21 世纪高等院校教材——生物科学系列

现代植物生物学实验

陈德海 徐 虹 连玉武 主编

斜 学 出 版 社 北 京

内容 简介

本书根据生物学科学生培养目标的要求和综合性大学植物生物学实验 室现有的条件,系统地选择植物学科的主要实验技术方法,力求把经典的 实验内容与前沿的实验技术有机地结合起来。第一章介绍植物根、茎、 叶、花、果实的形态结构和功能及藻类植物、苔藓植物、蕨类植物、裸子 植物和被子植物的形态特征。第二章介绍光、温度、水、风等生态因子的 测定。第三章介绍水分和矿质营养、光合作用、呼吸代谢、抗性生理等生 理指标的测定。第四章介绍植物生长发育、植物激素和植物细胞生理实验 技术。

本书适合于综合性大学和师范院校生物学科各专业的学生使用,也可 供高等农林院校的师生和有关的科学研究人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

现代植物生物学实验/陈德海,徐虹,连玉武主编.—北京,科学出版 社,2005

21 世纪高等院校教材——生物科学系列 ISBN 7-03-016629-9

Ⅰ.现… Ⅱ.①陈… ②徐… ③连… Ⅲ.植物学-实验-高等学校-教材 IV.Q94-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 148767 号

责任编辑:周辉李久进沈晓晶/责任校对:张琪 责任印制:张克忠/封面设计:陈 敬

> 科学出版社出版 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

http://www.sciencep.com

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

2005年12月第 一 版 开本: B5 (720×1000) 2006 年 12 月第二次印刷 印张: 16 1/4

印数:3001-5000 字数:306 000

定价, 25.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

序

当今世界已进入 21 世纪激烈的国际经济竞争、综合国力竞争以及科学技术 竞争时代。高等院校面临着挑战与机遇,培养跨世纪人才,大力提高学生的综合 素质,是摆在每所高等院校面前的首要任务。

《现代植物生物学实验》是厦门大学生命科学学院承担教育部立项的"植物生物学"创名牌课程的重要组成部分。它是"面向21世纪生物学实验教学内容和教学体系改革"的具体实践;以"教育面向现代化、面向世界、面向未来"的方针,全面系统地介绍了植物形态解剖技术、植物系统分类技术、植物环境生态因子的测定、植物代谢生理学实验技术、植物发育生理学实验技术等。其大部分实验内容是厦门大学生命科学学院教师长期教学实践的经验总结。实验内容和系统体系均有较大的创新,做到了把经典的实验内容与前沿的新技术有机地结合在一起,并尽可能地汇集近代较为新颖的科学研究技术方法和手段,改革了原有的实验教学方法和体系,创建了新的教学体系。

厦门大学生命科学学院在教学改革上取得了显著成果,已形成了重视教学与实践结合的良好风气。参加《现代植物生物学实验》编写的工作人员均来自教学工作第一线,他们学术造诣深,教学工作经验丰富,教学效果好。本书是编写人员辛勤工作的结果,也反映了厦门大学生命科学学院的新老教师共同努力,忠于教育事业的优良传统。

由上,乐而作序,与同行专家共勉。

中国工程院院士 林 鹏 2005年5月18日

前言

为了适应生物科学的迅速发展,需要培养高素质人才。厦门大学生命科学学院在"面向 21 世纪生物学实验教学内容和教学体系改革"的具体实践中,制定了新的教学计划。"植物生物学实验"就是全院本科实验教学六门基础实验课之一。为了紧密配合实验教学,我院组织了以教授和副教授为骨干的老、中、青相结合的综合组进行了《现代植物生物学实验》教材的编写。

本书的特点是结合已经立项的新的教学内容和课程体系改革方法,介绍了植物形态解剖技术、植物系统分类技术、植物环境生态因子的测定、植物代谢生理学实验技术和植物发育生理学实验技术。其实验内容和实验体系都有较大的创新,既系统阐述了实验的基本原理和基本技能,又反映了学科的发展前景,特别汇集了近期较为新颖的技术方法,把经典的实验内容与前沿的新技术有机地结合在一起,改革了原有实验教学方法和体系,增添了新的实验教学内容,建立了新的教学系统。它将在促进生物科学实验教学的发展中起到一定的作用。

本书大部分内容由我院生物学系陈德海、徐虹、连玉武、陈林姣、李雪松、杨盛昌、王文卿、林益明、张红心、邵寒娟、卫新中、辛泽毓、叶庆华等同志编写,陈振端、丘喜昭等同志绘图,并聘请厦门集美大学张丽娟、福建中医学院卢伟、福建师范大学李凤玉等同志编写了部分实验。由于时间和水平所限,书中难免存在不当与错误之处,恳请同行专家及广大读者批评指正,以便再版时修改。

本书编写过程中由杨汉金、沈明山、严重玲等教授审阅并提出许多宝贵意见。在出版过程中,还得到厦门大学教务处和生命科学学院领导的大力支持。在此,谨向他们致以诚挚的谢意。

编 者 于厦门大学生命科学学院 2005 年 6 月

目 录

序										
前言										
第一	章 植物									
	实验一	植物)徒手切.	片与显微	收化学》	を定法・	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	2
	实验二	植物	J组织 ··	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	•••••	•••••	6
	实验三	植物	操色体	G 带制力	†技术	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	12
	实验四	根的	形态与	构造 …	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	14
	实验五	茎的	形态与	初生结构	<u> </u>	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	21
	实验六	茎的	次生构	造	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	25
	实验七	叶的	形态与	结构 …	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	29
	实验八							•••••		
	实验九	种子	植物胚	的发育和	甲果实的	的类型·	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	43
	实验十							•••••		
	实验十一	- 植	物浸制	标本的制	制作与伊	禄存	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	53
	实验十二	. 藻	类植物		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	55
	实验十三	苔苔	藓植物		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	68
	实验十四	藤	类植物		•••••	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	71
	实验十五	i. 裤	子植物		•••••	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	74
	实验十六	、 被	子植物		•••••	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	78
	实验十七	1 植	物检索	表的编制	引与使用	 	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	80
第二	章 植物	J环境	生态因	子的测定	<u> </u>	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	83
	实验十八	、生	境中光	强度和 叶	十片透光	化率的测	定		•••••	84
	实验十九	」植	物群落	生态因于	Y的综合	ì测定·	•••••		•••••	86
	实验二十	- 不	同生态	类型植物	物气孔チ	F放规律	观察—	-电镜扫描法	•••••	89
	实验二十	·	植物热	值含量的	的测定	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	90
	实验二十		GPS 全	球定位系	系统 …	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	93
第三	章 植物	1代谢	生理学	实验技术	÷		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		•••••	99
	实验二十	三	植物组:	织含水量	₫测定∙•	•••••		•••••	•••••	100
	实验二十	-四						•••••		
	实验二十	五.						宦)		
	实验二十	六						•••••		

实验	2二十七	土壤和作物养分的快速测定	114
实验	八十二盆	植物叶片光合速率的测定	118
实验	2二十九	叶绿体色素的提取、分离及其理化性质的鉴定	127
实验	全三十	叶绿素含量的测定	
实验	- 1	离体叶绿体希尔反应的测定——氧电极法	132
实验	- 1	叶绿体的光合磷酸化作用	
实验	全 三十三	叶绿体偶联因子 (CF1) 提取、纯化及 A T Pase 活性测定	
			138
实验	全三十四	质膜 H ⁺ -A T Pase 活性的测定 ······	141
实验	全三十五	离体线粒体的氧化作用和磷酸化作用的测定	144
实验	全十六	植物组织中硝酸还原酶活性的测定	148
实验	至十七	植物组织中过氧化物酶活性的测定	150
实验	是三十八	低温(冻害)对植物的影响	152
实验	全三十九	植物体内脯氨酸含量的测定	153
实验	2四十	超氧化物歧化酶及其同工酶的活性测定和同工酶显示	155
实验	2四十一	用绿 T 法快速检测果蔬中的农药残留量	158
第四章	植物发育	f生物学实验技术······	
实验	2四十二	种子发芽率的快速测定	
实验	是四十三	拟南芥种子萌发的光敏色素及激素调控	
实验	是四十四	光敏色素的提取与纯化	
实验	2四十五	植物激素的提取、分离与纯化	
实验	2四十六	植物组织中乙烯含量的测定	
实验	四十七	酶联免疫法 (ELISA) 测定内源植物激素	
实验	是四十八	生长素 (IAA) 的生物鉴定——小麦芽鞘法 ······	181
实验	2四十九	赤霉素 (GA) 的生物鉴定——水稻幼苗法	183
实验	五十	细胞分裂素 (BA) 的生物鉴定——尾穗苋法	
实验	五十一	脱落酸 (ABA) 的生物鉴定——小麦芽鞘法	188
实验	五十二	吲哚乙酸氧化酶活性的测定	189
实验	五十三	赤霉素诱导大麦糊粉层细胞内 α-淀粉酶的形成	191
实验	五十四	生长素在植物插条繁殖中的应用	195
实验	五十五	植物激素在生产中的应用	197
实验	五十六	植物组织培养	
实验	五十七	植物原生质体的分离	
实验	五十八五五	植物原生质体的培养及植株再生	
实验	五十九	植物原生质体的融合技术	
实验	六十	植物培养细胞的超低温保存	209

实验六十一	植物的遗传转化	211
实验六十二	植物体内 GUS 基因的检测	213
实验六十三	植物细胞 G 蛋白的检测	215
实验六十四	真核生物钙调素的酶联免疫测定	218
实验六十五	用流式细胞仪测定细胞周期	223
实验六十六	用流式细胞仪测定细胞内蛋白质和核酸	227
实验六十七	用流式细胞仪测定细胞内游离 Ca ²⁺	229
实验六十八	激光扫描共聚焦显微镜观察一串红花粉粒	231
主要参考文献		233
附录一 常用缓冲	P液配制······	234
附录二 植物组织	只培养的常用培养基配方	237
附录三 植物细胞	2和原生质体培养常用培养基	240
	植物生理实验室常用仪器、设备、方法词汇	
附录五 《中国植	植物志》卷册索引····································	246

第一章 植物形态解剖和系统分类技术

植物种类繁多,在自然界中,已知约有30万种以上,它们的形态结构、生活习性以及对环境适应特性均表现千差万别,充分表现着植物多样性。

植物体的构造有单细胞的、群体的和多细胞的,其中由低级到高级,由简单到复杂的进化程序。

在植物界中,它们在进化的过程里由于长期对环境的适应和演变形成了种类繁多、体系复杂的不同类型。如果把现存的植物种类加以系统地比较,大致可分成两大类植物,即进化系统上比较低等的藻类植物(低等植物)和比较高等的茎叶植物(高等植物)。

在藻类植物中包括蓝藻门、裸藻门、绿藻门、金藻门、红藻门和褐藻门。其中有单细胞的,群体的,也有多细胞的和外表形成比较复杂的种类,但无茎、叶的分化,生长不经胚胎发育过程。

在茎叶植物中,包括苔藓植物、蕨类植物和种子植物。它们都是多细胞的类型,具有各种茎、叶等的器官的分化,都具有胚,尤其是种子植物细胞的分化更为复杂和趋于完善,并适于陆地生活。

本章主要内容包括学习显微镜的结构原理和操作规程,掌握显微镜的使用方法,观察了解植物组织结构与生理功能的关系,了解植物根内部结构,形态特征与机能的关系;了解植物茎的形态结构和茎顶端及芽的结构与生理功能;了解植物花的结构与功能;同时介绍了藻类植物、苔藓植物、蕨类植物、裸子植物、被子植物系统分类,以及它们的组织、器官的形态、构造和生理功能。

实验一 植物徒手切片与显微化学鉴定法

一、实验目的

- (1) 了解徒手切片的意义并初步掌握徒手切片的方法。
- (2) 了解植物细胞中主要后含物的形态及显微化学鉴定法。

二、实验用品

- (1) 材料:马铃薯块茎、菜豆及花生种子、天竺葵茎、蚕豆或甘薯。
- (2) 仪器:显微镜、染色碟、镊子、解剖刀、刀片、毛笔。
- (3) 试剂:后含物各种染色液。

三、实验步骤

(一) 徒手切片

用光学显微镜观察植物的内部构造,需先把植物组织切成透明的薄片,才能进行显微观察。直接用手和普通的刀片把新鲜的植物材料切制薄片的方法叫做徒手切片法。徒手切片法操作简单,不需复杂设备,且能随时随地地观察新鲜植物材料的生活细胞及各器官内部组织的生活状况,色彩天然,是植物教学科研中常用的方法。徒手切片的方法和步骤如下:

- (1) 预先准备好一碟水、一支毛笔和锋利的双面刀片。
- (2) 材料截取:对于大小和硬度适中的材料,可以直接用于切片。如果是粗大的材料,则应先用解剖刀把它切成体积适当的小块,对于柔软的材料,如植物的叶片或其他薄而微小的材料,则需用维持物夹住便于手持切片。常用的维持物有胡萝卜、马铃薯块茎和接骨木的髓部等。
- (3) 切法:用左手的食指、中指、拇指拿住材料,材料要稍微突出食指 1~2mm,拇指稍低于食指,以免刀片割伤手指。右手拿刀片,先把刀片蘸湿,再把刀片靠在食指上,刀口向内,均匀地由左向内拉切,切下的薄片用蘸水毛笔从刀片上刷入盛水的染色碟(或培养皿)内,以备选用(见图 1-1)。
- (4) 选片观察: 当染色碟内有一定的切片时,要进行选片,挑选 2~3 片比较理想的切片置于载玻片上,盖上盖玻片(注意切片不要相互重叠有碍观察,同时要防止产生气泡),在显微镜下进行观察。

(二)显微化学鉴定法

显微化学鉴定法即将材料经化学试剂处理后,在显微镜下检查、判定细胞壁的化学组成及细胞内含物种类和性质的方法。此法广泛地应用于教学和对植物器

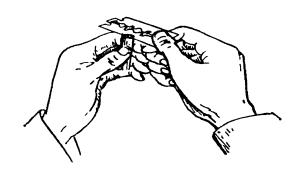


图 1-1 徒手切片手势 (引自王翠婷)

官、组织和细胞含有物的研究工作中,也应用于分辨细胞结构的观察中。下面介绍几种在植物解剖学中常用的化学鉴定法,这些方法均适用于对徒手切片法切成的薄片材料的观察。材料的厚度约在 20~40mm 较为适宜。

细胞壁化学组成显微化学鉴定法:

- (1) 纤维素化学鉴定法: 植物细胞壁的主要成分是纤维素,用镊子自洋葱鳞片叶上撕下一片表皮,立即置于载玻片上,先滴 1 滴 1% 碘液,然后再滴 1 滴 66.5% 硫酸,由于硫酸可将纤维素水解成单糖,遇碘后呈现蓝色反应。
- (2) 木质素鉴定法:某些植物的细胞壁中含有木质素,特别是木质部的导管、管胞、木质纤维等细胞木质化程度较高。鉴定木质素最常用的方法是盐酸间苯三酚反应法。

其试剂配制方法:取间苯三酚 5g,溶于 100m L95% 乙醇中,染色前先在材料上加 1 滴浓盐酸,因为间苯三酚需在酸性条件下才对木质素起反应,所以过 3~5m in 后再滴以间苯三酚。此试剂作用于木质素时呈现桃红色反应。此法并非是木质素的专一染色反应,故应用时需注意。此液配制后使用不宜超过 3 个月。

- (3) 栓质和角质鉴定法: 栓质和角质均为饱和与不饱和脂肪酸的衍生物,与苏丹Ⅲ作用呈现橘红色反应。苏丹Ⅲ溶液的配制: 取苏丹Ⅲ0.1g 溶于 10m L95% 乙醇中,然后加入 10m L 甘油。此液配制后使用不宜超过 2 个月。
- (4) 果胶质鉴定法: 果胶质在植物细胞中分布很广,细胞间层部分甚至全部由果胶质所构成。其常用的显微化学鉴定法是番红染色法: 配 0.5%~1.0% 番红水溶液,可将果胶质细胞壁染成橙黄色 (木栓质与木质素染成樱红色)。此染液的缺点是不稳定,易褪色。如将切片用凡士林或石蜡在盖玻片周围封闭,置于2% 硼酸中则能保色几个月。

(三) 植物细胞后含物的化学鉴定法

细胞在生长分化过程中,以及成熟后由于代谢活动产生的储藏物质或废物统

称为后含物。后含物有的存在于液泡中,有的存在于细胞器内。后含物中主要是储藏物质,其中以淀粉、糖、脂类和蛋白质为主。排泄物常为各种形状的晶体。

(1) 淀粉:淀粉是一种最普通的后含物,在质体中发育成淀粉粒。在植物界中淀粉是仅次于纤维素的一种丰富的碳水化合物。

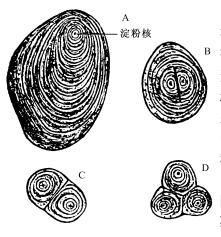


图 1-2 马铃薯的淀粉粒 A.单粒; B.半复粒; C, D. 复粒

观察淀粉粒的理想材料是马铃薯块茎。 在块茎中有大量的薄壁组织细胞,细胞中含 B 有丰富的淀粉粒。观察时只要用解剖刀在切 开的块茎表面轻轻刮一下,将附着在刀口附 近的混浊汁液放在载玻片上,加一滴水放上 盖玻片即可观察。用低倍镜观察时,在视野 中可以看到不同大小的颗粒团,选择颗粒不 稠密而且互不重叠处,用高倍物镜观察(见 图 1-2)。由于淀粉粒未经染色,需要调节光 圈大小和细聚焦器才能观察清楚。当焦距对 准,光圈大小合适时,可以看出椭圆形的淀 粉粒有明暗交替的同心圆花纹,而且围绕着 一个中心,这个中心叫做脐点。马铃薯的脐 点不在中央而是偏心的,还可见到具有两个

或两个以上脐点的淀粉粒。仔细观察时会发现这类淀粉粒有两种类型:一类是具两个或两个以上脐点的淀粉粒,在中央部分每个脐点由各自的同心圆所包围,而在外围则有共同的同心圆,这类淀粉粒称为半复粒淀粉粒;另一类是每个脐点只有各自的同心圆,而没有共同的同心圆包围,称为复粒淀粉粒。

观察后用碘-碘化钾溶液染色,淀粉遇碘呈蓝色,其同心圆结构清晰可见。碘试剂的配制:取2g碘化钾,放入5mL蒸馏水中,加热使其完全溶解,再加入1g碘,用水稀释至300mL,倒入棕色瓶中避光保存。

- (2)糖:植物细胞内含有的糖包括葡萄糖、果糖、麦芽糖和蔗糖等,各种糖均可用苯肼试剂鉴定。苯肼试剂配制:甲液:甘油 10m L,苯肼 1g;乙液:甘油 10m L,乙酸钠 1g。用时取甲、乙液各 1 滴,在载玻片上将其混合均匀,材料置于其混合液中,再将载玻片置于酒精灯火焰上微微加热,如产生黄色成束的针状结晶,即为葡萄糖和果糖;呈扇形扁针状结晶为麦芽糖;蔗糖短时间无任何反应,将载玻片置水浴展片台上 30m in 以上待蔗糖水解后,可产生葡萄糖及果糖的结晶。
- (3)蛋白质:蛋白质是构成原生质体的主要成分,也可以后含物形式储藏在细胞内。蛋白质可以无定形、结晶体或糊粉粒等不同形式存在于细胞中。这些蛋白质储存在液泡中,在储藏过程中大液泡分解为较小的液泡,当成熟时每一液泡即为蛋白质体,液泡膜为其外围的膜。在豆类种子子叶的薄壁细胞中,普遍具有

糊粉粒。这些糊粉粒以无定形蛋白质为基础,包含一个或几个拟晶体。

取一粒菜豆种子,剥去种皮,用剃刀或新的刀片,对含有丰富储藏物质的肥厚子叶做徒手切片,将切片放入盛有水的培养皿中。选取较薄的切片,在低倍物镜下可看到它们是由许多薄壁细胞组成,细胞中充满储藏物质,在细胞内部有大小不等的颗粒。在大的颗粒上可以看到与马铃薯块茎的淀粉粒相似的同心圆花纹,这些就是菜豆的淀粉粒。其中较小的颗粒看不到同心圆结构和中央裂隙的就是糊粉粒。在切片材料上滴以碘试剂后,蛋白质被染成黄色,而淀粉则成蓝紫色。另外,除蛋白质以外,有些其他物质也可以染成黄色,但是,这些物质经水洗后均可除掉。如用曙红染色(取 1g 曙红,溶于 99m L 的水中)蛋白质被染成红色。

- (4) 脂肪油滴: 做花生子叶徒手切片的临时制片。用苏丹Ⅲ染色,然后观察,可看到细胞中被染成橘黄色、圆形而透明的脂肪油滴。试剂配制方法:苏丹Ⅲ0.1g,95% 乙醇 10m L,甘油 0.1m L。
- (5) 单宁物质:某些植物细胞中含有单宁,单宁存在于细胞液中,或形成单独的液泡。可用 10% 氯化铁水溶液鉴定,材料上滴此试剂后,呈现蓝绿色。
- (6)结晶:植物细胞中的结晶,大多为草酸钙结晶,也有碳酸钙结晶(如橡胶树叶中的葡萄状结晶)。判断结晶是否为碳酸钙,可从盖玻片的一侧滴入盐酸,用滤纸在另一侧吸取液体,观察有无气泡释出、结晶是否溶解。如有即为碳酸钙结晶,若无则是草酸钙结晶。应防止盐酸蒸气腐蚀镜头。

四、作业

- (1) 绘图表示马铃薯块茎中3种类型的淀粉粒。
- (2) 绘花生子叶细胞,表示细胞内储藏物质的种类和分布,并用不同颜色铅笔表现出几种储藏物质染色后的颜色。
 - (3) 绘菜豆种子子叶细胞中的后含物,表示淀粉粒和糊粉粒的结构。

(李雪松 张丽娟)

实验二 植物组织

一、实验目的

掌握植物体各种组织的类型及分布部位。了解各种植物组织的细胞形态结构 特征与其生理功能的适应性。

二、实验用品

- (1) 材料:蚕豆植株、胜白蓟、甘薯茎、椴树茎制片、美人蕉、梨果、天竺葵茎、南瓜茎、巴西橡胶乳管标本片、棉花叶制片、小麦幼苗、玉米根尖纵切制片。
 - (2) 仪器:显微镜、镊子、刀片、染色碟、毛笔、载玻片、盖玻片。
 - (3) 试剂:番红溶液、苏丹Ⅲ、酸解液、碘-碘化钾液。

三、实验步骤

(一) 分生组织

- (1) 顶端分生组织:常位于根、茎的顶端。取玉米根尖纵切制片观察(详见实验四根的形态结构)。
- (2) 侧生分生组织:观察椴树茎横切制片,在次生韧皮部和次生木质部之间的几层扁长方形细胞就是茎的(围管)形成层细胞。形成层细胞排列成一圈,位于植物体的外侧,因此称为侧生分生组织。

(二) 保护组织

- (1) 初生保护结构——表皮:撕取蚕豆叶片下表皮,做临时制片(为了便于观察,可用碘-碘化钾液染色)。在显微镜下观察,表皮细胞为不规则形状,排列紧密,没有细胞间隙;细胞内无叶绿体存在,细胞核位于细胞的边缘,细胞的中央常为中央大液泡占据。在表皮细胞之间还分布着许多气孔器。蚕豆的气孔器由一对肾形的保卫细胞和保卫细胞之间围成的气孔构成,其中保卫细胞中含有大量的叶绿体,靠近气孔处的细胞壁较厚。
- (2)次生保护结构——周皮:观察椴树茎横切制片。在外方有几层被染成褐色的细胞,细胞排列紧密,细胞壁明显增厚,无胞间隙,这几层细胞就是木栓层。木栓层具有不透气、不透水的特性,具有很好的保护作用。在木栓层内侧的蓝绿色扁长方形细胞为木栓形成层(也是侧生分生组织),在木栓形成层内侧较大的薄壁细胞是栓内层。木栓层、木栓形成层及栓内层共同构成的结构就叫周皮。

(三) 营养组织

营养组织又称基本组织、薄壁组织,在植物体内分布最广。营养组织细胞具有以下特点:细胞体积大、细胞壁薄、有较大的胞间隙、细胞内常有大液泡。根据营养组织行使功能的不同营养组织又可划分为:

- (1) 通气组织:在植物体内有些形状不规则的薄壁细胞相互之间构成特别大的细胞间隙或空腔,这些薄壁组织就是通气组织。取美人蕉叶柄进行徒手切片观察,可以看到细胞形状是不规则的,或为多突起放射状,各细胞的突起互相连接,构成许多细胞间隙。
- (2) 同化组织:该组织的最大特点是细胞内有叶绿体,所以叶片中的叶肉细胞就是典型的同化组织。观察棉花叶横切制片,在叶片的上下表皮之间的部分就是含丰富叶绿体的叶肉细胞——同化组织。
- (3)储藏组织:植物的根、茎、种子,特别是在主要起储藏作用的块茎、块根中都具有大量的储藏组织,它们的主要功能就是储藏养分。其特点是细胞大、壁薄、具有细胞间隙,常能见到细胞内的储藏物质,如淀粉粒、油滴、糊粉粒等。胜白蓟茎的髓部就是储藏组织。取胜白蓟茎进行徒手切片观察。
- (4) 吸收组织:这个组织的特点是细胞排列紧密,细胞内具大液泡,有的细胞向外突起形成根毛。根毛和根被就是典型的吸收组织。取新鲜的小麦根尖压片,根尖上有根毛大量着生的区域称为"根毛区"。注意观察有的表皮细胞向外突起形成管状结构——根毛。

(四) 机械组织

1. 厚角组织

取新鲜甘薯茎进行徒手切片,用番红染色观察,在表皮的内侧,有成堆的多角形或近圆形的细胞,细胞与细胞的角隅处特别加厚,这些细胞称为厚角组织(见图 1-3)。

2. 厚壁组织

- (1) 纤维细胞:用离解液 (10% 硝酸,10% 酪酸等量混合)离解甘薯茎,取 离解后的材料少许加番红染色,装片观察纤维细胞。纤维细胞细长、两端尖、壁 厚、细胞腔小,在横切面上呈多角形(见图 1-4)。
- (2) 石细胞:用镊子镊取梨果肉中的硬粒置于载玻片中央,用镊子的后部把它压碎,加上一滴蒸馏水,用一滴番红染色,盖上盖玻片,在显微镜下可见被染成红色的成堆的石细胞。细胞壁很厚,细胞腔小,而细胞腔有许多分叉的孔道穿过细胞壁与外面相通,这些分叉的孔道部分是次生壁没有加厚的部位,即纹孔。

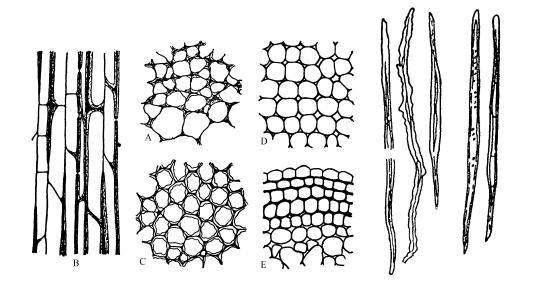


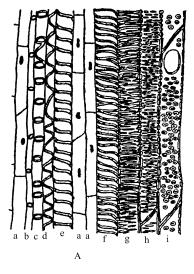
图 1-3 厚角组织

图 1-4 纤维

A, B. 马铃薯的横切面和纵切面; C, D, E. 苘麻茎、马利筋茎 和细辛叶柄的横切面

(五) 输导组织

(1) 导管:取南瓜茎纵切标本片观察。导管是植物体内输送水分的主要通



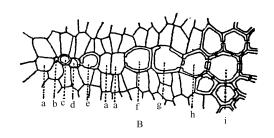


图 1-5 导管的主要类型 A.纵切面; B.横切面

a. 木薄壁细胞 b, c. 环纹导管 d, e, f. 螺纹导管 g. 梯纹导管 h. 梯纹—网纹导管 i. 孔纹导管

道,分布在木质部内,是由许多长形管状、失去横壁、上下连接的细胞构成的。 注意观察导管分子侧壁上纹孔类型及横壁上的穿孔(见图 1-5)。

(2) 筛管和伴胞:取南瓜茎横切面标本片观察。筛管是由一些上下两端相连接而成的管状细胞所组成,是一种细胞核已消失的活细胞。相连接的横壁,称为筛板,在筛板上常有许多小孔,称为筛孔。在筛管旁边有一些两端尖细长的细胞,叫伴胞,在横切面上直径小而形状不规则(见图 1-6)。筛管和伴胞存在于韧皮部之中,是担负输送有机物质的输导组织。注意南瓜茎属双韧维管束,维管束的内外两侧均有韧皮部。

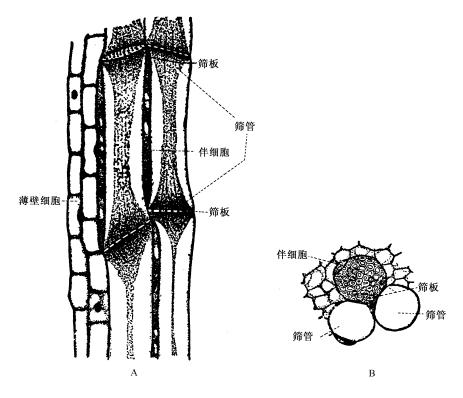


图 1-6 南瓜茎中的筛管和伴胞 A.纵切面; B.横切面

(六) 分泌组织

有些植物会分泌一些如乳汁、树脂、蜜、香精油等产物。甘薯茎碰伤后流出 白色的乳汁就是从分泌组织乳管中流出来的。取甘薯茎横切面标本片可看到乳管 细胞分布在皮层内,细胞呈多角形,比皮层其他薄壁细胞大(见图 1-7)。

(1) 外部分泌结构:①蜜腺,是最普通的外部分泌结构,它们分布在虫媒花植物的花或叶上。取一品红蜜腺纵切面标本片,可以看到许多蜜腺细胞。②盐腺,

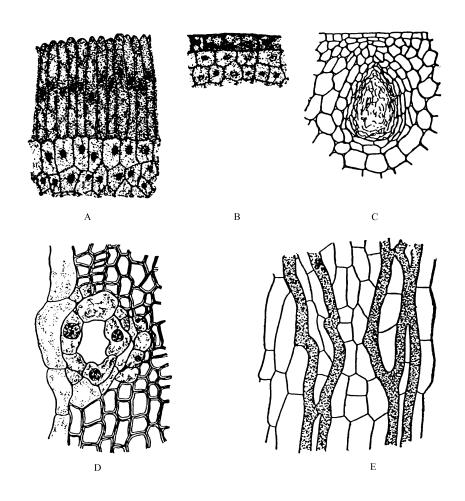


图 1-7 分泌组织 A. 一品红蜜腺表皮的一部分; B. 苹果花部蜜腺表层切面; C. 橘果皮溶生油囊; D. 松树脂道的横切面; E. 乳管

是一些耐盐植物的特有结构。观察桐花树叶片横切标本片可以看到上、下表皮被染成很红的部位,就是盐腺所在位置,可看到盐腺由 $2\sim16$ 个分泌细胞组成。

(2) 内部分泌结构:观察巴西橡胶茎乳管的玻片标本,可以看到网状结构的有节乳管。

四。作业

- (1) 绘出蚕豆叶的表皮细胞图。
- (2) 绘出储藏组织图。
- (3) 绘出厚角组织、石细胞图。

- (4) 绘出一个导管分子。
- (5) 绘出筛板和伴胞。
- (6) 绘出三叶橡胶有节乳管的一部分。

(李雪松)

实验三 植物染色体 G 带制片技术

染色体 G 带是沿染色体纵轴上显示出来的常染色质带。它是染色粒在染色体组装过程中浓缩度差别的体现,是染色体原有的内在结构。自 1982 年以来,植物染色体 G 带研究取得了长足的进展,它在种间鉴定、染色体或染色体亚单位水平的识别,以及基因定位的研究方面有着广阔的应用前景。

一、实验目的

要求掌握植物染色体G带制片的操作规程和技术。

二、实验用品

- (1) 材料: 白菜种子。
- (2) 仪器:培养皿、镊子、滤纸、试剂瓶、量筒、滴管、酒精灯、磨口瓶、烧杯、青霉素瓶、染色缸、载玻片、载玻片架、载片盒、温度计、水浴锅、温箱、烘箱、天平、刀片、容量瓶。
- (3) 试剂: ①α-溴代萘; ②甲醇 (AR 级以上); ③冰醋酸 (AR 级以上); ④G iem sa 母液: 0.5g G iem sa 粉加 33m L 优质丙三醇,于研钵中充分研磨 1h,然后在 56℃温箱中保温 2h,再加入 33m L 甲醇,混匀装入试剂瓶内保存备用,储存时间越长越好;⑤磷酸缓冲溶液(A 液: 0.06m ol/L KH_2PO_4 溶液,B 液: 0.06m ol/L N æ HPO_4 溶液); ⑥G iem sa 染色液(必须临用前配制): 100m L 磷酸缓冲液加 $3\sim5m$ L G iem sa 母液;⑦1% 酶液:称取纤维素酶、果胶酶各 0.2g,加入 20m L 蒸馏水溶解,冰箱内冰冻保存;⑧2×SSC 盐溶液(0.3m ol/L N aC 1+0.03m ol/L 柠檬酸钠):称取分析纯的 N aC 117.53g,分析纯的柠檬酸钠 8.82g,溶于 1000m L 的蒸馏水中。

三、实验步骤

- (1) 材料培养: 种子浸泡约 2h, 排列在铺有滤纸的培养皿内,25℃温箱培养, 待根长至 $2\sim3mm$ 时,取根尖进行预处理。
- (2) 预处理:在有丝分裂高峰前进行预处理,不同材料所用药物、剂量、时间不同。切取的新鲜材料立即放入青霉素小瓶内,滴加预处理药液。白菜在上午8:30 左右取材为官,预处理时间 1h 左右。
- (3) 前低渗:用刻度滴管吸去预处理药液,直接换入 0.075 m ol/L KC1 重蒸水低渗液,室温下处理 30 m in。
 - (4) 固定:用甲醇:冰醋酸 (3:1) 的固定液固定 0.5~2h。
 - (5) 水洗: 用蒸馏水换洗 30m in。

- (6) 酶解去壁:加入 1% 纤维素酶与果胶酶混合酶液,在 25℃左右条件酶解,酶解去壁的时间因材料不同而异。白菜根尖的酶解时间为 90m in 左右。
- (7) 后低渗:在酶解材料瓶中慢慢加入 25~30℃重蒸水轻轻冲洗 2~3 次,根据酶解消化的程度,在重蒸水中停留 10~30m in。
 - (8) 再固定:将后低渗的材料,用甲醇:冰醋酸 (3:1) 固定 30m in 以上。
- (9)涂片:将材料置于清洁的载玻片上,加一滴固定液,然后用镊子将材料捣碎,并去掉大块组织,在涂好的片子滴一滴固定液,将载玻片在酒精灯火上微微烤干。每次涂片至少5~10片。
- (10) 2×SSC 处理: 染色缸盛 2×SSC 溶液,将制好的片子置于其中 15~30m in。
- (11) 处理好的片子用 40 磷酸缓冲溶液(A 液 14mL+B 液 26mL):G iem sa 染色液(40:1)染色 $20\sim30m$ in,染色后立即用自来水冲洗。
 - (12) 观察结果,染色好的片子置于显微镜下。

四、注意事项

- (1)作为染色体研究材料,取材部位必须准确。取细胞组织正处于生长分裂的旺盛部位为材料,必须少而精,切忌多而杂,同时材料要新鲜,要尽可能保持其生活状态。
- (2) 酶解去壁是本实验的关键所在。酶解温度应控制在 25℃左右,27℃以上酶的活性明显降低。所需酶解时间与酶液的浓度、材料以及酶液的比例、酶解的温度有关。一般将酶液的浓度用量、酶解的温度等条件基本稳定不变,用改变酶解时间来控制不同植物材料的合适酶解时间。酶解时间过长或过短,都会造成试验失败。
- (3) 后低渗的目的在于使细胞吸收水分而膨胀,染色体随之分散到细胞质中,在制片时便于染色体分散开,这是一个关键步骤。后低渗处理过度,造成材料解体,制片后则不见完整细胞染色体。后低渗不足,染色体分散不好,互相重叠。一般酶解不足的材料可适当延长后低渗的时间;反之,酶解过度的材料要缩短后低渗的时间。

五、作业

- (1) 每人缴制作好的两片玻片标本。
- (2) 分析植物染色体 G 带制片成败的原因。

(陈林姣)

实验四 根的形态与构造

一、实验目的

- (1) 了解不同类群植物根系的基本形态和结构特点。
- (2) 掌握根尖的外形及内部构造。
- (3) 掌握根的初生构造。
- (4) 掌握双子叶植物根的次生构造。
- (5) 了解侧根的起源和形成。

二、实验用品

- (1) 材料:蚕豆幼苗、大麦幼苗、玉米种子、蚕豆幼根横切制片、玉米根尖 纵切制片、玉米根横切制片、棉花老根横切制片。
- (2) 仪器:显微镜、解剖针、镊子、刀片、载玻片、培养皿、盖玻片、擦镜纸、酒精灯等。

三、实验步骤

(一) 根系的类型

- (1) 直根系:蚕豆幼苗有一条自胚根发育而来的明显的主根,其上有多条逐级分枝的侧根。
- (2)须根系:小麦幼苗没有明显的主根,主要由粗细相差不多的不定根组成。不定根上也有逐级分枝的侧根。

(二) 根尖的外形及内部构造

1. 根尖的外形

- (1) 材料的培养:取玉米种子置于垫付潮湿滤纸的培养皿内并加盖(以保持一定的湿度),放入恒温培养箱中进行人工培养,温度以 $15\sim25$ $^{\circ}$ 为宜,时间为 $5\sim7d$,根长到 $2\sim3$ cm 待用。
- (2) 根尖的外形观察:选取生长良好的幼根,截取前端 1cm 于载玻片上,用肉眼或放大镜观察。根的最先端略为透明的部分为根冠,呈帽状,罩在略带黄色的分生区外,分生区上方洁白而光滑的部分为伸长区,密布白色绒毛即根毛区。

2. 根尖的内部构造

取大麦根尖纵切制片,置显微镜下观察(见图 1-8)。

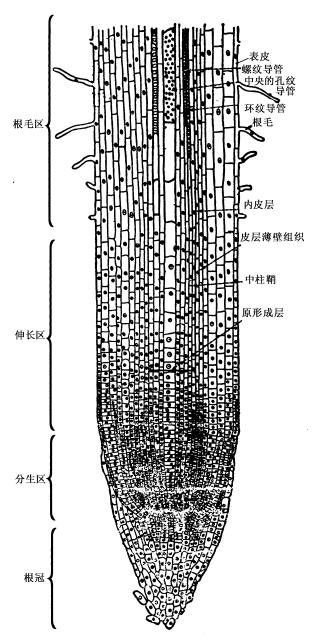


图 1-8 大麦根尖的纵切面

- (1) 根冠:根的最先端呈帽状包被在分生区外,由多层不规则状的薄壁细胞组成,近生长点的细胞小而质浓,是特殊的分生组织。
- (2) 分生区:根冠之内,长 $1^{\sim}2mm$,为排列紧密而小的多面体细胞,壁薄、质浓、核大,具有强烈的分生能力,为顶端分生组织。
- (3) 伸长区: 位于分生区与根毛之间,长 2~5mm,细胞沿根的长轴方向伸长,液泡明显。
 - (4) 根毛区、细胞分化成熟、并形成初生组织、表面密生根毛。
 - 3. 根的初生构造
- (1) 双子叶植物根的初生构造(见图 1-9): 取蚕豆幼根或毛茛幼根的横切制片观察。在低倍镜下区分表皮、皮层和维管柱 3 部分,再转高倍镜从外向内仔细观察。

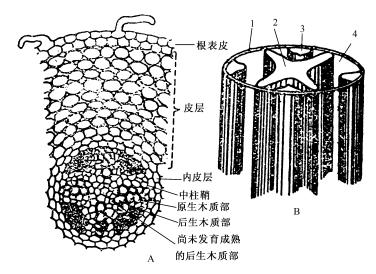


图 1-9 双子叶植物根的初生构造 A. 幼根的初生构造(模式图); B. 根的中柱初生构造的立体图解 1. 中柱鞘; 2. 初生木质部; 3. 初生韧皮部; 4. 薄壁组织

- 1) 表皮:最外层细胞,排列整齐紧密无间隙,外壁突出形成根毛,无角质层。
- 2)皮层:占根较大部分,被固绿染成绿色。多层薄壁细胞,常分外、中、内皮层3部分。

外皮层:单层薄壁细胞,排列较整齐紧密,无间隙。

中皮层: 多层薄壁细胞, 排列疏松, 有间隙。

内皮层: 单层薄壁细胞,排列整齐紧密,无间隙,其凯氏带为全部的木质化

增厚,被染成红色。少数未增厚的细胞称通道细胞(见图 1-10)。

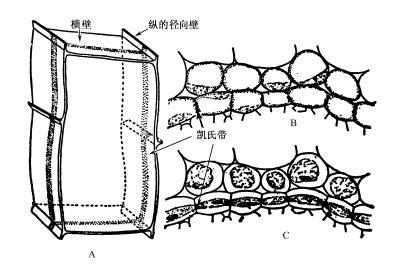


图 1-10 内皮层细胞的结构 A. 整个细胞,示凯氏带的位置; B, C. 分别在乙醇处理之前和之后的横切面

3)维管柱:占根较小部分,细胞小而密集。包括中柱鞘、初生木质部和初生韧皮部3部分。

中柱鞘:1~2层薄壁细胞,排列整齐紧密无间隙(具潜在分裂能力)。

初生木质部:根的最内方(中心)。初生木质部4束呈星角状,主要由导管组成,导管常染成红色。近中柱鞘的细胞分化较早,导管直径较小,为原生木质部,靠近轴心的初生木质部细胞分化较晚,导管直径较大,为后生木质部。初生木质部的这种发育方式称为外始式。

初生韧皮部:位于初生木质部星角间,与初生木质部相间排列组成辐射维管束。

- (2) 单子叶植物根的初生构造(一般只有初生构造): 取玉米根的横切制片观察。从外向内可分为表皮、皮层和维管柱3部分(见图 1-11)。注意与双子叶植物根的初生构造相比较。
- 1) 表皮:或根被;表皮分裂为数层细胞,壁木质化或木栓化增厚而起保护作用。
- 2) 皮层: 位于表皮之内,所占比例较大,可分为外皮层、皮层薄壁细胞、内皮层。内皮层是皮层最内的一层细胞。细胞排列整齐,细胞的径向壁与上下横壁上有一条木栓质的带状加厚部分,称凯氏带。
 - 3)维管柱:维管束多元型,中央是薄壁细胞组成的髓部,是单子叶植物根

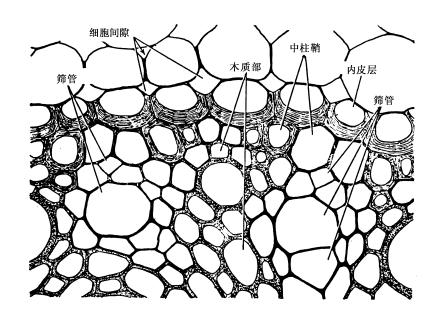


图 1-11 玉米根的部分横切面

的初生构造的典型特征之一。

- (3) 双子叶植物根的次生构造,取棉花老根的横切制片从外向内依次为(见图 1-12).
 - 1) 周皮:最外方的数层细胞,由木栓层、木栓形成层和栓内层组成。

木栓层: 多层扁长形细胞, 径向壁排列整齐, 细胞壁木栓化, 没有核的死细胞。

木栓形成层:一层扁长方形的薄壁细胞,内有原生质体,也能见到细胞核。 栓内层(次生皮层):2~3层较大的薄壁细胞。

2) 次生维管组织:无限外韧维管束环列,维管束间有射线隔开。

韧皮部:初生韧皮部在外侧,已被挤坏,常分辨不清称颓废组织;次生韧皮部包括筛管、伴胞和韧皮薄壁细胞,其中夹有少量略呈红色的韧皮纤维;许多韧皮薄壁细胞在径向排列成行,呈放射状的倒三角形,是韧皮射线。

形成层:为几层扁长方形的薄壁细胞,被染成浅绿色为形成层区。

木质部:次生木质部占主要部分,包括导管、管胞、木纤维和木薄壁细胞;初生木质部位于根的中央,呈星芒状;此外有许多薄壁细胞呈径向排列,称木射线,与韧皮射线相连合称为维管射线。

(4) 侧根的形成:观察蚕豆植株的直根系,主根上所生长的侧根排列成4纵行,这些侧根发生的位置是对着初生木质部的,初生木质部为4原型,故侧根有4纵行。

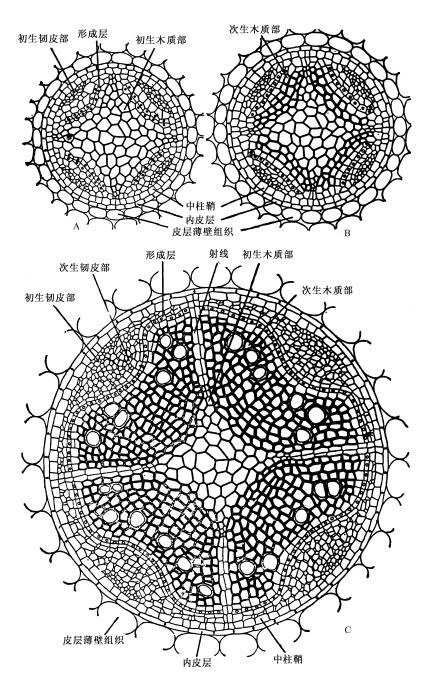


图 1-12 双子叶植物根的横切面示次生生长 A. 形成层正在开始活动; B. 形成层开始产生次生木质部和次生韧皮部; C. 形成层形成一个连续的环,并产生大量的次生组织

取蚕豆根具有侧根的横切制片观察:看到侧根正对着初生木质部的中柱鞘细胞,因此,侧根为内起源。

四、作业

- (1) 简述根尖各区的细胞特点;每区选3~5个典型细胞,绘图表示。
- (2) 绘部分详图表示根的初生构造。
- (3) 绘简图表示双子叶植物根的次生构造。
- (4) 绘图表示蚕豆侧根发生的位置。

(李雪松 卢 伟)

实验五 茎的形态与初生结构

一、实验目的

- (1) 掌握枝与芽的形态特征和类型。
- (2) 掌握茎尖的外形及内部构造。
- (3) 掌握双子叶植物和单子叶植物茎的初生结构。

二、实验用品

- (1) 材料, 梨、桑的三年生枝条; 玉米等茎尖的纵切制片; 向日葵、蚕豆幼 茎的横切制片; 玉米茎的横切制片; 小麦茎的横切制片。
- (2) 仪器,显微镜、体视显微镜、解剖针、镊子、刀片、载玻片、盖玻片、 培养皿、擦镜纸、酒精灯等。
 - (3) 试剂,蒸馏水、浓盐酸、水合氯醛、间苯三酚试液。

三、实验步骤

(一) 枝与芽的形态特征和类型

1. 枝的基本形态

取三年生梨 (或桑) 的枝条, 区分顶芽、侧芽、节、 节间、叶痕、叶迹、皮孔及芽鳞痕,并将相应的名称填 在图 1-13 上。

2. 芽的类型

按芽着生的位置不同芽可分为顶芽、腋芽、不定 芽。着生在枝条顶端的芽是顶芽,每一枝条的顶端都有 顶芽。着生在叶腋处的芽是腋芽,一般每一叶腋只生一 个芽,也有的植物可生几个芽。生于其他部位的芽是不 定芽。

按芽的性质不同芽可分为叶芽、花芽和混合芽。开 放以后生成花或花序的芽是花芽, 而开放后既生枝叶又 生花的芽是混合芽。

取梨枝上两种外观不同的芽,首先观察它们的外部 形态有什么区别;然后,在解剖镜下解剖观察,它们各 1. 顶芽, 2. 皮孔, 3. 腋芽, 是什么性质的芽。

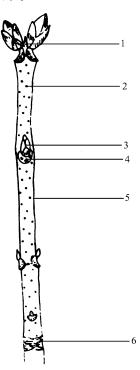


图 1-13 丁香枝 4. 叶痕; 5. 节间; 6. 芽鳞痕

3. 茎尖的外形及内部构造

取丁香茎尖的纵切制片,置显微镜下观察。与根尖相似,可分为分生区、伸 长区和成熟区,但无根冠(见图1-14)。

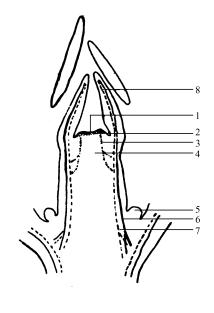


图 1-14 丁香茎尖

- 1. 原分生组织; 2. 叶原基; 3. 原形成层; 1-15)。
- 生韧皮部:7.初生木质部:8.幼叶

- (1) 分生区,最顶端部分是原分生组织, 下为其分裂形成的初生分生组织即原表皮、基 本分生组织和原形成层。与根尖分生区不同是 周围有叶原基和腋芽原基的突起。
- (2) 伸长区: 这部分细胞迅速生长长大, 产生液泡。
- (3) 成熟区、伸长区的细胞分化形成茎的 初生构造。

4. 双子叶植物茎的初生结构

取向日葵或蚕豆幼茎(成熟区)的横切制 片(或进行徒手横切,以水合氯醛液透化后, 滴加间苯三酚和浓盐酸制片), 先肉眼观察从 外至内大体可分为表皮、皮层和维管柱 3 部 分,维管束呈环列,束间有髓射线,中央有宽 大的髓。置显微镜下再进行详细观察(见图

- 4. 基本分生组织; 5. 腋芽 (原基); 6. 初 (1) 表皮, 由原表皮的细胞分裂和分化形 成的最外层细胞,排列整齐紧密无间隙,外壁 角质化并形成角质层,还可见毛茸和气孔。
- (2) 皮层, 由基本分生组织分裂和分化形成的数层薄壁细胞, 其中有小型的 分泌腔;靠近表皮的几层常为厚角组织;皮层最内一层细胞常储有淀粉粒,这种 淀粉粒称淀粉鞘。
 - (3) 维管柱: 较发达, 所占的比例大; 可分维管束、髓射线和髓 3 部分。
- 1)维管束,呈束状,环列。由原形成层分裂和分化形成,包括初生韧皮部、 東中形成层和初生木质部。初生韧皮部的外方为韧皮纤维,内方为筛管、伴胞和 韧皮薄壁细胞。束中形成层夹在木质部和韧皮部间,呈扁平状、壁薄、染色浅。 初生木质部由导管、管胞、木纤维和木韧皮薄壁细胞组成,其中最明显的是导 管,导管常径向成串排列。原生木质部在内,木薄壁组织较发达:后生木质部在 外,木纤维较发达。初生木质部的这种发育成熟方式称为内始式。
 - 2) 髓射线:位于两个维管束之间的薄壁细胞。
 - 3)髓,位于茎中央的薄壁细胞,排列疏松有间隙。

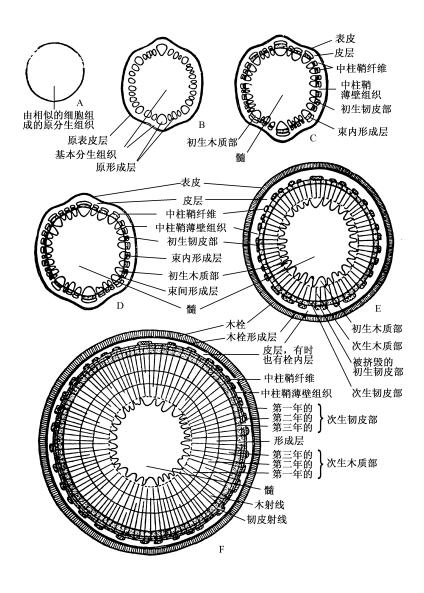


图 1-15 双子叶植物茎的横切面图解,示初生生长和次生生长 $A \sim F$. 茎连续发育的阶段

5. 单子叶植物茎的初生结构

取玉米茎的横切制片,先肉眼观察从外至内大体可分为表皮、基本薄壁组织和维管束3部分,维管束呈散列,无髓射线和髓之分。置显微镜下再进行详细观察。