

用高倍显微镜观察叶绿体和线粒体实验的探索与改进

王桔红¹, 张燕芳¹, 林晓娃²

(1. 韩山师范学院 食品工程与生物科技学院, 广东 潮州 521041; 2. 澄海中学, 广东 汕头 515800)

摘要: 为了让学生更清晰地观察到细胞中叶绿体和线粒体的形态和分布, 研究选取了葫芦藓 (*Funaria hygrometrica*) 以及8种野生植物和10种蔬菜作为实验材料, 对“观察叶绿体”实验材料和取材方法进行了探索和改进; 同时, 从选材、染液浓度和染色方法等方面对“观察线粒体”实验进行了探索, 并提出相关建议. 结果表明: 除葫芦藓外, 观察叶肉细胞叶绿体的最佳材料为野菊 (*Dendranthema indicum*)、小飞蓬 (*Conyza canadensis*)、春菜 (*Lactuca sativa*)、油麦菜 (*Lactuca sp.*)、鱼腥草 (*Houttuynia cordata*) 等植物; 观察保卫细胞中叶绿体的最佳材料是长寿花 (*Kalanchoe blossfeldiana*)、春菜、小飞蓬、油麦菜、白菜 (*Brassica pekinensis*) 以及鱼腥草, 叶绿体较大且清晰; 用质量分数为0.6%的健那绿染液染色, 采用引流法, 观察口腔上皮细胞以及葱、洋葱表皮细胞线粒体效果更佳.

关键词: 显微镜; 叶绿体; 线粒体; 保卫细胞; 叶肉细胞

中图分类号: G 633.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6883 (2020) 03-0046-07

人教版生物学高中必修一《分子与细胞》的第3章第2节“用高倍显微镜观察叶绿体和线粒体”是一个观察验证性实验^[1], 目的是让学生认识叶绿体和线粒体的形态和分布, 增加感性认识, 同时学习在光学显微镜下观察叶绿体和线粒体的方法和技巧. 教材中提供观察叶绿体的材料是藓类、菠菜和黑藻. 然而, 受到地域和季节的限制^[2], 部分地区很难找到新鲜藓类和黑藻^[3], 实验材料的不足或缺失制约了实验的正常开展以及实验效果的达成. 观察线粒体实验中, 有较多的干扰因素, 如用消毒牙签刮取口腔黏膜时易掺杂其他物质; 健那绿溶解度低, 不易溶解或易形成染液颗粒; 健那绿染液浓度过高, 细胞会失去活性等. 因此, 取材技巧、染液配制方法及染液浓度是影响观察线粒体实验效果的重要因素^[4].

为了更清晰地观察到叶绿体和线粒体的形态和分布, 本研究除了葫芦藓 (*Funaria hygrometrica*) 外, 选取了8种野生植物和10种蔬菜作为实验材料, 对“观察叶绿体”的实验材料和取材方法进行了探索, 以找到更合适的替代材料; 同时探索了观察口腔上皮细胞线粒体的染液浓度和染色方法, 尝试用植物细胞观察线粒体, 并提出相关建议.

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验选取观察叶绿体实验的植物包括葫芦藓、8种野生植物和10种常见市售蔬菜 (表1). 8种

收稿日期: 2019-05-18

基金项目: 韩山师范学院基础教育研究重大项目 (项目编号: ZD201805); 广东省高等教育“冲补强”专项资金基础教育平台建设项目 (项目编号: Z18040).

作者简介: 王桔红 (1963-), 女, 河北无极人, 韩山师范学院食品工程与生物科技学院教授.

野生植物包括野菊 (*Dendranthema indicum*)、小飞蓬 (*Conyza canadensis*)、黄鹌菜 (*Youngia Japonica*)、鬼针草 (*Bidens pilosa*)、鱼腥草 (*Houttuynia cordata*)、车前 (*Plantago asiatica*)、苏丹凤仙花 (*Impatiens walleriana*)、长寿花 (*Kalanchoe blossfeldiana*)；10种蔬菜包括油麦菜 (*Lactuca sp.*)、春菜 (*Lactuca sp.*)、上海青 (*Brassica chinensis*)、菜心 (*B. campestris*)、白菜 (*B. pekinensis*)、空心菜 (*Ipomoea aquatic*)、葱 (*Allium fistulosum*)、蒜苗 (*A. sativum*)、韭菜 (*A. tuberosum*)、菠菜 (*Spinacia oleracea*)。选取白菜^[4]、葱^[5-6]、蒜苗、洋葱^[6]、酵母菌 (Yeast)^[1]以及口腔上皮细胞作为线粒体的显微观察材料。

1.2 实验方法

葫芦藓的叶片是单层细胞，取一片叶即可直接观察到清晰的叶绿体。其他植物材料则需挑选绿色叶片、洗净，将叶片置于清水中，防止叶片萎蔫而导致下表皮与叶肉结合过多，有利于观察；沿与叶脉垂直方向撕取（即横向撕取）植物叶片下表皮，获得下表皮以及部分叶肉细胞；将撕下的下表皮置于带有1~2滴清水的载玻片上，用镊子倾斜轻轻按压表皮排出部分气泡，再盖上盖玻片，静置3~5分钟（以减少气泡），置于光学显微镜下由低倍至高倍逐渐观察。

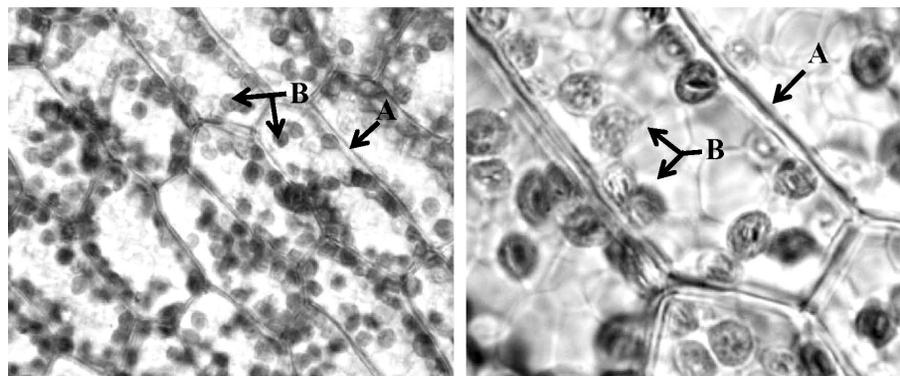
在观察线粒体实验时，选择质量分数为1%和0.6%健那绿染液分别进行实验和效果比较；配制健那绿染液时，加温到30~40℃，使其充分溶解；采用引流法进行染色^[7]，置于光学显微镜下由低倍至高倍逐渐观察。

2 结果与分析

2.1 叶绿体的观察结果

(1) 从撕取植物下表皮难易程度看，十字花科的菜心和上海青最容易撕取稍有叶肉细胞的表皮，其次是长寿花、苏丹凤仙花、野菊、小飞蓬、黄鹌菜、鬼针草、春菜、油麦菜以及鱼腥草。

(2) 从叶肉细胞叶绿体清晰度看，用成熟的葫芦藓作为实验材料，没有气孔、干扰少、叶绿体大而清晰，观察效果最佳（图1）。其他植物观察效果依次是：野菊>鱼腥草>小飞蓬>油麦菜>春菜>



10×40

10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体

图1 葫芦藓叶显微照片

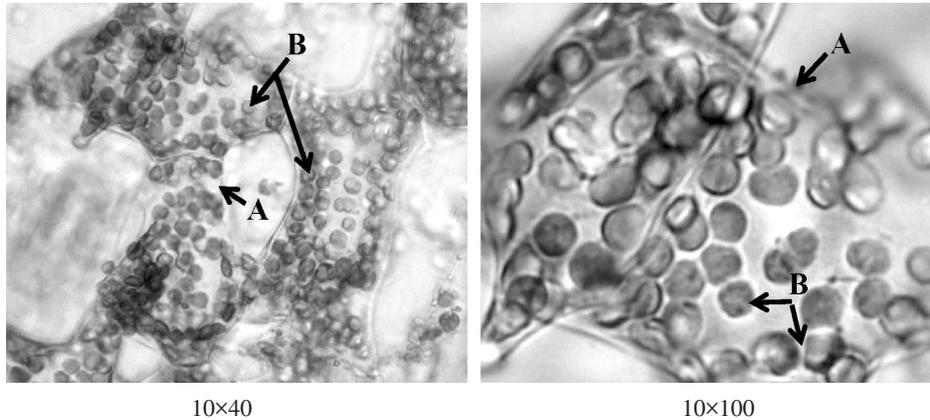
表1 观察叶绿体的植物

科	物种
苔藓植物 (Bryophyta)	葫芦藓
菊科 (Asteraceae)	野菊、小飞蓬、黄鹌菜、鬼针草、春菜、油麦菜
十字花科 (Brassicaceae)	上海青、菜心、白菜
百合科 (Liliaceae)	葱、蒜苗、韭菜
三白草科 (Saururaceae)	鱼腥草
藜科 (Chenopodiaceae)	菠菜
车前科 (Plantaginaceae)	车前
旋花科 (Convolvulaceae)	空心菜 (雍菜)
凤仙花科 (Balsaminaceae)	苏丹凤仙花
景天科 (Crassulaceae)	长寿花 (圣诞伽蓝菜)

黄鹤菜 > 鬼针草 > 上海青、菜心、白菜 > 葱、洋葱、蒜苗、韭菜 > 空心菜 > 菠菜 > 车前草 > 长寿花 > 苏丹凤仙花 (图2~8).

(3) 从保卫细胞叶绿体的清晰度看, 长寿花、春菜、小飞蓬、油麦菜、白菜以及鱼腥草的保卫细胞里可清晰观察到较大的叶绿体 (图9~14), 韭菜、苏丹凤仙花、鬼针草、上海青的保卫细胞里的叶绿体相对较小. 值得一提的是, 油麦菜的表皮细胞也可观察到叶绿体 (图4), 韭菜、长寿花、春菜、小飞蓬的表皮细胞和保卫细胞均可观察到清晰的叶绿体.

(4) 在白菜、鱼腥草的表皮细胞以及空心菜的叶肉细胞中观察到了细胞质流动.

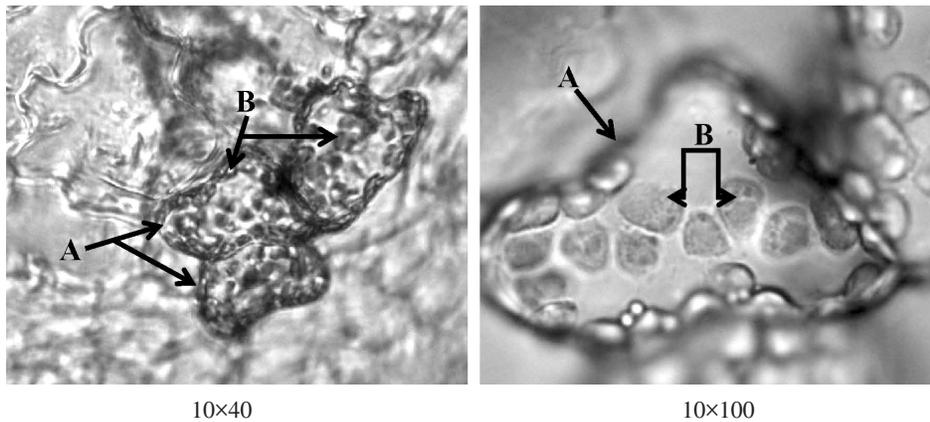


10×40

10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体

图2 野菊叶片下表皮及叶肉细胞

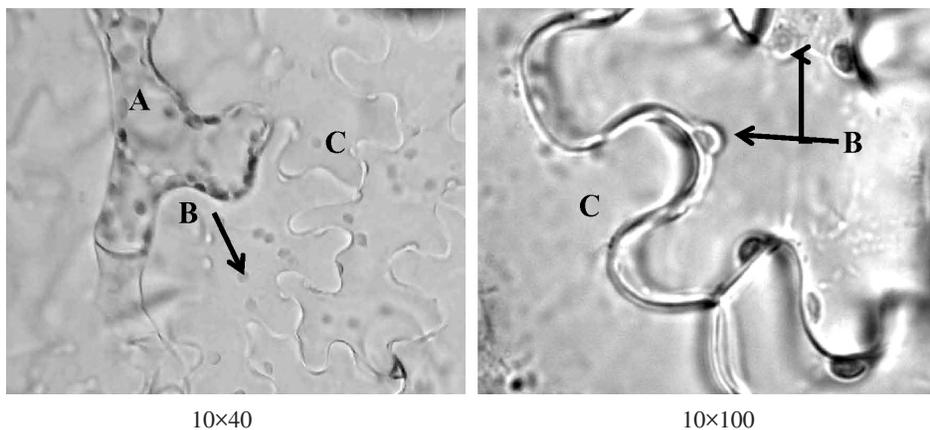


10×40

10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体

图3 小飞蓬叶下表皮及叶肉细胞

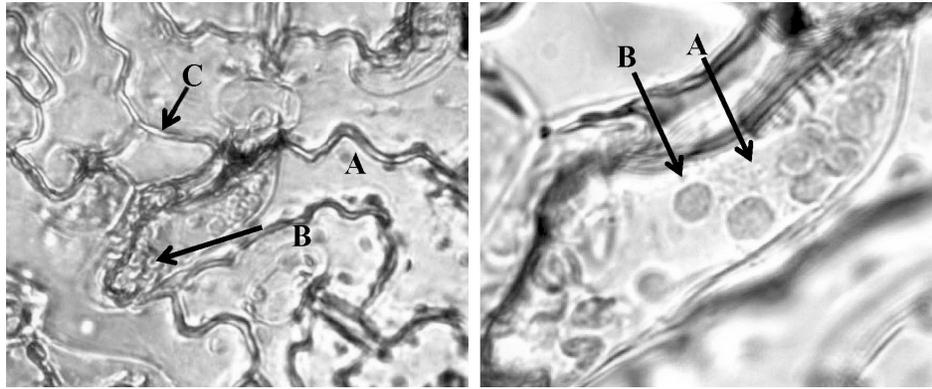


10×40

10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体, C-表皮细胞

图4 油麦菜叶下表皮及叶肉细胞

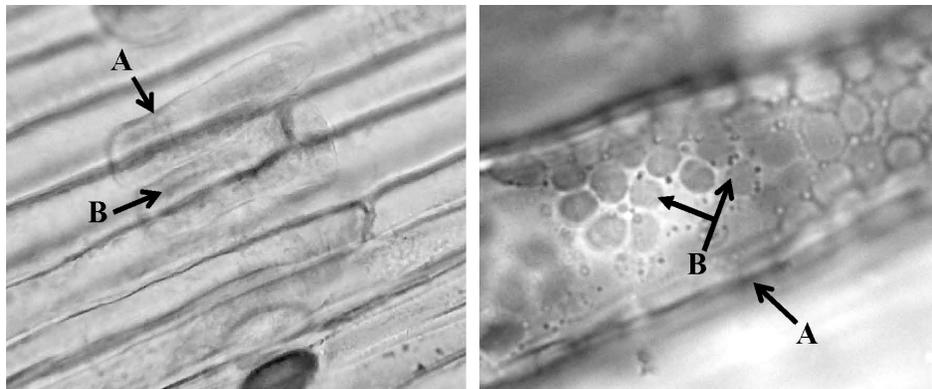


10×40

10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体, C-表皮细胞

图5 菜心下表皮及叶肉细胞

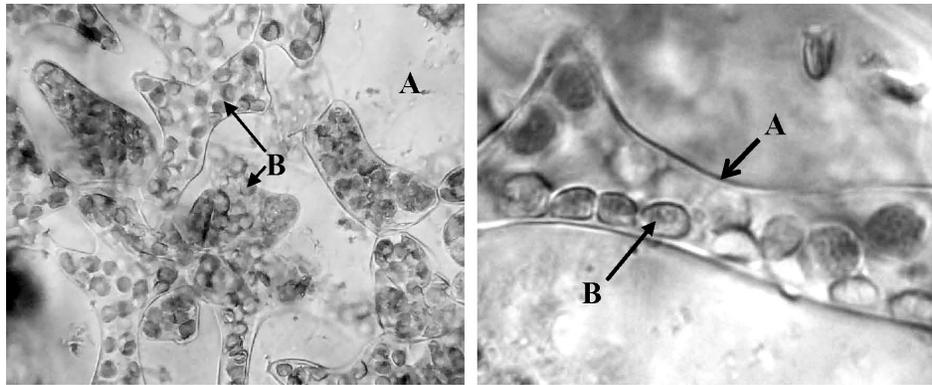


10×40

10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体

图6 蒜苗下表皮及叶肉细胞



10×40

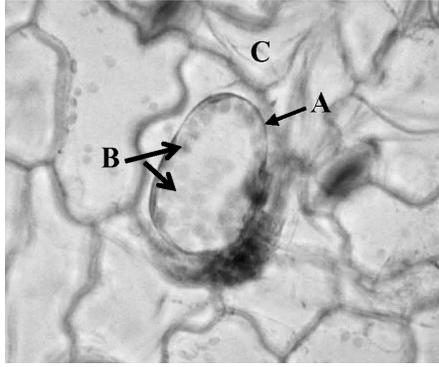
10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体

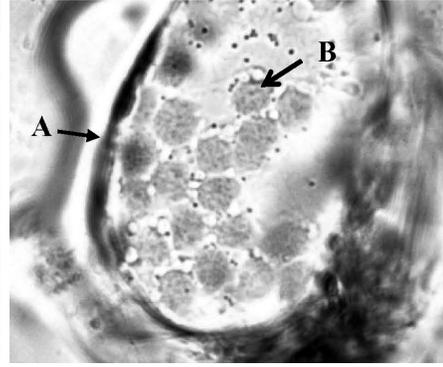
图7 鱼腥草下表皮及叶肉细胞

2.2 线粒体的观察结果

本实验尝试用白菜、葱、蒜苗、洋葱、酵母菌以及口腔上皮细胞等进行线粒体的显微观察。结果显示，动物细胞（口腔上皮细胞）的线粒体容易染色，且线粒体大，观察效果最佳（图15）；其次，在葱和洋葱内表皮细胞中也可观察到较清晰的线粒体（图16）；在白菜和蒜苗的内表皮细胞中，能观察到细小的线粒体，但分辨效果较差；以酵母菌为材料观察线粒体时，线粒体小且较难观察到，故不宜作为实验材料。



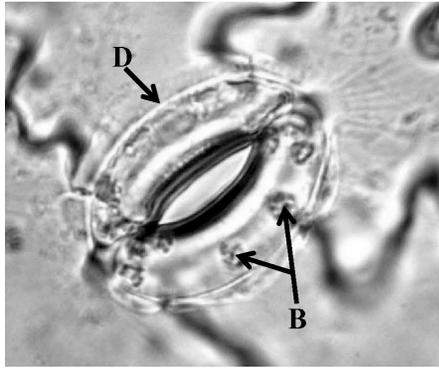
10×40



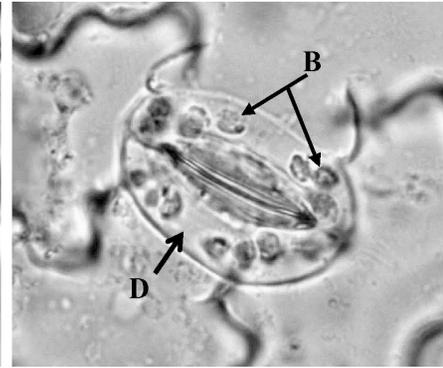
10×100

A-叶肉细胞, B-叶绿体, C-表皮细胞

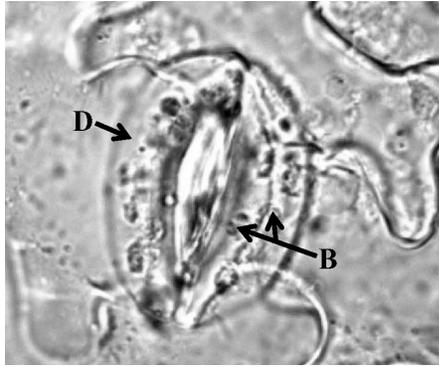
图8 菠菜下表皮及叶肉细胞



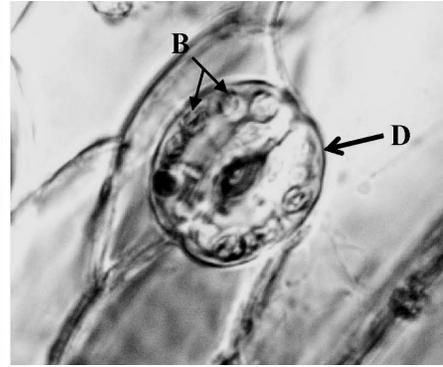
B-叶绿体, D-保卫细胞
图9 小飞蓬保卫细胞 (10×100)



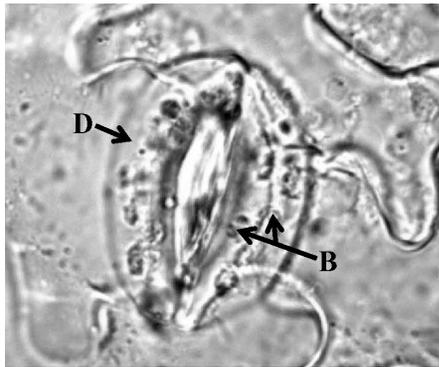
B-叶绿体, D-保卫细胞
图10 春菜保卫细胞 (10×100)



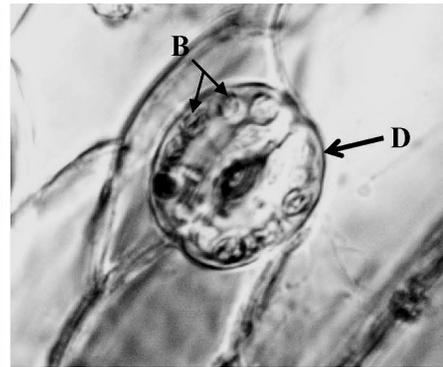
B-叶绿体, D-保卫细胞
图11 油菜保卫细胞 (10×100)



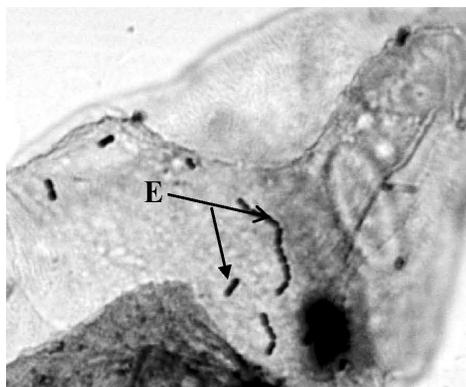
B-叶绿体, D-保卫细胞
图12 白菜保卫细胞 (10×100)



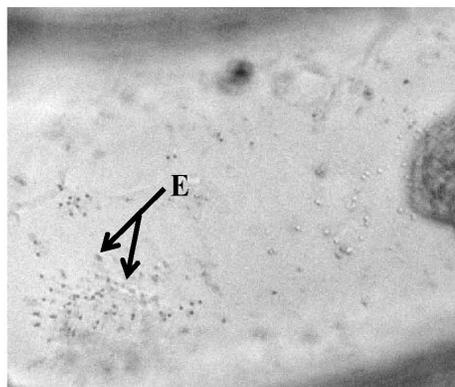
B-叶绿体, D-保卫细胞
图13 长寿花保卫细胞 (10×100)



B-叶绿体, D-保卫细胞
图14 苏丹凤仙花保卫细胞 (10×100)



E-线粒体
图 15 口腔上皮细胞 (10×100)



E-线粒体
图 16 葱内表皮细胞 (10×100)

3 讨论

生物学是一门以实验为基础的自然科学，现代生物科学的发展尤其依赖于科学实验。中学生物实验对于学生掌握生物学知识、理解科学研究过程与方法以及核心素养的培养有至关重要的作用。“用高倍显微镜观察叶绿体和线粒体”是一个观察验证性实验，教材提供了藓类、菠菜和黑藻的叶作为观察叶绿体的材料，然而由于我国南北自然地理和气候条件差异较大，实验材料不易获取，选择方便易取而且观察效果最佳的实验材料是观察叶绿体实验成功的关键。此外，受观察材料、方法以及染液配制等因素影响，观察线粒体的实验效果也不尽如人意。

本研究选取了8种野生植物和10种蔬菜为实验材料，对“观察叶绿体”的实验材料、取材方法进行了探索。结果发现，除教材中提供的实验材料外，一些常见野生植物和蔬菜也可作为较好的叶绿体观察材料。其中菜心和上海青以及长寿花、苏丹凤仙花、野菊、小飞蓬、黄鹤菜、鬼针草最易撕取带有少许叶肉细胞的表皮；野菊、鱼腥草、小飞蓬、油麦菜、春菜等植物下表皮的叶绿体大且清晰；长寿花、春菜、小飞蓬、油麦菜、大白菜以及鱼腥草的保卫细胞中叶绿体清晰可见，均可作为“观察叶绿体”的最佳实验材料。综合实验结果，在“观察叶绿体”实验中优先选择成熟的藓类植物，其次是菊科植物和十字花科植物，这3类植物叶绿体更大，且取材容易，观察效果最佳。此外，白菜和鱼腥草的表皮细胞以及空心菜的叶肉细胞中均可观察到细胞质流动，可将“观察叶绿体”和“观察细胞质的流动”这两个实验合并开展^[8]。

在“观察叶绿体”实验中，需注意以下几点：1) 宜选择草本植物作为材料，因为灌木、乔木植物的叶多革质化，较难撕出稍带叶肉细胞的表皮；2) 宜选择叶脉较疏松的植物，更容易撕出一大片表皮；3) 尽量选择老幼适中的叶片。因为老叶较革质化，不易撕，而嫩叶的叶绿体发育不完整，不易观察；4) 一般选择绿色而没有其他颜色干扰的叶片；5) 临时装片中的材料应保持有水状态，以保证叶绿体的正常形态并能悬浮在细胞质基质中，否则细胞失水收缩，影响其形态的观察。

“观察线粒体”实验结果显示，植物细胞中线粒体较小且分散，较难观察到，不宜作为观察材料，因而最佳的观察线粒体实验材料仍是口腔上皮细胞。健那绿是专一性线粒体的活细胞染料，通过对活细胞染色，可使线粒体呈现蓝绿色，而细胞质接近无色，以便在高倍显微镜下观察到线粒体分布和形态。然而，健那绿染液浓度不宜过高，否则可导致细胞失活；染液配制中健那绿应充分溶解，否则会出现较多染液颗粒，影响观察效果。本实验显示，将健那绿染液的质量分数由1%降低至0.6%，并采用引流法^[8]，可以避免染色过深以及健那绿颗粒等杂物干扰，效果更佳。此外，由于线粒体较小，应使用油镜观察。

本研究在“观察叶绿体”的实验中探索了多种简单易取的实验材料以及取材技巧，不仅可以观察到叶肉细胞的叶绿体，还可以观察到保卫细胞的叶绿体，使学生更加清楚和理解叶绿体形态和分布状

况. 观察叶绿体可选用的材料其实很多, 教师可结合本文提供的材料和取材方法, 根据当地实际情况选取适当的材料; 同时, 可鼓励学生自带实验材料进行观察叶绿体实验的尝试和探索, 激发学生探究生物奥秘的兴趣和热情. 对于线粒体的观察实验, 未来应进一步探索除了口腔上皮细胞, 还有哪些动物细胞的线粒体易于观察且取材容易, 以找到更合适的实验材料, 为中生物实验教学提供参考.

参考文献:

- [1] 卞伯云. 观察叶绿体和线粒体实验方法改进的探讨[J]. 中学生物学, 2013 (12): 33-34.
- [2] 刘原平, 王亚. 用高倍镜观察线粒体和叶绿体实验方案的改进[J]. 生物学教学, 2010, 35 (12): 54-55.
- [3] 陈淑丽. 利用牡丹吊兰作观察叶绿体的好材料[J]. 实验教学与仪器, 2016, 33 (10): 35+46.
- [4] 郑美婷, 傅秋月, 杨华. “用高倍显微镜观察叶绿体和线粒体”实验的改进[J]. 中学生物教学, 2015 (24): 60-61.
- [5] 王勤军, 韦迪兴. 用葱及其他植物做“观察线粒体”实验的材料[J]. 实验教学与仪器, 2010, 27 (3): 35.
- [6] 文彩霏. 用高倍显微镜观察线粒体实验的改进[J]. 实验教学与仪器, 2018, 35 (7/8): 141-142.
- [7] 严灵剑. 观察叶绿体和细胞质流动实验的改进[J]. 中学生物学, 2004 (5): 35-36.
- [8] 张玉代. 利用葱鳞片叶内表皮观察线粒体[J]. 生物学教学, 2011, 36 (2): 79.

Exploration and Improvement of the Experiment of Observing Chloroplasts and Mitochondria under the High-Power Microscope

WANG Ju-hong¹, ZHANG Yan-fang¹, LIN Xiao-wa²

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Hanshan Normal University, Chaozhou, Guangdong, 521041; 2. Chenghai Middle School, Shantou, Guangdong, 515800)

Abstract: In order to clearly observe the shape and distribution of chloroplasts and mitochondria, this study selected *Funaria hygrometrica*, together with eight wild plants and ten vegetables species as experimental materials to explore and improve the experiment of “observing chloroplasts” in the selection of materials and the method of drawing materials. At the same time, we explored the experiment of “observing mitochondria” not only in the selection of materials, but also in the concentration and staining method, and further put forward some suggestions. The results showed that: 1) in addition to *Funaria hygrometrica*, the best materials for observing the chloroplasts of mesophyll cells were *Dendranthema indicum*, *Conyza canadensis*, *Lactuca sativa*, *Houttuynia cordata*, etc. 2) the best materials for observing larger and clearer chloroplasts of guard cells were *Kalanchoe blossfeldiana*, *L. sativa*, *C. canadensis*, *Lactuca sp.*, *Brassica pekinensis*, and *H. cordata*; 3) the mitochondria of plant cells such as *Allium fistulosum* and, *A. cepa* and oral epithelial cells were better observed by dyeing with a quality score of 0.6 % of the Janus green dyeing liquid and using the drainage method.

Key words: microscope; chloroplasts; mitochondria; guard cells; mesophyll cells

责任编辑 周春娟