



# 植物细胞原生质研究方法

〔美〕E.J.斯塔德曼等 著

魏建昆

编译

窦葆璋

王洪春

校

河北科学技术出版社

冀新登字004号

**植物细胞原生质研究方法**

〔美〕Eduard J. Stadelmann 等著

魏建昆 窦葆璋 编译

王洪君 校

---

河北科学技术出版社出版发行(石家庄市北马路45号)

燕 天 印 刷 厂 印 刷

---

850×1168毫米 1/32 9.75印张 288 000字 1991年11月第1版

1991年11月第1次印刷 印数: 1—2000 定价: 8.50元

ISBN 7-5375-0755-4/5·128

## 内 容 简 介

本书是从美国明尼苏达大学园艺系原生质学实验室 Ed. J. Stadelmann 教授及其同事们的论著中精选出的论文汇编而成的。全书对植物细胞原生质的研究方法做了全面、系统的介绍，对植物细胞的渗透势和水势、水分胁迫、活体染色、被动渗透和胞壁弹性的测定方法及其相关的基础理论做了详细讨论。书中还对植物细胞原生质研究的最新进展做了评述。

本书可供从事农业生物学、植物生理学、生物工程和抗性育种等方面研究工作的科技人员和有关高等院校师生使用。

作者地址：美国明尼苏达大学园艺系  
Ed. Stadelmann  
Professor emeritus  
Department of Horticultural Science  
University of Minnesota  
St. Paul, MN 55108  
USA

## 序

这本以“植物细胞原生质研究方法”命名的论文汇编，是从美国明尼苏达大学园艺系原生质学实验室的大量论著中精选出来的，在论文精选过程中得到Stadelmann教授的大力支持，并为汇编写了精彩的前言。他在前言中不仅阐明了这本汇编的内容，而且对我们提出了很高的希望。

通览全书能够看到，植物细胞原生质研究法是一项极为重要的生物学基础之一。这是因为具有生命的生物体的所有生命活动都依赖于具有生命力的原生质，例如植物与环境间、细胞与细胞间的物质交换，通过主动和被动运输来完成，植物对逆境的适应也是依赖于原生质透性和膨压的形成来实现的。但是，由于原生质是由许多不同的组成部分组装而成的，各种组成部分间相互影响，因此，对任何一种原生质组成部分的研究，都不能完整地反映原生质的性质，这就有必要对原生质进行整体性研究。这一点值得我们认真对待。当前我国研究植物细胞原生质性质的工作甚少，这对植物生命现象及其有关的适应性问题的研究来说是一个较大的缺陷。

就原生质性质的研究方法而言，所需的仪器设备不多，而且测试技术也不太复杂，我们应该大力推广原生质研究技术的应用。但有一点应当指出，开展原生质性质的研究，除掌握必要的

基础理论外，还要有熟练的技巧和丰富的实践经验。在此希望我国从事植物细胞原生质性质研究的学者认真掌握这本汇编的实质，并且通过实践积累经验。

这本汇编的出版一定会对原生质性质的研究起到明显的促进作用，我相信，不久的将来我国学者一定能在植物细胞原生质性质的基础理论和应用研究方面取得重大突破。

王洪春

1991.4.22

## 前 言

细胞活性原生质是每个有机体的主要组成成分，因此，活性原生质的研究对了解生命是极其重要的。对生命过程的了解就是建立在原生质基础之上的。在许多有效的手段中，用特殊处理和改变环境条件可以有目的地得到有机体某个希望得到的特性（如对植物来说，增强抗旱性，更好地适应特殊环境，以便使植物获得更高的生产率）。

植物原生质的研究工作早在百年前就已经开始，最早的著作之一是Pfeffer的细胞渗透特性研究（Kepner 和 Stadelmann, 1987），随后，Küster, Seifriz, Heilbrunn, Weber和其他人的重要著作在原生质研究上形成了细胞生理学的一个专门领域，称为原生质学（德文为Protoplasmatik, Höfler, 1932）。对我们了解原生质来说具有重大意义的著作是由Höfler, Strugger, Drawert, Hofmeister及其合作者完成的。

随着方法的改进和完善，使大量制备原生质某些组成部分成为可能，结果导致了对线粒体、叶绿体化学途径的深入细致研究和细胞膜系统的分析。这些著作对了解原生质组成部分的结构和功能是有价值的。

将原生质作为一个整体进行研究，必须了解原生质各个组成部分如何相互配合和如何调整生命体系中最具有特征的活性。

对原生质性质（如粘性和透性）的比较研究表明，原生质性质在不同类型细胞间的变异范围很大，在相同细胞类型中也因年龄、环境条件、植物种和品种的不同而可能各不相同。因此，原生质性质在区别品种间和检测细胞活性的差异上是很灵敏的指标，这一灵敏性便使原生质性质成为一个极好的指标，并且在逆境生理和病理学及分析品种差异的研究中成为一个度量标准（We<sup>i</sup>等，1989）。

活性原生质的研究是一个难度很大的尝试，这是因为用于测试活性物质的许多试验方法会损伤原生质并引起改变，从而使研究对象发生变化。一些以物理现象为基础的新方法只引起原生质极小的变化，并在确实的保护措施下能提供其他方法不能得到的宝贵结果。

从美国明尼苏达大学园艺学系的原生质学实验室收集的这些精选论文，要报道近来已经用于研究原生质和细胞膜的一些经过验证的方法。在此对一些方法仍然给以较多的叙述，照例是为了了解其基本情况、原理和其局限性，并且为了判断具体方法的适用性和试验结果的决定性评价。

在原生质学中应用的其他方法可在Strugger的植物细胞和组织的研究汇编中看到（1949）。关于活体染色的详细专著（Dra<sup>w</sup>wert, 1968）包括了植物活性细胞染色中使用方法的知识。这些著作和一些早期著作是用德文书写的，而且没有译为英文版本。

为了特殊植物材料往往形成了专用的方法，在单一的著作中已经作了叙述，而且可以引用整个评述或《原生质》（Protoplasma）杂志、《膜生物学杂志》（Journal of Membrane Biology）和其他期刊。在活体染色方面也可以查阅《染色技术》（Stain technology）。早期研究的专题论文收集在《原生质专题论文集》

（Protoplasma-Monographien）中，并且可以用作探讨原生质研究中尚不知道的方法的起点。此外，《原生质学》（Protoplas-

matologia) 丛书和其他单一的专题论文在细胞生理学专题研究上能提供可用的研究方法。

在这本论文集中涉及到一些在原生质学中常用的方法和特别有关的论文。

(1) 关于方法的评论是以质壁分离和细胞膨压测定为基础的, 在这方面包括了一些早期的渗透势和水势的测定方法, 它们现在已被简易的程序所代替。

(2) 研究植物细胞水分胁迫的方法与测定实例。

(3) 关于不同类型透性的简短讨论。

(4) 活体染色的重要技术, 包括许多与活体染色机理有关的详细资料。

(5) 被动透性的理论基础和测定方法的讨论。

(6) 若干用于检定细胞生活能力方法的综述。

(7) 植物细胞渗透功能的验证。

(8) 细胞壁弹性的定量测定。

(9) 和 (10) 关于被动透性的最新研究和最新概念以及用质壁分离法所得结果的评述。

(11) 用质壁分离法、透性法和离心法进行试验研究的心得和实例。

这本汇编可能会促进中国植物生理学者应用原生质方法描述在基础理论研究和应用研究中的试验。所用的程序(步骤)和操作往往是很简单的, 除了一架好的显微镜外, 很少需要专门的仪器。因而期望在植物细胞原生质性质上得到不断丰富的资料。除筛选和抗性问题的外, 还要不断地研究植物细胞活性原生质的基本问题, 这种巨大的潜力将会有益于未来的知识和技术的进步。

E. J. 斯塔德曼

王洪春译

# 目 录

|                                      |      |
|--------------------------------------|------|
| <b>第一章 植物细胞紧张度、质壁分离和质壁分离复原的评价</b>    |      |
| 价                                    | (1)  |
| 一、绪言                                 | (1)  |
| 二、渗透基值的测定                            | (9)  |
| 三、初始质壁分离状态细胞内含物吸水势的测定                | (20) |
| 四、常态下细胞内含物吸水势的测定                     | (25) |
| 五、常态下细胞吸水势的测定                        | (28) |
| 六、用原生质测定法测定植物细胞的被动透性                 | (38) |
| 七、细胞壁附着性和原生质粘度的测定                    | (54) |
| 八、质壁分离引起的细胞形态的改变                     | (63) |
| 九、用质壁分离和紧张度方法检测植物细胞的生活状态             | (68) |
| <b>第二章 植物抗旱性的原生质基础——测量原生质性质的定量方法</b> |      |
| 定量方法                                 | (73) |
| 一、绪言                                 | (74) |
| 二、原生质和水                              | (76) |
| 三、水胁迫和水胁迫耐性                          | (77) |
| 四、原生质水胁迫和水胁迫耐性的测量方法                  | (79) |
| 五、水胁迫耐性的分析                           | (87) |
| 六、细胞透性和粘性的测定                         | (89) |
| 七、原生质抗旱性研究概况                         | (96) |

|                              |       |
|------------------------------|-------|
| <b>第三章 植物细胞的渗透性</b>          | (100) |
| 一、绪言                         | (100) |
| 二、被动渗透                       | (101) |
| 三、媒介运输                       | (104) |
| 四、膜流动和膜转化作用                  | (107) |
| <b>第四章 植物细胞的活体染色</b>         | (108) |
| 一、绪言                         | (108) |
| 二、植物细胞不同组分的活体染色              | (124) |
| 三、活体染色的一般准则                  | (138) |
| 四、活体染色实验实例                   | (142) |
| <b>第五章 植物细胞膜的被动运输参数</b>      | (155) |
| 一、绪言                         | (155) |
| 二、水透性常数                      | (157) |
| 三、溶质透性常数                     | (158) |
| 四、反射系数                       | (159) |
| 五、溶质运输与水运输的相互作用              | (161) |
| 六、测定植物细胞被动透性的若干方法            | (164) |
| 七、展望                         | (166) |
| <b>第六章 植物活力鉴定</b>            | (169) |
| 一、绪言                         | (169) |
| 二、生长                         | (169) |
| 三、质膜和液泡膜的功能                  | (170) |
| 四、中质功能                       | (172) |
| 五、活力测定结果分析                   | (173) |
| 六、结束语                        | (175) |
| <b>第七章 具液泡的植物细胞——理想的渗透压计</b> | (176) |
| 一、前言                         | (177) |
| 二、材料与方法                      | (178) |

|                                    |              |
|------------------------------------|--------------|
| 三、结果 .....                         | (184)        |
| 四、讨论 .....                         | (189)        |
| <b>第八章 从细胞膨压势推导细胞壁弹性函数 .....</b>   | <b>(193)</b> |
| 一、前言 .....                         | (193)        |
| 二、膨压—体积关系的推导 .....                 | (195)        |
| 三、从相对含水量推导体积弹性模量 .....             | (196)        |
| 四、体积弹性模量与膨压的关系 .....               | (197)        |
| 五、膨压势、体积弹性模量和结构系数的计算 .....         | (200)        |
| 六、结论 .....                         | (207)        |
| <b>第九章 被动透性 .....</b>              | <b>(208)</b> |
| 一、绪言 .....                         | (208)        |
| 二、透性测定原理 .....                     | (209)        |
| 三、质壁分离方法原理 .....                   | (210)        |
| 四、试验材料与方法 .....                    | (211)        |
| 五、试验资料分析与透性常数的计算 .....             | (218)        |
| 六、近似方法 .....                       | (223)        |
| 七、试验实例与内渗透性的计算 .....               | (225)        |
| 八、常用渗透剂透性常数样本值 .....               | (226)        |
| 九、根据透性测定值分析膜结构 .....               | (227)        |
| <b>第十章 质壁分离机理及在细胞生理学中的应用 .....</b> | <b>(228)</b> |
| 一、绪言 .....                         | (228)        |
| 二、质壁分离过程 .....                     | (232)        |
| 三、材料和实验程序 .....                    | (238)        |
| 四、细胞性质的评定 .....                    | (246)        |
| <b>第十一章 质壁分离和离心实验操作方法 .....</b>    | <b>(253)</b> |
| 一、组织切片的制备 .....                    | (253)        |
| 二、抗爆性试验 .....                      | (254)        |
| 三、渗透值 .....                        | (257)        |

|                 |       |
|-----------------|-------|
| 四、原生质粘度 .....   | (259) |
| 五、水分渗透性 .....   | (269) |
| 六、非电解质渗透性 ..... | (284) |

# 第一章 植物细胞紧张度、质壁分离和质壁分离复原的评价

Eduard J. Stadelmann

孙大业 左德远 史兰波 程 刚 译

## 一、绪 言

适于研究活细胞而很少引起或不引起损伤的物理学方法很少。使用现有的这类方法，仅仅对细胞渗透特性的研究，为了解植物活细胞功能带来了巨大的进步。这种研究导致了：（1）可以进行细胞渗透值的估计（Ursprung, 1935; Blum, 1958）；（2）发现原生质膜的不同透性（Pfeffer, 1877）；（3）获得了首批细胞膜成分的资料（Overton, 1895），尔后为电镜研究资料（Sitte, 1963; Whaley等, 1964）所证实。这些结果也恰好与一些细胞外膜的初步化学分析相吻合（Mitchell和Moyle, 1951; Macfarlane, 1964）。

靠显微镜技术的极简单的改进导致日益精巧的实验程序而发现了透过性系列。利用这些程序，发现在不同的细胞类型中，或同一材料在不同的条件下，透过性的明显不同（Höfler, 1942; Hofmeister, 1938）。此外，从质壁分离的实验中还得到了有关原生质其它性质的资料（如粘性和细胞壁的附着）。由质壁分离所导致的原生质及其成分变化的研究（Küster, 1956; Stadelmann, 1956），对细胞反应性和阐明活性原生质的动态提供了

重要的见解，这些是电镜及化学方法所做不到的。

上述试验所需设备，比其它细胞研究领域通常所使用的复杂仪器要简单得多。但是，为了识别不适当的实验程序及在特殊条件下对细胞反应的错误估计，需要研究者有丰富的经验和灵活性。

单个细胞渗透值和原生质的透性资料的重要性是很明显的。但只有对植物在不同环境条件下的水分关系做详细分析，才能解释它们在水分经济利用方面所含诸因素的相互关系。细胞控制水流的渗透值是识别水分数量关系的关键因素。

在植物细胞比较透性的研究中，最有意义的成就是发现不同组织或植物种类的原生质具有差异。进行活性原生质特性定量分析方法的发展，是进一步获得有关活原生质及其结构信息的重要步骤。

关于紧张度和质壁分离变化的资料 (Stadelmann, 1966) 已经不少，但有关细胞渗透行为和活原生质质量的资料却很少。因此，需要进一步深入地了解活细胞的这些重要功能。

## (一) 历史

Nägeli (1855) 首先用浓度相当高的渗透性溶液浸泡细胞，看到细胞体积的变化。而Braun (1852) 首次描述了原生质膜同细胞壁的分离，随后为Pringsheim (1854) 和Nägeli (1855, 指的是他1849~1850的实验) 所证实。以后，De Vries (1877) 所做的重要工作，介绍了使用高渗溶液后细胞分两阶段的变化：(1) 细胞体积的减少，(2) 原生质体与细胞壁的分离。De Vries使用了“质壁分离”这一术语，并定义为活的原生质膜与细胞壁相分离，这种分离是外部溶液夺取水分而引起的。Pfeffer (1877) 提供了由于渗透作用和原生质膜的差别透性所引起的植物细胞膨压

实验证明，并建立了细胞膨胀的渗透机制概念。

在一个时期曾对质壁分离实验结果作了错误解释之后，Blum (1958)，Ursprung 和 Blum (1916) 及 Höfler (1920) 的经典工作，为正确解释不同方法所得结果打下了基础。现在对细胞水分关系资料进行解释时，人们广泛接受和采纳为 Meyer (1938) 和 Kramer (1956) 进一步发展和传播的上述概念 (Walter, 1963, 1965; Kozlowski, 1964)。

Janse 和 De Vries (1889) 首先研究了被动透性，他们依此解释了缓慢质壁分离复原的现象，这些现象是在一些用非电解质作为外部高渗液的实验中观察到的。以后，特别是对质壁分离复原时间的观察，增加了我们有关原生质对一些物质透性的知识。在试图开始计算绝对透性常数以后 (Lepeschkin, 1909)，由 Fitting (1915) 介绍的技术，特别是原生质测定法 (Höfler, 1918)，开始了广泛的渗透性方面的研究和对无害非电解质的绝对透性常数的计算。

Weber (1921, 1924) 首次使用质壁分离的时间和形式来测定原生质粘性和细胞壁的附着。尔后详细地研究了由质壁分离而引起的细胞质的变化以及对活原生质的各种特殊效应，即营养收缩 (systrophe)、局部原生质体 (partial protoplast)、帽状质壁分离和膜的更新 (Stadelmann, 1956)。

## (二) 基本原理和定义

尽管描述植物细胞水分关系的恰当术语颇有分歧 (Eyster, 1943; Levitt, 1951; Walter, 1952; Kozlowski, 1964)，但对影响细胞水分关系所含诸因素的动力学和相互作用有着几乎完全一致的看法。Ursprung 和 Blum (1916) 首先将基本关系描述为下式：

$$S_z = S_i - W \quad (1.1)$$

Meyer (1938) 用不同的符号表达了这个公式，并为美国研究者所普遍采用：

$$DPD = OP - WP \quad (1.2)$$

这里，为符合已建立的数学符号规则，将使用公式(1.1)的扩展式：

$$S_z = S_i - W \pm A \quad (1.3)$$

这些符号和其它术语的定义如下：

$S_i$ —细胞内含物的吸水势〔包括原生质和中心液泡；当大液泡存在时， $S_i$ 几乎完全由细胞液吸水势（或吸水力）所组成〕。 $S_i$ 和用渗透计测量的细胞渗透压相等，它在细胞吸水方向上起作用，以大气压为计量单位。

$S_z$ —细胞的吸水势（有时亦称吸水力或扩散压差= $DPD$ ）。 $S_z$ 是超流体静压力，它使细胞最终达到与纯水平衡状态（Spanner, 1952）。 $S_z$ 在细胞吸水的方向上起作用，亦以大气压为计量单位。

$W$ —细胞壁弹性所产生的壁压。它在细胞排水的方向上起作用。壁压和膨压（ $P$ ）大小相等，方向相反： $W = -P$ 。以大气压为单位表示 $W$ 和 $P$ 。

$A$ —在细胞排水（例如周围介质的吸水势）或吸水（例如从相邻细胞壁阻止细胞体积减少的弹力）的方向上起作用的任何可能的外部压力。以大气压为计量单位。

$O$ （渗透值）—和细胞内含物产生相同吸水势的理想非电解质浓度（例如葡萄糖，蔗糖浓液），以 $\text{mol/L}$ 或 $\text{mol/cm}^3$ 表示。

渗透量—即上述的 $S_i$ ， $S_z$ ， $W$ ， $P$ 和 $O$ 。

渗透压—用所测量的溶液充满渗透计时产生的最大流体静压力，以大气压为计量单位。