

# 植物生理实验法

江西人民出版社

33

**植物生理实验法**

章骏德 刘国屏 编  
施永宁 高 芳

江西人民出版社出版

(南昌市第四通路铁道东路)

江西省新华书店发行 江西新华印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 11.375 字数 200,000

1982年10月第1版 1982年10月江西第1次印刷

印数：1——2,000

统一书号16110·95 定价：0.98元

## 内 容 简 介

本书内容包括两大部分。第一部分选编了关于植物的细胞生理、酶、水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物转化与运输、生长发育和抗性等方面的实验59个，不同的实验方法97种。第二部分为附录，包括实验室建设和基本操作等内容。

本书可作为农、林、园各专业学生的植物生理实验指导书，也可作为农、林、园科技工作者的科研参考书。同时，部分实验还可供农民进行科学实验时参考。



## 前 言

实验是整个教学的重要组成部分。通过实验不仅可以验证理论，加深对理论的理解，而且还可以掌握一些基本实验技术，提高科学实验的能力，养成严格的科学态度。特别是植物生理实验还是研究农业的重要手段。因此，学习和掌握植物生理实验技术，不但对农林院校的广大学生是重要的，而且对直接指导农业生产的广大农业技术人员和科研人员也是重要的。

近年来，植物生理实验技术发展较快，许多农林院校和科研单位以及广大农村对植物生理实验技术的需要也比较迫切。为此，我们特参阅国内外有关植物生理实验方面的较新报道和科学成果，并结合我们自己在这方面的工作，编写了这本《植物生理实验法》，供有关人员参考。

本书内容包括两个方面。第一，选编了关于植物的细胞生理、酶、水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物的转化与运输、植物的生长发育和抗性等方面的实验共59个。同时考虑到不同读者的需要，对于同一实验又选编了2—3种不同方法。共计实验方法97种。此外，对每个实验需要特别注意之处，都分别加以说明。读者只要按照实验步骤、方法去做，一般都可以得到较满意的结果。第二，编写了实验室建设和基本操作方面的内容，附录于后。

在选编实验方法的过程中，我们坚持做到：第一，精与简相结合。以设备简单，操作方便，适于基层研究单位和广大农村群众开展科学实验的方法为主，适当选编高等院校和高级农

业研究单位利用大型精密仪器方能进行的实验方法。第二，定性测定与定量测定相结合。以定量测定方法为主，适当地选编一些定性测定的验证实验。第三，室外操作与室内操作相结合。以室内生理生化分析为主，以室外（大田或果园）测定为辅。根据上述编写原则，我们力求使本书成为在校学生的一本较全面的植物生理学实验指导书，又为农、林、园科技工作者提供一些有效的实验的方法。同时，由于编入本书的部分实验简单易行，紧密联系生产实际，因此也可供广大农民开展科学实验时参考。

由于近代理化科学的飞跃发展，使植物生理学实验内容十分丰富，测定方法更加繁多。但因本书篇幅所限，同时也限于我们的思想认识和业务水平，在书中不可避免也存在缺点和错误，希望得到广大读者的批评和指正。

编 者

一九八二年三月

# 目 录

实验一	植物细胞的活体染色 .....	1
实验二	植物细胞的质壁分离 .....	3
实验三	种子生活力的快速测定 .....	7
一、	酸性品红染色法 .....	7
二、	溴麝香草酚蓝法 .....	8
三、	2,3,5—氯化三苯基四氮唑染色法 .....	9
四、	2%亚硒酸钠染色法 .....	10
五、	红墨水染色法 .....	10
实验四	温度和PH值对酶活性的影响 .....	12
一、	温度对淀粉酶活性的影响 .....	12
二、	PH值对淀粉酶活性的影响 .....	14
实验五	淀粉酶的测定 .....	17
一、	淀粉酶活力的测定 .....	17
二、	小麦萌发前后淀粉酶活性的比较 .....	19
实验六	植物体内氧化酶的测定 .....	22
实验七	过氧化氢酶活性的测定 .....	26
实验八	过氧化物酶的活性的测定 .....	30
实验九	植物组织蛋白质及同功酶的电泳 .....	33
一、	醋酸纤维薄膜电泳 .....	33
二、	聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳 .....	36
实验十	植物组织中核酸的提取和测定 .....	40
一、	植物组织中核酸的分离与提取 .....	40

二、定磷法测定核酸含量 .....	42
三、二苯胺法测定DNA含量 .....	44
四、用地衣二酚(3,5—二羟甲苯)法测定RNA .....	45
实验十一 植物伤流量的测定 .....	50
实验十二 植物根系体积及活力的测定 .....	52
实验十三 植物组织水势的测定(小液流法) .....	58
实验十四 植物蒸腾强度的测定 .....	61
实验十五 小孔扩散的观察(示范) .....	64
实验十六 植物蒸腾拉力的观察(示范) .....	66
实验十七 气孔状况的观察和测量 .....	68
实验十八 植物溶液培养和缺乏必需元素的症状 .....	70
实验十九 植物细胞渗透势(溶质势)的测定—— 质壁分离法 .....	74
实验二十 植物组织中N、P、K的快速测定 (营养诊断) .....	76
一、二苯胺法 .....	76
二、硝酸试粉法 .....	77
三、氨基态氮的测定 .....	79
四、水稻氮素营养诊断(淀粉——碘试法) .....	80
五、无机磷的测定 .....	81
六、含钾量的测定——六硝基二苯胺试纸法 .....	82
七、亚硝酸钴钠比浊法测定含钾量 .....	84
实验二十一 植物体内Ca、Mg、S、Fe含量的速 测 .....	89
实验二十二 植物单盐毒害作用和离子拮抗作用 .....	91
实验二十三 植物组织等电点的测定 .....	93
实验二十四 根系对离子的交换吸附 .....	96

实验二十五	叶绿体色素的提取、分离及理化性质	98
实验二十六	植物叶片叶绿素含量的测定	101
实验二十七	叶绿体希尔反应活性的测定	106
实验二十八	植物光合强度的测定	109
	一、改良半叶法测定光合强度	109
	二、PH值比色法测定光合强度	111
	三、红外线二氧化碳分析法	116
实验二十九	水稻净生长率的测定	128
实验三十	绿色植物的叶片在光下淀粉的形成	130
实验三十一	水稻不同部位对产量形成的贡献	132
实验三十二	C <sub>3</sub> 植物与C <sub>4</sub> 植物的区别	134
	一、C <sub>3</sub> 与C <sub>4</sub> 植物对低浓度CO <sub>2</sub> 利用能力的比较	134
	二、C <sub>3</sub> 与C <sub>4</sub> 植物的同室效应	137
实验三十三	大气CO <sub>2</sub> 浓度的测定	141
实验三十四	植物呼吸强度的测定	144
	一、小篮子法	144
	二、气流法	146
	三、瓦布格氏微量测压法	149
实验三十五	种子发芽对氧气和水分的需要	157
实验三十六	氨基酸的纸上色谱分析	159
实验三十七	植物体内蛋白质氮和非蛋白质氮的测定	166
	一、植物全氮量的测定(康维皿扩散法)	166
	二、植物体内总含氮量的测定(微量凯氏定氮法)	170
实验三十八	几种重要碳水化合物的测定	176
	一、还原糖和蔗糖的测定(砷钼酸比色法)	176
	二、可溶性糖的测定(蒽酮比色法)	179



三、淀粉的测定	182
四、植物组织中糖和淀粉的定量测定(伯川法)	184
五、果实中可溶性糖的测定(铁氰化钾法)	190
六、半纤维素和果胶的测定	193
七、纤维素的测定	194
实验三十九 植物组织全磷的测定	197
实验四十 果酒酒精度的测定	200
实验四十一 油脂碘值的测定	202
实验四十二 油脂酸值的测定	206
实验四十三 油脂皂化值的测定	208
实验四十四 粗脂肪的定量测定——索氏提取法	211
实验四十五 维生素C的测定	215
一、染料法测定维生素C	215
二、碘酸钾法测定维生素C	220
实验四十六 果实中总酸量的测定	222
实验四十七 咖啡碱的定量测定	225
实验四十八 水稻空秕粒的鉴别	227
实验四十九 谷物赖氨酸的测定	229
一、种子赖氨酸的快速测定(茚三酮染色法)	229
二、种子蛋白中赖氨酸含量速测法	230
三、谷物赖氨酸的测定(茚三酮比色法)	231
实验五十 用穿刺法测量植物生长速度	235
实验五十一 黄化现象的观察(示范)	237
实验五十二 植物春化现象的观察	239
实验五十三 植物光周期现象的观察(示范)	241
实验五十四 花粉活力的测定和花粉粒发育的观察	243
一、花粉粒活力的测定	243

二、水稻花粉粒发育的观察 .....	245
<b>实验五十五 植物生长物质的生理效应及应用</b> .....	248
一、矮壮素 (CCC) .....	248
二、赤霉素 .....	249
三、核酸降解物的使用 .....	251
四、化学除莠剂 .....	253
五、植物生长物质在果树生产上的应用 .....	254
六、生长素和萘乙酸促进扦插生根的效应 .....	257
<b>实验五十六 植物组织培养</b> .....	260
<b>实验五十七 植物抗寒性的观察</b> .....	264
<b>实验五十八 柑桔抗寒性的鉴定 (电导仪法)</b> .....	266
<b>实验五十九 植物抗热性的鉴定 (马兹可夫法)</b> .....	269
<b>附录一 实验室安全知识</b> .....	271
<b>附录二 实验室基本操作</b> .....	274
<b>附录三 常用仪器的使用</b> .....	283
<b>附录四 试剂和缓冲溶液及指示剂的配制</b> .....	329
<b>附录五 样品的采集和处理</b> .....	347
<b>主要参考文献</b> .....	350

# 实验一 植物细胞的活体染色

## 【目的】

活体染色主要用来研究活细胞的透性、电荷、氢离子浓度及氧化还原电位等许多细胞生理的问题。本实验的目的在于学习碱性染料中性红的活体染色技术，并根据着色情况的不同，鉴定细胞的死活。

## 【原理】

中性红染料是植物活体染色的常用染料之一。它对植物无害，是一种弱碱性pH指示剂，其变色范围在pH6.4—8.0之间（由红变黄）。在中性或微碱性下，植物活细胞能大量吸收稀中性红染料并贮藏在液泡中。由于液泡一般呈酸性，因此，进入液泡中的中性红便离解出大量阳离子而呈现樱桃红色，原生质和细胞壁一般不着色。死细胞则由于原生质的分别透性消失，不产生液泡着色现象，而中性红阳离子却与带有一定负电的原生质及细胞核结合，而被染色。

## 【方法】

1.取材：一般用尖头镊子将叶片下表皮（洋葱鳞片内表皮）小片轻轻撕下；如果是小麦、水稻材料等，因其叶片下表皮不易撕取，可用刮取法，即用刀片轻轻刮去表皮细胞上叶肉和叶脉，只留下一层下表皮细胞。

2.染色：将撕下的叶片下表皮投入0.03%中性红溶液中染色10—15分钟，取出用自来水（或井水，pH值略高于7.0）先冲洗，后装片在显微镜下观察。当发现细胞壁强烈脱色，而

液泡被染成均匀的樱红色,细胞核和原生质不染色时,为了确证中性红染色的部位,可将上述染色片浸入0.6—0.8M的 $\text{KNO}_3$ 溶液中10分钟左右,然后取出观察。由于 $\text{KNO}_3$ 能使原生质强烈膨胀,发生“帽状质壁分离”,因而能清楚地区别无色透明的原生质和染成红色的液泡。

3.观察:在显微镜下仔细观察制片中各个细胞着色情况之后,将活染制片放在酒精灯火焰上微微加热,以杀死细胞,再在显微镜下观察,可发现原生质凝结成不均匀的凝胶状,与细胞核一起被染成红色。

#### 【材料、仪器、药品】

##### 材料

洋葱鳞茎,小麦或水稻、玉米、高粱等叶片。

##### 仪器

刀片、尖头镊子、小培养皿、载玻片、盖玻片、小滴管等。

##### 药品

0.03% 中性红水溶液、0.6—0.8M $\text{KNO}_3$ 溶液。

#### 【思考题】

活体染色为什么要采用中性红染料? 其他染料行不行?

## 实验二 植物细胞的质壁分离

### 【目的】

植物成长的细胞是一个渗透系统，当细胞与高渗溶液接触时便会发生质壁分离。死细胞的原生质失去了分别透性，不能发生质壁分离。因此，质壁分离法可用来鉴定细胞死活，还可用来研究原生质的粘滞性，测定细胞的溶质势，研究细胞生理，如水分生理及抗性生理等。本实验的目的在于学习观察细胞的质壁分离及其复原、质壁分离的不同形式。

### 【原理】

植物成长的细胞与外界高渗溶液接触时，引起细胞内的水分外渗而发生质壁分离。其后，当与清水（或低渗溶液）接触，或当外界溶质进入时，又可发生质壁分离复原。

植物细胞的质壁分离形式，有凸形、帽形、凹形及痉挛形等。分离形式不同往往与原生质的粘性有关。凡是原生质粘度大的，能维持较长时间的凹形，甚至成为痉挛形；原生质的粘度小的，较快形成凸形质壁分离。用 $\text{Ca}^{2+}$ 离子能降底原生质水合度，使原生质粘性加大；用 $\text{K}^{+}$ 离子则相反。所以经前者处理后，原生质发生凹形质壁分离，而经后者处理则发生凸形质壁分离。当用 $\text{KNO}_3$ 的高渗溶液进行长时间质壁分离时，由于原生质水合度大大增加，原生质层变厚，似帽状包围在收缩的液泡两端，称为帽状质壁分离（见图1）。

### 【方法】

#### 1. 细胞质壁分离的观察：

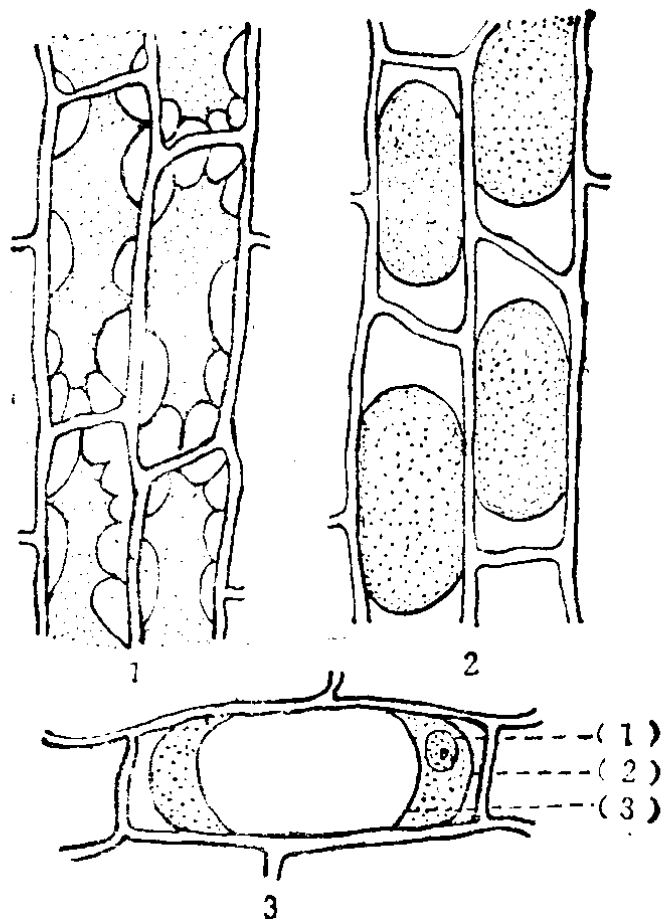


图1 不同形式的质壁分离

- 1.凹形质壁分离      2.凸形质壁分离  
 3.帽形质壁分离：(1)细胞核  
                       (2)膨胀的原生质 (3)液泡

(1)制片方法与植物细胞活体染色相同，即用尖头镊子撕下若干小片叶片的下表皮，投入浓度为0.03%的中性红溶液中染色10—15分钟，取出后再用自来水浸泡10—15分钟，制成临时玻片标本。

(2)将制片标本置于显微镜下观察，可以看到明显的液泡染色，而无色的原生质层紧贴细胞壁。从盖玻片的一边滴一滴1 MKNO<sub>3</sub>溶液而在对边用吸水纸吸水，将KNO<sub>3</sub>溶液引入盖玻片下，使之与制片接触，并立即镜检，可见细胞内很快发生

凸形质壁分离。

2.细胞质壁分离复原观察：在观察质壁分离后，于盖玻片一边滴水，而在对边用吸水纸吸水，重复三次，将 $\text{KNO}_3$ 溶液全部吸完后镜检，可见质壁分离停止进行，最后质壁分离复原。

另取一部分制片置载玻片上，先在酒精灯火焰上加热，以杀死细胞，染色，再引入高渗 $\text{KNO}_3$ 溶液，观察有无质壁分离发生。

此外，还可在蚕豆或其他植物叶片下表皮的制片下加滴4 M (24%) 尿素溶液或1 M蔗糖、 $\text{NaCl}$ 溶液，均可观察到质壁分离和质壁复原现象。

3.不同形式的质壁分离的观察：

(1)制片：按实验一制片方法，制取洋葱鳞片或蚕豆叶片下表皮细胞活体染色制片各两份，分别在0.02M $\text{CaCl}_2$ 溶液及0.03M $\text{KCl}$ 溶液中浸20—24小时，取出后放在载玻片上，然后各加一滴与处理相同的溶液，即制成临时玻片标本。

(2)镜检：取上述制片在显微镜下观察，可以看到此时无质壁分离发生。再把制片分别移到0.8—1.0M蔗糖溶液中进行第二次镜检，则可见到经钾盐处理的制片，在25—35分钟后出现凸形质壁分离，而经钙盐处理的制片则出现痉挛形质壁分离。

### 【作业】

绘各种形式的细胞质壁分离的图。

### 【材料、仪器、药品】

材料

洋葱鳞茎、蚕豆叶片或其他植物叶片。

仪器

尖头镊子、载玻片、盖玻片、显微镜、小滴管。

#### 药品

1. 0.03% 中性红溶液；
2. 1 M 蔗糖（或 NaCl）溶液；
3. 1 M  $\text{KNO}_3$  溶液；
4. 4 M（24%）尿素溶液；
5. 0.8 M 蔗糖溶液；
6. 0.02 M  $\text{CaCl}_2$  溶液；
7. 0.03 M  $\text{KCl}$  溶液。

#### 【思考题】

1. 通过上述实验，你对活细胞与死细胞原生质有何进一步认识？
2. 试述质壁分离法的意义与用途。



## 实验三 种子生活力的快速测定

### 一、酸性品红染色法

#### 【目的】

种子生活力的强弱是决定种子发芽率高低的重要因素，也是培养壮秧壮苗的关键之一。本实验学习快速测定种子生活力的方法，这对播种及调运、交换种子等工作有一定的指导意义。

#### 【原理】

死组织细胞能被酸性品红染色，而活组织细胞则不能被酸性品红染色。根据这一特性，就可测定种子生活力强弱。

#### 【方法】

取若干种作物种子（种子预先用0.1%的升汞或漂白粉、甲醛消毒，后洗净），分别切半（硬的种子可在前一天浸水）放在培养皿上，切面朝下，再加入0.2%的酸性品红溶液，至液面覆盖种子为止。处理时间因种子种类不同而不同，一般为20—25分钟。取出各种作物种子，分别用水洗净，放在玻片或培养皿中，可见没有生活力的种子的胚被染成粉红色。据此，可以计算有生活力的种子的百分率。实验重复一次。同时用煮过的死的种子作对照。

#### 【材料、仪器、药品】

##### 材料

多种作物的种子，如大豆、棉花、小麦、玉米、水稻等的种子。