

国家精品课程配套教材

Botany Experiment

植物学实验

刘文哲◎主编



科学出版社

国家精品课程配套教材

植物学实验

刘文哲 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书由基本实验技能、基础实验、综合和研究性实验,以及附录4部分组成。前两部分为学习植物学必须掌握的基本技能和基础实验。第三部分是将近年来植物学研究中广泛应用的新技术、新方法设计成实验,在教师指导下由学生完成,内容涵盖了植物分子生物学、细胞学、结构与发育、系统进化等研究领域常用的实验技术,以培养学生参加植物科学研究的基本素质,以及分析、解决实际问题的能力。每个实验由背景知识、实验目的和要求、实验用品、实验内容和方法、课堂作业、思考题等部分内容构成。为了更好掌握相关实验技术和实验内容,大部分实验配有插图,书后的附录中列出常用试剂、染色剂及缓冲液的配方,供读者查阅。

本书可作为综合性大学、农林院校和师范院校相关专业大学本科植物学实验课程教材,也可作为广大植物学工作者和植物学爱好者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

植物学实验/刘文哲主编. —北京:科学出版社,2015.6

国家精品课程配套教材

ISBN 978-7-03-044922-1

I. ①植… II. ①刘… III. ①植物学—实验—高等学校—教材
IV. ①Q94-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第126922号

责任编辑:丛楠 杨晓庆/责任校对:郑金红
责任印制:徐晓晨/封面设计:铭轩堂

科学出版社出版

北京东黄城根北街00号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015年6月第一版 开本:720×1000 B5

2015年6月第一次印刷 印张:13

字数:252 000

定价:26.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《植物学实验》编写人员

主 编 刘文哲

副主编 赵 鹏

编 者 (按姓氏拼音排序)

李忠虎 刘文哲 苏 慧

王丹阳 赵 鹏

前 言

植物是地球生命存在和发展的基础,它不但为人类和其他生物提供了生长发育必需的物质和能量,而且为生命的产生和进化提供了适宜的环境。揭示植物生长、发育和进化的基本规律,有助于人类更好地了解自然、利用自然、保护自然,这就是植物学的核心内容。因此,植物学是一门实验性学科,植物学实验是学生认识植物生命特征,掌握植物学基础理论的关键环节,同时又是培养学生独立思考和理论联系实际能力的重要手段。伴随着生命科学的快速发展和复合型人才的培养需求,我们在对植物学实验教学进行探索性改革的基础上,结合多年的植物学教学实践经验和科研积累,组织编写了本书。本书以植物的系统发育顺序作为编写主线,包括基本实验技能、基础实验及综合和研究性实验 3 部分。前两部分为学习植物学必须掌握的基本技能和基础实验。第三部分是将植物学研究中广泛应用的新技术、新方法设计成实验,内容涵盖了植物分子生物学、细胞学、结构与发育、系统进化等研究领域常用的实验技术,以培养学生参加植物科学研究的基本素质,以及分析、解决实际问题的能力。

本书作为植物学国家精品资源共享课程的配套实验课程教材,除第一部分 10 个植物学基本实验技能外,第二、第三部分共设计有 35 个实验,每个实验由背景知识、实验目的和要求、实验用品、实验内容和方法、课堂作业、思考题等内容构成。为了更好地掌握相关实验技术和实验内容,大部分实验配有插图,书后的附录中提供了染色原理、常用试剂的配制和使用、常用缓冲液的配制,供读者查阅。

本书由参加植物学教学的一线教师刘文哲、赵鹏、王丹阳、李忠虎、苏慧等编写。我们要感谢西北大学老一辈植物学教授积累的丰富教学资料,感谢西北大学教务处、生命科学学院领导的大力支持。

由于作者的知识水平和能力有限,不妥之处还望读者批评指正。

编 者

2015 年 3 月于西安

目 录

前言

第一部分 基本实验技能	1
实验一 光学显微镜的使用及维护	3
实验二 临时装片及染色	7
实验三 徒手切片法	9
实验四 显微测量技术	11
实验五 整体透明制片法	13
实验六 组织离析制片技术	15
实验七 冰冻切片技术	17
实验八 石蜡切片技术	19
实验九 被子植物花图式与花程式	23
实验十 植物分类检索表的编制与使用	25
第二部分 基础实验	29
实验十一 植物细胞的基本结构及后含物	31
实验十二 植物的组织——分生组织	36
实验十三 植物的组织——成熟组织	40
实验十四 藻类植物	45
实验十五 菌类植物和地衣植物	51
实验十六 苔藓植物	57
实验十七 蕨类植物	62
实验十八 裸子植物	66
实验十九 根的形态结构与发育	71
实验二十 茎的形态和初生结构	77
实验二十一 茎的次生结构	81
实验二十二 叶的形态和结构	84
实验二十三 花的形态结构	90
实验二十四 花药和子房的结构	93
实验二十五 种子和果实结构与发育	96
第三部分 综合和研究性实验	101
实验二十六 植物细胞器的荧光标记及观察	103

实验二十七	植物营养器官的趋同适应及趋异适应观察	106
实验二十八	植物细胞有丝分裂与减数分裂	112
实验二十九	植物染色体核型分析	115
实验三十	植物细胞程序性死亡的 TUNEL 检测	119
实验三十一	植物细胞微丝骨架的活体观察	122
实验三十二	花粉活力与柱头可授性检测	124
实验三十三	花粉体外萌发及花粉管生长的观察	126
实验三十四	人工传粉实验	129
实验三十五	植物花粉管向胚珠的定向生长	131
实验三十六	人工诱导针叶树创伤树脂道的形成	134
实验三十七	校园植物观察与识别	137
实验三十八	校园植物物候期的观测与记录	139
实验三十九	植物总 DNA 的提取	143
实验四十	植物总 RNA 的提取	146
实验四十一	PCR 扩增技术	150
实验四十二	植物分子标记及应用	155
实验四十三	植物遗传多样性检测	171
实验四十四	植物基因组测序原理与应用	174
实验四十五	植物分子系统进化树的构建	182
主要参考文献		187
附录		189
附录一	染色原理	191
附录二	常用试剂的配制和使用	193
附录三	常用缓冲液的配制	198

第一部分 基本实验技能

- 实验一 光学显微镜的使用及维护
- 实验二 临时装片及染色
- 实验三 徒手切片法
- 实验四 显微测量技术
- 实验五 整体透明制片法
- 实验六 组织离析制片技术
- 实验七 冰冻切片技术
- 实验八 石蜡切片技术
- 实验九 被子植物花图式与花程式
- 实验十 植物分类检索表的编制与使用

实验一

光学显微镜的使用及维护

植物细胞的直径一般为 $10\sim 50\mu\text{m}$ ，肉眼无法观察，因此，必须借助各种显微镜来观察，其中光学显微镜是以人眼可以观察到的可见光（包括紫外线）作为光源进行观察的仪器，是生物科学研究和教学过程中最重要和最常用的工具之一。光学显微镜利用光学成像原理把被观察的物体放大几百倍甚至千倍，从而使人们能够对微小的生物或者生物体的组织和细胞进行观察。从事生命科学的学习和研究，就必须了解光学显微镜的基本构造和性能，掌握正确的使用方法。

一、光学显微镜的构造

光学显微镜种类繁多，结构也繁简各异，但其基本结构主要包括机械部分和光学部分（图 1-1）。

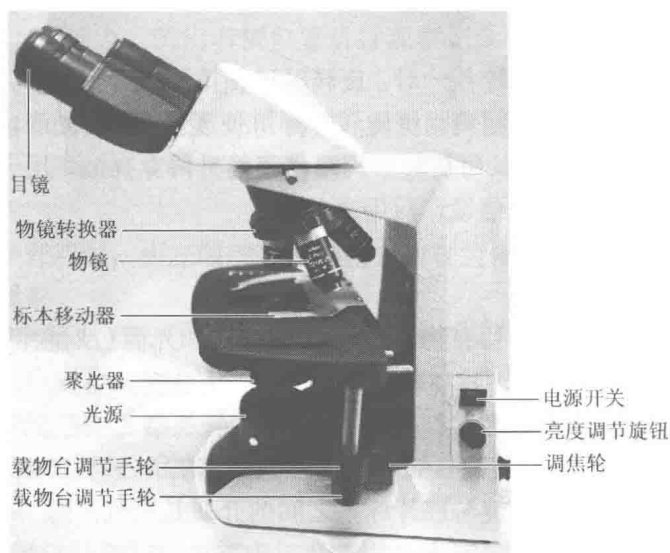


图 1-1 光学显微镜

（一）机械部分

光学显微镜机械部分主要有镜座、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台、标本移动器、粗调焦轮、细调焦轮及亮度调节旋钮等（图 1-1）。

1. 镜座

镜座是显微镜的基座，用以支持镜体平衡，其上装有反光镜或照明光源。

2. 镜柱

镜柱是镜座上面直立的短柱，连接、支持镜臂及以上的部分。

3. 镜臂

镜臂弯曲如臂，上接镜筒、下接镜柱，支持载物台、聚光器和调焦装置。是取放显微镜时手握的部位。直筒显微镜镜臂和镜柱连接处有活动关节，可使显微镜在一定范围内后倾，一般不超过 30° 。

4. 镜筒

镜筒一般长 160~170cm。其上端放置目镜，下端与物镜转换器相连。双筒斜式的镜筒，两镜筒距离可以根据两眼距离及视力来调节。

5. 物镜转换器

物镜转换器是固着在镜筒下端的圆盘，其上装有不同倍数的物镜。可以左右自由转动，便于更换物镜。

6. 载物台

载物台是放置切片的平台，中央有一个通光孔，旁边装有固定玻片的压片夹或标本移动器。有的显微镜载物台下装有聚光器。

7. 调焦装置

镜臂两侧有粗、细调焦轮各一对，旋转时可使镜筒上升或下降，以便得到清晰物像，即调焦。大的一对是粗调，每旋转一周可使镜筒升降 10mm，用于在低倍物镜下观察；小的一对是细调，每旋转一周可使镜筒升降 0.1mm，用于在高倍物镜下观察。使用时，必须先用低倍镜，后用高倍镜。

（二）光学部分

光学显微镜光学部分主要有物镜、目镜、聚光器和光源（或反光镜）等（图 1-1）。

1. 物镜

它是显微镜中最重要的光学部件，安装在物镜转换器上，决定了显微镜的质量、分辨率和放大倍数。常见的物镜有低倍镜（ $4\times$ 、 $10\times$ ）、高倍镜（ $20\times$ 、 $40\times$ 、 $100\times$ ），使用低倍镜和高倍镜时，物镜与玻片标本之间的介质是空气；而 $100\times$ 物镜称为油镜头，使用油镜头时，物镜与标本之间的介质为香柏油（液体石蜡亦可）。物镜上表面的标记数字表示该物镜的各项参数。

2. 目镜

目镜位于镜筒的上方，不同的显微镜有单目镜与双目镜的差别，目镜的功能是使物镜形成的实像进一步放大，在人眼的明视距离上成一虚像，使之便于观察。目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积为总放大倍数，但目镜的放大作用不是提高显微镜分辨率的决定因素。目镜内可安装一段头发作“指针”，也可安装测微尺。

3. 聚光器

聚光器安装在载物台的下方，可弥补光源亮度的不足，适当改变从光源射来光线的性质，将从光源照射过来的光线聚集在被检标本上，以增强照明。聚光器由透镜组和孔径光阑（光圈）组成，可以通过调节孔径光阑的开口大小来改变视野中物体的明暗和反差。也可以通过聚光器升降螺旋升降聚光器来改变标本的照明度，改变视野的范围。

4. 光源

光学显微镜的光源位于镜座内，通常由照明灯泡、折光系统和一枚聚光器组成，常用高亮度的卤素灯泡，镜座右侧具有亮度调节旋钮调节光线强弱。老式光学显微镜则采用反光镜作为取光设备，反光镜一面为平面镜，另一面为凹面镜，镜体可以在其弧弓支架上自由翻转以调整位置，使光线射向聚光器。

二、光学显微镜的使用与维护

1. 取放

拿起显微镜时，右手握住镜臂，左手平托镜座。将显微镜放置于实验台距边缘30cm处，身体的左前方，腾出右侧位置进行观察记录或绘图。

2. 对光

打开内置光源的开关，先用低倍物镜，将光圈开到最大位置，用左眼或双眼观察目镜。调节好光源的亮度，使视野内的光线明亮、均匀又不刺眼。

3. 目镜观察

观察时要睁开双眼，用左眼观察显微镜目镜视野中的像。如果是双筒显微镜，则应睁开双眼观察。

4. 低倍镜使用

将玻片标本放置在载物台上固定好，使观察材料一面正对着通光孔中心。转动粗调焦轮下降物镜至距玻片5mm处，接着用左眼（或双眼）注视镜筒，再慢慢用粗调焦轮上升物镜，直到看见清晰的物像为止。

5. 高倍镜使用

由于高倍镜视野范围更小，因此使用前应在低倍镜下选好欲观察的目标，并将其移至视野中央，然后转高倍镜至工作位置。高倍镜下视野变暗且物像不清晰时，

可调节光亮度和细调焦轮。由于高倍镜使用时与玻片之间距离很近，操作时要特别小心，以防镜头碰击玻片。

6. 油镜使用

在高倍镜下将要观察的样品移至视野中央，上升镜筒约 1.5cm，然后转油镜至工作位置。在盖玻片要观察的位置上滴 1 滴香柏油，慢慢下降镜筒，使之与油滴接触，然后慢慢调节细调焦轮，上升镜筒到物像清晰。因油镜工作距离非常小（约为 0.2mm），所以这步操作要特别小心，防止镜头压碎玻片。

7. 调换玻片

观察时如需调换玻片，要将高倍镜换成低倍镜，取下原玻片，换上新玻片，重新从低倍镜开始观察。

8. 使用后整理

观察完毕后，上升镜筒，取下玻片，将物镜转离通光孔呈非工作状态，放上擦镜布，按原样收好显微镜。

9. 使用注意事项

①显微镜是精密仪器，使用时一定严格遵守操作规则，不许随意拆修。②随时保持显微镜清洁。观察临时装片时，要将盖玻片四周溢出的水或其他液体用吸水纸吸干净，以免污染镜头。已被污染的镜头要用镜头纸擦拭。③观察时，坐姿要端正，双目同时张开，切勿睁一眼、闭一眼或用手遮挡一只眼。④观察玻片时，一定要按先低倍物镜、后高倍物镜顺序使用。细调焦轮是在观察到物像而不够清晰时使用，切忌沿同一方向不停地转动细调焦轮。

实验二

临时装片及染色

临时装片是将少量新鲜的植物材料（如单个细胞、小块表皮或组织、徒手切片法切成的薄片等）用水封装成临时切片标本的方法。常用的永久制片是用石蜡切片法制作的，植物组织都经过了固定、脱水、透明、石蜡包埋、脱蜡、染色和封装等一系列过程，在显微镜下所观察到的实际上已不是天然的状态了。临时装片是一种简单的制片方法，它不适合长期保存，但制作过程简便、快捷，而且可直接观察到材料中组织、细胞的生活状态和天然色彩。必要时，也可以对临时装片进行染色。

一、制作临时装片的步骤

（一）准备载玻片与盖玻片

将载玻片、盖玻片洗净，用纱布擦干。对载玻片洁净度要求较高时，要将载玻片在洗液中浸泡数小时，再用流水冲洗干净。擦拭载玻片时，用左手的拇指和食指夹住载玻片的边缘，右手将纱布盖住玻片上下两面，反复轻轻擦拭，擦过的载玻片不要用手触摸其上下表面。盖玻片薄而脆弱，擦拭时要十分小心，一般用右手的拇指和食指隔着纱布捏住盖玻片上下两面轻轻转动，把盖玻片擦净。

（二）放置材料

先滴 1 滴蒸馏水在载玻片中央，再用镊子取一块材料于水滴中。比较幼嫩的材料则用毛笔或滴管取材和放置，以免损伤其组织和细胞。为了便于封片，材料长宽以不超过 1cm 为宜。

（三）封片

将载玻片平放在桌面上，右手用镊子轻持盖玻片，使其边缘与水滴左侧边缘接

触，慢慢放平盖玻片，避免盖玻片下方产生气泡。如有气泡产生，可用镊子揭开盖玻片，重做这一步。盖玻片下的水过多，会溢到显微镜上，可以用吸水纸从盖玻片的一侧吸去多余水分。如果水不能在盖玻片下铺满，则容易产生气泡，可从盖玻片的一侧再加一点清水，将气泡驱走。

（四）染色

临时装片如果需要染色，不必揭开盖玻片，可从盖玻片的一侧加 1 滴染液，再用吸水纸从另一侧吸水，使染液在盖玻片下由一侧向另一侧扩散，使整个样品染色。

二、临时装片的保存方法

如果所制作的临时装片需要保存较长的一段时间，可用 30% 的甘油溶液代替水来封片。将制作好的装片平放在一个大培养皿中（培养皿底部先垫上一张滤纸），盖上培养皿的上盖。待盖玻片下水分散失一部分后，从盖玻片边缘补充一些甘油溶液，如此反复，直至盖玻片下水分完全挥发，材料完全浸入甘油中。这样处理后的装片称为半永久装片，一般可保存 1 个月以上。

实验三

徒手切片法

徒手切片法是指手持刀片或剃刀，将新鲜材料或经固定的材料切成薄片，然后装片，用于显微观察的方法。此法设备简单、快捷，能及时观察到植物组织的生活状态和天然色彩。在做石蜡切片时，也可先用徒手切片法初步观察其结构，达到有的放矢的效果。同时，在植物组织化学研究上也常用此方法。该方法缺点是切片往往过厚，且厚薄不均匀，切片也不易完整。

一、一般材料的徒手切片

植物的根、茎等长柱形器官或块茎、块根、果实等块状结构在切片时便于手持，是徒手切片的一般材料。对这类材料进行徒手切片的具体步骤如下。

（一）准备

取一小培养皿，盛适量清水（有时需用乙醇或染液等），准备好刀片（双面刀片或剃刀）、滴管、毛笔等工具。

（二）取材和整形

取待切片材料，用刀片将其切修为适合手持的形状。若为柱形器官，如幼根、幼茎等，可截取长度约为 3cm 的一段；若为块状物，如块茎、块根等，可切成长约 3cm，横截面约为 5mm×5mm 的条形。材料整形时一定要注意实验所要求的切片方向。

（三）切片

以左手的 3 个手指（拇指、食指和中指）握持材料，材料的上沿应保持略高于食指，拇指略低于食指，中指顶住材料下端，在切片时配合食指和拇指向上推送材料。右手持刀片，以清水润湿刀面，将刀片平放在左手的食指上，刀口向内并与材料断面平行，右手手臂向后拉动（手腕保持不动），使刀片沿着食指侧沿自左前方

向右后方滑行，将材料一次切下。切片过程如此反复，切下多片后，用滴管吸水将这些薄片冲入到准备好的培养皿中。

（四）装片与染色

用毛笔从培养皿中挑选薄而透明的完整切片，置于载玻片上，加水 1 滴，盖上盖玻片，制成临时装片。如果切片需要染色，可用以下 3 种方法：①在培养皿中盛放适量的染液，将徒手切下的薄片直接浸入其中。②切下的薄片浸泡在培养皿盛放的清水中，用毛笔捞起后放在载玻片上，加 1~2 滴染液进行染色。③切片先不经染色，直接以水装片，必要时从盖玻片边缘加 1 滴染液进行染色。

二、叶片或叶状体的徒手切片

对于过于柔软不易握持的材料，如叶片或叶状材料（如花瓣等）做徒手切片时，可采用一些支持物夹住材料后再进行切片，这样不仅操作较为方便，而且能得到比较薄的切片。具体方法如下：先准备好刀片、毛笔及盛水的培养皿。将支持物（如马铃薯块茎、胡萝卜等）切成长约 2cm、横截面约 5mm×5mm 的条形，在其一侧切出深约 3mm 的纵长切口。从叶状材料上剪下一宽约 2cm、长约 4mm 的长条，放入支持物的切口中。然后，将支持物连同材料一起做徒手横切，所切出的薄片移至盛水的培养皿中。用毛笔挑选最好的切片（不要附带支持物），置于载玻片上，以水封片。必要时也可进行染色。