

普通高等教育“十二五”规划教材

植物学实验技术

(第二版)

王建书 主编



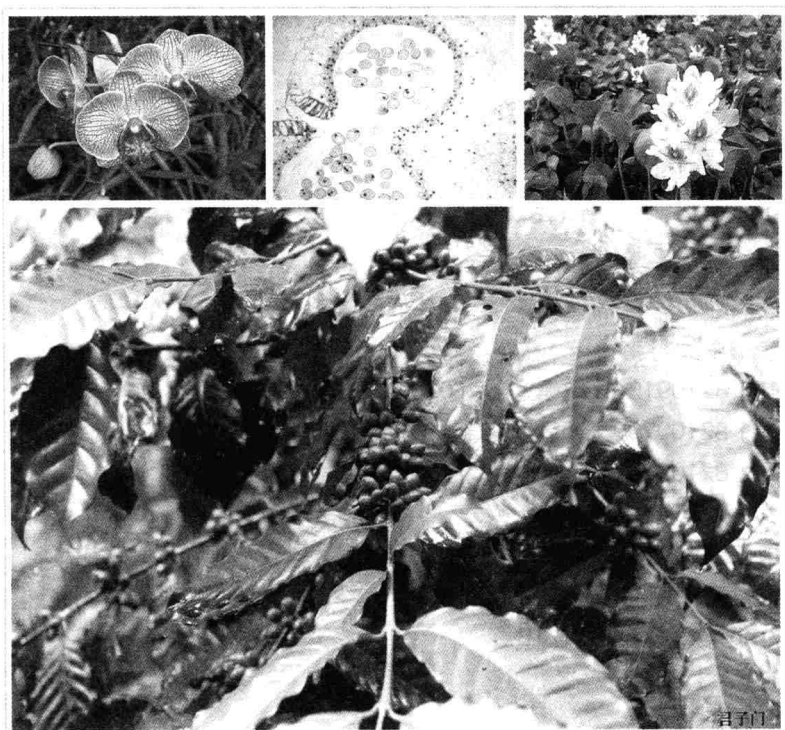
中国农业科学技术出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

植物学实验技术

(第二版)

王建书 主编



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物学实验技术 / 王建书主编. —2 版. —北京:
中国农业科学技术出版社, 2013. 5
ISBN 978 - 7 - 5116 - 1284 - 7

I. ①植… II. ①王… III. ①植物学 - 实验
IV. ①Q94 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 103249 号

责任编辑 于建慧 崔改泵

责任校对 贾晓红

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 82109194 (编辑室) (010) 82109704 (发行部)
(010) 82109709 (读者服务部)

传 真 (010) 82109708

网 址 <http://www.castp.cn>

经销者 各地新华书店

印刷者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787mm × 960mm 1/16

印 张 9.125

字 数 176 千字

版 次 2013 年 6 月第 1 版 2013 年 6 月第 1 次印刷

定 价 15.00 元

第二版编写人员

主 编	王建书	
副 主 编	乔永明	谢义林
编写人员	马晓娣	河北工程大学
	许桂芳	河南科技学院
	王建书	河北工程大学
	郭振清	河北科技师范学院
	谢义林	广西大学
	王鸿升	河南科技学院
	乔永明	河北北方学院
	荣冬青	河北北方学院
	卢彦琦	河北工程大学
	尹会兰	河北工程大学
	史刚荣	淮北师范大学
	周 兵	井冈山大学
	庞建光	河北工程大学
	晏春耕	湖南农业大学

第一版编写人员

主 编 王建树 罗世家

副主编 乔永明 晏春耕 汪新娥

参 编 马晓娣 郑小江 尹会兰
王建荣 王鸿升 杨德浩

再版前言

《植物学实验技术》是 2008 年受中国农业科学技术出版社优秀教材资助出版的全国高等院校规划教材，2012 年被列为普通高等教育“十二五”规划教材。本次修订在内容上做了大幅度调整，并增加了插图，以方便学生学习使用。

《植物学实验技术》包括两章，第一章叙述了植物学实验技术的基本程序和方法，第二章包括十七个实验，各学校可根据课时与实践需要选做。本次修订，第一章由许桂芳负责，第二章分工如下：王建树实验一，王建树、郭振清实验二，乔永明、荣冬青实验三，卢彦琦实验四，尹会兰实验五，谢义林实验六，马晓娣实验七、实验八，史刚荣实验九、实验十，周兵实验十一，庞建光实验十二，乔永明、荣冬青实验十三、实验十五，周兵实验十四，晏春耕实验十六和实验十七。全书由马晓娣统稿。

目 录

第一章 植物实验技术基础	(1)
第一节 植物实验基本技术	(1)
第二节 植物实验室常用试剂的配制	(21)
第二章 植物学实验	(27)
实验一 种子结构与幼苗类型	(27)
实验二 植物细胞的基本结构	(30)
实验三 植物组织	(35)
实验四 根的形态与结构	(42)
实验五 茎的形态与结构	(48)
实验六 叶的形态结构及营养器官的变态	(54)
实验七 生殖器官 (一) ——花的组成和花药的结构	(63)
实验八 生殖器官 (二) ——子房结构、胚的发育及果实的类型	(68)
实验九 低等植物	(72)
实验十 高等植物	(79)
实验十一 被子植物分科 (一) ——木兰亚纲 (木兰科、毛茛科)	(86)
实验十二 被子植物分科 (二) ——金缕梅亚纲 (桑科、山毛榉科、胡桃科)	(89)
实验十三 被子植物分科 (三) ——石竹亚纲 (石竹科、苋科、藜科、蓼科)	(93)
实验十四 被子植物分科 (四) ——五桠果亚纲 (锦葵科、葫芦科、杨柳科、 十字花科)	(99)
实验十五 被子植物分科 (五) ——蔷薇亚纲 (蔷薇科、豆科、大戟科、芸香科、 伞形科)	(104)

实验十六	被子植物分科（六）	
	——菊亚纲（茄科、旋花科、唇形科、木樨科、 玄参科、桔梗科、菊科）	(115)
实验十七	被子植物分科（七）	
	——单子叶植物纲（泽泻科、棕榈科、天南星科、 莎草科、茄科、禾本科、百合科、鸢尾科、 兰科）	(124)
附录	实验室管理规则	(137)

第一章 植物实验技术基础

第一节 植物实验基本技术

一、显微镜的结构与使用

【目的】了解显微镜的构造及使用方法。

【用具】显微镜、永久装片等。

(一) 显微镜的构造

常用显微镜包括双目生物显微镜和单目生物显微镜，二者的主要区别在于双目显微镜具有倍数相同的成对目镜，并在镜筒座上安有调节瞳间距的示距滑板，两个目镜套筒上分别装有用于调节视度差的镜筒长度补偿环（图1）。单目显微镜则无此补偿环。两种显微镜其他基本结构大致相同，可分为机械部分和光学部分。

1. 机械部分

(1) 镜座（镜基） 即镜基部的底座，稳定和支持整个镜体。新型显微镜底座上装有照明装置，并附有变压器和照明亮度调节钮。

(2) 镜臂（镜架） 连接镜筒、载物台及镜座的部分，是显微镜的主要支持架。

(3) 物镜转换器 固定在镜筒或镜筒座下端，上面有3~4个物镜螺旋口，物镜按倍数高低顺序安放，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光轴同轴。

(4) 镜筒 单目显微镜的镜筒上端安放目镜，下端与物镜转换器相连，其标准长度为160mm。

(5) 载物台 承载玻片标本的平台。中央有一圆形或椭圆形的通光孔。在载物台上装有用以固定玻片的压片夹或移动标本玻片的推进器。推进器由两个重叠式螺旋调节，一个用以调节标本玻片前后方向移动，另一个调节标本玻片左右方向移动。在推进器的纵横两个方向上分别标有刻度尺，用以记录观察玻片标本

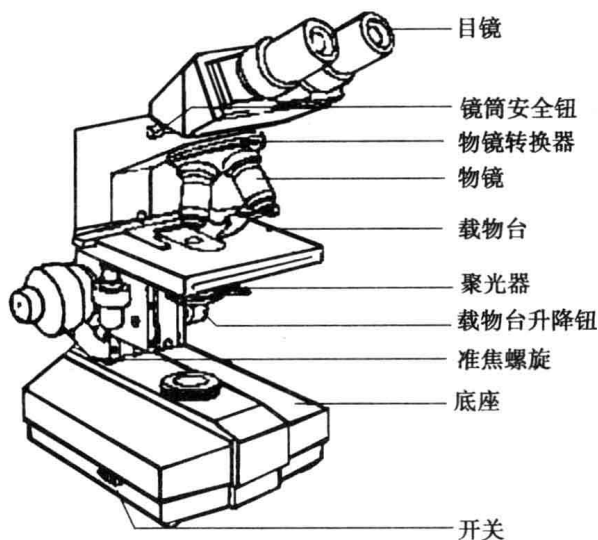


图1 双目显微镜结构图

在视野中移动的位置。

(6) 调焦装置 位于镜臂中下部两侧，是两对同轴的手轮，大的一对叫粗调，小的一对叫微调（或细调）。粗调用于对光和低倍镜的粗略调焦；微调在粗调基础上进一步精确调焦，使所观察的标本成像更加清晰。

由于显微镜型号不同，调焦常有不同的方式。新型号的显微镜调焦，通过转动调焦手轮使载物台升降进行；较老型号显微镜的调焦，通常是借助调焦螺旋使镜筒上升或下降。

(7) 聚光器升降螺旋 安装在载物台下方一侧。可上下调节聚光器，以求光亮度适宜。

2. 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集光镜、聚光器（包括聚光镜和可变光栏）。

(1) 物镜 在成像中起重要作用，它将被检物体第一次放大。一般显微镜有3~4个不同倍数的物镜，在其金属筒口处标有物镜的种类、放大倍数、数值孔径（NA）、要求使用盖玻片厚度或镜筒长度。习惯上称 $10\times$ 以下物镜为低倍镜， $40\sim 65\times$ 为高倍镜，这两种物镜也称干物镜。 $90\sim 100\times$ 物镜在观察时盖玻片与前透镜（物镜前面对盖玻片的透镜）之间需用香柏油为介质，称之为油镜。当对好焦后，前透镜与盖玻片之间的距离称为物镜的工作距离。

(2) 目镜 安放于镜筒上端，作用是将物镜放大的实像再放大1次，并把物像映入观察者的眼中。放大倍数一般为 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 。目镜内有一个视野

圈，它限制了视野范围，视野光圈的位置恰是物镜所成实像的位置，故目镜测微尺和指示标志均应置于此圈上。

(3) 反光镜或集光镜 采用自然光源时用反光镜，它是一具平凹两面的圆镜，可向各个方向转动，用镜面反射光线，并通过聚光器将其反射到物镜中。凹面镜有一定的聚光作用，平面镜光线均匀，可根据情况选择使用。在使用内藏式人工光源时，应摘下反光镜，换上集光镜。

(4) 聚光镜 位于载物台通光孔下方。作用是聚集反光镜所反射（集光镜透射）的光线，以增强其亮度。

(5) 可变光栏（虹彩光圈） 由十几张弧形金属薄片组成，推动把手可控制聚光镜数值孔径的大小，适当调节通光量。观察时聚光镜的数值孔径应与物镜数值孔径相匹配，以得到物镜成像的最佳效果。可变光栏下面有一个滤光片托架，可根据需要安放某种色调的滤光片。

(6) 人工照明装置 包括钨卤素灯、电源插头、电源开关和亮度调节平推钮。使用时，先打开电源开关，将亮度调节平推钮移至适当位置，使获得适宜的视场亮度。观察结束时，将亮度调节平推钮移到最小亮度处，再关上电源开关。

（二）显微镜的使用与保存

1. 取用及放置

取用、放回或搬动显微镜时，必须一手握住镜臂，一手托住底座，使镜身直立，不可用一只手倾斜提携，以防摔落目镜。应轻取轻放，放在距实验台边沿8cm左右的地方，单目显微镜放置略偏左侧，右侧可放记录本或绘图纸等。

2. 对光

一般所用光源包括自然光源（非直射日光）和人工光源两种。对光时使用低倍的目镜和物镜，转动物镜转换器将物镜对准通光孔，当听到“咔”的轻微响声，即表示位置已对正，上调聚光器使之距载物台1mm左右，打开可变光栏，调节反光镜使之向着光源，两眼自然睁开，左眼注视目镜（单目显微镜），在镜筒内可看到圆形明亮的视野。再调聚光器、可变光栏、反光镜，使视野内光线均匀、明亮又不刺眼。如视野内映入窗纱或室外物体，反转一下反光镜或调节一下聚光器即可消除此现象。

3. 双目显微镜瞳间距和视度差的调节

在使用双目显微镜观察时，应拉动示距滑板，调整瞳间距，两眼观察使视场合二为一。然后旋转右边目镜套筒使镜筒长度补偿环刻度值与瞳间距相一致，进而以右眼观察右目镜，同时旋转左侧镜筒长度补偿环进行对焦，从而使左右焦点同时对好，此时为正确的镜筒长，并调节了视度差。

双目镜与单目镜用途一致，所不同的是前者可用两只眼睛同时进行观察，而

后者是用单眼观察，下面以单目显微镜为例详细介绍使用方法。

(1) 低倍镜的使用 观察任何标本，都必须先用低倍镜。因为低倍镜的视野范围大，容易发现目标和确定要观察的部位。

①放置切片：下降载物台，把玻片标本放在载物台中央，使材料正对通光孔中心。用玻片推进器或压片夹固定载玻片。

②调整焦点：两眼从侧面注视物镜，并缓慢转动粗调，使载物台上升至物镜距盖玻片 5mm 处，左眼注视目镜，转动粗调使载物台缓缓下降，直到看见清晰的物像为止。若第一次调节看不到物像，应重新检查材料是否放在光轴上，重新移正材料，再重复上述操作过程直到出现清晰物像为止。为使物像更加清晰，可使用微调，轻微转动到物像更清晰。

③低倍镜的观察：焦点调好后，可根据需要移动玻片，把要观察的部分移到最佳位置上，根据材料的厚薄、颜色深浅等调节进光量。若视野太亮，可调节可变光栏或适当降低聚光器，反之，则升高聚光器或开大可变光栏。

(2) 高倍镜的使用

①选好目标：在使用高倍镜前，应先在低倍镜中选好目标，将其移至视野中央，转动物镜转换器，把低倍镜移开，小心地将 40× 物镜移至正对通光孔。

②调整焦点：在正常情况下，当高倍物镜转过来之后，视野中即可出现模糊的物像，稍稍转动微调，就可获得清晰的物像。如果低倍镜、高倍镜的齐焦性能欠佳，高倍镜转过来后看不到物像，就应重新调整焦点，两眼在一侧注视物镜，上升载物台使高倍镜头几乎与盖玻片接触时再从目镜观察，转动粗调，稍稍下降载物台，就可看到所观察的物像，再调节微调，直到物像清晰。在换用高倍镜时，视野变小变暗，所以应重新调节视野的亮度。

4. 显微镜使用后的整理

观察结束，应先将载物台下降到底再取下玻片标本，取玻片时切勿使之碰击镜头，再转动物镜转换器，使物镜镜头与通光孔错开，擦净镜身，盖上绸布。右手握住镜臂，左手托住镜座，按照标号放置于镜箱。

5. 保存和使用显微镜的注意事项

①显微镜是精密仪器，使用时一定要按规程操作。

②要随时保持显微镜的清洁，及时送回箱内。机械部分如有灰尘污垢，可用小毛刷、纱布等擦去；光学部分如有灰尘污垢，必须先用吹气球吹去，再用擦镜纸轻擦；镜头上有油污，可先用擦镜纸蘸少许清洁剂擦拭干净，再换干净擦镜纸擦拭一遍。

③显微观察时，必须两眼同时睁开，如用单目显微镜时，应反复练习用左眼观察标本，用右眼绘图。

④标本必须加盖玻片，制作带水或药液的玻片标本时，必须两面擦干后放到载物台上观察。

⑤如遇机件不灵，使用困难时，千万不可用力转动，更不要任意拆修，应立即报告指导教师，要求协助排除故障，以免问题扩大造成损坏。

⑥在观察时，显微镜上凝结的水珠应及时擦干，用完后放于干燥处保存。箱内应放一袋蓝绿色的硅胶干燥剂，当其吸水潮解后。变为粉红色，此时应立即取出烘干，待变为蓝绿色时，才能再用。

（三）显微镜的主要技术参数

正确运用光学显微镜的参数，可使显微镜处于最佳工作状态。物镜、目镜和聚光器都有各自的技术参数。与物镜和聚光器相关的有数值孔径，与物镜和目镜相关的有放大率，涉及物镜的主要有分辨率、焦深（景深）和覆盖差。

（1）数值孔径 刻在物镜管套外侧，是判断物镜能力的依据。物镜由数块透镜组成，距离被检物最近的一块叫前透镜。对焦后，前透镜与被检物间的距离称自由工作距离。数值孔径（ $N.A$ ）是物镜前透镜与被检物间介质的折射率（ η ）与镜口角（ μ ）之半的正弦的乘积。

$$N.A = \eta \cdot \sin \mu/2$$

镜口角 $0^\circ < \mu < 180^\circ$ 。物镜按介质一般分为干燥系、水浸系和油浸系物镜三类，常用介质及其折射率分别为：空气 1.00、水 1.33、油 1.52。从公式可以看出，低倍镜 $N.A < 高倍镜 N.A < 油镜 N.A$ ，因为低倍镜自由工作距离长，镜口角小，介质是空气，所以 $N.A$ 值小于 1；油镜则相反，其 $N.A$ 值通常大于 1。

聚光器的数值孔径（有的未标出）影响物镜的有效数值孔径。当聚光器 $N.A$ 大于物镜 $N.A$ 时，得不到适当光线；当聚光器 $N.A$ 小于物镜 $N.A$ 时则降低物镜的有效 $N.A$ 。例如，物镜 $N.A$ 为 0.65，聚光器 $N.A$ 为 0.35，物镜的有效 $N.A = (0.65 + 0.35) / 2 = 0.5$ 。只有当两者 $N.A$ 相等时才能发挥物镜应有的效力。

$$\text{物镜的有效 } N.A = (\text{物镜 } N.A + \text{聚光器 } N.A) / 2$$

欲使两者 $N.A$ 一致，需要调节。方法是：首先，将聚光镜至于最高位（使用标准载玻片，此时焦点正处载玻片上表面），开大虹彩光圈，对焦。然后拿去目镜，通过镜筒观察视野，逐渐缩小虹彩光圈使其边缘与视野边缘重合即表明物镜与聚光器的 $N.A$ 基本一致。

（2）放大率 目镜与物镜配合使用，存在有效和无效两种放大率。显微镜的有效放大率在物镜 $N.A$ 的 $500 \sim 1\,000 \times$ ，此范围以外为无效放大率。例如，使用 $40 \times$ 的物镜，从其管套外侧可知 $N.A = 0.65$ ，应选用多大倍数的目镜配合使用呢？首先，显微镜的有效放大率在 500×0.65 至 $1\,000 \times 0.65$ 即 $325 \sim 650$ ，

若用 5 倍目镜则总放大率 $= 40 \times 5 = 200$ ，200 在有效放大率范围之外，属无效放大率。故可选用 10 倍目镜配合使用。

(3) 分辨率 分辨率 (δ) 是指物镜分辨两点间最小距离的能力。

$$\delta = 0.61\lambda / N.A$$

其中， λ 表示光的波长， $N.A$ 为数值孔径。因此，提高分辨率即降低 δ 的值有两条途径：①用短波光作光源。光的波长越短， δ 的值越小，分辨率越高。例如，加蓝色滤光片可得到蓝紫光，波长在 400 ~ 500 毫微米之间；②选用 $N.A$ 值大的物镜。 $N.A$ 值越大， δ 值越小，分辨率越高。一般光学显微镜分辨率为 0.20 微米。

(4) 焦深 (景深) 对焦后，垂直移动物镜，点相都清晰，这个清晰范围称焦深。相应地，物镜不动，垂直移动被检物，视野中的相也是清楚的，这个移动范围称场深。焦深与场深数值相等。

$$\text{场深 } (D) = 240 \cdot \eta / \text{总放大率} \cdot N.A$$

镜检及显微照相都希望得到较大焦深 (景深)。根据公式可知，增大焦深的途径有 3 条：使用折射率 (η) 大的介质；选用数值孔径小的物镜；控制总放大率，使其在有效放大率范围之内。

(5) 覆盖差 由于盖片厚度不标准引起的相差和色差，因为玻璃与空气的折射率不同，被检物上盖盖片时则产生覆盖差。为了消除它，厂家在制造物镜时以标准盖片厚 0.17 毫米作为标准进行设计和制造。

物镜管套外侧刻有 160/0.17，160/0 或 160/NC，160/-。160/0.17 表示显微镜的标准镜筒长度为 160mm，使用 0.17mm 的盖片；160/0 或 160/NC 均表示不用加盖片；160/-表示用不用盖片均可。

使用时为避免覆盖差存在，可采取下列方法：①使用标准盖片或依照物镜上的说明使用。②盖片不标准，可调整镜筒长度。但这是消极办法。③若有条件可使用带有校正环的物镜，根据校正环上的刻度调整。④使用油浸系物镜，油折射率 (香柏油为 1.52) 与玻璃折射率 (1.48) 非常接近，产生的覆盖差甚小，可忽略不计。

二、徒手切片和临时装片制作

(一) 徒手切片

【目的】通过徒手切片训练，掌握植物一般解剖方法，为学习及研究植物内部结构打下基础。

【用具】剃刀或保安刀片，培养皿或其他代用品，胡萝卜块 (或通草心)，布块、机油、草纸 (擦刀纸)、毛笔、镊子、载玻片、盖玻片、显微镜。

【材料】葡萄茎（或油菜幼茎、南瓜茎、玉米茎、嫩竹茎）、松针叶（或杉叶、茶叶）。

【步骤】徒手切片可按如下步骤操作。

①盛清洁的水于培养皿中。

②打开剃刀，用草纸擦去刀上的机油（擦刀时，刀口向外，轻轻揩擦，以免割破手指）。

③将待切的材料修整至3cm长左右，以左手夹持，如材料很薄或很细，不便直接夹持，可将胡萝卜块（或通草心）从中部纵切一条刀缝，而后将材料夹于其中。夹持物及材料切面需先削平，以便切片整齐，厚薄均匀。

④切片时，刀面滴少许水，带水切材料，材料比食指略高，刀平放于左手指上由左而右，或由右而左切动，切片时要用臂力，不用腕力，否则很难切平切薄，同时一片切完时刀不离开食指，否则厚薄也会不均。

⑤每切下数片，即用左手的小指尖轻轻从刀上抹下，放在培养皿水中，当水中有一定数量的切片材料时，即停止切片。剃刀用后，应立即擦干水并关上，切片结束，需在刀口涂上机油，以免生锈或碰损刀口。

⑥从切好的材料中，用毛笔挑选出完整、面正且较薄的切片1~2片，进行临时装片，放置显微镜下观察。

（二）临时装片法

将新鲜材料整体或切成薄片放在载玻片的水滴中覆以盖玻片的方法，称临时装片法。其优点在于：新鲜材料的结构不会破坏，能保持原来生活状态；操作简便易掌握；不受设备条件的限制。

【目的】通过临时装片法训练，迅速掌握观察植物体组织结构的方法和技能。

【用具】盖玻片（常用18mm×18mm，22mm×22mm或圆形盖片），载玻片（一般为76mm×26mm，厚度应在2mm以内；光学显微镜、相差显微镜用载片厚度应在1mm左右），镊子（以不锈钢为好），盛清水的滴瓶，纱布。

【材料】洋葱鳞片叶内表皮、藓叶片或其他材料。

【步骤】首先，用清洁布块将载玻片及盖玻片揩擦干净，擦盖玻片时，用力两面均匀而轻，载玻片也须两面擦干净后才可使用，装片方法按以下步骤进行。

①用吸管滴一滴水于载玻片中央。

②撕一小块洋葱鳞片叶的内表皮置水滴中。

③用镊子夹住盖玻片的侧端，先以盖玻片的另一侧接触水滴，然后慢慢放下，将材料覆盖，如覆盖动作过快，会在水中留下气泡，可用镊子尖端轻压盖玻片，赶出气泡。如水过多，可用吸水纸吸去多余水分。

三、压片与涂片

(一) 根尖细胞压片法

【材料】将蚕豆浸种发芽，待胚根长到 0.5 ~ 1.5cm，宜于 13 时或 23 时左右两个细胞分裂高峰期切下根尖，投入卡诺氏固定液中固定 15 ~ 60min，然后移至 70% 酒精内保存。

【观察方法与步骤】

(1) 取固定保存的根尖放入盐酸酒精解离液（配法见附录）中 5 ~ 8min，或置 1mol/L 盐酸中于 60℃ 条件下解离 6 ~ 8min，至材料透明时为止。

(2) 用清水将解离液冲洗干净。

(3) 取洗净的根尖，切取根尖生长点部分，放在玻片上，用醋酸洋红染液（或醋酸苏木精染液）整染 5 ~ 10min。（为加速染色过程可将玻片背面放在酒精灯上微热，但不使染液沸腾），然后取出根尖置另一清洁载玻片上，用染液装片覆以盖片，以铅笔头轻轻敲击，使材料呈现分散成均匀薄层，进行镜检。观察细胞是否散开，从视野中找出分裂相清楚的染色体，若此时着色仍不深，可在酒精灯上重复烘烤，直至染色体着色深浅合适为止。若压片需长期保存，可按以下步骤封片。

①将临时压片放 45% 醋酸中使盖片脱落→②冰醋酸 + 无水酒精（1 : 1）→③无水酒精（两次）→④无水酒精 + 二甲苯（1 : 1）→⑤二甲苯（两次）→⑥加拿大树胶封藏。

【注】① ~ ②溶液内浸泡 1min 左右。④以后各项处理动作要快，约 0.5min，以免暴露空气时间过长影响脱水和透明。

(二) 花粉母细胞压片法

(1) 取样、固定及样品的保存 每日 8 ~ 10 时，选择适宜大小的花蕾，采回后用显微镜检查认为适合，可将花药取出（如花很小，则不取出花药），然后投入卡诺氏固定液中，1 ~ 12h，然后换入 70% 酒精中储存，如要储存较长时间，可换 70% 酒精 1 ~ 2 次。如随采随看，则不需固定。

(2) 染色 取出已经固定的花药放在载玻片上，加 1 滴染液（醋酸洋红或醋酸苏木精）于花药上，用弯头形解剖针将花药切断，轻轻挤压，使花粉母细胞溢出，拣去花药残渣，加上一盖玻片，在盖玻片上放一块双层滤纸，隔纸用大拇指轻轻加压，然后将玻片在酒精灯上来回移动着微烤几次，注意勿使染液沸腾及干涸，也可先烤后压，或反复再烤，压烤后发现部分染液干掉，可在盖玻片边缘补充一小滴染液，再进行镜检，至染色体清晰着色为止。

制作良好的压片应使染色体按原位置充分散开，并充分着色，细胞质则几乎

无色或只显浅色。

(3) 临时保存 将回形针拉直一半，蘸熔解石醋封固盖玻片四周，或用加有 10% 甘油的染液压片，此法可保存数星期。

[注] 染色液配法见附录。

(三) 根瘤菌涂片法

(1) 滴一滴蒸馏水于载玻片上，取一根瘤置水滴内，用镊子夹破根瘤，挤压出液汁，再镊弃残渣。

(2) 另取一块载玻片，以边缘紧贴含有菌液的玻片，由一端向另一端平刮，使菌液均匀涂一薄层。

(3) 在酒精灯上来回移动烘干菌液。

(4) 用玻璃棒滴一滴龙胆紫于玻片上，并将玻棒横置玻片上轻轻涂抹，平放染色约 2 ~ 5 min。

(5) 水洗去浮色。酒精灯火焰上烘干水分。

(6) 镜检，可见根瘤菌呈杆形或丫字形。

酵母菌、细菌材料均可用此法涂片。

四、永久性玻片制作方法

(一) 暂时封藏法——甘油法

暂时封藏标本，主要用于不需要长期保存的薄小材料，可在短期内进行观察研究，这是植物教学和科研工作常采用的方法，此步骤分：

① 杀死与固定：视材料大小、性质，选用固定液并确定固定时间，如 4% 福尔马林固定液、纳瓦兴固定液 (Navashin's Fluid)、FAA 固定液、卡诺氏固定液 (Carnoy's Fluid) (配法见后附录)。

② 用蒸馏水冲洗。

③ 将材料放 10% 甘油水溶液中临时装片观察。

[注] 若延长保存时间，可用甘油胶 (配法见附录) 封藏。

(二) 永久封藏法

【目的】学会制作永存切片方法，为今后工作中制作植物组织解剖材料打下基础。

【用具】显微镜、培养皿、表面皿、载玻片、盖玻片、剃刀 (或保安刀片)、布块。

【试剂】蒸馏水，各级酒精 (50%、75%、80%、95% 酒精、无水酒精)，1/2 无水酒精 + 1/2 二甲苯，纯二甲苯，加拿大树胶，番红水溶液，固绿酒精溶液。