



现代植物 生理生化研究技术

郑炳松 主编

气象出版社

浙江林学院教材建设基金资助出版

现代植物生理生化研究技术

主 编 郑炳松

副主编 严逸伦 吴家森 王俊刚

编写者 (以姓氏笔画为序)

王正加 王俊刚 吴家森 严逸伦

金松恒 郑炳松 黄有军 黄坚钦

曾燕如 褚怀亮

气象出版社

内容简介

21 世纪生命科学高速发展,现代植物生理生化研究技术是生命科学研究中最重要的—项技术,而植物生理生化研究的发展离不开植物生理生化实验方法和研究技术的重大创新。为了提高植物生理生化实验的教学效果,提高学生的实验技能和基本素质,本教材吸取了各时期不同版本的植物生理学、生物化学和分子生物学实验教材的优点,结合作者多年在教学、科研中总结出的经验,分别介绍了各实验的原理,操作步骤,所需材料、设备和试剂等。

本教材内容翔实,可操作性强,适合综合性大学、高等师范院校、高等农林院校植物生理学、生物化学、分子生物学及其相关学科的教师、研究生、大学本科学子以及研究机构从事植物分子生理生化研究的工作人员参考和使用。

图书在版编目(CIP)数据

现代植物生理生化研究技术/郑炳松主编. —北京:

气象出版社,2006. 10

ISBN 7-5029-4205 -X

I. 现… II. 郑… III. ①植物生理学-研究②植物学:生物化学-研究 IV. Q94

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 122805 号

现代植物生理生化研究技术

Xiandai Zhiwu Shenglishenghua Yanjiujishu

出版者:气象出版社

网 址: <http://cmp.cma.gov.cn>

E-mail: qxcbs@263.net

地 址:北京市海淀区中关村南大街 46 号

邮 编:100081

电 话:总编室:010-68407112

发行部:010-62175925

责任编辑:周 露 王元庆

封面设计:张建永

责任校对:李佳凡

印刷者:北京奥鑫印刷厂

发行者:气象出版社

终 审:章澄昌

版式设计:刘祥玉

开 本:787×1092 1/16 印 张:25 字 数:636 千字

版 次:2006 年 10 月第一版 2006 年 10 月第一次印刷

印 数:1~3000

定 价:38.00 元

本书如存在文字不清、漏印以及缺页、倒页、脱页等,请与本社发行部联系调换

前 言

21 世纪是生命科学高速发展的世纪,这已经成为全世界的共识。现代植物生理生化研究技术是生命科学中最重要的一项生物技术,植物生理生化发展,甚至生命科学的发展都离不开植物生理生化实验方法和研究技术的重大创新。

许多学校也越来越重视植物生理生化实验课的教学效果,它直接关系到学生就业后能否很快地适应工作,考研后能否顺利地进行科学研究。如何提高学生的植物生理生化实验技能和基本素质,是摆在我们面前的重要任务,因而,编写一本新型的、适用的植物生理生化实验教材是十分必要的。

本教材就是在这种形势下,由长期从事植物生理学、生物化学和分子生物学实验教学的教师共同编写的。这本教材吸取了各时期不同版本的植物生理学、生物化学和分子生物学实验教材的优点,结合作者多年教学科研中总结出的经验,在实验内容选择、编排形式、原理介绍、步骤描述等方面,都有所创新。

本书分 45 章,主要包括植物生理学、生物化学及分子生物学实验教学项目的原理、操作步骤、仪器使用等,共 64 万字左右。全书共分基础性技术、综合性技术、研究性技术和实验基本要求 4 个部分,其中基础性技术共 17 章,包括植物的水分代谢,植物的矿质代谢,植物的光合代谢,植物的呼吸代谢,植物激素,植物的生长生理,生殖生理,成熟和衰老生理,抗性生理,糖类、脂类、蛋白质氨基酸,酶类,核酸,植物组织中核酸的提取与检测,基因克隆和基因表达。综合性技术共 7 章,包括植物氮素缺乏的生理机理的研究,植物光合生理的研究,植物激素的生物鉴定,植物生长调节剂在植物生长发育中的作用,植物的抗性生理机理研究,植物衰老的生理机理研究,超氧化物歧化酶的分离、纯化,研究性技术 15 章,包括植物气孔开闭机理研究技术,植物必需元素的验证, C_4 植物和 C_3 植物的筛选,环境因子对植物光合速率的影响,延长果实贮藏保鲜时间的研究技术,植物向性运动的研究技术,植物激素对植物生长发育的影响,植物细胞全能性的验证,林木种质保存和基因库的建设方案,植物组培苗培养及其产业化生产,植物抗旱机理研究技术,植物生长发育研究技术,植物衰老机理研究技术,植物分子生物学研究技术,分子杂交技术,该部分特点是在继承了我校传统植物生理学、生物化学实验教学经验的基础上,充分吸收了现代植物分子生物学的最新研究技术。实验基本要求共 6 章,包括实验须知、数据处理、层析技术、电泳技术、常用仪器的使用方法、常用试剂的配制等;附录包括国际标准单位及其他、常用有机溶剂及其主要性质、常用贮存液的配制参数、常用酸碱的技术参数、常用凝胶的技术参数、氨基酸的特

性、遗传密码、一些常用的缓冲溶液、常用培养基、常用酸碱指示剂的特性、常用组织培养药品、实验报告范文;最后为本书的主要参考书籍和文献。

本书由郑炳松任主编,负责制定编写大纲,对全书进行统稿、修改,并承担了基础性技术中光合代谢、呼吸代谢、植物激素等内容、综合性技术、研究性技术、实验基本要求和附录的编写。严逸伦编写了基础性技术中植物衰老生理、植物抗性生理等内容。吴家森编写了植物生理学基础性技术中水分代谢、矿质代谢等内容。王俊刚编写了生物化学基础性技术中的部分内容。金松恒承担了生物化学与分子生物学中部分内容的编写。黄有军、王正加、黄坚钦、曾燕如协助了生物化学与分子生物学部分内容的撰写。硕士研究生褚怀亮协助了部分实验的撰写工作,章晓丹承担了本书原稿的电脑输入工作,特此致谢。

本书得到了浙江林学院教材建设基金的资助,在此再次深表谢意。

该教材内容翔实,可操作性强,适合综合性大学、高等师范院校、高等农林院校植物生理学、生物化学、分子生物学及其相关学科的教师、研究生、大学本科学学生以及研究机构从事植物分子生理生化研究的工作人员参考和使用。但由于作者水平有限,而且植物生理学、生物化学和分子生物学研究技术涉及面很广,书中错误和不足之处在所难免,敬请同行与使用者予以指正、赐教,以便再版时修正。

编 者

2006年6月16日于临安东湖

目 录

前言

第一部分 基础性技术

第一章 植物的水分代谢	(3)
第一节 植物组织自由水和束缚水含量的测定	(3)
第二节 植物组织水势的测定	(4)
第三节 植物组织渗透势的测定	(5)
第四节 植物组织含水量的测定	(6)
第五节 植物组织水分饱和和亏缺的测定	(7)
第六节 钾离子对植物气孔开度的影响	(8)
第七节 植物叶片蒸腾强度的测定	(8)
第二章 植物的矿质代谢	(10)
第一节 TTC 法测定植物根系活力	(10)
第二节 植物伤流量的测定	(11)
第三节 植物伤流液的收集及糖和氨基酸的测定	(11)
第四节 培养液中 N、P、K 的定量测定	(12)
第五节 植物对铵离子的吸收动力学	(15)
第六节 植物对离子的选择性吸收	(16)
第七节 植物组织中总氮、蛋白质氮含量的测定	(17)
第三章 植物的光合代谢	(20)
第一节 环境因子对植物光合作用的影响	(20)
第二节 植物光合速率的测定	(21)
第三节 叶绿体色素的提取、分离及理化性质	(25)
第四节 叶绿素含量的测定	(26)
第五节 植物希尔反应的观察	(27)
第六节 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)活性的分光光度计法测定	(28)
第七节 Rubisco 的定量分析	(30)
第八节 叶绿体光诱导荧光强度的测定	(32)
第九节 植物组织 ATP 酶活性测定	(33)
第十节 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定	(34)
第十一节 RCA 活性及含量的测定	(36)

第四章 植物的呼吸代谢	(38)
第一节 植物呼吸速率的测定	(38)
第二节 过氧化氢酶活性测定	(40)
第三节 苯丙氨酸解氨酶活性的测定	(41)
第四节 过氧化物酶活性的测定	(41)
第五节 多酚氧化酶活性的测定	(42)
第六节 果胶酶活性的测定	(43)
第五章 植物激素	(45)
第一节 乙烯含量的气相色谱法测定	(45)
第二节 植物激素含量的测定	(46)
第三节 赤霉素对 α -淀粉酶的诱导形成	(48)
第四节 萘乙酸对植物种子萌发的影响	(49)
第五节 植物激素对器官脱落的调节	(50)
第六节 植物激素脱落酸和赤霉素的提取、分离及测定	(51)
第七节 GA_3 促进植物种子萌发	(54)
第八节 细胞分裂素的抗衰老作用	(55)
第六章 植物的生长生理	(57)
第一节 淀粉酶活性的测定	(57)
第二节 植物淀粉含量的测定	(58)
第三节 植物种子生命力的测定	(60)
第四节 植物组织中 ATP 含量的测定	(61)
第五节 植物组织中脂肪酸含量的测定	(63)
第六节 植物种子中主要不饱和脂肪酸的分离	(64)
第七节 植物组织中纤维素含量的测定	(65)
第八节 植物组织中可溶性糖含量测定	(66)
第九节 植物组织中还原糖含量的测定	(67)
第十节 植物种子中赖氨酸含量的测定	(68)
第十一节 植物种子萌发过程中的淀粉、脂肪和蛋白质的转化	(69)
第十二节 植物组织培养技术	(71)
第七章 植物生殖生理	(83)
第一节 植物光周期现象的观察	(83)
第二节 植物光周期的诱导	(84)
第三节 植物春化现象的观察	(85)
第四节 花粉的生长及其向化性	(86)
第五节 花粉活力的测定	(87)
第八章 植物的成熟和衰老生理	(90)
第一节 植物组织中丙二醛含量的测定	(90)
第二节 植物超氧化物歧化酶活性的测定	(91)

第三节	植物脂肪氧化酶活性的测定	(92)
第九章	植物的抗性生理	(94)
第一节	脯氨酸含量的测定	(94)
第二节	维生素 C 含量的测定	(95)
第三节	植物组织抗逆性的测定	(96)
第十章	糖类	(99)
第一节	碳水化合物的斐林试剂比色法测定	(99)
第二节	碳水化合物的蒽酮比色法测定	(100)
第三节	糖的颜色反应	(101)
第四节	酮体的生成	(102)
第十一章	脂类	(103)
第一节	磷硫铁试剂法定量测定血清总胆固醇	(103)
第二节	血清甘油三酯的测定	(104)
第三节	脂肪酸的 β -氧化	(105)
第四节	卵磷脂的提取和鉴定	(107)
第十二章	蛋白质、氨基酸	(108)
第一节	蛋白质含量的测定	(108)
第二节	血清蛋白的电泳	(116)
第三节	血清 γ -球蛋白的提纯	(120)
第四节	蛋白质分子量的测定	(122)
第五节	蛋白质的一般性质	(125)
第六节	蛋白质相对分子质量的测定	(127)
第七节	甲醛滴定法测定氨基氮	(128)
第十三章	酶类	(130)
第一节	酶作用的一般性质	(130)
第二节	碱性磷酸酶的提取、分离与纯化	(132)
第三节	碱性磷酸酶最适 pH 的测定	(133)
第四节	碱性磷酸酶最适温度的测定	(134)
第五节	酶促反应初速率时间范围测定	(134)
第六节	米氏常数(K_m)和最大反应速率(V_m)的测定	(136)
第七节	抑制剂对酶活力的影响	(138)
第八节	氨基酰化酶的测定	(140)
第九节	酶联免疫吸附测定	(143)
第十四章	核酸	(145)
第一节	酵母核糖核酸的提取及测定	(145)
第二节	核酸的定量测定——定磷法	(146)
第三节	离子交换色谱分离核苷酸	(148)
第十五章	植物组织中核酸的提取与检测	(151)

第一节	植物组织中基因组 DNA 的提取与测定	(151)
第二节	DNA 的凝胶电泳	(152)
第三节	植物总 RNA 的提取与测定	(154)
第四节	mRNA 纯化	(156)
第五节	RNA 的琼脂糖凝胶电泳	(158)
第十六章	基因克隆	(160)
第一节	PCR 技术	(160)
第二节	cDNA-AFLP 技术	(162)
第三节	cDNA 文库构建技术	(166)
第四节	质粒 DNA 的提取、分离和纯化	(176)
第五节	大肠杆菌感受态细胞的制备和转化	(179)
第六节	重组质粒的连接、转化及筛选	(182)
第七节	根癌农杆菌介导转化烟草	(184)
第八节	RFLP 和 RAPD 技术	(186)
第九节	DNA 序列的测定	(188)
第十节	植物基因 cDNA 全长的克隆	(189)
第十一节	基因组 AFLP 技术	(191)
第十二节	SSR 和 CAPS 分析技术	(192)
第十七章	基因表达	(196)
第一节	克隆基因在 <i>E. coli</i> 中的表达	(196)
第二节	RT-PCR 和定量 RT-PCR	(199)
第三节	Southern 杂交分析技术	(202)
第四节	Northern 杂交分析技术	(205)
第五节	Western 杂交分析技术	(208)
第六节	植物组织原位杂交分析技术	(210)
第七节	酵母双杂交分析技术	(219)
第八节	芯片杂交分析技术	(225)

第二部分 综合性技术

第十八章	植物氮素缺乏的生理机理研究	(233)
第一节	植物的日常培养与管理	(233)
第二节	植物根系的表型分析	(233)
第三节	植物根系活力的测定	(234)
第四节	植物硝酸还原酶活性的测定	(237)
第五节	植物细胞有丝分裂指数的测定	(239)
第十九章	植物光合生理的研究	(241)
第一节	植物叶片光合速率及其环境因子的测定	(241)

第二节	植物光响应曲线和 CO_2 响应曲线的制作	(243)
第三节	植物叶面积的测定	(246)
第二十章	植物激素的生物鉴定	(248)
第一节	IAA 和 ABA 的生物鉴定	(248)
第二节	GA_3 、CTK、ABA 的生物鉴定	(250)
第二十一章	植物生长调节剂在植物生长发育中的作用	(252)
第一节	植物生长调节剂在种子休眠与萌发中的作用	(252)
第二节	植物生长调节剂在植物生长中的作用	(254)
第三节	植物生长调节剂在插条生根中的作用	(255)
第四节	植物生长调节剂在化学除草中的作用	(257)
第五节	植物生长调节剂在化学杀雄中的作用	(257)
第六节	植物生长调节剂在花期调控中的作用	(257)
第七节	植物生长调节剂在果实成熟中的作用	(258)
第八节	植物生长调节剂在鲜花保鲜中的作用	(259)
第九节	植物生长调节剂在植物性别调控中的作用	(261)
第十节	植物生长调节剂在果实催熟中的作用	(262)
第二十二章	植物的抗性生理机理研究	(264)
第一节	材料准备	(264)
第二节	植物细胞膜透性的测定	(264)
第三节	丙二醛和脯氨酸含量的测定	(266)
第二十三章	植物衰老的生理机理研究	(267)
第二十四章	超氧化物歧化酶的分离、纯化	(269)
第一节	超氧化物歧化酶的活性测定	(269)
第二节	动物血中超氧化物歧化酶的提取	(271)
第三节	离子交换法分离纯化超氧化物歧化酶	(272)
第四节	金属螯合色谱分离纯化超氧化物歧化酶	(272)

第三部分 研究性技术

第二十五章	植物气孔开闭机理研究技术	(277)
第二十六章	植物必需元素的验证	(279)
第二十七章	C_3 植物和 C_4 植物的筛选	(280)
第二十八章	环境因子对植物光合速率的影响	(282)
第二十九章	延长果实贮藏保鲜时间的研究技术	(284)
第三十章	植物向性运动的研究技术	(286)
第三十一章	植物激素对植物生长发育的影响	(287)
第三十二章	植物细胞全能性的验证	(288)
第三十三章	林木种质保存和基因库的建设方案	(289)

第三十四章 植物组培苗培养及其产业化生产	(290)
第三十五章 植物抗旱机理研究技术	(291)
第三十六章 植物生长发育研究技术	(292)
第一节 植物光合、呼吸、蒸腾速率及气孔导度和内部 CO ₂ 浓度的测定	(292)
第二节 植物叶片荧光测定	(293)
第三节 植物希尔反应和光合磷酸化测定	(296)
第四节 Rubisco 功能与纯化	(299)
第五节 Rubisco 定量分析——免疫扩散法	(303)
第三十七章 植物衰老机理研究技术	(304)
第一节 植物体内可溶性蛋白和非可溶性蛋白的含量测定	(304)
第二节 植物组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性测定	(305)
第三节 抗坏血酸含量及抗坏血酸过氧化物酶活性的测定	(305)
第四节 植物组织中过氧化物酶活性的测定(比色法)	(307)
第五节 植物组织中过氧化氢酶活性的测定(比色法)	(307)
第六节 植物组织或器官中丙二醛(MDA)含量的测定	(307)
第三十八章 植物分子生物学研究技术	(308)
第一节 农杆菌介导的基因转化方法	(308)
第二节 利用 RT-PCR 方法克隆植物功能基因及基因测序	(310)
第三十九章 分子杂交技术	(312)
第一节 核酸探针标记的方法	(312)
第二节 几种常见的杂交	(317)
第三节 杂交反应的条件及参数的优化	(321)

第四部分 实验基本要求

第四十章 实验须知	(325)
第四十一章 数据处理	(327)
第四十二章 层析技术	(330)
第四十三章 电泳技术	(336)
第四十四章 常用仪器的使用方法	(342)
第一节 电导率仪的使用方法	(342)
第二节 分光光度计的使用方法	(342)
第三节 超净工作台的使用方法	(349)
第四节 高速冷冻离心机的使用方法	(350)
第五节 电泳仪的使用方法	(351)
第六节 阿贝折光仪的使用方法	(353)
第七节 核酸蛋白检测仪的使用方法	(353)
第八节 酶联免疫检测仪的使用方法	(354)

第四十五章 常用试剂的配制 (355)

第一节 玻璃仪器的洗涤 (355)

第二节 常用酶的配制 (355)

第三节 常用抗生素溶液的配制 (356)

第四节 常用杂交试验用封闭剂 (357)

第五节 常用贮存液的配制 (358)

附 录

附录 1 国际单位及其他 (363)

附录 2 常用有机溶剂及其主要性质 (365)

附录 3 常用贮存液的配制参数 (366)

附录 4 常用酸碱的技术参数 (369)

附录 5 常用凝胶的技术参数 (370)

附录 6 氨基酸的特性 (373)

附录 7 遗传密码 (374)

附录 8 一些常用的缓冲溶液 (375)

附件 9 常用培养基 (381)

附录 10 常用酸碱指示剂的特性 (382)

附录 11 常用组织培养药品 (383)

附录 12 实验报告范文 (384)

主要参考书籍和文献 (387)

第一部分

基础性技术

第一章 植物的水分代谢

第一节 植物组织自由水和束缚水含量的测定

水分在植物体内常以自由水和束缚水两种状态存在,这与原生质膜密切相关。自由水与束缚水含量的大小与植物的抗性有紧密联系。自由水/束缚水值大时,植物组织的代谢活动旺盛,生长也较快,抗逆性较弱;反之,则生长较缓慢,抗逆性较强。因此,自由水与束缚水的相对含量是植物组织代谢活动及抗逆性强弱的重要指标。

自由水是指距离胶粒较远而可以自由移动的水分;束缚水是指靠近胶粒而被胶粒吸附不易自由移动的水分。束缚水被细胞原生质胶体颗粒吸附而不易移动,因而不易被夺取,也不能作为溶剂。基于以上特点以及水分的移动依据水势差的原理,将植物组织浸入高浓度的糖溶液脱水,经过一定时间后,自由水可全部进入糖液中,组织中剩余的水即为束缚水,根据糖溶液浓度的变化可测得自由水含量。植物组织的总含水量减去自由水的含量,即可求出植物组织中束缚水量。

一、操作步骤

(一)植物组织中含水量的测定

(1)取铝盒 3 个,编号(设 3 次重复),分别称准其质量。

(2)在野外选取代表性的待测植物数株,各选部位、长势、叶龄相近的叶子数片。用打孔器钻取小圆叶片 150 片(避开粗大的叶脉),立即装到上述铝盒中(每盒随机装入 50 片),盖紧盒盖,并精确称取各盒质量。

(3)将铝盒连同小圆片置烘箱中,在 105 °C 下杀青 5 min,再于 70~80 °C 下烘至恒重。设铝盒质量为 W_1 ,铝盒与小圆片的质量为 W_2 ,铝盒与烘干的小圆片的质量为 W_3 。

$$\text{植物组织含水量}(\%) = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100\%$$

根据上式分别求出 3 次重复所得到的组织含水量,并进一步求出其平均值。

(二)植物组织中自由水含量的测定

(1)另取铝盒 3 个,编号并分别准确称准其质量。

(2)用打孔器钻取小圆叶片 150 片,立即随机装入 3 个铝盒中(每盒装 50 片),盖紧盒盖并立即称其质量。

(3)3 个铝盒中分别加入 60%~65% 蔗糖溶液 5 mL 左右,再分别准确称其质量。

(4)将铝盒置于暗处 4~6 h,其间不时轻轻摇动。到预定的时间后,充分摇匀溶液。用阿贝折射仪测定各铝盒内蔗糖溶液浓度,同时测定原有的蔗糖溶液浓度。设铝盒质量为 W_1 ,铝盒与小圆片的质量为 W_2 ,铝盒与小圆片及糖液的质量为 W_4 ,原有糖液的浓度为 C_1 ,浸过植物后的糖液浓度为 C_2 ,则植物组织中自由水含量为:

$$\text{植物组织中自由水的含量}(\%) = \frac{(W_4 - W_2) \times (C_1 - C_2)}{(W_2 - W_1) \times C_2}$$

根据上式同样求出 3 个不同的组织中自由水的含量并进一步求出其平均值。

(三)植物组织中束缚水含量的计算

$$\text{束缚水含量}(\%) = \text{组织含水量}(\%) - \text{自由水含量}(\%)$$

二、材料、仪器设备和试剂

(1)材料:八角金盘、大叶黄杨等。

(2)仪器设备:阿贝折射仪、分析天平或电子天平(感量 0.1 mg)、烘箱、干燥器、铝盒、打孔器、烧杯、瓷盘、托盘天平(感量 0.1 g)、量筒。

(3)试剂:质量百分浓度为 60%~65%的蔗糖溶液。该溶液的配制方法为,用托盘天平称取蔗糖 60~65 g,置于烧杯中,加蒸馏水 35~40 g,使溶液总重量为 100 g,溶解后备用。

第二节 植物组织水势的测定

测定植物组织水势的方法较多,常见的为小液流法。将植物组织分别放在不同浓度的蔗糖溶液中,寻找到某一浓度的溶液,其水势与植物组织的水势相等,此时水分保持动态平衡,然后计算该溶液的水势,从而知道植物组织的水势。蔗糖溶液的渗透势(ψ_{π}),即代表植物的水势(ψ_w)。

一、操作步骤

(1)取干燥试管 12 支,平均分为甲、乙两组,在甲组中分别加入 0.05~0.30 mol/L 蔗糖溶液 5 mL,在乙组中分别加入 0.05~0.30 mol/L 蔗糖溶液 2 mL,并分别贴上标签,注明其浓度。

(2)取待测植物的功能叶数片,用打孔器打取小圆片约 60 片,放至培养皿中,混合均匀。用镊子分别向乙组每支试管中夹入 10 片小圆叶片,并使小圆叶片全部浸没于溶液中,并经常摇动试管。

(3)经一定时间(30~60 min)后,在乙组试管中加入少许甲烯蓝试剂将其染色,用毛细管取各试管中的糖液少许,放入甲组对应浓度试管溶液的中部,小心地挤出少量液流,观察各试管中蓝色液流的升降动向及速度。若液流上升,说明浸过小圆叶片的蔗糖溶液浓度变小(即植物组织失水),表明叶片组织的水势高于该浓度糖溶液的渗透势;如果蓝色液流下降,则说明叶片组织的水势低于该糖溶液的渗透势;若蓝色液流静止不动,则说明叶片组织的水势等于该糖溶液的渗透势,并且此糖溶液的浓度即为叶片组织的等渗浓度。

二、结果计算

将求得的等渗浓度代入下式即可求出植物组织的水势。

$$\psi_w = \psi_{\pi} = -CRTi \times 1.013 \times 0.1$$

式中 ψ_w 为植物组织的水势(MPa), ψ_{π} 为蔗糖溶液的渗透势, C 为等渗浓度(mol/L), R 为气体常数 [$R=0.008314 \text{ L} \cdot \text{MPa}/(\text{mol} \cdot \text{K})$], T 为绝对温度, i 为等渗系数(蔗糖的等渗系数为 1, CaCl_2 为 2.60), 1 大气压 = 1013.25 hPa $\approx$ 0.1 MPa。

三、材料、仪器设备和试剂

- (1)材料:八角金盘、大叶黄杨等。
 (2)仪器设备:试管 12 支、毛细管、镊子、打孔器、培养皿。
 (3)试剂:0.05,0.10,0.15,0.20,0.25,0.30 mol/L 蔗糖溶液,甲烯蓝粉末。

第三节 植物组织渗透势的测定

当植物组织细胞内的汁液与其周围的某种溶液处于渗透平衡状态,植物细胞内的压力势为零时,细胞汁液的渗透势就等于该溶液的渗透势。该溶液的浓度称为等渗浓度。

当用一系列梯度浓度溶液观察细胞质壁分离现象时,细胞的等渗浓度将介于刚刚引起初始质壁分离的溶液浓度和尚不能引起质壁分离的溶液浓度之间。将等渗浓度值代入公式即可计算出植物组织细胞质液的渗透势。

一、操作步骤

本实验使用带有色素的植物组织(叶片),一般选用有色素的洋葱鳞片的外表皮、紫鸭跖草、苔藓、红甘蓝或黑藻、丝状藻等水生植物,也可用蚕豆、玉米、小麦等作物叶的表皮。撕下样品表皮,迅速分别投入各种浓度的蔗糖溶液中,使其完全浸入,5~10 min 后,从 0.5 mol/L 开始依次从各浓度的蔗糖溶液中取出表皮薄片,放在滴有同样溶液的载玻片上,盖上盖玻片,于低倍显微镜下观察,如果所有细胞都产生质壁分离的现象,则取低浓度溶液中的制片作同样观察,并记录质壁分离的相对程度。实验中必须确定一个引起半数以上细胞原生质刚刚从细胞壁的角隅上分离的浓度,和不引起质壁分离的最高浓度。

在找到上述浓度极限后,用新的溶液和新鲜的叶片重复上述操作几次,直至有把握确定浓度极限的准确值为止。在此条件下,细胞的渗透势与两个极限溶液浓度之平均值的渗透势相等。将结果记录于表 1-1。

表 1-1 不同浓度蔗糖溶液的渗透势及细胞质壁分离相对程度

蔗糖溶液的摩尔浓度(mol/L)	渗透势(Pa)	质壁分离的相对程度(作图表示)
0.50		
0.45		
0.40		
0.35		
0.30		
0.25		
0.20		
0.15		
0.10		

实验人_____时间_____材料名称_____实验时室温_____℃

测出刚开始引起细胞质壁分离的最低蔗糖溶液浓度和不能引起质壁分离的最高浓度的平均值之后,可按下列公式计算在常压下该组织细胞汁液的渗透势。

$$\psi_s = -RTiC$$