

# 植物生物学实验教案

集 美 大 学

学 院 水产学院

专 业 动植物检疫专业 2008 级

# 实验一 显微镜的使用及植物细胞结构的观察

## 一、实验目的

- 1、了解显微镜的构造和各部分作用，掌握显微镜的使用技术和保养措施；
- 2、认识植物细胞的构造；
- 3、学会简易装片、徒手切片和生物绘图方法；

## 二、实验仪器、药品和用具

显微镜、擦镜纸、镊子、小剪、载玻片、盖玻片、解剖针、表面皿、吸水纸、碘液、清水。

## 三、实验材料

各种切片、洋葱鳞叶。

## 四、实验方法步骤

### （一）显微镜的使用

1. 显微镜的构造：  
①机械部分：镜筒、镜臂、镜柱、镜座、倾斜关节、载物台、物镜转换器、粗调节螺旋、细调节螺旋，  
②集光系统：聚光器、虹彩光圈和反光镜，  
③光学部分：物镜、目镜。  
2. 显微镜的使用：  
①取送：轻、稳、小心，右手握臂，左手托镜座。  
②操作规程：对光，调焦，先低后高，先近后远。  
③复原：使用完毕，使显微镜复原，送回原处。  
3. 显微镜的保养维护

### （二）洋葱表皮临时装片的制作

载玻片→滴加蒸馏水→洋葱内表皮→盖片→观察→盖片一侧滴加碘—碘化钾溶液→吸水纸在另一侧吸去多余的水→观察

### （三）观察洋葱鳞叶表皮细胞的构造

### （四）生物绘图

### （五）徒手切片

## 五、思考与练习

- 1、显微镜的构造分哪几部分？各部分有什么作用？
- 2、反复练习使用低倍镜及高倍接物镜观察切片，使用时应特别注意什么问题？
- 3、如何计算显微镜的放大倍数？你现在所用的显微镜可以放大多少倍？

4、使用显微镜过程中，应做好哪些保养工作？

## 六、实验报告

绘几个表皮细胞，并注明细胞壁、细胞质、细胞核、液泡。

## 实验二 植物细胞的分裂及贮藏物质的观察

### 第一部分：植物细胞的分裂

#### 一、实验目的

(1)了解植物细胞分裂的主要方式及其生物学意义。

(2)了解植物有丝分裂和减数分裂的基本过程，掌握不同分裂时期细胞的特点以及有丝分裂与减数分裂的区别与联系。

#### 二、实验内容

(1)观察洋葱根尖切片，了解有丝分裂的主要时期和特点。

(2)观察百合花药横切面切片，了解减数分裂的基本过程以及不同分裂时期的特点。

#### 三、实验仪器、用具及药品

显微镜、擦镜纸。

#### 四、实验材料

(1)洋葱根尖纵切面切片

(2)百合花药横切面切片

#### 五、实验步骤

取1片洋葱根尖纵切片，置显微镜下观察。先用低倍镜寻找标本物像，并将根尖顶端的分生区移至视野的中心位置，然后选择有丝分裂的不同时期的细胞换到高倍镜下进行观察，分析各个时期的特点。

(1) 有丝分裂

有丝分裂过程是一个连续过程，根据不同分裂阶段的形态学特点可以把有丝分裂过程分成 4 个时期。各时期的特点如下：

#### 1. 前期

前期最明显的特征是细胞核中出现了染色体。染色体逐渐变短变粗，核仁渐渐解体消失。在前期末的细胞中，双层的核膜开始破碎成零散的小泡，细胞中央原先细胞核所在的位置出现纺锤体。

#### 2. 中期

中期染色体继续浓缩变短，所有染色体都排列到纺锤体的中央，它们的着丝点都位于细胞中央的同一个平面即赤道面上。

#### 3 后期

构成每 1 条染色体的 2 条染色单体在着丝点处分离，形成 2 组子染色体，2 组子染色体分别向相反的两极移动。

#### 4. 末期

染色体到达两极，核膜、核仁重新出现，赤道面上出现新的细胞壁，直至形成 2 个新细胞为止。

### (2) 减数分裂

减数分裂与普通有丝分裂一样，也涉及到染色体的复制、染色体的分离和运动等过程，所不同的是减数分裂是与有性生殖过程密切相关的一种细胞分裂方式，它是连续的两次细胞分裂，但整个分裂过程 DNA 只复制一次，并且在减数分裂过程中的第一次分裂比普通有丝分裂过程复杂许多。

取百合花药的横切面切片置显微镜下观察，识别不同发育阶段的花粉囊中花粉母细胞进行减数分裂的时期和状态。

## 六、观察与思考

如果 1 个细胞有 16 条染色体，当开始减数分裂后，在末期 I 时其染色体数目为\_\_\_\_，在末期 II 时其染色体数目为\_\_\_\_。

## 七、实验报告

- (1) 绘洋葱根尖细胞有丝分裂中期和后期图。
- (2) 比较有丝分裂与减数分裂的异同。

## 第二部分：植物细胞主要细胞器、贮藏物观察

### 一、实验目的

认识叶绿体、有色体及淀粉粒的形态特征。

### 二、实验仪器、药品及用具

显微镜、小镊子、解剖针、刀片、表面皿、载玻片、盖玻片、碘液、清水、10% 的糖液。

### 三、实验材料

马铃薯块茎、菠菜叶，辣椒果实、西红柿、胡萝卜（或萝卜）、花生。

### 四、实验步骤

#### 1. 叶绿体的观察

在载玻片上先滴一滴 10 — 20 %糖液，再取菠菜等叶，先撕去下表皮，再用刀刮取叶肉少量，放入载玻片糖液中均匀散开，盖好盖玻片。先用低倍接物镜观察，可见叶肉细胞内有很多绿色的颗粒。这就是叶绿体。再换用高倍接物镜观察，注意叶绿体的形状。

#### 2. 淀粉粒的观察

**观察马铃薯的淀粉粒** 取马铃薯块茎小长条作徒手切片。装片后用显微镜观察，可见细胞内有许多卵形发亮的颗粒，这就是淀粉粒，许多淀粉粒充满在整个细胞内，还有许多淀粉粒从薄片切口散落到水中，把光线调暗些，还可看见淀粉粒上有轮纹。如用碘液染色则淀粉粒都变成蓝色。

#### 3. 观察有色体

取辣椒果实进行徒手切片。装片用显微镜观察，可见细胞内含有许多橙红色的颗粒，这就是有色体。

#### 4. 脂肪的观察

用刀片将花生种子的子叶做横切，在其切面上刮取少许粉末临时装片，用苏丹 III 染色后，在显微镜下观察，细胞内或水溶液中有许多大小不等的球形及不规则的橙红色油滴，即脂肪。

#### 5. 蛋白质的观察

用观察脂肪的制片继续观察蛋白质，在临时装片盖玻片的一侧再滴入碘液，在显微镜下观察，被染成淡黄色的圆球状颗粒就是蛋白质，而被染成紫蓝色的小颗粒就是花生子叶中的淀粉。

## 五、讨论及练习

- 1、植物体中各种主要细胞器的存在部位，各有何特征？
- 2、细胞中有哪些主要的贮藏物质，用什么方法检验？

## 六、实验报告

绘马铃薯的淀粉粒结构图

## 实验三 植物组织的观察

### 一、实验目的和要求

1. 了解植物体常见组织的类型及各自的功能。
2. 了解不同组织细胞的形态结构特征。

### 二、实验材料

玉米或洋葱根尖纵切永久制片、夹竹桃叶片横切永久制片、水稻老根横切永久制片、松茎管胞离析制片、南瓜茎横切制片、松针叶横切制片、椴树茎横切制片。蚕豆植株、玉米或小麦叶片、梨果实、橘皮、幼嫩的番茄茎。

### 三、实验用品及试剂

#### 1. 实验用品：

显微镜、剪刀、镊子、刀片、载玻片、盖玻片、滴管、培养皿和离心机

#### 2. 实验试剂及配制：

$I_2$ -KI 染液：能将淀粉染成蓝色，蛋白质染成黄色，是植物组织化学测定的重要试剂。

铬酸离析液：可使细胞胞间层溶解，因而使细胞彼此分离，获得单个完整细胞，以便观察不同组织细胞的形态特征。

### 四、实验内容与方法

#### （一）分生组织

1. 取玉米或洋葱根尖纵切永久制片，先在低倍镜下观察，找到生长位点；再用高倍镜。植物根尖顶端有一帽状的根冠，其内圆锥状的部分染色深，细胞小，细胞核相对较大，细胞质浓厚，没有明显的液泡，无分化，为原分生组织。原分生组织上方略有分化的组织，为初生分生组织，其表面是原表皮，表皮以内颜色较淡的是基本分生组织，中央染色较深的部位为原形成层。注意观察：初生分生组织的细胞形态特点，有无正在分裂的细胞；如果观察到了正在分裂的细胞，注意其分裂方向；初生分生组织的细胞间有无细胞间隙？

2. 观察椴树茎横切制片，在次生韧皮部和次生木质部之间的几层扁平细胞就是茎的（维管）形成层细胞，形成层细胞排列成一圈，位于植物体的外侧，因此称为侧生分生组织。

#### （二）保护组织

## 1. 初生保护组织——表皮

撕取蚕豆叶片下表皮，作临时制片（为便于观察可用稀  $I_2$ -KI 溶液染色）。在显微镜下观察，表皮细胞为不规则的形状；排列紧密，没有细胞间隙；细胞内无叶绿体存在；细胞核位于细胞的边缘，细胞的中央常为大液泡占据。在表皮细胞之间还分布着许多气孔器。蚕豆的气孔器由一对肾形的保卫细胞和保卫细胞之间围成的气孔构成。其中保卫细胞中还有大量的叶绿体，靠近气孔处的细胞壁较厚。（图 3-1）

## 2. 次生保护组织——周皮

观察椴树横切制片。在外方有几层被染成褐色的细胞，特点是：细胞排列紧密、细胞壁明显增厚，无细胞间隙。这几层细胞就是木栓层。木栓层具有不透气、不透水的特性，具有很好的保护作用。在木栓层内侧的蓝绿色扁平细胞，为木栓形成层（也是侧生分生组织）。在木栓形成层内侧的薄壁细胞，是栓内层。木栓层、木栓形成层及栓内层共同构成的结构叫周皮。

### （三） 营养组织

营养组织也称基本组织、薄壁组织，在植物体中分布最广。营养组织细胞具有以下特点：细胞体积大、细胞壁薄、有较大的细胞间隙、细胞内常有大液泡。根据营养组织行使功能的不同营养组织又可分为：

1. 通气组织：观察水稻老根横切制片，在水稻老根的皮层中有一部分细胞解体，形成大的空腔，具有通气作用，被称为通气组织。
2. 同化组织：观察夹竹桃叶片横切制片，在叶片的上下表皮之间的部分就是含丰富叶绿体的叶肉细胞——同化组织。
3. 贮藏组织：马铃薯块茎中含有淀粉粒的薄壁细胞属于贮藏组织。
4. 吸收组织：位于根尖的根毛区，包括表皮细胞和根毛，其功能是吸收水分和溶于水中的无机盐。观察玉米或洋葱的根尖制片。

### （四） 输导组织

#### 1. 导管、筛管和伴胞

观察南瓜茎横切制片（图 3-2），首先观察南瓜茎中维管束的分布，可见南瓜茎的维管束分为内、外两环排列，每环 5~7 个维管束，外环维管束小，内环维管束大。选取一个维管束仔细观察，在维管束的中央是初生木质部（染成红色），木质部的内侧和外侧是初生韧皮部，分别称为“内韧皮”和“外韧皮”。在木质部横切面上，导管细胞



为一个大的圆圈，其细胞壁明显增厚，常被染成红色，与其他周围细胞有明显的区别。

## 2. 管胞

取松茎管胞离析制片进行观察，成熟的管胞分子为长梭形、端壁倾斜，细胞壁加厚木质化，细胞壁上有具缘纹孔。管胞分子有：螺旋管胞、环纹管胞、梯纹管胞、网纹管胞、孔纹管胞。

## （五）机械组织

### 1. 厚角组织：

观察南瓜茎横切制片，在表皮内侧有厚角组织的存在。其特点是：细胞壁透亮、细胞壁角隅处加厚。

### 2. 厚壁组织

观察南瓜茎横切制片，在皮层部分被染成红色、多边形、细胞壁强烈加厚只剩中间小孔的细胞是纤维细胞，其形状为长梭形。

## （六）分泌结构

### 1. 外分泌结构

作番茄幼茎临时制片，可见番茄茎的表皮上有大量的表皮附属物其中又长又尖的毛，是表皮毛；另外一种是分为“头”和“柄”的腺毛。

### 2. 内分泌结构

观察松针叶横切制片，在叶肉中可见裂生的树脂道。树脂道由上皮细胞围成，其中充满上皮细胞分泌的树脂。

## 五、思考与练习

1. 绘制 2-3 个厚角组织和厚壁组细胞的横切面图。
2. 用表解法列出植物组织的类型、特点及功能。
3. 营养组织在植物体内的分布及其功能？
4. 从结构和功能上比较它们的区别：①分生组织和成熟组织；②表皮和周皮；③筛管和导管。

## 实验四 根尖分区和根的解剖结构与种子的解剖观察

### 一、实验目的

认识和了解高等植物的形态结构与发育过程。

### 二、实验要求

(1) 了解根系不同类型的外部形态结构，根尖分区及细胞特点，并加深理解根的生理功能；

(2) 了解根的内部结构特点，侧根发生及根瘤形态；

(3) 了解种子的基本结构与类型

### 三、实验材料和工具

1. 实验材料：洋葱根尖纵切标本片、蚕豆幼根横切标本片、鸢尾根横切标本片、毛茛根横切标本片。

2. 工具：镊子、显微镜

### 四、实验内容和方法

(一) 植物根尖的外形和分区

1. 根冠区：处于根的最前端，由薄壁细胞组成，帽状，其主要功能是保护根尖的生长点。

2. 分生区：在根冠之内，大部分被根冠包围着，是产生新细胞的地方故又称为生长点。

3. 伸长区：位于分生区后面，细胞显著伸长的部分是伸长区。此区细胞已停止分裂。

4. 根毛区：位于伸长区后方。其细胞已分化为各种成熟组织，故亦称为成熟区。

(二) 根的初生结构

1、双子叶植物根的初生结构

取蚕豆幼根横切面标本片观察下列各部分：

(1) 表皮：

(2) 皮层：A、外皮层 B、皮层薄壁细胞 C、内皮层

(3) 中柱：A、中柱鞘 B、初生木质部 C、初生韧皮部 D、薄壁细胞

2、单子叶植物根的结构：

取鸢尾根横切面标本片观察表皮、皮层和中柱的结构。它的内皮层细胞为内五面加

厚，在横切面上它的增厚部分为马蹄形或“U”形，皮层的水分和溶质只能由通道细胞进入初生木质部。

### (三) 种子

#### (1) 无胚乳种子：

取浸泡后成为湿软状态的蚕豆种子观察：种皮、种脐、种孔、种脊。

剥开种皮：胚根、两片子叶、胚轴、胚芽。

#### (2) 有胚乳种子：

取浸泡后的玉米种子（即颖果）进行观察：果柄、脐；

用刀片垂直颖果宽面沿胚之正中纵切成两半，用放大镜观察切面：一层愈合的果皮和种皮；大部分是胚乳（切面上加一滴碘液，胚乳部分马上变成蓝色；胚在基部一角，遇碘呈黄色）；胚：上部有锥形胚芽（外有胚芽鞘），下部有锥形的胚根（外有胚根鞘），位于胚芽和胚乳之间的顿状物为盾片，胚芽与胚根之间和盾片相连的部分为胚轴。

## 五、作业

1. 绘蚕豆幼根横切面图。
2. 绘鸢尾根横切面图。

## 实验五 茎的解剖结构、叶的形态及解剖结构、营养器官的变态

### 一、实验目的

认识和了解植物细胞的基本结构及高等植物的形态结构与发育过程。

### 二、实验要求

了解和掌握植物茎、叶的基本构造。

### 三、实验材料和工具

1. 实验材料：玉米茎横切面标本片、椴树茎横切面标本片、花生幼茎横切面标本片、海桐叶横切面标本片、松叶横切标本片、水稻叶横切面标本片、玉米叶横切面标本片。

2. 工具：镊子、显微镜

### 四、实验内容和方法

#### （一）双子叶植物茎的初生结构

取花生幼茎横切面片置显微镜下观察表皮、皮层、中柱三部分组成。

#### （二）双子叶植物茎的次生结构

取椴树茎横切标本片置显微镜下观察，从外向内依次为：老皮→周皮→厚角组织→皮层薄壁细胞→韧皮部→维管形成层→木质部→髓→髓射线

#### （三）单子叶植物茎的结构

取玉米茎横切标本片置显微镜下观察表皮、机械组织、基本组织和维管束。

#### （四）植物叶的构造

1、叶的基本形态观察；

2、海桐叶的结构观察；

3、水稻叶片的结构观察

取水稻叶片横切面标本片，先在低倍镜下观察，区分出表皮、叶肉和叶脉三部分，然后转换高倍镜仔细观察各部分的细胞特征。

4、玉米叶片的结构：观察玉米叶横切面标本片。

### 五、作业

1. 绘花生幼茎横切面图。

2. 绘制玉米茎一个维管束横切图。

3. 绘海桐叶横切面图。

4. 绘水稻叶横切面图。

## 实验六 植物繁殖器官花、果实、种子形态观察

### 第一部分 花的组成和花药的结构

#### 一、实验目的

1. 了解花的结构组成。
2. 掌握花药的结构和花粉粒的发育过程。
3. 了解花的形态分类。

#### 二、实验用品

显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、刀片等。

#### 三、实验材料

1. 新鲜材料：桃花、白菜花、油菜花。
2. 永久制片：百合幼嫩花药横切制片、百合成熟花药横切制片、小麦花药横切制片。

#### 四、实验内容

##### （一）花的组成

1. 观察油菜花或白菜花，自外向内观察其组成：花柄（花梗）→ 花托→ 花萼→ 花冠→ 雄蕊群→ 雌蕊群
2. 桃花的观察：与白菜花 油菜花加以比较。

##### （二）花药的结构和花粉粒的形成和发育

1. 百合幼嫩花药的结构：

取百合幼嫩花药横切制片进行观察。

2. 百合成熟花药的结构：

观察百合成熟花药横切制片，并与幼嫩花药进行比较。

3. 小麦花药的结构及花粉粒的发育过程：

取小麦花药横切制片观察，可见小麦花药的结构和百合基本相同。在小麦花粉粒发育过程中，中层消失较早，成熟花粉粒含（            ）个细胞，包含（     ）个营养细胞和（     ）个精细胞，因此为（            ）细胞花粉。

#### 4. 花粉粒的形态和结构:

在观察百合成熟花药制片及小麦花药制片时, 可用高倍镜观察花粉囊中的花粉粒。花粉粒具有外壁和内壁, 外壁上有花纹和萌发孔。用镊子夹取任一植物的花粉粒少许, 做成临时制片, 在显微镜下观察, 注意花粉粒的形状、大小、外壁上的花纹和萌发孔等。

### 五、综合思考

1. 花由哪几部分组成?
2. 简述花药的结构及花粉粒的发育过程。

## 第二部分 子房结构、胚的发育及果实的类型

### 一、实验目的

1. 掌握子房的结构、胚珠的结构、胚囊的形成与发育过程及胚的发育过程。
2. 认识各类果实以及它们的特征和区别要点。

### 二、实验用品

显微镜、刀片、镊子等。

### 三、实验材料

百合子房横切制片、荠菜幼胚制片、荠菜成熟胚制片、各种果实标本。

### 四、实验内容

#### (一) 百合子房的结构

取百合子房横切制片观察, 百合的雌蕊是由三心皮连合而成的复雌蕊。

#### (二) 胚的发育

1. 观察荠菜幼胚的形成及胚珠其他部分的变化: 取荠菜幼胚制片观察。
2. 荠菜成熟胚的结构: 观察荠菜成熟胚制片。
3. 小麦胚的结构: 观察小麦胚发育过程的系列幻灯片及小麦成熟胚的制片。

#### (三) 果实的类型

1. 单果: 为一朵花中由一个雌蕊发育所形成的果实。
2. 聚合果: 由离生单雌蕊发育而成的果实。即在一朵花内具多数离生心皮, 每心皮形成一个小果, 集生在一个花托上。
3. 聚花果(复果): 由整个花序所形成的果实。

## 五、综合思考

1. 简述胚珠的结构及胚囊的形成和发育过程。
2. 简述被子植物双受精过程。为什么说双受精是被子植物进化的重要特征？
3. 果实和种子是怎样形成的？

## 实验七 花粉与种子活力的测定

### 一、实验目的

1. 掌握花粉活力测定的方法。
2. 掌握种子活力的测定方法。

### 二、实验用品

显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、刀片等。

### 三、实验材料

丝瓜、南瓜等葫芦科植物成熟的花粉；水稻、小麦及玉米的可育和不育成熟花药；玉米活的种子和死的种子。

### 四、实验内容与步骤

#### （一）花粉活力的测定

1. 花粉萌发率测定法（了解）
2. 碘-碘化钾染色测定法

取南瓜可育成熟花药和水稻、小麦及玉米的可育和不育成熟花药，分别置于载玻片上，加 1 滴蒸馏水，用镊子将花药捣碎，使花粉粒释放，然后加 1~2 滴碘-碘化钾溶液，盖上盖玻片，在显微镜下观察。被染成蓝色的花粉粒为活力较强的花粉粒，染成黄褐色的花粉粒为发育不良的花粉粒。观察 2 张制片，每片取 5 个视野，统计花粉的染色率。

问题思考：

（1）花粉人工离体萌发后，花粉管如何产生？产生花粉管后原生质体和细胞壁的位置有无变化？能否观察到花粉管中的 2 个精子？

（2）若将南瓜的花粉极不均匀地洒在涂有培养基的载玻片上，其余处理方法同前，萌发率有何不同？

（3）正常的成熟花粉与不育的花粉在形态上有无区别？

#### （二）种子活力的测定

1. TTC 法

活细胞在呼吸过程中不断进行氧化还原反应而产生还原性辅酶（ $\text{NADH}+\text{H}^+$  或  $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ），这些还原性辅酶可以还原其他底物。



当 TTC 溶被渗入种胚的活细胞内，作为氢受体被还原性辅酶还原时，可产生红色的三苯基甲酯（TTF），使胚染成红色。当种胚的生活力下降时，呼吸作用减弱，脱氢酶活性下降，胚的染色反应不明显，因此可由TTC 染色的程度来推断种胚生活力的强弱。

取玉米活的籽粒和死的籽粒，用温水（30℃）浸泡，使种子充分吸胀。随机取吸胀种子 20 粒，用刀片沿种子胚的中心纵切为两半，取其中一半（另一半待用），放在培养皿中，加入适量 TTC 溶液，浸没种子，在室温下 20 min 后，倒出 TTC 溶液，用自来水冲洗 2~3 次，观察记录半粒种子的染色情况。

注意：TTC 溶液最好现用现配，如需贮藏则应贮于棕色瓶中。对于不同植物种子生活力的测定，所需试剂浓度、浸泡时间和染色时间均有所不同。

## 2. 红墨水染色法（了解）

问题与思考：

- （1）用 TTC 法和红墨水染色法计算玉米有活力种子的百分率。
- （2）用上述两种测定种子活力方法所示种子的染色结果有何不同？为什么？

## 实验八 植物类群的野外生态观察

### 一、目的要求

1. 通过实地调查，学习观察、研究种子植物及分类的一些基本知识和方法；
2. 认识一些常见植物；

### 二、材料用品

笔记本、笔、放大镜

### 三、内容方法

#### 1. 生态环境的观察

植物的生长发育和其环境有密切的关系。因此，在观察植物之前，必须对该植物的周围环境做认真详细的观察和记录。

#### 2. 植物习性的观察

首先观察植株是木本还是草本。如果是草本，则要注意是几年生草本，根、茎、叶的形态构造以及附属物如毛绒等情况。如果是木本，则必须分清是乔木还是灌木，树皮的颜色和开裂的情况如何。

#### 3. 叶的观察

首先区分是单叶还是复叶，是对生、互生还是轮生，有无托叶，叶的颜色及形态怎么样。

#### 4. 花、花序的观察

花和果实的形态是认识植物的主要依据，因为每种植物的花和果在形态结构上有相当大的稳定性，最能代表种的特征。因此，种子植物分类的研究，科、属、种的确定，主要是视花和果而定，故必须仔细观察。首先区分是什么花序，然后再解剖一朵花，由外而内，由下而上，分辨出花托、花萼、花冠、雄蕊、雌蕊和其它附属物或结构，如蜜腺等，并注意其颜色、形状、大小及排列方式等。

#### 5. 果实和种子的观察

观察果实和种子，主要分清果实的类型，果实和种子的形状、大小及颜色等。以上观察结果，必须将重点记录在笔记本上，供进一步研究、鉴定植物时参考。

### 四、综合思考题

将调查到的植物种类，列表整理出来，并注明它们各属于哪一科。

## 实验九 植物标本的采集、制作和保存

### 一、植物标本的概念和种类

植物标本是指将新鲜植物的整体（全株）或部分经过采集和适当处理后长期保存起来的样品。它是植物在室内保存的真实记录，是其他形式不可替代的重要资料。

植物标本的种类很多，分类方法不一，如有按制作方式而划分的蜡叶标本、液浸标本、风干标本、沙干标本、玻片标本等；也有按植物器官划分的叶脉标本、干花标本、果实标本等。这里仅选择常见的几种标本采集、制作及保存方法作简单介绍。

### 二、标本采集前的准备

标本采集前，必须做好各种准备工作。采集前的准备工作主要有：明确采集目的、选择和确定采集地点和时间、准备图书资料、学习植物采集方面的知识以及准备采集的用品、用具等。

### 三、几种常见植物标本的采集、制作和保存

#### 1. 蜡叶标本的采集、制作和保存

采集的植物标本：经过整理、压制、干燥、消毒、装订，贴上记录签和鉴定签，即成为蜡叶标本。

##### 1.1 用品

采集箱或采集袋

掘铲和小镐 树枝剪

纸袋

钢卷尺 用于测量植物的高度、胸径等。

镊子 用于压制标本时对标本整形和装订时标本的摆放。

台纸 为8开的白版纸或道林纸，用来承载标本。

盖纸 为8开的片页纸或拷贝纸等，用来盖台纸上的标本，保护标本。

白线、针、胶水 用于固定台纸上的标本。

定名签 贴于台纸的右下角，记录该植物的最后定名、鉴定人和日期。

消毒液 取 3~5 g升汞溶于1000 ml 75% 酒精溶液中配制而成。

标本柜 用于存放标本。

文具 铅笔、橡皮、小刀、纸张或信纸等。

其他 望远镜、护腿、药品、水壶、背包以及必要的食品。

## 1.2 采集和制作

### 1.2.1 采集

(1) 采集记录 任何一份标本的采集都必须做好详细记录。

记录的原则是要记录那些标本采回后无法在标本上反映出来的时间、地点、环境状况以及植物本身的特征。

(2) 采集方法及标本大小

在采集标本时要尽可能选择完整、有代表性的植株和枝条，如果采集的标本不完整，往往给鉴定工作带来困难。。

(3) 采集份数

为便于使用和交换，每种植物一般要采集3~5份

(4) 编号、记录

标本采到后，要及时编号、记录。

### 1.2.2 标本的压制

(1) 清理、整形 在标本上夹前，要对采回的标本进行清理、整形。

(2) 标本压制

(3) 标本的装订

## 1.3 标本的保存

制成的标本必须妥善保存，否则易被虫蛀或发霉而遭损坏。蜡叶标本多存放于干燥的专用标本室和密闭性能良好的标本柜中。

## 3. 液浸标本的制作和保存

液浸标本是将采集来的植物材料，用所配的化学浸渍液浸泡在容器中，贴上标签以保存。

### 3.1 用品

标本瓶 浸渍植物标本所用的容器，一般为普通玻璃瓶或有机玻璃瓶，要求容器清晰透明，无气泡，折光度小。

药品 福尔马林、冰醋酸、硫酸铜、亚硫酸、硼酸、95% 酒精等。

其他 烧杯、量筒、天平、药匙、电炉、钳子（木制、竹制或塑料制的，非金属制的）、玻璃片或载玻片、白线、标签、记录本以及前面所提到的有关野外采集用品。

### 3.2 制作方法

### 3.2.1 普通液浸标本的制作

将采集来的标本清洗后，直接放入 5%~10% 福尔马林溶液的标本瓶中，标本与溶液的体积比例以1: (3~5) 为宜。如果短期保存，可用75% 酒精，或 FAA 溶液保存。海产标本的溶液配制最好用海水。直接将标本放入标本瓶中，植物往往堆积在一起，从瓶外观察有时不明了。为了使一些标本形态逼真，有立体感，可以将标本绑缚在玻片上。玻片的大小可根据标本和标本瓶的大小确定。

### 3.2.2 绿色液浸标本的制作

适用于保存绿色植物标本。在100 ml 50% 醋酸溶液中逐渐加入6 g硫酸铜结晶，边加边搅拌，制成饱和溶液。制作标本时，取原液1份加4份水，配置成稀释的醋酸铜溶液。将标本放入烧杯中，倒入稀释的醋酸铜溶液，加热。加热时，用钳子轻轻翻动标本，使各部分充分接触药液。加热到70~80 °C时，标本由绿色逐渐转变成黄色，直至褐色，以后又转变成绿色。将标本取出，漂洗后置于盛有1%~4%亚硫酸溶液的标本瓶中保存。在加热过程中，标本变黄后要保持温度恒定，不可继续升温，否则，植物易被煮烂。如果有条件的话，可以用恒温水浴锅。

对于用上述处理方法易变烂的植物，可以直接放到稀释的醋酸铜溶液中，不必加热，但浸泡时间需要5~10 d，然后再转入 1%~4%亚硫酸溶液中保存即可。

### 3.2.3 红色液浸标本的制作

适用于保存植物体某些红色器官，如辣椒，西红柿等的果实。

1) 用 0.5% 福尔马林、0.2%亚硫酸、0.5 g 硼酸配成100 ml溶液，取上清液直接保存，如果在前述溶液中标本颜色由红变紫，则可以移到亚硫酸硼酸溶液中保存。果实会重新回到接近原来的颜色。该法适用于番茄、樱桃、桃花、九里香果等。

2) 用氯化锌 10 g、亚硫酸 1 ml、硼酸 1 g、甘油 20 ml，加水 1000 ml 直接保存，适合于苏铁种子、假槟榔果序等。

3) 取氯化锡10 g、福尔马林0.5 g、红墨水少量，加水100 ml混合，将植物标本置于该液中浸染 1~3 h 后取出，用吸水纸吸干，再用福尔马林 20 ml、亚硫酸 2 ml 加水至 1000 ml。适用于鸡冠花花序、一串红花序、千日红花序等。

4) 先用10%硫酸铜浸泡标本2~5 d，然后再用亚硫酸2 ml、福尔马林4 ml、硼酸 2 g，加水至1000 ml保存。适用于桃、草莓、红辣椒等。

## 实验十 植物检索表的使用与编制

检索表是识别和鉴定植物不可缺少的工具之一，学习或从事植物分类研究的人员都应学会如何编制检索表和正确使用检索表。

### 一、检索表的编制方法

检索表是根据法国拉马克（Lamarck）提出的二歧分类原则进行编制的。检索表的编制采取“由一般到特殊”和“由特殊到一般”的方法，即非此即彼，两两相对的原则概括归纳而制成。具体做法是通过将某一类植物的各个种的形态特征进行比较分析，选择一对明显不同的特征，把具有某一相同特征的归为一类，由此将这组植物分成了两类，再在同一类中找出另一对明显不同的特征，再分为两类，以此类推，直到分出门、纲、目、科、属、种。例如，我们可以先把植物分为有种子和无种子两大类，再根据种子有无果皮包被将有种子的再分成两类，再根据草本还是木本，叶对生还是互生，单叶还是复叶……继续分下去，直到把所有植物都归入不同的分类等级中。特别需要注意的是在编制检索表之前，一定要对所有植物的特征有全面的认识，包括生长习性、生境、植物体各部分特征以及生活史等。

检索表常见的有定距检索表和平行检索表两种。

1. 定距检索表
2. 平行检索表

### 二、检索表的使用

在应用检索表之前，应对被鉴定植物的生长环境、植物体各部分特征做详细的观察和记录。通常的做法是在野外采集时，注意观察和记录植物的习性和生境及有关特征，并采集合格的标本。标本采回后，先观察茎、叶和根（指带根的标本）等营养体的特征，然后再观察生殖器官特征，如被子植物花或花序的形状、大小、颜色等；再取一朵花，由上而下，自外而内进行详细的解剖观察、记录，最后观察果实和种子的特征。在观察记录完成后，根据检索表沿着门、纲、目、科、属、种的顺序进行检索。检索时必须根次检索，决不允许跳过某一项而直接去查下一项。在核对某项描述时，最好将相对应的另一项描述也同时看一下，以确定待查植物属于哪一项，避免发生错误。当然，如果能肯定待鉴定植物是哪级单位，如属于某纲或某科的植物，那么，你可以直接进入下一级分类单位的检索。例如，已知一被鉴定植物是木兰科的，则可以直接从木兰现的下属检索表元始检索，然后再查分种检索表。

### 三、检索结果的确定

一项严格的鉴定，检索仅仅是初步结果。当检索完成后，还应将被检索植物与有关文献上对该植物的描述和图谱进行对照，有条件的还应与模式标本或等模式标本及其相关描述进行比较，进一步核对该植物的特征，以达到正确鉴定的目的。

除检索表外，用于鉴定植物的文献资料还有很多，但应以一些权威性的文献资料为宜，如国家和地方的植物志、图鉴，各科、属的专著或在专业期刊杂志上正式发表的有关文章等。被鉴定植物的产地有地方性植物志或图鉴，可以先用地方志检索，然后再核对全国乃至世界更广、更权威的资料。

# 实验十一 植物活死细胞鉴定

## 第一部分：植物细胞的活体染色与死活鉴定

### 一、 实验目的

鉴定植物细胞的死活；

### 二、 实验原理

活体染色是利用某种对植物无害的染料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，用其染色不会影响活细胞的生命活动以致引起细胞死亡。它是一种弱碱性pH指示剂，变色范围在pH6.4—8.0之间，颜色由红变黄；它在酸性及中性范围内解离度很强，带色的阳离子呈樱桃红色；在pH7.0以上时，它不解离而以分子态溶解于水，呈黄色的溶液。

活细胞的细胞壁一般带负电荷。当用低于细胞液pH的缓冲液配制的中性红溶液对活细胞染色时，中性红在细胞中呈解离态，其带色的阳离子很容易吸附在细胞壁显红色，而此时细胞质和液泡无色。

在中性或微碱性环境中，中性红分子的解离作用很弱，主要以分子态存在，不易被细胞壁吸附，但较易透过质膜和液泡膜进入液泡。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大量解离，将液泡染成红色，此时原生质和细胞壁一般不着色。

死细胞由于原生质变性凝固并丧失选择透性，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。

### 三、 仪器与用具

显微镜；小培养皿；载玻片；盖玻片；单面刀片；尖头镊子；酒精灯；火柴；擦镜纸；吸水纸适量。

### 四、 试剂

0.03%中性红溶液；1mol/L硝酸钾溶液。

### 五、 内容与方法

1. 选用洋葱鳞茎（或大葱假茎基部）作材料。
2. 切下一片较幼嫩的洋葱鳞片，用单面刀片在鳞片内侧割划成 $0.5\text{cm}^2$ 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（注意应将表皮内侧向



下)。

3. 将制好的洋葱鳞茎内表皮小块投入0.03%的中性红溶液中染色5~10min, 取出1~2片, 在蒸馏水中稍加冲洗, 在载玻片上滴一滴蒸馏水, 小心地将制片平展到载玻片上, 加盖玻片, 在显微镜下观察, 可看到细胞壁被染成红色, 而原生质和液泡均不染色。

4. 将步骤3中的活体染色制片取出几片放入pH略高于7.0的自来水中浸泡10~15min, 再置于载玻片上镜检, 将发现细胞壁脱色, 而液泡却被染成深红色。此时细胞核和原生质不着色。

为了确证中性红染色部位, 可将上述洋葱内表皮染片浸入1mol/L的硝酸钾溶液中浸泡10min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”, 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4中的活体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, 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. 在活体染色制片中仔细寻找, 可能看到个别死细胞, 其细胞核因被中性红染色而呈红色, 清晰可辨。

7. 记录观察结果。

## 第二部分：植物细胞的质壁分离、质壁分离复原与死活鉴定

### 一、实验目的

1. 植物细胞质壁分离的观察;
2. 鉴定植物细胞死活;

### 二、实验原理

活细胞的质膜和液泡具有选择透性。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; 当与清水(或低渗溶液)接触, 细胞吸水, 发生质壁分离的细胞又可发生质壁分离复原。同时, 质壁分离有不同的形式, 这常与细胞质的黏度有关, 原生质黏度大的发生凹形质壁分离, 反之呈凸形质壁分离。不同离子可增高或减低原生质的黏性。

### 三、仪器与用具

显微镜; 小培养皿; 载玻片; 盖玻片; 单面刀片; 尖头镊子; 酒精灯; 火柴; 擦镜纸; 吸水纸适量。

### 四、试剂

0.03%中性红溶液；1mol/L  $\text{KNO}_3$ 溶液；1mol/L  $\text{CaCl}_2$ 溶液

## 五、实验内容与方法

1. 取洋葱鳞片按本实验项目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1mol/L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硝酸钾溶液，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. 取上述2片活染制片，分别放在两张载玻片上，做成临时装片。分别在制片的一端滴加1mol/L  $\text{KNO}_3$ 溶液和1mol/L  $\text{CaCl}_2$ 溶液，观察质壁分离的形式有何不同。
6. 另取一部分制片置载玻片上，先在酒精灯上加热，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。

## 六、思考题：

1. 植物活细胞经中性红染色后，用蒸馏水和自来水浸泡脱色的结果为何不同？
2. 中性红染死细胞时为何细胞质和细胞核染成红色？
3. 渗透作用在植物生理上有何重要意义？
4. 质壁分离在细胞生理的研究上有哪些用处？

## 实验十二 植物组织的水势和渗透势

### 一、实验目的

1. 用小液流法测定植物组织的水势。
2. 用质壁分离法测定植物组织的渗透势。

### 二、实验要求

1. 了解水分在植物生命活动中的作用。
2. 了解植物体内不同组织和细胞之间，植物与环境之间水分的转移与植物组织的水势及渗透势的关系。
3. 学习测定植物组织水势和渗透势的基本方法。

### 三、实验内容

#### 1. 植物组织的水势

实验步骤：

- 1) 取预先配制的 1.00 mol / L 的蔗糖溶液配制 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.60 mol / L 的蔗糖溶液各 10 ml，充分摇匀，编号。
  - 2) 取 10 支试管编号，用移液管分别加入 2 ml 相应编号的蔗糖溶液。
  - 3) 用打孔器在同一马铃薯块茎上打取完整的圆柱体，并用刀片分割成若干 1 cm 长的切段。然后依次在每个装有 2 ml 蔗糖溶液的试管中放入 2 个切段。盖好试管，开始计时，不时轻轻摇动。
  - 4) 放置 40 min 后，用解剖针依次将各试管中的马铃薯切段取出，用针尖加入少许甲烯蓝粉末，振荡使之溶解，至溶液呈浅蓝色即可。
  - 5) 用长滴管从各试管中分别吸取少许蓝色溶液，然后将滴管尖端插入相应的原浓度蔗糖溶液的中部，徐徐放出一小滴蓝色溶液，轻轻抽出滴管，在试管后面衬一张白卡片，仔细观察蓝色液滴的移动方向。
- 注意：马铃薯切段的大小要尽可能一致，操作要快，但要小心，不要切到手。
- 6) 在实验报告中记录不同浓度溶液中，小液滴的移动方向（可用“↑”表示上升，“↓”表示下降，“—”表示基本不动），确定小液滴基本不动的溶液浓度。
  - 7) 根据下列公式计算马铃薯块茎的水势。

$$\Psi = -iRCT$$

$\Psi$  为植物细胞的水势（常以 Pa 或 MPa 为单位，1 atm=101325 Pa=0.10325 MPa）； $i$  为溶液的等渗系数（蔗糖溶液  $i = 1$ ）； $R$  为气体常数（0.082 atm·L / mol·k）； $C$  为小

液滴基本不动时的溶液浓度； $T$ 为实验时的绝对温度（ $T = 273 + t$ ， $t$ 为实验时的环境摄氏度）。

观察思考：

- (1) 在组织浸泡过程中，为何要轻轻摇动试管？
- (2) 为何不可向溶液中多加甲烯蓝粉末？

## 2. 植物组织的渗透势

实验步骤：

1) 取1.00 mol / L 蔗糖溶液配制成0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.60 mol / L 的溶液，摇匀并编号后，分别取1.0 ml置于10个培养皿中。

2) 取洋葱（或其它带色素的植物组织），用刀片在洋葱鳞茎内表皮上划出10个边长为2-5 mm的小方格，用镊子轻轻地将表皮剥离，并从高浓度至低浓度，依次将洋葱表皮小片投入各培养皿中。

3) 浸泡5~10 min后，将表皮取出，放在加有1-2滴相同浓度溶液的载玻片上，盖好盖片，在显微镜下观察，计算发生质壁分离的细胞比例，找出引起50%左右细胞出现细胞壁角隅质壁分离的浓度，以及刚刚不引起质壁分离的最高浓度。

4) 重复3次上述操作，确定上述两类极限溶液的浓度，取其平均值。细胞的渗透势就等于该平均浓度的溶液所具有的渗透势。

5) 按照公式 $\Psi = -iRTC$ 计算细胞的渗透势。式中是细胞的渗透势，其他符号与“小液流法”相同。

## 四、思考与练习

(1) 生活的植物细胞会发生质壁分离现象，死亡的植物细胞是否还会发生质壁分离现象？

(2) 动物细胞是否会发生质壁分离现象？为什么？

(3) 综合分析：

1. 水分对植物生长发育的作用主要表现在哪些方面？
2. 植物生长发育需要水分，那么是不是水分越多越好？为什么？

## 实验十三 植物根系活力的测定

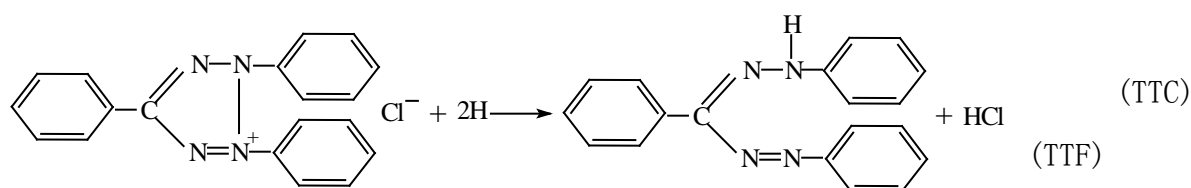
### 一、实验目的

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官，根的生长情况和活力水平直接影响地上部的生长和营养状况及产量水平。

本实验学习测定根系活力的方法。

### 二、实验原理

氯化三苯基四氮唑 (TTC) 是标准氧化还原电位为 80mV 的氧化还原物质，溶于水中成为无色溶液，但还原后即生成红色而不溶于水的三苯基甲 (TTF)，如下式：



生成的 TTF 比较稳定，不会被空气中的氧自动氧化，所以 TTC 被广泛地用作酶试验的氢受体，植物根所引起的 TTC 还原，可因加入琥珀酸、延胡索酸、苹果酸得到增强，而被丙二酸、碘乙酸所抑制。所以 TTC 还原量能表示脱氢酶活性，并作为根系活力的指标。

### 三、实验仪器与用具

分光光度计；分析天平（感量 0.1mg）；恒温箱 1 台；研钵 1 套；100ml 三角瓶；漏斗；移液管 10ml 1 支、2ml 1 支、0.5ml 1 支；20ml 刻度试管；10ml 容量瓶；小培养皿；试管架，药匙；石英砂适量。

### 四、试剂

乙酸乙酯；

连二亚硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ，为强还原剂，俗称保险粉)；

1%TTC 溶液：准确称取 TTC 1.0g，溶于少量蒸馏水中，定容至 100ml；

0.4%TTC 溶液：准确称取 TTC 0.4g，溶于少量蒸馏水中，定容至 100ml；

磷酸缓冲液 (1/15mol/L, pH7.0)；

1mol/L 硫酸：用量筒量取比重 1.84 的浓硫酸 55ml，边搅拌边加入盛有 500ml 蒸馏水的烧杯中，冷却后稀释至 1000ml；

0.4mol/L 琥珀酸钠：称取琥珀酸钠（含 6 个结晶水）10.81g，溶于蒸馏水中，定容至 100ml。

## 五、实验步骤

### 1. 定性测定

(1) 配置反应液 把 1%TTC 溶液, 0.4mol/L 琥珀酸钠和磷酸缓冲液按 1:5:4 比例混合。

(2) 把根仔细洗净, 把地上部分从茎基切除, 将根放入三角瓶中, 倒入反应液, 以浸没根为度, 置 37℃左右暗处放 1h, 以观察着色情况, 新根尖端几毫米以及细侧根都明显地变成红色, 表明该处有脱氢酶存在。

### 2. 定量测定

(1) TTC 标准曲线的制作 吸取 0.25ml 0.4%TTC 溶液放入 10ml 容量瓶, 加少许  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  粉末, 摇匀后立即产生红色的 TTF。再用乙酸乙酯定容至刻度, 摇匀。然后分别取此液 0.25ml、0.5ml、1.00ml、1.50ml、2.00ml 置 10ml 容量瓶中, 用乙酸乙酯定容至刻度, 即得到含 TTF 25  $\mu\text{g}$ 、50  $\mu\text{g}$ 、100  $\mu\text{g}$ 、150  $\mu\text{g}$ 、200  $\mu\text{g}$  的标准比色系列, 以空白作参比, 在 485nm 波长下测定光密度, 绘制标准曲线。

(2) 称取根样品 0.5g, 放入小培养皿 (空白试验先加硫酸再加入根样品, 其他操作相同), 加入 0.4%TTC 溶液和磷酸缓冲液的等量混合液 10ml, 把根充分浸没在溶液内, 在 37℃下暗处保温 1h, 此后加入 1mol/L 硫酸 2ml, 以停止反应。

(3) 把根取出, 吸干水分后与乙酸乙酯 3~4ml 和少量石英砂一起磨碎, 以提出 TTF。把红色提出液移入试管, 用少量乙酸乙酯把残渣洗涤二至三次, 皆移入试管, 最后加乙酸乙酯使总量为 10ml, 用分光光度计在 485nm 下比色, 以空白作参比读出光密度, 查标准曲线, 求出四氮唑还原量。

(4) 计算 将所得数据带入下式, 求出四氮唑还原强度。

$$\text{四氮唑还原强度} = \frac{\text{四氮唑还原量}(\mu\text{g})}{\text{根重}(\text{g}) \times \text{时间}(\text{h})}$$

## 六、思考与练习

不同类型 (如草本和木本) 植物中, 根的表面积和地上部表面积的比例有何不同?

## 实验十四 叶绿体色素的定量测定

### 一、实验原理

根据叶绿体色素提取液对可见光谱的吸收,利用分光光度计在某一特定波长下测定其消光度,即可用公式计算出提取液中各色素的含量。

$$C_a = 13.95D_{665} - 6.88D_{649} \quad (17 - 11)$$

$$C_b = 24.96D_{649} - 7.32D_{665} \quad (17 - 12)$$

$$C_x = (1000D_{470} - 2.05C_a - 114C_b) / 245 \quad (17 - 13)$$

### 二、实验材料、试剂与仪器设备

#### (一) 实验材料

新鲜植物叶片(或其他绿色组织)。

#### (二) 试剂

- 95%乙醇(或80%丙酮)。
- 石英砂。
- 碳酸钙粉。

#### (三) 仪器设备

分光光度计,研钵1套,剪刀1把,玻棒,25 mL棕色容量瓶3个,小漏斗3个,直径7 cm定量滤纸,吸水纸,擦镜纸,滴管,电子天平(0.01 g感量)。

### 三、实验步骤

1. 取新鲜植物叶片,擦净组织表面污物,剪碎(去掉中脉),混匀。
2. 称取剪碎的新鲜样品0.3 g,共3份,分别放入研钵中,加入少量石英砂和碳酸钙粉及2~3 mL95%乙醇(或80%丙酮)研成匀浆,再加乙醇10 mL,继续研磨至组织变白,静止3~5 min。
3. 取滤纸1张,置漏斗中,用乙醇湿润,沿玻璃棒把提取液倒入漏斗中,过滤到25 mL棕色容量瓶中,用少量乙醇冲洗研钵、研棒及残渣数次,最后连同残渣一起倒入漏斗中。
4. 用滴管吸取乙醇,将滤纸上的叶绿体色素全部洗入容量瓶中。直至滤纸和残渣中无绿色为止。最后用乙醇定容至25 mL,摇匀。

5. 把叶绿体色素提取液倒入比色杯内。以 95 %乙醇为空白,在波长 665 、 649 和 470 nm 下测定消光度。

6. 按公式 17 - 11 、 17 - 12 、 17 - 13 (如用 80 %丙酮,则按公式 17 - 8 、 17 - 9 、 17 - 10 ) 分别计算叶绿素 a 、 b 和类胡萝卜素的浓度 ( mg/L ) , 17 - 11 、 17 - 12 式相加即得叶绿素总浓度。

#### 四、结果计算

求得色素的浓度后再按下式计算组织中各色素的含量(用每克鲜重或干重所含叶绿体色素的毫克数表示) :

( mg/g )

[ 注意事项 ]

1. 为了避免叶绿素的光分解,操作时应在弱光下进行,研磨时间应尽量短些。

2. 叶绿体色素提取液不能浑浊。可在 710 或 750 nm 波长下测量消光度,其值应小于当波长为叶绿素 a 吸收峰时消光度值的 5 % , 否则应重新过滤。

3. 用分光光度计法测定叶绿素含量,对分光光度计的波长精确度要求较高。如果波长与原吸收峰波长相差 1 nm , 则叶绿素 a 的测定误差为 2 % , 叶绿素 b 为 19 % , 使用前必须对分光光度计的波长进行校正。校正方法除按仪器说明书外,还应以纯的叶绿素 a 和 b 来校正。

4. 在使用低档型号分光光度计(如: 72 、 125 、 721 型等)测定叶绿素 a 、 b 含量时,因仪器的狭缝较宽,分光性能差,单色光的纯度低(± 5 ~ 7 nm ),与高中档仪器如岛津 UV-120 、 UV-240 等测定结果相比,叶绿素 a 的测定值偏低,叶绿素 b 值偏高, a / b 比值严重偏小。因此,使用时必须用高档分光光度计对低档的分光光度计进行校正。

#### 五、思考与练习

1. 叶绿素 a 、 b 在蓝光区也有吸收峰,能否用这一吸收峰波长进行叶绿素 a 、 b 的定量分析? 为什么?

2. 为什么提取叶绿素时干材料一定要用 80 %的丙酮,而新鲜的材料可以用无水丙酮提取?



## 实验十五 植物光合强度的测定（改良半叶法）

### 一、 实验目的

叶片光合速率的测定；

### 二、实验原理

光合强度又称光合速率，是恒量植物光合作用强弱的指标。根据光合作用的概念，光合强度可用单位时间、单位叶面积吸收的CO<sub>2</sub>的毫克数，或释放出的CO<sub>2</sub>毫克数或制造的干物质的毫克数来表示。改良半叶法就是通过测定单位时间内单位叶面积制造的干物质的毫克数来确定植物的光合强度的一种方法。

### 三、仪器设备与试剂

1. 仪器：打孔器、纱布、烘箱、分析天平、火柴、双面胶、剪刀、单面刀片、称量瓶或玻璃管若干、金属模板、塑料套管、酒精灯和烧杯。

2. 试剂：三氯乙酸

### 四、实验材料

田间有代表性的植物叶片。

### 五、操作步骤

1、测定样品的选择：

2、叶子基部（或叶柄）的处理：

处理的目的是：破坏叶柄基部的韧皮部，阻止叶片制造的有机物向外运输，积累于叶片中，使测定结果准确可信。根据测定植物的不同而采取不同的方法去破坏其叶片输导组织的韧皮部。

表格 用改良半叶法测定光合速率的记载表

测定日期： 年 月 日		地点：	
植物材料：		生育期：	
平均光照强度 (klx)：		平均气温 (°C)：	
第一次取样时间：		第二次取样时间：	
取样面积 (cm <sup>2</sup> )：		光合作用时间 (h)：	
样叶编号	暗处理叶的干重 (mg)	光照叶的干重 (mg)	(光-暗) 干重增量 (mg)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
ΣX			
x			
光合速率		mg. dm <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> (以干物质计)	
		mg. dm <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> (以 CO <sub>2</sub> 同化量计)	

## 六、结果与分析

### 1、 计算：

(1) 按干物质计算：光合作用速率 (mg干物质 · dm<sup>-2</sup> · h<sup>-1</sup>) = (光-暗) 叶片切

块干重增加量 (mg) / (叶片切块面积 $\text{dm}^2 \times$ 照光时间h)

(2) 按二氧化碳同化量计算: 由于叶片贮存的干物质一般为蔗糖和淀粉等, 将干物质重乘以1.47系数便得到二氧化碳同化量, 即: 光合作用速率=  $\text{mg干物质} \cdot \text{dm}^{-2}\text{h}^{-1} \times 44/30 = \text{mg CO}_2 \cdot \text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$

## 2、误差分析:

将上面实验测定叶片的干重增长差相加, 除以叶片数, 求出平均值。平均值减去每张叶片的干重增长差, 求得与平均值之偏离值, 然后可按下列公式进行误差分析。

标准误差 =  $\sqrt{\text{总(偏离值)}^2 / (\text{称样数}-1)}$

平均值标准误差 = 标准误差 /  $\sqrt{\text{称样数}}$

误差% = 平均误差  $\div$  干重增长  $\times 100\%$

## 七、注意事项

1. 干重法是以测定叶片对应部分的原来重量基本一致为前提的, 故选择测定叶片时要特别注意对称性好的、生理条件接近的叶片。在测定小麦、水稻叶片的光合作用强度时取左右对称部分的叶片比较困难, 可用上下两半张叶片做实验。为了克服上下两半张叶片单位面积的干重差对测定结果的影响, 在剪取样品时应取相应数量、未经光合作用的叶片, 求出上下两半张叶片单位面积的干重差进行校正(沈允刚等, 植物生理学通讯, 1980, 2: 37)。

2. 实验成功的关键在于对叶柄的环割或伤害处理。若处理不彻底, 部分有机物仍可外运, 测定结果偏低。

3. 切割单位叶面积时, 每张叶片的光暗两部分不要和其他的叶片搞乱; 切割时要避开大叶脉, 力争切割单位面积准确。

4. 如棉花等双子叶植物光合产物白天输出很少或基本不输出, 不用处理叶片基部也可较好地测定其光合作用强度。

5. 本方法也可以用于测定作物叶片地呼吸作用速率, 即将在测定(对称)叶片的相应部分切割地、等面积地叶块分开, 一块立即烘干称重 另一块在暗中保存数小时后再烘干称重, 两者干重差即为叶块的呼吸消耗, 也可以用  $\text{mg C}^{-2}\text{h}^{-1}$  表示。

## 八、思考题

与其他测定光合强度方法相比本方法有何优点?