即报告,并主动登记,说明情况。节约水电,注意用水和用电安全,尤其要小心使用酒精灯和电炉等。

(8) 实验室内应保持整洁,不乱放物品,所用仪器、试剂、装片、标本等用毕归还原处。

(9) 实验结束后,认真填写实验仪器使用记录本,及时清理实验台面,废物、废液要集中处理;值日生负责收拾实验用品,清扫地面,处理垃圾,关好水、电、门窗后再离开。

(10) 实验课不得无故迟到、早退。如有特殊原因不能参加实验,需事先向教师请假说明,并约定补课时间。如无正当理由,所缺实验一律不补,并以旷课论。

第一部分 植物学实验基本技术

一、显微镜

在一般的教学及科研工作中,广为应用的是光学显微镜,其中的复式显微镜是研究植物细胞结构、组织特征和器官构造的常用重要工具。因此,为了正确操作、妥善保管和维护显微镜,每个学生都必须了解和掌握复式显微镜的结构、使用和维护方法。

(一) 显微镜的类型

1. 光学显微镜 利用可见光作光源,用玻璃透镜作为成像系统的显微镜称为光学显微镜,可分为单式和复式显微镜两类。单式显微镜结构简单,由一个透镜组成,如放大镜,放大倍数在 10 倍以下。构造稍复杂的单式显微镜为解剖显微镜,也称体视显微镜,由几个透镜组成,其放大倍数在 200 倍以下。放大镜和解剖显微镜放大的物像都是与实物方向一致的虚像,即直立的虚像。复式显微镜结构比较复杂,至少由两组以上透镜组成,放大倍数较高,其有效放大倍数可达 1250 倍,最高分辨率为 0.2 μm 。除一般实验使用的普通显微镜外,还有供研究用的暗视野显微镜、相差显微镜和荧光显微镜等。

2. 电子显微镜 使用电子束作光源,以特殊的电极和磁极作透镜来代替玻璃透镜的一类显微镜。电子显微镜能分辨相距 0.2 nm 左右的物体,放大倍数可达 80~120 万倍,其分辨率比光学显微镜大 1000 倍,是了解超微结构的重要精密仪器。

(二) 复式显微镜的结构

复式显微镜有单筒目镜和双筒目镜(图 1-1)两种类型,这两种显微镜的基本构造相同,都是由光学部分和机械部分组成。

1. 机械部分

(1) 镜座。显微镜的底座,支持整个镜体,使显微镜放置平稳。

(2) 镜柱。镜座上面直立的短柱,支持镜体上部的各部分。

(3) 镜臂。弯曲如臂,连接镜柱和目镜筒,为取、放显微镜时执手的部位。

(4) 镜筒。显微镜上部圆形中空的长筒,其上端放置目镜,下端连接物镜转换器,镜筒的长度一般是 160 mm,有的是 170 mm。镜筒的作用是保护成像的光路和亮度。

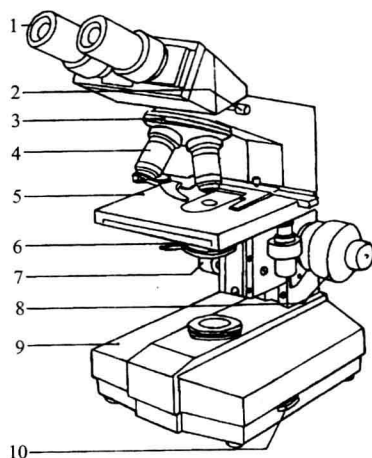


图 1-1 双目复式显微镜的构造

1. 目镜 2. 止紧螺钉 3. 物镜转换器 4. 物镜
5. 载物台 6. 聚光器 7. 聚光器调节螺旋
8. 调焦螺旋 9. 镜座 10. 亮度调节开关

(5) 物镜转换器。接于镜筒下端的圆盘,盘上有 3~4 个螺旋圆孔,为安装物镜的部位。旋转物镜转换器,即可将物镜固定在使用的位置上。

(6) 载物台。放置玻片标本的平台,中央有一圆孔,以通过光线。载物台上装有玻片推动器,在装片用标本片夹固定好后,调节纵、横向移动手轮,装片能向前后、左右移动。

(7) 调焦装置。为了得到清晰的物像,必须利用调焦装置调节物镜与标本之间的距离,使其与物镜的工作距离相等,这种操作称为调焦。调焦装置位于镜柱两侧,有两对齿轮,大的一对叫粗调焦螺旋,转动时可使载物台上下升降,转动一圈,载物台升降 10 mm;小的一对为细调焦螺旋,旋转一圈可使载物台升降 0.1 mm。

(8) 聚光器调节螺旋。位于镜柱的左侧,旋转它可使聚光器(或聚光镜)上、下移动,借以调节光线。

2. 光学部分 光学部分由成像系统和照明系统组成,前者包括物镜和目镜,后者包括电光源和聚光器。

(1) 物镜。物镜是决定显微镜质量的最重要部件,安装在物镜转换器上。每台显微镜一般有 3~4 个放大倍数不同的物镜,即低倍物镜(4×和 10×)、高倍物镜(40×)和油镜(100×),镜检时可根据需要选择。物镜可将被检物体作第一次放大,其上一般标有放大倍数和数值孔径(N. A),即镜口率。

显微镜的工作距离是指物镜最下面透镜的表面与盖玻片(厚度为 0.17~0.18 mm)上表面之间的距离。物镜的放大倍数越高,它的工作距离越小(表 1-1)。一般油镜的工作距离仅为 0.2 mm,所以使用时要倍加注意。

表 1-1 不同放大倍数物镜的数值孔径和工作距离

物镜放大倍数	10×	20×	40×	100×
数值孔径(N. A)	0.25	0.50	0.65	1.25
工作距离/mm	6.5	2.0	0.6	0.2

(2) 目镜。安装在镜筒上端,也叫接目镜,通常由两个透镜组成。它的作用是将物镜所成的像进一步放大。目镜上刻有放大倍数,常用的目镜有 5×、10×、16×等,可根据需要选择使用。

(3) 光源。早期的显微镜使用反光镜将光线反射到聚光器上,现在生产的新型显微镜多采用电光源,为 6 V、10 W 的碘钨灯。

(4) 聚光器。装在载物台下,由聚光镜(几个凸透镜)和虹彩光圈(可变光栏)等组成,它可将平行光线汇聚成束,集中在一点,以增强被检物体的照明。使用高倍镜时,视野范围小,需上升聚光器;使用低倍镜时则相反。

(5) 虹彩光圈。装在聚光器内,拨动光栏调节杆,可使光圈扩大或缩小,借以调节通光量。

(三) 显微镜的成像原理

显微镜的目镜和物镜各由若干个透镜组成,但可看成是一个凸透镜。根据凸透镜的成像原理,来自电光源(或反光镜)的平行光线向上进入聚光器,通过聚光器的光线会聚成束,穿过生物制片(制片要薄,一般为 $8\sim 10\ \mu\text{m}$),进入物镜,然后在目镜的焦点平面形成一个经过第一次放大的倒置的实像,这一实像经过目镜的二次放大,最后进入人的视野成像。因此,当我们观察实验标本时,所看到的最后的物像,是经过二次放大的、方向相反的倒置的虚像。

从成像的原理看,物镜在成像过程中起主要作用,因此,物镜质量的优劣直接影响成像的清晰程度。目镜只不过是放大物镜所成的像,并不能增加成像的清晰度。

(四) 使用显微镜的主要方法和步骤

1. 取镜和放置 按固定编号从镜柜中取出显微镜。取镜时应右手握住镜臂,左手平托镜座,保持镜体直立,防止目镜从镜筒中滑出。放镜时动作要轻,一般应放在座位的左侧,距桌边 $5\sim 6\ \text{cm}$ 处,以便观察和防止显微镜掉落。

2. 对光 旋转物镜转换器,先把低倍物镜转到中央,对准载物台上的通光孔,然后用左眼或双眼从目镜向下注视,同时用手转动反光镜,使镜面向着光源,此时在镜筒内就可以看到一个圆形的明亮视野。如果使用电光源,应接通电源,打开显微镜开关,调节电位器手柄(亮度调节开关),使光亮合适并充满整个视野。此外,还可利用聚光器或虹彩光圈调节光强度,使视野内的光线既均匀明亮又不刺眼。

3. 双目镜筒间距的调节 用双筒目镜观察时,有时会看到重像,有时只能用一个目镜观察,这是由于双筒目镜间距与观察者的瞳孔距不一致造成的。调节双目镜筒间距时,用 $10\times$ 物镜观察,先水平方向向外拉动目镜筒,使两目镜的中心距离与观察者的瞳孔距一致,然后调节目镜筒刻度值,使之和刻度盘示值相同。

如果使用转轴双目显微镜,则直接转动目镜筒,使两目镜的中心距离与观察者的瞳孔距一致。以右眼观察到清晰的物像为准,调节左眼目镜筒的视度圈,使左右成像一样清晰。

4. 低倍物镜的使用 观察任何标本,都必须先用低倍物镜,因为低倍物镜视野宽,容易发现目标和确定要观察的部位。

(1) 放置切片。转动粗调焦螺旋,使载物台降至最低位置,向外拨动标本片夹手柄,将玻片标本放在载物台上,用标本片夹固定,旋转纵、横向移动手轮,使玻片标本正对通光孔的中心。

(2) 调整焦点。将 $10\times$ 物镜转入光路,通过目镜一边观察标本,一边旋转粗调焦螺旋,使载物台缓慢上升,直到看清物像为止,再稍微转动细调焦螺旋,使物像更加清晰。有的显微镜带有 $4\times$ 物镜,使用时其焦距与 $10\times$ 和 $40\times$ 物镜不同,因此当由 $4\times$ 物镜转换为 $10\times$ 物镜观察制片时,需要重新聚焦。

(3) 观察。焦点调好后,可根据需要移动玻片,把要观察的部分移到视野正中心,找到物像后,还可根据材料的厚薄、颜色及成像的反差强弱等再进行调节。如果

视野太亮,可降低聚光器或缩小光圈或减小亮度(亮度开关),反之则升高聚光器或开大光圈或提高亮度。

5. 高倍物镜的使用 在观察较小的物体或微细结构时,可以使用 $40\times$ 高倍物镜。

(1) 选好目标。由于高倍物镜只能把低倍视野中心的一小部分加以放大,因此,使用高倍物镜前,应先在低倍物镜下选好目标,将其移至视野中央,然后转动物镜转换器,移开低倍物镜,小心换上高倍物镜。

(2) 调整焦点。正常情况下,在换上高倍物镜后,只要略微调节细调焦螺旋(禁用粗调焦螺旋),就可获得清晰的物像。

(3) 调节亮度。换用高倍物镜后,视野变小变暗,所以需要通过升高聚光器或开大光圈来调节视野亮度。

6. 显微镜使用后的整理 观察结束后,调节亮度开关(电位器手柄),回到最小位置,关掉电源,拔下插头。旋转粗调焦螺旋,使载物台下降到最低位置,取下玻片,擦净镜体,盖上防尘罩,然后右手握住镜臂,左手平托镜座,按号放回镜柜中。

(五) 放大率、镜口率和视野宽度

1. 放大率的计算 显微镜的总放大率是由目镜和物镜原有放大倍数的乘积来表示的,若其目镜的放大倍数为 $10\times$,物镜的为 $40\times$,则显微镜的总放大率 = $10\times 40=400$ (倍)。如果目镜的放大倍数过大,得到的放大虚像会很不清,所以一般目镜的放大倍数不宜过大。

2. 镜口率(数值孔径) 被检物体细微结构的分辨率并不完全取决于放大倍数,而主要是由镜口率决定的。 $N.A$ 表示镜口率,在物镜镜头上常标有 $N.A$ 数值, $N.A$ 的值越大,分辨能力越高。所谓分辨率是指分辨被检物体细微结构的能力,即判别标本两点之间最短距离的本领。因此,镜口率越大,物镜的价值越大。镜口率是衡量显微镜质量的最主要依据。高级物镜只有和优良的聚光器配合使用,才能充分发挥显微镜的能力,因为物镜分辨率受聚光器镜口率影响。物镜有效镜口率的计算公式如下:

$$\text{物镜的有效镜口率} = (\text{物镜镜口率} + \text{聚光器镜口率}) / 2$$

例如,镜口率为 0.65 的物镜,与镜口率为 0.45 的聚光器配合使用,物镜的有效镜口率就降为 0.55。因此,在使用时要注意调节,使两者镜口率相等。

3. 视野宽度 目镜光阑所围绕的圆即视野宽度。视野越宽,观察玻片标本的面积就越大,显微镜放大倍数就越小,所以,视野宽度与放大率成反比。因此,从低倍物镜转换到高倍物镜时,必须先把标本移到视野正中央,否则标本的影像就会落到缩小的视野外面。

(六) 指针的安装及测微尺的使用

1. 指针的安装 为了教学的需要,自己可以给显微镜安装指针。方法是旋下目镜的上盖,剪取 5~10 mm 长的一小段头发,用镊子夹住一端,另一端蘸上少许加拿大树胶,将其粘在目镜内壁的铁圈上,注意使指针指向视野中央,稍干后,旋紧上盖即

可使用。

2. 测微尺的使用 在显微镜下测量样品(细胞、组织)的长度或面积时,需要使用测微尺。常见的测微尺包括镜台测微尺(图 1-2)和目镜测微尺两种(图 1-3)。

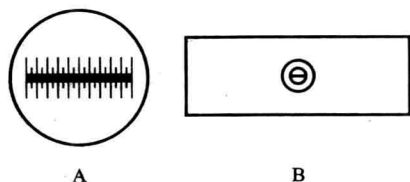


图 1-2 镜台测微尺

A. 标尺的放大 B. 具标尺的载玻片

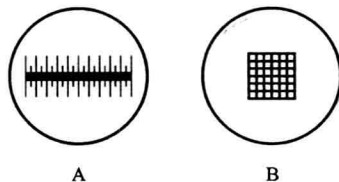


图 1-3 目镜测微尺

A. 直线式 B. 网格式

(1) 镜台测微尺。一种特制的载玻片,中央有一具刻度的标尺,长 1 mm,共分为 100 小格,每小格长 0.01 mm,即 10 μm 。

(2) 目镜测微尺。放在目镜内的一种标尺,为一圆形玻片,直径 20 mm 左右,上面刻有不同形式的标尺,有直线式和网格式两种。用于测量长度的一般为直线式标尺,长 10 mm,分 10 大格,每大格又分 10 小格,共 100 小格。网格式标尺用来计算数目和测量面积。

使用测微尺进行显微测量的具体步骤如下。

① 目镜测微尺的安放。旋开目镜,将目镜测微尺安放在目镜中部的铁圈(目镜筒内一个中央具圆孔的金属片挡片)上,旋紧目镜,此时通过目镜可以看到一个清晰的标尺。

② 目镜测微尺的标定。目镜测微尺的格值(每格所代表的长度)是不固定的,可随物镜放大倍数的不同而改变,所以不能直接用它测量,必须先用镜台测微尺来标定,确定它的格值。在载物台上安放一片镜台测微尺,先在低倍镜下调出其中央标尺的物像,移动载物台并转动目镜,使两种测微尺的刻度重合(图 1-4)。选取成整数重合的一段,记下二者的格数,然后计算出使用当前物镜时目镜测微尺每格的长度(精确到小数点后一位),如目镜测微尺的 100 格,等于镜台测微尺的 50 格,即目镜测微尺在这一组合中每格实际长度为 5 μm 。换用其他物镜,可用同样的方法标定目镜测微尺的格值。

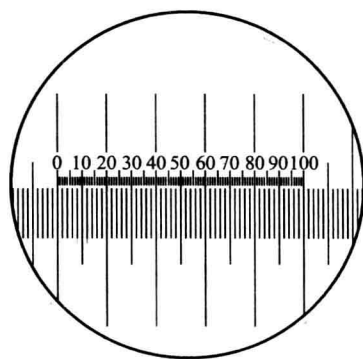


图 1-4 测定目镜测微尺每格的实际长度

$$\text{目镜测微尺的格值}(\mu\text{m}) = \frac{\text{两重合线间镜台测微尺的格数} \times 10 \mu\text{m}}{\div \text{目镜测微尺的格数}}$$

③ 长度测量。取待测材料的玻片标本于显微镜下观察,用目镜测微尺测量,记下标尺的小格数(精确到小数点后一位),根据目镜测微尺的格值,可以推算出所测目

标的实际长度。例如,被测细胞直径为目镜测微尺 2 格,则该细胞直径为 $10\ \mu\text{m}$ 。

(七) 解剖显微镜的结构和使用方法

1. 解剖显微镜的结构 解剖显微镜的机械部分由底盘、载物台、镜柱、镜臂、调焦手轮、物镜变倍调节手轮等组成(图 1-5);光学部分由变倍物镜、半五角棱镜、直角棱镜和目镜组成。被观察物体经变倍物镜第一次放大后,成像于视场光栏处,再由目镜作第二次放大,半五角棱镜可使光轴偏转 45° (便于观察),直角棱镜则使物像正转,从而在目镜焦平面上观察到与物体方位一致的正像,这有利于在解剖镜下的实际操作。直角棱镜组可转动,以便调节瞳孔间距离。变焦系统为机械补偿式结构,通过物镜变倍手轮旋转,可选择物镜的放大倍率,并能获得稳定的像面。

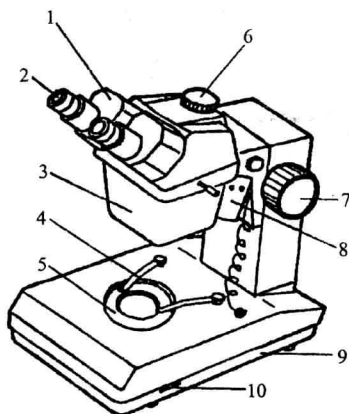


图 1-5 解剖显微镜的构造

1. 棱镜罩壳 2. 目镜 3. 物镜 4. 压簧片
5. 载物台 6. 物镜变倍调焦螺旋 7. 调焦螺旋
8. 反射照明器 9. 底盘 10. 双向开关

2. 解剖显微镜的操作步骤

- (1) 接通电源,根据需要选择透射或反射照明系统。
- (2) 将被观察物体放在载物台中心位置,并用片夹压稳。
- (3) 扳动左右目镜筒,使之与观察者双眼瞳距一致。把物镜调节到最低倍率($0.7\times$),然后慢慢转动调焦手轮,先使右目镜看清物像,再调节左目镜视度圈,即可得到与右目镜同样清晰的物像。
- (4) 根据需要,可通过变倍调节手轮调节放大倍率。

(八) 使用显微镜的注意事项

- (1) 使用显微镜时,必须严格按照操作规程进行。
- (2) 取镜、放镜动作要轻,防止振动,以免造成光学系统光轴的偏斜而影响观察。
- (3) 不得自行拆开显微镜零件,不要把目镜从镜筒中取出,否则会使灰尘落入镜筒内,不易清除。
- (4) 用高倍物镜观察标本时,必须先低倍物镜下看清物像并将其移至视野中心,换上高倍物镜后,只能调节细调焦螺旋。
- (5) 当旋钮转动有困难时,绝不能过分用力,而应查明原因,排除障碍。如果自己不能解决,就要向指导教师说明,请求帮助。
- (6) 用双筒目镜的光学显微镜观察时,必须睁开双眼,切勿紧闭一眼。
- (7) 标本必须加盖盖玻片,制作带水或药液的玻片标本时,必须将两面擦干后再放载物台上观察。
- (8) 保持显微镜的清洁,尽量避免灰尘落到镜头上,否则容易磨损镜头。防止试

剂或溶液玷污显微镜,特别是高倍物镜很容易被染料或试剂玷污,如被玷污时,应立即用擦镜纸擦拭干净。显微镜用过后,应用清洁棉布轻轻擦拭(不包括物镜和目镜镜头)。

(9) 要保护物镜、目镜和聚光器中的透镜。光学玻璃比一般玻璃的硬度小,易于损伤。擦拭光学透镜时,只能用专用的擦镜纸,将擦镜纸折叠为几折(不少于四折),从一个方向轻轻擦拭镜头,每擦一次,擦镜纸就要折叠一次,然后绕着物镜或目镜的轴边旋转边轻轻擦拭。

二、临时装片法

临时装片法是用少量的新鲜植物材料,放在载玻片上的水滴中,盖上盖玻片,做成临时装片进行显微镜观察。具体操作方法(图 1-6)如下。

(1) 擦片。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。擦盖玻片时,应十分小心。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慢慢地轻擦。

(2) 滴水。用滴管在洁净载玻片的中央滴一滴清水,挑选小而薄的材料,放在载玻片上的水滴中,用解剖针或镊子将材料展开。

(3) 盖片。右手持镊子,轻轻夹住盖玻片,让盖玻片边缘与材料左边水滴的边缘接触,然后慢慢放下盖玻片。这样,盖玻片下的空气被水挤掉,可以避免产生气泡。如果水分过多,则材料和盖玻片容易浮动,影响观察,可用吸水纸吸去多余水分。

如果所做的临时切片需要染色,可在盖玻片一侧加一滴染色剂,另一侧用吸水纸吸水,使染色剂扩散,也可在加盖玻片前加染色剂。

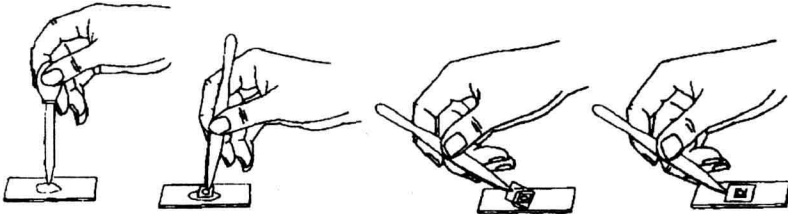


图 1-6 临时装片方法

三、徒手切片法

徒手切片法,狭义上是指用刀把新鲜材料切成薄片的方法,广义来讲,只要不经过任何处理而直接用刀或切片器切新鲜材料,统称徒手切片法。

(一) 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(有些叶片)可用硬泡沫塑料(包装用的聚苯乙烯)、胡萝卜根或马铃薯块茎等,夹住

材料一起切片。有些叶片可卷成筒状再切。

(二) 徒手切片的方法和步骤

(1) 切片前,在小培养皿中盛以清水,准备毛笔、滴管、刀片和植物材料。

(2) 用解剖刀或硬刀片将植物材料截成适当的段块,断面一般以不超过 3~5 mm²,小段长度 2~3 cm 为宜。

(3) 切片时,用左手拇指、食指和中指夹住材料,拇指略低于食指,且材料要稍突出在手指之上,以免刀口割伤手指,右手执刀片,平放在左手的食指上,刀口向内,以均匀的动作自左前方向右后方连续拉切(图 1-7)。注意是手臂用力而非手腕用力,材料要一次切下。整个切片过程中应用清水湿润材料和刀片,使之滑润。切下许多薄片后,用湿毛笔将它们移入盛水的培养皿中。



图 1-7 徒手切片法

(4) 从培养皿中挑选薄的切片,放在载玻片上,制成临时装片,观察。

(5) 简单染色。根据需求和观察目的的不同,选择不同的染剂进行染色。

① 0.1% 番红水溶液。染细胞核和木质化、栓质化的细胞壁,用以区分细胞核与质、木质部与韧皮部。

② 钉红(1:10000)水溶液。染胞间层,显示厚角组织的特点。

③ 0.25% 硫堇水溶液。染细胞核和核仁,区分含木质素和纤维素的细胞壁,但要用 1% NaHCO₃ 水溶液封片。

四、简单的显微化学测定

显微化学方法是应用化学药剂处理植物的组织细胞,使其中某些微量物质发生化学变化,从而产生特殊的颜色反应,并通过显微镜来鉴定这些物质的性质及分布状态的方法。

1. 淀粉的鉴定 淀粉是植物体中主要的贮藏物质,不同植物的淀粉粒的形状不同,用稀释的碘-碘化钾溶液与淀粉作用,呈特殊的蓝色反应,所以常用碘液(见常用实验药剂的配制方法)测定淀粉的存在。注意使用时浓度不宜过高,否则难以看清淀粉粒轮纹及脐点。

2. 蛋白质(糊粉粒)的鉴定 糊粉粒是植物细胞中贮藏蛋白质的主要形式。测定蛋白质常用的方法也是用碘-碘化钾溶液,当碘液与蛋白质作用时,呈黄色反应。

3. 脂肪和油滴的鉴定 测定脂肪的方法是利用苏丹Ⅲ的酒精溶液或苏丹Ⅳ的丙酮溶液(见常用实验药剂的配制方法),染色后呈橘红色。但这不是专一的反应,苏丹Ⅲ、苏丹Ⅳ均能使树脂、挥发油、角质和栓质染色。在鉴定过程中,可稍加热以促进反应。

4. 木质素的测定 细胞壁木质素成分的鉴别方法,一般是用盐酸和间苯三酚先

后处理材料,根据颜色反应的深浅显示细胞壁中木质化的程度。

取新鲜植物材料的切片放在载玻片上,加40%盐酸1~2滴,3~5 min后再加5%间苯三酚的乙醇溶液(见常用实验药剂的配制方法),即发生樱红色或紫红色的反应。导管、纤维和石细胞含丰富的木质素,所以颜色反应典型。

五、滑走切片法

滑走切片法是用滑走切片机对植物材料直接进行切片的方法,它适合于对一些较硬的材料,如木本茎、根和枝条等的切片。

(一) 材料处理

1. 固定与排气 植物材料一般要用F. A. A. 固定液固定两天,因材料中常含有空气,固定时往往漂浮,影响药液的渗入,所以可用抽气机或简易抽气方法除去材料内部的气体。也可用水煮法,即先将材料煮沸20~30 min,取出投入冷水中30~40 min后再煮沸,反复多次。

2. 软化 滑走切片的材料比较坚硬,必须设法将其软化。

(1) 水煮法。水煮既可以排除气体,还可以软化材料。木材一般要直接煮3~5 h。

(2) 甘油-乙醇法。将已排除空气的材料,浸入比例为1:1的纯甘油和70%乙醇的软化剂中,软化时间视不同材料而定,一至数周不等。

(3) 氢氟酸法。材料先煮2~3 h,间歇反复进行,或者连续煮沸24 h,冷却后放入市售氢氟酸(37%~40%)与水各半的混合液中。盛装氢氟酸必须用特制蜡质或塑料容器。软化操作最好在通风橱内,一个月左右可以软化完全。要检查材料是否软化合适,必须先用流水充分洗涤后才可进行切割,并且要带上橡胶手套。

(二) 切片方法

(1) 把材料固定在夹物部的软木塞中,材料上端应露出软木塞外0.5 cm。利用厚度调节器调节好切片的厚度。

(2) 将夹刀部推到顶端,放松刀片夹螺旋,使切片刀平面向下,斜面向上,固定在刀架上。

(3) 把夹刀部拉向夹物装置,使刀口接近材料,调节升降器,使材料切面稍接触刀刃。

(4) 右手用均匀的力量拉动夹刀部,切片刀沿着滑行轨道由前端向后移动,经过材料时就切下一块,并粘在刀口上。此时用毛笔蘸水把切片取下,放入有水的培养皿中,每切一片,都需用毛笔蘸水湿润刀口和材料,然后推回夹刀部,转动厚度推进器,再拉动刀架。如此来回推拉,便可获得许多厚度均匀的完整切片。

切片结束后,注意清理切片刀和切片机,以免生锈或布满灰尘。

六、组织离析法

离析法的原理是用一些化学药品配成离析液,使胞间层溶解,从而获得分散的、