

□ 全国高等学校农林规划教材

植物学 实验实习指导

■ 贺学礼 主编



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

普通高等教育“十三五”规划教材

植物学 实验实习指导

王宗敏 主编



高等教育出版社
HEIGAOJIAOYU CHUBANSHE
95501001

全国高等学校农林规划教材

植物学实验实习指导

主 编 贺学礼

副主编 陈铁山 苗 芳

编 者 贺学礼 陈铁山 苗 芳

崔宏安 易 华 郝文芳

杨文权



高等教育出版社

内容提要

本书根据高等农林院校植物学教学大纲的基本要求和现行农林院校各专业使用的植物学教材的知识体系编写。

与《植物学》配套。在常规植物学教学实验的基础上,新增了植物研究技术和方法、常见植物分科检索表,加强了与农林生产密切相关的植物学内容实验;重点实验内容均有相应的插图,提高了实验教学的效率和质量。

本书可供高等农林院校、综合性院校和师范院校学习植物学的学生和老师使用。

图书在版编目(CIP)数据

植物学实验实习指导/贺学礼主编. —北京:高等教育出版社,2004.2

ISBN 7-04-013918-9

I. 植… II. 贺… III. 植物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. Q94-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 001603 号

出版发行 高等教育出版社

社 址 北京市西城区德外大街 4 号

邮政编码 100011

总 机 010-82028899

购书热线 010-64054588

免费咨询 800-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>

<http://www.hep.com.cn>

经 销 新华书店北京发行所

印 刷 北京北苑印刷有限责任公司

开 本 787×1092 1/16

印 张 12.75

字 数 310 000

版 次 2004 年 2 月第 1 版

印 次 2004 年 2 月第 1 次印刷

定 价 17.70 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

前 言

植物学是生物学领域中发展历史较长的一门分支学科,也是高等学校植物生产类、生物类专业本科生必修的重要专业基础课。通过本门课程的学习,不仅为学习有关后续课程和掌握专业知识打下坚实基础,而且还为将来创造性地学习运用现代农业和生物科学创造条件,对于培养学生分析问题、解决问题的能力,发展创新思维及提高综合素质具有重要作用。

21世纪我国培养学生的重要目标之一是“宽口径、厚基础、广适应”。我们根据该目标和农林院校培养人才的特点,同时针对目前植物学实验教材存在的问题和不足,在高等教育出版社和西北农林科技大学教材中心的策划和支持下,特编写了《植物学实验实习指导》一书,希望本书的出版发行能够对植物学学科建设和读者有所帮助。本教材具有如下显著特色:

1. 紧密结合高等农林院校植物学学科发展动态和教学体系。
2. 注重实验的完整性,每个实验包括目的与要求、仪器与材料、内容与方法、课堂作业和课后思考题等,并注重主要实验内容的设计和介绍。
3. 新增植物研究技术和分科检索表,增强了教材的实用性和时效性。
4. 新增与农林业生产密切相关的实验内容,如根瘤菌和菌根的观测等。
5. 图文并茂,有利于老师讲解、学生观察和学习。

全书分为上、中、下三篇及附录,共6章内容。上篇为植物形态解剖,包括3章内容,设计17个实验;中篇为植物系统分类,包括2章内容,设计12个实验;下篇为野外实习和观测,包括1章内容,设计3个实验。本书由西北农林科技大学植物教研室教师编写,苗芳编写第一章、第二章、第三章的实验1和实验2;易华编写第三章的实验3至实验7;杨文权编写第三章的实验8,实验9,实验11至实验13;郝文芳编写第三章的实验14至实验17;崔宏安编写第五章的实验21至实验24;陈铁山编写第五章的实验25至实验29,第六章的实验30;其余内容由贺学礼编写。初稿完成后,苗芳统植物形态解剖内容稿件;陈铁山统植物系统分类和生态部分稿件。全书由贺学礼负责通读、修改、定稿。

尽管我们主观上希望本书能较好地满足读者的需要,但由于编者水平有限,书中难免会有错误和不妥之处,敬请广大读者批评指正。

编 者

2003年8月

目 录

1	显微镜	2	实验 2 种子形态构造和幼苗类型	26
1	一、显微镜的类型	2	实验 3 植物细胞构造(一)	29
1	二、复式显微镜的结构	2	实验 4 植物细胞构造(二)	32
1	三、使用显微镜的主要方法和步骤	4	实验 5 植物细胞的有丝分裂	36
1	四、放大率、镜口率和视野宽度	5	实验 6 植物组织(一)	38
1	五、显微镜测微尺的使用	6	实验 7 植物组织(二)	42
1	六、解剖显微镜的结构和使用方法	7	实验 8 单、双子叶植物根的初生构造	45
1	七、使用显微镜的注意事项	8	实验 9 双子叶植物根的次生构造及变态根	49
2	基本实验技术	9	实验 10 根瘤和菌根	52
2	一、实验材料的采集和保存	9	实验 11 单、双子叶植物茎的初生构造	55
2	二、植物材料的分割与固定	10	实验 12 双子叶植物茎的次生构造	58
2	三、植物制片中常用的染色剂及染色程序	12	实验 13 植物叶片的构造	62
2	四、植物常规制片方法	14	实验 14 细胞减数分裂	66
2	五、显微结构图的绘制	22	实验 15 雄蕊的构造及雄配子体的发育过程	69
3	植物形态解剖实验	24	实验 16 雌蕊的构造及雌配子体的发育过程	71
3	实验 1 显微镜的结构与使用方法	24	实验 17 植物胚的发育	73

中篇 植物系统分类

目 录

4 植物系统分类学研究技术 78

- 实验 18 植物染色体压片技术 78
- 实验 19 植物染色体核型分析 80
- 实验 20 孢粉学实验 82

5 植物系统分类学实验 85

- 实验 21 植物界大类群 85

- 实验 22 被子植物营养器官的外部形态 92
- 实验 23 被子植物花的形态 99
- 实验 24 被子植物果实类型 106
- 实验 25 被子植物分科(一) 110
- 实验 26 被子植物分科(二) 118
- 实验 27 被子植物分科(三) 129
- 实验 28 被子植物分科(四) 139
- 实验 29 被子植物分科(五) 148

下篇 野外实习和观测

6 植被观测和标本采集 160

- 实验 30 森林植被观测 160
- 实验 31 低等植物标本采集和

- 制作 166
- 实验 32 高等植物标本采集和制作 174

附录 181

- I. 实验室规则及安全事项 181
- II. 常见被子植物分科检索表 183

参考文献 196

上篇 植物形态解剖



显 微 镜

显微镜分为光学显微镜和电子显微镜。光学显微镜包括单式显微镜和复式显微镜,常用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重要工具。因此,每个学生都必须了解和掌握复式显微镜的结构、使用和维护方法以及显微镜的操作技术。

一、显微镜的类型

(一) 光学显微镜

光学显微镜是用可见光作光源,用玻璃透镜作成像系统的显微镜,可分为单式显微镜和复式显微镜。单式显微镜结构简单,由一个透镜组成,放大倍数在 10 倍以下,如放大镜。构造稍复杂的单式显微镜为解剖显微镜,也称实体显微镜,是由几个透镜组成,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,是植物形态解剖实验中最常用的显微镜,其有效放大倍数可达 1 250 倍,最高分辨率为 $0.2 \mu\text{m}$ 。光学显微镜还包括研究用的暗视野显微镜、相差显微镜和荧光显微镜等。

(二) 电子显微镜

电子显微镜是用电子束作照明系统,用电磁透镜作成像系统的一类显微镜,主要由电子束照明系统、电磁透镜成像系统、真空系统、记录系统和电源系统五部分组成。电子显微镜分辨率较高,能分辨相距 0.2 nm 左右的物体,放大倍数可达 $80 \sim 120$ 万倍,其分辨率比光学显微镜大 1 000 倍,是观察和研究植物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两种类型。这两种显微镜基本构造相同,都由光学系统

部分和用以装置光学系统的机械部分组成(图 1-1)。

(一) 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,支持镜体上的各部分。

3. 镜臂:弯曲如臂,下连镜柱,上连目镜筒,为取、放显微镜时手握的部位。

4. 镜筒:显微镜上部圆形中空的长筒,其上端放置目镜,下端与物镜转换器相连,并使目镜和物镜的配合保持一定距离,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。

5. 物镜转换器:接于镜筒下端的圆盘,可自由转动。盘上有 3~4 个螺旋圆孔,为安装物镜的部位。当旋转物镜转换器时,物镜即可固定在使用的位置上,保证物镜与目镜的光线合轴。

6. 载物台(镜台):放置玻片标本的平台,中央有一圆孔,以通过光线。在载物台上装有玻片推动器,当玻片用玻片夹固定好后,调节移动旋钮,玻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,这种操作叫调焦。调节物镜和标本距离的装置称调焦装置或叫调节器。调焦装置位于镜柱两侧,有两对齿轮,大的一对叫粗调节器,转动时可使载物台上下升降,转动一圈可以升降 10 mm。小的一对为细调节器,旋转一圈可使载物台升降 0.1 mm。

8. 聚光器调节螺旋:在镜柱的左侧或右侧,旋转它可使聚光器上、下移动,借以调节光线。

(二) 光学部分

光学部分由成像系统和照明系统组成。成像系统包括物镜和目镜,照明系统包括反光镜或电光源和聚光器。

1. 物镜:是决定显微镜质量的最重要部件,安装在镜筒下端的物镜转换器上,一般有 4 个放大倍数不同的物镜,即低倍物镜($4\times$ 和 $10\times$)、高倍物镜($40\times$)和油浸物镜($100\times$),使用显微镜时可根据需要选择。物镜放大倍数一般在物镜镜头上注明,同时还标有数值孔径,物镜可将被检物体作第一次放大。

显微镜的工作距离是指物镜最下面透镜的表面与载玻片(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)。一般油浸物镜的工作距离仅为 0.2 mm,所以使用时要倍加注意。

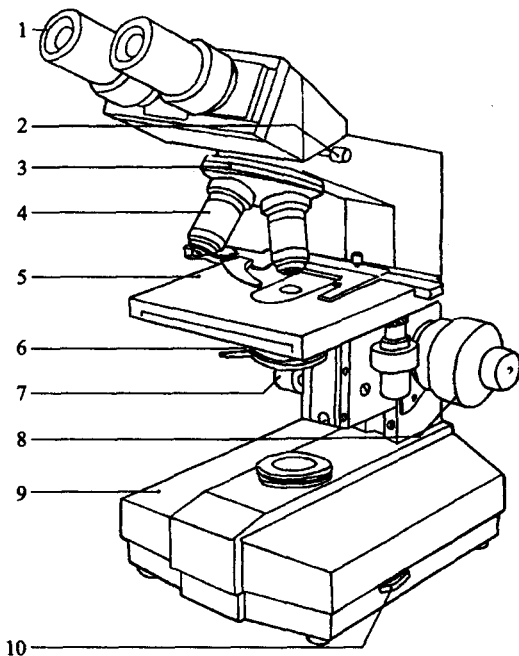


图 1-1 双目复式显微镜的构造

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. 调焦装置 9. 镜座
10. 亮度调节开关

表 1-1 不同放大率物镜的数值孔径和工作距离

物镜放大率	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,上面的透镜与眼接触叫接目镜,下面一个靠近视野叫会聚透镜或视野透镜。目镜的作用是将物镜所成的像进一步放大。常用的目镜有 $5\times$ 、 $10\times$ 和 $16\times$ 等,目镜的放大倍数一般在目镜镜头上注明。

3. 反光镜(反射镜):反光镜有两面,一面为平面镜,反光较弱,当室内光线较强时,可使用平面镜;另一面为凹面镜,能会聚光线,光线较弱时使用。反光镜可朝任一方向旋转以对准光源。有的显微镜在底座上安装反射镜的位置安装电光源,电光源是 $6\text{ V } 10\text{ W}$ 的卤钨灯。

4. 聚光器(或聚光镜):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,它可将平行光线汇集成束,集中在一点,以增强被检物体的照明。聚光器可以上下调节,如用高倍镜时,视野范围小,则需上升聚光器,用低倍镜时,视野范围大,可下降聚光器。

5. 虹彩光圈:装在聚光器内,位于载物台下方,拨动操作杆,可使光圈扩大或缩小,借以调节通光量。

三、使用显微镜的主要方法和步骤

(一) 取镜和放置

按固定编号从镜盒中取出显微镜。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。放置显微镜时,动作要轻,一般应放在座位的左侧,距桌边约 $5\sim 6\text{ cm}$ 处,以便观察和防止显微镜掉落。

(二) 对光

使用自然光或日光灯照明时需要调节反光镜,对光时,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。一般用平面镜即可,光弱时可用凹面镜。当光线从反光镜表面向上反射入镜筒时,在镜筒内就可以看到一个圆形的明亮视野。使用电光源时应接通电源,打开开关,调整电位器手柄,使光亮合适并充满整个视场,此时再利用聚光镜或虹彩光圈调节光的强度,使视野内的光线既均匀明亮又不刺眼。

(三) 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,双眼注视目镜,同时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离一致,此时两个圆形视野合二为一。

(四) 低倍物镜的使用

观察任何标本,都必须先用低倍镜,因为低倍镜视野范围大,容易发现目标和确定要观察的

部位。使用低倍镜的操作步骤如下：

将玻片标本放于载物台上，并用弹簧夹固定(将玻片夹在弹簧夹之间)，旋转玻片推动器前后和左右移动旋钮，使玻片标本正对通光孔的中心。再将低倍物镜(10×)旋转到中央，旋转粗调节器，使物镜离玻片约1 cm左右，然后通过目镜一边观察标本，一边旋转粗调节器，使载物台慢慢向上移动，直至看到物像为止，这时，稍微转动细调节器，使物像达到最清晰的程度。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、成像的反差强弱是否合适等再进行调节。如果视野太亮，可降低聚光器或缩小虹彩光圈或降低电压，反之则升高聚光器或开大光圈或升高电压。

(五) 高倍物镜的使用

观察较小物体或细微结构时可使用高倍物镜(40×)。由于高倍物镜只能把低倍镜视野中心的一小部分加以放大，因此，使用高倍镜前，应先在低倍镜下选好目标，将其移至视野中央，转动物镜转换器，把低倍物镜移开，小心换上高倍物镜。正常情况下，当换上高倍物镜后，在视野中即可见到模糊的物像，只要略微调动细调节器，就可获得清晰的物像。换用高倍镜观察时，视野变小变暗，所以要重新调节视野亮度，此时可升高聚光器或放大虹彩光圈或升高电压。

(六) 油镜的使用

油浸物镜使用前，必须先从低倍镜下找到被检部分，再换高倍物镜调正焦点，并将被检部分移到视野中心，然后再换用油浸镜头。使用油镜头前，一定要在盖玻片上滴加一滴香柏油(镜油)，然后才能使用。当聚光器镜口率在1.0以上时，还要在聚光器上面滴加一滴香柏油(油滴位于载玻片与聚光器之间)，以便使油镜发挥应有的作用。

用油镜观察标本时，绝对不许使用粗调节器，只能用细调节器调节焦点。如盖玻片过厚，则不能聚焦，应注意调换，否则就会压碎玻片或损伤镜头。

油镜使用完毕，需立即擦净。擦拭方法是用棉棒或擦镜纸蘸少许清洁剂(乙醚和无水乙醇的混合液，最好不用二甲苯，以免二甲苯浸入镜头后，使树脂溶化，透镜松懈)，将镜头上残留的油迹擦去。否则香柏油干燥后，就不易擦净，且易损坏镜头。

(七) 显微镜使用后的整理

观察结束后，调节电压调节杆到最小值，然后关掉电源开关。旋转粗调节器，使载物台下降到最低位置，取下玻片，擦干净镜体，罩上防尘罩，然后用右手握住镜臂，左手平托显微镜底座，按号收回镜箱中。

四、放大率、镜口率和视野宽度

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，如果目镜放大率为10×，物镜放大率为40×，那么显微镜的总放大率=10×40=400倍。如果目镜的放大倍数过大，得到的放大虚像会很不清，所以一般目镜不宜过大。

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。在物镜镜头上常标有N.A.10/0.25, N.A.40/0.65, N.A.100/1.25(油镜头)。N.A.表示镜口率，也就是数值孔径。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，它是衡量显微镜质

量的最主要依据。欲使显微镜发挥它的能力,除有高级物镜外,还必须有优良的聚光器,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:

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

例如,镜口率为 0.65 的物镜,如与镜口率为 0.45 的聚光器配合使用,则物镜的有效镜口率就降低为 0.55。因此,聚光器的镜口率应该与物镜的镜口率一致。通常聚光器上仅刻有最大镜口率的数值,因此,在使用时要注意调节,使两者镜口率相等。

目镜光栏所围绕的圆即视野宽度。视野宽度越大,观察玻片标本的面积越大,则显微镜放大的倍数越小。所以,视野宽度与放大率成反比。因此当你将低倍物镜转换成高倍物镜时,必须先要把标本移到视野正中央,否则标本的影像落到缩小的视野外面,反而找不到需要进一步放大的物像。

五、显微镜测微尺的使用

显微镜测微尺能正确量出显微镜内所观察物体的大小,通常包括镜台测微尺和目镜测微尺两部分,两者配合使用测量被观察物体的长度和面积。

1. 镜台测微尺: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,上面的等分线长为 1 mm,被分成 100 个小格,每小格长 0.01 mm,即 10 μm (图 1-2)。

2. 目镜测微尺:是放在目镜内的一种标尺,是一块圆形玻璃片,直径 20~21 mm,正好能放入目镜内,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,共长 10 mm,也被分成 100 个小格,网格式的测微尺可以用来计算数目和测量面积(图 1-3)。

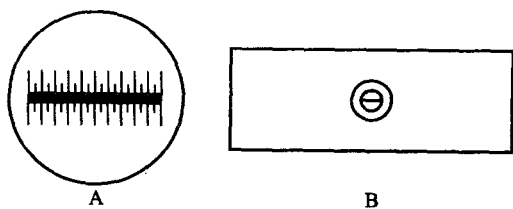


图 1-2 镜台测微尺

A. 标尺的放大 B. 具标尺的载玻片

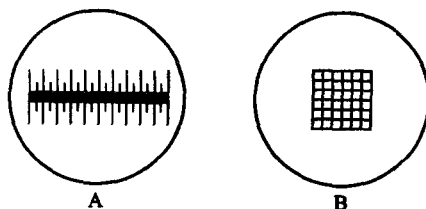


图 1-3 目镜测微尺

A. 直线式 B. 网格式

3. 长度测量法:测量长度时,通常以目镜测微尺和镜台测微尺配合使用,先将目镜测微尺的圆玻片放入目镜中部的铁圈上,观察时即可见标尺上的刻度,但其每一个小格的长度不是固定的,而是随着物镜放大倍数的变化而变化,所以不能直接用它来测量长度,必须先用镜台测微尺确定它每一小格的值。具体方法是:先将镜台测微尺放在载物台上,如观察普通标本一样,调节焦距,使标尺上的刻度观察清楚后,即可移动镜台测微尺,使镜台测微尺与目镜测微尺的刻度重合(图 1-4),选取成整数重合的一段,记录两者的格数,然后计算目镜测微尺每格的长度。如果目镜测微尺的 100 格等于镜台测微尺的 50 格,那么在当前的放大倍数下目镜测微尺每格的长度

为 $5\ \mu\text{m}$ 。这时,就可将镜台测微尺移去,换上待测量的标本,如果用目镜测微尺测得细胞长度为 10 个格,那么细胞的实际长度为 $5 \times 10 = 50\ \mu\text{m}$ 。

$$\text{目镜测微尺每格的值} = \frac{\text{两重合线间镜台测微尺的格数} \times 10\ \mu\text{m}}{\text{两重合线间目镜测微尺的格数}}$$

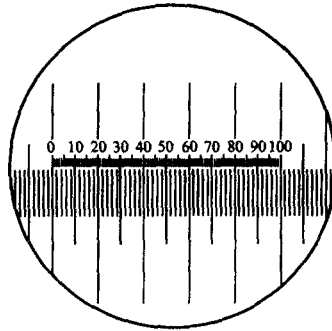


图 1-4 测定目镜测微尺每格的实际长度

(上方的标尺为目镜测微尺,下方为镜台测微尺,目镜测微尺的 100 格与镜台测微尺的 50 格重合)

六、解剖显微镜的结构和使用方法

解剖显微镜的机械部分由底盘、载物台、镜柱、镜臂、调焦手轮和物镜变倍调节手轮等组成(图 1-5);光学系统由变倍物镜、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,使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

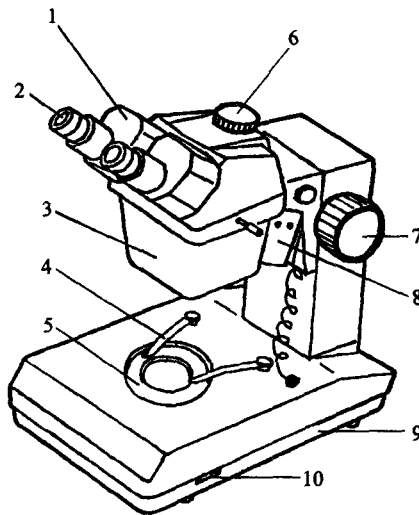


图 1-5 解剖显微镜的构造

1. 棱镜照亮 2. 目镜 3. 物镜 4. 压簧片 5. 载物台 6. 物镜变倍调节手轮
7. 调焦手轮 8. 反射照明器 9. 底盘 10. 双向开关

下的实际操作。直角棱镜组可转动,以便调节瞳间距离,满足不同的双眼瞳距,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。

解剖显微镜的操作步骤如下:

1. 接通电源,根据使用者需要可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,使之与使用者双眼瞳距一致,便于观察。把物镜调节到最低倍率($0.7\times$),然后慢慢转动调焦手轮,先使右目镜能看到清晰物像,再调节左目镜视度圈,使左目镜得到与右目镜同样清晰的物像。
4. 根据使用者的需要,可通过变倍调节手轮调节放大倍率。

七、使用显微镜的注意事项

显微镜是一种结构很精密的仪器,使用时必须十分小心,并注意下列事项:

1. 使用显微镜时,必须严格按照操作规程进行。
2. 使用显微镜时应轻取轻放,防止震动和暴力,以免造成光学系统光轴的偏斜而影响观察。
3. 使用显微镜时不得自行拆开光学零件,不要把目镜从抽管中取出,否则会使灰尘落入镜筒内,不易清除。如果必须将目镜取出,应立即用布或其他物品把它盖好。
4. 用高倍物镜观察标本时,必须先用低倍物镜观察,调节焦距,观察到清楚的像并移至视野中心后,再换高倍物镜,慢慢调节细调节器,直至物像清楚为止。高倍物镜的工作距离较小,操作时要非常小心,以防压碎切片。
5. 油浸物镜一定要在盖玻片上滴油后才能使用,用毕应立即将油擦干净。方法是用擦镜纸蘸清洁剂(乙醚和无水乙醇)少许,将镜头上残留的油渍擦净,否则干后就不易擦去,而损伤镜头。
6. 为了保持显微镜各部分的功能,必须尽量避免潮湿和灰尘,以免影响镜头和各个活动部分的使用。因此,须经常备一块纱布和一块绸布,用纱布拭去金属部分的水分、潮气或灰尘等;绸布用来拂去光学玻璃部分的灰尘。在气候潮湿地区,应在显微镜镜箱内放氯化钙,保持干燥,防止镜头发霉,氯化钙失效后须立即更换。
7. 化学试剂很容易污染光学玻璃,使它晦暗变色。有些化学试剂的蒸汽也易氧化镜头。所以须将光学玻璃保护好,避免和化学试剂或药品接触与靠近。存放之前,必须擦拭干净。物镜里面不易清洁,可用毛笔拂拭,切不可用手指触及玻璃。镜头外面可用擦镜纸蘸少许乙醚与乙醇的混合液擦拭。



基本实验技术

由于大部分植物器官和组织是不透明的,不能直接在显微镜下观察,需要经过一系列的处理,使光线能够透过要观察的材料。因此,有必要学习和了解植物形态解剖学的基本实验技术。植物制片方法很多,读者可根据不同研究目的和观察对象,选择不同的制片方法,并选择合适的染料进行染色,最终获得具有较好观察效果的制片。

一、实验材料的采集和保存

为了全面观察到组织和细胞中各种细致的结构,采集标本时必须选择健全而有代表性的植物,尽可能不损伤植物体或所需要的部分。如果所采集的材料应立即杀死固定,而条件不能满足时,应尽量防止材料变干、损伤和生霉。已经压制的干标本可以将它放在水中浸软后再做切片,但只能用以观察维管束排列等较大的构造,不能作精细研究。现将采集各类植物和不同器官时应注意的事项分述如下:

叶:采叶时,用刀片将叶柄切下,如果不能立即固定杀死,可将叶片夹在潮湿的纸内,放在采集箱或其他密闭容器内。带回来的叶子如有枯萎现象,须先使之潮湿,恢复原状后固定。

茎:带有叶子的茎,采回后如果不能立即固定杀死,可放在盛水的花瓶或其他容器内养几天。野外采集,没有条件用此法保存,可将茎切成很长的几段,用湿纸包起来,放在采集箱内带回实验室后取样固定。

根:采集根及其他地下器官时,不要用力将根拔出,以免柔软的皮层与中柱部分分离,而一定要先把泥土翻开,把根挖出,将泥土洗净,然后用湿纸包好后拿回实验室固定杀死。

花:将整个花或花序摘下来,包在潮湿的纸内,然后贮藏在密闭容器内,放在阴凉处,果实采集与贮藏也可以这样。

苔藓植物:应将一大簇植物连底土一起采,然后放在潮湿容器内,使植物体吸收水分而展开,把植物体放在解剖镜下,将所需部分解剖出来固定。

藻类植物:将藻类带水一起采集,放在阴凉处。许多丝状藻类拿回实验室中将会很快衰老而死亡,所以这些藻类采到后须立刻固定。

肉质菌类:许多大的肉质菌类可以包在蜡纸里贮藏一段时间,但不可太久,否则容易损坏。小的菌类应夹在潮湿的纸内,再包上蜡纸,但时间不可太长,固定愈快愈好。

病理材料:采集病理标本时,应特别注意不能将寄生的组织损伤,要防止枯萎、发霉和其他细菌的侵害。为和正常无病组织相区别,采集时,除了病理标本外,正常组织的标本也须采集,以便将来作比较观察。

二、植物材料的分割与固定

(一) 植物材料的分割

植物材料采到后,尽可能快的杀死与固定,使各细胞立即停止生命活动,以保持原生质的原有形状。常用固定液对植物外表的角质、木栓质等的穿透很慢,但对于被切割的表面,则穿透较快。所以,固定材料时,应将所要固定的部分分割成小块、小段或小片,以达到立即杀死与固定的目的。

分割柔软而新鲜的材料可用刀片切开。分割叶片时,如果叶片宽度不超过 5 mm,则可沿中脉横切,每片长约 3~5 mm。如果叶片比较宽阔,可根据需要分割成许多小片,一般选择其中含有主脉和侧脉的固定。如果固定蕨类叶片及有病的叶片,则应选择含有孢子囊及菌孢的小片。

草本植物的根、茎、叶柄或其他圆形的器官分割时,如果直径不超过 2 mm,而其表面具有厚的角质层,则可切成长约 2 mm 的小段,如果其表面非角质化,则可切成 10 mm 长的小段;如果根或茎的直径为 5 mm,应切成 5 mm 长的小段;其直径为 1 cm,应切成 2~5 mm 长的小段。直径较大的茎,可切成 5 mm 长,且可分割一半或四分之一。

木质小枝的直径为 5 mm 以内时,可用锐利的刀片将其切成 15 mm 长的小段。要作木材的横切面、径切面、切向切面时,常用伐下的完整无损的木条和大枝,其直径在 10 cm 以上的,切成 2~3 cm 厚的小盘状,然后沿射线方向,将它分割为楔形小块,保留有几圈年轮、形成层及其外面各部分,修整后固定。

(二) 植物材料的固定

要使植物组织在切取以后仍能保持原来状态,必须将植物组织迅速杀死固定,使它们不至于在死亡前,形态及结构有更多的内部或外部变化。最主要的杀死与固定药剂有乙醇、福尔马林、醋酸、苦味酸、铬酸、重铬酸钾、升汞和钒酸等。

1. 福尔马林[Formalin, 37%~40% 的甲醛(HCHO)]:福尔马林是甲醛的水溶液,市售的约含 37%~40% 甲醛。固定和保存时所用溶液为福尔马林的百分比,而不是甲醛。例如 10% 福尔马林溶液是 10 ml 的福尔马林加上 90 ml 的水配制而成。所以 10% 的福尔马林实际上仅含 3.7%~4% 的甲醛。

福尔马林易被氧化为甲酸(formic acid),故常带酸性,它的 pH 常在 3.1 到 4.1 之间。欲得中性福尔马林,可加吡啶、碳酸钙或碳酸镁使之中和。例如 10% 的福尔马林可被过量的碳酸钙中和为 pH 6.4;用过量的碳酸镁中和,则 pH 为 7.6。福尔马林若贮藏较久或存放在温度低的地方会变浑浊,甚至形成白色胶胨状沉淀物,成为高度聚合的形式而使它变性。若加入少许甘油则