

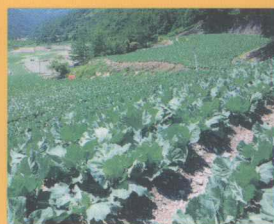
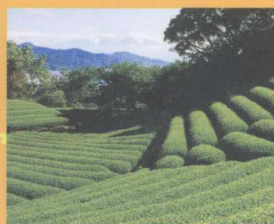
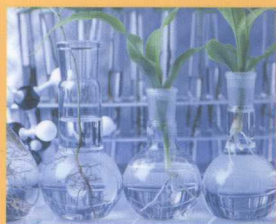


普通高等教育“十二五”规划教材

植物生理学实验教程

ZHIWU SHENGLIXUE SHIYAN JIAOCHENG

路文静 李奕松 主编



中国林业出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

植物生理学实验教程

路文静 李奕松 主编

中国林业出版社

内 容 提 要

本教材是普通高等教育“十二五”规划教材。全书分为7章,第1~6章为基础性实验,第7章为综合设计实验,附录为实验室安全及实验过程中常用仪器、材料、试剂、数据等的使用和处理。本教材作为植物生理学的实验教材,既可以加深学生对实验基本理论的理解,锻炼学生的实验操作技能,培养严谨的科学态度,又可以提高学生综合运用知识的能力和创新能力。同时,本教材也可作为科研工作者的实验工具书。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验教程 / 路文静, 李奔松主编. —北京: 中国林业出版社, 2012. 1
普通高等教育“十二五”规划教材
ISBN 978-7-5038-6465-0

I. ①植… II. ①路… ②李… III. ①植物生理学-实验-高等学校-教材
IV. ①Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 000425 号

中国林业出版社·教材出版中心

策划、责任编辑: 肖基泚

电话: 83282720 83220109 传真: 83220109

出版发行 中国林业出版社(100009 北京市西城区德内大街刘海胡同7号)

E-mail: jiaocai@163.com 电话: (010)83224477

http://lycb. forestry. gov. cn

经 销 新华书店
印 刷 北京市昌平百善印刷厂
版 次 2012年1月第1版
印 次 2012年1月第1次印刷
开 本 850mm × 1168mm 1/16
印 张 9.75
字 数 237千字
定 价 19.00元

凡本书出现缺页、倒页、脱页等质量问题, 请向出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

前 言

植物生理学是研究植物生命活动规律及其与外界环境相互关系的科学，是生命科学的重要基础学科。近年来植物生理学发展迅速，表现出与其他学科交叉渗透，研究领域不断向宏观、微观方向拓展，研究手段现代化，更加注重实际应用等特点。为了适应高校教学改革和创新型人才培养的需要，加强对学生实践能力的培养，结合植物生理学的发展特点，在中国林业出版社“十二五”规划教材《植物生理学》的基础上，我们编写了这本《植物生理学实验教程》。

《植物生理学实验教程》本着现代技术和常用技术相结合的原则，力求比较全面和系统地介绍当今植物生理学的实验技术，注重内容的科学性、实用性和方法的可靠性、可操作性。在编写过程中，参阅了大量相关文献，既体现现代植物生理学研究的新进展，又结合了各位编者在教学和科研中的实践经验。全书分为7章，第1~6章为基础性实验，结合《植物生理学》教材各章内容，运用科学的实验方法，测定相关数据，验证相关知识和理论；第7章为综合设计实验，结合一个选题，综合运用有关知识设计实验内容，提高学生分析问题、解决问题的能力。附录为实验室安全及实验过程中常用仪器、材料、试剂、数据等的使用和处理，提高实验者的实验技能，强化实验安全意识。因此，本书作为植物生理学的实验教材，既可以加深学生对实验基本理论的理解，锻炼学生的实验操作技能，培养严谨的科学态度，又可以提高学生综合运用知识的能力和创新能力。同时，本书也可作为科研工作者的实验参考书。

本教材编者均为多年在植物生理学教学及科研一线的人员，结合个人的教学和研究领域分工编写各章内容。初稿完成后，各编写人员进行了交互审阅，就有关内容进行了研讨、补充，主编、副主编经过了多次修改，最后由主编路文静教授进行统稿完善。

本教材引用了国内外许多教材、著作及相关论文的内容和图表，同时，在编写过程中得到了中国林业出版社及各位编者所在院校的大力支持，在此一并表示感谢！

本教材编者在编写过程中力求严谨、认真、规范，但因水平有限，对书中可能存在的不妥或错误之处，恳请读者批评指正。

编 者
2011年5月

《植物生理学实验教程》编写人员

主 编 路文静 李奕松
副主编 王凤茹 王文斌 谢寅峰 顾玉红

编写人员 (按姓氏拼音排序)

谷守芹 (河北农业大学)
顾玉红 (河北农业大学)
郭红彦 (山西农业大学)
侯名语 (河北农业大学)
胡小龙 (西南林业大学)
贾 慧 (河北农业大学)
贾晓梅 (保定学院)
李奕松 (北京农学院)
路文静 (河北农业大学)
时翠平 (河北农业大学)
史树德 (内蒙古农业大学)
王凤茹 (河北农业大学)
王文斌 (山西农业大学)
谢寅峰 (南京林业大学)
周彦珍 (保定职业技术学院)

目 录

前 言

第 1 章 植物的水分生理	(1)
1.1 植物组织中自由水和束缚水含量的测定	(1)
1.2 植物组织水势的测定	(2)
1.2.1 小液流法	(2)
1.2.2 露点法	(4)
1.2.3 折射仪法	(5)
1.2.4 压力室法	(6)
1.3 植物伤流液的收集及成分分析	(8)
1.4 植物蒸腾速率的测定	(9)
1.4.1 钴纸法	(10)
1.4.2 快速称重法	(11)
1.4.3 干燥管吸湿法	(12)
1.5 钾离子对气孔开度的影响	(14)
1.6 植物根系水力学导度(水导)的测定	(14)
第 2 章 植物的矿质营养	(17)
2.1 植物体内全氮、全磷、全钾含量测定	(17)
2.2 植物根系活力的测定	(22)
2.2.1 α -萘胺法	(22)
2.2.2 氯化三苯基四氮唑(TTC)法	(24)
2.2.3 甲烯蓝法	(25)
2.3 植物体内硝酸还原酶活性的测定	(27)
2.4 植物对离子的选择吸收	(29)
2.5 单盐毒害及离子间颞颞现象	(30)
第 3 章 植物的光合作用与呼吸作用	(32)
3.1 叶绿体的分离及其完整度的测定	(32)
3.1.1 叶绿体的分离	(32)
3.1.2 叶绿体被膜完整度的测定	(33)

3.2	叶绿体色素的提取分离、理化性质和定量测定	(34)
3.3	植物叶面积的测定方法	(38)
3.3.1	叶面积仪测定法	(38)
3.3.2	透明方格法	(39)
3.3.3	印相质量测定法(纸样称重法)	(39)
3.4	植物光合速率和呼吸速率的测定	(40)
3.4.1	红外 CO ₂ 分析仪法	(40)
3.4.2	氧电极法	(43)
3.5	叶绿素荧光参数的测定	(46)
3.6	RuBP 羧化酶活性测定(分光光度法)	(49)
3.7	植物体内抗坏血酸氧化酶和多酚氧化酶活性的测定	(51)
3.8	可溶性糖含量的测定	(54)
3.8.1	蒽酮比色法	(54)
3.8.2	苯酚比色法	(56)
3.8.3	3,5-二硝基水杨酸法	(57)
3.9	植物组织游离氨基酸总量的测定	(59)
3.10	植物体内可溶性蛋白质含量的测定	(61)
3.10.1	考马斯亮蓝 G-250 染色法	(61)
3.10.2	紫外吸收法	(63)
第4章	植物生长物质	(65)
4.1	高效液相色谱法测定植物体内细胞分裂素(CTKs)含量	(65)
4.2	植物激素(IAA、ABA、CTKs)的间接酶联免疫吸附测定	(67)
4.3	芽鞘伸长法测定生长素类物质含量	(70)
4.4	赤霉素对 α -淀粉酶的诱导作用	(72)
4.5	萘乙酸对植物根、茎生长的影响	(74)
4.6	吲哚乙酸氧化酶活性的测定	(75)
4.7	鲜切花的保鲜	(78)
第5章	植物生长发育	(80)
5.1	种子生活力的测定	(80)
5.1.1	氯化三苯基四氮唑(TTC)法	(80)
5.1.2	溴麝香草酚蓝(BTB)法	(81)
5.1.3	荧光法	(82)
5.2	植物春化现象的观察	(83)
5.3	光周期对植物开花的影响	(84)
5.4	花粉活力的测定	(86)
5.4.1	碘-碘化钾(I ₂ -KI)染色法	(86)
5.4.2	氯化三苯基四氮唑(TTC)法	(87)
5.4.3	过氧化物酶测定法	(88)

5.5	果实硬度的测定	(89)
5.6	果实色素含量的测定	(90)
5.7	果实中果胶含量的测定	(91)
5.8	果实中果胶酶(PG)活性的测定	(93)
5.9	果实中可滴定酸含量的测定	(95)
第6章	植物逆境生理	(98)
6.1	植物细胞膜透性的测定	(98)
6.2	植物体内丙二醛含量的测定	(100)
6.3	植物体内游离脯氨酸含量的测定	(102)
6.4	植物超氧阴离子自由基及含量测定	(104)
6.5	植物抗氧化酶 SOD、POD、CAT 的活性测定	(106)
第7章	综合设计实验	(110)
7.1	植物溶液培养与缺素症的观察	(110)
7.2	植物组织培养	(112)
7.2.1	组织培养基母液的配制	(112)
7.2.2	培养基的配制	(114)
7.2.3	兰花茎段的离体快繁	(115)
7.2.4	兰花茎段的诱导生根	(116)
7.2.5	炼苗与移栽	(117)
7.3	6-BA 对叶片的保鲜作用	(118)
7.4	果实成熟过程中的生理生化变化	(119)
7.5	逆境对植物生长的影响	(120)
参考文献		(123)
附 录		(125)
附1	实验室的安全	(125)
附2	植物生理学中常用计量单位及其换算表	(127)
附3	实验材料的采取、处理和保存	(129)
附4	常用缓冲溶液的配制	(134)
附5	离心力与离心机转速测算公式	(141)
附6	植物组织培养常用培养基	(142)

第1章

植物的水分生理

1.1 植物组织中自由水和束缚水含量的测定

【实验目的】

了解植物组织中水分存在状态与植物生命活动的关系，熟悉折射仪的使用。

【实验原理】

植物组织中的水分以两种形式存在：一种是和原生质胶体紧密结合着的束缚水，另一种是不与原生质胶体紧密结合而可以自由移动的自由水。自由水与束缚水含量的高低与植物的生长及抗逆性存在密切关系。自由水/束缚水比值较高时，植物组织或器官的代谢活动一般比较旺盛，生长也较快；反之，则生长可能较缓慢，但抗逆性可能较强。因此，自由水和束缚水的相对含量可以作为植物组织代谢活动及抗逆性强弱的重要指标。

束缚水被细胞原生质胶体颗粒吸附不易移动，不易蒸发和结冰，不能作为溶剂，也不易被溶质夺取，所以当植物组织被浸入到较浓的糖溶液中一定时间后，易移动的自由水可全部扩散到糖液中，组织中便只留下不易移动的束缚水。自由水扩散到糖液后(相当于增加了溶液中的溶剂)，便增加了糖液的重量，同时降低了糖液的浓度。用浓度降低了的糖液的重量减去原来高浓度糖液的重量即为植物组织中自由水的量(即扩散到高浓度糖液中的水量)。最后，用同样植物组织的总含水量减去此自由水含量即是植物组织中束缚水含量。

【实验条件】

1. 材料

新鲜植物叶片。

2. 试剂

65%~75%的蔗糖溶液：用托盘天平称取蔗糖65~75 g，置烧杯中，加蒸馏水25~35 g，使溶液总重量为100 g，溶解后备用。

3. 仪器用具

阿贝折射仪，分析天平(感量0.1 mg)，烘箱，干燥器，超级恒温水浴，称量瓶，打孔器(直径0.5 cm)，烧杯，瓷盘，托盘天平(感量0.1 g)，量筒，吸滤管，移液管，洗耳球。

【方法步骤】

(1)取称量瓶2个，洗净、烘干、称重后备用。

(2)在田间选定待测作物，摘取在生长部位、叶龄等方面较一致的叶片。

(3)用直径5 cm打孔器在叶子的半边钻取小圆片，每叶5片，共取50片，放入1号称量瓶中，盖紧，称重；在叶子的另半边的对称位置上同样钻取5个小圆片，共取50片，放入2

号称量瓶中，盖紧，称重。然后分别计算 1 号和 2 号称量瓶中样品鲜重 m_{f1} 和 m_{f2} 。

(4) 将 1 号称量瓶置烘箱中，于 105℃ 烘 15 min，再于 80℃ 烘至恒重，称量并计算 1 号称量瓶中样品干重 m_{d1} 。

(5) 用移液管吸取 5 mL 质量浓度为 65% ~ 75% 的蔗糖溶液，加到 2 号称量瓶中，加盖后在分析天平上称量，求得所加蔗糖溶液的质量 m_B 。小心摇动瓶中溶液，使之与样品混合均匀，放在阴凉处 4 ~ 5 h，期间要经常摇动。

(6) 将折射仪与超级恒温水浴相连，水温调到 20℃。

(7) 用吸滤管(在玻璃管的一端塞上少许脱脂棉，另一端配上橡皮吸头)吸取 2 号瓶中上层透明的溶液少许，滴一滴在折射仪棱镜的毛玻璃片上，旋紧棱镜，测定浸出液的含糖质量浓度百分数 B_2 。棱镜用蒸馏水清洗，再用同样方法测定原来蔗糖溶液的含糖质量浓度百分数 B_1 。

【结果与分析】

$$\text{组织总含水量}(\%) = [(m_{f1} - m_{d1}) / m_{f1}] \times 100 \quad (1-1)$$

$$\text{自由水含量}(\%) = m_B(B_1 - B_2) / (B_2 \times m_{f2}) \quad (1-2)$$

$$\text{束缚水含量} = \text{组织总含水量} - \text{组织中自由水含量} \quad (1-3)$$

式中 m_{f1} , m_{f2} ——分别为 1 号, 2 号称量瓶中样品鲜重(g);

m_{d1} ——1 号称量瓶中样品干重(g);

m_B ——2 号称量瓶中所加蔗糖溶液的质量(g);

B_1 , B_2 ——蔗糖溶液加入样品前后的质量浓度(%)。

【注意事项】

(1) 用于计算总含水量的叶圆片和用于测定自由水含量的叶圆片需在相同叶片的对称部位钻取。

(2) 用折射仪测定蔗糖浓度时恒温水浴的温度控制在 20℃。

【思考题】

1. 植物组织中的自由水与束缚水的生理作用有何不同?
2. 自由水/束缚水比值的大小与生长及抗性关系如何?

(保定学院 贾晓梅)

1.2 植物组织水势的测定

【实验目的】

了解植物组织中水势测定的几种方法和它们的优缺点。

1.2.1 小液流法

【实验原理】

水势表示水的化学势，水分从水势高处流向水势低处。植物体细胞之间、组织之间以及植物体和环境之间的水分移动方向都由水势决定。当植物细胞或组织置于一系列浓度递增的溶液中时，如果植物组织的水势小于溶液的渗透势，则组织吸水而使外界溶液浓度变大；反

之，则组织水分外流而使外界溶液浓度变小。若植物组织的水势与溶液的渗透势相等，则二者水分保持动态平衡，所以外界溶液浓度不变，此时外界溶液的渗透势即等于所测植物组织的水势。溶液浓度不同，比重不同。当两个不同浓度的溶液相遇时，稀溶液由于比重小而上浮，浓溶液则由于比重较大而下沉。取浸过植物组织的溶液一小滴(为了便于观察可先染色)，放在原来浓度的溶液中，观察液滴升降情况即可判断浓度的变化，如小液滴不动，则表示溶液浸过植物组织后浓度未变，即外界溶液的渗透势等于组织的水势。

【实验条件】

1. 材料

胡萝卜肉质根或其他植物的叶片。

2. 试剂

甲烯蓝粉末， $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖溶液母液。

3. 仪器用具

青霉素瓶或小试管(12 × 10 mm)6支(均具塞)，大试管(15 × 150 mm)6支(具塞)，10 mL移液管2支，1 mL移液管2支，毛细滴管6支，打孔器1个，温度计1支，解剖针1支，镊子1把，洗耳球1个

【方法步骤】

(1)以 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖溶液为母液，配制一系列不同浓度的蔗糖溶液(0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)于6支干净、干燥的大试管中，各管加塞，并编号。按编号顺序在试管架上排成一列，作为对照组。

(2)另取6支干净、干燥的小试管或青霉素瓶，编好号，按顺序放在试管架上，作为实验组。然后由对照组的各试管中分别取溶液1 mL移入相同编号的实验组试管中，加塞，备用。

(3)取胡萝卜肉质根或剪下具有代表性的新鲜叶片，用打孔器制作成均匀的组织圆片。迅速将适量组织圆片放入每个小试管或青霉素瓶中。一般胡萝卜肉质根放入8片(厚约1 mm)左右，叶片材料放入20片左右。摇动小瓶，使植物材料浸入到溶液中。注意这个过程操作要快，防止水分蒸发。放置20 min，在此期间摇动小瓶2~3次，使组织和溶液之间进行充分的水分交换。

(4)20 min后，分别在各小瓶中加入甲烯蓝粉末少许，摇匀，使溶液呈淡蓝色。按浓度依次分别用毛细吸管吸取蓝色溶液，轻轻插入相应浓度的试管中，伸至溶液中部，小心缓慢地放出蓝色溶液一小滴，慢慢取出毛细管(注意避免搅混溶液)。观察并记录液滴的升降情况：如果有色液滴向上移动，说明浸过植物组织的蔗糖溶液浓度变小，植物组织失水，表明植物组织的水势高于该浓度溶液的渗透势；如果有色液滴向下移动，说明浸过植物组织的蔗糖溶液浓度变大，植物组织吸水，表明植物组织的水势低于该浓度溶液的渗透势；如果液滴静止不动，则说明植物组织的水势等于该浓度溶液的渗透势。在测定中，如果在前一浓度溶液中液滴下降，而在后一浓度溶液中液滴上升，则该组织的水势为二种浓度溶液渗透势的平均值。

【结果与分析】

记录液滴静止不动的试管中蔗糖溶液的浓度。由所得到的等渗浓度和测定的室温，按式

(1-4) 计算植物组织的水势。

$$\Psi_w = \Psi_s = -iCRT \quad (1-4)$$

式中 Ψ_w ——植物组织水势(MPa)；

Ψ_s ——外界溶液渗透势(MPa)；

i ——溶液的解离系数(蔗糖溶液的 $i = 1$)；

C ——等渗溶液的浓度($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)；

R ——气体常数, $R = 0.008314 (\text{MPa} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$ ；

T ——绝对温度(K), $T = 273 + t$, t 为实验时的摄氏温度。

【注意事项】

- (1) 实验材料的取样部位要一致, 若为叶片组织要避开大的叶脉部分。
- (2) 植物组织材料制作成圆片的过程操作要迅速, 避免失水。
- (3) 溶液染色时加入甲烯蓝粉末要适量, 多则影响溶液浓度。

1.2.2 露点法

【实验原理】

将叶片或组织汁液密闭在体积很小的样品室内, 经一定时间后, 样品室内的空气和植物样品将达到温度和水势的平衡状态。此时, 气体的水势(以蒸气压表示)与叶片的水势(或组织汁液的渗透势)相等。因此, 只要测出样品室内空气的蒸气压, 便可知道植物组织的水势(或汁液的渗透势)。由于空气的蒸气压与其露点温度具有严格的定量关系, 通过测定样品室内空气的露点温度可得知其蒸气压。露点微伏压计装有高分辨能力的热电偶, 热电偶的一个结点便安装在样品室的上部。测量时, 首先给热电偶施加反向电流, 使样品室内的热电偶结点降温, 当结点温度降至露点温度以下时, 将有少量液态水凝结在结点表面, 此时切断反向电流, 并根据热电偶的输出电位记录结点温度变化。开始时, 结点温度因热交换平衡而很快上升; 随后, 则因表面水分蒸发带走热量, 而使其温度保持在露点温度, 呈现短时间的稳衡状态; 待结点表面水分蒸发完毕后, 其温度将再次上升, 直至恢复原来的温度平衡。记录下稳衡状态的温度, 便可将其换算成待测样品的水势或渗透势。

【实验条件】

1. 材料
植物叶片。
2. 仪器用具

美国 Wescor 公司生产的 Psypro 露点水势测量系统是在 HR-33T 露点水势仪的基础上研发的新产品, 是一个内含电子系统的通过热电偶传感器来专门测量水势的仪器(图 1-1)。它包含有在露点温度下自动维持热电偶结点温度的持续感应与控制电路, 以露点方式进行工作。仪器配套的 C-52 和 L-51 型样品室的基本结构都是由一个灵敏的热电偶和一个铝合金制的隔热性很好的叶室组成。前者用于离体叶片水势测定, 后者主要用于活体测定。

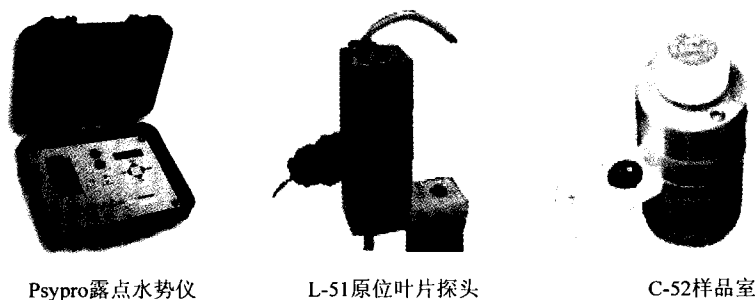


图 1-1 Psypro 露点水势测量系统

【方法步骤】

实验以 Psypro 露点水势测量系统为例。

- (1) 连接 Psypro 到一台电脑。
- (2) 安装 Psypro 露点水势测量系统操作软件。
- (3) 通过 Psypro 上的 8 通道接口连接 L-51 原位叶片探头或 C-52 样品室。
- (4) 打开 Psypro 上的开关按钮，从电脑上通过软件操作界面与 Psypro 建立联系。
- (5) 设置日期和时间，设置 Psypro 的测试参数(多数为默认值)。
- (6) 点击软件操作界面上的 Logging ON 按钮，Psypro 露点水势测量系统开始测量、记录。
- (7) 点击操作界面上的“save PSYPRO data”从 Psypro 下载数据到电脑，data file 以 Microsoft Excel 显示。

【结果与分析】

(1) L-51 原位叶片探头、C-52 样品室分别测定。测定某一植物在不同土壤水分条件下叶片水势，每种叶片水势以 3~5 次稳衡状态的水势的平均值为计算结果(单位为 MPa)，对数据进行比较分析。

(2) 分析 L-51 原位叶片探头、C-52 样品室分别测定的同一叶片水势差异的原因。

【注意事项】

(1) 样品水势不同，所需平衡时间不同，样品水势越低，所需平衡时间越长。平衡时间过短，不能测出正确结果；平衡时间太长，也会造成实验误差。

(2) 在使用 C-52 样品室时，切勿将样品放得高出或大于样品室小槽；测定完毕后，一定要将样品室顶部的旋钮旋起足够高以后才可将样品室的拉杆拉出，否则将损伤热电偶。

1.2.3 折射仪法**【实验原理】**

溶液折射率的大小受溶液浓度和温度的影响，温度一定时，溶液浓度越大，其折射率越高；浓度越小，其折射率越低；浓度不变，其折射率也不变。当植物细胞或组织放在外界溶液中时，如果植物的水势小于溶液的渗透势，则组织吸水、体积变大并使外界溶液浓度变大；反之，则植物细胞内水分外流，植物组织体积变小并使外界溶液浓度降低；若植物组织的水势与溶液的渗透势相等，则二者水分进出保持动态平衡，所以外部溶液浓度不变，此时溶液的渗透势即等于所测植物组织的水势。本法采用折射仪来测定实验前后外界溶液折射率的变

化以确定等渗浓度，测定植物组织的水势。

【实验条件】

1. 材料

小麦或玉米叶片。

2. 试剂

1 mol · L⁻¹蔗糖溶液。

3. 仪器用具

阿贝折射仪，温度计，试管，移液管，打孔器(直径0.5 cm)，镊子，洗耳球。

【方法步骤】

(1)用1 mol · L⁻¹蔗糖母液配制一系列不同浓度的蔗糖溶液(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mol · L⁻¹)各5 mL，注入8支编号的试管中，各管都加上塞子，按编号顺序放置在试管架上。

(2)用阿贝折射仪分别测定1~8管的折光系数。

(3)用打孔器在叶片中部靠近主脉附近打取叶圆片，随机取样，浸入1~8号试管中，每管放入相等数目(10~15片)的叶圆片，加塞，放置30 min，其间摇动数次。然后用阿贝折射仪再次测定蔗糖溶液的折光系数。

(4)前后两次测定其折光系数不变或变化很小的试管中的糖浓度即为等渗浓度或近似等渗浓度。叶片的水势与此种溶液的渗透势相等。

【结果与分析】

根据公式计算植物组织的水势。

$$\Psi_w = \Psi_s = -iCRT \quad (1-5)$$

式中 各符号意义同式(1.4)。

【注意事项】

折射仪法前后两次测定溶液的折光系数时的温度必须一致。

1.2.4 压力室法

【实验原理】

植物叶片通过蒸腾作用不断地向周围环境散失水分，产生蒸腾拉力。导管中的水分由于内聚力的作用而形成连续的水柱。因此，对于蒸腾着的植物，其导管中的水柱由于蒸腾拉力的作用，承受着一定的张力或负压，使水分连贯地向上运输。当叶片或枝条被切断时，木质部中的液流由于张力解除迅速缩回木质部。将叶片装入压力室钢筒，叶柄切口朝外，逐渐加压，直到导管中的液流恰好在切口处显露时，所施加的压力正好抵偿了完整植株导管中的原始负压。这时所施加的压力值(通常称为平衡压)将叶片中的水势提高到相当于开放大气中的导管中液体渗透势。由于通过导管周围完整活细胞半透膜进入木质部导管的汁液，其渗透势常接近于零(活性溶质含量很低)，因此，则有下式成立：

$$P + \Psi_w = \Psi_s \approx 0 \quad \text{则} \quad \Psi_w = -P \quad (1-6)$$

式中 P ——平衡压(MPa)；

Ψ_w ——叶片或枝条的水势(MPa)；

Ψ_s ——木质部汁液的渗透势(MPa)。

【实验条件】

1. 材料

植物叶片或小枝条。

2. 仪器用具

压力室 1 台, 目前国内多用美国、日本进口压力室, 无论哪种压力室, 其结构原理相同; 充满压缩氮气(氮气含量 95% 左右)的钢瓶 1 个; 剪刀 1 把; 双面刀片; 放大镜; 塑料袋; 纱布。

【方法步骤】

1. 器材准备

将压力室的高压软管末端与钢瓶的出气口对接。压力室主控阀旋转到“关闭”位置。顺时针方向旋紧计量阀。取下压力室的压帽, 逆时针旋转压帽上的固定样品的螺栓, 将压帽竖放在样品处理板的凹槽内。打开高压气瓶的气封阀。在钢筒内侧粘贴一层湿滤纸, 以减少水分蒸发导致的水势降低。选取一定叶位的叶片(或小枝条), 从叶柄处切断, 切口要平(若室外取样, 可将叶片放入塑料袋中, 在塑料袋中放一块潮湿纱布, 迅速带回)。将叶片迅速装入夹样器的中央孔中, 切口露出垫圈 3 ~ 5mm, 旋紧螺旋环套。将夹样器迅速放入钢筒内, 顺时针方向旋转锁定夹样器。

2. 加压测定

旋转调压三通阀到“加压”位置, 打开调压阀, 以 $0.05 \text{ MPa} \cdot \text{s}^{-1}$ 的速度加压。左手持放大镜从侧面仔细观察样品切口的变化, 当切口出现水膜时, 迅速关闭调压三通阀, 记录压力表读数, 此即平衡压。

3. 重复测定

旋转三通阀排气, 使压力读数降低 0.1 ~ 0.2 MPa, 再重新测定平衡压。用两次结果的平均值表示样品水势值。

4. 减压

把调压三通阀旋转至“排气”位置, 放气, 压力表指针退回零。将夹样器逆时针方向旋转, 取出夹样器, 再进行第二个样品的测定。

【结果与分析】

对测定的实验数据进行统计分析。

【注意事项】

- (1) 装样时螺旋环套不要拧得太紧, 以免压伤植物组织。
- (2) 加压速度不能太快, 接近叶片水势时加压速度要缓慢, 否则会影响测量精度。

【思考题】

1. 在小液流法实验中, 与植物组织水势相等的外界溶液是否为等渗溶液, 为什么?
2. 在植物水势测定的露点法中, 如何理解叶片水势越低, 所需平衡时间越长?

(北京农学院 李奕松; 保定学院 贾晓梅)

1.3 植物伤流液的收集及成分分析

【实验目的】

通过实验掌握植物伤流液的收集及成分分析方法；证明根系不仅是吸收物质的器官，同时也是合成物质的器官。

【实验原理】

当植物地上部分被切去时，不久即有液滴从切口流出，这种现象称为伤流，流出的汁液称为伤流液。伤流是由根压引起的。伤流液的数量和其中的成分可反映根系生理活动的强弱。用蒽酮试剂和茚三酮试剂可以鉴定出伤流液中的可溶性糖和氨基酸，通过显色反应可以鉴定根系从土壤中吸收的一些无机盐成分。

【实验条件】

1. 材料

茎基部直径约 1 cm 的植株。

2. 试剂

①蒽酮试剂配制：称取 1 g 蒽酮溶于 1000 mL 稀硫酸(将 760 mL 相对密度为 1.84 的硫酸用蒸馏水稀释成 1000 mL)溶液中。

②茚三酮试剂配制：0.10 g 茚三酮溶于 100 mL 95% 的酒精中。

③二苯胺试剂配制：0.05 ~ 1.00 g 二苯胺溶于 6 mL 浓硫酸中。

④蔡氏试剂配制：称取 11.50 g HgI_2 ，8.00 g KI，溶于 50 mL 蒸馏水中，再加入 50 mL $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液，如产生沉淀可以过滤，装于棕色瓶中暗处保存。

⑤饱和醋酸钠溶液配制：12.00 g 醋酸钠在 10 mL 水中加热溶解后，冷却，过滤取清液。

⑥钼酸铵硝酸溶液配制：5.00 g 钼酸铵溶于 65 mL 冷水中，注入 35 mL 相对密度为 1.2 的硝酸。

⑦0.5% 联苯胺溶液(有毒，注意安全)。

⑧0.05% 硝酸银溶液。

⑨固体亚硝酸钴钠。

3. 仪器用具

分光光度计，恒温水浴锅，刀片，移液管，容量瓶，电子天平，塑料薄膜，试管，洗耳球，白瓷板。

【方法步骤】

1. 伤流液的收集

选择生长健壮大小适合的植株，在离地面 3 ~ 5 cm 处用刀切去地上部分，在地面断茎上套上橡皮管，将已弯好的引流玻管较短一端套入橡皮管，较长一端插入刻度试管。整个过程要防止伤流液漏出，并用塑料薄膜封住管口以免伤流液蒸发和外界污物进入。收集时间依具体情况而定。记录收集伤流液的时间和伤流液量，并计算单位时间内的伤流量($\text{mL} \cdot \text{h}^{-1}$)。

2. 可溶性糖的鉴定

取 1 mL 伤流液和 1 mL 蒸馏水分别加入两支干净的试管中，再分别加入蒽酮试剂 5 mL 混

匀，置于沸水浴中 5 ~ 10 min，绿颜色出现即表示有糖的存在，其深浅与糖的含量成正比。具体测定方法和计算方法见 3.8。

3. 氨基酸的鉴定

取伤流液 1 mL 于干净试管中，加入茚三酮试剂 3 ~ 4 滴混合，置于沸水浴中 5 ~ 10 min，颜色变为蓝色表示有氨基酸存在。具体测定方法和计算方法见 3.9。

4. 硝态氮的鉴定

硝态氮(NO_3^-)在浓硫酸中能将无色的二苯胺氧化生成蓝色化合物。取一滴伤流液在白瓷板上，加一滴二苯胺试剂，如有蓝色出现，说明伤流液中有 NO_3^- 存在。

5. 铵态氮的鉴定

奈氏试剂与铵态氮(NH_4^+)反应生成红色沉淀，在很少时呈黄色。取一滴伤流液在白瓷板上，加一滴奈氏试剂，如有黄色出现，说明伤流液中有 NH_4^+ 存在。

6. 无机磷的鉴定

钼酸铵遇磷酸生成磷钼酸铵，它的氧化能力极强，可以将难以被钼酸或钼酸盐氧化的联苯胺氧化，生成钼蓝和联苯胺蓝两种蓝色物质。取一滴伤流液在白瓷板上，加一滴钼酸铵溶液，干燥后加一滴联苯胺溶液和一滴饱和醋酸钠溶液，如有蓝色出现，说明伤流液中有磷存在。

7. 钾离子的鉴定

中性或微酸性的钾盐溶液加入亚硝酸钴钠生成黄色晶状的亚硝酸钴钠钾，如有硝酸银存在，则形成亚硝酸钴银钾沉淀。铵盐能干扰该反应。取一滴伤流液在白瓷板上，放在 70℃ 烘箱中片刻，将 NH_3 逸出，再加一滴硝酸银和少许固体亚硝酸钴钠，荧光黄色混浊出现指示钾的存在。

【结果与分析】

植物根系是植物吸收水分和矿质元素的重要器官，也是许多重要物质的合成和贮存器官。伤流液中含有糖、氨基酸、激素等多种物质成分，伤流量的多少受土壤水分、温度、通气状况等外部因素的影响，也与植株生长、根系发达程度及生命活动强弱等内部因素有关。因此，伤流液的数量和其中有效成分含量可作为根系活力强弱的指标。

【注意事项】

利用伤流液可鉴定这些大量物质的存在，也可通过点滴显色反应，检测一些特殊物质的存在，伤流液一般无色，这是它的一大优点。

【思考题】

1. 试比较不同植物的伤流量及糖和氨基酸的相对含量。
2. 伤流量的多少及伤流液的成分受哪些环境因子的影响？

(山西农业大学 郭红彦)

1.4 植物蒸腾速率的测定

【实验目的】

蒸腾速率又称蒸腾强度，是计量蒸腾作用强弱的一项重要指标，其快慢受植物形态结构