

# 植物生理学 实验手册

上海植物生理学会 编

上海科学技术出版社

ND 02101

# 植物生理学实验手册

上海植物生理学会 编



上海科学技术出版社

**植物生理学实验手册**

上海植物生理学会 编

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

发行所在上海发行所发行 上海商务印刷厂印刷

开本 850×1156 1/32 印张 20.625 字数 543,000

1985年6月第1版 1985年6月第1次印刷

印数：1—12,300

统一书号：13119·1127 定价：5.85元

主 编 薛应龙

常务编委 薛应龙 夏镇澳

编委会 上海植物生理学会理事会

## 编者的话

中国植物生理学会接受上海科学技术出版社提出编写《植物生理学实验手册》的要求,并把这个任务委托给上海植物生理学会理事会,理事会推选薛应龙同志担任主编。这无疑是一个非常重要和迫切需要的但同时也是相当艰巨的任务。大家清楚,实验不同于理论知识,任何生命活动的基本规律和生理过程的作用机理,都必需经过实验的验证,而理论要应用到生产实践则更需要通过实验来达到。近十几年来,国际上植物生理学的发展突飞猛进,而我国“十年动乱”使科学遭受到严重的破坏,甚至倒退。植物生理学要赶上国际水平以及要更好地为“四化建设”服务,首先要积极而广泛地开展植物生理学的研究工作,因此实验手册作为科学研究的指导和参考工具,显然是十分需要的。

《手册》内容是经编委会多次讨论并向全国植物生理学工作者广泛征求意见后反复研究确定的。原则上内容要求:既要有广度,又要有深度;既要反映现代技术的应用,也要包括常用技术的训练;既要为专门研究提供参考,也要为基本实验用作指导;既要适应当前分子科学水平的发展,也不能忽视整体和细胞水平的重要性。我们力求内容比较全面,冀能适应我国目前植物生理学研究现状,并希望《手册》的参考适用范围能包括专业研究单位,综合性大学,以及师范、农、林等大专院校的植物生理学和生物化学工作者和有关学科的高年级学生。

《手册》的内容分为三部分:第一部分,植物生理过程的实验方法;这一部分是手册最主要的内容,共包括138个各个生理过程的实验。第二部分,植物生理的系统实验技术;这一部分比较系统地介绍了九类现代的和基本的常用实验技术,这些技术将有助于

读者全面了解植物生理学的研究方法。第三部分，附录——植物生理实验的基础资料；这一部分内容虽不是实验技术本身，但在进行实验时是经常要用到的，因此对读者的查阅是方便的。

《手册》的编写得到上海植物生理研究所、复旦大学、华东师范大学、上海农科院等单位的大力支持，大都安排了有实际经验的同志撰写有关实验项目，个别实验还约请北京植物研究所的同志撰写，因此《手册》的内容基本上具有严格的科学性和方法的可靠性，能起到指导或参考的作用。

《手册》是在一个较短的时间内完成的，还存在许多不足之处。首先，由于撰写者人数众多，因此文章的格调、表达的方式都不统一，虽经过编者的修改、协调，但仍难免有前后不够一致的感觉；其次，各生理过程之间的内容，在数量上的多少很不平衡，特别是水分和矿质营养只有几个实验，实际上这也反映了我国目前植物生理学各分支部分间的布局还不合理，我们希望读者提供建设性意见，在将来再版时予以弥补改进；第三，有部分技术的内容，例如光谱分析技术，实际应用的指导意义还不广泛，这是由于其中的一些技术在我国还应用得很少，经验不多，需要在实践中不断普及并充实提高，因此也希望经过一段时间的努力后，将来再版时能得到改善。

《手册》在编撰过程中一直得到中国植物生理学会理事长、植生所所长殷宏章教授以及植生所其他领导同志的关心和支持；此外，黄维南同志对《手册》开始的组稿，沈允钢、施教耐、唐锡华、余叔文、王洪春、丁静、陈因等同志对有关稿件内容的审阅都付出了辛勤的劳动，在这里一併表示深切的感谢。

薛应龙 夏镇澳

一九八二年十二月

# 目 录

## 编者的话

### 第一篇 植物生理过程的实验方法

第1章 细胞生理	1
1-1 植物原生质体的制备	1
1-2 植物线粒体制备及其活性测定	5
1-3 高等植物叶绿体的分离和制备方法	10
1-4 植物原生质体的活力测定	13
1-5 植物原生质体电泳率的测定	14
1-6 原生质体的融合方法	17
1-7 原生质粘滞性的测定	20
1-8 植物细胞壁的荧光观察	21
1-9 原生质穿壁运动现象的观察	23
1-10 细胞中原生质流动的观察	26
1-11 质壁分离和质壁分离复原	28
1-12 质壁分离法测定细胞液的渗透压	30
1-13 突变体的筛选——物理诱变	31
1-14 突变体的筛选——化学诱变	33
1-15 有丝分裂指数	37
1-16 植物细胞核的分离方法	38
1-17 细胞核和染色体的染色法	41
1-18 植物组织中核酸含量的测定	44
1-19 高等植物中 mRNA 的分离纯化	46
1-20 从植物组织分离 DNA 的方法	49
1-21 细胞生长的计量方法	52
1-22 融合细胞的挑选和培养	54

第2章	水分和矿质营养	57
2-1	压力室(Pressure chamber)法测定植物的水势	57
2-2	植物对矿质元素的需要——溶液培养技术	60
2-3	水稻的溶液培养	63
2-4	植物根系对离子的吸收和运输	65
第3章	抗性生理	67
3-1	植物细胞(质膜)差别透性的测定	67
3-2	逆境条件下乙烯、乙烷产生的测定	70
3-3	植物膜脂脂肪酸的气相层析技术	73
3-4	植物膜类脂的薄板层析技术	76
3-5	线粒体氧化酶活化能的测定	82
3-6	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATP}$ 酶活化能的测定	84
第4章	光合作用	87
4-1	气流法测定叶片光合速率	88
4-2	二氧化碳补偿点的测定	92
4-3	植物的光呼吸测定	94
4-4	田间取样气流法测光合作用	96
4-5	改进干重法测定光合作用	98
4-6	氧电极法测定光合作用	100
4-7	希尔反应活力的分光光度法测定	104
4-8	光合磷酸化反应活力的测定—— $^{32}\text{P}$ 酯化法	107
4-9	叶绿体偶联因子腺苷三磷酸酶(ATPase)活力的测定	111
4-10	生物发光法测定三磷酸腺苷(ATP)	115
4-11	光合作用中荧光和延迟发光的测定方法	117
4-11-1	荧光测定方法	117
4-11-2	延迟发光测定方法	121
4-12	二磷酸核酮糖(RuBP)加氧酶的测定	123
4-13	二磷酸核酮糖(RuBP)羧化酶的测定	125
第5章	呼吸和碳水化合物代谢	129
5-1	呼吸强度的气流法测定	129
5-2	呼吸强度的比重呼吸计测定方法	131
5-3	植物材料中可溶性糖的测定	134



5-3-1 葡萄糖测定	135
5-3-2 果糖测定	136
5-3-3 蔗糖的微量测定	137
5-3-4 可溶性总糖的测定	138
5-4 $\alpha$ -和 $\beta$ -淀粉酶活力的测定	138
5-5 木霉纤维素酶活性的测定	140
5-5-1 测定还原糖量以代表酶活力	140
5-5-2 粘度法	141
5-6 蜗牛酶(Snail enzyme)活性的测定	142
5-7 果胶酶活性的测定	143
5-7-1 果胶甲酯酶(PE)的测定	144
5-7-2 PG 果胶酶的测定	145
5-8 蔗糖酶活性的测定	146
5-9 蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶活性的测定	148
5-10 植物磷酸化酶的测定	150
5-10-1 比色法	150
5-10-2 分光光度法	152
5-11 淀粉合成酶、ADPG 焦磷酸化酶和 UDPG 焦磷酸化酶的测定	153
5-11-1 淀粉合成酶测定	153
5-11-2 菠菜叶片 ADP-glucose 焦磷酸化酶的测定	155
5-11-3 UDPG 焦磷酸化酶的测定	157
5-12 己糖激酶的测定	158
5-13 磷酸果糖激酶的测定	159
5-14 果糖二磷酸醛缩酶的测定	161
5-15 果糖 1, 6-二磷酸酯酶(FDPase, E. C. 3.1.3.11)的测定	162
5-16 三磷酸甘油醛脱氢酶的测定	164
5-17 烯醇化酶(Enolase)的测定	166
5-18 转二羟丙酮基酶或转醛醇酶(Transaldolase)的测定	167
5-19 磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)羧化酶的测定	169
5-20 转羟乙醛酶(Transketolase)的测定	171
5-21 丙酮酸激酶的测定	173

5-22	丙酮酸磷酸二激酶的测定 .....	174
5-22-1	测定 PEP 的形成 .....	175
5-22-2	丙酮酸形成方向的测定 .....	176
5-23	苹果酸酶(Malic Enzyme.E.C.1.1.1.40)的测定 .....	177
5-24	苹果酸脱氢酶活力的测定 .....	179
5-25	琥珀酸脱氢酶活性测定 .....	181
5-26	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性测定 .....	183
5-27	6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶活力的测定 .....	184
5-28	菠菜叶片核酮糖-5-磷酸激酶的测定 .....	185
5-29	菠菜叶片核糖-5-磷酸异构酶的测定 .....	188
5-30	苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定 .....	191
5-31	细胞色素氧化酶活性的测定 .....	192
5-32	多酚氧化酶活性的测定 .....	194
5-33	乙醇酸氧化酶活性的测定 .....	195
第6章	脂肪代谢 .....	198
6-1	粗脂肪的定量测定 .....	198
6-1-1	油重法 .....	198
6-1-2	残余法 .....	199
6-2	脂肪酶的测定 .....	201
6-3	磷脂酶活性的测定 .....	202
6-4	高等植物中脂肪酸的氧化作用 .....	205
6-5	脂类及其组分的分析 .....	207
第7章	氮代谢 .....	210
7-1	蛋白质的提取和测定 .....	210
7-2	硝酸还原酶的提取和测定 .....	213
7-3	脲酶的提取和测定 .....	216
7-4	转氨酶(GOT 和 GPT)的提取和测定 .....	219
7-5	谷氨酸脱氢酶的提取和测定 .....	222
7-6	谷酰胺合成酶和天门冬酰胺合成酶的提取和测定 .....	223
7-6-1	谷酰胺合成酶的提取和测定 .....	223
7-6-2	天门冬酰胺酶活性的测定 .....	225
7-7	酪氨酸酶的提取和测定 .....	227

7-8	色氨酸合成酶的提取和测定 .....	229
7-9	色氨酸转氨酶和色氨酸脱羧酶的提取和测定 .....	230
7-10	谷氨酸脱羧酶的提取和测定 .....	232
7-11	蓝藻的分离、培养和保存 .....	235
7-12	根瘤菌的分离、培养和保存 .....	239
7-13	自生固氮菌的分离、培养和保存 .....	241
7-14	根瘤菌的结瘤能力及根瘤固氮活性的测定 .....	245
7-15	豆科植物固氮中能量利用的相对效率测定 .....	246
7-16	根瘤菌和植物组织培养之间固氮联合体建立的方法 .....	248
7-17	非豆科植物的共生固氮活性测定 .....	250
7-18	生物固氮研究中测定氮固定的 $N^{15}$ 示踪法 .....	251
7-19	改良的微量氨扩散法 .....	254
7-20	简易的气体比例配制法 .....	256
7-21	简易的乙炔还原定量测定法 .....	259
7-22	简易的无氧柱层析方法 .....	264
7-23	测定固氮酶反应中常用药品——肌酸激酶的提取和磷酸肌酸 的制备 .....	268
7-23-1	肌酸激酶的提取 .....	268
7-23-2	磷酸肌酸(钠盐)的制备 .....	270
7-24	类菌体的制备及其固氮活性的测定 .....	272
7-25	蓝藻的异形胞和固氮酶的分离及其固氮活性的测定 .....	273
7-26	离体固氮酶活性的测定 .....	276
7-27	固氮酶的需还原剂 <b>ATP</b> 水解和需 <b>ATP</b> 放氢的测定 .....	279
7-27-1	固氮酶需还原剂 <b>ATP</b> 水解的测定 .....	279
7-27-2	固氮酶需 <b>ATP</b> 放氢的测定 .....	280
7-28	根瘤菌中外源凝集素和脂多糖的分离提纯 .....	281
7-29	根瘤中细胞色素 C 氧化酶和细胞色素 P-450 的分 离和测定 .....	284
7-30	棕色固氮菌固氮酶钼铁蛋白的分离和提纯 .....	288
	[附]巴氏梭菌固氮酶的分离和提纯 .....	290
7-31	棕色固氮菌固氮酶铁蛋白的分离和提纯 .....	290
7-32	钼铁蛋白中铁、钼辅因子的分离 .....	293

7-32-1	钼铁蛋白结晶的获得	294
7-32-2	铁钼辅因子的分离	295
7-33	钼铁蛋白中钼的测定	297
7-34	钼铁蛋白或铁蛋白中铁的测定	298
7-35	钼铁蛋白或铁蛋白中硫的测定	299
7-36	固氮酶蛋白的氨基酸组分分析	301
7-37	固氮酶分子量的测定——聚丙烯酰胺凝胶电泳法	303
7-38	氧化-还原电位测定的染料平衡法	307
7-39	氢酶活性的测定	309
7-40	豆血红蛋白的提取、分离和鉴定	311
7-41	铁氧还蛋白的提取和测定	313
<b>第8章</b>	<b>植物内源激素</b>	<b>316</b>
8-1	植物内源激素的提取、分离和纯化方法	316
8-2	生长素(IAA)的生物鉴定法	320
8-3	脱落酸(ABA)的生物鉴定法	321
8-4	赤霉素(GA)的生物鉴定法	322
8-5	细胞分裂素的生物鉴定法	324
8-6	乙烯的生物鉴定法	326
<b>第9章</b>	<b>生长发育</b>	<b>328</b>
9-1	植物种子生命力的快速测定	328
9-1-1	四唑(TTC)法	328
9-1-2	染料法	330
9-1-3	二硝基苯法	332
9-1-4	碘化钾反应法	333
9-2	植物从营养生长转向生殖时茎端体积、细胞数及重量变化的规律	334
9-2-1	茎端体积的测定	334
9-2-2	茎端细胞数的测定	335
9-3	牵牛开花的光周期诱导和开花刺激物质的移动	336
9-4	短日植物紫苏开花刺激物的嫁接传递	338
9-5	缺氧对植物春化过程通过的影响	341
9-6	植物发育过程中不同器官各种组织的酯酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、淀粉酶和几种脱氢酶同工酶鉴定	344

9-7	植物的离体授粉与受精 .....	347
9-8	植物光敏素控制植物生长发育的实验 .....	350
9-8-1	植物光敏素控制黄化豌豆苗的生长和发育 .....	351
9-8-2	合欢小叶的运动 .....	354
9-8-3	小叶节奏运动与植物光敏素控制的结合 .....	357

## 第二篇 植物生理的系统实验技术

第 10 章	组织培养技术 .....	358
10-1	悬滴多滴排列技术 .....	358
10-2	离体根培养 .....	362
10-3	茎尖培养 .....	365
10-4	子房培养 .....	368
10-5	胚培养 .....	371
10-6	胚珠培养 .....	372
10-7	花药培养 .....	374
10-8	花粉粒培养 .....	376
10-9	植物细胞的悬浮培养 .....	380
10-10	细胞同步培养 .....	381
10-11	植物原生质体培养 .....	383
10-12	原生质体的饲喂层培养 .....	387
第 11 章	植物制片技术 .....	390
11-1	基本过程 .....	390
11-1-1	杀生、固定与常用的固定剂 .....	390
11-1-2	脱水与脱水剂 .....	393
11-1-3	透明与透明剂 .....	393
11-1-4	染料与几种常用的染色方法 .....	394
11-1-5	封片及封片剂 .....	400
11-2	徒手切片法 .....	402
11-3	石蜡切片法 .....	403
11-4	冰冻切片法 .....	410
第 12 章	组织化学实验技术 .....	412
12-1	各种细胞成分的组织化学检定和定位 .....	412

12-1-1	碳水化合物的检定和定位	413
12-1-2	蛋白质的检定和定位	416
12-1-3	核酸的检定和定位	421
12-1-4	脂类的检定和定位	423
12-2	一些酶类的组织化学检定和定位	424
12-2-1	细胞色素氧化酶	426
12-2-2	过氧化物酶	427
12-2-3	多酚氧化酶	427
12-2-4	酸性磷酸酶	428
12-2-5	三磷酸腺苷酶	429
12-2-6	磷酸化酶	430
12-2-7	葡萄糖-6-磷酸(酯)酶	430
12-2-8	酯酶(非特异性的)	431
12-2-9	脱氢酶	432
12-2-10	琥珀酸脱氢酶	432
<b>第13章</b>	<b>显微摄影技术</b>	<b>434</b>
13-1	摄影	435
13-2	洗印和放大	441
13-3	印相和洗相	443
<b>第14章</b>	<b>层析技术</b>	<b>445</b>
14-1	吸附柱层析	445
14-2	纸层析	448
14-3	薄层层析	452
14-4	薄板层析	456
14-5	气相层析	462
14-6	聚酰胺薄膜层析	467
<b>第15章</b>	<b>电泳技术</b>	<b>470</b>
15-1	纸上电泳	471
15-2	淀粉平板电泳	477
15-3	醋酸纤维薄膜电泳	478
15-4	聚丙烯酰胺凝胶电泳	480
15-5	等电聚焦电泳	484
15-6	双向聚丙烯酰胺凝胶电泳	486

✓ 15-7	免疫电泳 .....	490
<b>第 16 章</b>	<b>光谱分析技术 .....</b>	<b>494</b>
16-1	紫外光和可见光分光光度法 .....	494
16-2	红外光谱技术 .....	498
16-3	火焰光度法和原子吸收分光光度法 .....	502
16-4	生物发光(BI)和化学发光(CI)分析 .....	508
16-5	荧光分析和荧光偏振技术 .....	513
16-6	量子效率、作用光谱和荧光激发光谱分析 .....	518
16-6-1	量子效率 .....	518
16-6-2	作用光谱、荧光激发光谱 .....	519
16-6-3	操作方法 .....	519
16-7	免疫荧光技术在植物叶片内酶的定位上的应用 .....	521
<b>第 17 章</b>	<b>微量定积检压技术 .....</b>	<b>526</b>
17-1	仪器构造 .....	526
17-2	仪器使用方法 .....	528
17-3	反应瓶常数的演算 .....	530
17-4	氧与二氧化碳交换的测定 .....	531
17-5	附录 .....	533
<b>第 18 章</b>	<b>酶的研究技术——植物体中酶的分离、提纯与 活力测定 .....</b>	<b>537</b>
18-1	材料的选择与处理 .....	538
18-2	酶的分离和提纯 .....	539
18-3	酶的活力测定 .....	548
<b>附录</b>	<b>.....</b>	<b>551</b>
<b>一、常用药品及其主要性质</b>	<b>.....</b>	<b>551</b>
1.	碳水化合物 .....	551
2.	有机酸 .....	554
3.	氨基酸 .....	556
4.	蛋白类 .....	558
5.	脂类 .....	559
6.	核苷、核苷酸和核酸 .....	562
(1)	核苷 .....	562

(2) 核苷酸·····	562
(3) 核酸·····	563
7. 生物碱·····	564
8. 糖苷·····	565
9. 维生素·····	568
10. 各种内源激素和人工合成的生长调节物·····	570
11. 生物染料·····	572
12. 常用酸碱·····	574
13. 常用有机溶剂·····	575
14. pH 指示剂·····	577
15. 抑制剂·····	579
(1) 光合作用抑制剂及其主要性质·····	580
(2) 呼吸作用抑制剂及其主要性质·····	582
(3) 常用蛋白质合成抑制剂及其主要性质·····	584
(4) 常用核酸合成抑制剂及其主要性质·····	585
16. 色谱显色剂·····	586
(1) 碳水化合物显色剂·····	586
(2) 蛋白质、氨基酸显色剂·····	587
(3) 核酸成分显色剂·····	588
(4) 生物碱显色剂·····	588
(5) 脂肪酸显色剂·····	589
(6) 甾类显色剂·····	590
<b>二、放射性元素与同位素标记化合物·····</b>	<b>593</b>
<b>三、试剂的浓度及其配制·····</b>	<b>597</b>
<b>四、各种缓冲溶液·····</b>	<b>598</b>
<b>五、常用培养基·····</b>	<b>609</b>
<b>六、离子交换剂·····</b>	<b>610</b>
<b>七、各类分子筛·····</b>	<b>624</b>
<b>八、常用单位换算表·····</b>	<b>632</b>
<b>九、玻璃器皿的清洗·····</b>	<b>639</b>
<b>十、精密仪器的保养·····</b>	<b>641</b>
<b>十一、国内外植物生理学期刊简览·····</b>	<b>642</b>



# 第一篇 植物生理过程的实验方法

这一篇的内容是《手册》的最主要部分。植物生命活动的规律，各个生理功能的机理都必须通过深入而严格的科学实验才能予以肯定和证实。这是现代植物生理学不断发展的途径。因此各个植物生理过程的实验方法是了解和研究植物生理学的必要手段。这一篇所安排的内容系根据植物生理学一般教材的次序，包括细胞生理、水分和矿质营养、抗性生理、光合作用、呼吸和糖代谢、脂肪代谢、氮代谢、植物内源激素以及生长发育等各部分，共139个实验。

## 第1章 细胞生理

### 1-1 植物原生质体的制备

原生质体的制备没有统一的标准方法，常常根据所用材料的来源、特性、酶制剂的种类、稳压剂等通过试验来确定程序。

本实验是用酶法制备原生质体。用酶制剂消化细胞壁可以从植物组织和培养细胞中游离获得大量、完整、有活力的原生质体。通常用的材料是叶组织和培养细胞。

#### 【仪器设备】

1. 超净工作台(或无菌室、无菌箱);
2. 离心机(高速离心机 4000~8000 转/分和台式、手摇离心机);