

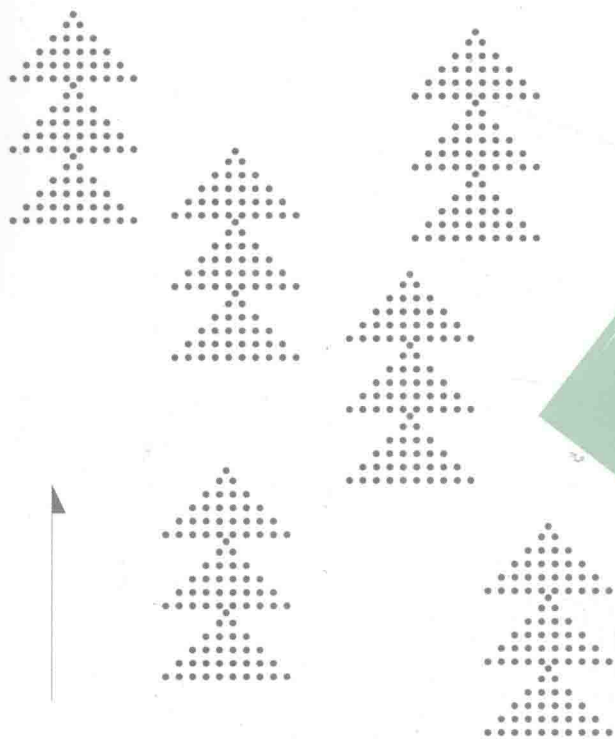


新世纪高等学校教材

生物学系列教材

# 植物生物学实验

蔡冲 主编



ZHIWUSHENGWUXUE SHIYAN



北京师范大学出版集团  
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP  
北京师范大学出版社

中国植物学杂志

第 10 卷 第 1 期

# 植物生物学实验

第 10 卷 第 1 期



中国植物学杂志

新世纪高等学校教材

---

生物学系列教材

# 植物生物学实验

ZHIWUSHENGWUXUE SHIYAN

蔡 冲 主 编

姜维梅 孙骏威 陶月良 副主编



北京师范大学出版集团  
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP  
北京师范大学出版社

---

图书在版编目(CIP)数据

植物生物学实验 / 蔡冲主编. —北京: 北京师范大学出版社, 2013.6

(新世纪高等学校教材)

ISBN 978-7-303-16606-0

I. ①植… II. ①蔡… III. ①植物学—生物学—实验—高等学校—教材 IV. Q94-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第106896号

---

营销中心电话 010-58802181 58805532

北师大出版社高等教育分社网 <http://gaojiao.bnup.com.cn>

电子信箱 [gaojiao@bnupg.com](mailto:gaojiao@bnupg.com)

---

出版发行: 北京师范大学出版社 [www.bnup.com.cn](http://www.bnup.com.cn)

北京新街口外大街19号

邮政编码: 100875

印刷: 保定市中华美凯印刷有限公司

经销: 全国新华书店

开本: 184 mm × 260 mm

印张: 14.5

字数: 305千字

版次: 2013年6月第1版

印次: 2013年6月第1次印刷

定价: 27.00元

---

策划编辑: 姚斯研

责任编辑: 姚斯研

美术编辑: 毛佳

装帧设计: 毛佳

责任校对: 李菡

责任印制: 孙文凯

**版权所有 侵权必究**

反盗版、侵权举报电话: 010-58800697

北京读者服务部电话: 010-58808104

外埠邮购电话: 010-58808083

本书如有印装质量问题, 请与印制管理部联系调换。

印制管理部电话: 010-58800825

## 《植物生物学实验》编写委员会

主 编：蔡 冲

副主编：姜维梅 孙骏威 陶月良

编 者：（按姓氏笔画排序）

王飞娟（中国计量学院）

朱 诚（中国计量学院）

江 琼（中国计量学院）

孙骏威（中国计量学院）

陈 珍（台州学院）

郑炳松（浙江农林大学）

郝培应（中国计量学院）

姜维梅（浙江大学）

陶月良（温州大学）

蔡 冲（中国计量学院）

# 前言

植物生物学是各类高等院校中与生物学相关专业的本科必修的一门专业基础课。当代生命科学与技术飞速发展,新知识、新成果日新月异,植物生物学中的一些重要问题得以进一步阐明,使人们对植物各种生命过程的理解更加深入。实验教学是实施素质教育和提高实践能力的重要途径,也是学生创新能力培养的重要环节;相对于理论教学更具有直观性、实践性、综合性与创新性。

《植物生物学实验》既自成体系,又与朱诚主编的《植物生物学》理论内容相互补充,相得益彰。

本教材共分8章,第1章由蔡冲编写,第2章由蔡冲、郝培应、孙骏威、陶月良编写,第3章由孙骏威、郑炳松、王飞娟编写,第4章由朱诚、孙骏威、郝培应、陶月良编写,第5章由蔡冲、姜维梅、朱诚编写,第6章由陶月良、朱诚、王飞娟、陈珍编写,第7章由姜维梅和蔡冲编写,第8章由陶月良、江琼、郝培应、蔡冲编写。完成初稿后,先在编写人员间相互交叉审阅,然后由蔡冲统稿、定稿。

本教材是编者根据植物生物学课程特点和实际教学体会编写的,是各位编者多年教学经验的总结和集体辛勤劳动的成果,期望能为提高植物生物学教学水平发挥应有的作用。

本教材的编写出版得到了中国计量学院教务处及编写人员所在单位的支持,书中部分插图由北京师范大学出版社协助绘制;教材引用了国内外许多有关论文和教材的大量资料和图表,在书中尽力一一做出标注,如有遗漏和错误请谅解,在此一并表示感谢;由于编者学识有限,书中定会存在不少缺点和不妥之处,敬请广大同仁和读者不吝赐教,以俟异日修订。

编者

2013年3月

# 目 录

## 第 1 章 植物细胞与组织 /1

- 1.1 显微镜的使用方法及生物绘图技术 ..... 1
- 1.2 植物制片技术..... 8
- 1.3 植物细胞的结构观察 ..... 12
- 1.4 植物细胞内含物的观察 ..... 14
- 1.5 植物细胞的增殖 ..... 16
- 1.6 植物组织的结构观察 ..... 18

## 第 2 章 植物营养器官的形态结构与生理功能 /22

- 2.1 植物营养器官的结构与发育 ..... 22
- 2.2 不同生境植物叶片结构的比较观察 ..... 27
- 2.3 植物根系活力测定 ..... 28
- 2.4 小液流法测定植物组织的水势 ..... 32
- 2.5 水分胁迫对植物水分、光合作用及呼吸  
作用的影响 ..... 34
- 2.6 植物对离子的选择性吸收 ..... 35
- 2.7 植物的元素缺乏症 ..... 37
- 2.8 植物呼吸速率的测定 ..... 39

## 第 3 章 植物光合作用及有机物运输 /44

- 3.1 植物光合速率的测定 ..... 44
- 3.2 叶绿体色素的提取和分离 ..... 52
- 3.3 叶绿体色素的理化性质 ..... 54
- 3.4 叶绿体色素含量的测定 ..... 55
- 3.5 叶绿素荧光参数的测定 ..... 58
- 3.6 植物希尔反应的测定 ..... 64
- 3.7 Rubisco 羧化活力的测定 ..... 66
- 3.8 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定 ..... 69

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 3.9 植物组织可溶性糖的测定 .....       | 71 |
| 3.10 凯氏定氮法测定植物组织中全氮含量 ..... | 75 |

## 第4章 植物生长发育及调控 /79

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| 4.1 生长素的生物鉴定(芽鞘伸长法) .....                  | 79 |
| 4.2 气相色谱法测定乙烯含量 .....                      | 80 |
| 4.3 植物体内脱落酸和赤霉素的分离和测定 .....                | 82 |
| 4.4 高效液相色谱法测定果蔬中7种植物激素的残留量 .....           | 85 |
| 4.5 固相微萃取-气相色谱联用技术测定芒果原浆中<br>乙烯利的残留量 ..... | 86 |
| 4.6 水杨酸和多效唑对非洲菊切花的保鲜作用 .....               | 87 |
| 4.7 生长调节剂对植物插条不定根发生的影响 .....               | 90 |
| 4.8 萘乙酸对植物种子萌发的影响 .....                    | 91 |
| 4.9 生长调节剂对黄瓜性别分化的影响 .....                  | 93 |
| 4.10 生长调节剂对果实发育的影响 .....                   | 94 |
| 4.11 酶联免疫法测定植物激素含量 .....                   | 95 |
| 4.12 赤霉素诱导大麦糊粉层细胞内 $\alpha$ -淀粉酶的形成 .....  | 98 |

## 第5章 植物的繁殖 /101

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| 5.1 植物繁殖器官的结构与发育 .....           | 101 |
| 5.2 不同植物花粉的形态以及植物繁育系统的比较研究 ..... | 105 |
| 5.3 花粉活力测定 .....                 | 109 |
| 5.4 种子中淀粉酶活性测定 .....             | 112 |
| 5.5 种子生活力测定 .....                | 114 |
| 5.6 种子萌发形成幼苗过程的观察 .....          | 118 |
| 5.7 果实成熟过程物质变化研究 .....           | 119 |

## 第6章 植物的衰老及其调控 /122

|                                |     |
|--------------------------------|-----|
| 6.1 植物组织维生素C含量的测定 .....        | 122 |
| 6.2 植物细胞膜脂过氧化作用的测定 .....       | 125 |
| 6.3 植物超氧化物歧化酶活性的测定 .....       | 128 |
| 6.4 植物过氧化物酶活性的测定 .....         | 130 |
| 6.5 植物过氧化氢酶活性的测定 .....         | 131 |
| 6.6 植物超氧自由基的测定 .....           | 134 |
| 6.7 植物过氧化氢含量的测定(二甲酚橙比色法) ..... | 135 |
| 6.8 果胶酶活力的测定 .....             | 137 |



**第 7 章 植物的多样性 /140**

|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| 7.1 藻类植物的观察 .....                               | 140 |
| 7.2 菌类和地衣植物的观察 .....                            | 144 |
| 7.3 苔藓植物(Bryophyta)的观察 .....                    | 147 |
| 7.4 蕨类植物(Pteridophyta)的观察 .....                 | 149 |
| 7.5 裸子植物(Gymnospermae)的观察 .....                 | 151 |
| 7.6 花程式、花图式的表示和植物分类检索表的使用<br>(以百合科和石竹科为例) ..... | 153 |
| 7.7 被子植物分科(一) .....                             | 157 |
| 7.8 被子植物分科(二) .....                             | 165 |
| 7.9 校园植物观察:植物的各大类群和多样性 .....                    | 174 |
| 7.10 植物标本的采集与制作 .....                           | 179 |
| 7.11 浮游藻类的观察及水质评价 .....                         | 184 |
| 7.12 染色体核型分类与染色体倍性的分析方法 .....                   | 186 |
| 7.13 基于 DNA 序列的比较分析研究物种的遗传多样性及<br>遗传结构 .....    | 191 |

**第 8 章 植物与环境 /195**

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| 8.1 植物细胞膜透性的测定 .....         | 195 |
| 8.2 植物组织游离脯氨酸含量的测定 .....     | 196 |
| 8.3 植物可溶性蛋白和非可溶性蛋白含量测定 ..... | 197 |
| 8.4 冷害对植物组织 ATP 酶活性的影响 ..... | 199 |
| 8.5 植物苯丙氨酸解氨酶活性的测定 .....     | 202 |
| 8.6 入侵植物种子特征研究(菊科) .....     | 203 |
| 8.7 植物逆境蛋白质组学研究 .....        | 205 |
| 8.8 逆境及衰老对植物生理生化的影响 .....    | 210 |
| 8.9 植物物候期的调查 .....           | 212 |
| 8.10 植物与环境的野外观察 .....        | 213 |

**主要参考文献 /216**

# 第1章 植物细胞与组织

## 1.1 显微镜的使用方法及生物绘图技术

### 1.1.1 实验目的和要求

1. 熟悉显微镜的结构、成像原理和使用操作规程，并熟练操作和使用显微镜。
2. 掌握正确的绘图方法，提高绘图质量。

### 1.1.2 实验材料和设备

显微镜、擦镜纸、载玻片、盖玻片、镊子、解剖针、吸水纸、蒸馏水、二甲苯、香柏油、碘液。

### 1.1.3 实验步骤和内容

#### 1. 光学显微镜的构造及使用方法

##### (1) 光学显微镜的构造

本实验课常用的是光学显微镜(见图 1-1)，由光学部分和机械部分组成。

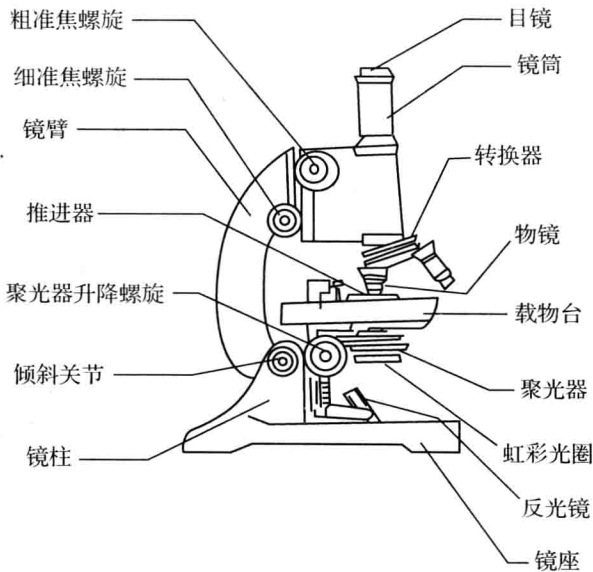


图 1-1 光学显微镜结构图

光学部分：物镜、目镜、镜筒、聚光器和反光镜。

机械部分：转换器、粗准焦螺旋、细准焦螺旋、镜臂、载物台(镜台，上面装有压片

夹或移动标本制片的推进器)、镜柱、倾斜关节、镜座。

聚光器位于载物台的孔下方,由两块或数块透镜组成。它的作用是聚集反光镜反射来的光线,并将其射入镜筒,以增强标本的亮度。聚光器可通过聚光器升降螺旋的转动进行上、下调节以获得适宜光度:向下降落亮度降低,向上提升则亮度升高。如果显微镜视野内可见到窗框的投影,除改变反光镜方向外,也可将聚光器适当下调。聚光器的下面附有虹彩光圈,也可称光栏,由十几片金属片组成,推动其把手可用来控制聚光器口径的大小和照射面,以调节光的强弱。光强时缩小光圈,光弱时扩大光圈。虹彩光圈下面还附设一金属圆圈,可根据需要放置某种色调的滤光片,以提高观察效果和突出某一部分成像的效果,这多在照相时使用。

### (2) 光学显微镜成像原理

光学显微镜能够成像主要是依据凸透镜成像原理,物像的扩大主要是物镜和目镜的作用。

首先,利用反光镜将可见光(自然光或灯光光源)反射到聚光器中,把光线汇聚成束,穿过生物制片(样品)射向物镜的透镜上,经透镜折射而在物镜与目镜之间形成生物制品结构的放大倒实像。这一倒的实像经过目镜的放大而形成倒的放大虚像。这个倒的放大虚像映入眼球内,在视网膜上形成正的像。由于人们的视觉习惯而产生倒像感觉。换句话说,用光学显微镜观察样品,我们所看到的是样品结构放大的倒像(见图 1-2)。

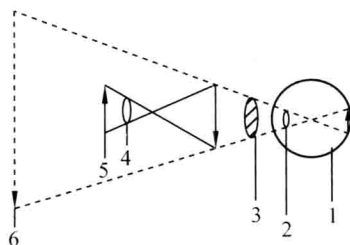


图 1-2 光学显微镜成像原理

1. 眼球 2. 晶状体 3. 目镜 4. 物镜 5. 样品 6. 虚像

从以上成像过程可知,光学显微镜的放大倍数由目镜、物镜和镜筒的长度决定。镜筒长度一般为 160 mm,显然放大倍数主要由物镜和目镜来决定。通常显微镜、物镜与目镜上都刻有放大倍数,一般目镜越短,放大倍数越高,物镜越长,放大倍数越高。理论上显微镜具有的物镜、目镜及它们之间的组合的放大倍数如表 1-1 所示。

从表中可知,理论上光学显微镜的最大放大倍数可以达到 2 500 倍,但是目前由于可见光波长和制造工艺的限制,虽能放大到 2 500 倍,但分辨率无保证,因此最好的光学显微镜最高的有效放大倍数只能达到 1 000 倍左右。有时说一架显微镜可以放大 2 000 倍,这只不过是“能够”放大到这个倍数,并不表明此时的像是清晰的,也许只看见一个放大的模糊影像。

### (3) 光学显微镜的使用

①取用、放回显微镜时,必须一手握持镜臂,一手托住镜座,使镜身直立,不可用一只手倾斜提携,以免摔落目镜、反光镜以及镜座。

表 1-1 光学显微镜理论放大倍数计算表

| 放大倍数<br>物镜倍数 \ 目镜倍数 | 5×  | 10×   | 15×   | 25×   |
|---------------------|-----|-------|-------|-------|
|                     |     |       |       |       |
| 4×                  | 20  | 40    | 60    | 100   |
| 10×                 | 50  | 100   | 150   | 250   |
| 40×                 | 200 | 400   | 600   | 1 000 |
| 90×                 | 450 | 900   | 1 350 | 2 250 |
| 100×                | 500 | 1 000 | 1 500 | 2 500 |

② 要轻拿轻放。将显微镜置于实验台上时，镜臂朝向自己，略偏向左方，距实验桌的边缘约 30 mm 处，右侧可放记录本或绘图纸等。

③ 使用显微镜前，首先要调节好光线，在实验室可以利用灯光或自然光，但不能用直射的阳光，以免损伤眼睛。首先转动转换器，使目镜、低倍物镜(通常是 10×物镜)和通光孔成一直线，然后转动粗准焦螺旋，使物镜与载物台相距 7~8 mm，接着先把聚光器提上，打开可变光栏，在用左眼观察目镜中视野的同时，转动反光镜，使视野的光线最明亮、最均匀。如果靠近光源或光源较强，可用平面的反光镜；如果光源距离较远或光源较弱，可用凹面的反光镜。

④ 把要观察的切片置于载物台上，用推进器或手移动载玻片，使标本正对通光孔的中央(若无推进器的，移动后应用压片夹固定)。接着用左眼观察，若没看见标本，可慢慢旋转粗准焦螺旋，使镜筒慢慢上升，直到能看清标本为止。此时若物像不在视野中央，可移动载玻片，使标本物像出现在视野中央。移动时就记住显微镜中形成的物像是放大的倒像，故改变图像在视野中的位置时，需要朝相反的方向移动，或叫“对着干”，即图像偏右则向右移动玻片。反之亦然。然后再用细准焦螺旋进行调节。(注意：细准焦螺旋是显微镜上机械部件中最易损坏的部分，要尽量保护。通常使用低倍物镜观察时，用粗准焦螺旋调焦就可以得到满意的效果，在此情况下，尽量不用或少用细准焦螺旋。使用高倍物镜如需要用细准焦螺旋调焦时，转动量也最好不要大于半圈。)

⑤ 进行观察时，一定要双眼睁开，做到左眼观察，右眼看绘图，同时要先从低倍镜下观察起。先了解制片上切片的情况，如需详细观察制片中某一部分的细微结构，则先在低倍镜下找到合适的位置，并移到中央，然后转动镜头转换器，用较高倍的物镜观察。如尚需要用更高倍的物镜进一步观察某一部分的结构，则可重复以上步骤。在观察过程中，由于材料、目镜及物镜放大倍数等不同，所需光线强弱也不同，需靠调节聚光器上、下位置和光栏光圈大小来实现。

⑥ 本实验通常使用高倍物镜，基本上能达到目的。如观察材料欲放大 1 000 倍以上时，则需使用油浸物镜(即 100×)。使用油镜时，采用的目镜跟使用其他倍数的物镜时一样，可用 10×，15×，25×等。观察时必须先用高倍物镜找到要观察的部位，调至视野中央后，再转动粗准焦螺旋提高镜筒，转动镜头转换器，使油镜头与镜筒相对，然后在所要观察材料的盖玻片上面，在正对通光孔的中央部位加一滴直径约半厘米的石蜡油或香柏油。随后从显微镜侧面观察，操纵粗准焦螺旋，使镜筒下降至使油镜头浸入油内，

并正好与盖玻片相融，然后用左眼靠近目镜，细心观察视野，旋转粗准焦螺旋，使镜筒缓慢地向上提升，当刚刚看出不甚清楚的物像，就换用细准焦螺旋进行调节，调至物像清晰为止。

观察完毕，提起镜筒，当即用擦镜纸擦去镜头上的石蜡油。若用香柏油，需用擦镜纸先擦去镜头的油渍，再用擦镜纸蘸少许二甲苯轻轻擦拭，最后用干净的擦镜纸擦净。标本制片上的石蜡油(或香柏油)用同法擦去。

⑦ 每一种标本观察完毕后，必须在低倍镜下取出，若在高倍镜下或油镜下观察也必须转换至低倍镜下(或将镜筒提起一定高度)方可取出。这样可避免损坏玻片标本和镜头。若在低倍镜下取出，还可便于继续观察另一张玻片标本。

如果实验全部完成，先用清洁纱布轻轻擦拭整个镜体(切记：不包括玻璃构件表面)，再将物镜转成“八”字形垂于镜筒下，以免物镜镜头下落与聚光器相碰撞。然后使镜筒下降至两物镜侧面与镜台轻触为止，并转动反光镜，使镜面与镜台垂直，方可放入显微镜箱内。

表 1-2 光学显微镜常见问题及处理方法

| 问题               | 原因            | 处理方法      |
|------------------|---------------|-----------|
| 视野亮度不均匀          | 物镜未放入光路       | 确实放入光路    |
|                  | 聚光器太低         | 放到最高位     |
|                  | 光学器件有污垢       | 充分清洁      |
| 视野有尘土和污垢         | 光学器件或标本有污垢    | 充分清洁      |
| 观察像刺眼            | 聚光器太低         | 升高聚光器     |
|                  | 光圈太小          | 对照物镜倍率    |
| 两眼视野不一致          | 瞳距不合适         | 正确调整      |
|                  | 没有补正两眼视差      | 正确调整      |
| 从低倍镜切换到高倍镜时会碰到制片 | 制片安装反了        | 盖玻片向上重新安装 |
| 对不好焦距(载物台不上升)    | 粗调限位太低        | 升高粗调限位    |
| 载物台自动下滑          | 粗调焦螺旋松紧度调整环太松 | 适当调紧      |
| 灯泡不亮             | 电源线没有插好       | 重新插好插头    |
|                  | 灯泡坏了          | 更换灯泡      |

(4)操作练习

对光学显微镜的构造和使用方法有初步了解后，可以进行下列操作练习：

- ① 用“上”字制片，在低倍物镜下观察，掌握对光和聚焦器的使用方法。找到观察的物像后，用聚焦器把物像调节到最清晰程度。验证一下放大的物像是否为倒像？把制片向左和向右移动，物像移动的方向是否与制片移动的方向一致？为什么？
- ② 用“绢”字制片，计算视野直径在高倍物镜和低倍物镜下各有多少方格，计算其放大倍数是否与物镜放大倍数成正比。

③ 用“绢”字制片测量不同放大倍数下视野的直径。首先在“绢”字制片上找出黑色斑点的标记(用肉眼就可以看出,这是在制片时做的,每两黑点之间为1 mm)。数一数两黑点之间有多少小方格,然后分别在4×、10×、40×(或44×)物镜下(目镜放大倍数不变)计算视野直径的方格数目,并按方格数目多少粗略地计算出3种物镜下视野直径的大小。把计算结果记录下来,可帮助在观察实物时建立放大倍数的概念。

④ 在载玻片上滴一滴稀胶水,用解剖针搅拌使之产生小的气泡,加盖玻片后在显微镜下观察。在显微镜下看到的气泡,其外围为一黑圈,中间为明亮部分。应该记住气泡在显微镜下的形象,在以后的实验中,不要把气泡误认为是植物组织中的结构,这往往是初学者容易犯的错误。

#### (5) 光学显微镜的维护

① 必须熟悉并严格执行上述显微镜操作步骤和规则。

② 避免灰尘、试剂或溶液沾污或滴到显微镜上,如沾污了玻璃构件表面,应立即用擦镜纸擦拭干净,其余部位则应用清洁纱布尽快擦拭干净。

③ 玻璃构件表面比较脆弱,尤其是物镜、目镜和聚光器内的透镜比一般玻璃的硬度小,易受损伤,因此只能用专用的擦镜纸,不能用棉花、棉布或其他物品擦拭,更不能用手直接接触。擦拭时要先将擦镜纸折叠为四折,绕着物镜或目镜等的轴按一个方向转动地轻轻擦拭。如不按上述方式擦拭,落在镜头上的灰尘很容易损伤透镜,出现一条条的划痕。为节约,擦透镜后的擦镜纸还可以用来擦反光镜。

④ 显微镜为精密仪器,随时都应小心使用,不可任意拆卸,遇有机件失灵或阻滞现象,绝不能强力扭转,应及时查明原因,排除障碍,以便适时修理。

⑤ 保持显微镜箱内干燥、清洁,取出和放回显微镜后,立即关闭显微镜箱,并适时更换干燥剂。

## 2. 电子显微镜的构造及使用方法

细胞的发现与显微镜的发明密切相关,人类逐步打开了从微观领域认识生命世界的大门。17世纪60年代由于光学显微镜的使用,对细胞的观察打开了认识微观世界的大门;20世纪初,细胞学的研究水平从光学显微镜下的显微结构发展到了电子显微镜下的超微结构。随着同位素示踪、放射自显影和X射线衍射法等技术的应用,细胞的研究从超微阶段发展到分子水平阶段。

#### (1) 电子显微镜的工作原理

电子显微镜(即透射电子显微镜)的特点是放大倍数高,可以放大几千倍、几万倍以至几十万倍。因此,光学显微镜下不能看到的结构(如内质网)或生物(如病毒)在电子显微镜下就能看到。此外,由于具备更高的分辨率,即使是同样的放大倍数,光学显微镜所不能看到或看不清楚的结构,在电子显微镜下都能看清楚。

分辨率是指能够分辨得出尽可能近的两点的能力,用两点间最短的极限距离表示分辨率。例如普通光学显微镜的分辨率为0.2 μm,也就是0.2 μm为普通光学显微镜的分辨极限。如果两点或两层膜之间的距离小于0.2 μm,就是放大多少倍也是看不出来的。

光学显微镜的工作原理是利用光线穿过被观察的样品,经过物镜和目镜的作用把样品的像放大到几十倍、几百倍乃至一千倍;电子显微镜则是利用电磁透镜的作用,使电子束会聚在一起,穿过样品再经电磁透镜(物镜与目镜)作用把样品的像放大几千倍、几万倍以至几十万倍。

光线和电子束的波长与分辨率有直接关系, 波长越短分辨率越高。可见光(一般光学显微镜所用的光线)波长为  $390\sim 760\text{ nm}$ , 因此光学显微镜的分辨率为  $0.2\text{ }\mu\text{m}$ ; 如果用波长短的紫外光(波长为  $13\sim 390\text{ nm}$ )则其分辨率可提高一倍, 所以紫外光显微镜(光学显微镜的一种)的分辨率为  $0.1\text{ }\mu\text{m}$ 。而应用电子束的电子显微镜, 由于电子束的波长比光线的波长短得多(表 2-1), 所以它的分辨率要高得多, 我国设计的 DXB<sub>2</sub>-12 型电子显微镜分辨率为  $0.204\text{ nm}$ , 可放大 80 万倍。

电子显微镜的工作原理与光学显微镜相类似, 只不过电子束代替了光线, 电磁透镜代替了光学透镜。但因空气对电子束起着阻碍作用, 因此电子显微镜内部需要保持真空状态。另外电子束的穿透能力很差, 过厚的样品电子不能穿透因而不能进行观察。所以必须要将样品切成超薄切片, 厚度为  $60\sim 90\text{ nm}$ 。由于上述原因, 电子显微镜的造价和使用条件要比光学显微镜高得多。

表 1-3 不同光线和电子束的波长

| 名称              | 波长/nm   |
|-----------------|---------|
| 可见光             | 390~760 |
| 紫外光             | 13~390  |
| 电子束*      50 kV | 0.005 3 |
| 80 kV           | 0.004 2 |
| 100 kV          | 0.003 7 |

\* 电子束的波长随着电压的增高而改变, 电压越高, 波长越短。

## (2)扫描电子显微镜

1965 年, 工程师们又设计出另一类型的电子显微镜, 它是利用电磁透镜会聚出很细的电子束, 并使电子束在样品上进行扫描, 收集样品上所产生的次生电子, 经过放大在显像管的荧光屏上显示样品影像。因为电子束在样品上扫描成像, 所以叫做扫描电子显微镜。

扫描电子显微镜与光学显微镜和透射电子显微镜相比有下列独特的优点:

- ① 由于它具有较大的景深, 因而能得到有真实感的立体图像。
- ② 放大范围广, 可由十倍放大到十几万倍。
- ③ 样品的制备方法比较简便。
- ④ 可利用样品在入射电子作用下产生的不同信号, 对样品进行成分和元素分布的分析。

由于上述的独特优点, 近年来扫描电子显微镜已广泛应用于生物学的各个学科领域。

电子显微镜应用以后, 虽然对生物学研究的进展发挥了巨大的作用, 但我们仍不能忽略光学显微镜的作用。现在不少科研工作, 将同一材料分别用光学显微镜、透射电子显微镜和扫描电子显微镜进行观察, 把观察结果相互对照比较。

## 3. 生物绘图技术

植物的图形是说明植物形态特征的最好方式, 被称为植物形态学的最好“语言”。因此, 植物图的绘制是学习本课程必须掌握的技能, 要保证最严格的科学性和准确性。

### (1) 植物图的大致类型

① 外形图或形态图。即对植物体及器官或器官的某部分的外形，按自然状态描绘实物图形，在植物分类学中十分常用。绘图时要特别注意形体的比例正确；若想使之有立体感，则须用平行线条的粗细或圆点的大小、密疏的不同对比表示。

② 草图、轮廓图或示意图。即绘制植物标本全部或某一部分细胞或组织的排列位置和比例的大概轮廓结构。图解图也属此类。

③ 细胞结构图或详图。在显微镜下描绘生物切片标本某部分的细胞或组织的详细结构。绘制时可徒手也可用描绘器或按显微照相的照片放大仿绘。

可根据不同的实验内容和目的，绘制不同类型的图。本课程只要求用铅笔进行徒手作图。

### (2) 实验绘图的具体要求

① 先把实验题目写在实验报告中，将姓名、日期依次填上。

② 只在纸的一面绘图，纸面力求清洁平展。绘图和注字不能用钢笔或圆珠笔，要用一定硬度(2H 或 3H)的铅笔。削铅笔时尖端木头露出约 2.5 cm，铅芯露出约 0.8 cm，削成圆锥形。

③ 绘图之前，应对实验所要求的绘图内容作合理布局，每图的位置及大小配置适宜，性质相关的图宜列在一处，若是只绘一个图就应放在纸的当中；若两个图则应分布于纸的上方和下方——并留出标注的空当，使所有的图和标注均位于报告纸的正中位置。

④ 将实验指导与实验材料对照，观察清楚，选出正常的、典型的、符合要求的部分作图，一般尽可能把图放大些。当绘细胞图时，绘 2~3 个细胞即可；当绘器官图时，绘 1/2 或 1/8~1/4 部分即可。

⑤ 绘图时先用 HB 铅笔按一定比例放大或缩小并轻轻勾出标本轮廓，再用 2H 或 3H 铅笔将准确的线条画出。要求线条洁净清晰，同一线条要粗细均匀，中间不要开叉或断线，一切紊乱或无用的线均需用橡皮擦去。

⑥ 生物学的绘图不同于一般的美术图，应强调比例正确、科学和真实。图上只能用线条勾轮廓和用圆点表示明暗，不可涂黑衬阴影，线条要清晰，圆点要均匀，不要点成小撇。

⑦ 每图各部分均应详细注字，注字一般要求在图的右侧。注字时将所需标注的各部分用直尺引出水平细线，用正楷字写于线的末端，排成一竖行。图的标题和所用的材料写在图的下方，注字横写。

## 1.1.4 实验报告和思考题

1. 详述光学显微镜的使用步骤。
2. 为什么在光学显微镜下观察气泡时，会有黑圈出现？
3. 参观电子显微镜室，了解透射和扫描两种电子显微镜的工作原理和制备样品的程序。
4. 练习生物绘图技术。



## 1.2 植物制片技术

### 1.2.1 实验目的和要求

1. 了解植物科学研究中常用的制片方法和制片原理。
2. 掌握徒手切片法、离析制片法、石蜡制片法等操作技术。

### 1.2.2 实验材料和设备

1. 实验设备(用具): 显微镜、剪刀、染色碟、毛笔、双面刀片、解剖刀、单面刀片、注射用玻璃小瓶及橡皮盖子(如用后的青霉素小瓶)、注射器(针头)、小镊子、解剖针、量筒、试剂瓶、恒温箱、盛碎蜡的盒子、切片机(刀)、载玻片(免清洗)、盖玻片(免清洗)、牛皮纸或较硬且光滑的纸、烧杯、塑料盆、温台、展片台、小铁片或废弃的手术刀、酒精灯、小木块( $1 \times 2 \times 3 \text{ cm}^3$ )、脱蜡缸、滴瓶、吸水纸。

2. 实验试剂: 0.2% 中性红溶液、1% 番红水溶液、蒸馏水、FAA 固定液(50%~70% 乙醇 90 mL + 冰乙酸 5 mL + 40% 甲醛 5 mL)、无水乙醇、叔丁醇或正丁醇、二甲苯、3 种熔点类型石蜡(52~54 °C、54~56 °C、56~58 °C)、明胶粘贴剂、石炭酸、甘油、固绿乙醇液(固绿 1 g, 加 95% 乙醇至 100 mL)、加拿大树胶(溶解时避免气泡产生)、碘化钾、碘、铬酸-硝酸离析液。

### 1.2.3 实验步骤和内容

#### 1. 徒手切片法

在观察研究植物内部构造时, 常常使用刀片把植物组织切成薄片进行显微观察, 这种方法叫做徒手切片法。此法所用工具简单, 方法易学, 省时又方便, 具普遍适用的特征。更为突出的是新鲜材料可随采随切, 故能使研究者看到原有的天然颜色, 因此它是植物显微技术的重要方法之一。

(1) 预先准备好一碟水、一支毛笔、双面刀片。

(2) 取材

对于那些能耐受刀力、硬度适中的材料, 可以直接用于切片。其中细长的材料应截成 2.5 cm 左右的小段。如果是粗大的材料, 则应用解剖刀把它切成口径适当大小的长块。过于柔软的材料, 如植物的叶片或其他薄而微小的材料, 难于手切, 则须夹入一定的维持物中。常用的维持物有胡萝卜、马铃薯块茎、接骨木的髓部等。坚硬的材料, 则要经软化处理后再切。材料取好后, 再用解剖刀把要切的表面修平。

(3) 切法

用左手的食指、中指、拇指拿住材料, 并将材料置于食指、中指屈曲形成的凹面内, 拇指压住材料、材料与食指的曲面成垂直。材料要稍微突出食指的曲面(1~2 mm), 拇指指尖稍低于食指曲面, 以免割伤。然后右手拿刀片, 先蘸湿刀片和材料, 再把刀片靠在食指的曲面上, 刀口向胸, 以均匀的动作将刀片由左向右拉切, 不能中途停顿, 不要用刀片直接挤压材料。已切薄片用蘸水毛笔刷入盛水的染色碟(或其他盛水的器皿)内, 以