

植物生理学 实验

朱广廉 钟海文 张爱琴 编

北京大学出版社



5-35

内 容 提 要

本书是作者在北京大学生物系植物生理生化专业多年教学和科学实践的基础上编写而成。

本书共收入79个实验，内容涉及植物的细胞生理、呼吸作用、光合作用、水分生理、矿质营养、氮代谢、植物激素、种子生理、生长和分化、生殖和衰老及抗性生理。书中既选入了一些经典的植物生理学实验，也吸收了许多近代植物生理学领域中出现的新实验和新技术。

本书可作为综合性大学和师范院校植物生理学教材，亦可供农、林院校及其他与植物生理学有关的师生和科技人员参考。

植物生理学实验

朱广廉 等编

责任编辑：李蕙兰

*

北京大学出版社出版

(北京大学校内)

北京大学印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

787×1092毫米 32开本 8.75印张 180千字

1990年5月第一版 1990年5月第一次印刷

印数：0001—4,000册

ISBN 7-301-01062-1/Q·030

定价：1.80元

前 言

本书是为综合性大学和师范院校植物生理学实验课编写的教材。但编入的实验较多、实验的深度和所需的条件差别较大，有一定的选择余地，故也可供农、林等其他院校作为教材或参考教材。亦可作为与植物生理学专业有关的教师学生和科技工作者的参考用书。

本书的结构和内容是参照曹宗巽、吴相钰教授合编的《植物生理学》一书进行安排和选择的。目的是便于在教学过程中将理论讲授和实验技能的培养密切地结合起来，使学生学习过程中能更深入地理解、牢固地掌握、灵活地运用植物生理学的基本原理、基础知识和基本实验技能，以利于培养学生分析问题和解决问题的能力。

全书共选入79个实验。编写过程中，参阅了我校自1960年以来历年编写的植物生理和植物生化实验讲义，选用了其中的部分实验。这部分实验大多是经典的生理学实验，简单易行，有益于加深学生对植物生理学基本理论的理解。另外，作者在近年来的科研和教学实践中，陆续从国内外科技刊物和植物生理、生化及有关实验教材中，吸收、积累了一些较新的植物生理、生化实验方法，将其中一些切实可行并经我们试做过的实验编于本书，占全书的较大部分，它们大多是定量分析实验和酶学实验。其目的在于使植物生理学的实验教学由验证植物生理学的基本原理为主，转入定量测定植物体内发生的生理生化变化为主，从而使学生在学习基础课的阶段就能学到更多的新方法、新技术，接触到更多的

新仪器，得以开扩思路，便于具备从事研究工作的基础。

目前国内外出版的植物生理学教材，对植物激素和生长发育方面的实验普遍偏少。鉴于近年来这方面的研究发展较快，在生产实践中应用价值也较大，所以本书40%的实验是关于这方面的。

为适应教学的安排，本书采用的实验大部分可在半天内完成。其中有10多个实验需进行一天，有的持续时间更长。我们建议对某些实验可选做其中的一部分；有些实验可由教员提前准备好植物材料；另外一些实验则可与其他实验交叉进行。

本书编写过程中，曹宗巽教授、吴相钰教授给予了热情的指导，并对全书分别进行了校阅、修改和文字润饰。杨中汉副教授对编写的指导思想和实验的选择提出了宝贵的建议。黄展同志为本书绘制了全部插图，在此一并致谢。另外，北京大学植物生理生化专业的许多老师，尤其是戴尧仁老师，在担任植物生理学实验课的教学期间，建立了许多实验方法，积累了宝贵的教学经验。这些方法和经验为作者编写本书打下了一定的基础。

本书结构的安排和选入的实验可能有不妥之处，限于作者的水平，缺点和错误在所难免。衷心地希望读者给予指正。

编者

于北京大学1988.3.

目 录

第一章 植物的细胞生理	(1)
实验 1 植物细胞中原生质流动的观察	(1)
实验 2 植物细胞透性的显微观察	(4)
实验 3 影响细胞膜透性的环境因素	(8)
实验 4 细胞质壁分离法测定植物组织的渗透势	(11)
实验 5 温度和植物激素对细胞有丝分裂指数的影响	(13)
第二章 呼吸作用	(17)
实验 6 植物呼吸强度的测定	(17)
实验 7 呼吸商的测定	(19)
实验 8 离体线粒体的氧化作用和磷酸化作用	(22)
实验 9 植物体内几种呼吸酶的鉴定	(28)
实验 10 苹果酸脱氢酶活性的测定	(32)
实验 11 琥珀酸脱氢酶活性的测定	(34)
实验 12 过氧化物酶和多酚氧化酶活性的测定	(37)
实验 13 酪氨酸酶的分离提纯和酶的性质及活力的测定	(40)
第三章 光合作用	(46)
实验 14 叶绿体色素的提取及理化性质的鉴定	(46)
实验 15 叶绿体色素的分离及其光谱性质	(48)
实验 16 分光光度法测定叶绿素a、b和类胡萝卜素的含 量	(51)

实验17	离体叶绿体的光还原反应——Hill反应	(54)
实验18	光合强度的测定(红外线CO ₂ 测定法)	(58)
实验19	环境因子对植物光合作用的影响	(61)
实验20	蓝藻中光合色素的提取及其含量测定	(64)
实验21	蓝藻光合作用的作用光谱	(68)
实验22	锰对蓝藻放氧活性的影响	(71)
实验23	双磷酸核酮糖羧化酶活性的测定	(73)
实验24	乙醇酸氧化酶活性的测定	(76)

第四章 水分生理 (80)

实验25	植物组织含水量的测定	(80)
实验26	小液流法测植物组织的水势	(82)
实验27	蒸腾强度的测定	(85)
实验28	植物伤流量的测定及伤流液中矿质元素的点滴分析	(88)
实验29	植物伤流液中氨基酸含量的测定	(92)
实验30	气孔运动和钾离子的迁移	(96)

第五章 矿质营养 (98)

实验31	植物材料灰分含量的测定	(98)
实验32	植物灰分中矿质元素的鉴定	(100)
实验33	植物体内磷的测定	(103)
实验34	植物体内铁的测定	(105)
实验35	植物的溶液培养和元素缺乏症	(108)
实验36	单盐毒害及离子拮抗作用	(112)
实验37	植物对离子的选择性吸收	(113)

第六章 氮代谢 (116)

实验38	大豆粉中氮的测定	(116)
------	----------	-------

实验39	植物材料中硝态氮含量的测定.....	(120)
实验40	硝酸还原酶活性的测定.....	(123)
实验41	小麦幼苗中蛋白质含量的测定.....	(126)
实验42	种子内蛋白酶活性的测定.....	(130)
实验43	植物组织中核酸含量的测定.....	(134)
实验44	核糖核酸酶 (RNase) 活性的测定.....	(138)

第七章 植物激素 (141)

实验45	生长素和脱落酸的生物鉴定——小麦胚芽鞘直 型生长试验	(141)
实验46	赤霉素诱导大麦种子 α -淀粉酶的合成	(144)
实验47	萝卜子叶扩大法测细胞分裂素活性.....	(149)
实验48	尾穗苋黄化苗子叶的苋红合成法 测定细胞分 裂素含量	(152)
实验49	IAA、GA ₃ 和CTK对豌豆茎和根生长的影响	(154)
实验50	休眠芽中脱落酸 (ABA) 的分离和鉴定	(158)
实验51	2, 4-D的选择性除草作用.....	(160)
实验52	麦草畏对小麦生长的影响	(161)
实验53	除莠剂对固氮蓝藻生长和光合活性的影响	(165)

第八章 种子生理 (169)

实验54	种子发芽率的快速测定.....	(169)
实验55	光敏感莠苣种子萌发中光敏色素的作用	(173)

实验56	萌发小麦种子内 α -淀粉酶活力的测定	(175)
实验57	油料种子萌发时脂肪的转化和脂肪酶活力的测定	(178)
实验58	种子萌发时蛋白质的转化	(181)
实验59	种子内赖氨酸含量的测定	(183)

第九章 植物的生长、分化和成花生理 (187)

实验60	叶片样品的统计取样和叶面积测定	(187)
实验61	植物的向性运动	(191)
实验62	植物发育过程中可溶性蛋白和过氧化物酶及酯酶同工酶的凝胶电泳分析	(193)
实验63	植物激素与黄瓜的性别分化	(200)
实验64	苍耳的光周期诱导	(202)
实验65	日本青萍的光周期诱导	(205)

第十章 植物的生殖、成熟和衰老 (209)

实验66	荧光法分析花粉中的游离氨基酸	(209)
实验67	花粉管的生长及其向化性	(214)
实验68	烟草胚珠的离体受精	(217)
实验69	乙烯对果实的催熟作用	(221)
实验70	葡萄中可溶性糖含量的测定	(224)
实验71	苹果中维生素C含量的测定	(226)
实验72	梨果中酚类物质的分布和含量测定	(229)
实验73	柑桔皮中果胶含量的测定	(232)
实验74	番茄果实中果胶酶活性的测定	(235)
实验75	切花的延衰保鲜	(239)
实验76	激动素对离体小麦叶片中超氧化物歧化酶活性	

	的影响.....	(242)
实验77	小麦叶片在衰老过程中过氧化脂质含量的变化	(245)
第十一章	植物的逆境生理	(249)
实验78	干旱和盐度对植物体内游离脯氨酸积累的影响	(249)
实验79	低温对植物的伤害作用.....	(252)
附 录	(255)
附录 1	本书使用的SI单位物理量.....	(255)
附录 2	常用的酸碱及其主要性质.....	(256)
附录 3	常用的有机溶剂及其主要性质.....	(257)
附录 4	一些常用的缓冲溶液.....	(259)
附录 5	几种常用的 pH 标准缓冲液的组成.....	(265)
附录 6	常用的酸碱指示剂.....	(266)
主要参考书	(268)

第一章 植物的细胞生理

实验1 植物细胞中原生质流动的观察

原 理

原生质流动是植物细胞中普遍存在的现象。不同的环境条件、不同的细胞，原生质流动的方式、速度等都不同。可根据细胞质中细胞器（如叶绿体）和某些颗粒的移动来观察原生质的流动。流动的动力来源于植物的呼吸作用，因此凡是能影响细胞呼吸作用的因素（如温度），以及呼吸作用的抑制剂等均可影响原生质流动。

材料和设备

一、植物材料：黑藻 (*Hydrilla verticillate*)；轮藻 (*Chara*)；小麦 (*Triticum aestivum*) 幼苗根；紫鸭趾草 (*Tradescantia virginiana*) 雄蕊花。

二、设备：显微镜；解剖针；目镜、物镜测微尺；镊子；剪刀。

三、试剂： $5 \times 10^{-4} \text{mol/dm}^3$ 2, 4-DNP（二硝基酚）溶液。

实 验 步 骤

一、原生质流动的观察

1. 用镊子取下黑藻幼嫩叶片放在载玻片上，滴一滴

水，盖上盖玻片，在显微镜下观察。可以看到沿叶片中脉部分的细胞中叶绿体沿胞壁移动（若室温较低或阴天看不到原生质流动时，可用强光照射15—20min后再观察）。注意观察在整个叶片中哪一部分细胞原生质流动最快？相邻两细胞中原生质流动的方向有无不同？

2. 取一段轮藻（含两个以上的节），用水冲洗后于显微镜下观察。轮藻的节间外面常有沉积物，故不易看清其内部。可先在低倍镜下移动载玻片，找到易看清的部位再换成高倍镜观察。轮藻细胞中叶绿体排列整齐，但不随原生质一起流动，可看到原生质的透明部分夹带着大小颗粒一起流动。

3. 将长有丰富根毛的小麦根剪下放在载玻片上，加一滴水，盖上盖玻片，于低倍镜下找到根尖附近的根毛区，然后转用高倍镜，在较弱的光强下观察一根根毛。仔细转动细准焦螺旋，可以看到透明的原生质沿根毛细胞壁流动，时而又夹带着一些颗粒。

4. 将正在开放或将要开放的紫鸭趾草花剥开，取出花丝置显微镜下观察，可以看到细胞中央有多条纵沟，原生质在活跃地运转。

二、呼吸作用抑制剂2,4-二硝基酚对原生质流动的影响

取一根紫鸭趾草花丝，置显微镜下观察，看到原生质流动后，在盖玻片的一端滴几滴2,4-二硝基酚溶液，在另一端用滤纸吸水，如此反复几次，就可使花丝周围的溶液中2,4-二硝基酚达到应有的浓度。经过5—20min后就可观察到原生质流动的速度大大减慢甚至完全停止。

三、原生质流动速度的测定

根据原生质中某些颗粒的移动速度，可测定原生质流动的速度。由于颗粒大小不同，其移动速度也不同，应尽可能观察最小颗粒的移动情况。

将目镜测微尺装入目镜^[1]，把镜台测微尺^[2]置载物台上，使两个测微尺重叠在一起，计算出目镜测微尺上每格相当于镜台测微尺的格数，然后再根据镜台测微尺每格的实际长度换算出目镜测微尺每格的长度。撤去镜台测微尺，换上植物材料，用同一物镜观察。转动目镜，使其中的测微尺与细胞原生质流动的方向平行，用秒表求出原生质内颗粒每走一格所需的时间，以 $\mu\text{m}/\text{s}$ 为单位计算出原生质流动的速度。测定10次求出平均值。

结 果

1. 绘出几种植物细胞简图，用箭头表示原生质流动的方向。
2. 计算出原生质流动的速度。
3. 加入2,4-二硝基酚溶液后观察到什么现象？说明原因。

思 考 题

原生质流动有何生理意义？

[1] 目镜测微尺是放在目镜内的一种标尺。它是一块直径为20—21mm的圆形玻璃片，上面刻有直线标尺，一般长5mm，分成5大格，每一大格又分成10小格，共计50小格。

[2] 镜台测微尺是一种特制的载玻片，在它的中央有一个有刻度的标尺，全长为1mm，共分为10大格，每一大格又分为10小格，共100小格，每一小格长0.1mm，即10 μm 。在标尺的外围有一小黑环，以便于找到标尺的位置。标尺用树胶粘在载玻片上，用圆形盖玻片封起来。

实验2 植物细胞透性的显微观察

原 理

每个细胞都具有精致和复杂的膜系统。所有的膜，无论是质膜、液泡膜、核膜或包被其它细胞器的膜，除具有大体相似的化学组成外，还有一个共同的重要性质即选择透性。细胞中所有的膜只允许水分子自由通过，溶液中不同的溶质则各自以不同速度透过，有些物质几乎完全不能透过膜。不同年龄，不同机能的细胞以及不同的膜对物质的透性都不尽相同。选择透性是生活细胞的特征。

当把植物细胞放入高浓度的溶液中时，细胞中的水渗出，整个原生质体缩小，逐渐与细胞壁脱离，这就是质壁分离。外液浓度越高，原生质体收缩得越显著。在这里我们可以把整个原生质看成是一个膜，但原生质并不是理想的半透膜，随着时间的延长，溶质会或多或少地进入细胞，细胞液的浓度随之增高。若将已经发生质壁分离的细胞再移入低浓度溶液或水中，水又会重新进入细胞，于是原生质体逐渐恢复原状，即出现质壁分离的复原。

材料和设备

一、植物材料：洋葱(*Allium cepa*)鳞茎；水绵(*Spirogyra communis*)；蚕豆(*Vicia faba*)。

二、设备：显微镜；2. 镊子；刀片。

三、试剂： $1.0\text{mol}/\text{dm}^3$ 蔗糖溶液； $1.0\text{mol}/\text{dm}^3\text{KNO}_3$ 溶

液； $1.0\text{mol}/\text{dm}^3\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液；10%脲溶液^[1]；24%脲溶液。

实验步骤

一、质壁分离及质壁分离的复原

用镊子取下一块 $5\times 5\text{mm}$ 的洋葱鳞茎内表皮，放在加有一滴水的载玻片上，盖上盖玻片，在显微镜下观察细胞的自然状态。在盖玻片的一端滴一至几滴 $1.0\text{mol}/\text{dm}^3$ 蔗糖溶液，在另一端用滤纸吸水，使蔗糖溶液慢慢浸入植物材料。在高倍镜下观察细胞中原生质体的变化。可以看到原生质先从细胞的边角开始，然后在粘附力较小的部分逐渐与细胞壁脱离，粘附力较大的部分仍然附在细胞壁上，分离继续进行，最后整个原生质体完全脱离细胞壁，缩成一团，表面平滑。这时在盖玻片一端滴几滴水，在另一端用滤纸吸水，如此反复进行几次，以洗去蔗糖，此时可以看到质壁分离逐渐停止，原生质体慢慢胀大并重新充满整个细胞，即质壁分离的复原。

二、帽状质壁分离和凹形质壁分离的观察

用镊子取下一块 $5\times 5\text{mm}$ 的洋葱鳞片内表皮，放在滴有1—2滴 $1.0\text{mol}/\text{dm}^3\text{KNO}_3$ 溶液的载玻片上，盖上盖玻片。首先在低倍镜下找到合适的部位，再在高倍镜下观察1—2个细胞的质壁分离情况。可以看到原生质体首先从细胞的边角

[1] 本书使用的百分比浓度有两种：(1)重量与体积百分比浓度 $[W/v]$ ，指 100cm^3 溶液中含溶质的g数，用于配制溶质为固体的溶液。如10%脲溶液，即10.0g脲，用水溶解，稀释到 100cm^3 ；(2)体积与体积百分比浓度 $[v/v]$ ，指 100cm^3 溶液中含溶质的 cm^3 数。用于配制溶质为液体的溶液。如10% H_2SO_4 溶液，指 10.0cm^3 市售浓 H_2SO_4 ，用水稀释到 100cm^3 。

处开始与细胞壁脱离，最后全部脱离，形成一个椭球体。由于 K^+ 透入中质后增加了原生质的水合度而使原生质膨胀，在细胞长轴两端原生质膨大如帽沿，同时细胞核也大大地膨胀了。我们称 KNO_3 引起的质壁分离为帽状质壁分离。以同样的方法用 $1.0\text{mol}/\text{dm}^3\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理细胞，由于 Ca^{2+} 透入中质后使原生质的水合度减小，更加粘稠，不易与细胞壁分离，在已分离的部分仍有原生质细丝与细胞壁联系着，呈典型的凹形质壁分离。凹形质壁分离的最后阶段，细胞也会缩成一团，但两端不膨大如帽沿。

当将材料浸入 $1.0\text{mol}/\text{dm}^3\text{KNO}_3$ 和 $1.0\text{mol}/\text{dm}^3\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 等量混合的溶液中时，由于 K^+ 和 Ca^{2+} 的拮抗作用，不出现 K^+ 所引起的帽状质壁分离，而呈现凹形质壁分离如图2-1。

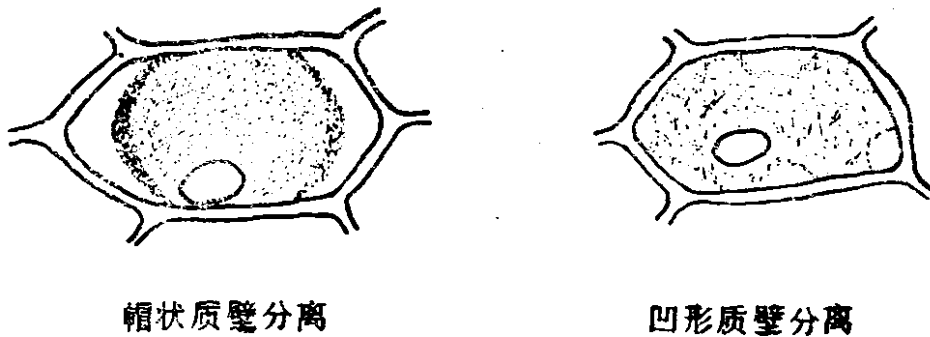


图2-1 细胞质壁分离的形式

三、不同年龄的水绵细胞对豚的透性

在同一根水绵丝状体上，由于细胞不断进行分裂，可同时存在不同年龄的细胞。幼嫩细胞外形较短，年老细胞则比较长。取2—3根新鲜水绵丝放在载玻片上，滴一滴水，显微镜下观察水绵细胞的自然状态。水绵细胞仅有一个带状叶绿

体，呈典型螺旋状，充满整个细胞。在盖玻片的一端滴2—3滴 $1.0\text{mol}/\text{dm}^3$ 蔗糖溶液，在另一端用滤纸吸水，使蔗糖溶液浸没水绵。数分钟后，如所有细胞都产生质壁分离，则说明这些细胞的渗透势大致相等。另取一些水绵丝，滴加1—2滴10%脲溶液，在显微镜下观察年老与年幼细胞对脲的反应有何不同？

四、不同机能细胞对脲的透性

小心撕取一块蚕豆叶片下表皮，放在载玻片上，滴1—2滴水，置显微镜下观察蚕豆叶片下表皮细胞和保卫细胞的自然状态，可以看到保卫细胞中有叶绿体，表皮细胞细胞质中有一些颗粒。在盖玻片的一端滴2—3滴24%的脲，在另一端用滤纸片吸水，如此重复2—3次，使脲达到应有浓度。在高倍镜下观察，此时可以看到表皮细胞及保卫细胞均产生质壁分离，但质壁分离复原所需的时间长短不同。哪种细胞质壁分离复原快？

结 果

1. 绘图说明帽状质壁分离和凹形质壁分离。
2. 绘图说明年老与年幼细胞对脲的不同反应。
3. 表皮细胞和保卫细胞对脲的反应有何不同？

思 考 题

1. 细胞膜的选择透性对维持细胞正常的生命活动有何重要意义？
2. 为什么有的物质容易透过膜，有的却很难透过膜？

实验3 影响细胞膜透性的环境因素

原 理

生活细胞的膜系统具有选择透性，但如果以不同的物理化学方法（如高温、低温、不同的化学试剂等）处理细胞，就会使膜对物质的透性发生改变。甜菜块根细胞中含有大量红-紫色素（甜菜花青素 betacyanin），在正常情况下，色素不会从细胞中流出；但经过不同处理，膜透性发生改变，色素就会渗出。本实验用比色法测定从细胞中渗出色素的量，来确定膜透性的变化。

材料和设备

- 一、植物材料：甜菜(*Beta vulgaris*)块根。
- 二、设备：72型分光光度计(用1cm 光程的比色杯)；2. 直径1cm 打孔器；解剖针；4. 恒温水浴；试管。
- 三、试剂： $0.1\text{mol}/\text{dm}^3\text{CaCl}_2$ ； $0.1\text{mol}/\text{dm}^3$ 蔗糖；甲醇；丙酮；苯。

实 验 步 骤

一、温度对膜透性的影响

取一个大的甜菜块根，用直径1cm 的打孔器打出若干完整的圆柱体，然后用锋利的刀片将其切成0.3cm 厚的圆片，共切出28片。将切好的圆片在水龙头下冲洗 5min，洗去从破碎细胞中流出的色素，用滤纸吸干甜菜圆片表面的水。

将 4 片圆片放入一支试管，再把试管置低温冰箱中，20min 后取出，加入 5cm^3 室温蒸馏水，浸泡 15min 后将甜