

孢子植物 实验及实习

周云龙 编 北京师范大学出版社

1-33

孢子植物实验及实习

周云龙 编

*

北京师范大学出版社出版

新华书店北京发行所发行

北京通县印刷厂印刷

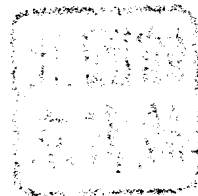
*

开本: 787×1092 1/16 印张: 8.875 字数: 216千

1987年2月第1版 1987年2月第1次印刷

印数: 1—4,800

统一书号: 13243·117 定价: 1.55元



编者的话

目前,各大专院校生物系在植物学的孢子植物(Spore Plant)部分的教学 中,迫切需要一本与教材相配合的实验指导和野外实习指导,这是全面提高孢子植物教学质量的重要条件之一。为此,我们根据教学大纲的要求,并按照教育要“四个面向”,培养优秀的四化建设人才的精神,以及本着教学改革的原则,在总结多年教学实践的基础上,采纳了一部分高等院校的经验和吸收了国外一些可行的方法,编写了这本《孢子植物实验与实习》,作为我系本科生的教材,并供兄弟院校参考。全书分为两篇,共八章。

第一篇是孢子植物的实验指导,有关编写和使用这一部分的几点说明如下:

- 1.实验的内容和次数基本根据教学大纲的安排,但适当扩展了一些实验内容。全部实验共分为13次,在使用时可视具体情况灵活地进行调整,如合并、补充和删减。
- 2.为了保证同学有较多的时间观察材料和分析问题,在不影响培养同学绘图能力的前提下,减少一些绘图,对于较费时的绘图,改为注图,并在实验课上由教师统一校准。
- 3.每次实验后面的思考题,是供同学思考和掌握本章节的重点而提出的,可适当从中选择一些题目布置书面作业或实验课上提问。
- 4.每次实验后面,附有主要实验材料的采集和简易培养方法,以供青年教师和学生参考。为了培养学生的实际工作能力,有些实验材料应由学生自己培养。

第二篇是孢子植物的野外实习,共六章,分别是淡水藻类、海藻、大型高等真菌、地衣、苔藓和蕨类植物的实习。由于孢子植物的类群多,难度大,实习时间短,对于本科生的要求应适当。我们编写的基本原则是:主要让学生掌握各类群野外实习的方法,初步掌握各类群的识别特征和分类依据,以便掌握各大类群的基本特征、生态习性及其在植物界中的地位。对于具体的属种的识别,主要是教科书中讲到的普生种类的代表(均附有图)。由于孢子植物在各地区的分布也象高等植物一样,差异甚大,所以,在本书中仅选择了华北地区一些最常见的代表(亦都有附图)。使用本书时,可根据本地区植物区系的特点加以删减或增补。同时,也可根据实习时间的长短、实习地区的实际情况和师资力量等各种因素,全部实习孢子植物的六大类群,或仅选择其中若干章进行实习。本书的特点之一,就是可灵活地适合各种需要和便于选择使用。

本书编写过程中,得到了一些大专院校的教师和科学院的一些专家的支持和帮助,特别是得到了编者所在的植物教研室中各位老师的指导。中国科学院微生物所魏江春研究员对于“地衣”植物的实习一章给予了具体帮助,在此一并表示谢意!由于编者的水平所限,书中定有不妥和错误之处,敬请各位专家学者和读者批评指正。

编者 于北京师大生物系

目 录

第一篇 孢子植物实验指导

第一章 绪论.....	(3)
第二章 实验内容.....	(6)
实验一 蓝藻门.....	(6)
实验二 绿藻门(一).....	(8)
实验三 绿藻门(二).....	(11)
实验四 裸藻门、甲藻门、金藻门.....	(18)
实验五 褐藻门.....	(21)
实验六 红藻门.....	(24)
实验七 粘菌门、真菌门(一):藻菌纲.....	(26)
实验八 真菌门(二):子囊菌纲.....	(29)
实验九 真菌门(三):担子菌纲.....	(31)
实验十 地衣门.....	(33)
实验十一 苔鲜植物门.....	(34)
实验十二 蕨类植物门(一):石松纲、水韭纲、松叶蕨纲、木贼纲(楔叶纲).....	(38)
实验十三 蕨类植物门(二)真蕨纲.....	(41)

第二篇 孢子植物野外实习

第一章 淡水藻类实习.....	(48)
第一节 淡水藻类的主要分类依据	(48)
第二节 淡水藻类的观察方法	(55)
第三节 淡水藻类的采集和标本保存	(56)
第二章 海藻实习.....	(60)
第一节 海藻实习的基本知识	(60)
第二节 红藻门的主要分类特征和常见种类	(62)
第三节 褐藻门的主要分类特征和常见种类.....	(67)
第四节 绿藻门常见海产种类	(71)
第五节 海藻的采集、固定和标本制作方法	(71)
第三章 大型高等真菌的实习.....	(75)
第一节 大型高等真菌的生物学特性和主要分类依据	(75)
第二节 大型高等真菌各大类的检索	(81)
第三节 大型真菌标本的采集和保存	(88)
第四章 地衣植物的实习.....	(91)
第一节 地衣的主要分类特征及其识别的方法	(91)
第二节 地衣标本的采集和保存	(98)
第五章 苔藓植物实习.....	(100)
第一节 苔纲和藓纲植物的区分	(100)
第二节 苔纲的主要分类依据和常见属.....	(101)

第三节	藓纲植物的分类依据和常见属.....	(104)
第四节	苔藓植物的观察方法.....	(115)
第五节	苔藓植物的采集、标本制作和保存.....	(115)
第六章	蕨类植物实习.....	(119)
第一节	蕨类植物的分类术语和常见种类.....	(119)
第二节	蕨类植物的观察方法.....	(132)
第三节	蕨类植物的采集和标本制作.....	(132)

第 一 篇

孢子植物实验指导

第一章 绪 论

第一节 实验课的目的和要求

一、实验课的目的

学习孢子植物学，必须上好实验课。即在实验室借助于各种仪器和手段细致观察各主要类群的重点代表，掌握它们的形态特征、细胞结构、生殖过程，以真实的材料来加深、巩固、扩大和丰富课堂上及书本上的知识；同时也可使课堂上不易讲清的问题在实验课上得到解决。所以，实验课是学习孢子植物学不可缺少的重要环节。

通过实验课，还可以培养观察和研究植物学的基本方法和技能，这不仅为今后进一步深造和研究打好基础，而且也是学习研究其它学科所必须。此外，通过实验课也可以培养辩证唯物主义的思想方法和严肃认真的科学态度。因此，对实验课必须重视，必须一丝不苟。

二、怎样上好实验课

上好一堂实验课，既有教师的指导和准备的问题，也有学生的态度和方法问题。对于教师来说，就是要准备好实验材料。实验前必须亲自观察实验一遍，以便发现问题；对于实验中的难点要提出解决的措施，有些可向学生事先提醒。在实验过程中，要多观察同学的操作是否正确，所绘的图是否正确，要随时注意指导和纠正。从学生这方面来说，要上好实验课必须做到以下几点：

1. 实验前必须复习老师课堂上的讲授内容，并预习实验指导。
2. 实验时要认真按实验指导的要求和方法步骤进行，注意培养独立工作能力。遇到问题首先自己思考和解决，然后再请老师帮助。
3. 不要抄书描图，要按所观察的实验材料正确地绘图。同时要安排好实验时的观察、思考和绘图三者的关系和时间比例。
4. 实验结束时，每人可按以下几点，衡量自己的实验效果和实验质量：
 - (1) 是否达到了本实验的目的要求。
 - (2) 是否掌握了本次实验的方法和技能。
 - (3) 能否科学地绘出植物的结构图。
 - (4) 能否回答出实验指导上提出的问题。

第二节 实验技术和方法简介

下面所介绍的孢子植物最常用的实验技术和方法，如能安排一定的时间做适当练习，将会大大提高实验的水平和速度。

一、水封藏片制作法

对于很多微小的植物(如藻类、菌类等)以及植物的内部结构，肉眼无法识别，经常需要制作封片在显微镜下观察。封片的技术有多种，在实验中最常应用的是以水作封藏剂制作封

片的方法,一般称之为水封藏制片。这种封片的制作方法已在“植物形态解剖实验”中介绍过,这里结合孢子植物的不同材料分别简述如下:

1.浮游藻类的封藏:在水中营浮游生活的单细胞或群体类型的微小藻类,如衣藻、裸藻、硅藻、小球藻、栅列藻等,可直接用吸管吸一滴藻类水样滴在载片中央就可以了。但要注意,若为观察生活的材料,可以从水面或水上层吸取,若用固定保存的标本时,则要从瓶底吸取,但注意不要吸的材料过浓或带很多脏物,否则影响观察。有些能游动的藻类,如衣藻、盘藻、实球藻、空球藻等,因游动过快不易看清,可采取以下措施之一以抑制其运动速度:

(1)用吸水纸从载片一侧适当吸去一些水。

(2)从盖片一侧边缘加一小滴稀的I-KI溶液,注意不可用浓的溶液,否则会立即将藻类杀死。

(3)从盖片一侧加一滴氯仿水液(5毫升的蒸馏水中加一滴氯仿即可)。

此外,还有两种方法可供选用。其一是在载玻片中央涂一薄层2.5%的琼胶水溶液,将藻液直接滴于其上,加上盖片即可,此法同样可以停止布朗运动;其二是在一滴藻液中加入微量的阿拉伯树胶粉末,再盖上盖片。

2.丝状藻类的水封藏片:例如对丝藻、水绵等,可先用吸管吸一滴清水滴于载玻片中央,然后用镊子或解剖针取少量丝状体(千万不要贪多)放在载玻片上的水滴中。但要注意用针将丝状体小心地拨散开,切记不可用针胡乱搅动,而是利用水的漂浮慢慢向外方拨散,否则,就会缠结成团。最后,加上盖玻片即成。一些丝状真菌也用此法封片,若用5%KOH水溶液作封藏剂,其效果更好。

3.胶团群体藻类或真菌的材料封藏法:例如念珠藻、四胞藻、银耳等。需先在载玻片中央滴一滴水,然后用镊子取绿豆大小的材料(切忌取材过多)放在载玻片的水滴中,用镊子尽量将其压碎,最后,加盖玻片并用铅笔的橡皮头轻压盖玻片,使材料均匀散开即可。注意材料要取少,而且压得越薄越好。

4.叶状体的封藏:例如石莼、紫菜等只有两层或一层细胞厚的材料,只需用镊子取一小块材料置于载片上的水滴中,但要注意用针将材料展开,切勿使其卷折,最后加上盖片。对于细胞层较厚的叶状体(如地钱、海带等),一般需作徒手切片后再封片为好。

5.干保存标本的封藏法:例如紫菜、发菜等,应在封片前1—2小时把材料浸泡在温水或清水中,使材料变软并恢复正常的细胞形态再进行封片。干保存的苔藓植物只需用清水浸泡数分钟即可。

二、徒手切片法

这也是教学和科研中最常采用的简便观察植物内部结构的方法。实验者很容易树立起切片与整体关系的概念。其方法步骤是:

先将材料切成1—2公分长、3—5毫米宽的小块,如海带带片、根和茎,要选择较细嫩的材料截一公分长的小段,然后用左手的拇指、食指和中指拿住材料,并使材料稍突出于手指之上,注意拇指尖稍低于食指,以免刀口割破手指。右手持刀片平放在左手食指之上,刀口向内,且与材料平行,然后自左至右均匀地向右后方切片。注意手腕不必用力,而是整个手臂向右后方拉。还要注意动作需敏捷,材料要一次切下,如此连续多次,尽量切薄一些。最后用湿毛笔将切下的材料薄片轻轻地刷到培养皿的清水中,用毛笔(或小镊子)从中挑选最好的(薄而均匀但不求十分完整)切片放到载片上作水藏封片。

如果所切的材料较薄而软,如地钱叶状体和藓类及某些蕨类的叶子,可选用下列三个方

法进行切片：

①将材料折迭几层，以加大材料的硬度和厚度；②把叶子等材料夹于马铃薯或胡萝卜条的切缝中(用胡萝卜时不要用中间的硬心即木质部)，连同材料一起切片；③将叶片平放在一张载片上，右手将三片双面刀片对齐，再将中间一片提高2—3毫米，使两边的刀片间有一条细缝，然后右手握紧三个刀片对载片上的叶片作垂直切片，把切片用湿毛笔刷入培养皿的清水中。这几种方法均可取得较好的效果。

三、藻类或其它细胞的鞭毛观察

由于藻类或其它生物细胞上的鞭毛很细，一般说，不经过染色处理在光镜下是不易看清的。但有些藻类如衣藻、四鞭藻、实球藻、空球藻等在缩小光圈的暗视野下是能够看见的。为了看得更清楚一些，用下列染液处理都可获得良好效果。

1. I-KI溶液，俗称碘液，也常称鲁哥氏液。可直接用此液加入藻液中；也可吸一滴藻液于载片上，再加一滴I-KI溶液，然后加盖片观察；也可以在加了盖片之后，于盖片一侧滴加一滴I-KI溶液，再用吸水纸从盖片另一侧吸过去。鞭毛因吸碘膨胀加粗，所以容易看清。

2. 可用稀的结晶紫或龙胆紫(0.2%即可)染色。藻类，苔藓蕨类以及苏铁的精子皆可用此液。

3. 蕨类精子的鞭毛还可用Noland固定染色剂处理。其方法是将具有精子的水液滴于载片上。用吸水纸先吸去一部分水，置通风处干燥，精子便被固定于载片上。然后用Noland液染色10分钟，流水冲去多余的材料，便可在显微镜下看出精子上的几十条鞭毛。(Noland液，80毫升石炭酸饱和水溶液，4毫升甘油，20毫升甲醛，20毫升龙胆紫，混合即成)

四、胶质包被的染色观察

藻类植物中有不少种类具有或厚或薄的胶质包被，如蓝藻和绿藻中的一些种类。有些不经染色在光镜下(暗视野)可以看清，有些则需染色。最常用的染液是稀墨汁或蓝墨水。将材料水封藏制片后，从盖片一侧加一滴染液。用吸水纸从盖片的另一侧吸过去，在显微镜下观察染液被吸通过材料时，可清楚地看出包被显示出来的过程。此外，也可用稀钉红、亚甲蓝、苯胺蓝等(0.2—0.5%)的水溶液染色，皆可获得良好效果。

五、核质和细胞核的观察方法

1. 原核生物如蓝藻核质(中央质或中央体)的观察方法：

(1)正反扭动显微镜的细调焦螺旋，注意观察细胞中央的区域和周缘的区域。一般在中央的色淡区域即为核质的部分，周缘色深处(蓝绿)即为色素质。

(2)用0.1%的亚甲基蓝染色，核质呈深蓝色，效果很好。

2. 细胞核的染色观察：真核生物有的具有一个大的细胞核。如某些鞘藻和水绵等，不经染色也可看见。但大多数孢子植物的细胞核均需染色才能看清。实验中常用的染液如下：

(1) I-KI溶液：这是一种多用途的溶液，既可用以固定浮游藻类，又可使鞭毛、细胞核和淀粉着色。核被染成桔红色。

(2) 醋酸洋红：该染液适于藻类和花粉粒等细胞核的染色，核被染成红色。

以上两种染液的配方，见“植物形态解剖实验”。

对于网状叶绿体和具多个蛋白核的多核藻类，如刚毛藻等，最好先将材料用85%的丙酮脱去叶绿素，再用醋酸洋红或苏木精或席夫试剂染色，可获得良好的染色效果。

第二章 实验内容

实验一 蓝藻门 (Cyanophyta)

蓝藻是最原始最古老的光合自养的原植体植物,也是没有核膜、核仁,只具有核物质的原核生物。它们多为蓝绿色。现存种类约有150属1500种,广布于淡水以及潮湿的土壤、树皮、墙壁和岩石表面,有些能生活在85℃的温泉中,少数种类海产。

一、目的要求:

通过代表种类实验观察,掌握蓝藻门的主要特征,更好地理解它们在植物界演化中的地位。同时还要学会一些实验观察的基本方法和技能。

二、实验材料和试剂

色球藻属,颤藻属,念珠藻属,鱼腥藻属等。I-KI溶液,稀墨汁,0.1%的碱性湖蓝(亚甲基蓝)BB溶液。

三、实验内容和方法

本次实验的难点是不易观察中央质和色素质的界限,以及不易鉴别蓝藻的贮藏物质。因此,特别要注意按实验指导的要求去作。

1. 色球藻属(*Chroococcus*):

在淡水池塘、水沟中营浮游生活,或生在潮湿的地面、树干或花盆壁上。用吸管吸取少量标本液,滴一滴于载玻片的中央,加盖玻片,先于低倍的显微镜下观察,然后再转换高倍镜观察。色球藻是单细胞或数个细胞组成的群体,注意单细胞时为球形,而群体中的数个细胞的形状如何?它们的细胞外面和群体外面都有厚的胶鞘。可从盖玻片的一侧加一滴稀墨汁,用吸水纸从盖片另一侧把墨水吸过去,此时可以很清楚地显示出胶鞘及其上的纹理。区分中央质和色素质的区域和位置的最简单的方法,是正反扭动细调焦螺旋,可看出在细胞中央的部位颜色较淡,即中央质,周围的部分颜色较深,即色素质。用0.1%碱性湖蓝BB水溶液染色1—2分钟,中央质可被染成深蓝色。此法效果较好。

2. 颤藻属(*Oscillatoria*):

此属分布最广泛。污水沟和湿地上最多,温暖季节生长最旺盛,常在浅水底形成一层蓝绿色膜状物,或成团漂浮水面。一年四季都可采到。为了得到干净的实验材料,可在实验的前一、两天,将采来的标本放在小烧杯或平底管的水中,它们可借滑行、摆动而移到水面的杯壁上。实验时,用小镊子或解剖针挑取杯壁上的少量的蓝绿色物(即颤藻),置于载玻片中央的一滴水中,盖上盖片,在显微镜下观察下列各项:

(1)藻体形态和运动:颤藻是由一系列细胞所组成的不分枝的丝状体。注意观察它们的滑行和摆动的方式,想想这和颤藻名字的由来有何关系?另外,注意观察颤藻有无胶鞘?

(2)细胞结构和贮藏物质:由于颤藻多为短圆筒形的细胞所组成,所以在观察细胞结构时,应当注意尽量在低倍镜下首先选择丝状体较宽、细胞较长的种类,然后换高倍镜仔细观察丝状体的细胞界限。注意两端的细胞形态有何特点?正反扭动细调焦螺旋,观察中央质和色

素质。再揭去盖片，用0.1%碱性湖蓝BB液染色，盖上盖片，1—2分钟后，中央质染成深蓝色，可与色素质区分开。

观察丝状体中的死细胞。因为不是每条藻体上在任何时候都能找到死细胞，所以需注意仔细寻找。其方法是先在低倍镜下移动载片，当发现丝状体中有的地方发亮。就将此处移到视野中央转换高倍镜，双凹形的死细胞就可看清。有的丝状体上还有胶质隔离盘，注意比较它和死细胞有何不同。并弄清什么叫一个藻殖段？

蓝藻的贮藏物质主要是蓝藻淀粉。它呈微细小颗粒分布在色素质中，加一滴I-KI溶液即变为红褐色。此外，还有蓝藻颗粒体，多为分布在细胞横壁附近的大小不等的颗粒。

3. 念珠藻属(*Nostoc*):

该属藻类生于水中或潮湿的土壤或石面上，是一种不同大小的胶质球或木耳状的胶质片，如普通念珠藻(俗名地木耳)*N. commune*以及发状的胶质丝，如发菜*N. flagelliforme*。采来的标本可用4%的福尔马林浸泡，也可晾干保存。实验时若用晾干的标本，则需提前几十分钟浸泡在清水中或温水中。

用镊子取芝麻粒大小的胶质小块或胶质丝置于载片中央，加一滴清水，先用镊子或解剖针将胶质小块适当破碎，然后盖上盖片，并用手指轻压盖片，使材料均匀散开，即可在显微镜下观察。注意看清以下几点：

(1) 散布在胶质中的藻丝的数量和形状，是否分枝？

(2) 每条藻丝外有无胶鞘？组成藻丝的细胞有几种？特别注意观察异形胞在大小、结构、颜色等方面和营养细胞以及厚壁孢子有何不同？异形胞发生的部位是在细胞列的营养细胞间。异形胞和营养细胞相连接的两端还可看到发亮的折光性较强的节球。结合电镜照片仔细弄清异形胞的结构，并考虑异形胞在念珠藻的繁殖及其固氮方面的功能。

4. 鱼腥藻属(*Anabaena*):

多生于池塘、沟渠中，有一种鱼腥藻生在满江红(*Azolla lamarck*)(一种蕨类植物)的叶内，与其共生，是能固氮的蓝藻。更多的是在水中自由生活的种类。

用吸管取一滴鱼腥藻标本液于载片中央，或用镊子取满江红的2—3片小叶，置于载玻片中央，滴一滴水，并用镊子将叶子挤压撕破，拣去叶子的残片，盖上盖片在显微镜下观察。可见许多单条而无胶鞘的藻丝，注意比较鱼腥藻属和念珠藻属的异同。

5. 示范

(1) 微囊藻属(*Microcystis*): 多生于有机质丰富的鱼池、坑塘沟渠中，夏季常大量繁殖形成“水花”。微囊藻属为浮游性群体，群体形状不一，有球形，不规则形，椭圆形等。很多的球形细胞共包于胶被中，注意每个细胞中的气泡(伪空泡)。

(2) 伪枝藻(双歧藻属)(*Scytonema*)，亦具异形胞，丝状体外有明显胶鞘，特别是具有成对的假分枝。

四、作业及思考

1. 绘图:

(1) 颤藻丝状体一段，示营养细胞、死细胞、藻殖段。

(2) 念珠藻丝状体及其周围的胶质，示营养细胞、异形胞、厚壁孢子、藻殖段。

2. 思考题:

(1) 试以实验材料为例总结蓝藻门的主要特征，并分析蓝藻门的原始性。

(2) 举例解释下列名词术语:

原核，中央质与色素体，叶绿体与类囊体，异形胞，藻殖段，藻胆素。

附：蓝藻主要实验材料的采集和培养

1. 念珠藻属：该属藻类分布广，种类多。如普通念珠藻，主要生于潮湿的土壤表面，在一些林下和山泉小溪旁的湿地上多见，夏季雨后易于采到。发菜主要分布于我国的内蒙、宁夏、青海、甘肃等省区，多生于没有种子植物生长的裸露的红土表面甚至岩石缝隙中。生长季主要为每年的七、八、九三个月。其它种类的念珠藻也有的生于一些沟渠中。该属植物采集后，一般都可晾干保存，也可用4—5%的甲醛水溶液浸制保存。干制标本在实验前用水浸泡1小时即可观察。

另外，也可向有关单位购买念珠藻属的藻种，用HB-111号固氮蓝藻培养基培养。其配方如下：

硫酸镁($MgSO_4$)	0.125克	磷酸氢二钾(K_2HPO_4)	0.075克
碳酸钙($CaCO_3$)	0.100克	柠檬酸铁(0.1%)	0.5毫升
柠檬酸(0.1%)	0.5毫升	钼酸(H_2MoO_4)(1%)	0.25毫升
蒸馏水	1000毫升	A_5 微量元素溶液	1毫升
土壤浸出液	20毫升		

既可用液体培养基培养，也可加入1—1.5%琼脂制成固体培养基培养。注意均需经过高压灭菌后接种。

A_5 微量元素配方：

硼酸(H_3BO_3)	2.9克	氯化锰($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)	1.81克
硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.22克	硫酸铜($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	0.08克
钼酸铵($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$)	0.018克	水	1000毫升

2. 鱼腥藻属：该属藻类有的在淡水池塘中营浮游生活，有的和其它高等植物共生。其中最易采集的是与满江红叶片共生的念珠藻。我国大部分地区的水塘、稻田中均有满江红生长，近年来北方也有引种。只要将满江红采集后用4—5%的甲醛水溶液浸泡保存，即可供实验时使用。

实验二 绿藻门(Chlorophyta)(一)

本门藻类是藻类植物中种类最多的一个大类群，分布极广，淡水、海水、湿地、树皮、高山积雪上都有生长。它们含有和高等植物一样的叶绿素a、b，藻体多为鲜绿色。绿藻的形态、结构、生殖方式各式各样，是教学与实验的重点。

一、目的要求：

通过两次实验中对绿藻的代表植物的观察，掌握绿藻门的主要特征；弄清绿藻的进化趋势及其在植物界演化中的地位；学会鉴别绿藻各类代表特征的实验观察方法。

二、实验材料和试剂

衣藻属，团藻属，小球藻和栅列藻属，丝藻属，石莼属。I-KI溶液。

三、实验内容和方法

本次实验主要观察绿藻纲中的团藻目、绿球藻目、丝藻目和石莼目的代表种类。实验的难点是观察衣藻的细胞结构及丝藻的固着器。

Δ1. 衣藻属(*Chlamydomonas*)：

团藻目。是能游动的单细胞藻类的代表。分布广泛，多生于有机质丰富的池塘、水坑或积水缸中，在春季和夏季常可采到纯群的衣藻标本。实验室中也容易培养成活。

用吸管取一滴有衣藻的培养液，进行水封藏制片，先用低倍镜再换高倍镜观察下列各项：

(1)形态和运动：单细胞、球形或卵形，并注意在衣藻的运动中观察它的立体形态。如若衣藻游动过快不易观察，可采取减缓运动的措施。(见绪论“浮游藻类的封藏”)

(2)细胞结构：由于衣藻个体很小(有测微尺的显微镜可以对其长度进行测量)，尽量在低倍镜下选择个体较大者移至视野中央，在高倍镜下观察其细胞的全部结构。

细胞壁：细胞的最外层。

叶绿体：一个，多为杯状，大形，几占原生质体的绝大部分空间。观察时适当缩小光圈，最好在光路中安装蓝色滤光片。另外要从细胞前端寻找叶绿体的开口(色淡的部分就是叶绿体的开口处)。

眼点：一个，靠近细胞前端侧面，红色。想想它在细胞的何种结构中？有何功用？

伸缩泡：在细胞前端的细胞质中，光镜下看为两个发亮的小泡。

蛋白核：多为一个，大形，在叶绿体的基部埋藏，不染色也可看出其轮廓。加一滴I-KI溶液于盖片一侧，另一侧用吸水纸将其吸过去，由于蛋白核上聚集有淀粉，所以遇碘变成蓝紫色，染液浓度大时则成紫黑色。

鞭毛：在较暗视野时，就可以看见不动或微动的衣藻的鞭毛。如加I-KI溶液时，不仅衣藻被杀死，而且由于鞭毛吸碘而膨胀加粗，故更为明显。显微镜下看见的鞭毛好似两条灰白色的胶质线，由细胞顶端伸出。注意它们的长度，想想它是茸鞭型还是尾鞭型？

细胞核：由于较小，而且被叶绿体遮挡，所以一般来说是看不见的，可以参看藻的染色制片加以辨认。

在光镜下观察衣藻细胞结构的同时，对照衣藻亚显微结构的电镜照片，全面弄清其各部结构。

(3)无性生殖和有性生殖：

在实验材料中经常可以看到衣藻的生殖，特别是无性生殖最常见。当看到有些衣藻不能游动，而细胞里又有2、4、8、16个子原生质体时，就是衣藻的无性生殖，衣藻失去鞭毛转变成游动孢子囊，其内产生的游动孢子通常2个和4个为多。这些游动孢子待母壁破裂后释放出来。

衣藻的有性生殖不常见，但在人为地造成一定的不良条件时，能够看到。如有时将采到纯群的标本用瓶塞塞住数个小时并进行黑暗处理，往往可以发现性生殖的情形。可靠的办法是从中国水生生物研究所购买异宗配合的(+)、(-)藻种进行培养和诱导。这样能有把握的在所需的时间里看到衣藻的(+)、(-)配子结合的过程。衣藻多为同配生殖，一旦发现(+)(-)配子成对的顶端相接触时，就表明融合的开始。然后，顶端开始结合，至原生质体大部分结合时，就慢慢发生扭转。顶端为4根鞭毛，这一阶段仍能运动；再过一些时间，细胞变圆，失去鞭毛，就不能运动了。此时即完成了整个融合过程。在一些种中，这样的过程大约需要3个小时。观察时特别需要注意的是保持盖玻片下面的水分。最简单的办法是过一定时间用吸管从盖片一侧加一点水，在加水时一定要少而且缓慢，同时必须用低倍镜注视衣藻被水推动的方向。否则，就会因找不到材料而半途中断。

2.团藻属(Volvox)：

该属是团藻目中最进步的类型，个体较大，肉眼可见。它是由数百至数万个细胞所组成的多细胞的空心球体，有的各细胞间有明显的胞间联丝。团藻多于夏季生长于淡水池塘或临时积水坑中，有时可采到纯群的团藻。

用吸管取团藻水样，进行水封藏制片。注意其运动的方式，它在运动时有无前后端的分化？并在其运动中观察它的形态。

没有活的标本时，可用浸制的或制备的装片观察团藻的形态。重点要观察团藻的生殖。可结合装片观察，要求辨别清楚以下几种情况：

(1) 团藻的母体及体内产生的第一代甚至第二代子体。

(2) 团藻无性生殖的生殖细胞和营养细胞。生殖细胞比营养细胞的体积大十几倍至几十倍。注意生殖细胞的数目和它们在球体中发生的部位。想想生殖细胞是怎样形成的？

(3) 团藻的有性生殖。注意区分是雌雄同体的种类还是雌雄异体的种类？卵的数目、大小上与生殖细胞有何差异？以及有无精子囊所产生的皿状体。

(4) 合子。注意观察合子的细胞壁的厚度和颜色。

以上过程可能没有完整的标本，可用幻灯或照片补充和对照。还可配合观看“团藻的生殖和发育”的录相或电影。

3. 小球藻属(*Chlorella*)和栅列藻属(*Scenedesmus*):

二者皆属绿球藻目。这两属的藻类在淡水中分布最广，最常见，特别是有机质丰富的水体中，或缸、盆的积水中数量很多。它们和团藻目最大的不同之处就是营养时期没有鞭毛，不能运动。

用吸管吸一滴小球藻液制作水封藏片在显微镜下观察。小球藻为单细胞，很微小，可用测微尺测量其大小。即使在高倍镜下也只能看见其球形或椭圆形的形状。一个叶绿体，片状弯生，但往往只能从细胞内发亮的凹处来辨别。注意观察有无产生似亲孢子的无性生殖。

用吸管吸一滴栅列藻液制作水封藏片，在显微镜下比较它和小球藻的不同？它们为定形群体，你看到了几种类型的群体？它们的细胞形状、大小、数目和排列方式如何？

4. 丝藻属(*Ulothrix*):

丝藻目。多固着生长于清洁流水的石头上，丛生。呈深绿色毡层状，用手触摸既不粘滑也不粗糙。采集时需用采集刀从固着物上刮下，这样能使固着器保存完好。

用镊子取少量丝藻制作水封藏制片，在显微镜下观察以下各项：

(1) 藻体形态和细胞结构：丝藻为不分枝的丝状体，在观察细胞结构时特别要比较营养细胞和固着器的不同。对营养细胞要求看清大形环带状的叶绿体。加一滴I-KI溶液可看出叶绿体上的蛋白核，也可看出细胞核。特别要注意固着器的形状和叶绿体的情况，不要把丝体断裂处的受伤细胞误作固着器，想想它的功能是什么？为什么说丝藻是一种多细胞植物体？

(2) 生殖：有时将采集回来的丝藻放在蒸馏水中，数小时后可观察到游动孢子或配子的形成。如在实验时看到此种情况，应仔细观察和记录这一过程，并想想如何鉴别所产生的是游动孢子还是配子？即使生活材料中看不到生殖过程，但在标本中常可以看到丝藻的一些营养细胞变为孢子囊或配子囊、其内的原生质体分裂成数目不同的子原生质体的情形。

5. 示范:

(1) 实球藻属(*Pandorina*)和空球藻属(*Eudorina*): 均属团藻目。前者为8、16或32个细胞所组成的实心球体，共包于厚的胶鞘中，每个细胞有两条鞭毛穿过胶鞘伸出体外。后者

常为16、32或64个细胞组成的空心球体。

(2) 盘星藻属(*Pediastrum*): 绿球藻目。多为4、8、32或64个细胞组成的圆盘状群体, 细胞多角形, 作同心圆排列成若干圈。

四、作业及思考

1. 绘图:

(1) 衣藻的细胞结构。示细胞壁、细胞质、叶绿体、蛋白核、眼点和鞭毛。

(2) 丝藻的丝状体一段。示固着器、营养细胞、叶绿体、蛋白核、细胞核、细胞壁。

2. 思考题:

(1) 以实验材料为例, 比较团藻目、绿球藻目和丝藻目的主要区别。

(2) 以实验材料为例, 说明什么是单细胞、群体和多细胞植物体? 什么是同配、异配和卵配? 什么是同宗结合和异宗结合? 什么是游动孢子和似亲孢子?

实验三 绿藻门(二)

一、实验材料和试剂

△水绵属, 松藻属, △轮藻属。刚毛藻属, 石莼属。

I-KI溶液, 醋酸洋红

二、实验内容和方法

本次实验的重点, 是接合藻纲和轮藻纲的代表种类, 实验的难点是水绵细胞核及胞质丝的观察以及对轮藻生殖器官的观察。

△1. 水绵属(*Spirogyra*):

接合藻纲、接合藻目。为淡水池塘、沟渠中最常见的一类丝状绿藻。

先用手指触摸水绵丝状体是否很粘滑? 再用镊子取几条水绵藻丝作水封藏片(注意用针把丝体拨散开), 在显微镜下观察:

(1) 形态与细胞结构: 首先在低倍镜下观察。水绵为单列细胞组成的不分枝的丝状体。最明显的是每个细胞中都有螺旋绕生的带状叶绿体。但要注意: 不同的种叶绿体的数目是不一样的, 从一条至多条。然后加一滴I-KI溶液并在另一侧用吸水纸使其吸过去。再选择一条藻丝较宽又仅为一条叶绿体的水绵, 换高倍镜观察一个细胞的细胞壁、叶绿体及其上的一列蛋白核、细胞质、细胞核以及胞质丝。

在观察细胞核时, 要特别注意: 第一, 应在细胞的中部寻找。第二, 不要和蛋白核混淆, 蛋白核遇碘后其上的淀粉变为紫黑色, 而细胞核则呈桔黄色。第三, 要注意细胞核是被少量细胞质所包围的, 而且位于大液泡的中央, 并具有放射状的胞质丝, 把细胞核周围的细胞质与被液泡挤到紧靠细胞壁处的细胞质连系起来。

(2) 接合生殖: 在自然界中, 春季和秋季水绵多发生接合生殖。此时藻体的颜色由鲜绿变为黄绿。也可以在室内培养和诱导水绵的接合生殖及合子的萌发(详见第二部分第一节)。

用镊子取少量几条有接合生殖的藻丝制作水封藏片, 没有这种材料时, 可以观察制备的装片。在显微镜下观察接合生殖的各期:

① 两条并列藻丝的细胞中部侧壁产生突起。

② 两相对细胞的突起连接, 横壁融解形成接合管, 同时, 两相对细胞的原生质体浓缩形

成配子。

③一条藻丝中的每个配子囊中的配子以变形虫式的运动流入另一藻丝的配子囊中去。

④一条藻丝中全形成合子，另一条藻丝的细胞全变成空的壁。这种现象说明了什么？注意成熟合子的形状、颜色和壁上的花纹。

最后，想想为什么把水绵的接合生殖称为梯形接合？

2. 刚毛藻属(*Chladophora*):

绿藻纲、刚毛藻目，约有1500种，分布很广，淡水中最常见，也有的海产。其藻体一般较大，肉眼就可看出是一种多分枝的丝状体。用手触摸颇觉粗糙，为什么？用镊子取几条藻丝制作水藏封片，主要观察其分枝和细胞结构，着重对网状叶绿体、多个蛋白核和多个细胞核进行观察，以比较它们和丝藻及水绵的不同（其细胞核经脱色后用醋酸洋红或苏木精染色可以清楚地显示出来，可进行示范观察）。

3. 石莼属(*Ulva*):

绿藻纲、石莼目。海产。取浸制或蜡叶标本，观察石莼外形，辨认薄的膜状体和基部的固着器。用镊子撕一小片石莼的膜状体，制作水封藏片在显微镜下观察其细胞的形状和片状弯生的叶绿体。结合课堂讲授，想想石莼的生活史，从外形上能否分出它们的孢子体和配子体？为什么？

4. 松藻属(*Codium*):

绿藻纲、管藻目。海产。取浸制或蜡叶标本观察植物体的颜色和外形，辨认基部的盘状固着器和多次二叉状分枝。用镊子撕下一小块藻体，或徒手切片制作水封藏片。在显微镜下观察其内部互相连通的无色细管状丝体和外部的膨大的棒状胞囊，内有多数小盘状的叶绿体。可加一滴醋酸洋红将管状丝体中的极多的小细胞核染出。

Δ5. 轮藻属(*Chara*):

轮藻纲、轮藻目。植物体多大型，一般高约10—60厘米，多生于淡水中，尤其在含有钙质或硅质较多的浅水湖泊、池塘或稻田中常大片生长。

(1) 观察轮藻外形：用放大镜分辨轮藻的主枝、侧枝和轮生短分枝，其假根生在何处？分辨植物体上的节与节间，轮生的短分枝的节上的单细胞的苞片和小苞片。轮藻的生殖器官就生在轮生的短分枝节上。桔红色的精囊球肉眼可见。

(2) 观察节和节间细胞：为了观察轮藻的节和节间细胞，可制备透明标本。其方法是把轮藻植物体的主枝或轮生分枝，放入盛有2—3%盐酸或醋酸的小烧杯中，浸泡数分钟后取出，用清水洗涤即可观察，也可用甘油封片观察。注意比较节和节间细胞的长度、形状，分辨中轴细胞及其外围的皮层细胞。也可作徒手横切，观察二者的关系。

(3) 详细观察生殖器官：取标本作水封藏片（或取装片），在显微镜下首先观察卵囊球和精囊球生长的位置，并比较二者的形状和大小。然后分别辨认卵囊球的五个螺旋状绕生的管细胞，5个冠细胞和一个大的卵细胞，以及精囊球的盾状细胞的界限。最后可以用橡皮头轻压盖片，使精囊球破裂，精囊丝清晰可见。精囊丝的每个细胞可产生几个精子？形状如何？

三、作业及思考

1. 绘图：

(1) 水绵的一个细胞结构。示细胞壁、细胞质、叶绿体、蛋白核、细胞核、胞质丝和中央大液泡。

(2) 水绵接合生殖各期。产生突起；形成接合管和配子；配子接合；合子形成。