

吴人坚 张丕方 郑师章 编著
徐士菊 倪德祥 徐德隼

植物学实验方法

上海科学技术出版社

植物学实验方法

吴人坚 张丕方 郑师章 编著
徐士菊 倪德祥 徐德隽

上海科学技术出版社

植物学实验方法

吴人坚 等编著

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 江苏泗阳印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 9.75 字数 214,000

1987年7月第1版 1987年7月第1次印刷

印数 1—2,900

统一书号: 13119·1292

定价: 2.30元

前 言

植物学是一门实验性较强的学科，搞好实验课和课外活动是植物学教学的重要环节。本书主要是为帮助中学教师准备教学实验、演示和指导学生课外活动提供参考资料，也适合大学生物系、农林院校师生和有关科技人员参考。本书内容包括植物的形态结构、系统分类、生理、生态等方面的基本实验技术。大部分内容是根据我们的教学实践整理而成，还有部分内容是参考国内外有关资料编写而成，请读者在阅读和应用后提出批评、指正。

本书各实验的编写者是：吴人坚(实验39, 40, 43~48, 56, 统审全文)，张丕方(实验1~3, 6, 10, 12)，郑师章(实验50~55)，徐士菊(实验29~38, 41, 42)，倪德祥(实验7, 14, 15, 17, 21, 22, 24~28)，徐德隽(实验4, 5, 8, 9, 11, 13, 16, 18~20, 23, 49, 统审全书插图)。插图由陶珑、陆际敏绘制。

在编写过程中，金少青、宓福根、吴士昌、徐萍、唐文钧、郭文仪、彭瑞怡、董文灿等同志对本书的内容提出了宝贵意见，特此致谢。

编者

目 录

实验 1	光学显微镜及其附件的使用	1
实验 2	简易玻片标本的制作方法	14
实验 3	植物细胞的基本形态结构	23
实验 4	细胞质流动	30
实验 5	质壁分离现象和细胞渗透势的测定	32
实验 6	植物的组织	36
实验 7	种子和幼苗的形态结构	48
实验 8	种子发芽率的测定	52
实验 9	种子吸水率的比较	53
实验 10	根的形态和结构	55
实验 11	根压的表现——伤流和吐水现象	60
实验 12	茎的形态和结构	63
实验 13	茎的输导作用	70
实验 14	叶的形态和结构	73
实验 15	叶片托印及叶脉标本的制作	80
实验 16	叶表面气孔的观察和蒸腾速度的测定	82
实验 17	叶面施肥	85
实验 18	叶绿体色素的提取和分离	87
实验 19	光合作用补偿期的测定	94
实验 20	植物的呼吸作用	97
实验 21	营养繁殖	99
实验 22	营养器官的变态	105
实验 23	植物生长激素吲哚乙酸(IAA)的功能	109
实验 24	花的形态和结构	113
实验 25	花序	117
实验 26	花粉的形态和萌发	121
实验 27	果实的基本结构和类型	124

实验 28	植物的胚胎发育	128
实验 29	菌类培养基的制备与灭菌	131
实验 30	菌类的接种技术	139
实验 31	菌种的分离和纯化——未知混合菌种的平板划线分离法	143
实验 32	实验菌种的来源	146
实验 33	实验菌种的保藏	150
实验 34	细菌的形态结构	154
实验 35	放线菌的形态结构	161
实验 36	酵母菌的形态结构	163
实验 37	霉菌的形态结构	165
实验 38	细菌、酵母菌、放线菌、霉菌菌落形态的识别	170
实验 39	大型真菌的采集、培养、标本制作和保藏	173
实验 40	大型真菌的形态结构	184
实验 41	菌类细胞的直接计数	192
实验 42	菌类细胞的菌落计数	195
实验 43	水生藻状菌的采集、培养和观察	197
实验 44	植物病害和病原菌的观察方法	202
实验 45	几种植物病害和病原菌的形态	212
实验 46	藻类的采集、标本制作和保藏	224
实验 47	藻类的分离和培养	237
实验 48	藻类植物的形态结构	245
实验 49	浮游藻类光合生产力的测定	256
实验 50	高等植物的采集和保藏	260
实验 51	苔藓植物的形态结构	265
实验 52	蕨类植物的形态结构	271
实验 53	裸子植物常见代表科的观察	277
实验 54	被子植物常见代表科的观察	283
实验 55	植物群落的观察和样方法	297
实验 56	植物与微生物的共生关系	300

实验 1 光学显微镜及其附件的使用

显微镜在生物学研究和教学中是个重要工具。尽管近代科学的发展已普遍使用了电子显微镜，但是显微镜在各自不同的水平上，各有各的用处，不能相互替代。而且，随着科学技术的发展，光学显微镜的结构、装置也在不断地改进。因此，在科学研究和教学中必须继续发挥它的作用。

一、目的

了解光学显微镜的结构、原理和使用保养方法，以及一些常用附件的使用。

二、显微镜的成像原理

显微镜的成像原理如图 1 所示。

被检物体放在集光器与物镜之间，平行光线从反射镜折入集光器，光线通过集光器透射过物体进入物镜后，即在目镜的焦点面上形成了一个前后倒立的实像，这是初生的图像。从初生的实像射过来的光线，经过目镜的接目透镜，进行再次放大而到达眼球。这时的光线基本上也是平行的，这些平行的光线透过眼球的晶体，在眼睛的视网膜上形成了一个直立的实像。于是我们人的眼球也成了显微镜系统的一个组成部分了。而我们在显微镜内所看到的是倒置的虚像，和视网膜上所造成的实像吻合。所以在移动玻片标本时需注意观察到的物像与实际移动方向相反。当然，要明察显微镜中的物像，必须有个最适宜的距离，这个距离称为明视距离，也即眼球晶体到放大虚像之间的距离，一般为 250mm。

三、显微镜的结构和使用

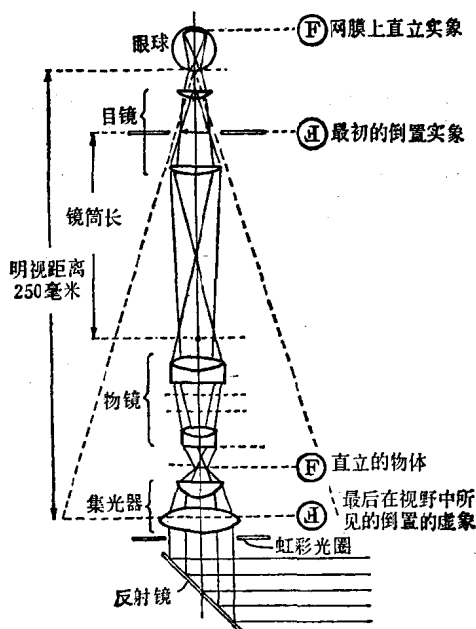


图 1 显微镜成像原理

要使用显微镜，必须先了解其结构。虽然显微镜的种类很多，但基本结构大致相同，可分为光学系统和机械装置两部分(图 2)。

1. 显微镜的光学系统

(1) 目镜：安装于镜筒的上端，也叫接目镜，作用是将被物镜放大的实像进一步放大，它相当于一个放大镜。常用的目镜有 $8\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ ，放大倍数越低，其镜头的长度愈长。

(2) 物镜：安装在镜筒下端的旋转器上，也叫接物镜，是决定显微镜性能的最重要部件。一般显微镜上有 $3\sim 4$ 个物

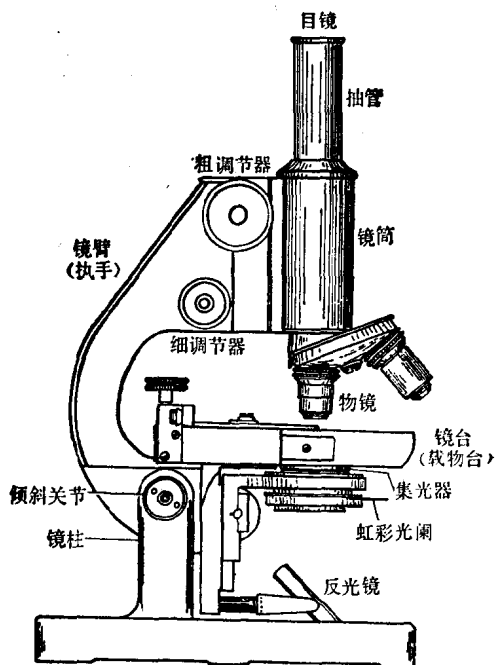


图 2 光学显微镜

镜。 $10\times$ 以下的为低倍镜， $40\times\sim 65\times$ 的物镜为高倍镜， $90\times$ 以上是油镜。放大倍数愈低，物镜头愈短，透镜直径愈大。

(3) 集光器：一般较精密的显微镜，在镜台的透光孔下方，都装置集光器，能使整个视野达到照明度均匀。特别当放大倍数增大时，为了得到足够的亮度，必须通过集光器把光线集中起来，通过透光孔，射到所要观察的标本上去。集光器主要由聚光镜和可变光阑(又叫虹彩光阑)组成，可以上下调节和放大缩小，以调整适宜的光度。

(4) 反光镜：有两面，一面为平面镜，反光较弱，一般当

室内光线较强时,使用平面镜;另一面为凹面镜,能会聚光线,通常光线较弱或使用自然光源时使用。反光镜可以自由地于水平和垂直两个方向上调动,以对准光源。

2. 显微镜的机械装置

(1) 镜座:在显微镜的底部,一般呈马蹄形状。

(2) 镜柱、镜臂和倾斜关节:与镜座相垂直的短铁柱,称镜柱。镜柱上弯曲部分为镜臂。在搬动显微镜时,一般以右手握镜臂,左手托牢镜座。镜臂和镜柱相连接处,有一个倾斜关节,可以使显微镜倾斜,以便观察。但在观察水封片时,不宜倾斜。

(3) 载物台(镜台):为安放载玻片之处,有圆形或方形两种。中央有一个圆形的通光孔,通光孔后方左右侧各有一个压片夹,以固定载玻片不使移动。有的显微镜的载物台上,以十字推进器代替压片夹,可以使切片较灵活地向上下左右推进。

(4) 镜筒:是由金属制成的圆筒,上端放置目镜,下端连接物镜,镜筒内壁为了避免光线的乱反射,喷上黑色无光漆。一般教学用显微镜均为单筒直立式,使目镜和物镜中心在同一直线上。从目镜管上缘到物镜转换器螺旋口下端的距离为镜筒长,一般长为160mm。

(5) 物镜转换器:呈圆盘形,固定在镜筒下端,上面有3~4个物镜螺旋口,物镜按放大倍数高低顺序排列,当转动转换器时,物镜自动固定在使用的位置上,每个物镜的光轴与目镜的光轴同心,即为合轴。

(6) 调节器:为了得到清晰的物像,必须有调节物镜和标本距离的装置称调节器,或叫调焦装置。其位置一般于镜筒后方两旁,有两对齿轮,大的一对叫粗调节器,转动时,可以使

镜筒上下升降，转动一圈可以升降 10 毫米，小的一对为细调节器，旋转一圈仅使镜筒升降 0.1mm。

3. 显微镜的使用

使用时，应按下列步骤进行：

(1) 镜检的环境：室内一般应宽阔而清洁，地基坚固而没有震动，潮气和尘埃很少，不应放置腐蚀性的试剂，诸如硫化氢、氟化氢和酸类等。利用自然光线作为光源时，显微镜应放置在向北的房间。若在直射阳光下观察，光线过于强烈，会伤害眼睛，就不适宜于普通镜检。一般利用阳光的散射光，特别是天空或白云的反射光线。

(2) 低倍显微镜的使用：将玻片标本放于载物台上，使要看的材料置于载物台的圆孔中央，然后用弹簧夹固定。再将低倍物镜旋转到中央，小心地将粗调节器向下转动到离玻片约 1cm 左右。并将反光镜对准光源，上升集光器，打开虹彩光阑，使光量适宜。一般用低倍镜时，光线宜暗一些，观察透明的物体或未经染色的活体材料，光线也宜暗一些。之后，再用粗调节器把低倍镜放下到离玻片大约 2~3 毫米处，通过接目镜观看标本，同时按反时针方向用粗调节器把镜筒缓缓地上升，缓缓移动玻片，直至看到物像为止。这时，进一步用细调节器上下转动，使物像达到最清晰的程度。转动调节器时必须缓慢转动，否则会逐步导致镜筒自行向下滑动的毛病。

(3) 高倍镜的使用：首先如上程序于低倍镜下找到材料，然后再把需要用高倍镜观察的部分，移到视野中央，用弹簧夹压紧，不再移动。再换上高倍物镜，用细调节器上下转动，到出现清楚的物像为止。

(4) 油镜的使用：油镜是普通光学显微镜的一部分，使用这种显微镜头时，光线经集光器照射玻片上的物体，通过玻片

上的油滴和镜头，进入镜筒而达到观察者的眼球。如果在物体与透镜、物体与集光器之间的介质为香柏油，即为油浸系，物体与集光器之间的介质为空气或水的话，则称干燥系或水浸系。

在使用油镜之前，首先应了解一下显微镜的数值口径(开口率或径口率)与分辨力(鉴别力)。一架显微镜的好坏，就是看其数值口径和分辨力。数值口径，通常简写为 $n.A.$ 或 $N.A.$ ，多刻在物镜筒外侧或聚光镜上面，是判断物镜或聚光镜能力的强有力依据。干燥系物镜的数值口径一般为 $0.05 \sim 0.95$ ，油浸系物镜为 $0.85 \sim 1.40$ 。所以数值口径简单地说即光线进入

镜头数值的多少，如用公式来表示则为： $n.A. = \eta \cdot \sin \frac{\mu}{2}$ ，即数值口径($n.A.$)是物镜和被检物体之间介质的折射率(η)

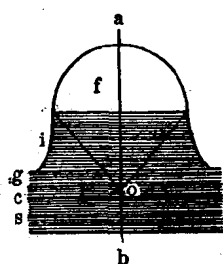


图3 光束进入物镜之半角(镜口角)

焦点对准光轴 ab 上的被检物体 o 时，从 o 发出而进入前透镜 f 的光线所形成的最大角叫做镜口角。

f . 物镜前透镜 g . 盖玻片 i . 香柏油 c . 加拿大树胶层 s . 载玻片

与镜口角(μ)的半数(光束进入物镜之半角，如图3)的正弦之积。使用干燥系物镜时，介质为空气，其折射率为 1.00 ，使用油浸系则为 1.515 (香柏油)(图4)。

油镜成像的原理就是以油浸系代替干燥系，使其折光率加大，而使数值口径亦加大，结果进入透镜的光线增多，因而使物体更显清晰。一般 $\frac{\mu}{2}$ (光束进入物镜之半角)不会大于

90° ，所以 $\sin \frac{\mu}{2}$ 一定小于 1 。这样，油浸

系最理想的数值是 $N.A. = 1.5$ ，这是理论值，实际上很难达到，大约为 1.4 左右。

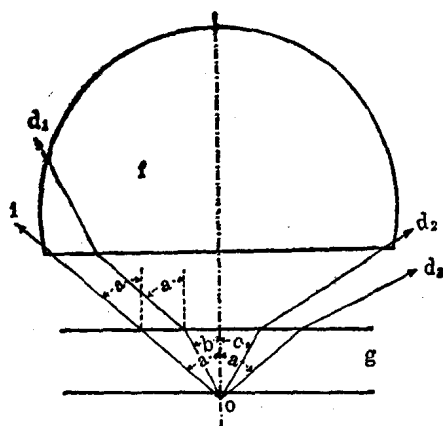


图 4 干燥系与油浸系的比较

f. 物镜 g. 盖玻片

使用油浸系时：从物体 o 所折射的光束 i 直接射入物镜前透镜 f 中：

使用干燥系时：尽管镜口角与 a 同样，从 o 所折射的光束 d_1 形成的角 b 也小于 a ，所以视野暗得多。形成最大的角时也不过是 c (光束 d_2)。

如果角度更大 (光束 d_3)，就不能射入前透镜之中。

所谓分辨力是分辨被检物体微细结构的能力，譬如说，玻片上有 A、B 两点，在显微镜下分辨能力有一定限度。显微镜能分辨两点之间的最短距离，称之为分辨力。根据 Rayleigh's 氏的分辨力公式

$$d \approx \frac{0.61\lambda}{\frac{1}{2}(NA_0 + NA_1)}$$

d = 最小距离 (分辨力); λ = 光源波长，如用天然日光波长为 $4000 \sim 8000 \text{ \AA}$ ，平均为 $6000 \text{ \AA}$ 。

这个公式中为什么有 NA_0 和 NA_1 呢？原因由于光线通过聚光器与物镜二部分的关系而有两个数值口径，但物镜与聚光器上的数值口径是不同的，因此必须相加再除以 2，求得

其平均数。所以在精细的观察中,除玻片上滴加香柏油外,还需要在集光器上也加滴油,这是正确使用油镜的方法。集光器上加油的方法是先用低倍镜观察标本,在所需部分的盖玻片上面滴一滴油,然后降低集光器,把标本翻过来,在与表面油滴相对的地方滴一滴油,再翻过来轻放在镜台中心,升高集光器,而使其上透镜与油滴接触而完成集光器的浸透。

油镜的操作规则:

1) 先用低倍镜找到所欲观察的物体,再换至高倍,将物体置于视野之中央,并使集光器所收集之光量最大。

2) 将镜筒向上旋,并且将香柏油一小滴加于集光器与盖玻片上,油滴不可太大,以免损坏玻片标本和镜头。

3) 将镜筒缓缓放下,使油镜头浸入油滴,靠近观察的物体,然后边观察边用细调节器,由下向上调节,找到物体,这个动作需十分小心,否则会将玻片压碎或使镜头损坏。

4) 观察完毕后,重将镜头旋上,并先以擦镜纸擦去镜头上的香柏油。擦镜纸的用法,一般切成 5cm^2 大小,用时把纸的一角浸润二甲苯,先用干燥的一角擦镜头上的油,再用浸二甲苯的一角拭擦,最后用纸中央的清洁部分擦干镜头。二甲苯不可太多,否则会渗入镜头,使镜头受损。

四、显微镜的保养

为了保护显微镜各部分的功能,必须尽量避免潮湿和灰尘,否则会影响镜头和各个转动部分的使用。因此,须经常备有一块纱布和绸布。纱布可以用来拭擦金属部分的水分或灰尘,绸布用来擦镜头。在气候潮湿的地方或天气,显微镜用毕即放入箱内,为了避潮防霉,箱内可放氯化钙或硅胶片。显微镜是结构很精密的仪器,应防止震动和暴力,否则会造成光学系统光轴的偏斜而影响观察。另外在使用时,绝不要用手

摸光学玻璃部分,因手上有油或污物,容易使镜头发霉。特别是化学试剂很易沾污光学玻璃,使其晦暗变色。有些化学试剂的蒸汽也易氧化镜头。所以必须将光学玻璃保养好,避免与化学药剂接触或靠近。当显微镜使用完毕后,必须做好显微镜的清洁工作。並將物镜转成八字形,用粗调节器轻轻地向下转动,搁在载物台上。反光镜宜转直,载物台上用纱布擦干净。

五、双筒解剖镜的结构和使用

双筒解剖镜有两个目镜,有的式样也有两个物镜,其结构与普通显微镜相似,但其所成的像是直立的,这是由于在目镜下面各装有一组三棱镜——“正影”的装置,将所形成的像,改换方向,变倒像成正像。所以在移动被检物体和解剖时,成像和实物方向一致。其优点可用双目进行观察,同时由于有两个镜头,成像时有立体感(图5)。

使用方法与普通显微镜大致相同。但是不需制成玻片标本,工作距离很长,用实物放于镜台上就可任意解剖操作和观察记录。而且可以根据需要调换不同倍数的物镜和目镜。物镜有横插式或旋转式两种,后者更为方便,以达到观察时恰到好处地放大倍数。一般如剥制植物的茎尖、解剖花的结构等,均可以用双筒解剖镜,是植物学研究中常用的仪器。

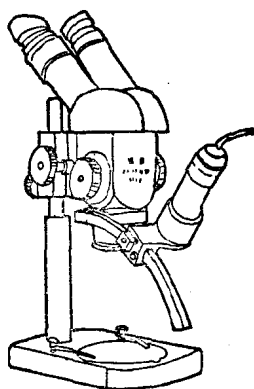


图5 双筒解剖镜

六、显微测微计的使用

我们可以用测微计正确地量出显微镜内所观察物体的大

小。测微计通常包括二部分，一为镜台测微计，一为接目测微计，后者是用来直接测量目的物的大小的，其构造(图6)，是一

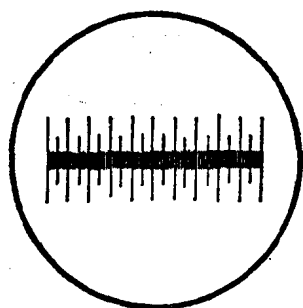
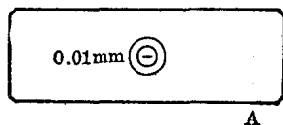


图 6 接目测微计

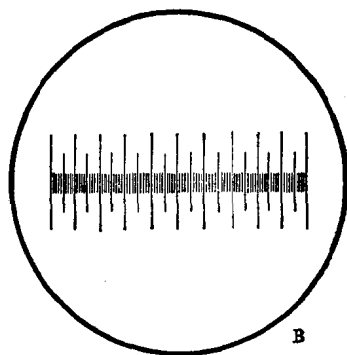
块圆形玻片，在玻片中刻有一条长 5mm 的等分线，共分 50 格。接目测微计可以放在接目镜内，只要扭下接目镜的目透镜后，就可嵌入接目镜内。

在使用不同倍数的接目镜与接物镜时，所看到接目测微计上刻度的大小是不同的，因此在测量物体大小时，预先需

用镜台测微计校正。镜台测微计的构造(图7)是一块长方形的载玻片，在中央部分有一具等分线的圆形盖玻片，上面的等分线长 1 毫米，被分为 100 格，也有 2 毫米被分为 200 格的。每格都为 0.01 mm，即等于 $10\mu\text{m}$ (因 1mm 等于 $1000\mu\text{m}$)。



A



B

图 7 镜台测微计

要确定接目测微计上刻度大小时，可把镜台测微计用压夹压在载物台上，并使等分线恰在视野中央。同时，使接目测微计的等分线和镜台测微计的等分线相重在一起(图8)，然后确定接目测微计几格等于镜台测微计几

A. 镜台测微计 (左端的数值“0.01mm”表示每格的长度) B. 镜台测微计的分度

格,如刻度完全一致,那么在这时所用这种倍数的接物镜和接目镜下,接目测微计刻度的每一小格就等于 $0.01\text{mm}(10\mu\text{m})$,因为镜台测微计上每一小格为 0.01mm 。



图 8 接目测微计刻度与镜台测微计刻度比较

为了测定目镜测微计的每格(图中细线)相当于镜台测微计的几格(图中粗线),进行两者的比较。从上图可以看出,两个分度在目镜测微计的3.7和7.1完全一致。此间目镜测微计划分为34格,镜台测微计划分为15格。镜台测微计有每格宽度不同的几种,假使所使用的是每格相等于 $0.01\text{mm}=10\mu\text{m}$ 的,目镜测微计的每格就等于 $10\mu\text{m} \times 15 \div 34 = 4.4\mu\text{m}$ 。

假如在另一倍数的接目镜和接物镜下,目镜测微计上刻度50格只等于镜台测微计上的刻度10格,今已知镜台测微计上每小格等于 $0.01\text{mm}(10\mu\text{m})$,所以 $10\mu\text{m} \times 10\text{格} = 100\mu\text{m}$,现在相等于接目测微计50格,相除之,即知道接目测微计上每格为 $2\mu\text{m}$ 。

当计算出接目测微计上每格的大小以后,就可以拿掉镜台测微计,代之以需测量的玻片标本,使将要测量的部分位于视野中央,观察测量对象相当于目镜测微计上几格。例如测得一细胞长度平均为2.5格,则就知其细胞的长度为 $2\mu\text{m} \times 2.5\text{格} = 5\mu\text{m}$,其他依此类推。

工作时,可将每组接目镜和接物镜所量得的数字记下,以后进行镜检测量时,便只要利用接目测微计上的刻度进行测量。虽然这种方法能测得在显微镜下所观察物体的大小,但无论使用多么精密的仪器,所测得的结果,免不了有个人误差。有人容易把数看得过大,有人看得过小,各个人测得的数