

植物生理学实验指导



5-33

山东科学技术出版社

植物生理学实验指导

山东农学院
西北农学院 编

*

山东科学技术出版社出版
山东省新华书店发行
山东新华印刷厂德州厂印刷

*

787×1092毫米32开本 10印张 2插页 193千字
1980年6月第1版 1980年6月第1次印刷
印数: 1—13,600
书号 16185·40 定价 1.10元

编写说明

这本《植物生理实验指导》是根据全国农业院校植物生理学教材编写组商定的大纲，由山东农学院和西北农学院共同编写的，初稿经修订后曾于1979年春季由黑龙江农垦大学协助印制，供全国农业院校试用。这次公开出版时，我们吸收了一些兄弟院校在试用期间提供的意见和经验，并参照我们自己的实验结果，对实验项目和内容作了少量增补和修订。全书共收入实验项目四十八项，按不同方法计算共八十五项。

根据教材编写组商定的原则，该书的对象主要是高等农业院校的学生，其目的在于加强学生基本操作、基本技能的训练，验证课堂所学理论；同时，也适当照顾教师的参考和各院校根据具体情况对实验项目进行的选择。在实验内容上，要求精密实验与简易实验相结合，室内常规分析和田间快速测定相结合，验证性实验与定量性实验相结合。在编写中，我们尽量按照以上原则取舍内容。考虑到当前各院校设备条件，一些必须利用大型精密仪器才能进行的实验，一时还不能作为学生的实验项目开设，故暂未编入；另一些适于田间快速测定的方法，虽然精确度往往不如常规分析法，但有些方法对于当前我国广大农村的群众性科学实验

组织仍是适用的；此外，书中还增加了一部分验证性实验，这些实验有的可作为课堂示范，有的也可由学生自做，不必强求一律。我们认为，验证性实验在帮助学生理解基本理论，提高课堂效果方面有重要作用，不可忽略。

在1979年的试用本中，曾收入了一份植物生理生化实验室必备仪器和药品清单，由于绝大多数农业院校已用过这个版本，而且其中仪器部分还在《植物生理学通讯》1979年第一期刊登过，这次出版就没有保留的必要了。

这次出版虽然经过了修订，然而由于我们水平所限，错误在所难免，希望各院校将使用过程中发现的问题和积累的经验及时反映给我们，今后如有机会再版时当予修正和补充。

编 者

一九八〇年一月

目 录

编写说明

实验一	植物细胞的活体染色及死活鉴定·····	1
实验二	植物细胞的质壁分离·····	4
实验三	谷物蛋白质含量的快速鉴定·····	9
实验四	植物组织中核酸的分离与提取·····	16
实验五	核酸含量的测定·····	20
实验六	淀粉酶的测定·····	32
实验七	同功酶的测定·····	37
实验八	叶绿体色素的提取、分离和理化性质·····	51
实验九	叶绿素的定量测定·····	57
实验十	希尔反应的观察（示范）·····	64
实验十一	碳3与碳4植物的同室效应（示范）·····	66
实验十二	植物光合强度的测定·····	69
实验十三	小麦、水稻等植株不同部位对产量的贡献·····	88
实验十四	植物呼吸作用存在的证据（示范）·····	90
实验十五	植物呼吸强度的测定·····	92
实验十六	水稻种子萌发对氧气的需要·····	100
实验十七	植物体内呼吸酶的测定·····	103
实验十八	过氧化氢酶活性测定·····	109

实验十九	植物组织含水量与水分饱和亏的测定·····	115
实验二十	植物组织水势的测定·····	121
实验二十一	植物细胞溶质势的测定·····	129
实验二十二	蒸腾强度的测定·····	133
实验二十三	小孔扩散的观察(示范)·····	141
实验二十四	气孔状况的观测·····	143
实验二十五	细胞汁液浓度的测定·····	152
实验二十六	植物组织中自由水和束缚水含量的测定··	159
实验二十七	伤流液的收集和伤流量的测定·····	162
实验二十八	伤流液中主要化学成分的分析与鉴定·····	169
实验二十九	根系活力的测定·····	179
实验三十	植物的溶液培养和缺乏必需元素时的症状 ·····	191
实验三十一	植物组织中可溶性糖和淀粉的定量测定··	196
实验三十二	植物体内蛋白质氮和非蛋白质氮的测定··	206
实验三十三	氨基酸的纸上色层分析·····	223
实验三十四	氨基酸的薄层层析·····	232
实验三十五	植物组织中氨基酸总量的测定·····	239
实验三十六	玉米种子中赖氨酸含量的快速测定·····	247
实验三十七	玉米籽粒中色氨酸含量的定量测定·····	252
实验三十八	水分、有机物和气体运输途径的观察 (示范)·····	256
实验三十九	黄化现象的观察·····	263
实验四十	种子生活力的快速测定·····	267

实验四十一	植物的相关现象·····	275
实验四十二	作物对淹涝的反应及根系在维持叶片活力 和茎端生长方面的重要性（示范）·····	277
实验四十三	用半穗法测小麦籽粒增重·····	280
实验四十四	植物春化现象的观察·····	283
实验四十五	植物光周期现象的观察·····	285
实验四十六	植物激素类物质的生理效应及生物鉴定法 ·····	287
实验四十七	植物激素类物质在农业生产中的应用·····	299
实验四十八	植物抗逆性的鉴定（电导仪法）·····	308

实 验 一

植物细胞的活体染色及死活鉴定

【目的】

活体染色可用来研究活细胞的透性、电荷、氢离子浓度、氧化还原电位等许多细胞生理的问题。根据着色情况的不同，还可鉴定细胞死活。本实验练习碱性染料中性红的活体染色技术，作为鉴定细胞死活的一种基本方法，并帮助理解活体染色的基本原理。

【原理】

活体染色是利用某种对植物无害的染料稀溶液对活细胞进行染色的技术。中性红是常用的活体染料之一，它是一种弱碱性pH指示剂，变色范围在pH6.4—8.0之间（由红变黄），在中性或微碱性环境中，植物的活细胞能大量吸收中性红并向液泡中排泌，由于液泡在一般情况下呈酸性反应，因此，进入液泡的中性红便解离出大量阳离子而呈现樱桃红色。在这种情况下，原生质和细胞壁一般不着色。死细胞由于原生质的透性消失，细胞液不能维持在液泡内，因此用中性红染色后，不产生液泡着色现象，相反，中性红的阳离子却与带有一定负电荷的原生质及细胞核结合，而使原生质与细胞核染色。

【材料与设备】

植物材料

- (1) 洋葱鳞茎（或大葱假茎基部幼嫩部位）；
- (2) 小麦叶片。

仪器与用具

- (1) 显微镜 1 台；
- (2) 小培养皿 1 套；
- (3) 载玻片 2 片；
- (4) 盖玻片 2 片；
- (5) 单面刀片 1 片；
- (6) 尖头镊子 1 把；
- (7) 酒精灯 1 具；
- (8) 火柴 1 盒。

试剂

- (1) 0.03% 中性红溶液；
- (2) 1M 硝酸钾溶液。

【方法】

1. 切下一片较幼嫩的洋葱鳞片，用单面刀片在鳞片内侧纵横割划成 1 平方厘米左右的小块，用尖头镊子将内表皮小块轻轻撕下，即可投入中性红溶液染色（表皮内侧向下！）。小麦叶片表皮细胞不易撕取，可以用刮去叶肉的方法制取，将小麦叶片平放在载玻片上，用水蘸湿，手持单面刀片轻轻刮去上表皮、叶肉和叶脉，只留下一层下表皮细胞，当刮到只剩下少量叶肉细胞时要十分小心，用力太重容易损伤表皮细胞，甚至只剩下一层细胞壁，太轻又会留下过多的叶肉，影响观察，只要反复练习多次即能掌握。除小麦外，其他禾本科植物如玉米、高粱、谷子、水稻等均可用此法制取表皮细胞制片。刮好后，用刀片切成 1 厘米长的小块。

2. 将切好的制片投入 0.03% 的中性红溶液中染色 10~15 分钟，取出用蒸馏水稍加冲洗，在显微镜下观察，会看到此

时主要是细胞壁染色，而原生质和液泡不染色。

3.将制片放在自来水（或井水、pH略高于7.0）中浸泡10~15分钟，再放回到载玻片上观察，将发现细胞壁强烈脱色，而液泡被染成均匀的樱桃红色，细胞核和原生质不染色，因此，不易观察到。

为了确证中性红染色的部位，可将上述洋葱内表皮染片浸入1M的硝酸钾溶液中10分钟左右，然后取出观察。由于硝酸钾能使原生质强烈膨胀，发生“帽状质壁分离”（参见实验二），因而能清楚地区别开无色透明的原生质和染成红色的液泡。

5.将步骤（3）中的活染制片放在酒精灯火焰上微微加热，以杀死细胞，再放在显微镜下观察，会看到原生质凝结成不均匀的凝胶状，与细胞核一起被染成红色。

6.在活染制片中仔细寻找，可能看到个别死细胞，经中性红染色后其细胞核清晰可辨。

实 验 二

植物细胞的质壁分离

【目的】

植物细胞在高渗溶液中发生的质壁分离现象与其活原生质特别是原生质表层的性质有密切关系，是原生质具有分别透性的具体表现。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，质壁分离法还可用来研究原生质的粘滞性，测定细胞的溶质势，在细胞生理、水分生理及抗性生理研究上都有重要作用。本实验练习观察质壁分离及其复原以及不同情况下质壁分离的不同形式，以掌握有关原生质性质方面的部分基本概念。

一、质壁分离与质壁分离复原

【原理】

成长的细胞是一个渗透系统，活原生质及其表层具有分别透性，原生质层内部包含着一个大液泡，具有一定的溶质势。当细胞与外界高渗溶液接触时，细胞内的水分外渗，原生质随着液泡一起收缩而发生质壁分离，其后，当与清水（或低渗溶液）接触，或当外面的溶质进入时，具有液泡的原生质体就又吸水而发生质壁分离复原。

【材料与设备】

植物材料

- (1) 洋葱鳞茎（或大葱假茎基部幼嫩部位）；
(2) 蚕豆叶片； (3) 小麦叶片。

仪器与用具

- (1) 显微镜 1 台， (2) 小培养皿一套；
(3) 载玻片 1 片； (4) 盖玻片 1 片；
(5) 酒精灯 1 具； (6) 尖头镊子 1 把；
(7) 单面刀片 1 片； (8) 火柴 1 盒；
(9) 吸水纸适量。

试剂

- (1) 0.03% 中性红溶液； (2) 1M 硝酸钾溶液；
(3) 4 M (24%) 尿素溶液。

【方法】

1. 取洋葱鳞片或小麦叶片按实验一中的方法进行制片和活体染色。

2. 将染好色的制片放在载玻片上，盖好盖玻片，在显微镜下观察，可以看出明显的液泡染色，无色透明的原生质层则紧贴细胞壁（在细胞的角隅上可以看见）。

3. 从盖玻片的一边滴一滴 1M 硝酸钾溶液而在对边用滤纸吸水，将硝酸钾溶液引入盖玻片下使与制片接触并立即镜检，可看到细胞内很快发生凸形质壁分离。

4. 观察到质壁分离后，于盖玻片一边小心加清水一滴，于对边用滤纸缓缓吸去水液，重复二次，使质壁分离剂（即

高渗的硝酸钾溶液)被基本上洗吸掉。镜检,可看到质壁分离停止进行,相反,带有液泡的原生质体开始重新吸水膨大,最后又充满整个细胞腔,这就是质壁分离复原现象。质壁分离复原缓缓进行时,细胞仍会正常存活;如进行很快,则原生质体会发生机械破坏而死亡。

5.撕取蚕豆(或其他植物)叶片下表皮置于载玻片上,滴加4 M (24%) 尿素溶液后立即盖上盖玻片并进行镜检。首先可见表皮细胞及保卫细胞同时发生质壁分离,约10—15分钟后保卫细胞便开始发生质壁分离复原,由于保卫细胞的充分紧张,气孔大开,而其他表皮细胞经长时间(甚至几小时)后才开始发生质壁分离复原,可见不同功能的细胞对物质有不同的透性。

6.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,再引入高渗硝酸钾溶液,观察有无质壁分离发生。

二、质壁分离的不同形式

【原理】

植物细胞的质壁分离形式,有凸形、帽形、凹形、痉挛形(特别严重的凹形)等形式。一般起初往往是凹形,后来渐渐变为凸形,质壁分离形式的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质壁分离,甚至成为痉挛形;原生质的粘性降低时,较快到达凸形

质壁分离，甚至不经过凹形阶段。本实验观察由于 Ca^{++} 、 K^{+} 离子对原生质粘性的不同影响而发生不同形状的质壁分离的现象。 Ca^{++} 离子能降低原生质水合度，使原生质粘性加大， K^{+} 离子正好相反。所以经前者处理后，发生凹形质壁分离，后者则发生凸形质壁分离。当用 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，因此称为帽状质壁分离（图1）。

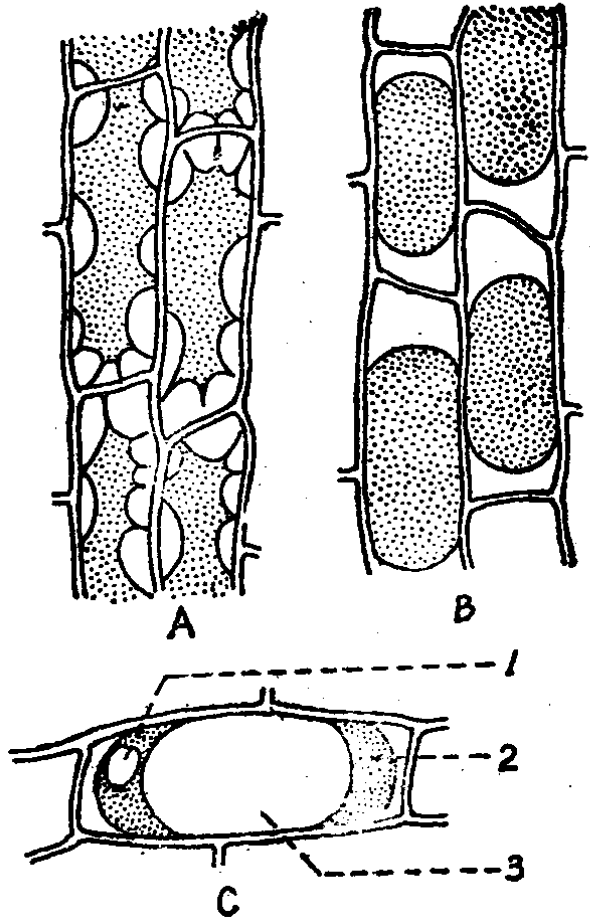


图1 质壁分离的不同形式

A. 凹形质壁分离 B. 凸形质壁分离
C. 帽形质壁分离 1. 细胞核 2. 膨胀的原生质 3. 液泡

【材料与设备】

同实验一。另加1M氯化钙溶液。

【方法】

1.按实验一制取洋葱鳞片或小麦叶表皮活染制片各两份，分别置于载玻片上，一片滴加1M硝酸钾溶液一滴，另

一片滴加氯化钙溶液一滴，盖上盖玻片进行镜检，可见钾盐溶液使细胞发生凸形质壁分离，20—30分钟后，由于原生质的膨胀，可变为帽形质壁分离；而钙盐处理的则发生凹形或痉挛形质壁分离，较长时间以后，可能有部分细胞原生质全部离开细胞壁，而转变为凸形质壁分离，但绝不会表现为帽状，可与 K^+ 处理的相区别。

2. 将观察到的凹形、凸形、帽形质壁分离的形式各绘一简图，并解释实验结果。

【问题】

1. 根据实验结果，叙述活细胞与死细胞原生质性质有哪些不同？如何加以区别？

2. 质壁分离法在细胞生理研究上有哪些用途？

实 验 三

谷物蛋白质含量的快速鉴定

【目的】

蛋白质是大分子的含氮有机物。谷物种子蛋白质的数量和其组成决定着谷物的营养价值，因此谷物的蛋白质品质已成为近代育种工作的重要内容之一。谷物蛋白质品质育种工作需要测定蛋白质的含量，本实验介绍两种快速测定方法以测定小麦及其他谷物种子中蛋白质的含量。这些方法简便快速，适用于谷物品质鉴定和育种材料的筛选工作。

一、染料结合法

【原理】

一些偶氮磺酸染料，如橙红G (OrangeG) 能与蛋白质中的碱性氨基酸的咪唑基（组氨酸）、胍基（精氨酸）和氨基（赖氨酸的 ϵ -氨基）结合，形成不溶性沉淀物而减少溶液中染料的浓度。所以根据染料减少的数量，就可计算出碱性氨基酸的含量。一般碱性氨基酸与蛋白质总量的比值恒定，此法可作为测定蛋白质含量的快速方法。通常用染色力（即每克样品结合染料的毫克数）表示蛋白质含量的高低，染色力高的蛋白质含量高，染色力低的蛋白质含量低。

【材料与设备】

谷物样品

取待测谷物磨碎、过100目筛、烘干，贮于干燥器中待用。

仪器与用具

- (1)分析天平 1架；
- (2)振荡机 1架；
- (3)小漏斗 2个；
- (4)小滤纸 2张；
- (5)小试管 2支；
- (6)铅笔 1支；
- (7)座标纸 10×10 平方厘米；
- (8)带磨塞三角瓶50毫升 2个；
- (9)量瓶：10毫升 6个、50毫升 2个、100毫升 1个；
- (10)刻度吸管：2.0毫升 1支、5.0毫升 1支、10.0毫升 1支；
- (11)72型分光光度计 1架。

试剂

(1)pH2.2柠檬酸—磷酸氢二钠缓冲液：先配0.1M柠檬酸(即 $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ 21.01克/升)和0.2M $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ (即71.64克/升)，再取0.1M柠檬酸液487.5毫升和0.2M Na_2HPO_4 液12.5毫升混合即为500毫升pH2.2柠檬酸—磷酸氢二钠缓冲液。

(2)0.2%偶氮磺酸(即Orange G)染料：称0.200克橙红G溶解于100毫升pH2.2柠檬酸—磷酸氢二钠缓冲液中。

【方法】

1.制作偶氮磺酸染料标准曲线：

(1)称100毫克橙红G，溶于少量pH2.2柠檬酸—