



植物显微技术

ZHIWU XIANWEI JISHU

336

王心钊

福建教育出版社

植物显微技术

王心钗 编著

责任编辑 谢世如

福建教育出版社出版

福建省新华书店发行

七二二八工厂印刷

787×1092毫米1/32 9.625印张 200千字

1986年6月第一版 1986年6月第一次印刷

印数：1—3,020

书号：7159·1102 定价：1.55元

前 言

在显微镜发明之前，人们对于生物体内部细微结构和微小的生命，用肉眼是看不见的。自十六世纪显微镜诞生之后，把人的眼睛的观察范围，从宏观世界引伸到微观世界，从而揭开了生物体基本结构单位——细胞的奥秘和微生物世界的景观，促进了生物科学突飞猛进地向前发展。

在显微镜下观察物体，必须先将生物体制成薄片才能观察清楚。因此，随之而产生的有各种制作生物薄片的技术和方法；同时还要将显微镜下观察到的物像，真实地记录下来，除通常用文字描述和绘图外，近代还采用摄影的方法来进行记录，即显微摄影（或称显微照相）。由于其效果更为逼真生动，且方法简便，容易操作，所以已广泛应用于生物学的教学与科研。以植物材料为对象，将这三者紧密相关的基本技术与原理汇集于一书，称之为《植物显微技术》。

本书包括普通显微镜技术；植物各种制片技术与方法；显微摄影技术三部分。分章节介绍显微镜的构造、原理、操作技术和保养维修；植物制片的原理、各种制片技术与方法；普通摄影技术、显微摄影的基本原理与技术等。是一本学习和研究生物科学的必备的技术书籍。

目前，中学已普遍恢复生物学课程，本书也可供生物学教师参考。

本书编写过程中承蒙山东省农业科学院崔澧高级农艺师 南开大学钱庭宝教授审阅，并提出许多宝贵意见，特此表示深情的谢意。

由于水平所限，缺点和错误在所难免，请读者批评指正。

编 者

一九八五年四月

目 录

前言

第一章 植物制片的基本设备与基本技术训练	(1)
第一节 植物制片的基本设备.....	(1)
第二节 植物制片的基本技术训练.....	(8)
第三节 植物制片室的规则.....	(15)
第二章 植物制片的原理	(18)
第一节 材料的选择与分割.....	(18)
第二节 杀死、固定及保存.....	(21)
第三节 冲洗与脱水.....	(50)
第四节 透明与透明剂.....	(55)
第五节 染色与染色剂.....	(57)
第六节 植物制片其他用剂.....	(65)
第三章 常用染色剂与染色方法	(74)
第一节 常用染色剂的性质与应用.....	(74)
第二节 染色方法的种类.....	(92)
第三节 常用的染色方法与步骤.....	(96)
第四节 染色中必须注意的几个问题.....	(118)
第四章 植物制片的各类方法	(121)
第一节 暂时封藏制片法.....	(121)

第二节	整体封藏制片法·····	(123)
第三节	涂压制片法·····	(128)
第四节	离析制片法·····	(137)
第五节	透明制片法·····	(141)
第六节	徒手切片法·····	(143)
第七节	滑走切片法·····	(146)
第八节	蒸气切片法·····	(149)
第九节	冰冻切片法·····	(150)
第十节	火棉胶制片法·····	(154)
第十一节	石蜡切片法·····	(156)
第五章	植物显微化学测定法·····	(172)
第一节	细胞壁的显微化学测定法·····	(172)
第二节	植物细胞的内含物测定法·····	(177)
第三节	脱氧核糖核酸与核糖核酸的测定·····	(183)
第四节	植物活细胞与死细胞鉴别测定法·····	(184)
第六章	生物显微镜的发展与分类·····	(185)
第一节	生物显微镜的发展简史·····	(185)
第二节	生物显微镜的分类·····	(187)
第七章	显微镜的构造及功能·····	(189)
第一节	显微镜的光学系统·····	(189)
第二节	显微镜的机械结构与装置·····	(199)
第八章	显微镜的使用方法·····	(203)
第一节	显微镜的使用方法·····	(203)
第二节	显微镜使用时应注意事项·····	(205)
第九章	显微镜的保养与维修·····	(208)

第一节	显微镜的保养·····	(208)
第二节	显微镜常见的几种弊病及维修·····	(210)
第十章	显微镜几种常用的附属用具·····	(212)
第一节	标本推动器·····	(212)
第二节	显微镜测微尺·····	(212)
第三节	描绘器·····	(217)
第四节	指示目镜与双管指示目镜·····	(220)
第五节	物镜标志器·····	(221)
第十一章	各种常用显微镜·····	(222)
第一节	暗视野显微镜·····	(222)
第二节	荧光显微镜·····	(224)
第三节	相差显微镜·····	(227)
第四节	读数显微镜·····	(234)
第五节	双筒解剖镜(实体显微镜)·····	(235)
第十二章	摄影及显微摄影技术·····	(238)
第一节	摄影的基本原理·····	(238)
第二节	摄影机的基本构造·····	(239)
第三节	显微摄影装置·····	(247)
第四节	自制显微摄影装置·····	(251)
第五节	摄影显微镜·····	(256)
第六节	滤色镜的选择与应用·····	(258)
第十三章	感光片和感光纸·····	(262)
第一节	感光片的种类及规格·····	(262)
第二节	感光片的结构·····	(264)
第三节	感光片的速度·····	(266)

第四节	感光片的选择及注意事项·····	(267)
第五节	感光纸的种类和性能·····	(269)
第十四章	暗室工作·····	(273)
第一节	冲洗·····	(273)
第二节	印相与放大·····	(283)
附:	摄影常用配方·····	(289)

第一章 植物制片的基本设备 与基本技术训练

第一节 植物制片的基本设备

在植物制片过程中，需要下列基本的仪器设备和常用药剂及染料。

一. 仪器设备

(一) 普通仪器：

1. 显微镜：供检查切片蜡带、刀口和临时检片之用。
2. 双筒解剖镜：选取材料时用于观察解剖实体。
3. 切片机：

旋转切片机：作石蜡切片用。

滑走切片机：用于滑走切片、火棉胶切片、冰冻切片及蒸气切片等。

冰冻切片机：专用于冰冻切片，通常就在滑走切片机或旋转切片机上装一冷冻装置（包括液体CO₂钢管、输气管及冷冻头等）。

4. 切片机的附属设备：

切片刀：有不同长短的样式，目前多用二面平直短的

切片刀(110或120毫米长)。主要用在旋转切片机上，长的有185毫米，用在滑走切片机上。短的切片刀附刀柄及弹簧夹，供磨刀及荡刀之用。

磨刀石：应备用粗磨刀石与细磨刀石（油石）两块，供磨刀用。

荡刀皮：皮革制的有长条带形与长方形两种，供荡刀用。

5. 恒温箱：用于熔蜡、浸蜡、烤片及种子萌发等。要求温度范围25—60℃。

6. 电温台：在粘片时用于展伸蜡带和烤片，要恒温36—40℃（亦可用水温台代替）。

7. 电冰箱：制片的材料，有的需要在低温下处理和保存，夏天制作切片常需冰块或低温处理。

8. 离心机：供作快速沉淀分离等之用，如作离体切片。

9. 天平：配制各种溶液药品的称量用。

10. 抽气设备：供固定材料抽气用。

(二)玻璃器具：

1. 染色缸：供石蜡切片时染色，常用的有直式五片装及卧式十片装两种。

2. 染色碟：除石蜡切片外其他制片常在染色碟中进行染色。如无染色碟可用小培养皿代替。

3. 载玻片：普通常用的规格为75×25毫米，厚度为1—1.5毫米，以平整不带有杂质为好，此外还有圆窝载玻片，供悬滴培养观察用。

4 盖玻片：有下列几种规格：

(1) 方形：18×18毫米或22×22毫米。

(2) 长方型：22×40毫米或25×50毫米或25×60毫米，供作连续切片用。

(3) 圆形：直径为18毫米。

盖玻片的厚度以0.16—0.18毫米为宜。

5 量筒：应备有25、50、100、200、500毫升等几种不同的容量。

6 烧杯：应备有50、100、200、500、1000毫升等几种不同的容量。

7 试管：一般用规格为20×150毫米。

8 指形管：固定材料或脱水等用，常用规格的口径为1.5—2厘米，高6—8厘米。

9 广口瓶与细口瓶：应备有各种容积（从30—1000毫升）各若干。放固定液及脱水剂，最适用的规格为500毫升。

10 洗瓶。

11 滴瓶与滴管：根据需要备有几个就够了。

12 漏斗：常用的规格，有口径50和100毫米两种。

13 树胶瓶：应带有密封的外盖。

(三) 一般用具：

1. 放大镜。

2. 解剖器：（包括解剖刀、解剖针、剪刀、镊子等）。应备2—3套。

3. 剃刀与刀片：作徒手切片用（刀片以单面保安刀片为好）。

4. 温度计。
5. 毛刷、去污粉、肥皂等：用以洗刷用具。
6. 毛笔：切片时用以取片用。
7. 切片盘：存放蜡带。
8. 切片盒：存放切片用。
9. 剪枝剪：剪取材料。
10. 掘根器：掘取植物地下部分的材料。
11. 金属三角架：包埋时用。
12. 石棉网。
13. 小酒杯：浸蜡用，口径 3—4 厘米为宜。
14. 保温漏斗：过滤石蜡用(如果没有可在温箱中过滤)。
15. 取蜡铲。
16. 清洁用布：纱布及白绸布。
17. 蜡笔：用以标记符号用。
18. 载蜡器：硬木制的备有 8—10 个，规格应根据不同石蜡切片机的要求而定。
19. 软木塞。
20. 钢丝夹：染色时用以夹取切片之用。
21. 角匙：用以称量药品时用。
22. 滤纸：过滤溶液。
23. 试纸：测定 P^H 值。
24. 标签。
25. 玻璃纸：称量贵重药品之用。

(二)常用的药剂

酒精及纯酒精	Ethyl alcohol and Absolute ethyl
冰醋酸	Acetic acid
甲 醛	Formalin
二甲苯	Xylol
苯	Benzene
甲 苯	Toluene
丁香油	Clove oil
氯 仿	Chloroform
明 胶	Gelatine
重铬酸钾	Potassium dichromate
钨 酸	Osmic acid
苦味酸	Picric acid
草 酸	Oxalic acid
盐 酸	Hydrochloric acid
硝 酸	Nitric acid
氯化汞	Mercuric chloride
乙 醚	Ether
香柏油	Cedar oil
铁明矾	Iron alum
甘 油	Glycerine
硫 酸	Sulphuric acid
铬 酸	Chromic acid
铵明矾	Ammonium alum
间苯三酚	Phloroglucin
石炭酸	Carbolic acid

丙酮 Acetone
正丁醇 Alcohol normal butyl
叔丁醇 Alcohol tertiary butyl
氢氧化铵 Ammonium hydroxide
氢氧化钾 Potassium hydroxide
氢氧化钠 Sodium hydroxide
丙 醇 Alcohol propyl
醋酸酐 Copper acetate
三氯醋酸 Trichloroacetic acid
氯化钙 Calcium chloride
氯化钾 Potassium chloride specpure
氯化锌 Zinc chloride specpure
氢氟酸 Hydrofluoric acid
过氧化氢 Hydrogen peroxide
碳酸锂 Lithium carbonate
偏亚硫酸钠 Sodium meta Sulfite
高碘酸 Saper iodine acid

三、常用的染料

苏木精 Haematoxylin
洋红(胭脂红) Carmine
固绿(快绿) Fast Green
番 红 Safranin
亮 绿 Light Green
结晶紫 Crystal violet

龙胆紫 Gentian violet
酸性品红 Acid fuchsin
碱性品红 Basic fuchsin
苯胺兰⁸ Aniline blue
刚果红 Congo Red
曙 红 Eosin
真曙红 Erythrosin
俾斯麦棕 Bismark Brown
中性红 Neutral Red
桔红G Orange G
孔雀绿 Malachite Green
甲基绿 Methyl Green
碘 绿 Iodine Green
苏丹Ⅲ Sudan Ⅲ
苏丹Ⅳ Sudan Ⅳ
甲基紫 Methyl Violet
钌 红 Ruthenium red
柔酸桔红 Orange tannin
靛 兰 Indigo blue
甲基橙 Methyl orange
詹纳斯绿 Janus Green
牙尔契乌斯黄 Matius yellow
吡咯宁B Pyronin • B
吡咯宁y Pyronin.y
茜素红 Alizarin red

碘 红 Iodine

碘化钾 Potassium iodide

亚甲基兰 Methylene blue

红 汞 Merycrochrome

碘—氯化锌 Chlorozine iodide

柔 酸 Tannic acid

第二节 植物制片的基本技术训练

一、切片刀的磨刀技术

切片刀是植物制片技术中常用的重要工具之一。是切片技术上专用的一种非常锋利的刃具。它的利钝与否将影响着制片的成败。要想取得合格优质的切片，首先必须保持切片刀的锋利。切片刀经过切片使用数次之后，刀口难免变钝或损伤出现缺口。如不及时进行磨刀，切片时则发生所切的片子卷曲、破碎、裂条等弊病。因此，掌握切片刀的磨刀技术及保养好刀片是制作切片的一项重要工作。是植物制片者必须掌握的基本技术。在切片之前，应先检查好刀口有无缺口，是否锋利。如有缺口或变钝，应即磨刀。现将切片刀类型与磨刀技术介绍如下：

(一)切片刀的类型：

由于切片方法不同，与其相应的有不同类型的切片刀。常用的有如下三种：

1.双平面切片刀：切片刀的两面都是平的，此刀适用于冰冻切片和石蜡切片法的切片。

2 凹度较深的平凹面切片刀：切片刀一面是平的而另一面凹度较深，此刀适用于火棉胶切片法的切片。

3.凹度较浅的平凹面切片刀：切片刀的一面是平的而另一面凹度较浅，此刀适用于石蜡切片法的切片。

此外，切片刀的长短不一，长的切片刀有20厘米长，短

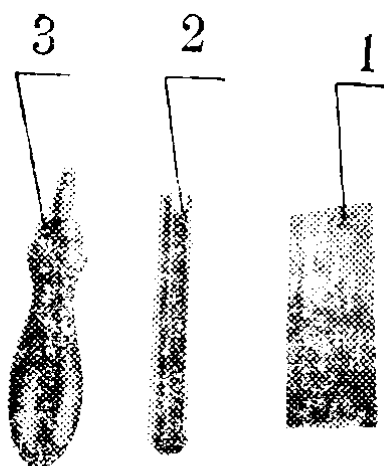


图 1—1 常用的切片刀及附件

1.切片刀 2 刀壳 3 刀柄

的则只有 8—10厘米长，短的附有刀柄与刀壳(图 1—1)，专供磨刀与荡刀使用。

(二)磨刀技术：

切片刀的磨刀一般有两种，一种是机磨，即在特制的磨刀机上进行磨刀。另一种为手工磨刀，即用手在磨刀石上进行磨刀。下面介绍手工磨刀技术。