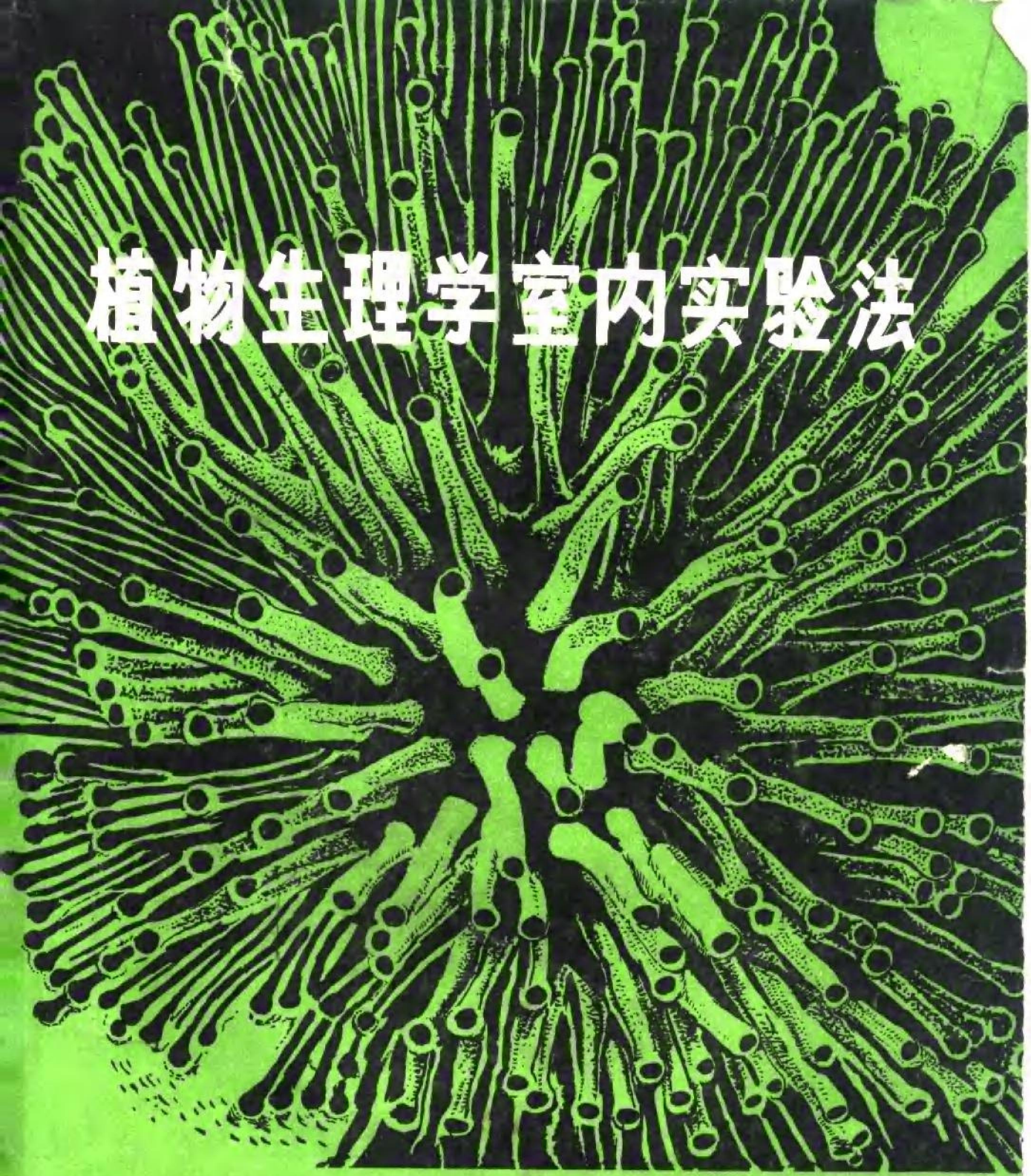
植物生理学室内实验法



科学出版社

Q945-33
1y14/29

植物生理学室内实验法

〔美〕P. B. 考夫曼　J. 拉巴威奇
A. 安德森-普劳蒂　N. S. 戈希　著
陈小彭　林启汉　译
马炳章　校

北京林学院图书馆
藏书

北林图 A00005027

268064

科学出版社
1981

内 容 简 介

这是一本国外新近(1975年)出版的植物生理学室内实验方法的指导书籍，共分9章，包括41个实验，内容遍及植物生理学中的各个主要领域．其中不仅概括了近年来的基础理论进展及研究成果，并且应用较新的科学技术，如透射及扫描电子显微镜、原生质体培养等植物生理学的实验研究．实验内容较为新颖而全面，可用于验证基本原理，并提供详细、丰富的研究方法．

此书可供大专院校从事植物生理学教学和学习的师生，以及有关科技工作者等的参考．

Peter B. Kaufman, John Labavitch,
Anne Anderson-Prouty, Najati S. Ghosheh
LABORATORY EXPERIMENTS IN PLANT PHYSIOLOGY
Macmillan Publishing Co., Inc. U. S. A., 1975

植物生理学室内实验法

〔美〕 P. B. 考夫曼 J. 拉巴威奇 A. 安德森-普劳蒂 N. S. 戈希 著
陈小彭 林启汉 译
马炳章 校
责任编辑 黄宗甄

科学出版社出版
北京朝阳门内大街137号
中国科学院印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1981年8月第一版 开本：787×1092 1/16
1981年8月第一次印刷 印张：14
印数：0001—5,520 字数：323,000

统一书号：13031·1623
本社书号：2224·13—10

定价：2.20元

简　　序

长期以来，我国植物生理学教学内容，特别是教学试验的内容，落后于植物生理学的发展。学生在课堂内所作的实验，既不能反映近代进展中的结论是如何得出的，又不能对现代仪器的使用得到实际操作的机会。因此，课堂“示范实验”与讲授内容脱节。对文献中的“方法”、“技术”和“操作”没有实际印象。这个情况使毕业生（包括研究院毕业生）在科研机构中不能于短期内进行研究工作，而需要“补课”和“进修”，这是相当浪费的事情。

这种讲授与实验脱节，内容落后于进展的现象必须改变。这是植物生理学领域中实现科学现代化的基本要求。

为了改变植物生理学教学中的课堂实验的现状，我们选择了这本比较适合要求的实验指导《植物生理学室内实验法》（Laboratory Experiments in Plant Physiology），由广州中山大学生物学系陈小彭、林启汉两位教师译出。谨向植物生理学教师和同学们推荐。通过努力工作，相信在不久将来，我们会有一本我国植物生理学工作者自己写出的这类书籍。

当然，为了使这个教材能充分发挥它的作用，就应当有必需的仪器设备。这是必然的，是植物生理学教学改革及科研现代化的一个组成部分。也是我国生物科学教学全面现代化的必经之道。

汤佩松

（中国科学院植物研究所，北京）

目　　录

简序 ……汤佩松 i

第1章　植物细胞和细胞器 …… **1**

实验1　植物的细胞和组织 …… 2

实验2　应用透射电子显微镜和扫描电子显微镜分析植物的细胞和组织 …… 8

实验3　用透射电子显微镜观察及用细胞分级分离法研究各种细胞器、膜和壁 …… 20

第2章　光合作用 …… **28**

实验4　光合作用的色素 …… 29

实验5　光合作用的光反应 …… 33

实验6　光合作用的暗反应：光合作用的碳素固定 …… 37

实验7　光合作用的环境控制 …… 44

第3章　能量代谢——发酵和呼吸作用 …… **46**

实验8　发酵 …… 47

实验9　呼吸作用：氧的消耗和 ATP 的产生 …… 50

实验10　能量代谢的酶类 …… 54

实验11　呼吸作用的激素调节 …… 58

第4章　代谢物和酶类 …… **63**

实验12　植物细胞壁的研究 …… 64

实验13　与悬浮培养的细胞表面相结合的几种胞外酶活性的分析 …… 71

实验14　植物寄主及其病原体之间的相互作用(第一实验) …… 73

实验15　植物寄主及其病原体之间的相互作用(第二实验) …… 78

实验16　固氮作用和硝酸化作用 …… 83

实验17　豆类叶片中 β-1，3- 葡聚糖酶活性水平的乙烯调节 …… 86

实验18　糖代谢：蔗糖的水解 …… 91

实验19　糖代谢：淀粉的合成 …… 97

实验20　淀粉酶对淀粉的降解 …… 101

第5章　矿质营养 …… **104**

实验21　植物的矿质营养 …… 105

实验22　植物组织的元素分析：用亚硝酸钴钠反应和 X 射线分析法观察气孔保卫细胞中的钾 …… 110

第6章　细胞运输：水分关系、离子吸收和有机溶质的运输 …… **114**

实验23　植物细胞水分关系 …… 115

实验24　测量叶片水分势的压力-平衡技术 …… 122

实验25　丝状绿藻类丽藻 (*Nitella*) 生长和涨压的分析 …… 125

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

实验 26　离子吸收 ……129
实验 27　韧皮部中糖的运输：韧皮部负载的饱和动力学和外源蔗糖运输的证明 ……136
第 7 章　植物的生长与分化 ……142
实验 28　来自高等植物细胞的原生质体形成 ……143
实验 29　高等植物中的冠瘿瘤发育：与转化过程有关的寄主细胞限制作用 ……149
实验 30　异株相克现象——蕨类植物的繁殖及配子体发育中的控制机理 ……152
实验 31　枝条及根中的向地性反应 ……157
实验 32　植物中的向光性 ……161
第 8 章　激素对植物生长的调节 ……168
实验 33　激素的相互作用：燕麦茎片段对赤霉素（GA_3）、吲哚-3-乙酸（IAA）、激动素和脱落酸（ABA）的生长反应 ……169
实验 34　细胞激动素(6-苄氨基嘌呤)和合成植物生长素（萘乙酸）对落地生根中芽形成的调节 ……177
实验 35　激素在诱导扦插生根中的作用 ……179
实验 36　2，4-D 的除草作用 ……181
实验 37　细胞激动素对叶片衰老的调节 ……183
实验 38　赤霉素对针叶树中开花（球果发育）的控制 ……185
第 9 章　光和温度对植物生长的调节 ……188
实验 39　植物中光形态建成的反应 ……189
实验 40　红藜（*Chemopodium rubrum*）中花发端的光周期控制 ……197
实验 41　植物叶片的能量收支 ……205
名词解释 ……209
译后记 ……218

第 1 章　植物细胞和细胞器

在着手进行关于植物中的光合作用、呼吸作用和代谢及代谢调节实验之前，首先必须考察植物细胞和细胞器的所有结构．这方面的基本技术包括光学显微镜、透射电子显微镜及扫描电子显微镜、组织化学和差速离心．这些方法的每一种都包含在单独的实验内，使你能认识植物中细胞器、细胞和组织的结构与功能的关系．当进行光合作用、呼吸作用和代谢实验时，将回过来参考这里有关细胞器和细胞结构与功能的部分．因此，重要的是在进行后面的实验之前，必须看到植物的细胞及细胞器的清晰图像并且知道它们的作用．

实验 1　植物的细胞和组织

1.1 引　言

在植物生理学中，必须对生理研究所用的那些植物各种类型细胞和组织的结构与功能有充分的了解。这在进行后面关于光合作用、呼吸作用和代谢实验之前，将是特别有用的。

1.2 步骤和结果

1.2.1 一般指导

为了有助于获得洞察其基本功能，必须考察植物中各种类型的细胞和组织。在这第一个实验里，主要的仪器将是光学显微镜。将要采用活的植物材料，并亲自制作组织标本和把它染色。对于每一个实例，要通过自己的观察、发现和读数，来测定所研究的组织中细胞的基本功能。由实验教师示范制作徒手切片的简单方法。进行这一实习最好是以学生两人为一组，较便于制备切片。必须在实验室内，为每组反应配定位置。下面列举的每个实例都有指导。关于步骤及试剂的制备请参阅附录(5—7 页)。

1.2.2 植物的生殖中心

1. 苗端　营养和生殖的苗端。用镊子和一种起绒针(或一种矛头针更好)剖去叶和叶原基。试用番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、洋紫苏 (*Coleus blumei*)、菊 (*Chrysanthemum morifolium*) 或瘤突苍耳 (*Xanthium strumarium*) 等。

2. 根端　制作幼嫩而迅速生长的根尖纵切片。试用玉米 (*Zea mays*)、蚕豆 (*Vicia faba*) 或者羽扇豆 (*Lupinus* sp.) 等。

3. 维管形成层　制作持续在长日 (例如 18 小时) 下迅速生长的茎的切向切片和横切片。试用葡萄 (*Vitis* sp.)、桐叶槭 (*Acer pseudoplatanus*) 或者松树 (*Pinus* sp.) 等。

4. 居间分生组织　制作燕麦 (*Avena sativa*) 或者玉米 (*Zea mays*) 幼苗节间基部的表皮揭片。用醋酸-洋红染色。

5. 叶芽分生组织　把落地生根 (*Bryophyllum diagremontianum*) 植物的叶子平铺于砂上，培育 2—3 周(沿着叶子边缘的缺齿中长出芽和根)。

1.2.3 植物的代谢物贮藏中心

1. 大麦 (*Hordeum vulgare*) 的胚乳。用 I_2KI 染色。
2. 大麦 (*Hordeum vulgare*) 的糊粉层。套在胚乳外部的组织层。
3. 豌豆 (*Pisum sativum*) 或蓖麻 (*Ricinus communis*) 的子叶。
4. 马铃薯 (*Salanum tuberosum*) 的皮层组织。用 I_2KI 染色。
5. 稻 (*Oryza sativa*) 节。用 I_2KI 染色。
6. 烟草 (*Nicotiana tobaccum*) 的髓部。
7. 菊芋 (*Helianthus tuberosus*) 和大丽花 (*Dahlia*) 中的皮层组织(两者均贮藏菊粉或果聚糖,为一种果糖聚合物;它是一种可溶性贮藏多糖,功能类似于淀粉)。
8. 榕 (*Ficus*) 的叶片说明钟乳体 (由 $CaCO_3$ 组成); 水芋 (*Aroids*) 和大黄属植物的叶子说明针晶体(由草酸钙组成)。

1.2.4 植物的输导组织

1. 海带 (*Laminaria*) 或其他巨藻 (*Macrocystis*) 的柄。
2. 燕麦 (*Avena sativa*) 或其他禾本科植物, 洋丁香 (*Syringa vulgaris*)、松树 (*Pinus* sp.) 或其他针叶树, 洋紫苏 (*Coleus blumei*) 和西葫芦 (*Cucurbita pepo*) 的正在迅速伸长的苗。 将类如松树等针叶树中木质部的输导细胞与被子植物中的相对比。 所有标本用间苯三酚-HCL 染色。观察高等植物中贴近木质部组织的韧皮部细胞。

1.2.5 植物中的光合组织

1. 叶子的叶肉 试用烟草 (*Nicotiana tabaccum*) 或菠菜 (*Spinacia oleracea*) 用 143—144 页中所述的胞壁软化酶 (wall-macerating enzymes) 分离叶肉细胞.
2. 甘蔗 (*Saccharum officinarum*) 或狗牙根 (*Cynodon dactylon*) 或玉米 (*Zea mays*) 的维管束鞘和叶肉组织。 用软化酶分离出叶肉细胞的原生质体和维管束鞘组织 [Kanai (金井) 和 Edwards 在 *Plant Physiol.*, 1973中所述的方法]。 分离原生质体的一般方法在实验 28 中予以阐述。
3. 小球藻 (*Chorella*)、衣藻 (*Chlamydomonas*) 或团藻 (*Volvox*) 的细胞。
4. 地钱 (*Marchantia*) 或蕨类植物(培养中)的配子体。
5. 肉质植物或类如仙人掌 (*Opuntia* sp.) 的茎。
6. 针叶树或豆类的子叶。

1.2.6 植物的气体和水汽交换组织

1. 用菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 和燕麦 (*Avena sativa*) 的叶或茎制作表皮揭片。比较在双子叶植物 (豆类) 和单子叶植物 (燕麦) 中所观察到的气孔和其他表皮细胞

(结构与功能)。

2. 木贼 (*Equisetum* sp.)、稻 (*Oryza sativa*) 或香蒲 (*Typha* sp.) 的茎。找出水生植物中对空气交换上重要的气沟。

1.2.7 参与膨压变换、叶运动和吸湿运动的细胞

1. 稻叶的上表皮——泡状细胞。

2. 豆[菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)] 叶或敏感植物[含羞草 (*Mimosa pudica*)] 的叶枕。

3. 木贼 (*Equisetum*) (木贼) 孢子和蕨类植物孢子囊的弹丝。

1.2.8 植物中的分泌和溢泌的组织或结构

1. 百合 (*Lilium* sp.)、矮牵牛 (*Petunia*) 或金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 的柱头。

2. 玉米 (*Zea maize*) 或蚕豆 (*Vicia faba*) 的根冠。

3. 番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 或燕麦 (*Avena sativa*) 籽苗的排水器。

4. 盐生矮灌 [滨藜 (*Atriplex* sp.)] 的盐腺，盐生禾草 [海滨盐草 (*Distichlis spicata*)] 的叶子。

5. 百合 (*Lilium*)、水仙 (*Narcissus*) 或唐菖蒲 (*Gladiolus*) 的蜜腺。

6. 木槿 (*Hibiscus*)、芦荟 (*Aloe*)、壶包苔 (*Blasia*) [是一种与念珠藻 (*Nostoc*) 共生的一种苔] 的粘液细胞。

7. 大戟 (*Euphorbia*)、巴西橡胶树[三叶胶 (*Hevea braziliensis*)]、药用蒲公英 (*Taraxacum officinale*) 的乳汁。

8. 蓖麻 (*Ricinis communis*) 叶子的多细胞腺，丁香 (*Syringa* sp.) 或大麻的幼嫩花芽。

1.2.9 与休眠和衰老有关的组织或结构

1. 豆类[菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)] 叶子和木本植物，如洋丁香 (*Syringa vulgaris*) 或李 (*Prunus* sp.) 的离区。

2. 水生植物[狐尾藻 (*Myriophyllum*)] 的具鳞根出条(休眠枝芽)。

3. 脉孢菌 (*Neurospora*) 的孢子。

4. 加拿大皂荚 (*Gymnocladus dioicus*) 或其他具硬种皮的豆科植物种的种子。

1.3 问 题 讨 论

1. 结合组织分室化 (compartmentation) 讨论对比 C_3 与 C_4 光合作用。C_3 光合作用与 C_4 光合作用相对比，有什么生理学特点？(参看实验 6 对于 C_3 和 C_4 光合作用的

讨论)。

2. 从输导效率、运输速度及流动阻力来比较针叶树的管胞与被子植物的导管。

3. 下列各项有什么适应意义?

(1) 根冠溢泌的糖和粘液。

(2) 稻叶中泡状细胞的萎陷 (collapse)。

(3) 叶子(包括叶枕)的睡眠运动。

(4) 柱头表面溢泌的糖。

(5) 稻茎和根中的气腔。

(6) 豌豆(地下的)和蚕豆(出土的)的子叶。

(7) 萌发籽苗例如蚕豆或豌豆籽苗中的钩状胚芽。

(8) 白杨茎皮中的光合组织。

1.4 附　　录

1.4.1 用或不用手摇切片机制作徒手切片

徒手切片机基本上由中心开孔通向凹井的平滑摇动磨光金属板组成。材料是放在这个凹井中夹于适当位置来切削。整个凹井与其内容物,可以通过仪器基部的刻度螺旋器来升高或降低。

除手摇切片机外,进行徒手切片所需设备为切片剃刀、剃刀磨石、一些平皿例如皮氏培养皿或表玻璃(如果切片是直接放到载玻片上,就不需要这些器皿),切片举扬器和细驼毛刷。用驼毛刷将切片移到载玻片上。

许多标本和组织可用徒手法来切。例如能直接放进凹井的适当大小的茎和根等。较细的碎块可以压于两块木髓、生马铃薯或任何在切片过程中,能使其牢固保持在固定位置的其他材料之间。

切片厚度可以通过升高凹井内容物,到切削平面之上各种水平的刻度螺旋装置来调节.然后拉出剃刀,横过切片机的上部表面(金属板),用小刷或切片举扬器将切成的切片移到:(1) 放在一块带有水滴的载玻片上(该载玻片已用卵清蛋白涂过);或者 (2) 如上述将切片刷入表玻璃内清水中,然后贮备作固定和染色。

对于方法 (1),立即将带有组织切片的载玻片放在电炉(或加热板)上直至水分蒸发掉。可立即在显微镜下,观察切片和检查所需要的性状。

切削成块的组织时,将封块贴于当时安装在切片机夹中的钉或其他适当支持物的头部。

1.4.2 简便组织化学检验试剂

1. 碘氯化锌 (zinc-chlor-iodide)　纤维素→蓝色;木质或木栓质→黄色。

50 克　$ZnCl_2$ (氯化锌)

16 克　KI (碘化钾)

268064

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

17 毫升　蒸馏水

2. 碘-碘化钾（I_2KI）　淀粉→蓝黑或紫黑色。

0.3 克　碘

1.5 克　KI（碘化钾）

100 毫升　蒸馏水

3. 钌红（ruthenium red）果胶化合物→深红色。

0.1 克　钌红

0.5 毫升　蒸馏水

4. 苏丹 IV　角质和木栓质→红色。

50 毫升　苏丹 IV 饱和于 95% 乙醇中

50 毫升　甘油

5. 间苯三酚（phlorglucinol）　木质→淡红-紫色。

1 克　间苯三酚

82 毫升　95% 乙醇

18 毫升　浓 HCl（盐酸）

6. 醋酸铜：丹宁→深褐色。

7 克　醋酸铜

加蒸馏水到最后容积为 100 毫升

1.4.3　软化木材步骤

1. 取栎树（*Quercus*）和松树（*Pinus*）的小块木材、切成如火柴粗细（1—2 毫米）的长条。亦可采用易于获得的火柴梗或牙签。

2. 将木条煮沸并让其冷却　如此重复数次以便排除大量凝集的气体，并且也促进浸软液的酸性作用。

3. 在煮沸木片的同时制备浸软液　将要采用的一种浸软液，是杰弗里溶液（Jeffrey's solution）。用等份的 10% 含水硝酸与 10% 含水酪酸仔细混合配制。使用时要小心！

4. 其次，把木片放进小瓶并注入制备的浸软液直至淹没木片，注入的浸软液不要超过小瓶的一半。加标签后置入铝盘在电烘箱或恒温箱内 30—40°C 温度。亦可将小瓶保持在室温中，但软化作用将会缓慢得多。

5. 让小瓶停留在烘箱或恒温箱内，直至木片变软。硬质材料如坚果、某些种子和一些密度大的木材，可能须在烘箱内数天。在这些情况下，最好更换浸软液 1—2 次。在发生细胞完全分离以前，便要停止软化作用。

6. 在细孔滤网上用水冲洗经过软化的材料 2—3 分钟以便把酸除去。把一些保存于 70 %乙醇的小瓶中。

7. 放一些经过软化的组织在载玻片上并用针拨开。把标本封固于载玻片上进行观察。其软化作用达到什么程度？

8. 取较多经过冲洗的软化组织在 50% 乙醇番红中染色 5—10 分钟。把它安放于载

430921

玻片上，在电热板上蒸发掉过多水分并以甘油封固。用一盖玻片和以“杜科”（Duco）胶接剂密封(为防止干涸和气体进入)。

1.4.4 表皮揭片的制备

1. 制作表皮揭片的直接方法 取一片例如吊竹梅（*Zebrina*）、紫万年青（*Rhoeo*）或紫露草（*Tradescantia*）的叶子（肉质的洋葱鲜片亦适用）放在食指上，然后小心地剥离一部分表皮(按指导教师所示教)。将剥片放在载玻片上的水滴中，加上盖玻片在复式显微镜下观察。接着，可试以番红或钌红染色一些标本。当你熟悉这一技术以后，试作禾本科植物例如玉米（*Zea mays*）或燕麦（*Avena sativa*）的叶子。这些叶子在表皮中具有几种有趣的特化细胞类型[异细胞(idioblast)]（木栓和硅细胞，长型的波纹状表皮细胞以及气孔器)。试看能否鉴别这些细胞类型。

2. 用“杜科”胶接剂的复型法 放两片叶子在吸水纸上，在一片的上表面及另一片的下表面添加一薄层“杜科”胶接剂。让其变干后，把胶接剂作为一揭片小心剥离下来。用透明胶带将揭片固定于载玻片上，先用解剖双目显微镜，然后再用复式显微镜观察。对比上下表面关于气孔的存在度或缺乏度。试看能否计算出每平方厘米的气孔数。

参 考 文 献

[1] Esau, K.: 1965. Plant Anatomy, 2nd ed. John Wiley and Sons, New York.

[2] Foster, A. S.: 1949: Practical Plant Anatomy, 2nd ed. D. Van Nostrand and Co., New York.

[3] Kanai (金井), R. and G. E. Edwards: 1973. Separation of mesophyll protoplasts and bundle sheath cells from maize leaves for photosynthetic studies. *Plant Physiol.*, **51**: 1133—1137.

实验2　应用透射电子显微镜和扫描电子显微镜分析植物的细胞和组织

2.1 引　言

随着透射和扫描电子显微镜的出现，在植物生理学中发生了较大的突破。这些仪器导致比在细胞和组织水平上对输导分子如筛管、管胞及导管分子中的运输；花粉管生长；胚胎发生；植物中真菌和病毒感染的生理学；以及细胞分裂等方面好得多的理解。这个及下一个实验的目的是熟悉这些仪器，如何制备应用这些仪器来研究的生物材料，以及把它们用于生理学的研究中能够获致那些知识。

2.2 步骤和结果

2.2.1 用于透射电子显微镜的植物组织制备

对于本实验的这一部分，必须参观应用透射和扫描电子显微镜进行研究或教学的实验室或医院，以便直接观察这些过程。用于透射电子显微镜而进行固定、脱水和组织切片大约需要一个星期，并且显然超出本课程的范围。因而必须给以课堂示教，使学生能够有机会看到应进行的每一步骤。应该观看的基本步骤包括

1. 用于固定的组织制备。
2. 应用 $KMnO_4$（高锰酸钾）、戊二醛（glutaraldehyde）和 OsO_4（四氧化锇）的组织固定。
3. 脱水步骤。
4. 塑料包埋和塑料聚合作用。
5. 制备玻璃刀和用于切片的钻石刀使用。
6. 使用超薄切片机切片。
7. 安放切片于载网上。
8. 超薄切片染色。
9. 将切片放入透射电子显微镜中进行检视。
10. 透射电子显微镜操作中的基本步骤。

在这一示教中还应提及冷冻-破裂技术（freeze-fracturing technique）的讨论。必须强调它在膜、细胞器以及细胞表面结构的研究中的重要性。这特别是通过关于叶绿体基粒膜（chloroplast grana membranes）、质膜（plasma membrane 或 plasmalemma）和核膜等细致表面结构的冷冻-破裂研究来充分加以说明。

2.2.2 制备用于扫描电子显微镜的植物组织

与透射电子显微镜中所用技术显著不同，以扫描电子显微镜工作的组织制备程序较为容易得多．往往不需要组织的固定．用手或用冰冻切片机所做揭片或切片，能够直接在扫描电子显微镜中进行检视或者经冷冻干燥后检视．采用新鲜材料的基本步骤如下．

1．将植物材料拿到扫描电子显微镜实验室，制成 1—2 毫米直径的细片．花粉粒及孢子可直接装片．

2．将标本安放于双面胶粘透明胶带上，或直接用电导银涂料（在醋酸丁酯溶剂中）或碳涂料（电视管涂层）装到 1 厘米铝或碳棒之上．如果要用附在扫描电子显微镜的多道分析器（multichannel analyzer）来进行元素分析，则采用碳棒；其他方面则用铝棒（由环架棒条制成）．用吹风器以室温风干．

3．如果有临界点干燥器（critical point drying apparatus）（参看 Robards, 1972），可用它将组织完善地保存起来以供扫描电子显微镜检视之用．

4．用金（Au）或铬（Cr）镀标本．如果不这样做，则由于电荷积累而导致扫描电子显微镜电视屏或示波屏所显现的组织上有极亮区．

5．放入扫描电子显微镜中扫描．学习如何调整移动标本的竖、横及循环的传动．必须进行聚焦和变换放大倍数的示范．当已较熟练于使用扫描电子显微镜时，则学会如何使用多道分析器（MCA）来进行植物组织的元素分析．

2.3 通用透射电子显微镜

通用透射电子显微镜(CTEM：conventional transmission electron microscope)的电子光学系统基本部件已示意说明于图 2.1 中．借由一种通常在 50,000—10,000 伏范围，但在超高电压模型中，可能扩大到一百万伏的电子加速电压，从加热钨丝引出电子而产生电子束．电子束首先被电子枪聚焦成一细小直径．然后通过阳极进入聚光透镜系统，它的主要功能是控制对标本的照明强度，使亮度水平适应于观察及拍摄电子像．这是当电子束对中标本时，通过调整透镜的焦距来改变射束的直径而达到的．因为射束电流（每秒电子数）受电子枪维持十分稳定，所以标本上的强度（每秒每平方微米的电子数）将随着射束直径的变小而增加．当射束轰击标本时，聚光透镜系统亦对它的大小、入射角及相参性起根本的作用，因而对图像的衬比、质量和稳定性亦有重大影响．

通用透射电子显微镜所用的标本必须薄到足以实际透过电子束中的所有电子．对仪器在 80 千伏（Kilovolts）进行操作时的最适厚度为 30—50 毫微米．较厚标本将会降低衬比和清晰度，而且更易受射束损坏，大多数生物组织的适用的薄标本，是经适当处理，使之稳定及增加衬比后，用超薄切片机来制备的．

生物组织中的衬比由两个基本机理所引起．对于那些在 1 毫微米和较大一些范围的结构，产生衬比首先是由于若干电子在标本中失去小部分能量，并被散射离开物镜的轴而为镜孔所俘获．由于经过这种形式散射的电子数，是随着标本中原子的原子序数增大而增加，因而用那些含有与某些类型细胞器，有选择性结合的高原子序数金属元素的化学药

品，例如 $KMnO_4$、OsO_4、和 $PbNO_3$ 等来处理标本可以增加衬比。在 1 毫微米以下范围内的结构中，没有被散射的电子在较高定位点，可能经历一个相移，导致干涉效应而表现为相衬。

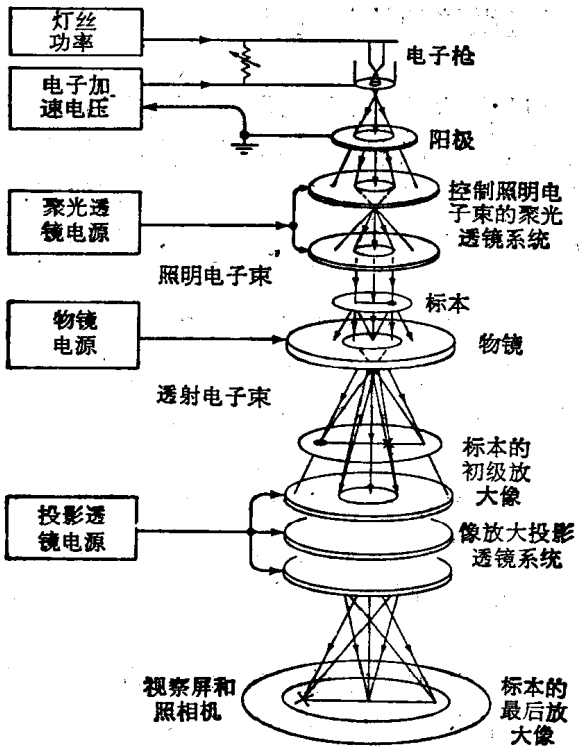


图 2.1

电子穿透标本后，进入电子光学系统最主要的组件——物镜。这个物镜用以产生标本的初级放大像；因而，它的光学质量决定着仪器的成像的基本质量。多数流行电子显微镜的高精度物镜能够提供 0·2 毫微米或更好的分辨力。设计这些透镜，是用极短焦距来使像差减至最少。对于不需要如此极大分辨力的常规生物标本来说，用具有稍长焦距而有较高衬比的透镜可能有利。

由物镜形成的初级图像，一般大约有 400 × 的放大倍数。然后，这个象被一组2—3个投影镜进一步扩大，而展示于萤光观察屏上或用摄影记录起来。绝大多数流行的通用透射电子显微镜的这些透镜以及物镜和聚光透镜等，均为电磁透镜。它们由绕在高精度软铁胎型上的金属线圈所组成，包含沿透镜轴线形成磁场以致产生高质量电子像的磁隙。通过变换线圈绕组中的电流，可以改变磁场的强度；这样，依次改变透镜的焦距，就可能连续地变换最终图像的放大倍数从少于500 × 到多至500,000 ×。

能够超过如此广范围和如此轻易地连续改变透镜的焦距的事实，使通用透射电子显微镜具有比任何其他光学仪器较大的机动性；因而，可以应用透射电子显微镜，来进行与基本成像有关的种种效能。这些包括各种特殊衍射技术、扫描式操作和 X 射线光谱分析。种种附件也可用于特殊类型的标本以及检验时用特殊方法处理的标本。

2.4 扫描电子显微镜

图 2·2 说明一种通常使用的扫描电子显微镜（SEM）。这种仪器与通用透射电子显微镜及所有其他普通光学仪器的根本差别，在于成像发射冲击标本后没有透镜对其起作用。而是代之以功能上类似于通用透射电子显微镜聚光透镜的 2—3 个透镜，使电子束聚焦至极小直径，再由射束偏转线圈以光栅[1]图案来扫描标本。然后，由电子束与标本相互作用所产生的各种信号，逐点地形成图像。如图 2·3 中所示，在阴极射线管（CRT）上的电子

1）光栅指的是一个面积上有顺序的逐行接收范围，通常具有快速的线性水平由顶到底毗邻线条的扫描。用于电视接收机上。

束，被同一扫描传动发生器所推动，使射束扫描于标本上即显示图像．因而阴极射线管观察屏上的点与标本上的点之间成一一对应．所以

放大倍数＝(阴极射线管上面积)/(标本上面积)

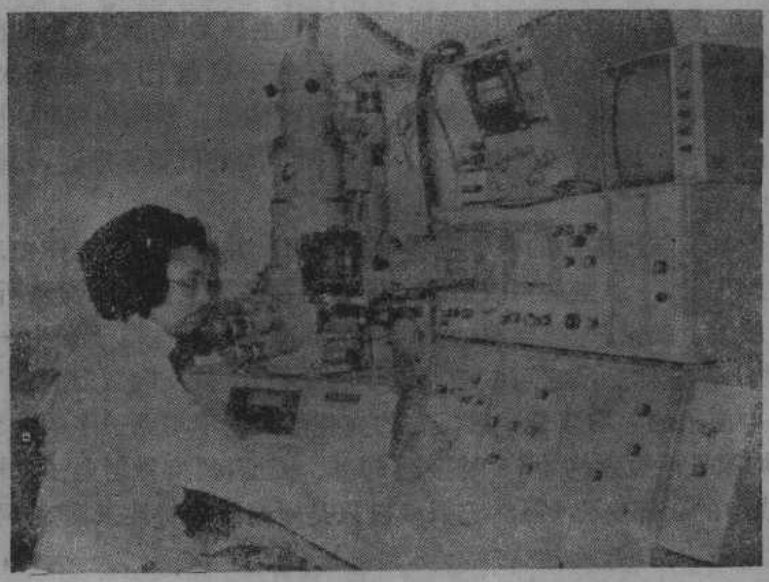


图 2.2　设置于(美)密执安大学，材料与冶金工程实验室的一台 Jeolco 式扫描电子显微镜插图．操作人员是 Peggy Hollingsworth.(由 Wilbur C. Bigelow 拍摄)

通过从标本馈给信号到调节阴极射线管射束亮度的视频放大器，以一定程度上与来自标本的信号强度有关而产生图象于阴极射线管上．因此，可以简单地通过放大器改变与阴

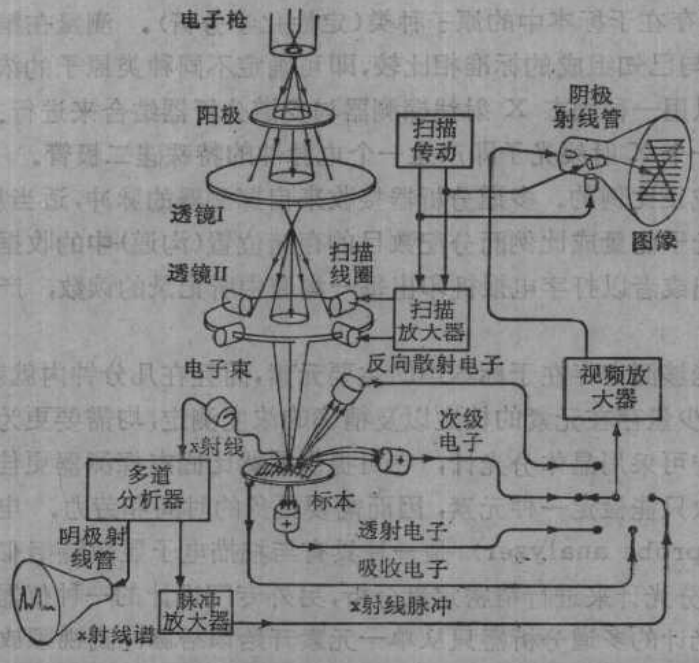


图　2.3

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com